

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| INTRODUCTION | 13 |
| PREMIERE PARTIE : GENERALITES SUR LES PARAMPHISTOMOSES GASTRODUODENALES BOVINES | 17 |
| I. Présentation des paramphistomes..... | 21 |
| I .1. Position taxinomique et classification simplifiée..... | 21 |
| I.1.1. Position taxinomique de genre | 21 |
| I.1.2. Classification systématique | 24 |
| I.2. Aspect morphologique et anatomie..... | 37 |
| I.2.1. Adultes | 37 |
| I.2.1.1. Morphologie | 37 |
| I.2.1.2 Acétabulum..... | 40 |
| I.2.1.3. Tégument..... | 42 |
| I.2.1.4. Cellules neurosécrétaires..... | 46 |
| I.2.1.5. Appareil digestif | 47 |
| I.2.1.6. Appareil excréteur..... | 49 |
| I.2.1.7. Appareil circulatoire et parenchyme..... | 53 |
| I.2.1.8. Appareil reproducteur | 57 |
| I.2.2. Œufs..... | 59 |
| I .2.3. Formes larvaires | 61 |
| I.2.3.1. Miracidium | 61 |
| I.2.3.2. Sporocyste..... | 62 |
| I.2.3.3. Rédie | 64 |
| I.2.3.4. Cercaire | 65 |
| I.2.3.5. Métacercaire | 66 |
| I.3. Biologie | 68 |
| I.3.1. Cycle évolutif..... | 68 |
| I.3.1.1. Etapes du cycle | 68 |
| I.3.1.2. Eléments conditionnant le cycle..... | 73 |
| I.3.1.3. Hôtes intermédiaires | 76 |
| I.3.1.4. Hôtes définitifs | 83 |
| I.3.2. Habitat et nutrition | 89 |
| I.4. Pouvoir pathogène | 91 |
| I.4.1. Des formes immatures | 91 |
| I.4.2. Des formes matures | 91 |
| I.5. Pouvoir antigène, allergène et immunogène..... | 91 |
| I.5.1. Pouvoir antigène | 91 |
| I.5.2. Pouvoir allergène | 92 |
| I.5.3. Pouvoir immunogène | 93 |

| | |
|---|-----|
| I.5.3.1. Mécanismes immunitaires | 93 |
| I.5.3.2. Mécanismes d'échappement | 94 |
| I.5.3.3. Immunité de prémunition et immunité vaccinale | 95 |
| II. Epidémiologie des paramphistomoses gastroduodénales bovines..... | 99 |
| II.1. Epidémiologie descriptive | 99 |
| II.1.1. Caractéristiques des populations atteintes..... | 99 |
| II.1.2. Répartition géographique | 100 |
| II.1.2.1. Répartition dans le monde | 100 |
| II.1.2.2. Répartition en France | 102 |
| II.1.3. Répartition dans le temps | 108 |
| II.1.4. Importance économique..... | 109 |
| II.2. Epidémiologie analytique | 111 |
| II.2.1. Sources de l'infestation | 111 |
| II.2.2. Résistance du parasite..... | 111 |
| II.2.3. Mode de contamination..... | 113 |
| II.2.4 Facteurs de risques..... | 114 |
| II.3. Epidémiologie synthétique | 116 |
| III. Etude anatomo-clinique des paramphistomoses gastroduodénales bovines | 119 |
| III.1. Pathogénie..... | 119 |
| III. 2. Clinique | 121 |
| III.2.1. Phase pré-imaginale | 121 |
| III.2.1.1. Symptômes..... | 121 |
| III.2.1.2. Signes biologiques..... | 122 |
| III.2.2. Phase imaginaire..... | 123 |
| III.2.2.1. Symptômes..... | 123 |
| III.2.2.2. Signes biologiques..... | 124 |
| III.3. Lésions..... | 124 |
| III.3.1. Phase pré-imaginale | 124 |
| III.3.1.1. Lésions macroscopiques | 124 |
| III.3.1.2. Lésions microscopiques..... | 126 |
| III.3.2. Phase imaginaire..... | 127 |
| III.3.2.1. Lésions macroscopiques | 127 |
| III.3.2.2. Lésions microscopiques..... | 128 |
| IV. Diagnostic des paramphistomoses gastroduodénales bovines..... | 131 |
| IV.1. Diagnostic clinique..... | 131 |
| IV.1.1. Diagnostic positif..... | 131 |
| IV.1.2. Diagnostic différentiel | 131 |
| IV.2. Diagnostic nécropsique | 132 |
| IV.3. Diagnostic expérimental | 134 |
| IV.3.1 Diagnostic coproscopique..... | 134 |
| IV.3.2. Diagnostic immunologique..... | 137 |
| IV.3.2.1. Intra-dermo réaction | 137 |

| | |
|---|-----|
| IV.3.2.2. Fixation du complément | 138 |
| IV.3.2.3. Immuno-précipitation | 139 |
| IV.3.2.4. Immunofluorescence indirecte | 139 |
| IV.3.2.5. Enzyme Linked Immunosorbent Assay | 140 |
| V. Pronostic des paramphistomoses gastroduodénales bovines et méthodes de lutte | 143 |
| V.1. Pronostic..... | 143 |
| V.2 Traitement | 143 |
| V.2.1. Antiparasitaires utilisables | 144 |
| V.2.1.1. Dérivés du diphenyl sulfure | 144 |
| V.2.1.2. Dérivés du résorcinol..... | 146 |
| V.2.1.3. Dérivés de la salicylanilide | 147 |
| V.2.1.4. Divers | 149 |
| V.2.2. Modalités du traitement | 152 |
| V.3. Prophylaxie | 152 |
| V.3.1. Mesures défensives..... | 152 |
| V.3.2. Mesures offensives..... | 153 |
| DEUXIEME PARTIE : ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE EN CHAMPAGNE-ARDENNE | 161 |
| I. Matériels et méthodes..... | 165 |
| I.1. Echantillonnage..... | 165 |
| I.1.1. Population cible..... | 165 |
| I.1.2. Abattoirs | 165 |
| I.1.3. Taille de l'échantillon..... | 167 |
| I.1.4. Sélection des animaux | 167 |
| I.2. Récolte des données | 168 |
| I.2.1. Examen des pré-estomacs | 168 |
| I.2.2. Données concernant les animaux de l'échantillon | 169 |
| I.2.3. Données concernant les cheptels éleveurs des animaux de l'échantillon..... | 169 |
| I.3. Variables étudiées..... | 170 |
| I.4. Gestion des données | 172 |
| I.5. Traitements et analyses statistiques | 173 |
| II. Résultats..... | 177 |
| II.1. Caractéristiques de l'échantillon | 177 |
| II.2. Prévalence de l'infestation par les paramphistomes | 177 |
| II.3. Facteurs de variabilité | 178 |
| III. Discussion..... | 183 |
| III.1. Echantillonnage..... | 183 |
| III.2. Importance des paramphistomoses gastroduodénales bovines | 184 |
| III.3. Facteurs de variabilité | 185 |

| | |
|---|-----|
| TROISIEME PARTIE : MISE AU POINT D'UN TEST E.L.I.S.A. POUR LA DETECTION DE COPROANTIGENES DE PARAMPHISTOMES | 187 |
| I. Principe du test E.L.I.S.A. pour la détection de coproantigènes parasitaires..... | 189 |
| I.1. Principe du test | 189 |
| I.2. Intérêts | 190 |
| I.2.1. Avantages par rapport aux autres tests de dépistage..... | 190 |
| I.2.3. Succès du test dans le dépistage d'autres parasitoses digestives..... | 191 |
| II. Matériels et méthodes..... | 195 |
| II.1. Obtention du matériel..... | 195 |
| II.1.1. Prélèvements des fèces..... | 195 |
| II.1.2. Obtention d'antigènes d'excrétion-sécrétion | 197 |
| II.1.3. Dosage de la solution antigénique | 198 |
| II.1.4. Obtention d'anticorps anti-antigènes d'excrétion-sécrétion (Ac anti-Ag E/S) de paramphistomes..... | 198 |
| II.1.3. Préparation des coproantigènes | 200 |
| II.2. Examens coproscopiques | 200 |
| II.2.3. Technique (Figure 45) | 200 |
| II.2.4. Interprétation | 201 |
| II.3. Mise au point du test E.L.I.S.A. | 203 |
| II.3.1. Technique générale (Figure 46) | 203 |
| II.3.2. Détermination des paramètres techniques du test..... | 205 |
| II.4. Traitement et analyse statistique | 206 |
| III. Résultats | 209 |
| III.1. Evaluation des examens coproscopiques | 209 |
| III.1.1. Concordance avec l'examen nécropsique, sensibilité et spécificité | 209 |
| III.1.2. Relation entre le nombre d'œufs par grammes de fèces et le niveau d'infestation..... | 210 |
| III.2. Mise au point du test E.L.I.S.A. | 211 |
| III.3. Identification de l'espèce de paramphistomes | 211 |
| IV. Discussion | 213 |
| IV.1. Test E.L.I.S.A. pour la détection de coproantigènes de paramphistomes | 213 |
| IV.1.1. Nature du prélèvement biologique testé | 213 |
| IV.1.2. Variante de la technique E.L.I.S.A. utilisée | 214 |
| IV.1.3. Divergence entre Ag E/S expérimentaux et naturels | 214 |
| IV.2. Examen coproscopique | 216 |
| DISCUSSION GENERALE | 219 |
| CONCLUSION | 227 |
| BIBLIOGRAPHIE | 231 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Morphologie générale d'un <i>Paramphistomoidea</i> : <i>Paramphistomum cervi</i> (d'après FISCHOEDER – cité par EUZEBY, 1975)..... | 22 |
| Figure 2 : Pharynx de paramphistomes (d'après NÄSMARK, 1937 - cité par EUZEBY, 1975) : | 26 |
| Figure 3 : Atrium génital de paramphistomes (d'après NÄSMARK, 1937 – cité par EUZEBY, 1975) : | 28 |
| Figure 4 : Coupe médiosagittale de l'acétabulum du genre <i>Paramphistomum</i> (<i>Paramphistomum togolense</i> ; ALBARET & al., 1978) | 29 |
| Figure 5 : Structures argyrophiles de la cercaire de <i>Paramphistomum togolense</i> (ALBARET & al., 1978) : ... | 34 |
| Figure 6 : Structures argyrophiles du miracidium du genre <i>Paramphistomum</i> (<i>Paramphistomum daubneyi</i> ; SAMNALIEV & al., 1981) : 4 rangées de cellules épidermiques..... | 36 |
| Figure 7 : Structures argyrophiles du miracidium de <i>Fasciola</i> sp. (d'après ALBARET & al, cités par JOLY, 1991) : 5 rangées de cellules épidermiques..... | 36 |
| Figure 8 : Coupe sagittale d'un membre du genre <i>Paramphistomum</i> : <i>Paramphistomum togolense</i> (ALBARET & al., 1978). | 38 |
| Figure 9 : Stéréogramme type d'un acétabulum de trématode (<i>Fasciola hepatica</i>) d'après SMYTH & HALTON, 1983 (cités par JOLY, 1991)..... | 40 |
| Figure 10 : Coupe longitudinale théorique d'acétabulum de paramphistome : type paramphistome (d'après NÄSMARK, 1937 – cité par JOLY, 1991)..... | 41 |
| Figure 11 : Observation en microscopie électronique à balayage des parties antérieures de <i>Gastrothylax crumenifer</i> (A) et <i>Gastrodiscoides hominis</i> (B) : des excroissances fusionnent occasionnellement pour former un réseau de fines crêtes dans la région apicale des papilles(DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987 ; BRENNAN, HANNA & NIZAMI, 1991). | 43 |
| Figure 12 : Image en microscopie électronique à balayage d'une structure sensorielle tégumentaire de type non ciliée chez <i>Gastrothylax crumenifer</i> (DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987) | 43 |
| Figure 13 : Image en microscopie électronique à balayage d'une structure sensorielle tégumentaire de type ciliée chez <i>Gastrothylax crumenifer</i> (DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987) | 43 |
| Figure 14 : Schéma de l'ultrastructure du tégument de <i>Paramphistomum cervi</i> (d'après SHARMA & HANNA, 1988 –cités par JOLY, 1991)..... | 45 |
| Figure 15 : Structure fine de l'épithélium cæcal de <i>Gastrothylax crumenifer</i> (DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987) : | 48 |
| Figure 16 : Schéma de la structure générale de l'appareil excréteur des espèces du genre <i>Paramphistomum</i> (MATTISON, HANNA & NIZAMI, 1992). | 51 |
| Figure 17: Mécanisme d'implication potentielle du système protonéphridien dans la régulation ionique chez les paramphistomes : | 52 |

| | |
|---|-----|
| Figure 18 : Section transverse de <i>Paramphistomum epiclitum</i> montrant les cellules juxtapharyngiennes (JP) qui entourent le pharynx (Ph) et sont en étroite association avec les vaisseaux lymphatiques (L) (DUNN, NIZAMI & HANNA, 1985) | 53 |
| Figure 19 : Disposition du système lymphatique de <i>Paramphistomum epiclitum</i> : | 55 |
| Figure 20 : Mécanisme d'autophagie de la lymphe et du parenchyme chez les paramphistomes (MATTISON, HANNA & NIZAMI, 1992) : | 56 |
| Figure 21 : Œufs de <i>Paramphistomum</i> sp. (A) et œufs de <i>Fasciola hepatica</i> (B) (EUZEBY, 1975) | 60 |
| Figure 22 : Structure anatomique du miracidium de <i>Paramphistomum daubneyi</i> (SEY, 1979) | 63 |
| Figure 23 : Morphologie du sporocyste de <i>Paramphistomum togolense</i> âgé de 10 jours (ALBARET & al., 1978) | 63 |
| Figure 24 : Schéma de l'anatomie d'une rédie de <i>Paramphistomum cervi</i> (JOLY, 1991)..... | 64 |
| Figure 25 : Structure anatomique de la ceraire de <i>Paramphistomum daubneyi</i> (SEY, 1979) | 67 |
| Figure 26 : Etapes du cycle évolutif des espèces du genre <i>Paramphistomum</i> | 70 |
| Figure 27 : Mollusque gastéropode de la Famille des <i>Lymnaeidae</i> : <i>Lymnaea truncatula</i> (POSTAL 1984).... | 77 |
| Figure 29 : Les générations annuelles de <i>Lymnaea truncatula</i> (SZMIDT-ADJIDE & al., 1996)..... | 77 |
| Figure 28 : Répartition des populations de limnées dans une prairie humide limousine (MAGE & CHAUVIN, 1997)..... | 77 |
| Figure 30 : Mollusques de la Famille des <i>Planorbidae</i> : <i>Anisus contortus</i> (A) et <i>A. planorbis</i> (B) (POSTAL, 1984)..... | 78 |
| Figure 31 : Mollusque Gastéropode de la Famille des <i>Bulinidae</i> : <i>Bulinus truncatus</i> (EUZEBY, 1975)..... | 79 |
| Figure 32 : Pourcentage de « prise parasitaire » chez les ovins, caprins et bovins à différents stades après infestation par <i>Paramphistomum microbothrium</i> (HORAK, 1967) : | 88 |
| Figure 33 : Répartition des différentes espèces de paramphistomes (P. = <i>Paramphistomum</i>) par pays en Europe (d'après SEY (1980) et ALBARET & al. (1987)). | 103 |
| Figure 34 : Départements français où a été signalée la présence de paramphistomoses gastroduodénales bovines. | 107 |
| Figure 35 : Histogramme de répartition du nombre de bovins hébergeant des paramphistomes dans leur rumen en fonction des mois de l'année pour 1979, d'après les données de l'abattoir de Pouzauges, Vendée (POSTAL, 1984)..... | 109 |
| Figure 36: Evolution quantitative des différents stades évolutifs de <i>Paramphistomum daubneyi</i> sur les pâtures et chez les ruminants (POSTAL, 1984) | 117 |
| Figure 37 : Interactions milieu-hôte-parasite en milieu tempéré (adapté par POSTAL (1984) d'après RAYNAUD & KERBOEUF (1981)). | 118 |
| Figure 38 : Œdème des plis spiraux de l'abomasum d'un bovin infesté par <i>Paramphistomum microbothrium</i> (HORAK, 1967). | 125 |

| | |
|--|-----|
| Figure 39 : Formations bourgeonnantes « en bouton » (flèches) déterminées par l'ancrage des paramphistomes adultes (PA) sur la muqueuse ruminale et révélées après la levée des parasites (PR : papille ruminale) (photo J.P. ALZIEU ; DORCHIES & al., 2002 a) | 127 |
| Figure 40 : Concept de la lutte intégrée d'après XIMENES & al. (1993) adapté aux paramphistomoses..... | 157 |
| Figure 41 : Zones géographiques définies et limites administratives des départements des Ardennes (A), de l'Aisne (B) et du Nord (C) | 171 |
| Figure 42 : Schématisation de la deuxième étape de l'analyse statistique multivariée aboutissant au modèle final (BOUYER & al., 1996). | 175 |
| Figure 43 : Gamme étalon à l'albumine sérique bovine (BSA) pour la détermination de la concentration protéique de l'extrait antigénique concentré..... | 199 |
| Figure 44 : Inoculation à des souris, par voie sous cutanée au niveau de la ligne médiane, de 100 µl de l'extrait antigénique concentré adjuvé (dose vaccinale : 10 µg)..... | 199 |
| Figure 45 : Schéma de la technique coproscopique de MacMaster modifiée par Raynaud, 1971. | 202 |
| Figure 46 : Technique générale du test E.L.I.S.A. évalué pour la détection de coproantigènes de paramphistomes..... | 204 |
| Figure 47 : Sensibilité et spécificité du test " 0 = niveau « + » et 1 = niveau « >+ »" en fonction du nombre d'œufs par gramme de fèces (opg) | 210 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| Tableau I : Position taxinomique du genre <i>Paramphistomum</i> | 23 |
| Tableau II: Les différents types de pharynx des amphistomes selon NÄSMARK (1937) : | 25 |
| Tableau III : Les différents types d'atrium génital de la sous-famille des <i>Paramphistomatinae</i> selon NÄSMARK (1937) :..... | 27 |
| Tableau IV: Clés de détermination des espèces de <i>Paramphistomum</i> d'après SEY (1980) | 30 |
| Tableau V : Espèces du genre <i>Paramphistomum</i> valides et mises en synonymie d'après SEY (1980) et POSTAL (1984)..... | 31 |
| Tableau VI : Classification systématique des espèces du genre <i>Paramphistomum</i> selon la présence et les caractéristiques des papilles du revêtement tégumentaire d'après EDUARDO (1979)..... | 32 |
| Tableau VII : Structures argyrophiles des cercaires de sept espèces du genre <i>Paramphistomum</i> : localisation et nombre des papilles sensorielles..... | 35 |
| Tableau VIII : Critères de différenciation des genres <i>Calicophoron</i> et <i>Paramphistomum</i> d'après SWART (1967)..... | 36 |
| Tableau IX: Variations inter et intraspécifiques de la taille corporelle des espèces du genre <i>Paramphistomum</i> | 39 |

| | |
|--|-----|
| Tableau X : Quelques différences dans la structure de l'appareil génital de certaines espèces du genre <i>Paramphistomum</i> | 58 |
| Tableau XI : Variations de la taille des œufs en fonction de l'espèce dans le genre <i>Paramphistomum</i> | 59 |
| Tableau XII : Critères de différenciation entre les œufs de paramphistomes et ceux de <i>Fasciola hepatica</i> (JOLY, 1991)..... | 60 |
| Tableau XIII : Délais entre différents stades du cycle et durée de certaines phases chez quatre espèces du genre <i>Paramphistomum</i> | 71 |
| Tableau XIV : Pourcentage de formes adultes et immatures de <i>Paramphistomum microbothrium</i> retrouvées à l'autopsie par rapport au nombre de métacercaires administrées et distribution dans les différentes portions du tube digestif chez des bovins (HORAK, 1967) : | 72 |
| Tableau XV : Influence de la température sur les différentes phases du cycle des paramphistomes (KRANEBURG, 1977 - cité par POSTAL, 1984) | 74 |
| Tableau XVI : Hôtes intermédiaires de certaines espèces du genre <i>Paramphistomum</i> | 81 |
| Tableau XVII : Espèces domestiques hôtes définitifs de certaines espèces du genre <i>Paramphistomum</i> | 85 |
| Tableau XVIII : Espèces sauvages hôtes définitifs de certaines espèces du genre <i>Paramphistomum</i> | 87 |
| Tableau XIX : Valeurs moyennes et écarts types des concentrations sérique, duodénale et ruminale des Ig G1 et Ig A chez un lot de bovins infestés par <i>Paramphistomum microbothrium</i> et un lot témoin (OGURINADE & ABATAN, 1987) : | 94 |
| Tableau XX : Charges parasitaires résultant d'infestations ultérieures à l'immunisation de bovins selon différentes procédures et comparaison avec les charges parasitaires obtenues chez des bovins non immunisés (d'après HORAK, 1967) : | 97 |
| Tableau XXI: Effet de l'immunité sur les dimensions acétabulaires :..... | 97 |
| Tableau XXII : Répartition géographique des espèces du genre <i>Paramphistomum</i> en France | 106 |
| Tableau XXIII : Principaux signes cliniques et lésions anatomo-pathologiques constatés chez les bovins atteints de paramphistomoses gastroduodénales (d'après ZENNER, 2000, communication personnelle) | 129 |
| Tableau XXIV : Diagnostic clinique et différentiel des maladies bovines entraînant une symptomatologie comparable aux paramphistomoses (d'après POSTAL, 1984). | 133 |
| Tableau XXV : Correspondance entre le nombre d'œufs pour 6 grammes de fèces et le nombre de paramphistomes adultes dans les pré-estomacs (WILLMOTT & PESTER, 1957 - cités par EUZEBY, 1982)..... | 136 |
| Tableau XXVI: Diagnostic coproscopique différentiel entre les œufs de <i>Fasciola hepatica</i> et ceux de paramphistomes d'après EUZEBY (1975). | 136 |
| Tableau XXVII : Résultats coproscopiques et sérologiques (test E.L.I.S.A. sur sérum) d'une population de 107 bovins vis-à-vis des paramphistomoses et de la fasciolose (JOLY, 1991).... | 141 |
| Tableau XXVIII : Récapitulatif des méthodes immunologiques étudiées pour le diagnostic des paramphistomoses gastroduodénales | 142 |

| | |
|---|-----|
| Tableau XXIX : Principaux antiparasitaires utilisés pour lutter contre les paramphistomes : posologie et efficacité | 151 |
| Tableau XXX : Principales caractéristiques des trois espèces de mollusques utilisées par XIMENES & <i>al.</i> (1993) comme agents de lutte biologique dans le contrôle de <i>Lymnaea truncatula</i> | 155 |
| Tableau XXXI : Description des trois méthodes de luttes utilisées par XIMENES & <i>al.</i> (1993) pour le contrôle de <i>Lymnaea truncatula</i> | 156 |
| Tableau XXXII: Présentation des abattoirs susceptibles de s'approvisionner dans la région Champagne-Ardenne et leur tonnage de viande annuel respectif. | 166 |
| Tableau XXXIII : Présentation des principales caractéristiques des trois abattoirs retenus comme lieux d'observation pour l'enquête | 166 |
| Tableau XXXIV : Caractéristiques de l'échantillon et taux d'infestation par les paramphistomes, bruts et spécifiques : unité animal | 179 |
| Tableau XXXV : Caractéristiques de l'échantillon et taux d'infestation par les paramphistomes, bruts et spécifiques : unité cheptel | 180 |
| Tableau XXXVI : Variables associées à l'infestation par les paramphistomes dans le modèle bivarié..... | 181 |
| Tableau XXXVII : Variables associées à l'infestation par les paramphistomes dans le modèle de régression logistique final..... | 182 |
| Tableau XXXVIII : Paramètres intrinsèques du test E.L.I.S.A. pour la détection de coproantigènes parasitaires lors de son utilisation pour le diagnostic de différentes parasitoses digestives et comparaison avec d'autres tests | 193 |
| Tableau XXXIX : Constitution des lots de bovins dont les fèces ont été prélevées en vue de l'analyse coproscopique et du test E.L.I.S.A. pour la détection de coproantigènes de paramphistomes..... | 196 |
| Tableau XXXX : Composition des trois phases utilisées comme tampon de prélèvement pour l'extraction des antigènes de paramphistomes à partir des matières fécales bovines. | 206 |
| Tableau XXXXI : Résultats de l'analyse coproscopique pour la détection d'œufs de paramphistomes dans les fèces de 148 bovins dont 60 sont reconnus infestés à l'examen nécropsique et 88 sont reconnus indemnes | 209 |

LISTE DES ANNEXES

| | |
|---|-----|
| Annexe I : Un indice objectif pour apprécier la propreté des vaches laitières..... | 249 |
| Annexe II : Analyse bivariée de l'association statistique entre les zones géographiques non regroupées et l'infestation par les paramphistomes..... | 251 |

GLOSSAIRE DES ABREVIATIONS

Ac : Anticorps

Ag : Antigène

Ag E/S: Antigène excrété-sécrété

AALSTTV : Ardennes Avesnois Laonois Soissonnais Tardenois Thiérache Vermandois

ACC : Argonne Champagne Crêtes pré-ardennaises

AMM : Autorisation de mise sur le marché

BIPPAR : Biologie moléculaire et Immunologie PARasitaires et fongiques

BSA : Albumine Sérique Bovine

CIEP : Counter ImmunoElectroPhoresis

Copro-Ag : coproantigène

DMA : Dose Maximale Autorisée

ECF :Eosinophilic Chimiotactic Factor

EITB : Enzyme-linked ImmunoElectroTransfer Blot assay

ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

ENVA : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

ENVT : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

FH : Flandre Hainaut

FRGTV : Fédération Régionale des Groupements Techniques Vétérinaires

GDS : Groupement de Défense Sanitaire

IDR : IntraDermo Réaction

IFAT : Indirect Fluorescent Antibody Test

Ig : Immunoglobuline

Opg : œufs par gramme de fèces

OR : Odds Ratio

PBS : Phosphate Buffered Saline

Se : Sensibilité

Sp : Spécificité

INTRODUCTION

Les paramphistomoses gastroduodénales bovines sont des parasitoses bien connues dans les milieux tropicaux où elles sont responsables de préjudices économiques importants, mais elles n'épargnent cependant pas les pays tempérés. Signalée en France pour la première fois en 1938 par MAROTEL & GRATECOS dans la région de Meurthe-et-Moselle, elles ne cessent depuis de progresser sur l'ensemble du pays. Leur symptomatologie discrète et peu spécifique, les difficultés de leur diagnostic et la localisation gastroduodénale des parasites, passant alors le plus souvent inaperçus à l'abattoir, rendent difficilement appréciable l'étendue de leur répartition sans que ne soit entreprise une étude spécifique et approfondie.

Le présent travail fait suite à une demande émanant de la Fédération des Groupements Techniques Vétérinaires (FRGTV) de Champagne - Ardennes et du laboratoire Schering-Plough Vétérinaire, soucieux de pouvoir fournir aux vétérinaires praticiens de plus amples informations quant à la situation épidémiologique de ces maladies dans la région Champagne - Ardennes ainsi qu'un arbre décisionnel pour le traitement. Face à l'ampleur de ce programme et compte tenu du temps qui nous était imparti, nous avons limité notre étude à l'aspect descriptif.

Une revue bibliographique permettra, dans une première partie, de dresser le bilan des connaissances acquises sur les paramphistomoses gastroduodénales bovines. Nous y ferons souvent allusion aux données connues chez les petits ruminants en raison du petit nombre de travaux effectués spécifiquement sur les bovins.

Une deuxième partie sera consacrée à une enquête épidémiologique descriptive. Elle constitue l'étape préliminaire indispensable à l'élaboration du programme de lutte envisagé. Les données qui en seront dégagées, à savoir l'importance et la distribution de la maladie dans la région, fourniront les éléments nécessaires à la conception du protocole de la deuxième partie du programme.

Enfin, face aux difficultés du diagnostic coproscopique et afin d'optimiser la phase d'élaboration de l'arbre décisionnel au traitement, nous avons tenté de mettre au point un nouveau type de diagnostic expérimental basé sur la détection de coproantigènes parasitaires par la technique Enzyme Linked Immunorbent Assay (E.L.I.S.A.). Ceci fera l'objet de la troisième partie de la thèse.

**PREMIERE PARTIE : GENERALITES
SUR LES PARAMPHISTOMOSES
GASTRODUODENALES BOVINES**

Les paramphistomoses gastroduodénales bovines sont des maladies parasitaires dues à la présence dans l'abomasum et le duodénum de stades larvaires et dans le rumen et le réseau de stades adultes de trématodes de la Famille des *Paramphistomidae*.

Parasitoses de répartition mondiale, elles sont qualifiées d'émergentes dans notre pays. La découverte du premier cas clinique en France date de 1938. MAROTEL & GRATECOS (1938) faisaient alors part de leur inquiétude face à l'apparition soudaine de ces helminthoses considérées jusqu'alors comme exotiques et responsables en pays tropicaux d'un tableau clinique sévère. Cependant, la discréption de leurs symptômes et l'importance de la fasciolose ont relégué ces parasitoses au second plan. Elles n'ont certes pas l'importance médicale de la fasciolose, mais nous verrons que le pouvoir pathogène des parasites en cause, même s'il est discret, n'en est pas moins réel. Il est à l'origine d'une diminution de la rentabilité des élevages bovins et devient apparent à présent que la fasciolose est contrôlée. Cette prise de conscience du pouvoir pathogène des paramphistomes a suscité un regain d'intérêt pour ces maladies. Cet intérêt accru s'explique également par leur extension sur notre territoire et l'augmentation des taux de prévalence comme en fait état la littérature. L'arsenal thérapeutique réduit et la raréfaction de la grande douve laissant libres des niches écologiques partagées avec les paramphistomes expliqueraient cette expansion. Il est possible également que la multiplicité des études sur le sujet depuis ces dernières années révèle des foyers préexistants qui passaient jusqu'ici inaperçus.

Après une description des parasites en cause, nous envisagerons leur biologie ainsi que leur pouvoir pathogène, antigène, allergène et immunogène qui expliquent bien des aspects épidémiologiques et anatomocliniques des paramphistomoses gastroduodénales bovines. Ceux-ci seront également abordés. Nous verrons ensuite les limites du diagnostic et des moyens de lutte envisageables.

I. Présentation des paramphistomes

I.1. Position taxinomique et classification simplifiée

I.1.1. Position taxinomique de genre

Les paramphistomoses gastroduodénales sont des distomatoses du tractus digestif. Elles font donc intervenir des Plathelminthes (« vers plats ») par opposition aux « vers ronds » de l'Embranchement des Nemathelminthes) de la Classe des trématodes, parasites obligatoires souvent hermaphrodites, au corps aplati non segmenté et au tube digestif incomplet (absence d'anus). Les parasites en cause se rattachent plus précisément à la sous-classe des *Digenea* et à l'Ordre des distomes, caractérisés du point de vue biologique par leur endoparasitisme et leur cycle indirect faisant intervenir un Mammifère et un Mollusque gastéropode, respectivement comme hôtes définitif et intermédiaire. Du point de vue morphologique, les distomes se distinguent par la présence de deux ventouses, une antérieure, ou ventouse buccale, et une postérieure, ou acétabulum. L'Ordre des Distomes se divise en trois sous-ordres : sous-ordre des *Fascioloidea*, des *Schistosomoidea* et des *Paramphistomoidea*. Seuls les membres de ce dernier sous-ordre déterminent les paramphistomoses gastroduodénales des bovins et nous intéressent ici. Il rassemble des individus hermaphrodites au corps épais et conique et dont les ventouses ont une position amphiterminale (l'acétabulum est reporté à l'extrémité postérieure du corps à la différence des *Fascioloidea* où il occupe une position médiale). La figure 1 apporte plus de précisions quant aux caractéristiques morphologiques des *Paramphistomoidea*. Ce sont des parasites obligatoires du tube digestif et leur cycle est dixène. STILES & GOLDBERG (1910) puis MAPLESTONE (1923) (cités par EUZEBY, 1975) ont distingué trois Familles au sein de ce sous-ordre : les Familles des *Paramphistomidae*, des *Gastrothylacidae* et des *Gastrodiscidae*. Les espèces parasites des ruminants appartiennent aux deux premières familles. Elles regroupent des individus au corps conoïde et non divisé tandis que celui des *Gastrodiscidae* est épais mais aplati dorso-ventralement et divisé par une constriction transversale. *Gastrothylacidae* et *Paramphistomidae* se différencient par la présence chez les premiers d'une poche ventrale dont sont dépourvus les *Paramphistomidae*. La famille des *Paramphistomidae* se divise en cinq sous-familles selon les caractéristiques des ventouses, antérieure et postérieure, et des testicules. Certaines de ces sous-familles sont elles-mêmes divisées en tribu. La Famille des *Gastrothylacidae* constitue en revanche un groupe homogène. En Europe n'ont été observés que des parasites de la sous-famille des *Paramphistominae* (ventouse buccale simple) de la tribu des *Paramphistomini* (canal de Laurer

croisé par le canal excréteur) et des genres *Paramphistomum* et *Cotylophoron*. En France, il n'a jusqu'ici été signalé chez les bovins que des parasites du genre *Paramphistomum*. Il se caractérise par l'absence de ventouse génitale ou gonotyle. La position taxinomique de genre des parasites responsables des paramphistomoses gastroduodénales bovines est récapitulée dans le tableau I.

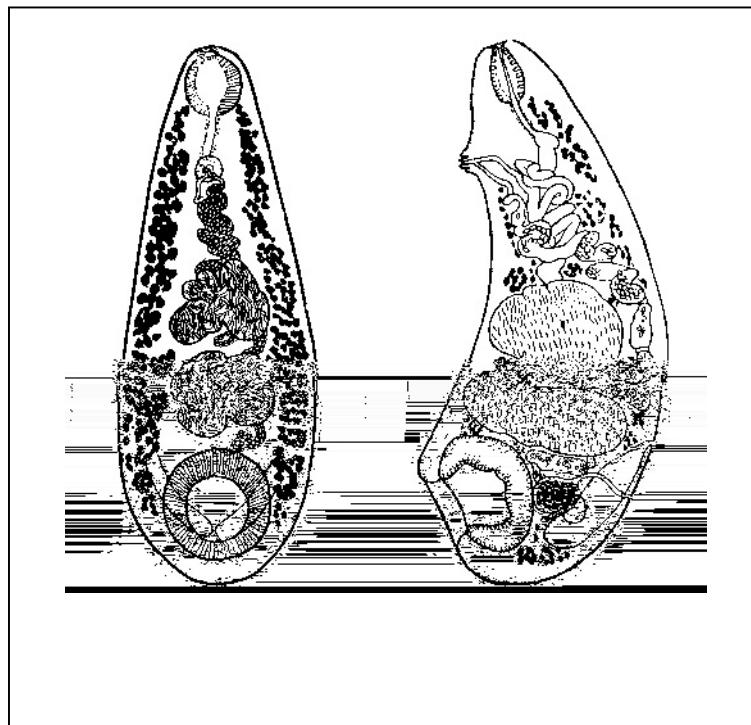


Figure 1 : Morphologie générale d'un *Paramphistomoidea* : *Paramphistomum cervi* (d'après FISCHOEDER – cité par EUZEBY, 1975).

| | | Critères | |
|---------------------|---------------------------|---|--|
| | | Morphologiques | Biologiques |
| Emb | Plathelminthes | Vers plats | |
| Classe | Trématodes | Corps non segmenté ; tube digestif incomplet | Souvent hermaphrodites |
| sous-classe | Digenea | Un seul pore excréteur ; utérus avec de nombreuses circonvolutions, contenant plusieurs oeufs | Cycle hétéroxène ; habituellement endoparasites |
| Ordre | Distome | Deux ventouses | |
| Sous-ordre | Paramphistomoidea | Corps conique ; disposition amphiterminale des ventouses | Hermaphrodites ; parasites obligatoires du tube digestif |
| Famille | Paramphistomidae | Corps conoïde, non divisé ; absence de poche ventrale | |
| Sous-famille | Paramphistomatinae | Ventouse buccale sans diverticule | |
| Tribu | Paramphistomini | Canal de Laurer croisé par le canal excréteur | |
| Genre | Paramphistomum | Absence de gonotyle | |

**Tableau I : Position taxinomique du genre Paramphistomum
(Emb = Embranchement).**

I.1.2. Classification systématique

La classification systématique du genre *Paramphistomum* a fait l'objet de travaux de nombreux auteurs au cours du siècle dernier. Les critères pris en considération ont tout d'abord été d'ordre morphologique chez les parasites adultes. FISCHOEDER (cité par SEY, 1974) a établi la première classification du genre en 1903, en se basant sur certaines propriétés morphologiques et organiques. LOOSS (1912 - cité par SEY, 1974) s'est intéressé à la structure de la partie terminale de l'appareil génital ainsi qu'à d'autres propriétés anatomiques et histologiques, notamment la structure des systèmes lymphatique et excréteur, montrant que ces structures permettaient la différenciation d'espèces morphologiquement proches. En 1923, MAPLESTONE (cité par SEY, 1980), écartant pour des raisons pratiques les caractéristiques proposées par LOOSS, a préféré considérer des caractéristiques anatomiques facilement vérifiables. Mais, l'importance donnée à de simples variations individuelles a surestimé le nombre d'espèces appartenant au genre *Paramphistomum*.

Sur la base des considérations de LOOSS, NÄSMARK (1937- cité par HORAK, 1971) a élaboré une classification systématique des espèces de paramphistomes fondée sur l'examen histologique de coupes sagittales de vers. Il s'est intéressé à leur taille et a donné une importance particulière à la structure des organes musculeux que sont le pharynx, l'atrium génital et l'acétabulum. Ces derniers présenteraient moins de variations individuelles que les structures anatomiques. Il a ainsi pu mettre en évidence plusieurs types de ces organes (Tableaux II et III ; Figures 2 et 3) dont deux sont à retenir pour le pharynx : les types *Liorchis* et *Paramphistomum*, et trois pour l'atrium génital : les types *Microbothrium*, *Ichikawai* et *Gracile*. En ce qui concerne l'acétabulum, quatre groupes ont été définis en fonction des dimensions calculées par l'index acétabulaire (rapport du diamètre de la ventouse buccale sur le diamètre acétabulaire), des fibres musculaires le constituant (Figure 4) et de sa situation par rapport aux axes corporels dorso-ventral et latéro-latéral (JOLY, 1991). Plus tard, DAWES (1946, 1956, 1968 - cité par HORAK, 1971) rattachera la plupart des espèces du genre *Paramphistomum* à *Paramphistomum cervi* ou *P. epiclitum*. Mais, DURIE (1951), SWART (1954) et LENGY (1960) (cités par HORAK, 1971) montreront la validité des espèces mises en synonymies. Cependant, malgré leur importante contribution à l'élaboration de la classification systématique des amphistomes, les travaux de NÄSMARK ne sont pas exempts de critiques. En effet, l'état de relaxation ou de contraction du parasite ainsi que les angles de coupe histologique conditionnent la morphologie et la taille des organes (GUREVICH & al., 1984 - cités par JOLY, 1991).

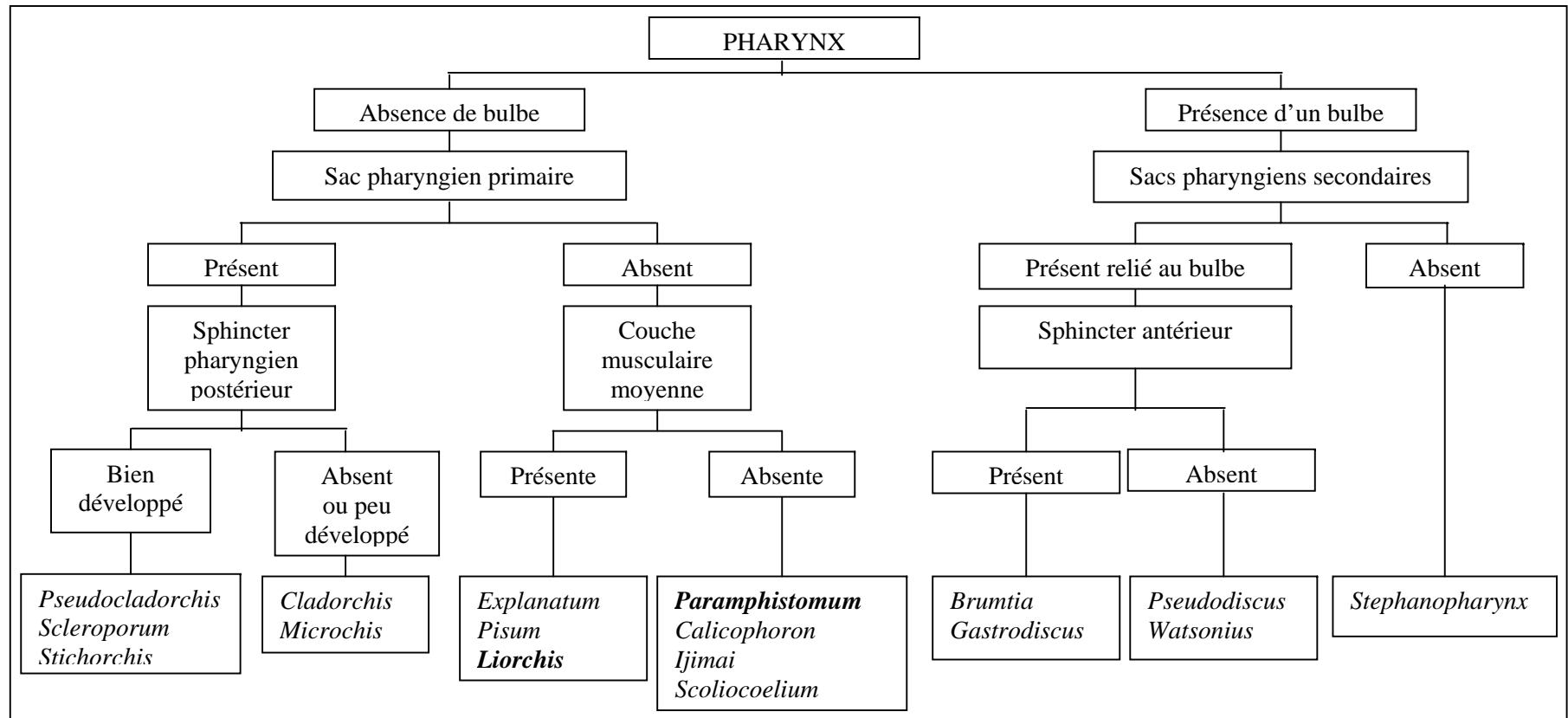


Tableau II: Les différents types de pharynx des amphistomes selon NÄSMARK (1937) : les types à retenir sont en gras.

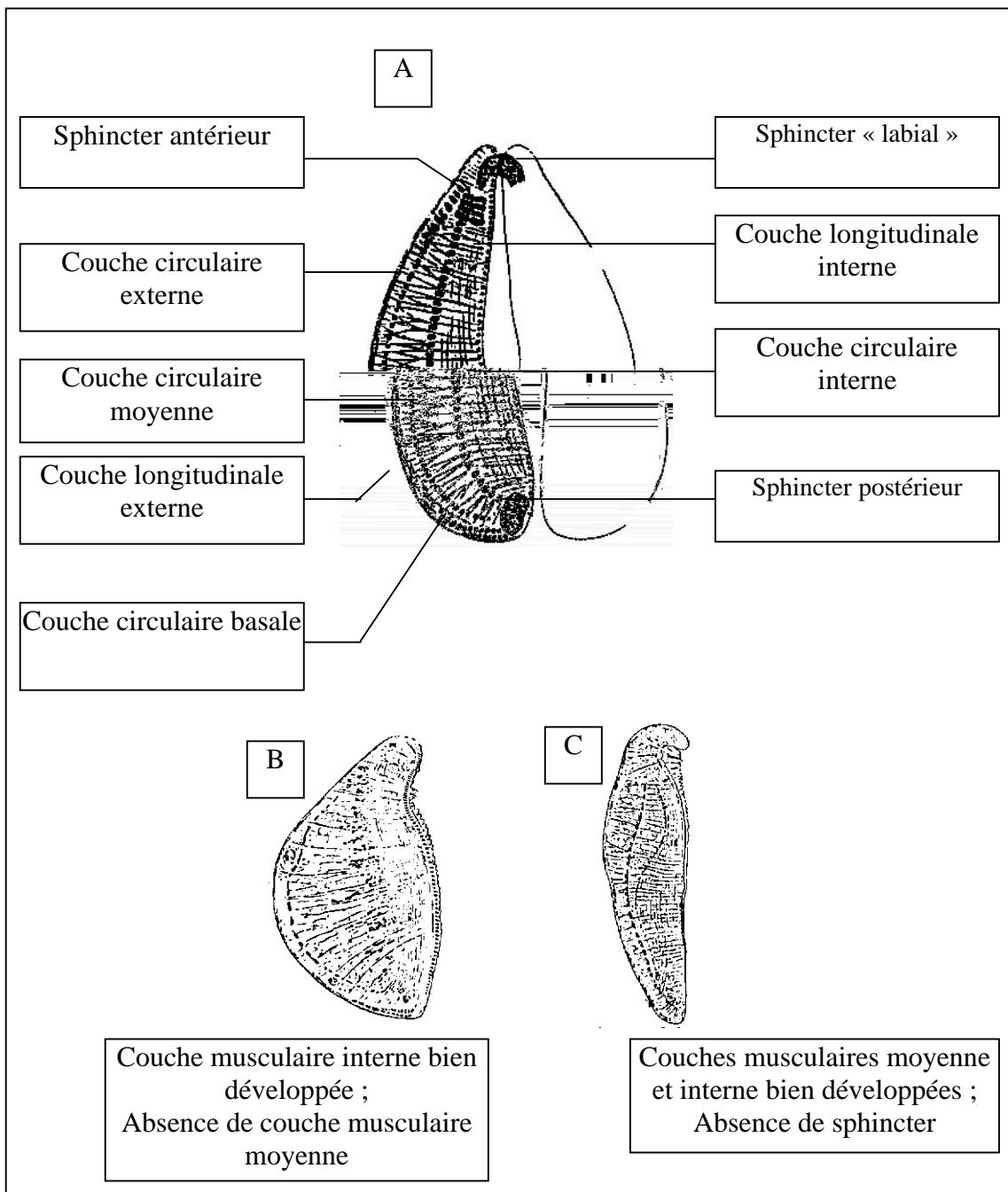


Figure 2 : Pharynx de paramphistomes (d'après NÄSMARK, 1937 - cité par EUZEBY, 1975) :

- A : Morphologie générale ;**
- B : Type *Paramphistomum* ;**
- C : Type *Liorchis*.**

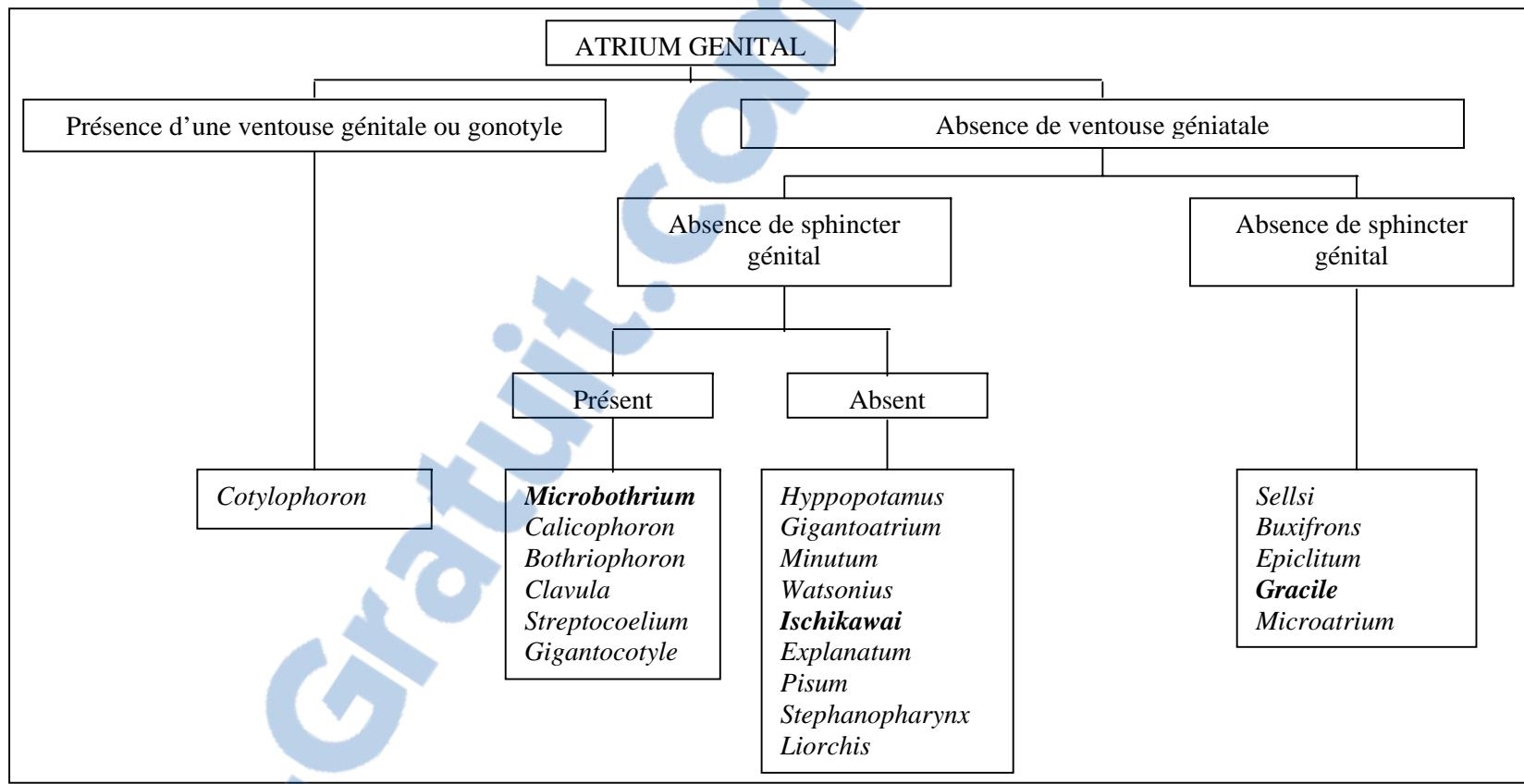


Tableau III : Les différents types d'atrium génital de la sous-famille des *Paramphistomatinae* selon NÄSMARK (1937) : les types à retenir sont en gras.

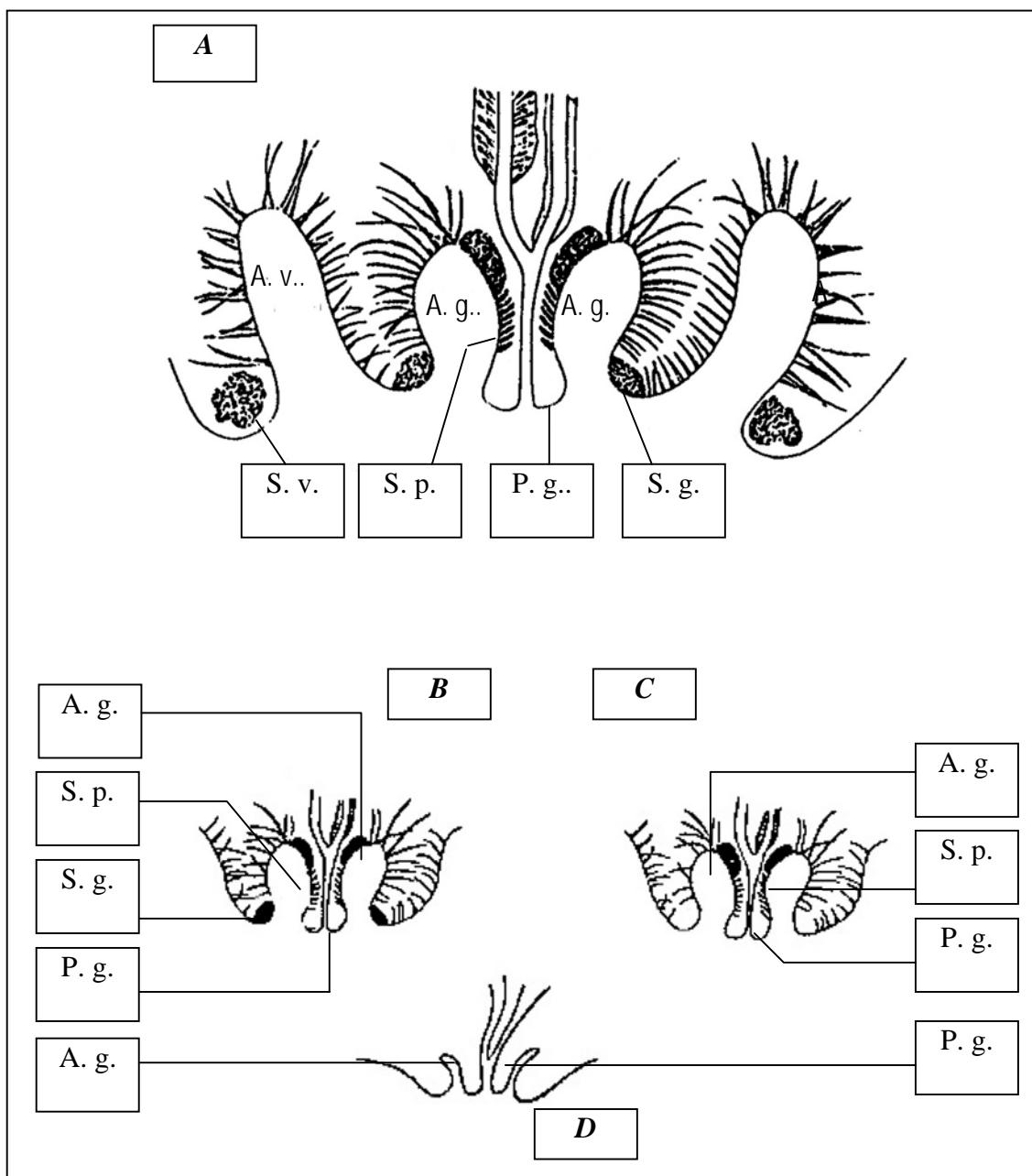


Figure 3 : Atrium génital de paramphistomes (d'après NÄSMARK, 1937 – cité par EUZEBY, 1975) :

**A : Morphologie générale ; B : Type *Microbothrium* ;
C : Type *Ichikawai* ; D : Type *Gracile* ;**

**A. g. = Atrium génital
A. v. = Atrium ventral
S. v. = Sphincter ventral**

**S. p. = Sphincter papillaire
S. g. = Sphincter génital
P. g. = Papille génitale**

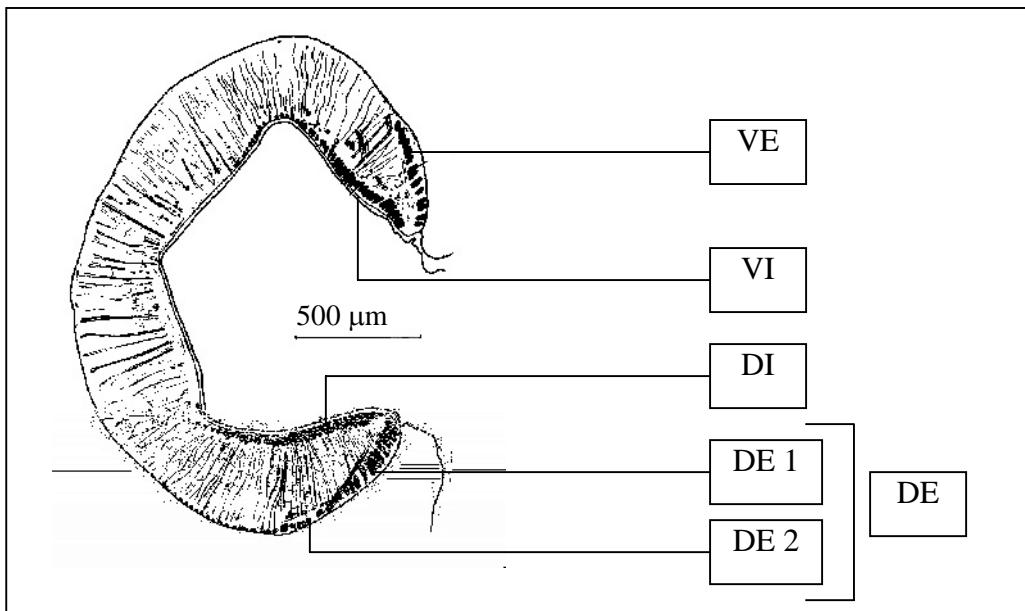


Figure 4 : Coupe médiosagittale de l'acétabulum du genre *Paramphistomum* (*Paramphistomum togolense* ; ALBARET & al., 1978)
(Muscles circulaires : VE = ventraux externes, VI = ventraux internes,
DI = dorsaux internes, DE = dorsaux externes).

Pour SEY (1974, 1980), bien que les caractéristiques morphologiques en soient une base fondamentale, la classification des *Paramphistomidae* doit également tenir compte des particularités des cycles ontogéniques. Il s'est alors attaché à l'aspect écologique de la distribution géographique de ces helminthes ainsi qu'à la nature génétique de l'interaction entre les parasites et leur hôte intermédiaire. En effet, la gamme d'hôte intermédiaire des trématodes est beaucoup plus étroite que celle de leur hôte définitif. Cette spécificité d'hôte intermédiaire varie selon l'espèce et semble être un caractère constant. Il a ainsi fourni de nouvelles clés pour la différenciation des espèces du genre *Paramphistomum* (Tableau IV) et a établi de nombreuses synonymies (Tableau V). Entre temps, EDUARDO (1979) s'est intéressé au revêtement tégumentaire d'onze espèces du genre *Paramphistomum* et les a réparties en quatre groupes selon la présence et les caractéristiques de leurs papilles de surface (Tableau VI). En 1982, le même auteur (cité par ODENING, 1983, et POSTAL, 1984) révise la classification et rattache les espèces *Paramphistomum phillerouxi*, *P. daubneyi*, *P. togolense* et *P. microbothrium* au genre *Calicophoron* après observation de leur revêtement tégumentaire en microscopie à balayage. Il divise également l'espèce *Paramphistomum cervi* en *P. leydeni*, *P. hiberniae* et *P. scotiae*. Ses travaux sont toutefois contestés par ODENING (1983) pour qui l'absence de papilles tégumentaires est due à une altération du tégument. Il conclut

alors que les espèces *Paramphistomum leydeni*, *P. scotiae* et *P. hiberniae* restent synonymes de *P. cervi*.

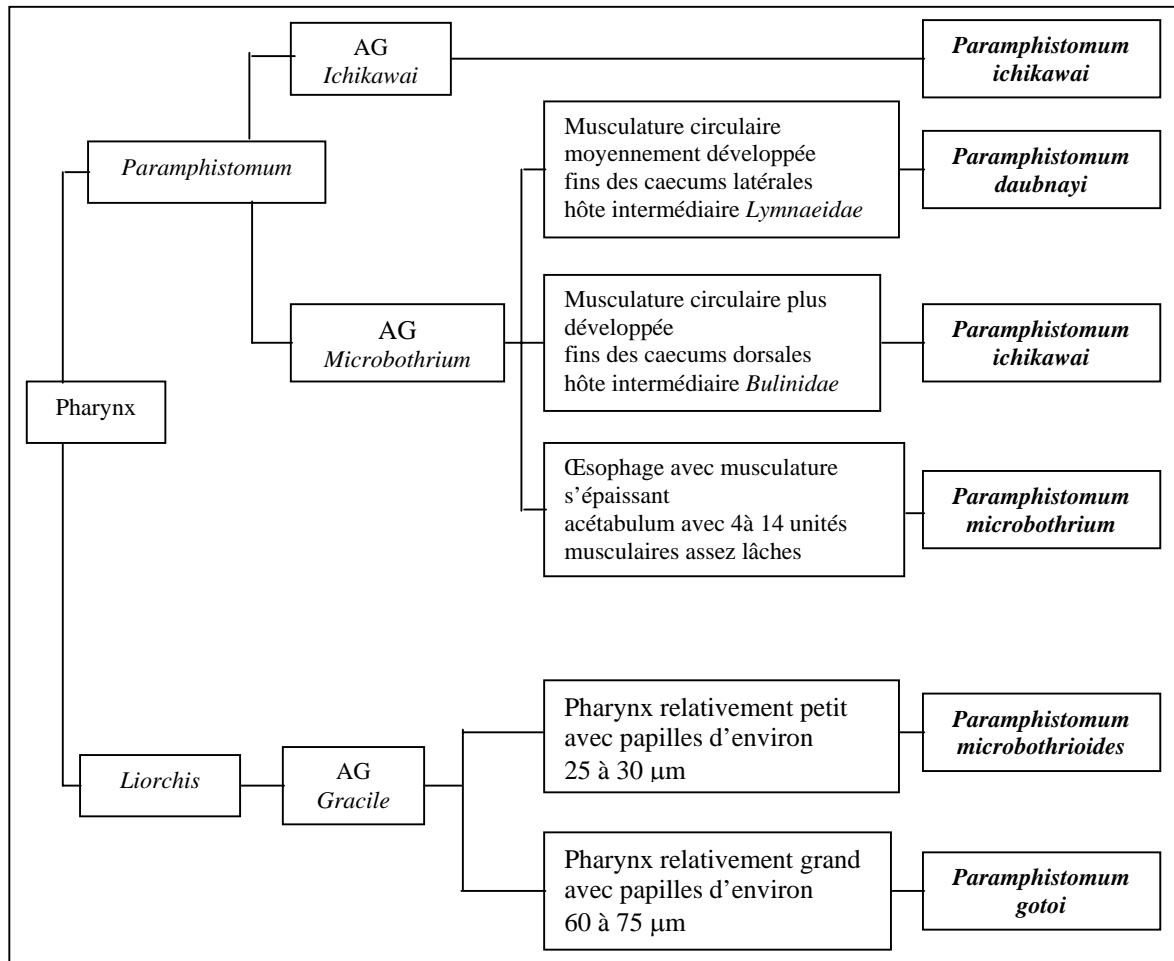


Tableau IV: Clés de détermination des espèces de *Paramphistomum* d'après SEY (1980) (AG = atrium génital).

| Espèces valides | Especes synonymes | |
|---|----------------------------------|--|
| <i>Paramphistomum cervi</i> ZEDER, 1790 | <i>Festucaria cervi</i> | ZEDER, 1790 |
| | <i>Fasciola cervi</i> | SCHRANK, 1790 |
| | <i>Fasciola elaphi</i> | GMELIN, 1791 |
| | <i>Monostoma elaphi</i> | ZEDER, 1800 |
| | <i>Monostoma conicum</i> | ZEDER, 1803 |
| | <i>Amphistomum conicum</i> | RUDOLPHI, 1809 |
| | <i>P. (= Liorchis) hiberniae</i> | WILLMOTT, 1950 |
| | <i>P. leydeni</i> | NÄSMARK, 1937 |
| | <i>P. (= Liorchis) scotiae</i> | WILLMOTT, 1950 |
| <i>Paramphistomum daubneyi</i> DINNIK, 1962 | <i>Calicophoron ijimai</i> | MIHAILOVA & al., 1974 |
| | <i>Cotylophoron corylophorum</i> | GENTILE & al., 1977 |
| | <i>P. botriophoron</i> | MIHAILOVA & al., 1974 |
| | <i>P. clavula</i> | MIHAILOVA & al., 1974 |
| | <i>P. microbothrium</i> | KOTLAN, 1958 ; MEREMINSKII & VISHNYAKOV, 1969 ; VISNNYAKOV & al., 1971 ; GENOV, 1971 ; KORTLA & al., 1974 ; MIHAILOVA & al., 1974 ; KAMBUROV & OSSIKOVOSKI, 1976 ; VASSILEV & SAMNALIEV, 1974, 1978 |
| <i>Paramphistomum ichikawai</i> FUKUI, 1922 | <i>Cotylophoron corylophorum</i> | MAROTEL & GRATECOS, 1938 ; GUILHON & PRIOUZEAU, 1945 ; POPOV & al., 1967 ; EUZEBY, 1973 |
| | <i>Cotylophoron vigisi</i> | DAVYDOLA VELICKO, 1963 |
| | <i>Orthocoelium coliocoelium</i> | ERHARDOVA, 1964 ; MIHAILOVA & al., 1974 |
| <i>Paramphistomum microbothrium</i> FISCHOEDER, 1901 | <i>P. pigmentatum</i> | ODENING, BOCKHARDT & GRÄFNER, 1979 |
| | <i>Cercaria pigmentata</i> | SONSINO, 1982 |
| | <i>P. cervi</i> | BRUMPT, 1936 ; MAPLESTONE, 1923 ; STURKARD, 1929 ; SPREHN, 1932 |

Tableau V : Espèces du genre *Paramphistomum* valides et mises en synonymie d'après SEY (1980) et POSTAL (1984).

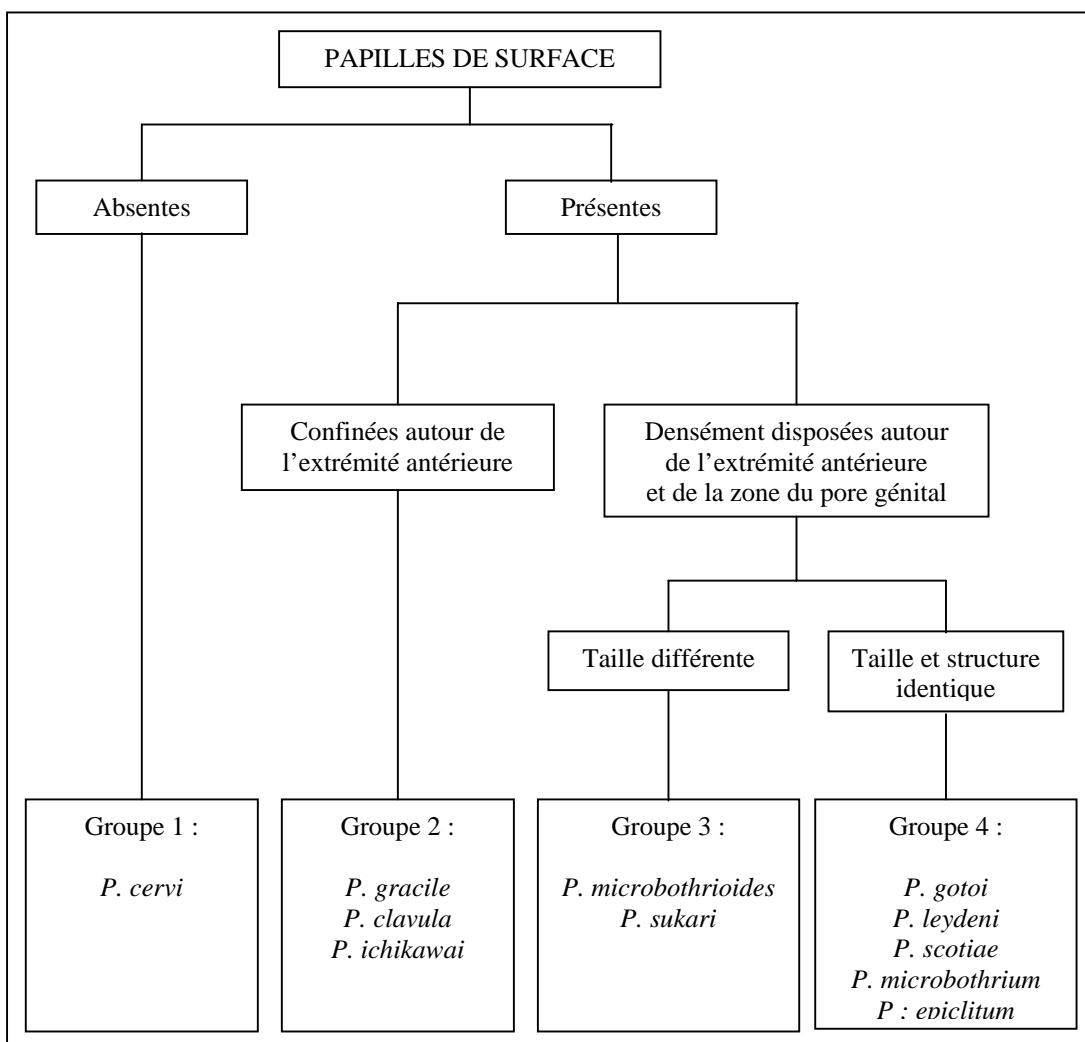


Tableau VI : Classification systématique des espèces du genre *Paramphistomum* selon la présence et les caractéristiques des papilles du revêtement tégumentaire d'après EDUARDO (1979).

Mais face à l'instabilité et la valeur relative controversée de la morphologie et de l'histologie des formes adultes, certains auteurs se sont penchés sur l'étude des organites argyrophiles (papilles sensorielles, pores excréteurs et ouvertures de glandes) des formes larvaires, particulièrement cercaires et miracidiums, en les imprégnant au nitrate d'argent. Les papilles sensorielles des cercaires apparaissent alors comme de petits cercles bruns dont la répartition est définie selon la méthode suivante :

- région céphalique : papilles C ;
- région corporelle : papilles A et M ;
- région acétabulaire : papilles S ;
- région caudale : papilles U.

Pour illustrer cette description nous prendrons comme exemple la structure argyrophile de la cercaire de *Paramphistomum togolense*, première cercaire du genre *Paramphistomum* à avoir fait l'objet de telles investigations (Figure 5).

Cette méthode a été appliquée par de nombreux auteurs sur différentes espèces du genre *Paramphistomum*, permettant ainsi de distinguer des espèces dont la détermination des formes adultes étaient sujettes à controverse (Tableau VII). De plus, elle a fourni un argument réfutant l'appartenance des espèces *Paramphistomum phillerouxi*, *P. daubneyi* et *P. microbothrium* au genre *Calicophoron* avancée par EDUARDO en 1982 (SAMNALIEV & al., 1984). En effet, les structures argyrophiles des miracidiums de ces espèces sont identiques entre elles, elles sont caractéristiques du genre *Paramphistomum* et diffèrent de celles du miracidium du genre *Calicophoron* au niveau du térebratorium (Tableau VIII) (SWART, 1967). Elles permettent également, entre autres critères, la différenciation d'avec le genre *Fasciola* comme nous le verrons lors de l'étude morphologique des miracidiums du genre *Paramphistomum* (Figures 6 et 7) .

Enfin, certains auteurs utilisent la séparation des protéines par électrophorèse, s'appuyant sur le fait que la composition protéique d'un organisme reflète sa composition génétique. Ainsi, pour chaque paramphistome, le nombre des bandes protéiques et leur schéma de migration sont particuliers et spécifiques, permettant la séparation ou la mise en synonymie d'espèces controversées de différents genres de trématodes (YOSHIMORA & al., 1970 ; KLIMENKO & VELICHKO, 1972 - cités par MAQBOOL-ALAM & NIZAMI, 1988). Les profils électrophorétiques des protéines hydrosolubles de *Paramphistomum microbothrium*, *P. cervi* et *P. microbothrioides* ont été étudiés par OSIKOVSKI & al. (1978 - cités par MAQBOOL-ALAM & NIZAMI, 1988) : *P. microbothrium* montre 18 bandes, *P. cervi* 16 et *P. microbothrium* 19. MAQBOOL-ALAM & NIZAMI

(1988) ont de la même manière étudié le profil protéique de *Paramphistomum epiclitum* qui montre 12 bandes.

Ainsi, de très nombreuses classifications systématiques du genre *Paramphistomum* ont été proposées et sont parfois contradictoires. Nous ne sommes pas en droit de porter un jugement sur la validité de ces diverses classifications. Pour des raisons de simplicité, nous choisirons la classification de SEY (1980).

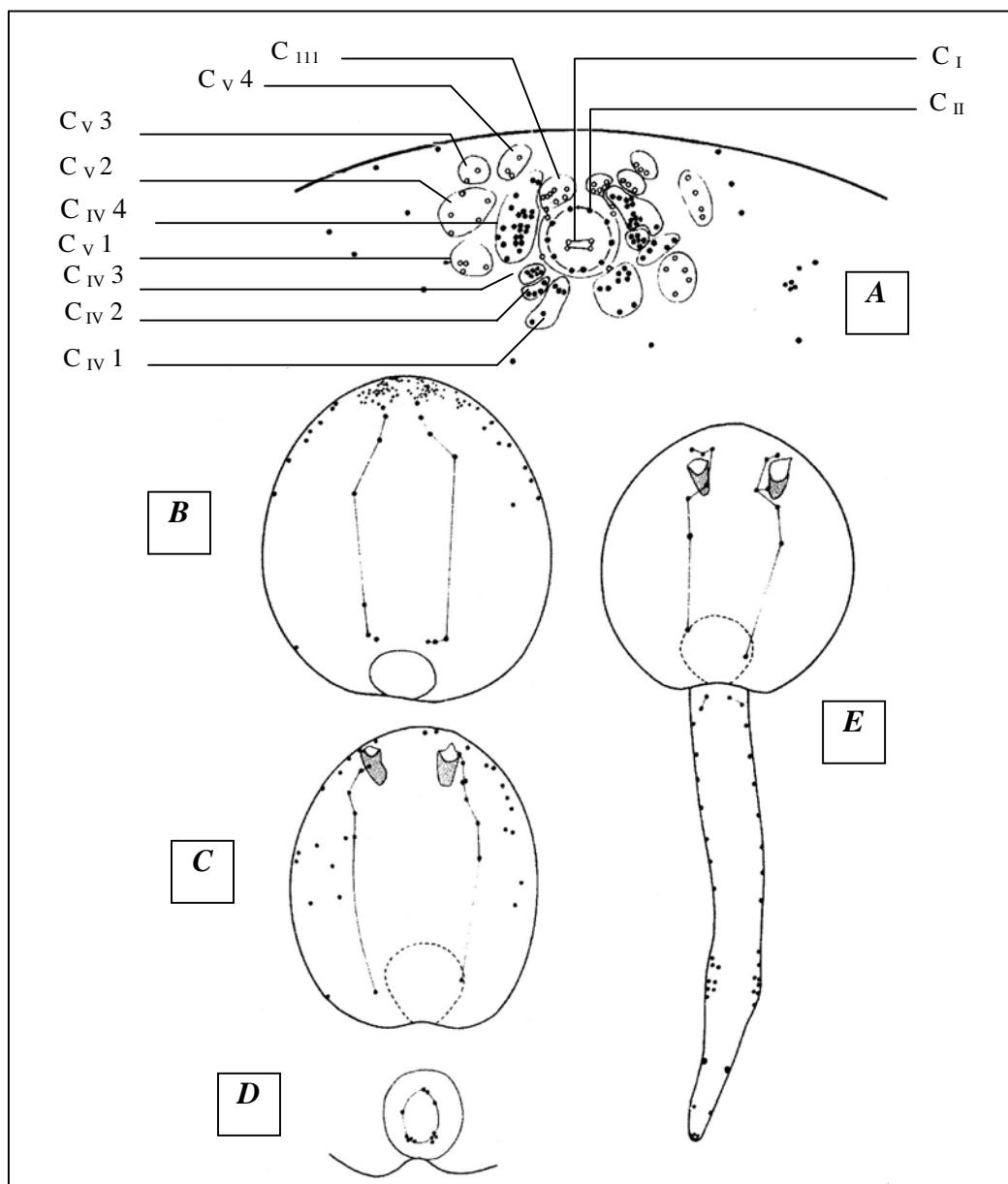


Figure 5 : Structures argyrophiles de la ceraire de *Paramphistomum togolense* (ALBARET & al., 1978) :

A : Région céphalique, vue ventrale
B : Région corporelle, vue ventrale
C : Région corporelle, vue dorsale

D : Détail de l'acétabulum
E : région corporelle, vue dorsale, et papilles caudales

| Espèces de paramphistomes | | <i>P. togolense</i> | <i>P. phillerouxi</i> | <i>P. daubneyi</i> | <i>P. microbothrium</i> | <i>P. leydeni</i> | <i>P. microbothrioides</i> | <i>P. cervi</i> |
|---------------------------|-------|---------------------|-----------------------|--------------------|-------------------------|-------------------|----------------------------|-----------------|
| Régions | | | | | | | | |
| Cph | I | 4 | 4 | 6 | 4 | 4 | 6 | 4 |
| | II | 10-12 | 8-14 | 12 | 12 | 12 | 12 | 9-10 |
| | III | 12-16 | 6-16 | 4 | 6 | 2 | 6 | 6 |
| | IV | 70-96 | 35-33 | 56-66 | 52-67 | 47-52 | 58-90 | 66-70 |
| | V | 26-32 | | 18-24 | 39-65 | 43-51 | 16-20 | 40 |
| Cp | V | A | I | 4 | 2 | 0-2 | 2 | 2 |
| | | | II | 2 | 2 | | 2 | 0-2 |
| | | | III | 4 | | | 0-2 | 0-2 |
| | | | I | | | | | |
| | | M | I | | 2-4 | 2 | 2 | 2-6 |
| | | | II | | | 2 | 4-6 | 0-2 |
| | | | III | | 2-6 | | | 0-4 |
| | | | I | | | | 0-2-6 | |
| | L | A | I | | 12-18 | 2-4 | 8-10 | 4-6 |
| | | | II | | | | | 6-12 |
| | | | III | | | 0-2 | | 2-4 |
| | | | I | | | | | 2 |
| | | M | I | | 2-4 | | | |
| | | | II | | 2 | | | |
| | | | III | | | | | |
| | | | I | | | | | |
| D | A | I | 4-6 | 6-8 | 2-4 | 8-12 | 8-10 | 8-10 |
| | | II | 4 | | 2-6 | 4 | 8-10 | 4-8 |
| | | III | 4 | | 2-4 | 2 | 6 | 0-2 |
| | | I | | | | | | 0-2 |
| | | M | I | | 2-4 | 2 | 6 | 4-6 |
| | | | II | | 2-6 | 2 | 6-8 | 0-2 |
| | | | III | | | | | 2-4 |
| | | | I | | 4 | | | 4-8 |
| Ac | SI | | | 6-8 (9-10) | | | 6-7 | 6 |
| | SII | | | 6-8 (9-10) | | | 6-7 | 6 |
| | SIII | | | 6-8 | | | 6-7 | 6 |
| | Total | 12 | 5-10 | 18-27 | 18-22 | 36-39 | 18-21 | 18 |
| Cd | UD | 37-47 | | 4-6 | 4 | 4 | | |
| | UDL | | | 4-14 | 44-56 | 50-54 | | 41 |
| | UVL | | | 2 | | | | |
| | UT | 5 | 5-6 | 0-1 | 5-6 | 4-5 | 2-4 | 2-3 |
| | Total | 37-47 | 37-42 | 10-21 | 53-65 | 58-63 | 44-52 | 43-51 |
| Références | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |

Tableau VII : Structures argyrophiles des cercaires de sept espèces du genre

Paramphistomum : localisation et nombre des papilles sensorielles.

(Cph = Céphalique : papilles C ; Cp = Corporelle : papilles A et M ;

Ac = Acétabulaire : papilles S ; Cd = Caudale : papilles U ;

V = Ventrale ; L = Latérale ; D = Dorsale ; T = papilles de l'extrémité caudale)

(1 = ALBARET & al. (1978) ; 2 = ALBARET & al. (1981) ; 3 = SAMNALIEV & al. (1981) ; 4 = DIAW & al. (1983) ; 5 = SAMNALIEV & al. (1984) ; 6 = SAMNALIEV & al. (1986) ; 7 = ALBARET & al. (1987)).

| Structures argyrophiles du térébratorium | Genre <i>Calicophoron</i> | Genre <i>Paramphistomum</i> |
|--|--|--|
| Agrégations (a) et (b) du groupe 4 | Présentes | Absentes |
| Nombre total de papilles | 39 à 42 au moins >5 / <i>P. microbothrium</i> | 29 à 34 |
| Deux grandes papilles des agrégations (b) et (d) du groupe 1 | plus petites que la papille centrale (c) | plus grandes que la papille centrale (c) |

Tableau VIII : Critères de différenciation des genres *Calicophoron* et *Paramphistomum* d'après SWART (1967).

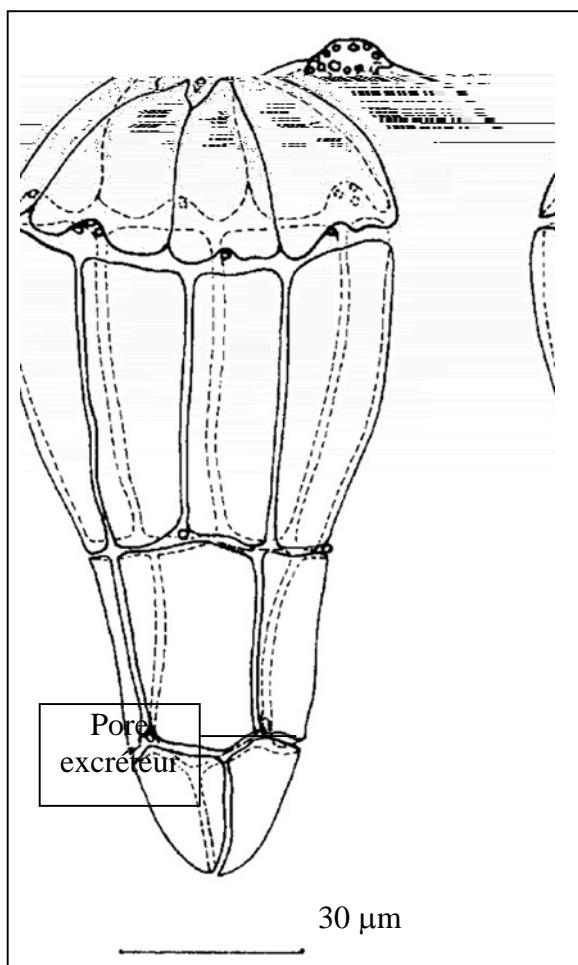


Figure 6 : Structures argyrophiles du miracidium du genre *Paramphistomum* (*Paramphistomum daubneyi* ; SAMNALIEV & al., 1981) : 4 rangées de cellules épidermiques.

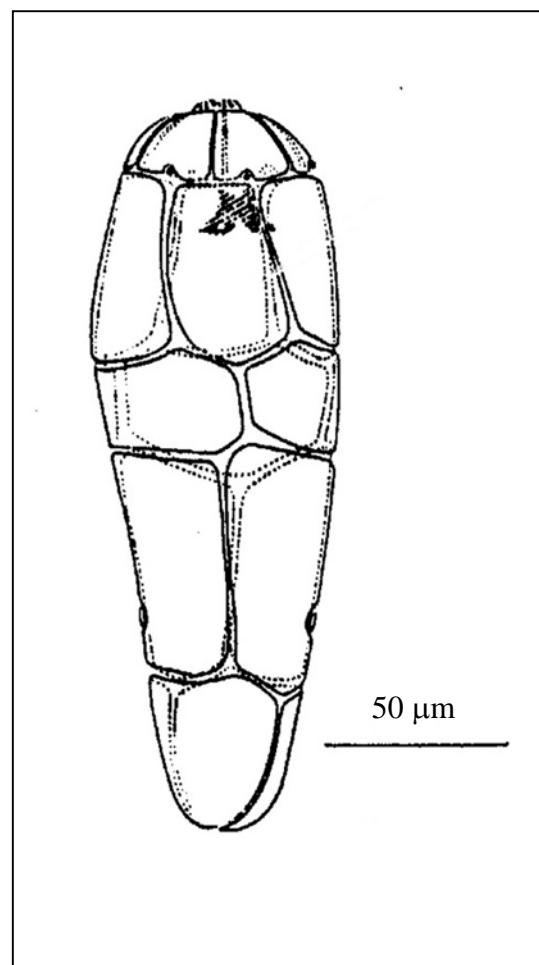


Figure 7 : Structures argyrophiles du miracidium de *Fasciola* sp. (d'après ALBARET & al, cités par JOLY, 1991) : 5 rangées de cellules épidermiques.

I.2. Aspect morphologique et anatomie

Nous avons évoqué antérieurement que les espèces signalées en France comme responsables de paramphistomoses gastroduodénales chez les bovins appartiennent toutes au genre *Paramphistomum*. Nous nous bornerons donc, par la suite, à l'étude de ce genre.

I.2.1. Adultes

I.2.1.1. Morphologie

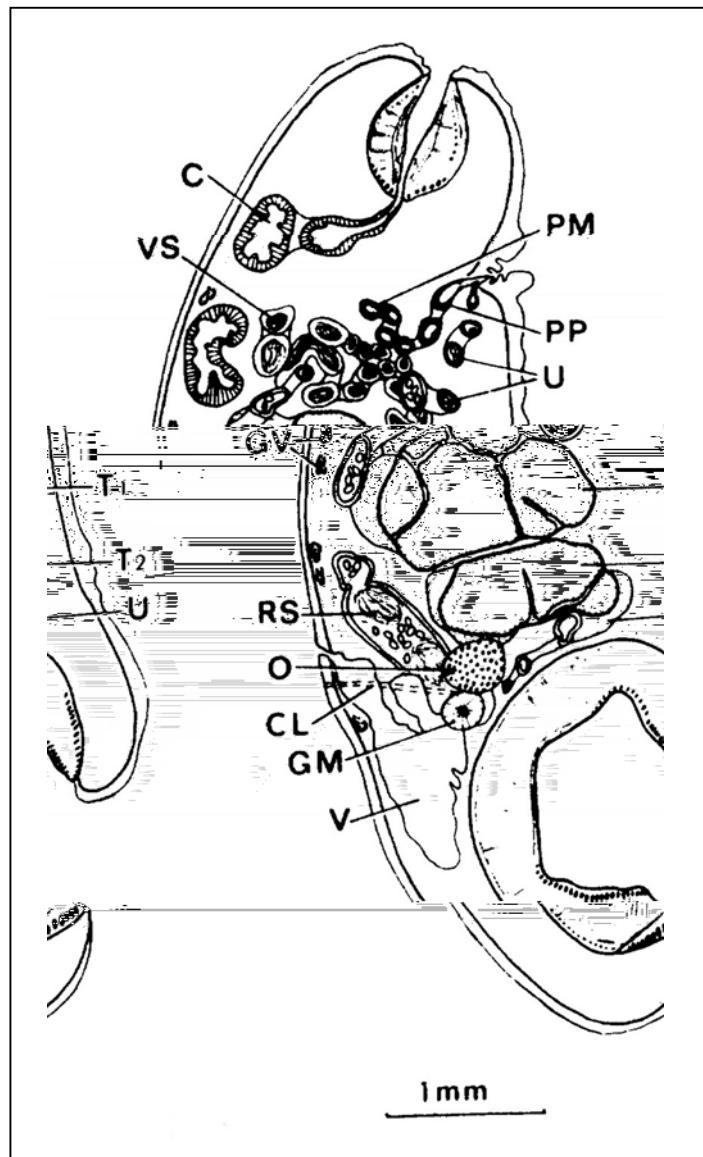
Les éléments de la taxinomie vus dans le chapitre précédent donnent le schéma général de la morphologie des adultes du genre *Paramphistomum*.

Il s'agit de vers plats, puisque acelomates, mais cependant charnus, et de couleur rosée à l'état frais en raison de leur régime alimentaire.

Leur corps (Figure 8) est de forme conique, à la différence de celui d'autres trématodes qui peut être cylindrique ou foliacé. Elargi à son extrémité postérieure pour s'atténuer antérieurement, il se caractérise par sa convexité dorsale et sa légère concavité ventrale. Il porte, comme chez tous les membres de l'Ordre des distomes, deux ventouses circulaires musculeuses, l'une antérieure ou ventouse buccale, l'autre ventrale ou acétabulum. Ces ventouses sont situées chacune à une extrémité du corps. Il est en revanche dépourvu de ventouse génitale ou gonotyle, caractéristique du genre *Cotylophoron*.

La taille moyenne de ces vers est de 5 à 15 mm de longueur sur 2 à 4 mm d'épaisseur maximale (EUZEBY, 1975). Cependant, elle connaît des variations inter et intraspécifiques (Tableau IX). Elle est également influencée par des facteurs environnementaux tels que l'espèce de l'hôte définitif et la charge parasitaire: plus la quantité de formes infestantes ingérées est importante, plus la taille des parasites adultes diminue (DEIANA & al., 1962 - cités par JOLY, 1991 ; HORAK, 1971). On parle d'effet « de foule ».

Après ces considérations sur la morphologie des parasites adultes, nous allons envisager plus en détail l'anatomie et l'histologie successivement de l'acétabulum, du tégument, des cellules neurosécrétrices et des appareils digestif, excréteur, circulatoire et reproducteur.



**Figure 8 : Coupe sagittale d'un membre du genre *Paramphistomum* :
Paramphistomum togolense (ALBARET & al., 1978).**

C = cæcum

CL = canal de Laurer

GM = glande de Melhis

GV = glandes vitellogènes

O = ovaire

PM = *pars musculosa*

PP = *pars prostatica*

RS = réceptacle séminal

T 1 = testicule antérieur

T 2 = testicule postérieur

U = utérus

V = vessie

| Espèces de paramphistomes | | Longueur moyenne du corps en mm | Largeur moyenne du corps en mm | Références |
|--|--|---------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| Valides * | Synonymes* | | | |
| <i>P. cervi</i> ZEDER, 1790 | - | 6-12 | 2-4 | EUZE BY (1975) |
| | <i>P. scotiae</i> WILLMOTT, 1950 | 5 | 2,6 | EUZE BY (1975) |
| | <i>P. hiberniae</i> WILLMOTT, 1950 | 4-7 | 1,5-2 | EUZE BY (1975) |
| | <i>P. leydeni</i> NÄSMARK, 1937 | 6,5 | 3 | EUZE BY (1975) |
| <i>P. daubneyi</i> DINNIK, 1962 | | 6,4 | 2,4 | SEY (1974) |
| <i>P. ichikawai</i> FUKUI, 1922 | | 4,4 | 1,5-3,3 | SEY (1974) |
| <i>P. microbothrium</i> FISCHOEDER, 1901 | | 8-11 | 3,7 | EUZE BY (1975) |
| <i>P. microbothrioides</i> PRICE & MACINTOSH, 1944 | | 5-7 | 3 | EUZE BY (1975) |
| <i>P. gotoi</i> FUKUI, 1922 | | 5,1 | 2-3 | NÄSMARK (1937)** |

* selon SEY (1980)

** cité par JOLY (1991)

Tableau IX: Variations inter et intraspécifiques de la taille corporelle des espèces du genre *Paramphistomum*.

I.2.1.2 Acétabulum

La présence de ventouses constitue une adaptation morphologique de certains parasites pour se maintenir dans leur localisation définitive. Tel est le cas de la plupart des cestodes adultes ainsi que des principaux trématodes parasites des animaux de production. Dans le genre *Paramphistomum*, comme chez les autres trématodes, c'est la ventouse postérieure ou acétabulum qui joue le rôle d'organe de fixation (Figure 9).

Il fait partie des trois organes musculeux, avec le pharynx et l'atrium génital, employés par NÄSMARK (1937 - cité par HORAK, 1971) pour positionner le genre *Paramphistomum*. Ne subissant que peu de variabilité morphologique entre l'état de contraction et l'état de relaxation du ver, il peut être utilisé avec une certaine fiabilité dans la détermination du genre. En revanche, il ne permet pas la diagnose d'espèce.

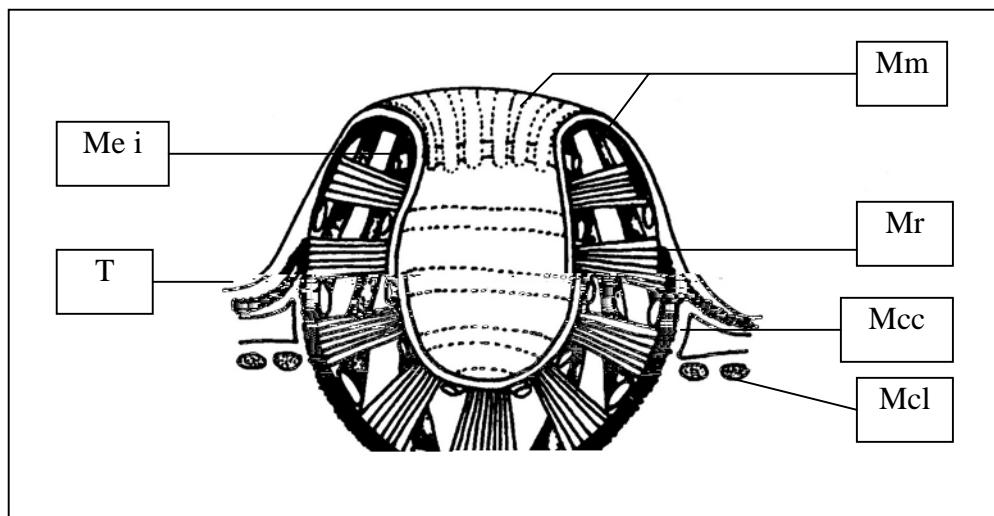


Figure 9 : Stéréogramme type d'un acétabulum de trématode (*Fasciola hepatica*) d'après SMYTH & HALTON, 1983 (cités par JOLY, 1991).

Mcc = muscle corporel circulaire

Mcl = muscle corporel longitudinal

Mei = muscle équatorial interne

Mm = muscle méridional

Mr = muscle radial

T = tégument

Dans le genre *Paramphistomum*, l'acétabulum est de type paramphistome, type qui appartient au deuxième des quatre groupes établis par NÄSMARK (1937 - cité par JOLY, 1991).

La figure 10 donne une représentation de la structure d'un acétabulum de type paramphistome.

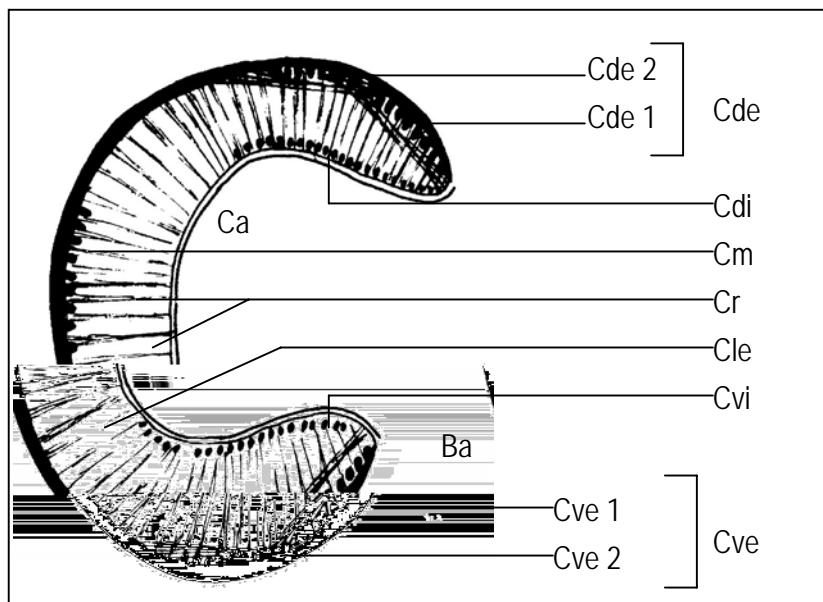


Figure 10 : Coupe longitudinale théorique d'acétabulum de paramphistome : type paramphistome (d'après NÄSMARK, 1937 – cité par JOLY, 1991).

Ba = bord acétabulaire
Ca = cavité acétabulaire
Cde = couche circulaire dorsale externe
Cde 1 = fibres circulaires dorsales externes de type 1
Cde 2 = fibres circulaires dorsales externes de type 2
Cdi = couche circulaire dorsale interne
Cle = Couche longitudinale externe

Cm = couche circulaire médiane
Cr = couches radiales
Cve = couche circulaire ventrale externe
Cve 1 = fibres circulaires ventrales externes de type 1
Cve 2 = fibres circulaires ventrales externes de type 2
Cvi = couche circulaire ventrale interne

I.2.1.3. Tégument

➤ Structure

Le tégument de quatre espèces du genre *Paramphistomum* a fait l'objet d'études en microscopie : *Paramphistomum ichikawai* (ZHARIKOV, OREKHOV & KORNEICHIK, 1974 - cités par DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987 a), *P. epiclitum* cité sous le nom de *Srivastavaia indica* (DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987 a; MATTISON, HANNA & NIZAMI, 1994), et *P. cervi* (SHARMA & HANNA, 1988).

En microscopie optique, le tégument apparaît épais et non épineux à la différence du tégument de *Fasciola hepatica*. Il se compose de nombreux plis arrangés en sillons concentriques et en arêtes. Ces arêtes portent des papilles en forme de dôme particulièrement abondantes autour de l'ouverture buccale et autour des marges de l'acétabulum.

En microscopie électronique, la surface du tégument révèle de nombreuses excroissances ou tubercules, étroitement serrés. Ils fusionnent occasionnellement pour former un réseau de fines crêtes dans la région apicale des papilles (Figure 11). Deux types de papilles sont visibles : un type cilié et un type non-cilié, chacun des deux types étant associé à des structures sensorielles (Figures 12 et 13).

L'ultrastructure du tégument ressemble à celle des autres trématodes. On retrouve, de l'extérieur vers l'intérieur, un syncytium et une zone subsyncytiale reliés à des cellules tégumentaires sous-jacentes situées sous la musculature superficielle (Figure 14).

Le syncytium couvre la surface externe du ver et tapisse également l'acétabulum, le pharynx, l'œsophage, l'atrium génital, le métraterm, le canal de Laurer et la portion proximale du canal excréteur. Sa structure y est fondamentalement identique, mis à part quelques spécialisations que nous verrons lors de l'étude des différents appareils correspondants. Il est limité distalement par une membrane apicale recouverte d'un glycocalyx filamenteux. Cette membrane est élevée en de nombreux tubercules courts. Les tubercules augmentent l'aire de surface du syncytium mais de façon moins importante que les vallées, les arêtes, les creux et les canaux tubulaires présents sur le tégument de *Fasciola hepatica* ou de *Schistosoma mansoni* (THREADGOLD, 1984 ; HOCKLEY, 1973 - cités par SHARMA & HANNA, 1988). Le cytoplasme du syncytium, anucléé, est dense et finement granuleux. Il contient deux types de corps d'inclusions : un type T1, en forme de disque électroclair, et un type T2, ovoïde ou sphérique et électrodense.

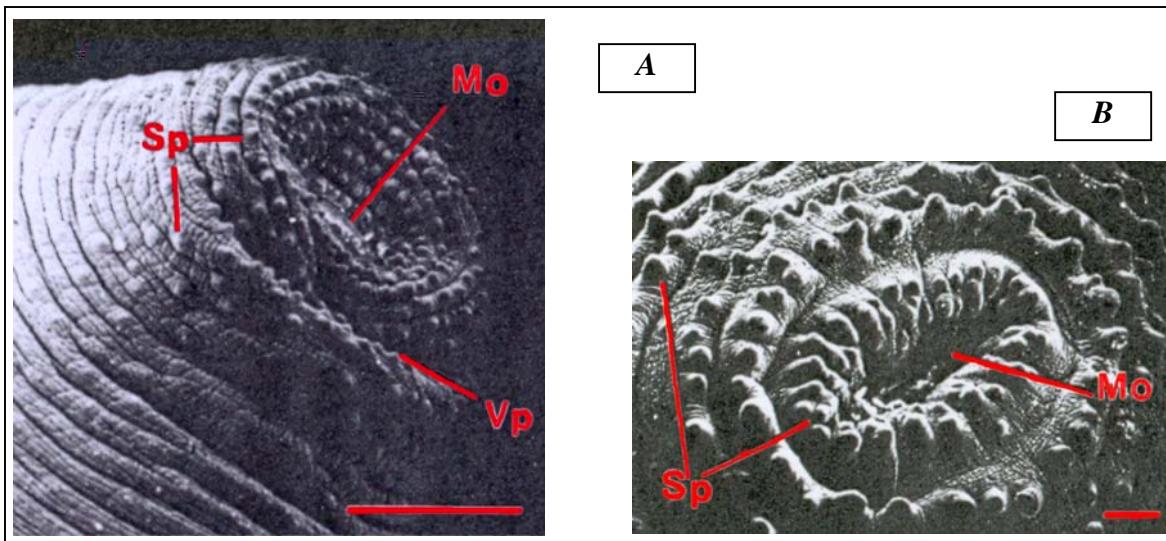


Figure 11 : Observation en microscopie électronique à balayage des parties antérieures de *Gastrothylax crumenifer* (A) et *Gastrodiscoides hominis* (B) : des excroissances fusionnent occasionnellement pour former un réseau de fines crêtes dans la région apicale des papilles(DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987 ; BRENNAN, HANNA & NIZAMI, 1991).

Sp = papille sensorielle

Mo = ouverture orale

V = ouverture de la poche ventrale

échelle A : 50 µm

échelle B : 52,6 µm

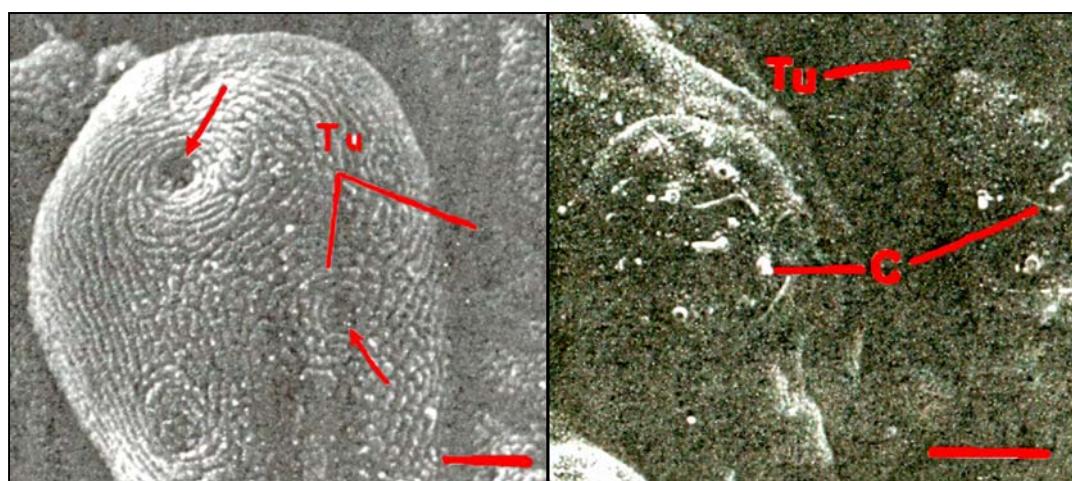


Figure 12 : Image en microscopie électronique à balayage d'une structure sensorielle tégumentaire de type non ciliée chez *Gastrothylax crumenifer* (DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987)

(Tu = tubercule ; flèches : creux ; échelle : 2 µm).

Figure 13 : Image en microscopie électronique à balayage d'une structure sensorielle tégumentaire de type ciliée chez *Gastrothylax crumenifer* (DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987)

(Tu = tubercule ; C = cil ; échelle : 1 µm).

Aucune mitochondrie n'est visible. Du côté proximal, le syncytium est limité par une membrane basale et une lamina fortement plissées. Elles projettent à l'intérieur du cytoplasme des extensions digitiformes. Certaines s'étendent presque jusqu'à la membrane plasmique externe. Membrane basale et lamina séparent le syncytium externe de la zone subsyncytiale. Celle-ci est essentiellement composée de tissu conjonctif fibreux interstitiel. Elle est traversée par de nombreuses extensions des cellules parenchymateuses sous-jacentes, remplies de mitochondries, ainsi que par des trabécules provenant des cellules tégumentaires et qui les relient au syncytium. Les cellules tégumentaires sont de deux types selon la nature de leurs corps d'inclusions et sont désignées sous les noms de cellules T1 et T2. Un troisième type de cellules tégumentaires ne contenant aucun corps d'inclusion a été mis en évidence chez *Paramphistomum cervi* par SHARMA & HANNA (1988). Il s'agirait selon eux de cellules embryonnaires. Le cytoplasme des cellules tégumentaires ne contient aucune mitochondrie. Leur membrane forme des complexes jonctionnels avec les cellules parenchymateuses adjacentes, jonctions qui ne sont pas observées entre cellules tégumentaires voisines.

La musculature corporelle, séparant la zone subsyncytiale des cellules tégumentaires, est composée de nombreux amas de fibres musculaires circulaires externes et longitudinales internes.

➤ Fonctions

Le tégument des parasites du genre *Paramphistomum*, malgré une structure générale semblable à celle rencontrée chez d'autres trématodes, semble n'avoir qu'un potentiel d'absorption limité compte tenu des caractéristiques du syncytium tégumentaire : absence de mitochondries dans son cytoplasme et développement réduit de sa surface. Seules les mitochondries présentes dans les extensions des cellules parenchymateuses qui traversent la zone subsyncytiale pourraient fournir l'énergie nécessaire à une telle activité. Toutefois, il semble logique que cette fonction d'absorption du tégument ne soit pas développée compte tenu de la localisation intra-ruminale des parasites adultes. En effet, le fluide ruminal ne contient que très peu de glucose et d'acides aminés. Par contre, le tégument intervient dans la régulation ionique et osmotique comme le laissent penser les replis de la membrane basale et de la lamina du syncytium (DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987 a).

Les cellules tégumentaires interviennent dans la synthèse des protéines et des corps d'inclusions T1 et T2. Etant donné l'absence de mitochondries dans leur cytoplasme, il est probable que l'énergie ainsi que les acides aminés et les monosaccharides nécessaires à cet anabolisme soient transportés activement depuis le parenchyme environnant grâce aux phosphatases membranaires.

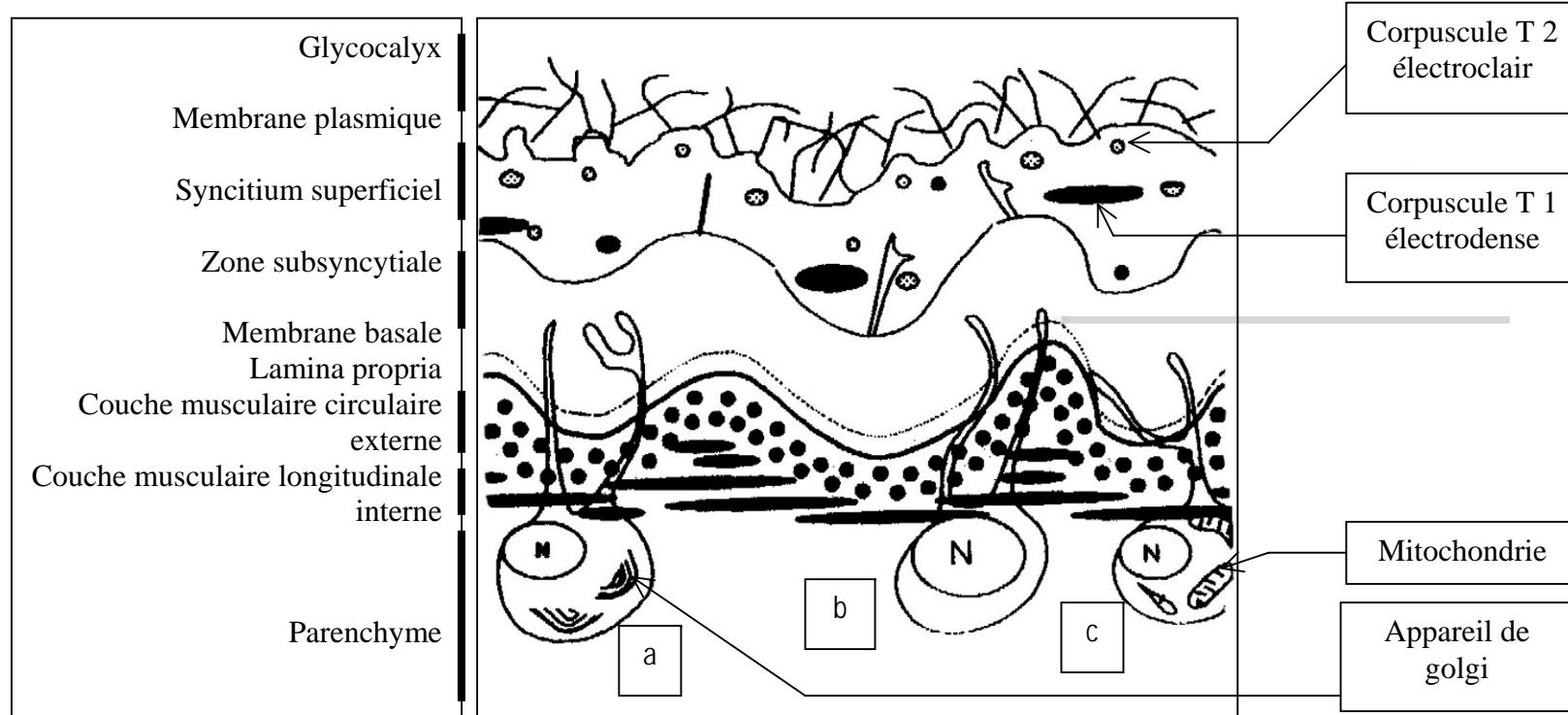


Figure 14 : Schéma de l'ultrastructure du tégument de *Paramphistomum cervi*
 (d'après SHARMA & HANNA, 1988 –cités par JOLY, 1991)

(**a** = cellule tégumentaire de type 1 ou 2 sécrétant les corpuscules ; **b** = cellule tégumentaire de type 3 embryonnaire ;
c = cellule parenchymateuse).

Les corps d'inclusions T1 et T2 auraient chez *Fasciola hepatica*, un rôle dans le maintien de l'intégrité de la membrane plasmique apicale ainsi que dans le remplacement du glycocalyx ce qui leur conférerait une fonction immunoprotectrice (HANNA, 1980 - cité par DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987a et SHARMA & HANNA, 1988). DUNN & al. (1984 - cités par DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987) ont prouvé que les corps d'inclusions de *Paramphistomum epiclitum* possèdent des déterminants antigéniques communs avec les corps équivalents de *Fasciola hepatica*. Ils auraient donc aussi une fonction d'immunoprotection. Cependant, la localisation des parasites constituant déjà une protection contre l'immunité de l'hôte définitif, ce rôle reste spéculatif (SHARMA & HANNA, 1988). Le glycocalyx aurait peut-être la simple fonction de minimiser les dommages mécaniques et osmotiques du tégument.

La musculature superficielle très développée autorise un bon ancrage du ver sur la muqueuse digestive de l'hôte définitif, ainsi qu'un fort potentiel de rétraction permettant de faire face aux turbulences du milieu.

Enfin, le rôle des papilles sensorielles varie selon leur nature. Les corps ciliés, dont le bulbe nerveux est relié à la membrane apicale, seraient peut-être des tango-, rhéo- ou chémorécepteurs. Les corps non ciliés, situés dans la région basale du syncytium et sans connexion avec la surface externe, seraient impliqués dans le contact entre le parasite et l'hôte ou entre parasites ainsi que dans la réponse aux déformations du tégument (SMYTH & HALTON, 1983 - cités par DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987).

Ainsi, la fonction principale du tégument dans le genre *Paramphistomum* serait une fonction de protection contre les agressions chimiques et mécaniques de l'environnement ruminal. Le potentiel d'absorption serait assez limité contrairement à ce qui a été démontré chez d'autres trématodes.

I.2.1.4. Cellules neurosécrétrices

SINGH & SHUKLA (1990) ont mis en évidence chez *Paramphistomum* sp. récolté dans la panse de buffles indiens, deux types de cellules neurosécrétrices. Leurs résultats corroborent les constations faites au cours de travaux antérieurs. Ces cellules sont observables après fixation des parasites dans du liquide Bouin suivie de coupes séries des vers pris en masse dans la paraffine ensuite colorées selon la technique de Pearse 1968. La distinction entre les deux types de cellules s'effectue en fonction de leur taille et de la nature de leur cytoplasme. La taille de ces cellules semble cependant varier selon les zones corporelles et selon le stade physiologique des vers. Les cellules de type A sont plus grandes et de forme arrondie. Elles sont généralement mononucléées et

leur cytoplasme contient des vacuoles. Les cellules de type B sont plus petites, de forme arrondie mais leur cytoplasme est homogène et contient un nombre variable de noyaux. Les cellules de type A se distribuent dans différentes régions du corps telles que les ventouses orale et postérieure, les follicules vitellins et les régions céphalique et sous-tégumentaire. Les cellules de type B sont plus abondantes au niveau de la ventouse orale qu'au niveau des autres régions corporelles. La présence proche du ganglion cérébral explique probablement ce grand nombre de cellules de type B dans cette région. Les deux types de cellules sont présents simultanément dans certaines zones telles que les ventouses, la région céphalique ou les follicules vitellins. Par contre, seul le type B est rencontré au niveau du tube digestif, de la paroi utérine, de la vésicule séminale, des gonades et des vaisseaux lymphatiques. Ainsi, les cellules neurosécrétrices sont distribuées dans les différentes régions du corps, en relation étroite avec la plupart des organes dont elles soutiendraient l'activité.

I.2.1.5. Appareil digestif

➤ Structure

L'appareil digestif des paramphistomes est constitué de régions morphologiquement distinctes : les pré-intestins et une paire de cæca intestinaux. Les pré-intestins comprennent un pharynx terminal suivi d'un œsophage. Le pharynx, identifié par NÄSMARK (1937, - cité par EUZEBY, 1975) à celui des monogènes et des turbellariés rhabdocoèles, s'évase antérieurement pour tenir lieu de ventouse buccale. C'est un organe musculeux, bien développé, de type *Paramphistomum* ou *Liorchis* selon les espèces. L'œsophage sinueux est entouré sur toute sa longueur par des « glandes œsophagiennes » (SHARMA & HORA, 1983). Cette appellation est impropre puisque ces structures ne possèdent pas de canaux propres. Le terme de « cellules œsophagiennes » est préférable (DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987 b). Les pré-intestins sont tapissés par le syncytium tégumentaire. Sa structure y est fondamentalement identique à celle du syncytium de surface, mais de petites variations peuvent être notées (DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987 b). Au niveau du pharynx, les replis de la membrane basale sont renflés et les tubercules élevant la membrane apicale sont remplacés par des crêtes aplatis dans la région postérieure de cet organe. Le syncytium tapissant l'œsophage voit sa surface profondément plissée puis élevée par des crêtes peu profondes et aplatis. Un glycocalyx proéminent la recouvre. Le cytoplasme ne contient pas de corps d'inclusions T2 et les cellules tégumentaires T2 sont absentes. En revanche, un nouveau type de corps d'inclusion est présent ainsi que des cellules tégumentaires de type 3 également dépourvues de mitochondries. Du point de vu histochimique, le syncytium œsophagien diffère de celui du pharynx et de la surface externe par une plus grande activité des estérases non spécifiques et des phosphatases acides. Ces réactions plus intenses sont également notées dans les cellules

œsophagiennes. Le syncytium s'interrompt brusquement au niveau de la bifurcation œsophago-cæcale où il est connecté à l'épithélium cæcal par un important desmosome.

Les cæca sont longs, sinueux et non ramifiés. Ils occupent une position dorso-latérale et se terminent aveuglément au niveau de l'acétabulum. L'épithélium cæcal est de nature cellulaire (DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987 b). Sa surface apicale est amplifiée par d'abondantes microvillosités étroitement serrées (Figure 15). Ces microvillosités sont plus longues en région postérieure et obstruent parfois la lumière intestinale. Leur extrémité distale révèle souvent des distensions vacuolaires. Le cytoplasme cellulaire contient de grandes vésicules sphériques concentrées sous la membrane apicale et dont la membrane fusionne parfois avec celle-ci, indiquant une probable sécrétion exocrine. Des mitochondries ainsi que des corps ressemblant à des phagosomes sont également visibles. L'épithélium est souligné par une fine couche de matériel interstitiel et par des blocs musculaires responsables des mouvements péristaltiques. Sa membrane basale est reliée aux extensions cytoplasmiques du parenchyme par des jonctions serrées.

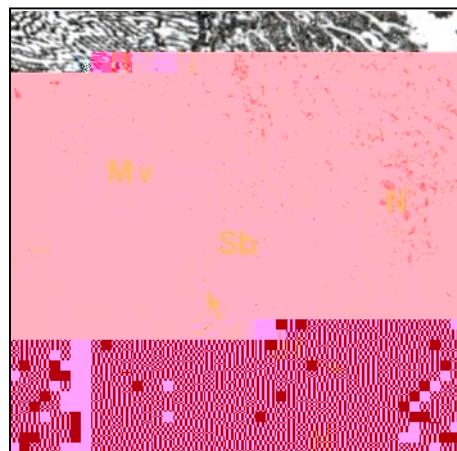


Figure 15 : Structure fine de l'épithélium cæcal de *Gastrothylax crumenifer* (DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987) :
présence de microvillosités abondantes (Mv), de replis de la membrane basale (Bf) et de cellules gastrodermiques contenant un noyau basal (N) et des corps sécréteurs (Sb)
(échelle : 5 μm).

➤ Fonctions

Le pharynx musculeux ne présente pas d'adaptation morphologique pour l'abrasion. Il est suceur comme chez la plupart des digènes (DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987 b). Les cellules œsophagiennes synthétisent des enzymes impliquées dans les premières étapes de la digestion extra-cellulaire (SHARMA & HORA, 1983) de même que les cellules T3.

Les microvillosités de l'épithélium cæcal permettent une meilleure assimilation des nutriments (DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987 b), compensant peut-être le faible potentiel d'absorption du tégument. Les replis de la membrane basale faciliteraient la translocation de matériel dans et hors de l'épithélium. Les jonctions serrées entre épithélium cæcal et extensions parenchymateuses seraient des sites de transport de nutriments. Les phagosomes observés dans le cytoplasme cellulaire auraient plus une fonction d'autophagie que d'hétérophagie.

Ainsi, la digestion chez les paramphistomes semble être essentiellement extra-cellulaire. Une digestion intracellulaire existe peut-être mais aucune preuve d'endocytose n'a été mise en évidence (DUNN, HANNA & NIZAMI, 1987 b).

I.2.1.6. Appareil excréteur

➤ Structure

Peu d'études ont été faites sur la structure de l'appareil excréteur des espèces du genre *Paramphistomum*. POLJAKOVA-KRUSTEVA & al. (1975) se sont intéressés au système excréteur de *Paramphistomum microbothrium* mais il semblerait que ces auteurs l'aient confondu avec les cæca intestinaux (MATTISON, HANNA & NIZAMI, 1992 a). A notre connaissance, seul le système excréteur des juvéniles de *Paramphistomum epiclitum* a été étudié par MATTISON, HANNA & NIZAMI (1992 a). Nous nous référerons donc aux travaux de ces auteurs pour la description de cet appareil.

Le système protonéphridien est composé de canaux disposés symétriquement de chaque côté du corps. Ils relient les vaisseaux efférents issus de cellules flammes individuelles à une vessie (Figure 16). De cette vessie part un canal terminal qui s'ouvre à l'extérieur par un petit néphridiopore situé à la face postéro-dorsale du corps.

Chaque cellule flamme porte un cône d'environ 100 flagelles. Des extensions cytoplasmiques de chaque cellule flamme s'assemblent avec la première cellule efférente correspondante. Ces extensions sont reliées par des ponts filamentueux. Des extensions

cytoplasmiques des cellules efférentes, reliées par des desmosomes striés, délimitent une lumière. La disposition en colonne des cellules efférentes forme ainsi le vaisseau efférent.

Trois types de canaux se distinguent morphologiquement et sont nommés canaux primaires, secondaires et tertiaires. Les canaux primaires relient les vaisseaux efférents aux canaux secondaires. Leur membrane lumineuse s'élève en courts tubercules. Les canaux secondaires ou ascendants s'étendent depuis la région acétabulaire jusqu'au pharynx où ils fusionnent avec les canaux tertiaires. Leur surface lumineuse présente de nombreuses lamelles. Chez les formes immatures, des groupes de cils se projettent dans la lumière. Ces cils disparaissent au stade adulte. Les canaux tertiaires ou descendants courent le long du corps pour se terminer postérieurement au niveau de la vessie. Ils sont reliés dans la moitié du corps par un canal transverse, ce qui leur confère une disposition en H. Ils sont tapissés d'un syncytium dont la membrane apicale s'élève en de nombreuses lamelles. La membrane basale présente des replis. Le cytoplasme se caractérise par la présence de mitochondries et la protrusion d'extensions parenchymateuses. Des gouttelettes lipidiques s'accumulent progressivement dans la lumière des canaux tertiaires. Leur excréption est plus importante chez les formes immatures que chez les adultes. La vessie est tapissée par un syncytium ressemblant à celui des canaux tertiaires. Ce syncytium vésical s'interrompt au niveau d'un complexe jonctionnel formé avec le canal terminal. Ce dernier est tapissé par le syncytium tégumentaire qui contient des corps d'inclusion et porte des crêtes semblables à celles observées dans le pharynx. Cependant, il se différencie de celui-ci par l'absence de papilles sensorielles.

➤ Fonctions

Les cellules flammes accompliraient un rôle dans l'ultrafiltration : les ondulations des flagelles créeraient un gradient de pression hydrostatique entre la lumière protonéphridienne et les tissus environnants. Ce gradient induirait un afflux de fluide intercellulaire permettant l'extraction des déchets métaboliques (Figure 17). La filtration aurait lieu au niveau des ponts filamenteux reliant les extensions cytoplasmiques des cellules flammes et efférentes.

Les cils des canaux secondaires des formes immatures aideraient les mouvements du fluide rendus difficiles par les forces frottements. Ces cils sont absents des canaux secondaires chez les adultes dont la largeur plus importante réduirait les frottements.

Les lamelles rencontrées au niveau des canaux secondaires et tertiaires ainsi que dans la vessie faciliteraient la réabsorption de fluide et de nutriments. Ceci est en accord avec la présence de phosphatases acides et alcalines, enzymes qui, selon THREADGOLD (1968) et DIKE & READ (1971) (cités par MATTISON, HANNA & NIZAMI, 1992 a), seraient impliquées dans l'assimilation

des monosaccharides. Les replis de la membrane basale seraient responsables du transport hydrique.

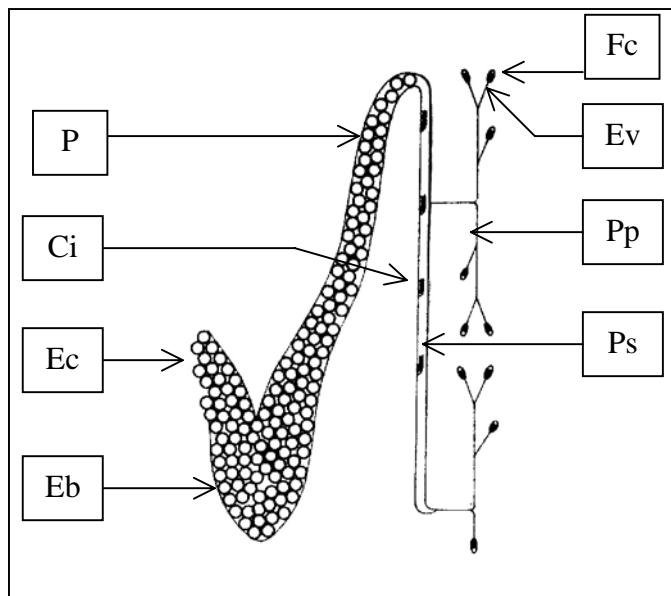


Figure 16 : Schéma de la structure générale de l'appareil excréteur des espèces du genre *Paramphistomum* (MATTISON, HANNA & NIZAMI, 1992).

Ci : cils

Eb : vessie excrétrice

Ec : concrétions

Ev : vaisseau efférent

Fc : cellule flamme

Pp : Canal protonéphridien primaire

Ps : Canal protonéphridien secondaire

Pt : Canal protonéphridien tertiaire

Ainsi, face aux différents environnements osmotiques rencontrés au cours de leur migration et aux fluctuations du contenu ruminal, les paramphistomes possèdent une certaine capacité de régulation de leur concentration ionique interne. Le site principal de cette régulation ionique et osmotique est représenté par le système protonéphridien, le tégument n'étant pas capable d'effectuer des transports actifs faute de mitochondries. Cependant, MATTISON, HANNA & NIZAMI (1992 a) restent prudents et préfèrent attendre les résultats d'investigations supplémentaires avant d'affirmer cette théorie.

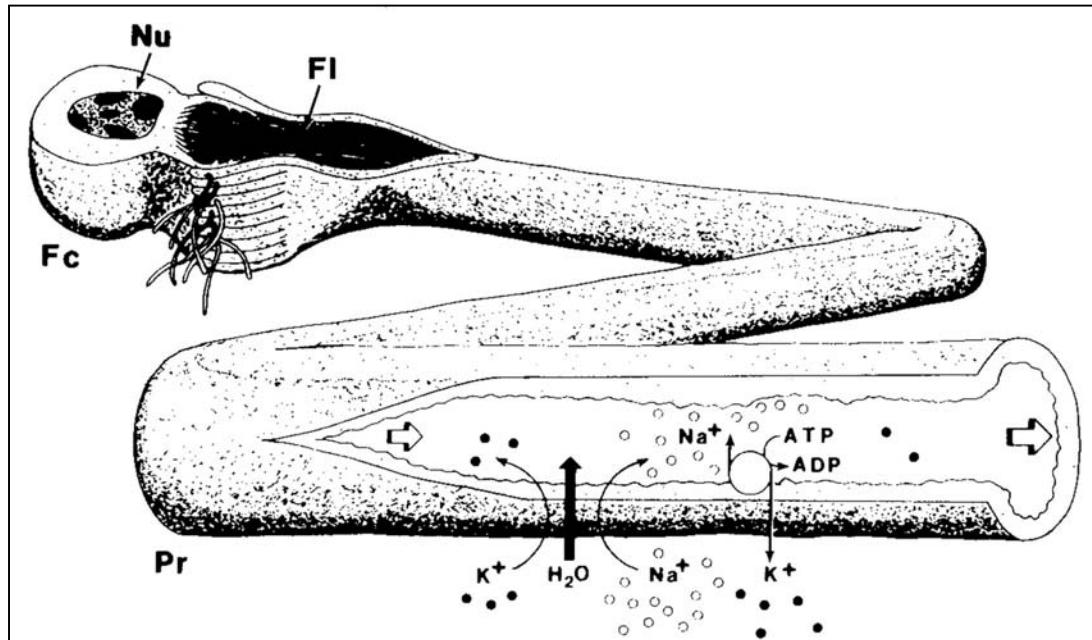


Figure 17: Mécanisme d'implication potentielle du système protonéphridien dans la régulation ionique chez les paramphistomes :
les ondulations des flagelles (Fl) induiraient un gradient de pression hydrostatique entre la lumière du système protonéphridien (Pr) et les tissus environnants et favoriseraient l'afflux d'eau et d'ions ;
le probable fonctionnement de pompe ATPases Na^+/K^+ situées dans la paroi maintiendrait une concentration élevée d'ions potassium (●)
dans les tissus contre un gradient de concentration tandis que les ions sodium (○) sont activement expulsés (MATTISON, HANNA & NIZAMI, 1992).

I.2.1.7. Appareil circulatoire et parenchyme

LOOSS (1902 - cité par DUNN, HANNA & NIZAMI, 1985) est le premier à découvrir que les systèmes lymphatique et excréteur des paramphistomes sont distincts. Les difficultés d'isolement du système lymphatique ont ensuite été la source de nombreuses confusions. DUNN, HANNA & NIZAMI (1985) se proposent alors de rectifier les erreurs faites précédemment et d'étudier l'ultrastructure du système lymphatique des adultes de *Paramphistomum epiclitum*. En 1992, MATTISON, HANNA & NIZAMI (1992 b) se penchent sur le système lymphatique des formes immatures de cette espèce. Les systèmes lymphatiques de ces deux stades apparaissent similaires.

➤ Structure

Le parenchyme est constitué de compartiments distincts entourés d'une membrane et remplis de fluide qui occupent la majeure partie du volume corporel. Ces compartiments sont séparés entre eux par une fine couche de tissu interstitiel. Celle-ci s'interpose également entre le parenchyme et la plupart des autres tissus. Elle est par endroit interrompue par des jonctions serrées. Le parenchyme s'introduit dans l'épithélium basal de certains organes dont les caeca, l'appareil excréteur et le tégument. Les cellules parenchymateuses contiennent de nombreux dépôts de glycogène. Des mitochondries et divers corps « lysosome-like » primaires, secondaires et tertiaires sont observés dans le cytoplasme périphérique. Des cellules particulières, appelées cellules juxtapharyngiennes car elles enveloppent le pharynx, se distinguent par la présence de corps résiduels paracristallins (Figure 18).

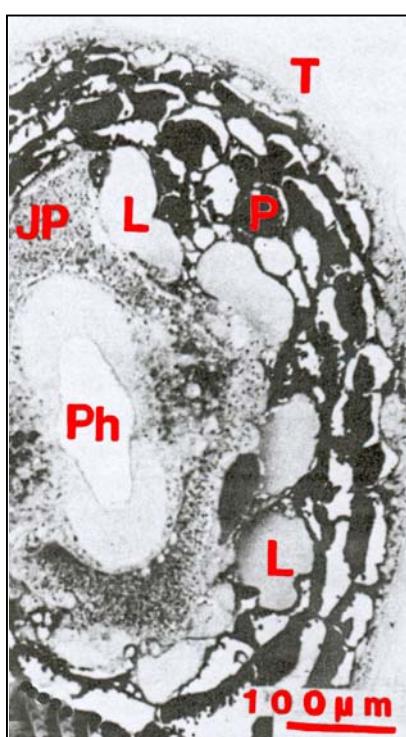


Figure 18 : Section transverse de *Paramphistomum epiclitum* montrant les cellules juxtapharyngiennes (JP) qui entourent le pharynx (Ph) et sont en étroite association avec les vaisseaux lymphatiques (L) (DUNN, NIZAMI & HANNA, 1985)
(P = parenchyme ; T = tégument).

Le système lymphatique des paramphistomes est composé d'une paire unique de vaisseaux primaires longitudinaux, encastrés dans le parenchyme. Ils s'étendent sur toute la longueur du corps, parallèlement aux caeca et latéralement à l'œsophage et au pharynx. De ces vaisseaux partent des branches latérales qui se subdivisent. Elles s'associent avec la plupart des organes et des tissus, notamment les organes reproducteurs, l'intestin et la vessie excrétrice (Figure 19). A l'extrémité antérieure, les vaisseaux primaires se divisent en quatre branches qui viennent entourer le pharynx. A l'extrémité postérieure, un nombre variable de divisions entourent l'acétabulum, en particulier le long de son angle dorsal. Excepté certaines juxtapositions entre les vaisseaux lymphatiques et les canaux excréteurs, les muscles ou le système nerveux, les autres organes et tissus n'établissent qu'un contact indirect avec le système lymphatique *via* le parenchyme. Une fine couche de matériel interstitiel entoure chaque vaisseau lymphatique. Leur membrane plasmique s'invagine en une série de courtes projections formant un réseau tubulaire important dont la matrice est continue avec le matériel interstitiel sous-jacent. Ce système tubulaire amplifie l'interface entre le matériel interstitiel et la lymphe. Les vaisseaux lymphatiques sont en relation étroite avec les cellules juxtapharyngiennes grâce à des jonctions serrées ainsi que des protrusions digitiformes de la lymphe dans le cytoplasme périphérique de ces cellules. Ces protrusions entre système lymphatique

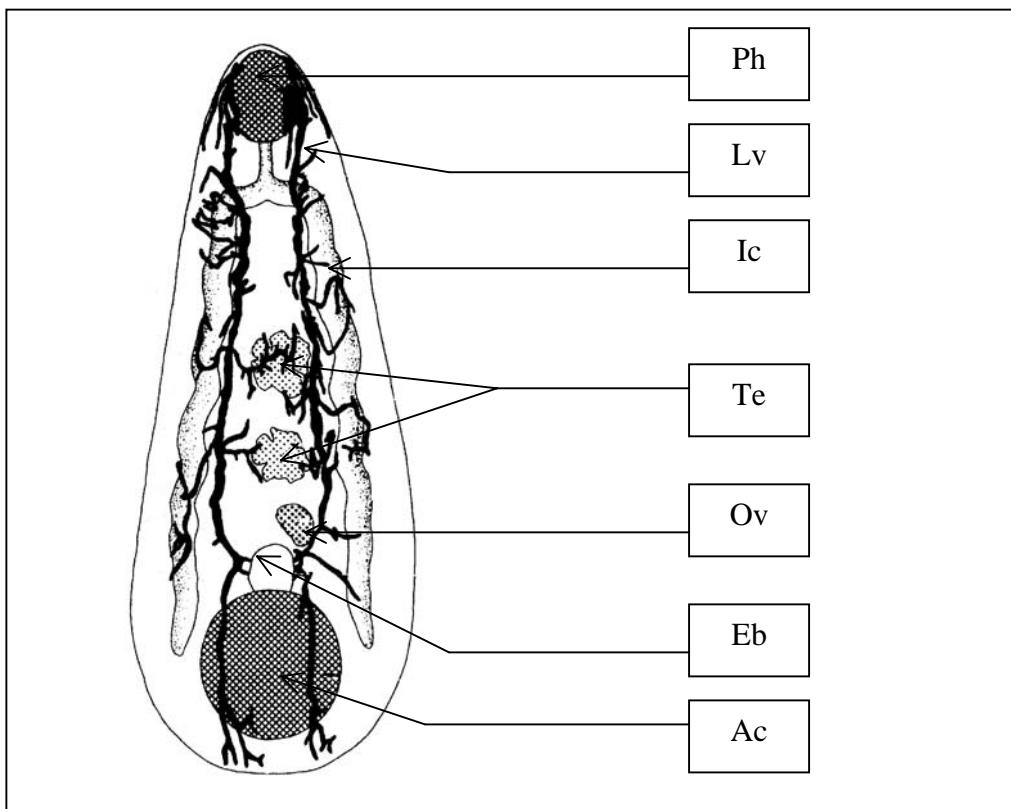


Figure 19 : Disposition du système lymphatique de *Paramphistomum epiclitum* :
les vaisseaux lymphatiques (Lv) sont étroitement associés au pharynx (Ph),
à l'acétabulum (Ac), aux cæca intestinaux (Ic), aux testicules (Te),
à l'ovaire (Ov) et à la vessie excrétrice (Eb)
(MATTISON, HANNA & NIZAMI, 1992).

Ces deux appareils sont impliqués dans le stockage, la mobilisation et la distribution du glycogène et des protéines. Le glycogène stocké dans le parenchyme est facilement mobilisable. La synthèse des protéines qui a lieu dans la lymphe est permise par la mobilisation d'acides aminés issus de l'hydrolyse du contenu des extensions parenchymateuses qui font protrusion dans les vaisseaux lymphatiques. Cette hydrolyse implique les trois types de corps d'inclusion. Ses étapes sont présentées sur la figure 20.

Les cellules juxtapharyngiennes sont le siège d'une autophagie intense du contenu des vaisseaux lymphatiques. Ce contenu subit ensuite une hydrolyse impliquant les corps « lysosome-like » selon le même schéma décrit ci-dessus (Figure 20). Les micromolécules solubles diffusent ensuite dans le cytoplasme de ces cellules et le matériel non hydrolysé constitue les corps résiduels paracrystallins. Les précurseurs issus de cette hydrolyse sont ensuite distribués dans le reste du corps grâce au réseau parenchymateux. Ce processus s'observe également au niveau des

rares protrusions de la lymphe dans le reste du parenchyme. Un tel confinement aux cellules juxtapharyngiennes n'est pas encore expliqué.

De plus, la lymphe joue certainement un rôle dans le stockage et la distribution d'oxygène étant donné la présence d'hémoglobine. Celle-ci constitue sans doute une adaptation des parasites au milieu anaérobie que constitue le rumen. En effet, lors d'augmentation de la pression en oxygène dans le rumen suite à l'ingestion de fourrage ou d'eau, ces pigments fixent l'oxygène qui sera ensuite progressivement libéré lorsque le niveau d'oxygène du contenu ruminal diminuera. Des études plus poussées sont nécessaires pour confirmer ce phénomène.

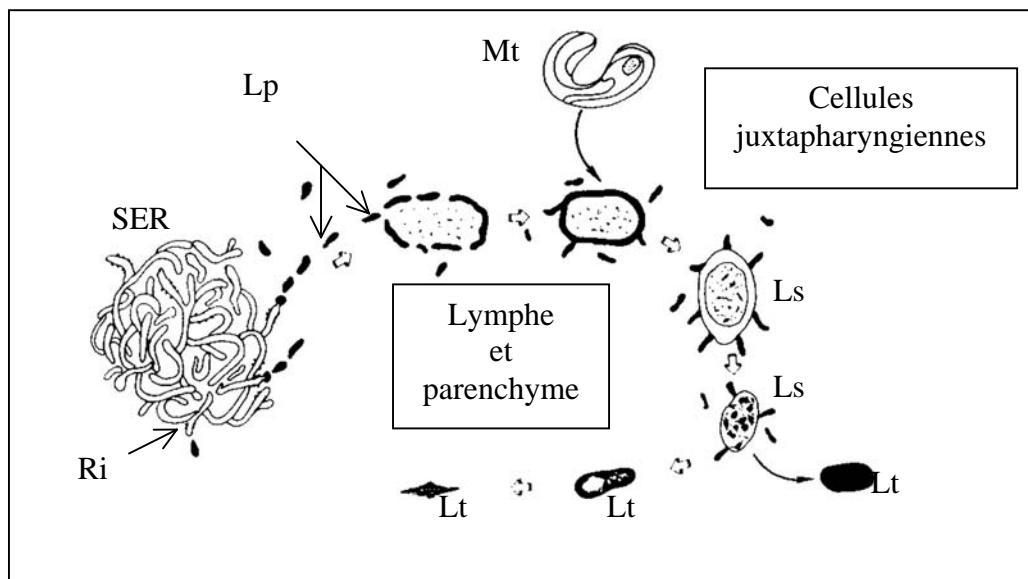


Figure 20 : Mécanisme d'autophagie de la lymphe et du parenchyme chez les paramphistomes (MATTISON, HANNA & NIZAMI, 1992) :
les corps « lysosome-like » primaires (Lp) sont issus essentiellement du réticulum endoplasmique lisse (SER) où se trouvent des ribosomes (Ri),
ces corps primaires fusionnent et entourent une portion de matrice qui donne naissance aux corps « lysosome-like » secondaires (Ls) ;
les corps secondaires fusionnent souvent avec les corps primaires et présentent d'abord une double membrane ; les corps secondaires matures sont entourés d'une membrane unique et se condensent pour former les corps résiduels ou « lysosome-like » tertiaires (Lt) ; les cellules juxtapharyngiennes contiennent des corps résiduels denses issus de l'autophagie des mitochondries.

I.2.1.8. Appareil reproducteur

Les parasites du genre *Paramphistomum* sont hermaphrodites. Cette stratégie de reproduction, essentiellement rencontrée chez les cestodes et les trématodes, constitue une adaptation permettant la survie de l'espèce. En effet, la probabilité pour l'hôte définitif d'ingérer des formes infestantes disséminées dans le milieu extérieur reste faible. L'hermaphrodisme permet au parasite adulte d'avoir une descendance même si celui-ci est le seul représentant de son espèce chez l'hôte définitif.

Les testicules sont au nombre de deux. Leur contour est arrondi ou lobé selon les espèces. Ils occupent la partie médio-postérieure du corps et sont disposés en tandem ou selon une ligne diagonale (EUZEBY, 1975). Ils se poursuivent par les canaux déférents qui remontent le long du corps jusqu'à la vésicule séminale située au niveau du pore génital. Celui-ci s'ouvre en face ventrale sous la bifurcation cœcale. Il faut également noter l'absence de poche du cirre.

L'appareil génital femelle est constitué d'un ovaire unique, situé dans les deux tiers

l'extrémité antérieure vers l'extrémité postérieure. Elles sont constituées de nombreux follicules qui apparaissent comme des grappes de cellules vitellines (GUPTA, PARSHAD & GURAYA, 1987 b). L'oviducte conduit l'ovule associé aux spermatozoïdes et aux cellules vitellines dans l'ootype. Les glandes de Melhis qui l'entourent déversent alors leurs vésicules contenant essentiellement des lipoprotéines. Les glandes de Melhis joueraient un rôle dans la lubrification de l'utérus et l'activation des spermatozoïdes. Elles participeraient également à la formation de la coque ovalaire (GUPTA, PARSHAD & GURAYA, 1987 a). Les œufs se retrouvent ensuite dans l'utérus. Cet utérus bien développé est constitué d'une branche ascendante qui décrit de nombreuses circonvolutions dans les régions dorso-latérales et intercæcales. Il est le siège de la formation de la coque des œufs qui débute dans sa partie proximale pour se terminer dans sa partie moyenne (GUPTA, PARSHAD & GURAYA, 1987 a). Il s'ouvre à l'extérieur par le pore génital, caractérisé par l'absence de ventouse génitale. Plusieurs types d'atriums génitaux peuvent être observés selon l'espèce (voir le chapitre sur la classification systématique).

Le tableau X présente quelques différences structurales observées entre les appareils génitaux de différentes espèces du genre *Paramphistomum*.

| Espèces | Testicules | | Type d'atrium génital | Référence |
|----------------------------|---------------------------------|--------------|-----------------------|-------------------------|
| | Contours | Disposition | | |
| <i>P. ichikawai</i> | Lisses, parfois 1 ou 2 lobes | | <i>Ichikawai</i> | SEY (1974) |
| <i>P. daubneyi</i> | Profondément lobés | En diagonale | <i>Microbothrium</i> | SEY (1974) |
| <i>P. cervi</i> | Faiblement lobés | En tandem | <i>Gracile</i> | EUZEBY (1975) |
| <i>P. microbothrium</i> | Profondément lobés | | <i>Microbothrium</i> | EUZEBY (1975) |
| <i>P. microbothrioides</i> | Profondément lobés | | <i>Microbothrium</i> | EUZEBY (1975) |
| <i>P. togolense</i> | Profondément lobés | En tandem | <i>Microbothrium</i> | ALBARET & al. (1978) |

Tableau X : Quelques différences dans la structure de l'appareil génital de certaines espèces du genre *Paramphistomum* .

I.2.2. Œufs

Les œufs des espèces du genre *Paramphistomum* sont de grande taille : 150 à 170 µm sur 80 à 95 µm. Toutefois, il existe des variations interspécifiques (Tableau XI) et intraspécifiques. Il n'y aurait pas de corrélation entre la taille des œufs et celle des vers adultes (SEY, 1979). Les œufs sont de forme ovoïde. Leurs pôles sont inégaux. Le pôle postérieur présente un épaississement. Le pôle antérieur, plus petit, est operculé. Lors de l'éclosion du miracidium, l'opercule se détache de la coque selon une ligne finement denticulée (ALABARET & al., 1978). La coque est épaisse, permettant la protection de l'embryon dans le milieu extérieur. Elle est composée de kératine et comprend trois couches : une couche interne et une couche externe fines, et une couche moyenne épaisse (GUPTA, PARSHAD & GURAYA, 1987 a). Le contenu des œufs est granuleux, moruliforme. La localisation du syncytium embryonnaire, parfois visible sur l'œuf non évolué, fait l'objet de désaccords : certains auteurs le situent à proximité du pôle operculé (DORCHIES, 1989) comme chez *Fasciola hepatica*, tandis que pour d'autres auteurs il se trouve au centre de l'œuf (EUZEBY, 1975).

Ces œufs ressemblent fortement aux œufs de *Fasciola hepatica*. Ils s'en distinguent cependant par leur taille, leurs pôles et leur couleur. Certains auteurs utilisent la position du syncytium embryonnaire comme élément de distinction (Tableau XII et Figure 21).

| Espèces | Taille des œufs en µm | Références |
|-------------------------|-----------------------|----------------------|
| <i>P. daubneyi</i> | 116 à 147 5 60 à 73 | SEY (1979) |
| <i>P. cervi</i> | 145 à 156 5 75 à 82 | EUZEBY (1975) |
| <i>P. microbothrium</i> | 142 5 65 | EUZEBY (1975) |
| <i>P. togolense</i> | 135 5 70 | ALBARET & al. (1978) |

Tableau XI : Variations de la taille des œufs en fonction de l'espèce dans le genre *Paramphistomum*.

| Caractères | Œufs de paramphistomes | Œufs de <i>Fasciola hepatica</i> |
|---------------------|------------------------------------|---|
| Longueur | 160 µm (125 - 180) | 130 - 145 µm |
| Largeur | 90 µm (73 - 103) | 70 - 90 µm |
| Forme | Ovoïdes allongés | Régulièrement ovale |
| Opercule | Présent au petit pôle | Présent |
| Couleur | Incolore à vert pâle | Jaune à brune |
| Embryon | 4 à 8 blastomères presque centraux | Blastomères excentrés vers l'opercule |
| Cellules vitellines | 50 environ, entourant l'embryon | Emplissant entièrement l'œuf, contour peu net polyédrique |

Tableau XII : Critères de différenciation entre les œufs de paramphistomes et ceux de *Fasciola hepatica* (JOLY, 1991).

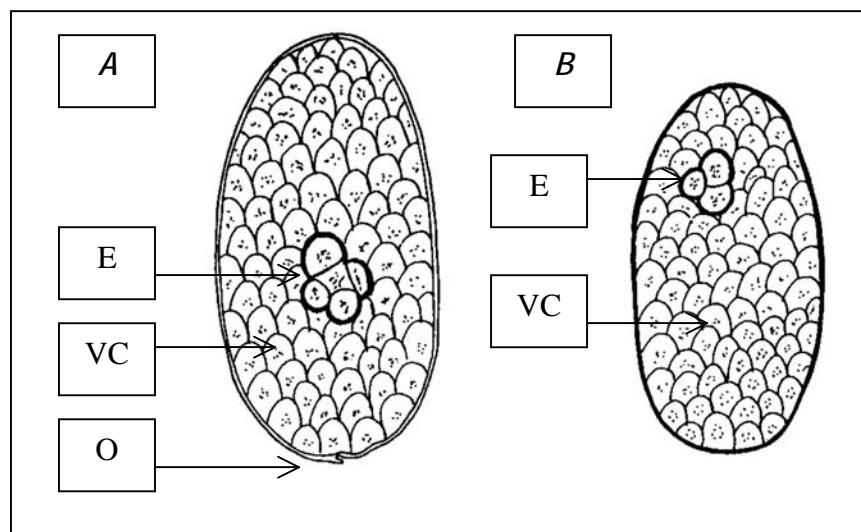


Figure 21 : Œufs de *Paramphistomum* sp. (A) et œufs de *Fasciola hepatica* (B) (EUZEBY, 1975)
(les différences sont récapitulées en tableau XII)

E :embryon

O : opéracule

VC : cellules vitellines

I .2.3. Formes larvaires

I.2.3.1. Miracidium

Le miracidium constitue le stade larvaire qui éclôt de l'œuf dans le milieu extérieur. Les miracidiums de *Paramphistomum daubneyi*, *P. togolense*, *P. phillerouxi*, *P. microbothrium* et *P. microbothrioides* ont été étudiés respectivement par SEY (1979) et SAMNALIEV & al. (1981), ALBARET & al. (1978), ALBARET & al. (1981), DIAW & al. (1983) et KECHEMIR (1988 a), et SAMNALIEV & al. (1986). Les miracidiums de chacune de ces espèces présentent une anatomie générale semblable.

➤ Anatomie externe

Le miracidium du genre *Paramphistomum* est fusiforme. Sa taille est de 155 à 225 µm sur 34 à 55 µm pour *Paramphistomum daubneyi* (SEY, 1979) et 320 à 340 µm sur 80 à 100 µm pour *Paramphistomum microbothrium* (KECHEMIR, 1988 a). Il est pourvu d'une ciliature lui permettant de se déplacer dans le milieu aquatique. Ces cils vibratiles, absents au niveau du térébratorium, s'insèrent sur des cellules épidermiques. Celles-ci sont au nombre de vingt réparties sur quatre étages comprenant d'avant en arrière 6, 8, 4 et 2 cellules séparées par trois ceintures : antérieure, moyenne et postérieure (Figure 6). Ce schéma diffère de celui des miracidiums de *Fasciola hepatica* (Figure 7). Les cellules du premier étage sont trapézoïdales, celles du deuxième sont longues et étroites. Le troisième étage porte des cellules rectangulaires plus courtes et plus larges. Celles du dernier étage sont plus ou moins triangulaires.

Après imprégnation au nitrate d'argent, les formations argyrophiles sont observées à quatre niveaux : le térébratorium et chacune des trois ceintures. Le térébratorium porte une trentaine de formations réparties selon trois axes, et non quatre comme chez le miracidium du genre *Calicophoron* (SWART, 1967). Selon l'axe T1, confondu avec le plan frontal, se situent de part et d'autre d'une formation centrale deux organites, dont un plus petit. L'axe T2 porte deux groupes d'organites chacun composés d'environ 6 à 9 formations selon les espèces, dont deux plus petites et contiguës. Deux groupes de 5 à 6 formations se situent sur l'axe T3. La ceinture antérieure porte dix papilles ciliées dont six sont chacune situées dans une échancrure de la base des cellules du premier étage, auxquelles se rajoutent latéralement deux petites formations. Sur la ceinture moyenne se trouvent deux formations symétriques par rapport au plan sagittal et séparées par un angle de 90 degrés. Enfin, deux pores excréteurs s'ouvrent dans le plan frontal de chaque côté du miracidium, au niveau de la ceinture postérieure.

➤ Anatomie interne (Figure 22)

Dans le tiers antérieur du corps, le long de l'axe longitudinal, se trouve la glande apicale d'aspect granuleux et composée de quatre cellules. Globalement piriforme, sa forme varie selon les mouvements du miracidium. Elle s'ouvre à l'extérieur par deux orifices situés au milieu du térébratorium. Deux paires de glandes de pénétration sont observables latéralement à la glande apicale. Leurs orifices correspondraient aux quatre papilles les plus larges du térébratorium. La masse nerveuse, masse fibreuse dorsale à la glande apicale, émet des fibres nerveuses en direction du térébratorium et de la ceinture antérieure, ainsi que deux troncs postérieurs.

Les deux tiers postérieurs du corps sont occupés par le système excréteur et la cavité germinale. Le système excréteur est constitué par deux cellules flammes latérales reliées chacune à un pore excréteur par un canal excréteur. Celui-ci se dirige en direction postérieure pour ensuite remonter vers la glande apicale et, après quelques circonvolutions, prendre à nouveau une direction postérieure avant d'atteindre le pore excréteur correspondant. La cavité germinale est remplie de tissu germinal, de balles embryonnaires et de cellules germinales ou cellules primordiales du sporocyste.

I.2.3.2. Sporocyste

Après sa pénétration active dans les tissus de l'hôte intermédiaire, le miracidium subit de profonds changements : chute des cellules épidermiques donc perte de la ciliature, perte de la glande apicale et des glandes de pénétration, division des balles embryonnaires en cellules germinales et diminution de taille. Il donne ainsi naissance au sporocyste, stade larvaire de taille inférieure, de forme oblongue ou en V, contenant un grand nombre cellules germinales (Figure 23).

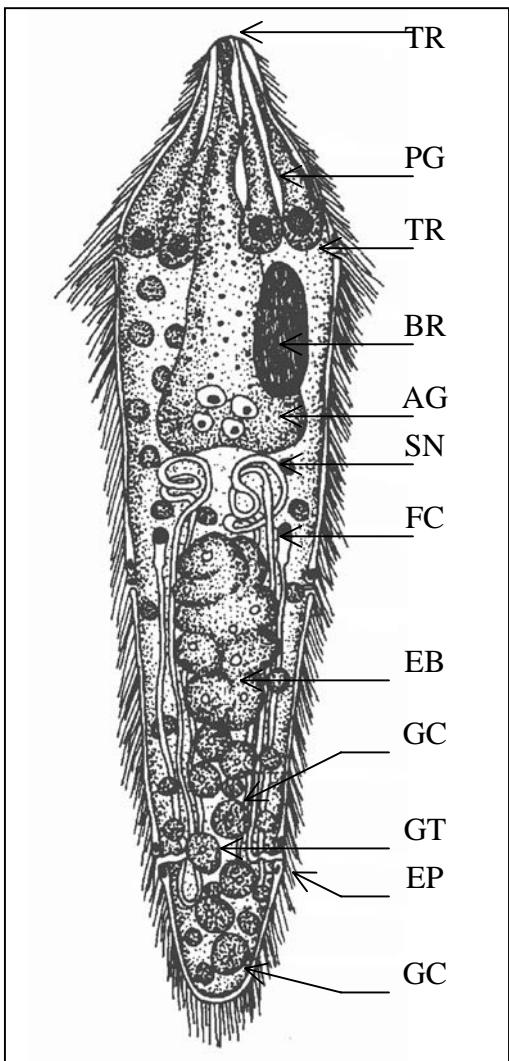
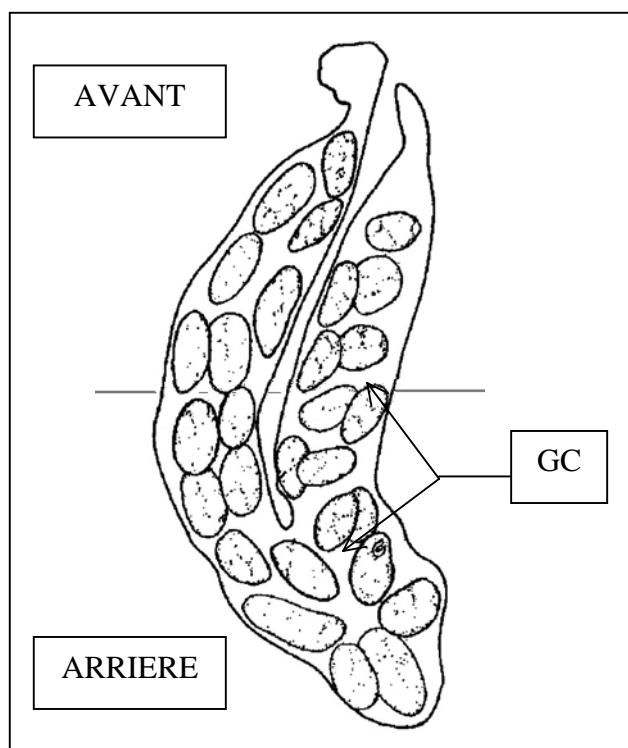


Figure 22 : Structure anatomique du miracidium de *Paramphistomum daubneyi* (SEY, 1979)

AG : glande apicale
Br : cerveau
EB : balle embryonnaire
EP : pore excréteur
FC : cellule flamme
GC : cellule germinale
GT : tissu germinal
PG : glande de pénétration
SN : noyau sous-épithélial
SP : papille sensorielle
TR : térébratorium

Figure 23 : Morphologie du sporocyste de *Paramphistomum togolense* âgé de 10 jours (ALBARET & al., 1978) (GC : cellule germinale)



I.2.3.3. Rédie

Les rédies se développent chez l'hôte intermédiaire à partir des balles embryonnaires du sporocyste âgé de quelques jours. Leur taille présente de grandes variations inter-spécifiques et également selon le degré de maturité des rédies. Les jeunes rédies de *Paramphistomum daubneyi* mesurent 100 à 200 µm sur 80 à 190 µm. Les rédies matures sont plus grandes : 458 à 680 µm sur 180 à 250 µm (SEY, 1979). Elles sont cependant plus petites que le sporocyste. Leur forme est allongée ou en « saucisse » (Figure 24). Le revêtement tégumentaire est fin et transparent. Il présente la même structure générale que le tégument des adultes à savoir une couche externe syncytiale reliée à des cellules tégumentaires sous-jacentes par des trabécules traversant la musculature superficielle. Cependant, d'importantes différences sont observées (DUNN & *al.*, 1992). Le tégument des rédies est recouvert sur toute sa surface par des microvilloités, plus longues et plus denses autour de l'ouverture buccale. Elles se ramifient et s'anastomosent au niveau de la surface tégumentaire du pharynx qui à ce niveau est dépourvue de cellules tégumentaires. On ne trouve dans le tégument qu'un seul type de corps d'inclusion. Des mitochondries et des structures « phagosome-like » sont présentes à la fois dans le syncytium et dans le cytoplasme des cellules tégumentaires. Le tégument rédien serait donc métaboliquement plus actif que celui des adultes, sa structure permettant l'assimilation de nutriments.

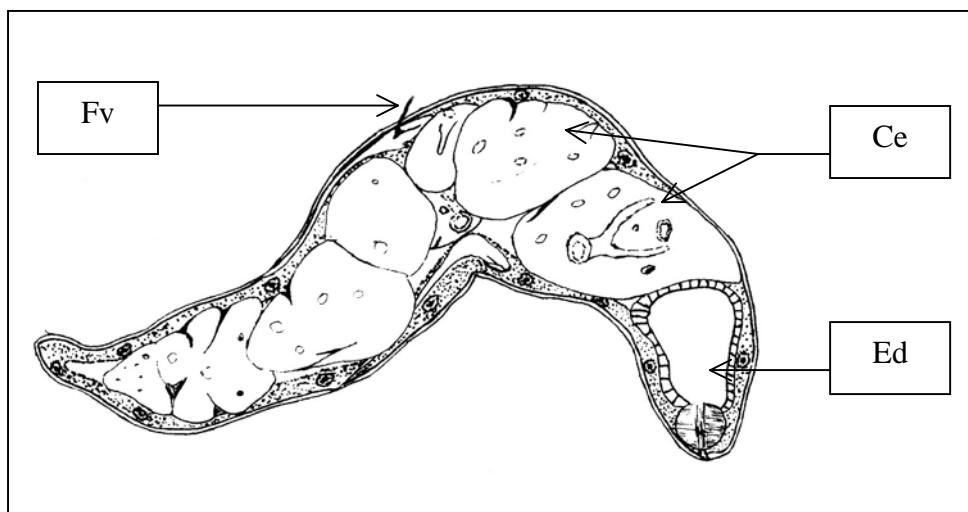


Figure 24 : Schéma de l'anatomie d'une rédie de *Paramphistomum cervi* (JOLY, 1991)

Ed : ébauche digestive

Ce : cercaire

Fv : flamme vibratile

La structure interne des rédies comporte quatre systèmes (SEY, 1979). Le système digestif est constitué d'une bouche représentée par une minuscule ouverture, suivie d'un pharynx sphérique et musculeux, d'un œsophage très court et d'un intestin rhabdocèle tapissé d'un épithélium unicellulaire. Des glandes salivaires sont observées dans la région du pharynx et la partie proximale de l'intestin. Deux types peuvent être différenciés en fonction de leur forme et de l'aspect du cytoplasme: certaines, en forme de goutte, ont un cytoplasme finement granuleux, les autres, triangulaires, ont un cytoplasme plus grossier. Le système excréteur comprend deux puis trois paires de cellules flammes situées respectivement au niveau des parties antérieure, moyenne et postérieure du corps. Les canaux excréteurs s'anastomosent dans la partie moyenne et s'ouvrent à l'extérieur *via* une vessie commune. Le centre nerveux, très proche de celui du miracidium, se situe dans une masse fibreuse au niveau de l'œsophage. Le système germinal occupe la moitié postérieure du corps. Il est formé d'un épithélium germinal, de cellules germinales, de balles embryonnaires et d'un orifice de ponte. Comme le sporocyste, la rédie est le siège d'une multiplication végétative intense des cellules germinales donnant naissance aux cercaires.

I.2.3.4. Cercaire

La cercaire (Figure 25) est un organisme nageur issu du développement des balles germinales du stade rédile. Elle est formée de deux parties distinctes : un corps globuleux, de forme ovale ou lancéolée, de taille moyenne variable (292 µm sur 209 µm pour *Paramphistomum daubneyi* (SEY, 1980), 451 µm sur 337 µm pour *Paramphistomum microbothrium* (KECHEMIR, 1988 b)) et un appendice caudal, effilé vers la base, dont la taille varie également avec l'espèce.

Le tégument, dépourvu d'épine, contient des glandes cystogènes conférant au corps son opacité. Des granules pigmentés formant de petits points noirs se distribuent aléatoirement le long de la surface. Deux ocelles piriformes dorsaux sont présents en arrière de la ventouse orale, de part et d'autre de l'œsophage. Ils sont constitués d'une sorte de lentille réfringente antérieure et d'une masse noire pigmentée postérieure (SEY, 1979). En raison de leur pigmentation, les cercaires de paramphistomes ont été décrites sous le nom de « *Cercaria pigmentata* » et se différencient des cercaires de *Fasciola hepatica* (EUZEBY, 1975). L'acétabulum, sphérique et volumineux, se situe à l'extrémité postérieure du corps, en face ventrale. Le système digestif se compose d'un pharynx ovale dépourvu de diverticule suivi d'un œsophage court et de deux cæca se terminant antérieurement à l'acétabulum. Le système excréteur est constitué de plusieurs paires de cellules flammes, de canaux excréteurs rendus visibles par la présence de granules réfringents, d'une vessie excrétrice et d'un tube excréteur caudal. Les canaux excréteurs ascendants partent de la région postérieure pour s'unir avec les canaux descendants au niveau des ocelles. Ces derniers décrivent

une anse entourant les ocelles avant de s'anastomoser vers la moitié du corps. Cette anastomose distingue les cercaires du groupe *Pigmentata*

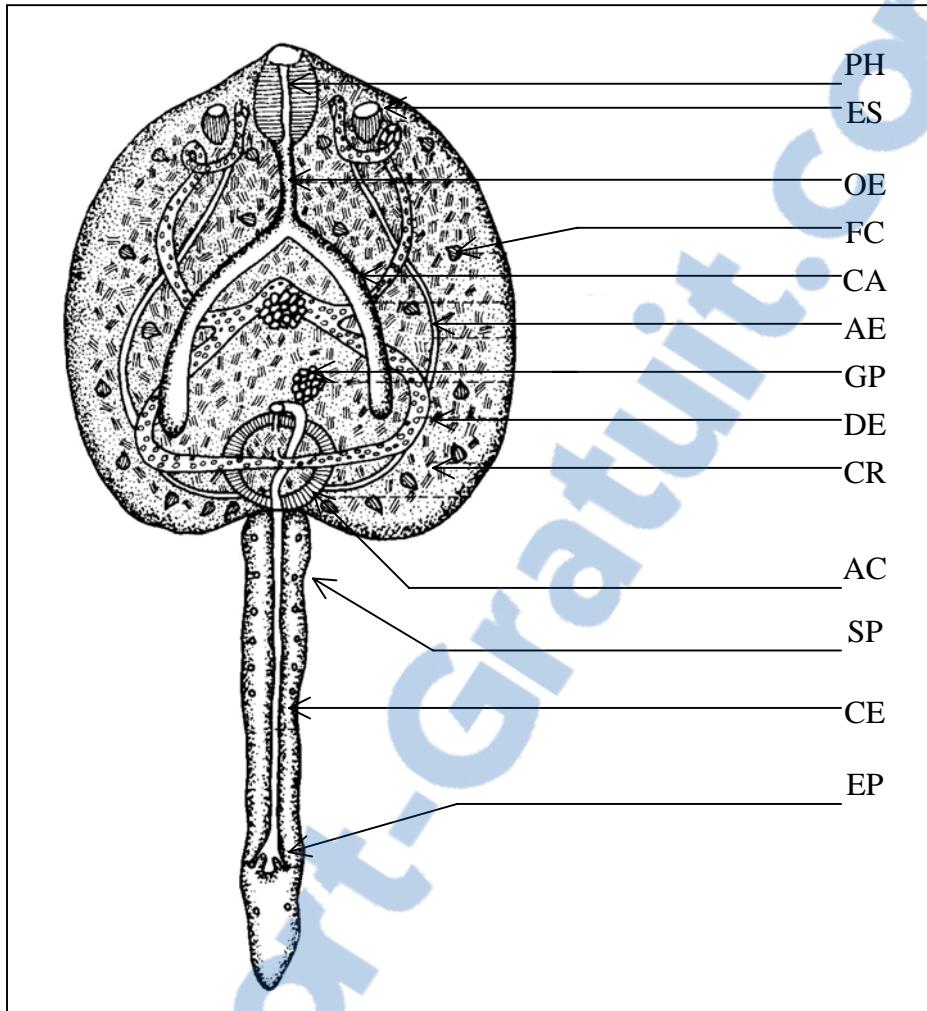


Figure 25 : Structure anatomique de la cercaire de *Paramphistomum daubneyi* (SEY, 1979)

AC : acétabulum
AE : canal excréteur ascendant
CA : cæcum
CE: canal excréteur caudal
Cr : bâtonnet de cystogène
DE : canal excréteur descendant

ES : spot oculaire
FC : cellule flamme
GP : cellules germinales primordiales
OE : œsophage
PH : pharynx
SP : papille sensorielle

I.3. Biologie

I.3.1. Cycle évolutif

Le cycle des parasites du genre *Paramphistomum* est un cycle dixène, faisant intervenir un Mammifère comme hôte définitif et un mollusque gastéropode dulçaquicole comme hôte intermédiaire. Il suit un même schéma pour toutes les espèces (Figure 26), mais les délais d'un stade à l'autre et la durée d'évolution varient en fonction de ces espèces (Tableau XIII).

I.3.1.1. Etapes du cycle

Les œufs, pondus par les parasites adultes hébergés dans le rumen une fois leur maturité sexuelle atteinte, sont éliminés dans le milieu extérieur avec les fèces. Pour poursuivre leur développement, les œufs doivent tomber dans un milieu aqueux.

L'éclosion du miracidium s'effectue après un délai d'incubation plus ou moins long selon l'espèce et les conditions environnementales. Ce miracidium, pourvu de cils vibratiles qui recouvrent toute sa surface, se déplace librement dans l'eau à la recherche de son hôte intermédiaire dans la cavité duquel il pénètre, par voie mécanique et enzymatique, faute de quoi il perdra son infectivité et mourra dans un délai maximal de 24 heures après son éclosion. Les sites de pénétration sont le plus souvent le manteau, plus rarement le pied et les tentacules (EUZEBY, 1975). Les hôtes intermédiaires impliqués appartiennent aux Familles des *Limnaeidae*, des *Bulinidae* et des *Planorbidae*.

A l'intérieur du mollusque, le miracidium perd sa structure ciliée pour devenir un sporocyste. Celui-ci migre dans les espaces hémolympatiques du mollusque pendant quelques jours avant de se fixer (BOUIX-BUSSON & *al.*, 1984 - cités par SZMIDT-ADJIDE & *al.*, 1996). Sa taille augmente et son contenu se différencie pour former en environ deux semaines les rédies de première génération. Elles sortent progressivement du sporocyste et deviennent indépendantes dans le corps du mollusque.

Ces rédies vont donner naissance à des rédies de deuxième génération qui s'accumulent dans l'hépatopancréas de l'hôte intermédiaire et donnent à leur tour naissance à une troisième génération de rédies. Cette dernière génération de rédies donne directement naissance à des cercaires encore immatures ou après le développement d'une génération supplémentaire (KILANI & *al.*, 2003).

Ces cercaires acquièrent leur maturité dans l'hépatopancréas puis sortent activement du mollusque vers le milieu extérieur aquatique où elles nagent pendant 20 à 30 minutes avant de se

fixer sur un support végétal. Elles s'enkystent alors en 30 à 40 minutes pour se transformer en métacercaires.

Ingérées par des ruminants, les métacercaires vont se désenkyster dans l'abomasum. Son milieu acide ne convenant pas aux paramphistomes immatures, ces derniers vont migrer jusqu'au duodénum. Là, ils se fixent à la muqueuse duodénale ou s'enfoncent dans la sous-muqueuse. Après être demeurés plusieurs semaines dans cette portion du tube digestif, ils entament une migration rétrograde vers le rumen et le réseau qu'ils atteignent en trois à six semaines. La migration est cependant retardée si la charge parasitaire est trop importante comme le constate HORAK (1967) après infestation expérimentale de bovins avec des nombres variables de métacercaires de *Paramphistomum microbothrium*. Les résultats de ces expériences sont présentés dans le tableau XIV. Ce ralentissement serait en relation avec le retard de croissance. En effet, les formes immatures ne pourraient débuter leur migration que lorsque leur acétabulum atteint une dimension comprise entre 0,56 et 0,60 mm. La durée de la migration est également conditionnée par la présence ou non d'un état d'immunité de prémunition que nous détaillerons plus loin.

Dans le rumen, les parasites acquièrent leur maturité sexuelle et pourront commencer leur ponte. Celle-ci semble montrer des fluctuations au cours de la journée. HORAK (1967) constate une excrétion fécale des œufs plus intense en milieu de journée puis une diminution au cours de l'après-midi. La période pré-patente, période qui s'écoule entre l'infestation et l'élimination de la génération suivante, varie d'une espèce à l'autre entre 77 et 87 jours.

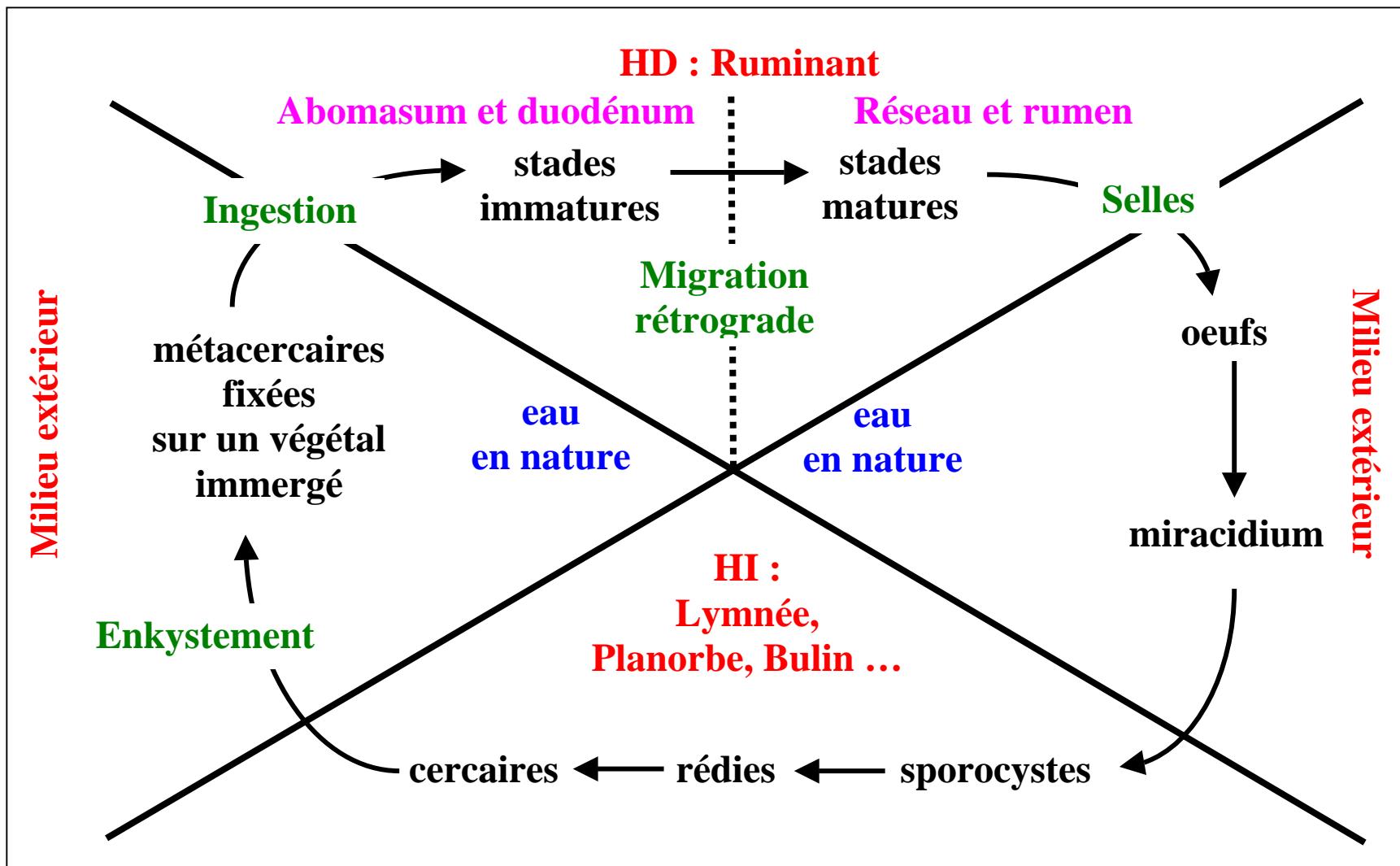


Figure 26 : Etapes du cycle évolutif des espèces du genre *Paramphistomum*.

| Espèces | <i>P. microbothrium</i> chez <i>Bulinus truncatus</i> <i>Bulinus tropicus</i> | <i>P. ichikawai</i> chez <i>Segnitalia alphinia</i> | <i>P. epiclitum</i> chez <i>Indoplanorbis exustus</i> | <i>P. daubneyi</i> chez <i>Lymnaea truncatula</i> |
|---------------------------------------|--|--|--|---|
| Incubation du miracidium | 12 j à 27 °C (SWART & REINECKE, 1962)* 14-16 j à 26-28 °C (DINNIK & DINNIK, 1954)* | 12 j à 27 °C (HORAK, 1971) 5 j à 33-39 °C (KISSILEV, 1967)* | 8-10 j à 35-37 °C 12-14 j à 30-32 °C 22-25 j à 22-25 °C (PRASAD & al., 1994) | 9 j à 27 °C (SEY, 1979) |
| Apparition de la première rédie | 10 j PIE (HORAK, 1971) | 8 j PIE (HORAK, 1971) | 12 j PIE (PRASAD & al., 1994) | 9 j PIE (SEY, 1979) |
| Début de l'émission cercarienne | 37 j PIE (LENGY, 1960)* 43-46 j PIE (DINNIK & DINNIK, 1954)* | 25 j PIE (HORAK, 1971) | 21-24 j PIE à 27-29 °C (PRASAD & al., 1994) | 55 j PIE (SEY, 1979) |
| Durée de maturation des métacercaires | 24 H (HORAK, 1971) | | | 7 j (SEY, 1979) |
| Durée de la période prépatente | 56 j (HORAK, 1967)* 89 j (DINNIK & DINNIK, 1954)* 69 j (ARFAA, 1962)* | 49 j (HORAK, 1971) 42-51 j (KISSILEV, 1967)* | | 12-13 Sem (SEY, 1979) |

* = cité par HORAK (1971)

Tableau XIII : Délais entre différents stades du cycle et durée de certaines phases chez quatre espèces du genre *Paramphistomum*.
(j = jour ; H = heure ; Sem = semaine ; PIE = Post infestation de l'escargot).

| Bovin N° | JPI | NMA | NVR | % VR/MA | Distribution des vers exprimée en pourcentage | | | | | | | | | Caecum et Colon | |
|-------------|-----|---------|---------|------------|---|--------|----------|----------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------|-------|--------------------|--|
| | | | | | Rumen | Omasum | Abomasum | Vésicule biliaire | Duodenum | | | | | | |
| | | | | | | | | | 3 1 ^{ers} mètres | 3 2 ^{ndes} mètres | 3 3 ^{èmes} mètres | Portions distales | | | |
| B11 | 8 | 100 000 | 55 265 | 55,3 | 0,000 | - | 0,290 | - | 72,523 | 25,170 | 1,800 | 0,217 | | | |
| B12 | 14 | 113 000 | 57 084 | 50,5 | 0,009 | - | 7,795 | 0,000 | 69,844 | 21,104 | 1,186 | 0,023 | 0,039 | | |
| B13 | 20 | 110 000 | 55 616 | 50,6 | 0,014 | 0,611 | 2,499 | 0,009 | 96,424 | 0,146 | 0,085 | 0,198 | 0,014 | | |
| B14 | 23 | 250 000 | 108 223 | 43,3 | 0 ,000 | 0,000 | 1,367 | 0,000 | 73,700 | 23,735 | 0,585 | 0,613 | | | |
| B15 | 28 | 50 000 | 16 714 | 33,4 | 63,06 | 16,87 | 3,09 | 0,00 | 16,84 | 0,11 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | | |
| B16 | 28 | 250 000 | 102 103 | 40,8 | 0,255 | 0,078 | 2,774 | 0,000 | 37,739 | 28,794 | 20,881 | 9,479 | | | |
| B10* | 33 | 256 000 | 172 696 | 67,5 | 0,045 | 0,064 | 0,689 | 0,020 | 45,089 | 45,606 | 5,705 | 2,270 | 0,512 | | |
| B17* | 40 | 305 000 | 161 654 | 53,0 | 0,016 | 0,036 | 0,458 | 0,000 | 34,857 | 33,702 | 29,149 | 1,303 | 0,479 | | |
| B18 | 46 | 40 000 | 21 246 | 53,1 | 90,54 | 8,68 | 0,50 | - | 0,28 | # | | | | | |
| 19 | 53 | 40 000 | 17 908 | 44,8 | 79,20 | 13,31 | 1,18 | - | 6,21 | 0,02 | 0,08 | | | | |
| B20 | 52 | 204 000 | 44 196 | 21,7 | 97,989 | 1,674 | 0,174 | 0,000 | 0,149 | 0,002 | 0,005 | 0,002 | 0,005 | | |
| B21 | 52 | 200 000 | 72 252 | 36,1 | 19,681 | 1,785 | 3,460 | 0,010 | 74,185 | 0,797 | 0,024 | 0,015 | 0,043 | | |
| B22 | 62 | 19 000 | 10 060 | 52,9 | 100 ,00 | 0,00 | 0,00 | | | | | | | | |
| B23 | 205 | 150 000 | 13 855 | 9,2 | 99,96 | 0,00 | 0,00 | - | 0,04 | | | | | | |
| B24 | 737 | 2 500 | 903 | 36,1 | 100,0 | | | | | | | | | | |

Tableau XIV : Pourcentage de formes adultes et immatures de *Paramphistomum microbothrium* retrouvées à l'autopsie par rapport au nombre de métacercaires administrées et distribution dans les différentes portions du tube digestif chez des bovins (HORAK, 1967) :

le pourcentage de formes adultes présente dans le rumen est plus faible pour un même délai d'infestation lorsque le nombre de métacercaires administrées augmente ; présence de vers au niveau des portions distales aux 3 premiers mètres du duodénum et dans la

vésicule biliaire lors de fortes infestations (NMA = Nombre de métacercaires administrées ; NVR = Nombre de vers retrouvés ;

* = animaux morts de paramphistomoses ; % VR/MA = pourcentage de vers retrouvés par rapport à la dose de métacercaires ;

: les espaces blancs indiquent que les organes n'ont pas été examinés).

I.3.1.2. Eléments conditionnant le cycle

Le bon déroulement du cycle biologique des espèces du genre *Paramphistomum* fait intervenir de nombreux facteurs environnementaux.

La température agit à la fois sur les hôtes intermédiaires, dont l'activité n'est possible que si la température est comprise entre une valeur seuil (10°C pour *Lymnaea truncatula*) et une valeur limite, et sur les stades larvaires (Tableau XV). Le développement embryonnaire et l'éclosion du miracidium ne sont réalisables qu'à des températures supérieures à 10 et 13 °C respectivement. Des expériences ont montré que la durée de développement des œufs de *Paramphistomum petrowi* sous des conditions humides dépend directement de la température : 8 jours à 30 °C, 14 jours à 26-27 °C et 40 jours à 18,5 °C. La température conditionne également la durée de vie du miracidium, le développement des stades larvaires ainsi que l'enkystement et la survie des métacercaires (Tableau XV) (KRANEBURG, 1977 - cité par POSTAL, 1984). L'émission cercarienne est optimale lorsque la température est comprise dans un certain intervalle, variable selon les espèces : de 29 à 32 °C pour les cercaires de *Paramphistomum cervi*, et de 26 à 28 °C pour celles de *Paramphistomum microbothrium* (EUZEBY, 1975). ABROUS, RONDELAUD & DREYFUSS (1999) ont étudié l'influence des fluctuations de température sur l'émission des cercaires de *P. daubneyi* chez *Lymnaea truncatula*. Pour cela, ils ont constitué quatre groupes d'escargots, un groupe témoin non infesté et trois groupes infestés dont un exposé à une température constante de 20 °C, les deux autres étant soumis quotidiennement à une immersion dans de l'eau froide à respectivement 6-8 °C et 14-15 °C. Les résultats ne montrent pas de différence significative entre les groupes infestés en ce qui concerne la durée entre l'exposition au miracidium et l'émission de la première cercaire. Par contre, le nombre de cercaires émises est significativement plus élevé dans le groupe immergé dans de l'eau à 6-8 °C par rapport aux deux autres groupes avec une moyenne de 57,7 cercaires lors d'immersions à 6-8 °C, de 21,8 cercaires à 14-15 °C et de 11,6 à une température constante de 20 °C. La chute brutale et temporaire de température, qui a lieu au cours de la nuit dans les conditions de terrain, provoquerait un stress et induirait la sortie des cercaires. Ceci diffère des données connues chez *Fasciola hepatica* dont le nombre de cercaires émises n'est pas significativement différent selon que les escargots sont gardés à 9 ou 26 °C (KENDALL & MACCULLOUGH, 1951 - cité par ABROUS, RONDELAUD & DREYFUSS, 1999).

| T° (°C) | Développement embryonnaire | Durée de vie du miracidium | Développement des stades larvaires | Emission des cercaires | Enkystement et survie |
|---------|--|----------------------------|------------------------------------|------------------------|-------------------------------|
| < 0 | Impossible | 20 - 30 H | Pas de développement | Pas d'émission | Survie possible hors de l'eau |
| 0 | | | | | |
| 4 | | | | | |
| 10 | | | | | |
| 13 | Eclosion possible | | | | |
| 15 | 30 - 50 j | | | | |
| 18 | | | Développement possible | Possible | Enkystement plus rapide |
| 20 | 12 - 22 j | 8 H | | Optimale | |
| 24 | | | | | |
| 25 | | 6 H | | | |
| 26 | 10 - 12 j | | Limite ? | | |
| 28 | | | | | |
| 30 | 6 j | 4 - 5 H | | Emission bloquée | |
| 36 | développement de seulement 1/3 des oeufs | | | | |
| 40 | | Survie possible | | | |

Tableau XV : Influence de la température sur les différentes phases du cycle des paramphistomes (KRANEBURG, 1977 - cité par POSTAL, 1984).

L'éclosion du miracidium est déclenchée par une exposition des œufs à la lumière (LENGY, 1960 - cité par HORAK, 1971). La lumière est également nécessaire au développement embryonnaire mais elle diminuerait la durée de vie du miracidium (POSTAL, 1984). Enfin, l'émission cercarienne, dans les conditions de température optimales, débute après une exposition des escargots à la lumière, et plus celle-ci est intense plus le nombre de cercaires émises est élevé (LENGY, 1960 - cité par HORAK, 1971). BUTLER & YEOMAN (1962) ont pu observer que des mollusques placés à l'obscurité émettaient un nombre réduit de cercaires tandis que l'émission était massive dans l'heure suivant l'exposition des mollusques à la lumière directe du jour.

L'eau est un facteur déterminant du cycle. C'est un élément nécessaire aux hôtes intermédiaires mais également aux miracidiums et aux cercaires qui sont des stades larvaires « nageurs ». Elle intervient aussi dans le développement et l'éclosion du miracidium en délitant les fèces. En effet, le développement embryonnaire débute lorsque les œufs sont libérés des matières fécales (SWART & REINDECKE, 1962 - cités par HORAK, 1971) qui sont de plus impropres à l'éclosion du miracidium (SMITH & HALTON, 1983 - cités par JOLY, 1991).

Le climat, par ces trois facteurs associés, va avoir une influence saisonnière sur la durée de développement du miracidium (HOULBERT, 1998) : 6 à 8 jours en avril, mai et juin, 9 à 14 jours en juillet, août et septembre et 40 à 42 jours en novembre, décembre, janvier et février.

Divers autres facteurs ont été mis en évidence notamment le régime alimentaire de l'hôte intermédiaire. L'émission de cercaire de *Paramphistomum daubneyi* serait améliorée lorsque *Lymnaea truncatula* est placée sur des feuilles de *Plantago lanceolata* (GEORGIEV, 1981). RONDELAUD, ABROUS & DREYFUSS (2002) ont soumis *Lymnaea truncatula* à quatre régimes alimentaires : microalgues, régime de Boray modifié, laitue romaine et germes de blé. Ils ont constaté que les deux premiers régimes permettaient l'obtention d'un plus grand nombre de cercaires de *Paramphistomum daubneyi*.

Enfin, la présence simultanée d'hôtes intermédiaires spécifiques et de ruminants réceptifs est un élément primordial pour l'accomplissement du cycle évolutif.

I.3.1.3. Hôtes intermédiaires

Les hôtes intermédiaires des paramphistomes sont des mollusques gastéropodes d'eau douce, pulmonés, basommatophores : les yeux sont portés à la base de tentacules aplatis et triangulaires. Parmi la classe des Gastéropodes, ils appartiennent essentiellement aux Familles des *Lymnaeidae*, des *Bulinidae* et *Planorbidae*.

La famille des *Lymnaeidae* (Figure 27) se caractérise par la présence d'une coquille hélicoïdale à enroulement dextre. L'espèce la plus souvent impliquée, *Lymnaea truncatula*, est un petit mollusque de 12 mm de hauteur maximale, se nourrissant essentiellement de microalgues. La distribution de son habitat, étudiée par WRIGHT & SWIRE (1984), est étroitement liée aux sols humides alluviaux argileux et légèrement calcaires. A l'intérieur de ces sols humides, les gîtes se concentrent dans des zones réduites tels que les fossés ou les zones d'écoulement. *Lymnaea truncatula* vit surtout aux extrémités distales des rigoles de drainage superficiel ou d'écoulement naturel de l'eau (Figure 28). La présence d'autres espèces de Limnées semble maintenir *Lymnaea truncatula* dans les extrémités des zones en eau (MAGE & CHAUVIN, 1997). Il s'agit d'un escargot d'eau douce, absent des zones inondées temporairement par l'eau de mer à marée haute, ne tolérant pas les eaux pauvres en oxygène et évitant l'eau courante. L'habitat idéal serait un mélange de flaue d'eau et de boue, telles que les empreintes laissées par les troupeaux sur les sols humides. Il s'agit d'une espèce amphibia qui s'immerge pendant l'hiver pour émerger progressivement lorsque les conditions deviennent plus favorables (XIMENES & al., 1993). Son activité nécessite des températures supérieures à 10 °C. L'habitat, par son altitude et son climat conditionne le nombre de générations annuelles (SZMIDT-ADJIDE & al., 1996). Les différents schémas sont présentés sur la figure 29. Dans les zones d'altitudes, on observe une seule génération. La ponte a alors lieu en juillet - août et les descendants qui ont supporté l'hiver reprennent leur activité à partir du mois de juin suivant. Le schéma le plus classique, rencontré sur le territoire français, comprend deux générations. La génération d'hiver, née en septembre - octobre, subit les conditions hivernales et ses survivants pondent de mi - avril à mi - juin. Cette ponte engendre la deuxième génération ou génération d'été. Certains spécimens survivront à l'assèchement estival et pondront en septembre - octobre avant de mourir en novembre. Un troisième schéma est possible lors d'années particulièrement humides avec un hiver doux : une troisième génération s'intercale entre les deux générations du schéma classique.

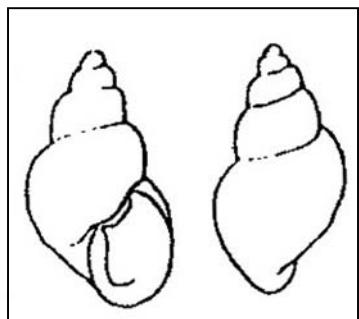


Figure 27 : Mollusque gastéropode de la Famille des *Lymnaeidae* :*Lymnaea truncatula* (POSTAL 1984).

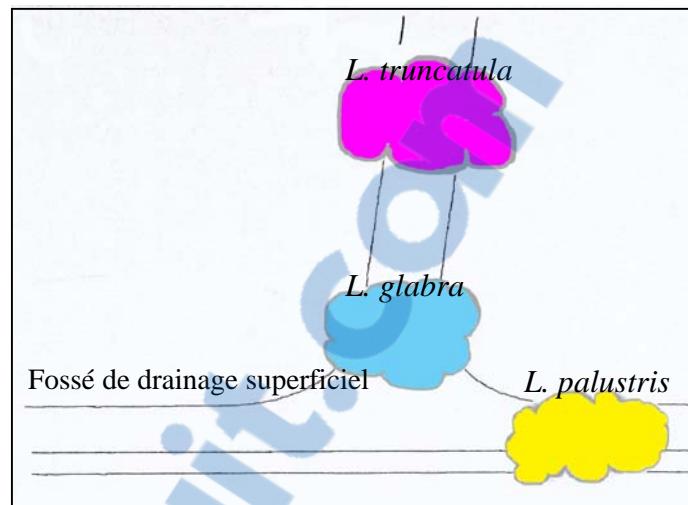
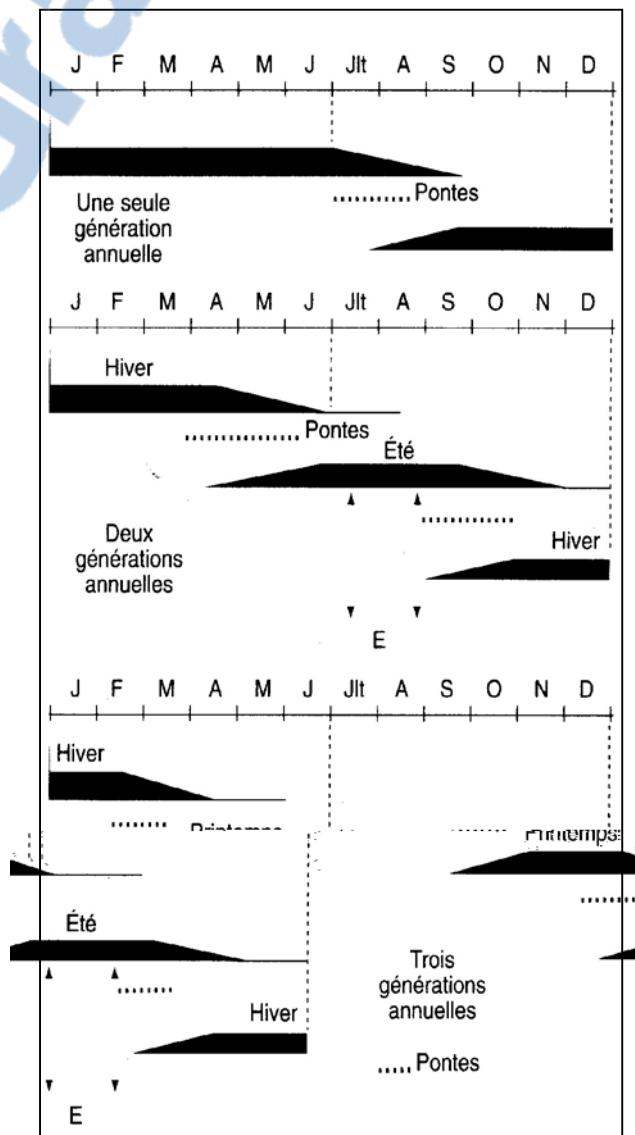


Figure 28 : Répartition des populations de limnées dans une prairie humide limousine (MAGE & CHAUVIN, 1997).

Figure 29 : Les générations annuelles de *Lymnaea truncatula* (SZMIDT-ADJIDE & al., 1996) (E : estivation).



La Famille des *Planorbidae* (Figure 30) se caractérise par une coquille discoïde à enroulement senestre et spiralée dans un plan. Ces escargots vivent dans des eaux riches en végétation, douces ou saumâtres, stagnantes ou animées d'un léger courant ainsi que dans les marécages (BROSI, 2003). *Planorbis planorbis* se rencontre dans les eaux calmes à végétation abondante et fond boueux. Leur alimentation se compose d'algues, de plantes aquatiques et de matière végétale en voie de décomposition, voire, pour certaines espèces, de bactéries. Leur espérance de vie est de 1 à 4 ans selon les espèces (3 à 4 ans pour *Planorbis planorbis*). Le début de la ponte est dépendant de la température (supérieure à 12 °C pour *Planorbarius corneus* rencontré en Europe et dans l'ouest de l'Asie). Chez *Planorbis planorbis*, l'éclosion des œufs a lieu en 11 à 14 jours à la température de 20 °C. Cette espèce se retrouve en Afrique du Nord, en Europe et en Asie de l'Est. Les jeunes naissent en février, pondent des œufs qui seront à l'origine de la deuxième génération de juillet. Celle-ci hivernera, donnera naissance à la première génération de l'année suivante puis mourra.

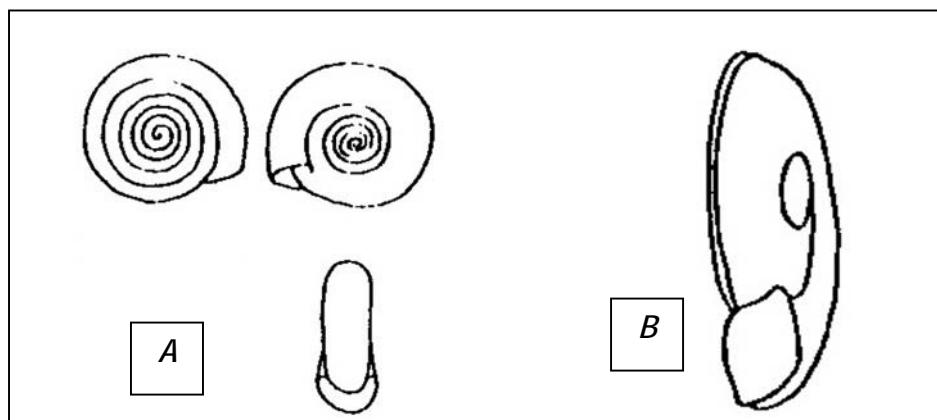


Figure 30 : Mollusques de la Famille des Planorbidae : *Anisus contortus* (A) et *A. planorbis* (B) (POSTAL, 1984).

La famille des *Bulinidae* (Figure 31) se caractérise par une coquille ovoïde à enroulement senestre.

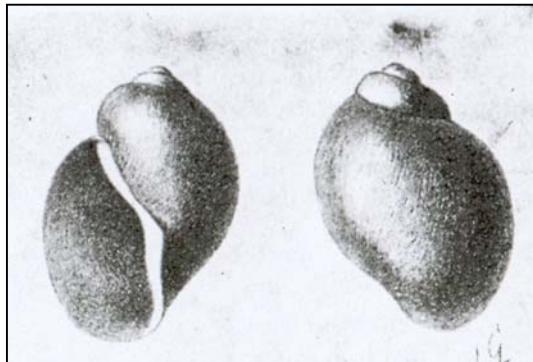


Figure 31 : Mollusque Gastéropode de la Famille des Bulinidae : *Bulinus truncatus* (EUZEBY, 1975).

Les hôtes intermédiaires des espèces du genre *Paramphistomum* sont listés dans le tableau XVI, tableau publié par POSTAL (1984) que nous avons complété avec certaines données bibliographiques récentes. Nous pouvons remarquer que *Paramphistomum daubneyi*, *P. microbothrium*, *P. microbothrioides*, *P. togolense* et *P. phillerouxi* ont pour hôte intermédiaire une gamme réduite d'espèces des genres *Lymnaea* et *Bulinus*. La spécificité d'hôte intermédiaire avancée par SEY (1980) pour clarifier la taxinomie du genre *Paramphistomum* semble être justifiée. Cependant, *Paramphistomum ichikawai* et *Paramphistomum cervi* présentent de nombreux hôtes intermédiaires appartenant à des genres différents. Ceci résulte peut-être de l'existence d'espèces non différencierées confondues sous un même nom comme le propose POSTAL (1984). En effet, rappelons que pendant longtemps de nombreuses espèces étaient regroupées sous le nom de *Paramphistomum cervi*. Ou bien, il s'agit peut-être d'une adaptation locale du parasite à un hôte intermédiaire différent de son hôte habituel afin d'assurer son développement.

De même que Postal (1984), nous retiendrons comme mollusques hôtes intermédiaires des paramphistomes en Europe les espèces suivantes : *Lymnaea truncatula* pour *Paramphistomum daubneyi*, *Bulinus truncatus* pour *P. microbothrium* et des *Planorbidae* (*Anisus* spp) pour *P. cervi* et *P. ichikawai*.

| Espèces du genre <i>Paramphistomum</i> | Hôtes intermédiaires | Références |
|---|---|---|
| <i>P. cervi</i> | <i>Physa alexandrina</i> , <i>Physa micropleura</i> , <i>Bulinus contortus</i> , <i>Bulinus forskalii</i> | LOOSS (1986)*, EUZEBY (1975), DEIANA (1963)* (Sardaigne) |
| | <i>Planorbis japonicus</i> | TAKAHASHI (1927)* |
| | <i>Pseudosuccinea columella</i> , <i>Galba bulimoides</i> | KRULL (1933)* |
| | <i>Anisus (Planorbis) planorbis</i> | SZIDAT (1936)*, KRUEKOVA (1937)*, MALEK & CHENG (1974)****, BOCH & al. (1983)****, NIKITIN (1968)**, GLUZMAN (1979)**, ASADOV & al. (1972)**, KLESOV & MEREMINSKII (1973), KRANEBURG (1977 ; 1978)****, ODENING & al. (1978 ; 1979)****, MEREMINSKII & al. (1971), EUZEBY (1975), KATKOV (1973)**, SAMNALIEV & al. (1984) |
| | <i>Bulinus sp.</i> , <i>Physa sp.</i> | PORTER (1938)* (Afrique) |
| | <i>Planorbis sp.</i> , <i>Lymnaea ovata</i> | MINCHEVA & al. (1955)* |
| | <i>Anisus sp.</i> , <i>Gyraulus sp.</i> , <i>Armiger sp.</i> , <i>Choanomphalus anophalus</i> , <i>Segmentina nitida</i> | KRUEKOVA (1957)* (Moscou) |
| | <i>Anisus (Planorbis) vortex</i> | GLUZMAN (1969)** , KATKOV (1973)** KLESOV & MEREMINSKII (1973), MEREMINSKII & al. (1971), KRANEBURG (1977 ; 1978)****, ODENING & al. (1978)**** |
| | <i>Anisus (Bathyomphalus) contortus</i> | BOCH & al. (1983)****, GLUZMAN (1969)**, MEREMINSKII & al. (1973)**, ODENING & al. (1978 ; 1979)****, KATKOV (1973)**, KRANEBURG (1977)**** |
| | <i>Bulinus mariei</i> , <i>Bulinus liratus</i> | GRETILLAT (1958)**** |
| | <i>Anisus rotundatus</i> | POSTAL (1984) |
| | <i>Lymnaea cubensis</i> , <i>Lymnaea humilis</i> , <i>Lymnaea palustris</i> | CASTRO-TREJO & al. (1990) |
| | <i>Lymnaea bulimoides</i> , <i>Lymnaea columella</i> | OLSEN (1974)° |
| | <i>Anisus (= Planorbis=Armiger=Gyraulus) crista</i> | NIKITIN (1968)**, KRANEBURG (1977)***, ODENING & al. (1978)*** |
| | <i>Anisus (Segmentina) nitidus</i> | ODENING & al. (1978)***, MEREMINSKII & al. (1971) |
| | <i>Anisus (Planorbis) leucostoma</i> | GLUZMAN (1969)** , KATKOV (1973)**, KLESOV & MEREMINSKII (1973)**, WILLMOTT & PESTER (1955)* KRANEBURG (1977)***, ODENING & al. (1979)*** |
| | <i>Anisus (Planorbis) spirobis</i> | GLUZMAN (1969)**, KATKOV (1973)**, KLESOV & MEREMINSKII (1973)**, MEREMINSKII & al. (1971) |
| | <i>Anisus septemgyratus</i> | GLUZMAN (1969)**, KLESOV & MEREMINSKII (1973)** |
| | <i>Anisus (Gyraulus) albus</i> | NIKITIN (1968)**, KATKOV (1973)**, ODENING & al. (1979)*** |

| | | |
|--------------------------------------|--|---|
| <i>P. cervi</i> (suite) | <i>Anisus (Planorbis) carinatus</i> | MEREMINSKII (1971) |
| | <i>Anisus (Hippeutis) complanatus</i> | NIKITIN (1968)**, KRANEBURG (1977)*** |
| <i>P.</i> <i>daubneyi</i> | <i>Lymnaea truncatula</i> | DINNIK (1962)* (Kenya), SEY (1974) (Kenya ; Ethiopie), SZMIDT-ADJIDE & al. (1996) (France) |
| | <i>Lymnaea peregra</i> | ODENING & al. (1979)***, SEY (1974) (Hongrie), SZMIDT-ADJIDE & al. (1996) (France) |
| | <i>Lymnaea glabra, Lymnaea fuscus, Lymnaea palustris</i> | ABROUS & al. (1999 a et b) |
| <i>P.</i> <i>microbothrium</i> | <i>Bulinus alluaudi</i> | DINNIK & DINNIK (1954 *** ; 1962*) |
| | <i>Bulinus truncatus</i> | HORAK (1962)***, BRUMPT (1929 ; 1936)*** (Corse), LENGY (1960) °° (Israël), ARFAA (1962) °° (Iran), DIAW (1983) |
| | <i>Bulinus (bulinus) forskalii</i> | MALEK & CHENG (1974)*** |
| | <i>Bulinus (Physopsis) ugandae</i> | MALEK & CHENG (1974)*** |
| | <i>Bulinus (Isidora) guernei</i> | DIAW (1983) |
| | <i>Bulinus tropicus</i> | DINNIK & DINNIK (1954) °° (Kenya), SWART & REINECKE (1962) °° (Afrique du Sud) |
| <i>P.</i> <i>ichikawai</i> | <i>Segnitalia alphena</i> | DURIES (1953) °°°, HORAK (1971) |
| | <i>Anisus (Planorbis) planorbis</i> | SEY (1980) |
| | <i>Anisus (Planorbis) carinatus</i> | ODENING & al. (1979)*** |
| | <i>Anisus (Hippeutis) complanatus</i> | KATKOV (1973)** |
| | <i>Anisus (Segmentina) nitidus</i> | MEREMINSKII & al. (1971), ODENING & al. (1979)*** |
| | <i>Gyraulus filaris, Helicorbis sufunensis</i> | KISILEV (1967) °°° |
| <i>P.</i> <i>microbothrioides</i> | <i>Lymnaea modicella</i> | EUZEBY (1975) |
| | <i>Lymnaea parva</i> | EUZEBY (1975), SAMNALIEV & al. (1986) |
| | <i>Lymnaea humilis, Lymnaea cubensis</i> | SEY (1980) |
| | <i>Lymnaea truncatula</i> | KAMBUROV & al. (1972) °°° |
| <i>P. togolense</i> | <i>Bulinus (bulinus) forskalii</i> | ALBARET & al. (1978) |
| <i>P. phillerouxi</i> | <i>Bulinus guernei, Bulinus forskalii</i> | ALBARET & al. (1981) |

Tableau XVI : Hôtes intermédiaires de certaines espèces du genre *Paramphistomum*.

(* = YAMAGUTI (1969) cité par POSTAL (1984) ; ** = ODENING & al. (1979) cité par POSTAL (1984) ; *** = POSTAL (1984) ;

° = cité par CASTRO-TREJO & al. (1990) ; °° = cité par HORAK (1971) ; °°° = cité par SEY (1974))

I.3.1.4. Hôtes définitifs

La sous-famille des *Paramphistominae* se distingue des autres sous-familles de la Famille des *Paramphistomatidae*, notamment par le fait que ses membres sont parasites d'Artiodactyles, sous-ordre d'ongulés possédant un nombre pair de doigts à chaque patte et comprenant les ruminants et les porcins. SEY (1980) a dressé une liste des ruminants, domestiques et sauvages, hôtes définitifs de certaines espèces de paramphistomes à laquelle nous avons ajouté quelques données relatives à *Paramphistomum phillerouxi* (Tableaux XVII et XVIII). En ce qui concerne, *Paramphistomum togolense*, l'hôte définitif est inconnu, il s'agirait probablement d'un bovin, tandis que son hôte expérimental est le mouton (ALBARET & al., 1978).

Malgré la possibilité de certaines espèces à pouvoir se développer chez plusieurs espèces de ruminants, il semblerait toutefois qu'elles soient plus adaptées à une espèce en particulier. HORAK (1967) a en effet observé après infestation d'ovins, caprins et bovins avec le même nombre de métacercaires de *Paramphistomum microbothrium*, que le pourcentage de vers adultes retrouvés dans les préestomacs par rapport à la quantité de métacercaires administrées était à terme plus élevé chez les bovins (Figure 32). De plus, ces vers adultes seraient de plus petites tailles chez les caprins que chez les bovins (DINNIK & DINNIK, 1954 - cité HORAK, 1967). LE ROUX (1930 - cité par HORAK, 1967) a constaté que des bovins évoluant sur les mêmes pâtures que des ovins atteints de paramphistomoses ne semblaient pas affectés par la maladie. Il existerait donc une certaine spécificité des paramphistomes pour leur hôte définitif.

Notons que les paramphistomoses gastroduodénales des ruminants ne semblent pas être des zoonoses.

| Espèces hôtes définitifs | Espèces du genre <i>Paramphistomum</i> | Références | |
|---------------------------------|---|---|---|
| BŒUF (<i>Bos taurus</i>) | <i>P. cervi</i> (ZEDER, 1790) | Nombreux auteurs * Albanie, Bulgarie, Finlande, Tchécoslovaquie, URSS, Danemark, Allemagne, Hongrie, Italie, Angleterre, NZ, Norvège, Pologne, Portugal, Roumanie, Suisse, Espagne, Yougoslavie | |
| | <i>P. daubneyi</i> (DINNIK, 1962) | Nombreux auteurs Albanie, Bulgarie, Allemagne, Tchécoslovaquie, Grèce, Italie, Hongrie, Roumanie, Yougoslavie | |
| | <i>P. gotoi</i> (FUKUI, 1922) | STEPANOV (1969)* URSS | |
| | | SEY (1978)* Roumanie | |
| | <i>P. ichikawai</i> (FUKUI, 1922) | MAROTEL & GRATECOS (1938) GUILHON & PRIOUZEAU (1945) EUZEBY (1973)* ZDZITOWIECKI & al. (1977)* SEY (1974) SEY (1978) VELICHKO (1968)* BABIIIC (1966)* | France Pologne Hongrie Roumanie URSS Yougoslavie |
| | | BRUMPT (1936)* WILLMOTT (1950)* | France |
| | | NASMARK (1937)* SEY & ARRU (1977)* | Italie |
| | | CAEIRO (1961)* LEITAO (1963)* | Portugal |
| | <i>P. microbothrium</i> (FISCHOEDER, 1901) | KAMBUROV & al. (1977) | Bulgarie |
| | <i>P. microbothrioides</i> (PRICE & MACINTOSH, 1944) | ALBARET & al. (1981) | Sénégal |
| | <i>P. phillerouxi</i> (DINNIK, 1961) | | |

| | | | |
|--------------------------------|--|--|--|
| MOUTON (<i>Ovis aries</i>) | <i>P. cervi</i> (ZEDER, 1790) | Nombreux auteurs * | Albanie, Bulgarie, Allemagne, Tchécoslovaquie, Yougoslavie Hongrie, Angleterre, Roumanie, Italie, Pologne, URSS, Espagne |
| | <i>P. daubneyi</i> (DINNIK, 1962) | KORTLA & al. (1974)* | Albanie |
| | | KORTLA & al. (1974)* MEREMINSKII & VISHNIAKOV (1969)* VISHNIAKOV & al. (1971)* SEY & VISHNIAKOV (1976)* | Bulgarie |
| | | SEY (1974) | Hongrie |
| | | LEPOJEV & CVETKOVIC (1976)* | Yougoslavie |
| | <i>P. ichikawai</i> (FUKUI, 1922) | SEY (1974) | Hongrie |
| | | VELITCHKO (1968)* | URSS |
| | | VUJIC (1965) | Yougoslavie |
| CHEVRE (<i>Capra hircus</i>) | <i>P. microbothrium</i> (FISCHOEDER, 1901) | SEY & ARRU (1977)* | Italie |
| | <i>P. microbothrioides</i> (PRICE & MACINTOSH, 1944) | KAMBUROV & al. (1977) | Bulgarie |
| | <i>P. cervi</i> (ZEDER, 1790) | MOSKVIN (1958)* | Albanie |
| | | TUDOR & ANTON (1968)* | Roumanie |
| | | ARRU & DEINA (1962)* DEINA & ARRU (1962)* ARRU & DEINA (1969)* | Italie |
| | <i>P. microbothrium</i> (FISCHOEDER, 1901) | SEY & ARRU (1977)* | Italie |

Tableau XVII : Espèces domestiques hôtes définitifs de certaines espèces du genre *Paramphistomum*
 (* = cité par SEY (1980) ; NZ = Nouvelle Zélande).

| Espèces hôtes définitifs | Espèces du genre <i>Paramphistomum</i> | Références | |
|---|---|---|-----------------|
| MOUFLON (<i>Ovis musimum</i>) | <i>P. cervi</i> (ZEDER, 1790) | KUTZER & HINAIDY (1969)* | Autriche |
| | | KOTRLY & PAV (1959)* MOTTLE & PAV (1962)* | Tchécoslovaquie |
| | | SEY (1980) | URSS |
| BISON (<i>Bison bonasus</i>) | <i>P. cervi</i> (ZEDER, 1790) | DROZDZ (1961)* | Pologne |
| | | MATEVOSYAN (1964)* | URSS |
| ELAN (<i>Alces alces</i>) | <i>P. cervi</i> (ZEDER, 1790) | ZDZITOWIECKI & al. (1977)* | Pologne |
| | | NILSSON (1971)* | Suisse |
| | | ALEKSANDROVA (1962)* VELITCHKO (1968)* SEY (1980) | URSS |
| DAIM (<i>Dama dama</i>) | <i>P. cervi</i> (ZEDER, 1790) | KOTRLY & PAV (1959)* PAV & al. (1962)* | Tchécoslovaquie |
| | | SEY (1980) | Hongrie URSS |
| | | ZDZITOWIECKI & al. (1977)* | Pologne |
| | | | |
| CHEVREUIL (<i>Capreolus capreolus</i>) | <i>P. cervi</i> (ZEDER, 1790) | KOTRLY & PAV (1959)* PAV & al. (1962)* | Tchécoslovaquie |
| | | ODENING & al. (1978)* GRAUBMAN & al. (1978)* | Allemagne |
| | | SEY (1980) | Hongrie |
| | | ZDZITOWIECKI & al. (1977)* | Pologne |
| | | NILSSON (1971)* | Suisse |
| | | KAZLAUSKAS & PUZHAUSKAS (1974)* | URSS |
| | | RICHTER (1959)* | Yougoslavie |

| | | | |
|------------------------------------|-------------------------------|---|-----------------|
| RENNE (<i>Rangifer tarandus</i>) | <i>P. cervi</i> (ZEDER, 1790) | SEY (1980) | Finlande |
| CERF (<i>Cervus elaphus</i>) | <i>P. cervi</i> (ZEDER, 1790) | KUTZER & HINAIDY (1969)* | Autriche |
| | | KOTRLY & PAV (1959)* PAV & al. (1962)* | Tchécoslovaquie |
| | | SEY (1980) | Hongrie |
| | | ODENING & al. (1978)* GRAUBMAN & al. (1978)* | Allemagne |
| | | ZADURA (1960)* ZDZITOWIECKI & al. (1977)* | Pologne |
| | | ROMASHOV (1963)* | URSS |
| | | PETROVIC & al. (1966)* | Yougoslavie |
| | | ERHARDOVA (1964)* | Tchécoslovaquie |
| | | SEY (1980) | Hongrie |
| | | ZDZITOWIECKI & al. (1977)* | Pologne |

Tableau XVIII : Espèces sauvages hôtes définitifs de certaines espèces du genre *Paramphistomum*
 (* = cité par SEY (1980))

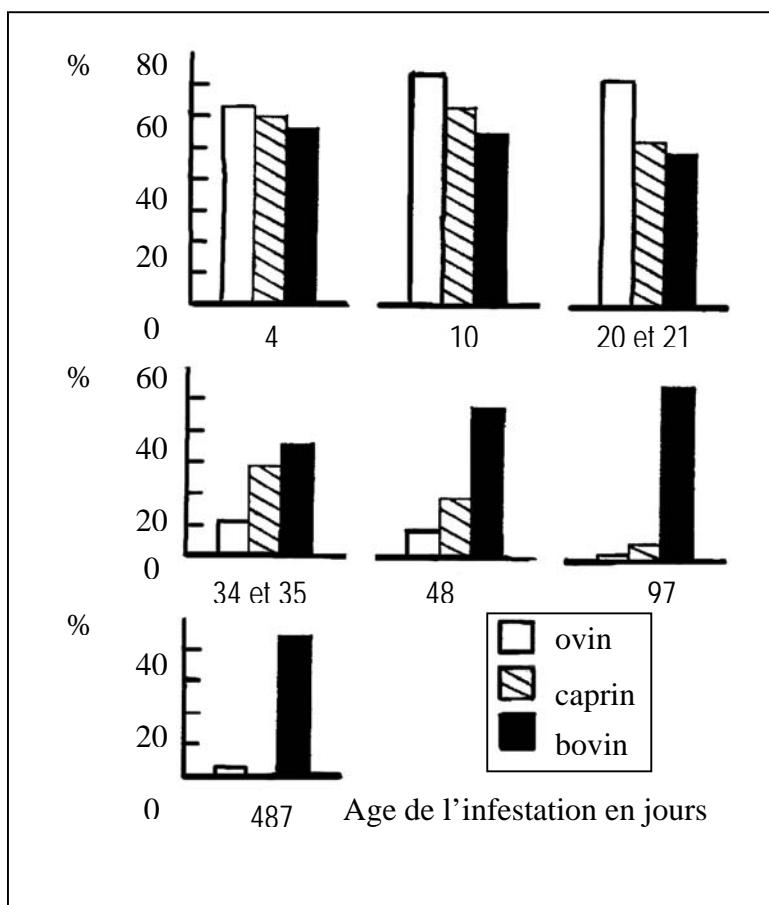


Figure 32 : Pourcentage de « prise parasitaire » chez les ovins, caprins et bovins à différents stades après infestation par *Paramphistomum microboithrium* (HORAK, 1967) :
le pourcentage est à terme plus élevé chez les bovins.

I.3.2. Habitat et nutrition

Les stades larvaires, mis à part les formes libres dans le milieu extérieur, se développent dans le corps de mollusques gastéropodes et plus précisément au niveau de leur hépatopancréas. Ces formes larvaires semblent se nourrir des tissus de leur hôte, nutrition dans laquelle intervient le tégument, en plus du tractus digestif, grâce à des mécanismes de phagocytose.

Chez l'hôte définitif, les stades immatures se localisent aux premières portions du duodénum et à la caillette, fixés par leur acétabulum ou enfoncés dans la muqueuse, avant d'entreprendre leur migration rétrograde vers les pré-estomacs où ils acquièrent leur maturité sexuelle, à l'exception de *Paramphistomum ichikawai* qui achève sa migration au niveau de la caillette (BORAY, 1969 - cité par EUZEBY, 1975). Habituellement, seuls les trois premiers mètres sont concernés mais la présence des formes immatures peut s'étendre aux portions distales en cas d'infestation massive (HORAK, 1967). Au terme de la migration rétrograde, les adultes se fixent à la muqueuse du rumen et du réseau par leur acétabulum. Cependant, DINNIK & al. (1962 - cité par EUZEBY, 1975) ont remarqué de rares cas où quelques adultes de *Paramphistomum microbothrium* étaient enfoncés dans la sous-muqueuse ruminale de bovins.

L'hématophagie ne constitue pas le mode de nutrition principal des paramphistomes comme en atteste la structure de leurs cæca simples, non ramifiés contrairement à ceux de *Fasciola hepatica*, ramifiés et dichotomisés, offrant une forte surface d'absorption. De plus, les paramphistomes, n'étant pas fixés par leur ventouse buccale, ne peuvent donc pas ponctionner les vaisseaux sanguins de la muqueuse digestive. L'hématophagie n'a lieu que lorsque les parasites s'enfoncent dans cette muqueuse et provoquent des hémorragies par leur action térebrante. Ils peuvent alors absorber le sang ainsi libéré. Ce sont principalement les parasites immatures qui exercent cette action térebrante, ce qui explique leur coloration rouge qui persiste au stade adulte. Il est probable que les formes immatures se nourrissent de la muqueuse intestinale (SHARMA DEORANI & KATIYAR, 1967 - cités par HORAK, 1971). SAHAI, SINGH & PRASAD (1985) remarquent au niveau de la muqueuse duodénale de chèvres infestées par *Paramphistomum cervi* une réduction générale des substances polysaccharidiques complexes et du glycogène 20 jours après infestation. Cette réduction s'accentue entre les 40^{ème} et 60^{ème} jours post-infestation. Puis, ces substances augmentent progressivement pour retrouver une teneur normale 80 jours après l'infestation. Il semble donc que les formes immatures de *P. cervi* utilisent les polysaccharides et le glycogène de l'hôte pour leur croissance et leur développement pendant leur séjour et leur migration dans le duodénum. La base du régime alimentaire des paramphistomes adultes se compose de

contenu des réservoirs gastriques et de débris épithéliaux. SHARMA & HORA (1983) ont constaté que *Paramphistomum cervi* se nourrit essentiellement de débris végétaux, dans une moindre mesure de bactéries et de très peu de protozoaires, à la différence d'*Orthocoelium scoliocoelium* dans les cæca duquel ils observent beaucoup plus de ciliés bien que les deux vers occupent le même habitat. Comme nous l'avons vu précédemment, le tégument n'a qu'un rôle limité dans la nutrition de ces parasites. Les débris végétaux sont absorbés principalement par leur pharynx suceur. Un défaut de nutrition engendré par une surcharge parasitaire provoquerait un nanisme des parasites (HORAK, 1971 ; EUZEBY, 1975) ainsi qu'une inhibition du développement gonadique (TANDON, 1973 - cité par EUZEBY, 1975). Ce retard de croissance a pour conséquence un retard de la migration rétrograde des formes immatures.

La biologie des espèces du genre *Paramphistomum* n'est pas sans évoquer celle d'un autre trématode d'importance vétérinaire qu'est *Fasciola hepatica*. Elle s'en rapproche par le déroulement du cycle évolutif et la communauté de *Lymnaea truncatula* comme hôte intermédiaire. Les hôtes définitifs sont également semblables à l'exception de l'homme qui ne semble pas réceptif aux paramphistomoses. Cependant certaines divergences peuvent être soulignées, ne serait ce que la localisation des parasites immatures et adultes. Nous verrons plus loin que l'épidémiologie des maladies engendrées par ces deux types de parasites diffère également quelque peu.

I.4. Pouvoir pathogène

I.4.1. Des formes immatures

Le pouvoir pathogène des formes immatures est lié à l'action de strangulation exercée par l'acétabulum sur la muqueuse duodénale au cours de leur fixation. Ils sont également responsables d'une action mécanique térébrante lorsqu'ils s'enfoncent dans la muqueuse à leur arrivée dans le duodénum, et lorsqu'ils en sortent pour entreprendre leur migration rétrograde.

I.4.2. Des formes matures

Le pouvoir pathogène des formes matures est réduit. Il est lié à leur action mécanique sur la muqueuse ruminale et réticulaire. Pour assurer leur fixation, les adultes aspirent la muqueuse dans leur acétabulum dont l'orifice est plus petit que la cavité. La muqueuse ainsi aspirée est alors étranglée. Il s'en suit une gène de l'irrigation sanguine entraînant la nécrose de la portion de muqueuse qui finit par tomber. Il en résulte des pertes de substances et, parfois, de petites hémorragies.

Ainsi, le pouvoir pathogène des paramphistomes est d'ordre mécanique et traumatique : action térébrante et strangulation.

I.5. Pouvoir antigène, allergène et immunogène

I.5.1. Pouvoir antigène

De nombreux éléments constitutifs des organismes vivants ou sécrétés - excrétés par eux constituent des antigènes (Ag). Ceux-ci vont induire chez l'individu hôte une réponse immune spécifique par production d'anticorps (Ac) spécifiques de ces Ag. Ces derniers peuvent être de nature protéique, glycoprotéique ou lipoprotéique. Ces Ag, notamment ceux de nature protéique, vont présenter un polymorphisme d'un genre à l'autre, d'une espèce à l'autre voire d'un individu à l'autre. Ils constituent alors une sorte de signature biologique permettant d'identifier ou de regrouper les organismes vivants selon les homologies et les différences de leurs Ag.

La caractérisation des Ag d'un organisme peut être réalisée soit par des méthodes physico-chimiques soit par des méthodes immunologiques. Les Ag utilisés peuvent être somatiques, résultant du broyat total d'éléments parasitaires, ou bien métaboliques obtenus par incubation des parasites dans un milieu physiologique, ce sont les produits excrétion - sécrétion du parasite.

En ce qui concerne le genre *Paramphistomum*, peu d'études ont été à notre connaissance entreprises pour caractériser les Ag spécifiques de ce genre. BRATANOV, LILKOVA & STOIANOVA-ZAIKOVA (1981) ont soumis les Ag somatiques obtenus par broyage total de *Paramphistomum daubneyi* et *Fasciola hepatica* au test d'immunodiffusion sur gel d'agarose. Ils ont utilisé des sérums hyperimmuns de lapin homologues et hétérologues. Le nombre de lignes de précipitation produites étaient de 6 pour *P. daubneyi* et 4 pour *Fasciola hepatica*. Aucun arc de précipitation n'étant observé contre le sérum hétérologue, ils en concluent qu'aucune relation antigénique n'existe entre ces deux espèces. Cependant PINEAU (1986 - cité par JOLY, 1991) constate qu'un sérum hyperimmun de lapin immunisé par injection de broyat total de paramphistomes adultes réagit en immunoélectrophorèse avec un broyat de douve adulte.

Aucun antigène spécifique du genre *Paramphistomum* n'a donc été identifié jusqu'ici. Ceci pourrait faire l'objet d'études complémentaires qui, comme nous le verrons dans notre partie expérimentale, seraient d'un intérêt certain.

I.5.2. Pouvoir allergène

Les allergènes sont des Ag, le plus souvent de nature protéique, qui conduisent à une réaction d'hypersensibilité. Les paramphistomes semblent avoir un certain pouvoir allergène puisque HORAK (1967) met en évidence une réaction d'hypersensibilité cutanée chez les animaux infestés. En effet, l'inoculation intradermique de divers extraits antigéniques de *Paramphistomum microbothrium* à de tels animaux induit en quelques minutes l'apparition au point d'inoculation d'une réaction inflammatoire de type vasculaire. DORCHIES (1998) évoque également, lors de réinfestation, un phénomène d'hypersensibilité de type I au niveau de la muqueuse duodénale qui serait responsable de certains symptômes du tableau clinique des paramphistomoses gastroduodénales.

I.5.3. Pouvoir immunogène

I.5.3.1. Mécanismes immunitaires

Les mécanismes immunitaires mis en place lors d'infestations par des espèces du genre *Paramphistomum* sont similaires à ceux rencontrés lors de parasitisme digestif causé par d'autres espèces. Ils font intervenir des phénomènes spécifiques et non spécifiques, et des phénomènes systémiques et propres à l'intestin.

➤ Immunité non spécifique

L'action phlogogène des formes immatures entraîne la mobilisation des effecteurs de l'immunité non spécifique. On assiste alors à une infiltration de cellules immunocompétentes telles que les polynucléaires éosinophiles et les macrophages. Le complément joue un rôle important dans cette immunité non spécifique à la fois par sa voie alterne et sa voie classique. Il agit sur les adolescaria soit directement (cytolysé), soit indirectement en modulant l'activité des cellules immunitaires : potentialisation des mécanismes cellulaires d'opsonisation des larves migrantes, induction de l'inflammation et de la dégranulation des mastocytes entraînant l'afflux de cellules phagocytaires.

➤ Immunité spécifique

Parallèlement aux phénomènes immunitaires non spécifiques, l'action phlogogène des formes immatures entraîne une invasion lymphocytaire des tissus intestinaux puis une réaction lymphocytaire ganglionnaire et splénique.

Les Ag parasites vont être reconnus par les lymphocytes T, via des cellules présentatrices d'Ag, et par les lymphocytes B. Cette reconnaissance induit la production d'Ac spécifiques de ces Ag et de cytokines qui vont moduler la réponse immune.

Les immunoglobulines Ig E sensibilisent localement les mastocytes et activent les polynucléaires éosinophiles par le biais de l'E.C.F. (Eosinophilic Chimiotactic Factor). Ces derniers ont une activité cytotoxique dirigée contre les parasites. Cette réaction immune à médiation cellulaire fait également intervenir d'autres cellules immunocompétentes telles que les lymphocytes T cytotoxiques, les macrophages et cellules « natural-killer ».

Les Ac, marqueurs de la réponse immune à médiation humorale, outre leur rôle « sensu stricto », interviennent dans l'activation du complément et dans les phénomènes de cytotoxicité Ac - dépendants. Les titres sériques mesurés par les techniques E.L.I.S..A. et Indirect Fluorescent Antibody Test (I.F.A.T.) chez des agneaux et des chevreaux infestés expérimentalement par

Paramphistomum cervi sont maxima entre la 4^{ème} et la 12^{ème} semaines post-infestation puis diminuent par la suite (VARMA & al., 1991). La réponse humorale locale est essentiellement le fait d'Ig G1 (Tableau XIX). A l'inverse des Ig A, le total de leurs concentrations sérique, duodénale et ruminale est significativement plus élevé chez les bovins infestés par *Paramphistomum microbothrium* par rapport au lot témoin (OGURINADE & ABATAN , 1987). Ces Ig G1 seraient impliquées dans la réaction immunitaire d'expulsion des parasites.

| Classe d'Ig | Groupe d'animaux | Concentration moyenne en Ig (mg/ml ± écart type) | | |
|-------------|------------------|--|--------------------|-----------------|
| | | Sérum (mg / ml) | Duodénum (mg / ml) | rumen (mg / ml) |
| Ig A | Infestés | 4,0±0,5 | 3,0±0,3 | < 0,3 |
| | Témoins | 3,8±0,8 | 3,2±0,14 | < 0,3 |
| IgG1 | Infestés | 18,0±2,4 | 3,5±0,3 | 2,1±0,3 |
| | Témoins | 20,0±1,8 | 3,2±0,4 | 0,5±0,2 |

Tableau XIX : Valeurs moyennes et écarts types des concentrations sérique, duodénale et ruminale des Ig G1 et Ig A chez un lot de bovins infestés par *Paramphistomum microbothrium* et un lot témoin (OGURINADE & ABATAN, 1987) : la concentration totale en Ig G1 est significativement plus élevée pour le lot infesté par rapport au témoin ($p < 0,05$) ; ce n'est pas le cas des Ig A.

I.5.3.2. Mécanismes d'échappement

Face aux réactions immunitaires de l'hôte définitif, les paramphistomes utilisent un certain nombre de mécanismes d'échappement. Le glycocalyx piège des macromolécules de l'hôte qui masquent alors les Ag parasitaires et empêchent l'approche des Ac et des cellules immunocompétentes. De plus, son renouvellement perpétuel peut être à l'origine d'une variation antigénique. JOLY (1991) avance également des variations antigéniques entre formes adultes et immatures. La maturation des paramphistomes serait accompagnée par l'apparition de nouveaux Ag qui déjouent encore la réponse immune. Enfin, les paramphistomes éliminent dans le milieu des glycoprotéines qui vont former des complexes immuns avec leurs Ac spécifiques. Ceux-ci seront donc « consommés » inutilement et la quantité d'Ac effectivement actifs contre le parasite en sera diminuée (JOLY, 1991).

I.5.3.3. Immunité de prémunition et immunité vaccinale

➤ Conditions d'acquisition

BORAY (1959 - cité par HORAK, 1967) observe lors d'un épisode de paramphistomoses gastroduodénales chez de jeunes bovins que les animaux adultes, malgré l'excrétion d'œufs de paramphistomes dans leurs fèces, ne présentent aucun symptôme. ROLFE & BORAY (1986) font des remarques similaires en Australie. BUTLER & YEOMAN (1962) constatent, chez le zébu en Tanzanie, la mort de 73 veaux sur un total de 76 suite à un épisode de paramphistomoses pré-imaginale alors qu'elle concerne seulement 6 des 131 adultes. Cette moindre sensibilité des adultes pourrait s'expliquer par l'acquisition d'une immunité de prémunition après des contacts répétés avec les parasites. Suite à ces observations, HORAK (1967) a administré à des bovins soit 1000, soit 1500 métacercaires de *Paramphistomum microbothrium*, trois fois par semaine pendant 181 à 189 jours. A l'autopsie des animaux, il constate que le nombre de parasites retrouvés ne représente respectivement que 6 % et 2,3 % du nombre de métacercaires ingérées. Il effectue par la suite d'autres essais en variant certains paramètres tels que la dose de métacercaires, le rythme d'administration ou l'âge des sujets d'expérimentation. Il met alors en évidence plusieurs facteurs qui gouvernent l'établissement de cette immunité. Celle-ci est dépendante de la dose de métacercaires ingérées, 40 000 métacercaires sont suffisantes pour immuniser les bovins. Des doses plus faibles (2 500) n'ont aucun effet. Cette immunité ne s'acquiert que lorsque le cycle évolutif des paramphistomes est respecté. En effet, l'ingestion de paramphistomes adultes n'entraîne aucune immunité. Cette immunité est indépendante du nombre de parasites présents dans le rumen puisque l'élimination thérapeutique des parasites adultes issus de la dose immunisante de métacercaires n'entrave en rien l'acquisition de cette immunité. Enfin, il semblerait que l'âge joue un rôle dans la capacité des animaux à la développer, les jeunes étant moins aptes que les adultes.

➤ Effets de l'immunité de prémunition

Cette immunité de prémunition est effective dès la quatrième semaine suivant l'administration de la dose immunisante de métacercaires et reste efficace pendant au moins un an. Elle permet de diminuer la charge parasitaire issue d'infestations ultérieures (Tableau XX) et protège ainsi contre les effets pathogènes.

En effet, lors de nouvelles infestations, le désenkystement des métacercaires n'est pas géné ; par contre, la fixation des formes immatures est empêchée ce qui conduit à leur élimination. Même si celle-ci n'est pas totale, la charge parasitaire qui en découle est trop faible pour entraîner

des effets pathogènes chez l'hôte définitif. L'environnement intestinal non favorable chez les animaux immunisés, outre qu'il conduit à l'élimination de la plupart des formes immatures, retarde fortement la croissance des parasites restants comme en témoigne les dimensions acétabulaires (Tableau XXI). La migration est également retardée, soit que ce retard est réel, en relation avec le ralentissement de la croissance, soit qu'il est apparent, les formes immatures migrantes étant éliminées avant leur arrivée dans le rumen.

➤ Inconvénients

La dose immunisante nécessaire de 40 000 métacercaires est proche de la dose pathogène. Ce problème peut être contourné par l'irradiation au rayons X des métacercaires de la dose immunisante. Une dose de 2kr n'empêche pas le déroulement du cycle des métacercaires irradiées mais affecte la viabilité et la fertilité des parasites qui en sont issus donc leur pathogénicité. L'irradiation de la dose immunisante garantit son innocuité et l'établissement d'une immunité de prémunition efficace comme le montre la faible charge parasitaire obtenu après une infestation ultérieure mentionnée dans le tableau XX.

Il persiste cependant le problème d'approvisionnement en un aussi grand nombre de métacercaires (pour immuniser 100 bovins, 4 millions de métacercaires sont nécessaires !) et son coût.

| Nombre de bovins | Procédure d'immunisation | Infestation ultérieure | |
|------------------|--|-----------------------------------|--|
| | | Moyenne de métacercaires ingérées | Moyenne du nombre de vers retrouvés à l'autopsie |
| 4 | 40 000 à 100 000 métacercaires | 165 250 | 337 |
| 7 | 40 000 métacercaires irradiés à 2 kr | 250 000 | 115 |
| 3 | 1 000 à 1 500 métacercaires | 249 667 | 362 |
| 1 | trois par semaines pendant 155 à 190 jours | 1 573 000 | 182 |
| 5 | Lot témoin | 262 200 | 127 473 |

Tableau XX : Charges parasitaires résultant d'infestations ultérieures à l'immunisation de bovins selon différentes procédures et comparaison avec les charges parasitaires obtenues chez des bovins non immunisés
(d'après HORAK, 1967) :
l'immunisation diminue la charge parasitaire.

| Bovins | Nombre | Moyenne d'âge de l'infestation en jour (intervalle) | Nombre moyen de vers retrouvés | Largeur acétabulaire moyenne en mm (intervalle) |
|---|--------|---|--------------------------------|---|
| Bovins sensibles avec une faible charge parasitaire | 2 | 15,5 (10-21) | 5 208 | 0,53 (0,33-0,72) |
| Bovins sensibles avec une faible charge parasitaire | 3 | 20 (14-27) | 59 786 | 0,52 (0,26-0,68) |
| Infestation chez des bovins immunisés | 6 | 32 (18-51) | 355 | 0,32 (0,15-0,64) |

Tableau XXI: Effet de l'immunité sur les dimensions acétabulaires :
chez les bovins immunisés la largeur acétabulaire est plus petite
par rapport à celle chez des bovins non immunisés alors que les parasites sont plus
âgés (d'après HORAK, 1967).

II. Epidémiologie des paramphistomoses gastroduodénales bovines

II.1. Epidémiologie descriptive

II.1.1. Caractéristiques des populations atteintes

Les populations atteintes sont à la fois réceptives et exposées au risque. La réceptivité est l'aptitude à héberger un agent pathogène, à en permettre le développement ou la multiplication, sans forcément en souffrir. Dans le cas des paramphistomoses gastroduodénales dues au genre *Paramphistomum*, les populations réceptives sont représentées par l'ensemble des ruminants. Les populations réceptives pouvant être domestiques ou sauvages. Ces dernières pourraient constituer un réservoir.

Le cycle biologique des parasites du genre *Paramphistomum* nous montre clairement que les paramphistomoses gastroduodénales sont des maladies de pâturages, les métacercaires, formes infestantes, devant être ingérées lors de la consommation de fourrage. Les animaux ne consommant pas de fourrage tels que les veaux de lait peuvent donc être exclus des populations atteintes. De même, les animaux élevés hors-sol ne sont pas exposés à la maladie. En raison du mode de vie aquatique des hôtes intermédiaires et de la biologie des parasites, les populations les plus exposées sont celles évoluant sur des pâturages marécageux.

Ainsi, les populations atteintes peuvent être définies comme des populations de ruminants consommant du fourrage sur des pâturages humides. Toutefois d'après EUZEBY (1975), les métacercaires pourraient résister dans le fourrage sec, ce qui ne rend pas impossible une contamination à l'étable. POSTAL (1984) rapporte également des cas de paramphistomoses chez des bovins élevés hors sol. Il suppose alors que des métacercaires aient pu résister dans l'ensilage préparé à partir d'herbe de marais qui servait à l'alimentation de ces animaux.

II.1.2. Répartition géographique

La présence des parasites dans une région peut être détectée par diverses méthodes. Elle peut être mise en évidence par l'examen du tractus digestif des animaux à l'abattoir. Cette méthode a été utilisée entre autre par CASSET (1989) dans l'Allier ou CHARTIER, BUSHU & ANICAN (1990) au Zaïre. La présence de la maladie peut également être détectée par des examens coproscopiques. Certains auteurs comme POSTAL (1984) se basent sur des études malacologiques. En effet, étant donné la spécificité entre le parasite et son hôte intermédiaire, l'identification de gîtes à mollusques pourra faire suspecter la présence du parasite correspondant. De façon indirecte, WRIGHT & SWIRE (1984) considèrent les cartes des sols distinguant sols secs et sols humides, comme un outil fiable pour déterminer les zones sujettes au parasitisme. La végétation est également un bon indicateur pour la détection des gîtes à mollusques. Cette détection peut également faire appel aux données issues des satellites telles qu'elles ont été utilisées par MALONE & *al.* (1992 - cités par HOULBERT, 1998).

II.1.2.1. Répartition dans le monde

La provenance géographique très large des données bibliographiques concernant les paramphistomoses gastroduodénales bovines nous indique déjà le caractère cosmopolite des parasites en cause. Les paramphistomoses gastroduodénales bovines ont été rencontrées sur les cinq continents.

En Australie, EDGAR (1938) et BORAY (1959) (cités par HORAK, 1971) ont observé ces maladies chez des bovins et DURIE (1951 - cité par ROLFE & BORAY, 1987) rapporte la présence de *Paramphistomum ichikawai*.

Sur le continent africain, CHARTIER, BUSHU & ANICAN (1990) rapportent en Ituri (Haut Zaïre) un taux de prévalence de 96,5% chez les bovins après leurs examens nécropsiques. LE ROUX (1930 - cité par BUTLER & YEOMAN, 1962) a enregistré des épisodes de paramphistomoses gastroduodénales bovines en Afrique du Sud tandis que DINNIK (1958 - cité par BUTLER & YEOMAN, 1962) observe la maladie au Kenya. Elle est également présente en Tanzanie (BUTLER & YEOMAN, 1962). En Algérie, PACENOVSKY, ZAHOR & KRUPICER (1987) mentionnent *Paramphistomum daubneyi* comme agent causal des paramphistomoses gastroduodénales chez les bovins et KECHEMIR (1988 b) identifie des cercaires émises par des *Bulinus truncatus* récoltés à Khemis-El-Khechna comme étant celles de *Paramphistomum microbothrium*. SEY (1976) rapporte la présence de *Paramphistomum microbothrium* et *Paramphistomum gotoi* en Egypte. *Paramphistomum daubneyi* a été observé en Ethiopie par GRABER (1973) et DAYNES & GRABER

(1974) (cités par SEY, 1979). NASHER (1990) rapportent la présence de *Paramphistomum cervi* en Arabie Saoudite avec une prévalence chez les bovins de 2,9%. Au Sénégal, DIAW, SEYE & SARR (1988) ont réalisé des études en abattoir de 1977 à 1980, en 1985 et en 1986. Ils constatent alors chez les bovins un taux d'infestation par les paramphistomes compris entre 60,89 et 83,01 %. Au Rwanda, KABAGAMBE & *al.* (1988) rapportent un taux de prévalence de 15 % chez les bovins de la région de Bugesera suite à une étude réalisée en novembre 1986.

En Asie, des épisodes de paramphistomoses gastroduodénales bovines ont été rapportées par PANDE (1935), D'SOUZA (1948) et RAMAKRISHNAN (1950) (cités par HORAK, 1971). D'SOUZA, JAGANNATH & RAHMAN (1988) observent un taux d'infestation par des paramphistomes parasites du tractus digestif de 19,27 % chez les bovins des Etats de Mysore et Mandya (Inde). Dans l'Etat de Bihar de ce même pays, SAHAY, SAHAI & SINGH (1989) rapportent la présence de paramphistomes dans le tractus digestif de 58,39 % des bovins observés. En Turquie, la prévalence de *Paramphistomum daubneyi* a été estimée à 15 % par TINAR & *al.* (1992 - cité par SZMIDT-ADJIDE & *al.*, 2000).

QUIROZ & OCHOA (1972 - cités par CASTRO-TREJO, GARCIA-VASQUEZ & CASILDO-NIETO, 1990) rapportent la présence de *Paramphistomum cervi* au Mexique. A Cuba, KOTRLA & PROKOVIC (1973 - cités par POSTAL, 1984) observent 25 % de bovins parasités.

En Europe, les paramphistomoses gastroduodénales bovines semblent également très répandues (Figure 33). Elles sont présentes en Europe de l'Est : *Paramphistomum cervi* est rencontré entre autres en Bulgarie (VISNAJAKOV & IVANOV, 1964 - cité par HORAK, 1971), et en Roumanie (TUDOR & ANTON, 1968 - cité par SEY, 1980 ; SEY, 1978) ainsi que *Paramphistomum daubneyi* (SEY, 1980). En France, la maladie a été observée pour la première fois par MAROTEL & GRATECOS (1938). Un premier cas a été identifié en Belgique par LOSSON, MIGNON & CASSART (1998). En Italie, AGOSTI, CAVALETTI & POZZA (1980) rapportent un taux d'infestation de 17 % après examens coproscopiques de fèces de bovins. AMBROSI, BAIOCCHI & FRUGANTI (1982) obtiennent un taux de 58,50 % lors d'examens nécropsiques. SCALA & *al.* (1997) obtiennent un taux d'infestation de 16,9 % lors de bilans parasitaires effectués sur des bovins abattus à Olbia, en Sardaigne, entre avril 1994 et mars 1995. La présence de *Paramphistomum cervi* chez les bovins est également rapportée dans le nord de l'Europe: en Finlande par SEY (1980) ou en Norvège (HELLE, 1973 - cité par SEY, 1980).

Il apparaît donc que les paramphistomoses gastroduodénales bovines sont des parasitoses de répartition mondiale, présentes aussi bien dans les pays tropicaux que dans les pays tempérés. Ce sont cependant les pays tropicaux qui sont les plus affectés par ces parasitoses avec des taux

d'infestation supérieurs à 50 % (POSTAL, 1984), et où est rencontrée une grande variété de parasites. HORAK (1971) place l'Inde et l'Afrique de l'Est en tête des pays les plus sévèrement touchés. Dans ces pays, elles évoluent de façon enzootique mais peuvent prendre des allures épizootiques. En pays tempérés, les taux d'infestation sont beaucoup plus faibles et peu d'espèces différentes sont recensées. D'après SEY (1980), seulement cinq espèces valides sont présentes sur le continent européen : *Paramphistomum cervi*, *P. daubneyi*, *P. ichikawai*, *P. gotoi* et *P. microbothrium* auxquelles nous ajoutons *Paramphistomum leydeni*. Dans ces pays tempérés, la maladie peut être sporadique ou enzootique selon les régions.

II.1.2.2. Répartition en France

C'est en 1753 que DAUBENTON découvre les premiers parasites du genre *Paramphistomum* identifiés comme étant *Paramphistomum cervi* (GUILHON & PRIOUZEAU, 1945). Cette espèce a ensuite été observée dans la panse de bovins provenant du Morbihan par DUJARDIN en 1845, puis par GOUBEAX en 1863 (GUILHON & PRIOUZEAU, 1945). BRUMPT (1929 - cité par GUILHON & PRIOUZEAU, 1945) rapporte sa présence en Corse après dissection de *Bulinus bulinus*. D'après SEY (1980), il s'agissait en fait de *Paramphistomum ichikawai*.

La première forme clinique de la maladie a cependant été décrite en 1938 par MAROTEL & GRATECOS chez un bovin de Meurthe-et-Moselle. Ils ont identifié le parasite à *Cotylophoron cotylophorum* mais il s'agissait ici aussi de *Paramphistomum ichikawai* (SEY, 1980). GUILHON & PRIOUZEAU (1945) ont signalé sa présence en Vendée. Des observations en abattoir dans cette même région révèlent la présence de *Paramphistomum leydeni* (FONTENEAU, 1979 b), synonyme de *Paramphistomum cervi* d'après SEY (1980) qui mentionne également la présence en France de *Paramphistomum microbothrium*.

GRABER, EUZEBY & GEVREY (1980) rapportent la présence de *Paramphistomum leydeni* en Loire-Atlantique et en Camargue. POSTAL (1984) constate que sur 145 pances de bovins abattus à l'abattoir de Challans (Vendée), 19 sont infestées, soit une prévalence de 14,5 %. Ses travaux mettent en évidence l'extension du foyer vendéen depuis 1945, extension déjà constatée par FONTENEAU (1979 a et b). Ils révèlent la présence de *Paramphistomum daubneyi* et d'une autre espèce que ALBARET & al. (1987) identifient, selon la disposition des organites argyrophiles de la cercaire, soit à une nouvelle espèce si *Paramphistomum leydeni* et *Paramphistomum cervi* sont synonymes, soit à *P. cervi* dans le cas contraire. Cette dernière possibilité leur paraît être la plus

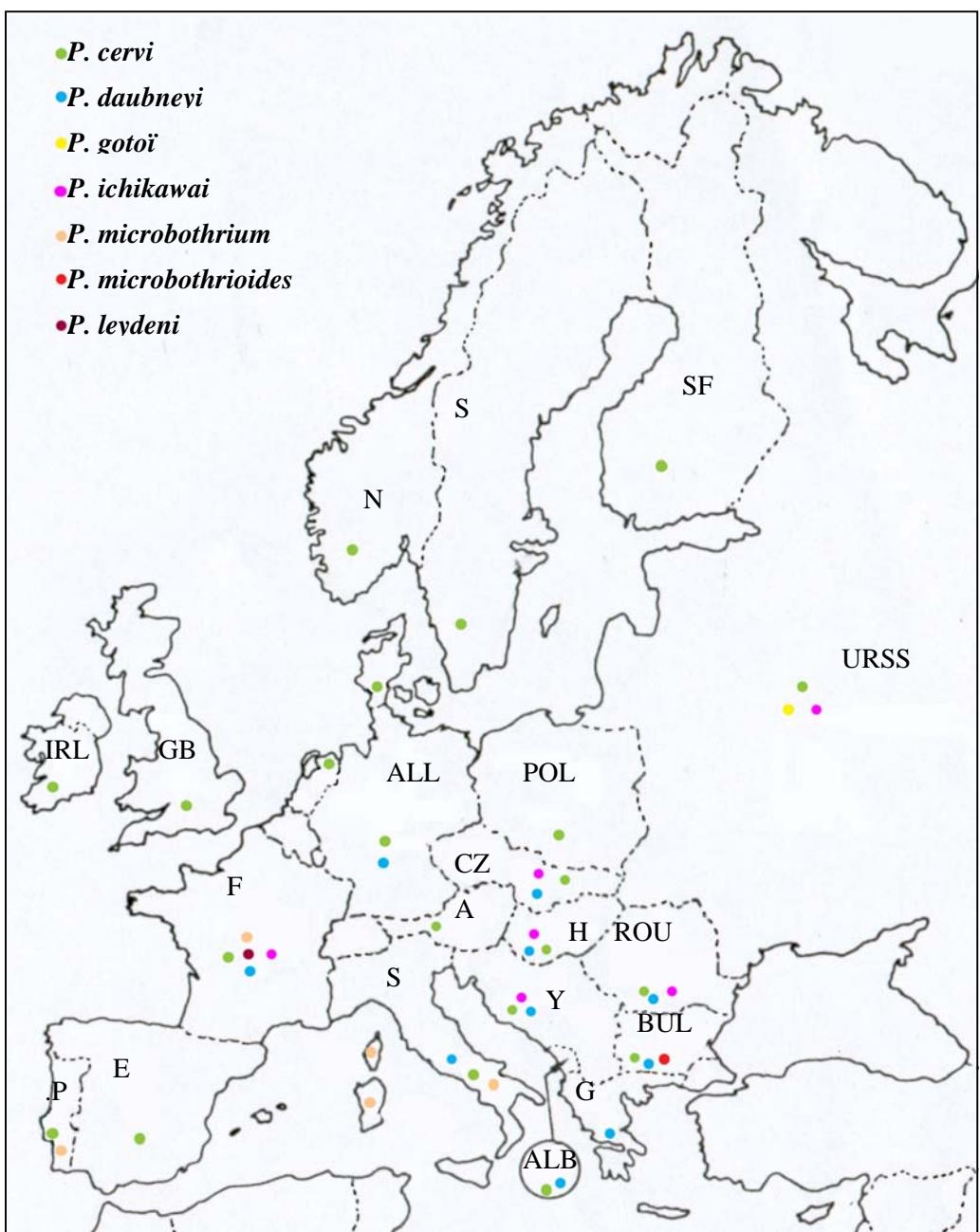


Figure 33 : Répartition des différentes espèces de paramphistomes (P. = *Paramphistomum*) par pays en Europe (d'après SEY (1980) et ALBARET & al. (1987)).

probable. *Paramphistomum daubneyi* avait auparavant été observé chez des bovins provenant du Maine-et-Loire et du nord du département de la Loire (GRABER, CHAUVE & FONTENEAU, 1980).

En 1989, CASSET effectue des observations dans trois abattoirs du Charolais et obtient un taux d'infestation par *Paramphistomum daubneyi* de 5,47%. La même année, DORCHIES examine 5 714 prélèvements de matières fécales bovines adressés au laboratoire de parasitologie de Toulouse dont 3,15% s'avèrent positifs. Ces prélèvements positifs provenaient de neufs départements français (Tableau XXII). Les paramphistomes seraient également présents dans la Dombes (DORCHIES, 1989).

En 1991, LEVASSEUR & ALZIEU estiment qu'un tiers des départements français sont atteints. En 1998, cinq départements viennent s'ajouter à ceux reconnus infestés en 1989 par DORCHIES (DORCHIES, 1998). Lors d'investigations en abattoirs de Haute-Vienne, SZMIDT-ADJIDE & *al.* (2000) rapportent un taux d'infestation par *Paramphistomum daubneyi* compris selon le mois entre 8 et 46 %. En 1999, le laboratoire Vétérinaire Départemental de Corrèze rapporte que 17,4 % des fèces examinés sont contaminés par des œufs de paramphistomes (MAGE, 2001). MAGE & *al.* (2002) ont effectué une étude rétrospective dans le Limousin et constatent une forte augmentation du taux d'infestation des bovins par les paramphistomes entre 1990 et 1999 (de 5,2 à 44,7 %).

Enfin, d'après une enquête de l'ADILVA (Association des directeurs et cadres de laboratoires vétérinaires publics d'analyse), trente-trois départements français seraient infestés en 2002 (DORCHIES & *al.*, 2002 a).

Les paramphistomoses gastroduodénales bovines semblent donc connaître une importante extension géographique comme l'atteste le nombre croissant de départements infestés au cours du temps (Figure 34). Les taux de prévalence semblent également augmenter. Plusieurs explications à ce phénomène sont avancées. D'une part les transactions économiques de bovins entre zones infestées et non infestées ainsi que les déplacements d'animaux sauvages réceptifs (Tableau XXII) ou de vecteurs mécaniques transportant simplement des métacercaires sur leur pelage ou plumage tels que les étourneaux sauvages en migration mentionnés par FONTENEAU (1979 a) favoriseraient cette expansion. D'autre part, la lutte efficace contre *Fasciola hepatica* dont l'hôte intermédiaire est identique à celui de *Paramphistomum daubneyi*, aurait laissé des niches écologiques libres pour le développement de ce dernier (DORCHIES, 1998). Enfin, les moyens de lutte, limités par un nombre réduit de principes actifs efficaces contre les paramphistomes, ne permettent pas d'enrayer cette progression.

Ainsi, la France n'est pas épargnée par cette parasitose. Ceci n'est cependant pas surprenant étant donné que notre pays offre des conditions géographiques, climatiques et hydrographiques propices au développement des parasites du genre *Paramphistomum*. Quatre espèces évoluent en France : *Paramphistomum daubneyi*, *P. ichikawai*, *P. leydeni* et *P. microbothrium*. La première se développe presque exclusivement chez les bovins. A ces quatre espèces s'ajoute probablement une cinquième espèce dont l'identification n'est pas établie avec certitude. Il s'agirait soit de *Paramphistomum cervi* si la synonymie avec *P. leydeni* est non valide, soit d'une nouvelle espèce.

Toutefois, l'apparente extension des paramphistomoses gastroduodénales bovines, tant géographique que quantitative, peut être discutée . En effet, la plupart des enquêtes présentées ci-dessus souffrent de biais d'échantillonnage (enquêtes en abattoir ou études à partir des résultats coproscopiques sur des prélèvements reçus par des laboratoires). Dans ces conditions, leurs échantillons ne sont pas représentatifs des populations bovines auxquelles elles rapportent leurs résultats. L'exactitude des données chiffrées n'est donc pas garantie.

Les intervalles de confiance des taux de prévalence, calculés par nos soins lorsque les données fournies le permettaient, sont significativement différents pour la plupart d'entre eux (absence de recouplement) et montrent une apparente tendance à l'augmentation de la prévalence au cours du temps. Cependant, ces données échelonnées dans le temps ne sont pas comparables car non seulement les méthodes de mesure diffèrent, mais les zones géographiques également (inversement, il est difficile de comparer les zones entre elles car les méthodes de mesure et les périodes d'enquêtes diffèrent). Seuls les résultats de DORCHIES (1989) sont comparables entre eux et montrent une augmentation significative de la prévalence entre 1987 et 1988 mais le biais d'échantillonnage de cette enquête limite l'exactitude des résultats.

D'autres types de biais doivent également être notés, qui pourraient être assimilés à des biais de mesure. D'une part le caractère pseudo-émergent et pseudo-extensif des paramphistomoses gastroduodénales bovines en France est peut-être le fruit de l'intérêt croissant qu'elle suscite, révélant la maladie dans des zones où elle existait depuis longtemps. D'autre part, n'oublions pas que les œufs de paramphistomes sont très proches de ceux de *Fasciola hepatica* et ont pu être confondus avec ces derniers, notamment lorsque les paramphistomoses étaient encore méconnues, sous-estimant ainsi leur prévalence. Certains techniciens de laboratoire avouent d'ailleurs avoir fait cette confusion (CASSET, 1989). Enfin, la présence de parasites dans le réseau et le rumen passe le plus souvent inaperçue en abattoir faute de recherche systématique.

Nous retiendrons donc simplement que les paramphistomoses gastroduodénales bovines existent en France dans de nombreux départements et que cinq espèces ont été clairement identifiées : *Paramphistomum daubneyi*, *P. cervi*, *P. leydeni*, *P. ichikawai* et *P. microbothrium*.

| Espèce du genre <i>Paramphistomum</i> | Localisation géographique | Prévalence si connue, [IC] ^a , (date) | Références |
|--|--|--|--|
| <i>P. ichikawai</i> | Corse | - | BRUMPT (1929)* |
| | Meurthe & Moselle | - | MAROTEL & GRATECOS (1938) |
| | Vendée | - | GUILHON & PRIOUZEAU (1945) FONTENEAU (1979) |
| <i>P. cervi</i> | ? | - | DAUBENTON (1753)* |
| | ? | - | GOUBAUX (1863)* |
| | Corse | - | BRUMPT (1929)* |
| | Sarthe | - | POSTAL (1984) |
| <i>P. cervi</i> ou espèce nouvelle | Vendée | | ALBARET & al. (1987) |
| <i>P. daubneyi</i> | Maine-Et-Loire, Loire | | GRABER & al. (1980 b) |
| | Vendée | 14,5 % [8,1-19,7] (1984) | POSTAL (1984) |
| | Loire, Allier, région Charolaise | 5,47 % [4,27-6,88] (1989) | CASSET (1989) |
| | Limousin | ≈ 20 % (2000) | SZMIDT-ADJIDE & al. (2000) |
| <i>P. leydeni</i> | Loire-Atlantique Camargue | - | GRABER & al. (1980 a) |
| <i>P. microbothrium</i> | - | - | SEY (1980) |
| Indéterminée | Morbihan | | DUJARDIN (1945)* |
| | Lorraine | - | LEVASSEUR & ALZIEU (1991) |
| | | 29,34 % [27,54-31,20] (2001) | LOOK (2001) # |
| | Limousin | 17,04 (1999)** | LVD Corrèze (MAGE, 2001) |
| | Eure, Seine-Maritime, Ardennes, Champagne | - | POSTAL (1984) |
| | Dombes | - | EUZEBY & GEVREY cités par DORCHIES (1989) |
| | Aude, Ariège, Aveyron, Cantal, Corrèze, Tarn, Haute-Garonne, Mayenne, Haute-Saône | 1,03 % [0,55-1,76] (1986) 2,3 % [1,71-3,02] (1987) 5,08 % [4,22-6,05] (1988) ** | DORCHIES (1989) |
| | Manche, Mayenne, Meuse, Pyrénées-Atlantiques, Haute-Saône, Seine-Maritime | | DORCHIES (1998) |

Tableau XXII : Répartition géographique des espèces du genre *Paramphistomum* en France

(^a[IC] = Intervalle de confiance calculé par nos soins (loi binomiale) ; * = cité par GUILHON & PRIOUZEAU (1945) ; ** = % sur l'ensemble des coproscopies et non par département ; # : communication personnelle).

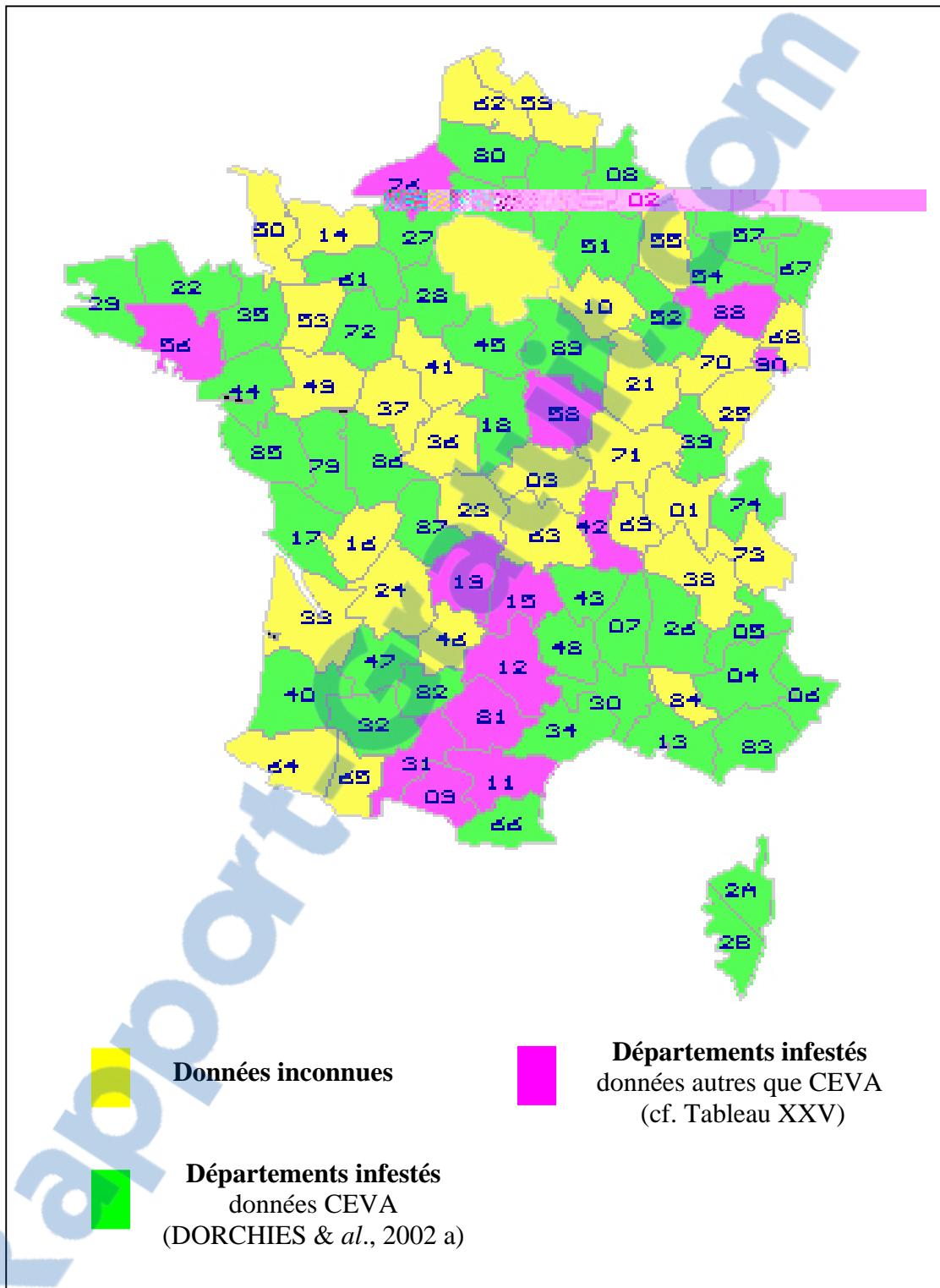


Figure 34 : Départements français où a été signalée la présence de paramphistomoses gastroduodénales bovines.

II .1.3. Répartition dans le temps

POSTAL (1984) a analysé les données de l'abattoir de Pouzauges (Vendée) de novembre 1978 à mai 1982. L'histogramme de la répartition des cas d'infestation en fonction des mois de l'année laisse apparaître deux pics : un pic d'hiver et un pic d'été (Figure 35). SAHAY, SAHAI & SINGH (1989) ont étudié les variations saisonnières de la prévalence des paramphistomoses gastroduodénales chez les bovins dans l'état de Bihar (Inde). Il en ressort que la prévalence est significativement plus élevée en hiver (octobre à janvier) et pendant la mousson (juillet à septembre) que pendant l'été (avril à juin) et le printemps (février à Mars). Les valeurs sont respectivement de $57,2 \pm 0,13\%$ et $52,3 \pm 0,22\%$ contre $15,3 \pm 0,14\%$ et $33,5 \pm 0,21\%$. En Australie, du printemps 1983 à la fin de l'été 1985, ROLFE & BORAY (1991) ont sacrifié des groupes de veaux ayant pâture pendant une période de 56 jours chacun sur une prairie infestée. Chaque veau était soumis à un examen nécropsique et les parasites présents dans son rumen étaient comptés. La moyenne logarithmique des comptages était calculée pour chaque groupe. Il en résulte que la charge parasitaire connaît un pic en milieu et fin d'été et un autre pic à la fin de l'automne et début de l'hiver. Ce schéma apparaît étroitement lié à la saison des pluies qui entraîne des inondations et la formation d'habitats favorables aux mollusques. Dans le Limousin, SZMIDT-ADJIDE & *al.* (2000) font de semblables constatations après observation des panses de bovins abattus à l'abattoir de Limoges. La prévalence présente des fluctuations saisonnières : elle est significativement plus basse en été (0,11 % contre 0,30 à 0,38 % pour les autres saisons) or il s'agit de la saison la plus sèche (25 mm d'eau en juillet contre 200 mm en septembre).

Les paramphistomoses gastroduodénales revêtent donc un caractère saisonnier notamment dans les pays tempérés où elles semblent être des maladies de fin de printemps et d'automne. Ces périodes de forte prévalence sont à mettre en relation avec les conditions climatiques nécessaires au bon déroulement du cycle, notamment la pluviométrie. En effet, nous avons vu qu'elle conditionne à la fois la biologie du parasite et celle de l'hôte intermédiaire.

Pologne, ANCZYKOWSKI & CHOWANIEC (1955 - cité par HORAK, 1971) ont observé un taux de mortalité inférieur à 10 %. En Tanzanie, lors d'un épisode d'allure épidémiologique en 1960, les taux de mortalité chez les zébus étaient de 4,6 % chez les adultes et de 96 % chez les jeunes (BUTLER & YEOMAN, 1962). BORAY (1959 - cité par CASTRO-TREJO, GARCIA-VASQUEZ & CASILDO-NIETO, 1990) rapporte un taux de mortalité de 40 % en Afrique du Sud. En France, aucune valeur n'est disponible concernant la mortalité. DORCHIES & *al.* (2002 b) rapportent des cas de morts plus ou moins rapides chez des broutards en Côte d'or, dans l'Eure et l'Allier. Toutefois, la mortalité est rare en pays tempérés et les pertes économiques sont plus liées aux baisses de production. Les animaux atteints de paramphistomose pré-imaginale deviennent rapidement des non-valeurs économiques. Les paramphistomoses gastroduodénales entraîneraient jusqu'à 25 % de perte de poids chez des veaux de 6 mois infestés expérimentalement avec 5 000 à 96 000 métacercaires de *Paramphistomum daubneyi* (DENEV & *al.*, 1982 - cités par POSTAL, 1984).

Les formes adultes peuvent être responsables de mortalité. Le premier cas clinique de paramphistomose imaginaire rapporté en France par MAROTEL & GRATECOS (1938) a conduit à la mort de l'animal. Cependant, ceci reste rare en pays tempéré. Les pertes économiques sont surtout liées au mauvais état général entraînant une dévalorisation de la carcasse des animaux et une diminution de la production laitière. STOJMENOV, SIMOV & GRUEVA (1976 - cités par SPENCE, FRASER & CHANG, 1996) ont constaté une augmentation de la production de lait chez des vaches, trente jours après traitement contre la paramphistomose imaginaire. SPENCE & *al.* (1992) obtiennent une augmentation significative de la production laitière d'environ 164 litres par vache et par lactation chez des femelles infestées par des nématodes gastro-intestinaux, des paramphistomes et *Fasciola hepatica* après leur traitement avec une association d'anthalminthiques couvrant un large spectre (fenbendazole, levamisole et oxyclozanide). La production laitière a été augmentée de 0,4 litres par jour après le traitement à l'oxfendazole, seul ou en association avec l'oxyclozanide, de vaches infestées par des nématodes gastro-intestinaux et des paramphistomes (SPENCE, FRASER & CHANG, 1996). Malheureusement, pour ces deux derniers exemples, il est difficile de savoir si l'amélioration de la production est le fait du traitement contre les paramphistomes ou contre les autres parasites.

II.2. Epidémiologie analytique

II.2.1. Sources de l'infestation

La source de parasites est représentée par les ruminants porteurs qui, en éliminant des œufs de paramphistomes dans leurs fèces, vont contaminer les pâturages. Si ceux-ci présentent des zones favorables aux hôtes intermédiaires et à l'éclosion des miracidiums, des métacercaires seront alors présentes sur les végétaux, eux-mêmes susceptibles d'être broutés par des ruminants.

Rappelons que les espèces réceptives sont domestiques mais également sauvages. Ces dernières, non soumises à des traitements antihelminthiques, constituent une source de contamination importante notamment en bordure des forêts. Ces espèces jouent le rôle de réservoir. Etant donné que le parasite est capable de survivre plusieurs années chez son hôte définitif (cf. *infra*), la source d'infestation est pratiquement constante en l'absence de traitement. Cette source est également abondante puisque l'excrétion d'œufs est plus importante chez les paramphistomes par rapport aux autres parasites (DORCHIES, 1998). Cependant, la ponte diminuerait avec l'âge du parasite (EUZEBY, 1975).

Les ruminants seraient en outre une source de contamination extrêmement efficace. En effet, HORAK (1967) a constaté chez des animaux expérimentalement infestés par *Paramphistomum microbothrium* et gardés à l'étable, que la concentration en œufs des matières fécales était maximale entre midi et 14 heures. En 1971, le même auteur observe que les troupeaux d'Afrique du Sud demeurent autour des points d'eau depuis le milieu de la matinée jusqu'en milieu d'après-midi. Ainsi, si la concentration en œufs des fèces admet la même évolution au pré qu'en stabulation, le plus grand nombre d'œufs est éliminé autour des points d'eau, habitats des hôtes intermédiaires du parasite.

II.2.2. Résistance du parasite

La durée de vie des parasites adultes chez leur hôte définitif est longue. DINNIK & *al.* (1962 - cités par EUZEBY, 1975) ont estimé la durée de vie de *Paramphistomum microbothrium* à sept ans. Cependant, elle ne semble pas constante puisque les mêmes auteurs ont obtenu une durée de vie inférieure à deux ans pour le même parasite. De plus, il existerait des cas d'ipso-libération (« self-cure ») intervenant en douze mois (DINNIK & *al.*, 1954 - cités par EUZEBY, 1975). L'activité physiologique des parasites, dont la ponte, diminue avec l'âge (EUZEBY, 1975) ainsi qu'avec l'augmentation de la charge parasitaire (HORAK, 1971). Ceci constitue peut-être une autorégulation de l'espèce.

Dans le milieu extérieur, les œufs ne survivent pas aux températures trop basses comme l'a observé KISILEV (1967) : les œufs de *Paramphistomum ichikawai* stockés à une température de moins 8 °C n'ont pas survécu plus de 24 heures. Le développement embryonnaire n'est possible qu'à partir d'une température de 13 °C et le miracidium a une durée de vie brève qui atteint seulement 24 heures dans les meilleures conditions environnementales. Les cercaires s'enkystent dans l'heure qui suit leur émission. Elles ne survivent pas aux conditions hivernales, cependant elles resteraient viables pendant au moins 6 semaines à la température de 6 °C (POSTAL, 1984). Dans les conditions de terrain, la résistance dans le milieu extérieur est assurée par les métacercaires qui peuvent survivre pendant plusieurs mois. La métacercaire de *Paramphistomum microbothrium* survit 29 jours à température ambiante si elle est gardée à l'humidité (HORAK, 1962 - cité par HORAK, 1971). Au bout de 6 mois de stockage dans l'eau, DURIE (1953 - cité par HORAK, 1971) obtient 32 % de métacercaires viables de *Paramphistomum ichikawai*. D'après GUILHON & PRIOUZEAU (1945), les métacercaires de ce parasite (désignés alors sous le nom de *Cotylophoron cotylophorum*) résistent 4 à 5 mois dans le milieu extérieur. KECHEMIR (1988 a) a pu maintenir des métacercaires de *Paramphistomum microbothrium* 1 mois et 15 jours à 5°C. De plus, les métacercaires résisteraient sur les fourrages secs (EUZEBY, 1975), ainsi que dans l'ensilage d'herbe de marais (POSTAL, 1984), mais ceci reste à confirmer.

Chez le mollusque hôte intermédiaire, les formes larvaires ont une durée de vie égale à ce dernier. Elles sont capables d'hiverner (MEREMINSKII, 1967 - cité par EUZEBY, 1975) ainsi que d'estiver (POSTAL, 1984) avec lui. Cependant, une trop forte infestation est préjudiciable pour le mollusque et donc pour les formes larvaires. SEY (1979) a constaté qu'un nombre croissant de cercaires de *Paramphistomum daubneyi* chez *Lymnaea truncatula* entraîne une mortalité élevée des mollusques : 60 à 75 % de taux de mortalité 90 à 100 jours après l'infestation. De même, l'infestation de *Planorbis planorbis* par les formes larvaires de *Paramphistomum cervi* diminue son taux de survie (BOCH & al., 1983 - cité par JOLY, 1991). KECHEMIR (1988 a) a constaté un effet castrateur des formes larvaires de *Paramphistomum microbothrium* sur *Bulinus truncatus* au bout de 6 mois d'infestation. Ce phénomène est confirmé par une étude histologique révélant l'absence d'ovotestis. Cet effet est indirectement défavorable à la survie des paramphistomes puisqu'il entrave la régénération de la population d'hôtes intermédiaires.

II.2.3. Mode de contamination

Le mode de contamination découle directement du cycle évolutif des parasites du genre *Paramphistomum* et de la biologie de leurs hôtes intermédiaires. Les cercaires sortent activement du mollusque et vont s'enkyster sur des végétaux aquatiques consommés lors d'une baisse du niveau des eaux (BOURDOISEAU, 1997). Il semblerait que, selon l'espèce, cet enkystement ait lieu électivement sur certains végétaux. Les cercaires de *Paramphistomum microbothrium*, issues de *Bulinus truncatus* en Tanzanie, s'enkyseraient préférentiellement sur une cypéracée, *Cyperus digitatus*, fréquente dans les gîtes de ce mollusque (BULER & YEOMAN, 1962). A titre d'exemple, signalons également que les cercaires de *Cotylophoron cotylophorum*, parasite appartenant à la sous-famille des *Paramphistomatinae*, ont une inclination à s'enkyster sur des végétaux à surface lisse plutôt que des végétaux à surface velue ou épineuse (HORAK, 1971). GEORGIEV (1981) a obtenu des métacercaires de *Paramphistomum daubneyi* sur des feuilles de *Plantago lanceolata*.

Toutefois, les cercaires du genre *Paramphistomum* sont également capables de s'enkyster expérimentalement sur des supports plastiques ou sur une membrane de cellulose. MALVIYA & al. (1989 - cité par HOULBERT, 1998) ont montré que les métacercaires fixées à ce type de support ont un pouvoir infestant supérieur à celles fixées sur un support végétal. ABROUS & al. (2001), lors d'une étude sur le déterminisme de la capacité d'agrégation des métacercaires de *Fasciola hepatica* et de *Paramphistomum daubneyi*, ont obtenu des métacercaires de cette dernière espèce au fond de boîtes de Petri. Notons au passage que l'agrégation des métacercaires semble être une caractéristique déterminée par l'espèce et propre à *Fasciola hepatica*.

Dans le milieu naturel, les zones contaminées par des métacercaires dépendent directement de la distribution des mollusques intermédiaires. Les végétaux porteurs de métacercaires se situent donc à proximité des mares, des marécages et de tout autre point d'eau. Cette répartition pourra s'étendre lors d'inondations, les mollusques colonisant alors de nouveaux habitats devenus propices à leur développement. La dissémination des métacercaires issues des cercaires émises par *Lymnaea truncatula* est de plus facilitée par le caractère amphibie de ce mollusque qui, à l'inverse des bulins et des planorbes, ne nécessite pas d'eau en nature et se contente de zones temporairement inondées.

Les métacercaires peuvent également se libérer de leur support et les animaux peuvent se contaminer lors de l'ingestion d'eau de mare ou de ruisseau. GUILHON & PRIOUZEAU (1945) insistent sur le fait que les animaux présentant des signes cliniques s'étaient abreuvés d'eau vaseuse et saumâtre au cours de l'été. Enfin, la résistance possible des métacercaires dans le fourrage sec et l'ensilage n'exclut pas une contamination à l'étable.

II.2.4 Facteurs de risques

Les facteurs de risque peuvent être abordés en distinguant les facteurs environnementaux et les facteurs d'ordre démographique.

Nous avons évoqué précédemment que de nombreux facteurs environnementaux interviennent dans le bon déroulement du cycle évolutif des parasites du genre *Paramphistomum*. Il s'agit :

- de la température, qui conditionne la reprise d'activité des gastéropodes hôtes intermédiaires, le développement embryonnaire, le développement des stades larvaires ainsi que l'émission des cercaires ;
- du sol, qui doit être adapté à la biologie des gastéropodes hôtes intermédiaires à savoir marécageux, de type argileux, non acide et riche en carbonate de calcium indispensable à l'élaboration de la coquille ;
- de la lumière, qui déclenche l'éclosion du miracidium, est nécessaire au développement embryonnaire et améliore l'émission cercarienne ;
- de l'eau, indispensable aux gastéropodes hôtes intermédiaires, aux formes libres nageuses du parasite (miracidium et cercaire) et permettant le développement embryonnaire et l'éclosion des miracidiums en délitant les matières fécales.

Une forte pluviométrie, en provoquant des inondations, va augmenter les chances de contact entre miracidiums et hôtes intermédiaires, et va élargir l'aire de distribution de ces derniers donc des cercaires qui seront émises. La zone de contact entre métacercaires et hôte définitif sera ainsi augmentée. En France, deux périodes sont donc propices aux infestations : le début du printemps (avril - mai) et l'automne (d'octobre à la rentrée en stabulation).

Paradoxalement, les risques de paramphistomoses gastroduodénales sont augmentés lors de sécheresse modérée. Ceci a été constaté par plusieurs auteurs : en France par GUILHON & PRIOUZEAU (1945), en Allemagne par NOLLER & SMITH (1928 - cités par GUILHON & PRIOUZEAU, 1945). De nombreux épisodes d'allure épizootique se sont déclarés sous des conditions de sécheresse : en Hongrie chez de jeunes bovins, (BORAY, 1959 - cité par HORAK, 1971), en Australie et Nouvelle Zélande chez des moutons (BORAY, 1959 ; WHITTEN ,1955 ; BORAY, 1969 - cités par HORAK, 1971). De tels épisodes ont également été observés par de nombreux auteurs en Inde (HORAK, 1971) et par BUTLER & YEOMAN (1962) en Tanzanie. Lors de sécheresse modérée, les populations d'hôtes définitifs et intermédiaires se concentrent autour des points d'eau restants. Il s'établit un contact étroit entre formes infestantes et ruminants qui sont ainsi soumis à une forte pression d'infestation. HORAK (1971) ajoute que la polydipsie et l'apathie qui

découle de cette forte infestation (cf. Infra) rendent les animaux peu enclins à quitter les zones humides, ce qui augmente encore le niveau d'infestation.

Les facteurs de risque d'ordre démographique concernent l'âge, le sexe et la race des animaux.

Les jeunes bovins seraient plus sensibles que les adultes, certainement du fait que les animaux plus âgés acquièrent une certaine résistance vis-à-vis de la maladie (BUTLER & YEOMAN, 1962). D'SOUZA & *al.* (1988) observent que ce sont les animaux de plus de huit ans qui sont le plus parasités. Au contraire, DORCHIES & *al.* (1998) constatent, après une enquête coproscopique sur 465 bovins, que les animaux infestés sont significativement plus jeunes que les non infestés. SZMIDT-ADJIDE & *al.* (2000) ne mettent pas en évidence de relation significative entre l'infestation et l'âge des animaux.

La race interviendrait également comme facteur de risque. Les animaux de race charolaise, pure ou croisée, seraient plus infestés que les animaux Prim'Holstein (DORCHIES & *al.*, 1998). Ceci constituerait pour certains auteurs une des explications de l'extension de la maladie en France qu'ils mettraient en relation avec la diffusion des races charolaise et limousine (DORCHIES & *al.*, 2002 a).

SZMIDT-ADJIDE & *al.* (2000) considèrent le sexe comme facteur de risque. Ils observent que les femelles sont significativement plus infestées que les mâles. Le séjour en stabulation plus long pour les mâles que pour les femelles expliquerait cette différence. Ils émettent une autre explication possible qui est la différence de recrutement des mâles et des femelles en abattoir. Il s'agit de la destinée normale des premiers tandis que les femelles y sont le plus souvent envoyées suite à des problèmes de santé ou de production.

Face à ces constatations, nous nous permettons d'exprimer la remarque suivante que les facteurs de risques d'ordre démographique évoqués ci-dessus n'ont qu'une faible valeur épidémiologique. En effet, non seulement ils découlent d'expériences qui présentent de nombreux biais du point de vue épidémiologique, notamment des biais d'échantillonnage, mais il ne s'agit là que d'hypothèses de facteurs de risque formulées après des enquêtes de type descriptif et qui n'ont, à notre connaissance, pas encore été justifiées par des enquêtes de type analytique. Nous émettons donc des réserves expresses quant à la validité de ces facteurs.

D'autres facteurs de risques relatifs aux conditions d'élevage ont été avancés par DORCHIES & *al.* (2002 a) : extensification de l'élevage, tant en élevage allaitant que laitier, traitement antiparasitaire unique à une période peu judicieuse. Ce sont également des pratiques d'élevage qui pourraient expliquer la plus forte infestation des femelles par rapport aux mâles (SZMIDT-ADJIDE & *al.*, 2000). HORAK (1971) parle d'ailleurs de maladie de « domestication ».

II.3. Epidémiologie synthétique

Le cycle biologique des parasites, la biologie des hôtes intermédiaires, notamment le nombre de générations annuelles (généralement deux sous nos latitudes), et la capacité des stades larvaires hébergés par les mollusques à estiver et hiverner avec eux, expliquent le caractère saisonnier des paramphistomoses gastroduodénales bovines.

Lors de la mise à l'herbe, en mars-avril, les animaux seront en contact avec des métacercaires ayant survécu à la faveur d'un hiver doux et celles issues de mollusques transhivernants ayant repris leur activité dès que la température a atteint 10°C. Ces métacercaires sont responsables de la paramphistomose pré-imaginale de printemps et de la paramphistomose imaginaire de fin d'été.

Les animaux ayant déjà été en contact avec le parasite vont éliminer des œufs en mars - avril. De ces œufs vont éclore des miracidiums lorsque la température dépassera 13°C, ceux-ci vont alors infester des mollusques. Les métacercaires qui en seront issues vont infester les animaux de juin à juillet et seront responsables de la paramphistomose pré-imaginale de printemps et d'été et de la paramphistomose imaginaire de fin d'été et d'automne.

Ce schéma semble pouvoir être appliqué à toutes les espèces de paramphistomes. Il doit toutefois être modulé en fonction des conditions climatiques qui sont les principaux facteurs influençant le cycle évolutif du genre *Paramphistomum*.

L'évolution quantitative des différents stades évolutifs des paramphistomes sur les pâtures et chez les bovins a été illustrée par POSTAL (1984). Il prend comme exemple *Paramphistomum daubneyi*. Nous reprenons cette illustration en figure 36. La figure 37 présente, en guise de conclusion, les interactions milieu - hôte - parasite en milieu tempéré, adapté par POSTAL (1984) d'après RAYNAUD & KERBOEUF (1981).

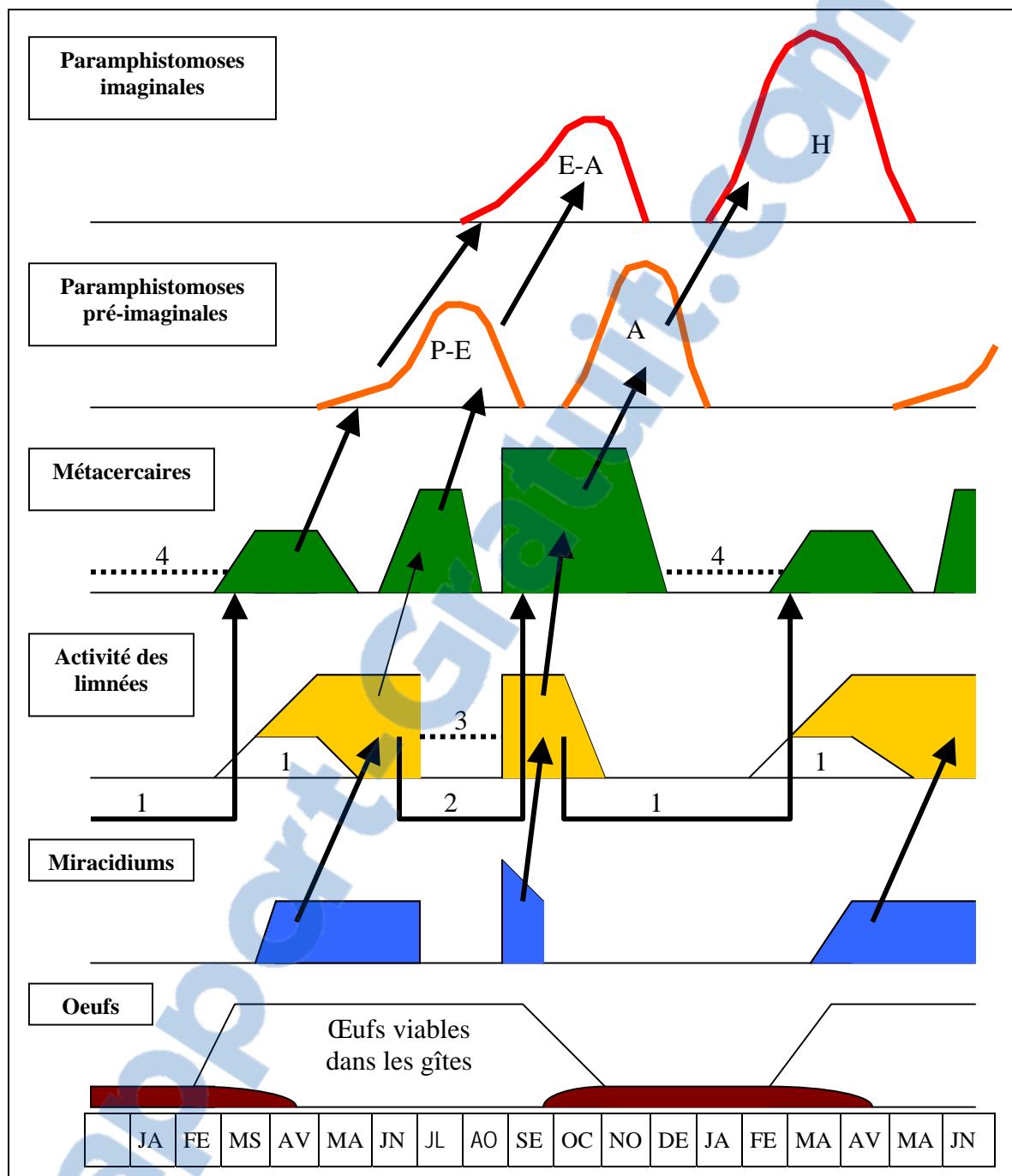


Figure 36: Evolution quantitative des différents stades évolutifs de *Paramphistomum daubneyi* sur les pâtures et chez les ruminants (POSTAL, 1984)

- 1 : Limnées transhivernantes
- 2 : Limnées transestivantes
- 3 : Cas d'un été frais et humide
- 4 : Cas d'un hiver doux et humide

- P-E : Printemps-Eté
- A : Automne
- E-A : Fin d'été et d'Automne
- H : Hiver

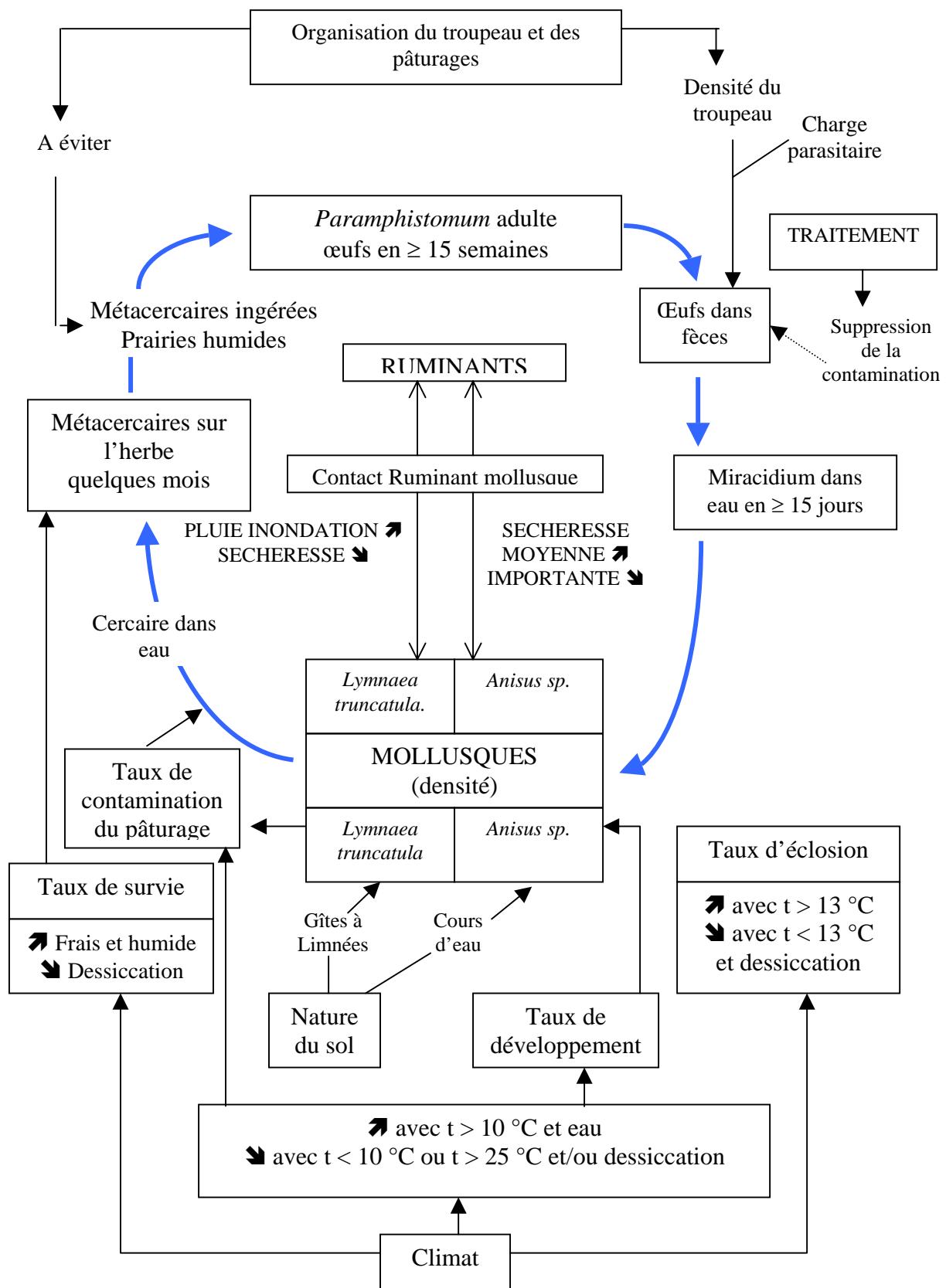


Figure 37 : Interactions milieu-hôte-parasite en milieu tempéré (adapté par POSTAL (1984) d'après RAYNAUD & KERBOUEUF (1981)).

III. Etude anatomo-clinique des paramphistomoses gastroduodénales bovines

Chez l'hôte définitif, les métacercaires se désenkystent par l'action des sucs gastriques dans l'abomasum. Ne tolérant pas l'acidité de cette portion du tube digestif, les adolescara se rendent dans le duodénum et y séjournent avant d'effectuer une migration rétrograde vers les pré-estomacs où elles deviennent adultes. Cette particularité du cycle biologique est à l'origine de deux phases cliniques. On parle alors de phase pré-imaginale pour désigner la phase de localisation duodénale des immatures et leur migration, et de phase imaginaire correspondant à la phase ruminale.

III.1. Pathogénie

Les lésions causées par les paramphistomes immatures au cours de leur séjour dans le duodénum sont d'une importance majeure dans la pathogénie. Leur pénétration dans la muqueuse duodénale occasionne la destruction, du moins temporaire, des glandes digestives (EUZEBY, 1975). Les tissus entourant les parasites enfouis dans la paroi duodénale sont congestionnés et œdémateux et le site de pénétration s'hypertrophie (HORAK, 1971). L'action antigénique des paramphistomes immatures en localisation sous-muqueuse a pour conséquence une infiltration locale de la *lamina propria* et du tissu interstitiel des glandes de Brunner par des macrophages et des lymphocytes (SINGH, SAHAY & JHA, 1984). Cette action antigénique détermine également une éosinophilie sanguine (EUZEBY, 1975 ; DENEV, 1982, cité par POSTAL, 1984). La strangulation qu'ils exercent par leur acétabulum sur la muqueuse entraîne une nécrose tissulaire par gène de l'irrigation sanguine. Cette nécrose peut aboutir à la chute de la portion étranglée. Lorsque les parasites quittent le duodénum pour migrer vers le rumen, ces zones nécrosées forment des érosions épithéliales. De petites hémorragies peuvent avoir lieu qui, entretenues par les mouvements péristaltiques de l'intestin, peuvent aboutir à des pertes sanguines importantes (EUZEBY, 1975). Ces lésions d'enterite localisées aux premiers mètres de l'intestin grêle, portion importante du point de vue physiologique, conduisent à une baisse de l'appétit, voire une anorexie totale. Les fonctions d'absorption et d'assimilation sont affectées. L'hyperhémie et l'œdème du duodénum sont à l'origine d'une occlusion partielle du canal cholédoque, empêchant l'écoulement de la bile.

De plus, les lésions érosives sont le siège d'une fuite protéique. Ce phénomène, observé également lors d'ostertagiose, a pour conséquence la chute de la concentration plasmatique en protéines totales. HORAK & CLARK (1963) l'observent chez des moutons expérimentalement

infestés par *Paramphistomum microbothrium*. Nous pouvons supposer qu'il en va de même chez les bovins. Ces auteurs ont mis en évidence que la perte des protéines plasmatiques concerne essentiellement l'albumine. Cette fuite protéique débute vers la troisième semaine après infestation, période qui correspond au début de la migration rétrograde des jeunes immatures. Elle est donc bien liée à l'apparition des érosions épithéliales. Cette chute de la concentration en albumine du plasma a également été observée par ZAJICEK & al. (1977) chez des agneaux infestés par *Paramphistomum* sp.

L'étendue des lésions, donc la sévérité des mécanismes pathogènes, dépend directement du nombre d'acétabulum ancrés dans la muqueuse. HORAK (1971) évalue à 100 cm² l'aire de muqueuse aspirée par 50 000 *Paramphistomum microbothrium* âgés de 21 jours dont la largeur de l'acétabulum est de 0,5 mm.

A cela s'ajoute le pouvoir allergène responsable, lors de ré-infestation et du contact entre les jeunes immatures et le tissu digestif sensibilisé, d'un phénomène d'hypersensibilité de type I comparable au syndrome aigu asthmatiforme de la dictyocaulose, au phénomène d'ipso-libération de l'hæmonchose ou à l'ascaridose toxémique (DORCHIES, 1998). Les allergènes s'associent aux Ig E fixées aux mastocytes locaux. Le pontage des récepteurs R-Fcε I entraîne leur dégranulation et la libération des médiateurs de l'inflammation, provoquant un œdème local, le recrutement de polynucléaires éosinophiles et la contraction des muscles lisses de l'intestin (DORCHIES, 1998).

Les formes immatures entament ensuite leur migration rétrograde. Avec le temps, les lésions tissulaires intestinales commencent leur cicatrisation et l'infiltration cellulaire de la paroi duodénale diminue. La migration s'achève au niveau du rumen et/ou du réseau qui hébergent les formes adultes. Celles-ci ont longtemps été considérées bénignes. Cependant, leur pouvoir pathogène, bien que beaucoup plus réduit par rapport à celui des formes immatures, n'en est pas nul pour autant. Elles se fixent par leur acétabulum à la base des papilles du rumen ou à la muqueuse du réseau. De même que pour les formes immatures, la strangulation ainsi exercée gêne la circulation sanguine. Ceci aboutit à la nécrose et parfois à la chute des tissus étranglés. On observe également une infiltration du tissu conjonctif par des cellules mononucléées (SINGH, SAHAI & JHA, 1984). Les lésions de ruminité et/ou de réticulite modifient la motricité digestive, et ce d'autant plus que les parasites se localisent préférentiellement le long des piliers du rumen. L'importance de ces phénomènes est là encore dépendante du nombre de vers présents.

Etant donné que les adultes se nourrissent du contenu ruminal, DORCHIES (1998) n'exclue pas qu'ils aient une action spoliatrice. Il suppose que la présence des vers modifie la composition

chimique du contenu gastrique donc la digestibilité, la résorption et le métabolisme alimentaire. Il émet également l'hypothèse d'une modification de l'absorption des médicaments.

III. 2. Clinique

Les paramphistomes ont longtemps été considérés comme des commensaux ou des parasites inoffensifs. En fait, les manifestations cliniques ne s'observent que lors de charges parasitaires importantes et la sévérité des symptômes dépend également du nombre de parasites. 11 000 métacercaires ont été nécessaires à l'apparition de troubles chez des moutons infestés expérimentalement par *Paramphistomum microbothrium* (BORAY, 1971 - cité par POSTAL, 1984). Chez des bovins infestés expérimentalement, un nombre de vers supérieur à 160 000 a entraîné la mort. Sous les conditions naturelles, il suffit néanmoins d'une charge parasitaire un peu moins importante. En Tanzanie, BUTLER & YEOMAN (1962) constatent des manifestations cliniques aiguës chez un veau hébergeant 23 703 *Paramphistomum microbothrium* et la mort d'un autre animal dont les réservoirs gastro-intestinaux renfermaient 48 443 parasites. En Belgique, la présence de plusieurs milliers de *Paramphistomum* sp. a entraîné la mort d'un bovin adulte (LOSSON, MIGNON & CASSART, 1998).

III.2.1. Phase pré-imaginale

III.2.1.1. Symptômes

La paramphistomose pré-imaginale se rencontre surtout sur des animaux jeunes, au printemps et à l'automne compte tenu du cycle évolutif du parasite et de la biologie des hôtes intermédiaires. Dans la forme aiguë, due à des infestations massives, les animaux présentent tout d'abord de l'apathie. Une baisse progressive de l'appétit, due aux lésions d'entérite, est constatée après une incubation d'environ dix jours (EUZEBY, 1975). HORAK & CLARK (1963) l'observent au bout de six à sept jours chez des moutons infestés expérimentalement avec $170\ 000 \pm 5\ 000$ métacercaires de *Paramphistomum microbothrium*. Elle laisse place en 16 à 27 jours à une anorexie parfois totale (HORAK & CLARK, 1963). Cette diminution de la consommation de nourriture associée à l'altération des fonctions d'absorption et d'assimilation de l'intestin entraînent un amaigrissement important. Au bout de 16 à 28 jours s'installe un syndrome gastro-entéritique, caractère dominant de la maladie. On observe alors une diarrhée liquide, aqueuse ou muqueuse, de couleur brun-verdâtre à noirâtre, avec parfois des stries rouges dues à la présence de formes immatures évacuées dans les fèces avant leur installation dans le rumen. Après plusieurs infestations, la diarrhée devient incoercible (HORAK, 1967), caractère que DORCHIES (1998)

explique par la réaction d'hypersensibilité de type I, s'accompagne de ténesme et peut contenir du sang frais. En raison du syndrome gastro-entéritique, la consommation d'eau est augmentée. HORAK & CLARK (1963) ne remarquent pas d'augmentation de la quantité absolue d'eau ingérée mais ils considèrent que son niveau relatif est anormalement élevé compte tenu de la consommation diminuée de fourrage. BUTLER & YEOMAN (1962) rapportent une consommation avide d'eau et de lait par des veaux infestés. Certains auteurs constatent une polydipsie, les animaux gardant longtemps leur museau immergé et ingérant souvent de petits volumes d'eau (HORAK & CLARK, 1963). L'anorexie, l'augmentation de la consommation de fluide ainsi que la dégradation intestinale des protéines plasmatiques expliquent le caractère liquide et l'odeur fétide de la diarrhée (HORAK, 1971). Cette forme aiguë peut entraîner la mort des animaux. Celle-ci peut être extrêmement rapide, sans qu'aucun symptôme ne soit mis en évidence (DORCHIES & *al.*, 2002 b).

En l'absence de mortalité et de traitement, une forme subaiguë peut être observée. En effet, lors d'infestation massive, la migration rétrograde des formes immatures est retardée (cf. Cycle évolutif) ce qui prolonge les symptômes pendant plusieurs mois (HORAK, 1967 ; BORAY, 1959 - cité par ROLFE & BORAY, 1988). Les animaux présentent un abattement accru. L'hypoprotidémie successive à la fuite protéique intestinale détermine l'apparition d'œdèmes (HORAK, 1971), visibles dans les régions déclives et dans l'espace intermandibulaire (signe de la bouteille). Ils touchent également les organes profonds tels que les poumons. L'hypercatabolisme protéique mis en place pour contrer cette hypoprotidémie entraîne une fonte musculaire importante. Les animaux sont dans un état de cachexie avancée. Ces symptômes rétrocèdent spontanément dès que les parasites immatures quittent le rumen pour migrer vers les pré-estomacs. Cette régression correspond à la régénération de la muqueuse intestinale.

Enfin, il a été signalé que la carence en oligo-éléments due à leur mauvaise assimilation serait responsable d'une diarrhée chez les veaux non sevrés de femelles infestées (CAROFF, 1998).

III.2.1.2. Signes biologiques

On constate une hypoalbuminémie progressive liée à la fuite de l'albumine plasmatique au niveau des lésions intestinales. Elle s'accompagne d'une hypocalcémie, les pertes de calcium sérique s'expliquant par la liaison calcium-albumine. Les œdèmes dus à l'hypoprotidémie sont responsables d'une diminution du volume plasmatique entraînant elle-même une diminution du volume sanguin. Il en résulte une hypoxie compensée par une érythrocytose. Elle explique la viscosité sanguine observée chez les animaux abattus pour cause de paramphistomose pré-

imaginale (HORAK, 1967). ZAJICEK & *al.* (1977) observent cependant une diminution du taux d'érythrocytes entre les 30^{ème} et 46^{ème} jours post-infestation. Ces mêmes auteurs notent une diminution des taux de phosphore et de fer sériques. Une éosinophilie peut être observée. SIDDIQUA, MANNAN & HUSSAIN (1989) rapportent une augmentation des transaminases hépatiques, traduisant un dysfonctionnement hépatique. Ceci pourrait être le résultat de l'occlusion du canal cholédoque entraînant une distension de la vésiculaire biliaire constatée par HORAK (1967). Toutefois, l'étude ne portant pas exclusivement sur les paramphistomes, il est difficile de connaître leur part exacte de responsabilité dans l'augmentation de ces enzymes. Cependant, GAYATRI & SHARMA (2001) constatent une élévation du taux sérique des enzymes hépatiques chez des buffles infestés par *Paramphistomum cervi* par rapport à un lot témoin. Ils notent également une augmentation des valeurs sériques des phosphatases alcalines, de la cholestérolémie et de la bilirubinémie. AMBROSI, BAIocco & FRUGANTI (1982) remarquent également une augmentation des transaminases dans le sérum de bovins atteints de paramphistomose pré-imaginale.

III.2.2. Phase imaginaire

III.2.2.1. Symptômes

La paramphistomose imaginaire se déclare en fin d'été et surtout en fin d'automne. Les symptômes sont beaucoup moins sévères que ceux de la phase précédente, le pouvoir pathogène des parasites adultes étant réduit par rapport à celui des formes immatures. Les troubles se manifestent en cas de parasitisme massif. D'après EUZEBY (1975), au moins 5 000 parasites seraient nécessaires. Malgré tout, l'infestation demeure le plus souvent inapparente. Les vers adultes sont responsables d'une ruminité et/ou d'une réticulite avec parfois une atonie du rumen. Il s'ensuit alors une météorisation chronique, signe d'appel le plus fréquent. Les animaux présentent de l'inappétence et de l'arumination. Un tympanisme, plus ou moins irrégulier, se manifeste surtout lors de l'ingestion de concentrés (DORCHIES & *al.*, 2002 a). On observe également un syndrome diarrhéique intermittent. Il s'agit plus d'un ramollissement des fèces que d'une véritable diarrhée. GUILHON & PRIOUZEAU (1945) rapportent des fèces de consistance normale mais contenant des fragments non digérés. L'état général des animaux est altéré, le poil est piqué. La production laitière est affectée quantitativement et qualitativement avec notamment une baisse du taux protéique (CAROFF, 1998). CASTRO-TREJO, GARCIA-VASQUEZ & CASILDO-NIETO (1990) évoquent également une diminution de la production de laine chez les moutons. La mort est rare mais peut cependant survenir chez des animaux en mauvais état physiologique.

III.2.2.2. Signes biologiques

Peu de données sont disponibles en ce qui concerne les signes biologiques de la phase imaginaire. Ils se caractérisent par de l'anémie, une leucocytose et une augmentation des γ -globulines. MIKHAIOVA & al. (1972 - cités par EUZEBY, 1975) ont observé une diminution de la teneur en azote total et en phosphore des muscles ainsi qu'une augmentation de leur teneur en eau.

La symptomatologie des paramphistomoses gastroduodénales est donc peu caractéristique quel que soit le niveau d'infestation. L'expression clinique est dominée par des troubles digestifs de diarrhée et de météorisme non pathognomoniques. Pourtant, SRIVASTAVA, SINHA & RAMA (1989) considèrent la consistance pâteuse et l'odeur fétide des fèces diarrhéiques comme caractéristiques de la paramphistomose pré-imaginale. Nous verrons cependant dans le diagnostic différentiel que ces signes ne sont pas spécifiques aux paramphistomoses.

III.3. Lésions

Les lésions diffèrent entre les deux phases des paramphistomoses gastroduodénales, de par leur localisation, leur nature et leur sévérité.

III.3.1. Phase pré-imaginale

III.3.1.1. Lésions macroscopiques

Les lésions n'intéressent pas exclusivement le tube digestif. Le retentissement des lésions intestinales sur l'état de la carcasse est plus ou moins important selon la durée d'évolution : la carcasse peut ne présenter aucune altération ou bien être sévèrement émaciée et présenter une atrophie séreuse des tissus adipeux. En cas de forme aiguë, les grandes cavités splanchniques et le péricarde renferment une sérosité claire plus ou moins abondante. Un œdème pulmonaire est également observé qui, en association avec l'abattement extrême et la sous-nutrition, serait responsable de la mortalité (HORAK, 1967). Une atrophie splénique, une atonie et une atrophie ruminale ainsi qu'une atrophie musculaire sont observées dans les formes chroniques. BUTLER & YEOMAN (1962) rapportent des boursouflures sur le foie. Une hémorragie du cortex surrénalien a été observée chez un mouton infesté expérimentalement par *Paramphistomum microbothrium* (HORAK & CLARK, 1963). La rétention biliaire due à l'occlusion du canal cholédoque se traduit par la distension de la vésicule biliaire qui laisse s'échapper à son ouverture une bile épaisse et visqueuse.

Les trois premiers mètres du duodénum sont le siège d'une entérite catarrhale. La muqueuse y est épaissie, œdémateuse et congestionnée. Elle présente des pétéchies disséminées ainsi que des érosions. BUTLER & YEOMAN (1962) observent également des plis ressemblant à ceux rencontrés plus distalement dans la maladie de Johne. Les noeuds lymphatiques mésentériques correspondant à cette portion du tube digestif sont œdémateux. Les vaisseaux mésentériques sont congestionnés et la graisse mésentérique est remplacée par un fluide séreux (HORAK, 1967). Des parasites immatures peuvent être observés flottant dans la lumière ou bien fixés à la muqueuse qu'ils peuvent totalement recouvrir en cas de fortes infestations. La muqueuse de l'ensemble de l'intestin est recouverte par un épais exsudat catarrhal (BUTLER & YEOMAN, 1962) plus ou moins sanguinolent. Les portions distales de l'intestin grêle ont une paroi fine et sont distendues par un contenu mucohémorragique pouvant contenir de nombreux vers immatures chez les bovins (HORAK, 1967). Le colon et le cæcum renferment un contenu fluide et des hémorragies rectales ne sont pas rares dans les formes subaiguës à chroniques (HORAK, 1967). La muqueuse abomasale présente également des érosions et des pétéchies ainsi qu'un œdème des plis spiraux qui tend parfois à obstruer la lumière (HORAK, 1967) (Figure 38). Le poids de la caillette est considérablement augmenté : HORAK (1967) constate, pour des organes de même taille, une majoration du poids de 3,48 Kg chez un animal infesté comparé à un animal indemne.



Figure 38 : Œdème des plis spiraux de l'abomasum d'un bovin infesté par *Paramphistomum microbothrium* (HORAK, 1967).

III.3.1.2. Lésions microscopiques

Les coupes histologiques de la paroi duodénale révèlent la présence de formes immatures enfoncées dans la muqueuse, localisées le plus souvent dans les glandes du chorion (DORCHIES & al., 2002 b). Ils atteignent parfois la sous-muqueuse et la musculeuse. HORAK (1967) observe des cas de pénétration plus profonde, juste sous la séreuse. Les parasites sont alors visibles à la face péritonéale de l'intestin qu'ils peuvent parfois perforent pour se retrouver dans la cavité abdominale (HORAK, 1971). LENGY (1969 - cité par HORAK, 1971) remarque, chez des bovins infestés par *Paramphistomum microbothrium*, une desquamation et une nécrose du revêtement épithélial et des glandes de Lieberkühn. La nécrose peut s'étendre à la *muscularis mucosae*. Les capillaires des villosités apparaissent congestionnés, distendus et peuvent se rompre. La muqueuse est le siège d'une stromaréaction importante. Le chorion et la *lamina propria* sont infiltrés par des cellules polymorphes à dominante lymphohistiocytaire associées à quelques plasmocytes et polynucléaires éosinophiles (SINGH, SAHAI & JHA, 1984 ; DORCHIES & al., 2002 b). Le tissu interstitiel des glandes de Brunner est lui aussi concerné par cette infiltration. Ces glandes présentent une dilatation kystique (LENGY 1969 - cité par HORAK, 1971; SINGH, SAHAI & JHA, 1984; DORCHIES & al., 2002 b). Par contre, aucune lésion n'est observée à proximité immédiate des vers logés dans la muqueuse, mis à part de la congestion (LENGY 1969 - cité par HORAK, 1971). La couche musculaire et la séreuse ne semblent pas non plus concernées par une quelconque réaction (SINGH, SAHAI & JHA, 1984).

Outre les lésions microscopiques intestinales, des lésions dégénératives ont été notées au niveau des organes parenchymateux de moutons (VASILEV & al., 1985) et l'épithélium de la vésicule biliaire est le siège d'une nécrose (HORAK, 1971).

Ces lésions, à dominante intestinale, disparaissent après le départ des formes immatures vers le rumen suite à la cicatrisation de la muqueuse. Malgré leur sévérité, elles n'ont que très rarement été décrites dans la littérature française. GUILHON & PRIOUZEAU (1945) en ont fait état et plus récemment DORCHIES & al. (2002 b) les décrivent à partir de trois cas de paramphistomose pré-imaginale aiguë qu'ils considèrent comme une « nouvelle entité pathologique ». LEVASSEUR & ALZIEU (1991) explique cette rareté des observations par la nature éphémère de ces lésions, rencontrées le plus souvent chez des animaux jeunes qui ne sont donc que rarement abattus.

III.3.2. Phase imaginaire

III.3.2.1. Lésions macroscopiques

Dans les pré-estomacs, les paramphistomes adultes sont le plus souvent rassemblés en colonies, fixés par leur acétabulum à la base des papilles du rumen, en particulier le long des piliers. Ils peuvent également se retrouver entre les mailles du réseau. Il s'exerce alors sur la muqueuse une strangulation gênant l'irrigation sanguine des tissus aspirés et responsable de leur nécrose. Ceci se traduit par une atrophie des papilles ruminale dont la pointe peut tomber. A la levée des parasites, les papilles apparaissent anémiques, de couleur blanchâtre (HORAK, 1967). Au point de fixation se développent des formations bourgeonnantes « en bouton » (HORAK, 1971) (Figure 39). GUILHON & PRIOUZEAU (1945) rapportent également des plages de muqueuses ulcérées, à contours irréguliers, ainsi que des plis œdémateux de la muqueuse.

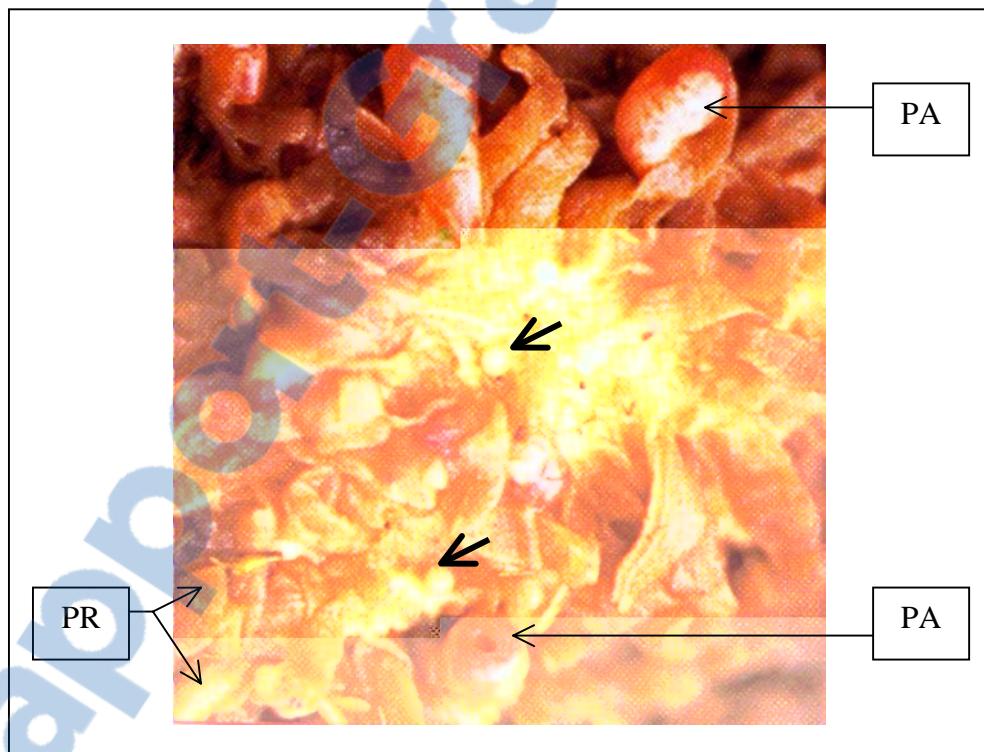


Figure 39 : Formations bourgeonnantes « en bouton » (flèches) déterminées par l'ancre des paramphistomes adultes (PA) sur la muqueuse ruminale et révélées après la levée des parasites (PR : papille ruminale) (photo J.P. ALZIEU ; DORCHIES & al., 2002 a).

III.3.2.2. Lésions microscopiques

L'histologie des formations bourgeonnantes a été étudiée par GRAUBMANN & *al.* (1978 - cités par POSTAL, 1984, et SINGH, SAHAI & JHA, 1985). Leur épithélium apparaît plat, continu et parfois hypertrophié. Ils rapportent également un corps papillaire ramifié avec infiltration cellulaire éosinophile. MUKHERJEE & SHARMA DEORANI (1962 - cités par HORAK, 1971, et SINGH, SAHAI & JHA, 1985) ont observé, sur le rumen de mouton, une prolifération de l'épithélium aux environs des parasites et de l'épithélium stratifié des papilles, ainsi qu'une hypertrophie de la couche cornée. L'abrasion et la perte de substance au niveau des papilles sont confirmées par l'histologie. CANKOVIC & BATISTIC (1963 - cités par HORAK, 1971) notent un œdème de la couche épithéliale et une infiltration lymphocytaire de la *lamina propria*. Cette infiltration concerne parfois l'épithélium et la sous-muqueuse. SINGH, SAHAI & JHA (1985) rapportent, chez la chèvre, une desquamation des villosités papillaires. DORCHIES (1998) rapporte une infiltration cellulaire de la muqueuse, cellules représentées essentiellement par des mastocytes et des éosinophiles. Notons que NGUYEN VAN KHANH & *al.* (1997) font des observations similaires aux niveaux des canaux biliaires de buffles du Vietnam infestés par *Gigantocotyle explanatum*, *Paramphistomatidae* parasite des gros canaux biliaires.

Le tableau clinique le plus évocateur et le plus sévère est donc le fait des formes immatures des paramphistomes. Cependant, il ne présente pas de signes pathognomoniques et peut être attribué à tort à d'autres agents parasitaires ou infectieux. Les formes adultes ne sont quant à elles responsables que d'une symptomatologie fruste. Cependant, les répercussions économiques ne sont pas nulles puisqu'elles affectent la productivité et les rendements des animaux atteints. De plus, elles seraient une cause indirecte de mortalité néonatale chez le veau, due à une diarrhée causée par la diminution en oligo-éléments du lait maternel. Le Tableau XXIII dresse un récapitulatif de l'étude anatomo-clinique des paramphistomoses gastroduodénales bovines.

| Paramètres | Phase pré-imaginale | Phase imaginaire |
|--|--|---|
| Signes cliniques : | Apathie, anorexie, soif intense ; diarrhées aqueuses ou muqueuses, brun-verdâtre et fétides ; parfois dysentériiformes ; mort possible en l'absence de traitement | Néant |
| | Amaigrissement pouvant aller jusqu'à la cachexie ; guérison spontanée fréquente en 2 semaines | Si infestation importante : inappétence ; amaigrissement ; météorisation ; diarrhées intermittentes ; atonie du rumen ; baisse fréquente des performances zootechniques |
| Lésions anatomo-pathologiques (formes chroniques ou subchroniques) | Présence d'adolescaria dans la muqueuse ; ensuite pénétration dans la sous-muqueuse ; gastroentérite avec inflammation catarrhale de la muqueuse qui s'épaissit, est congestionnée ou infiltrée ; pétéchies et foyers de nécrose dans la muqueuse ; exsudats séro-sanguinolents ; parfois hypertrophie des ganglions lymphatiques mésentériques ; parfois ascite sanguinolente | Parasites fixés à la base des papilles ruminales ; ruminité avec infiltration de la muqueuse et destruction de l'assise cornée ; histologie : infiltration lymphocytaire et œdème |
| Modifications biologiques | Anémie ; hyperéosinophilie ; baisse du fer sérique entre le 30 ^{ème} et le 46 ^{ème} jour PI ; hypoalbuminémie | Anémie importante ; baisse en azote total et en ions phosphates dans les muscles |

Tableau XXIII : Principaux signes cliniques et lésions anatomo-pathologiques constatés chez les bovins atteints de paramphistomoses gastroduodénales (d'après ZENNER, 2000, communication personnelle).

IV. Diagnostic des paramphistomoses gastroduodénales bovines

IV.1. Diagnostic clinique

IV.1.1. Diagnostic positif

Le diagnostic clinique des paramphistomoses gastroduodénales bovines doit faire appel à la symptomatologie appuyée par les données épidémiologiques : saison d'apparition des symptômes, région marécageuse, forte pluviométrie, présence déjà établie de paramphistomoses gastroduodénales bovines dans le secteur... En pays tempérés, l'apparition en fin de printemps ou à l'automne de signes digestifs dominés par une diarrhée fétide, liquide et de couleur brun-verdâtre sur des animaux apathiques, anorexiques et polydipsiques, évoluant sur des pâturages humides voire marécageux, devra faire penser à la paramphistomose pré-imaginale. Il est possible en cas de forte diarrhée, d'observer des formes immatures de 2 à 4 mm expulsés dans les fèces, leur donnant un aspect strié de rouge vif. Face à un syndrome de rumino-réticulite atteignant de façon aléatoire et épisodique plusieurs animaux du troupeau, se manifestant en fin d'été ou d'automne et en l'absence de tout changement alimentaire, il faudra suspecter la paramphistomose imaginaire. Cependant, les signes cliniques sont frustes et, même si la symptomatologie de la paramphistomose pré-imaginale est la plus révélatrice, elle n'est pas spécifique et est partagée par d'autres maladies parasitaires ou bactériennes. L'établissement d'un diagnostic différentiel s'impose donc.

IV.1.2. Diagnostic différentiel

La phase imaginaire devra être différenciée de la paratuberculose, maladie bactérienne où diarrhée et mauvais état général avec amaigrissement, poil piqué et oedème intermandibulaire sont également rencontrés. D'autres maladies parasitaires devront être écartées. Il s'agit :

- de la fasciolose, maladie également cachectisante, dans laquelle on observe un oedème intermandibulaire et des signes digestifs;
- de strongyloses digestives telles que l'oesophagostomose larvaire et de l'ostertagiose de type I.

Les données épidémiologiques constituent une aide au diagnostic différentiel dont le tableau XXIV présente les éléments principaux.

Cependant, le diagnostic différentiel n'est pas chose facile d'autant plus que ces maladies peuvent être concomitantes des paramphistomoses comme la fasciolose et l'œsophagostomose (EUZEBY, 1975).

Face à des épisodes de météorisation, outre la paramphistomose imaginaire, devront être évoquées une indigestion aiguë ou une rumino-réticulite par corps étranger.

Le diagnostic du vivant de l'animal pose donc problème, les arguments cliniques ne permettant pas de poser un diagnostic formel. Il faudra alors se tourner vers le diagnostic nécropsique ou le diagnostic expérimental pour déterminer avec plus de précision l'étiologie des symptômes rencontrés.

IV.2. Diagnostic nécropsique

Il s'agit du diagnostic de certitude. Les parasites adultes et immatures sont visibles fixés respectivement à la muqueuse des pré-estomacs et du duodénum. Toutefois, la mise en évidence des parasites immatures dans les premières portions de l'intestin peut poser quelques difficultés étant donné leur pénétration possible dans la muqueuse.

Mais, la présence des parasites n'est pas suffisante. Seule la concomitance de lésions permet d'attribuer les symptômes et/ou la mort de l'animal aux paramphistomoses (EUZEBY, 1975).

Dans le cas de paramphistomose pré-imaginale, la carcasse présente de la cachexie. La paroi de l'abomasum et du duodénum est hypertrophiée, œdématisée et congestionnée, la muqueuse présente des foyers de nécrose ainsi que des pétéchies. Dans les cas les plus graves, un hydrothorax, un œdème pulmonaire et une hyperhémie peuvent être observés (HORAK, 1967).

Lors de paramphistomose imaginaire, la carcasse est amaigrie. Les papilles du rumen et du réseau, enserrées par les acétabulums, subissent une nécrose et une atrophie. Au point de fixation des parasites apparaissent des formations bourgeonnantes « en bouton » (HORAK, 1971).

| Affections | Epidémiologie | Animaux atteints | Symptômes | Diagnostic de laboratoire |
|--------------------------|---|---|---|---------------------------|
| Œsophagostomose larvaire | Allure enzootique ; maladie de pâturage ; automne – hiver ; saison pluvieuse. | | Amaigrissement ; forte diarrhée ; signe de la bouteille ; diarrhée hémorragique et hyperthermie lors de phase aiguë en été. | |
| Ostertagiose | Allure enzootique ; maladie de pâturage ; printemps – automne ; saison pluvieuse. | Animaux jeunes, plus réceptifs et plus sensibles | Type 1 : diarrhée ; affaiblissement ; amaigrissement , signe de la bouteille. Type 2 : diarrhée profuse et verte en fin d'hiver. | |
| Fasciolose | Sporadique ou enzootique ; maladie de pâturage ; été - automne (forme aiguë) ; hiver (forme chronique). | | Symptômes frustes ; signe de la bouteille ; cachexie. | Coprologie |
| Paramphistomoses | Sporadique ou enzootique ; maladie de pâturage ; printemps - été (forme pré-imaginale) ; fin de printemps et d'automne (forme imaginale). | Surtout jeunes, mais possible à tout âge | Diarrhée ; perte d'appétit voir anorexie ; signe de la bouteille ; rumino-réticulite. | |
| Paratuberculose | Enzootie d'élevage ou sporadique ; maladie d'origine tellurique. | Adultes de plus de deux ans avec pic à 4 - 5 ans, parfois dès 18 mois | Diarrhée cachectisante (bovins, caprins), très fluide et violente (lienterie) ; signe de la bouteille. | Bactériologie |

Tableau XXIV : Diagnostic clinique et différentiel des maladies bovines entraînant une symptomatologie comparable aux paramphistomoses (d'après POSTAL, 1984).

IV.3. Diagnostic expérimental

IV.3.1 Diagnostic coproscopique

Le diagnostic coproscopique consiste en la mise en évidence dans les fèces de parasites immatures (coproscopie macroscopique) lors de paramphistomose pré-imaginale, ou d'œufs (coproscopie microscopique) lors de paramphistomose pré-imaginale.

La mise en évidence des formes immatures s'effectue par filtration des matières fécales sur tamis à maille de 200 microns. Mais du fait de la position duodénale des parasites, leur mise en évidence n'est possible qu'en cas de très forte diarrhée. BUTLER & YEOMAN (1962) émettent quelques réserves quant à la mise en évidence des formes immatures dans les fèces. Ils constatent en effet que malgré un nombre élevé de parasites observés à l'ouverture de l'intestin, le nombre de parasites retrouvés dans les matières fécales est à la fois faible et variable. Un résultat négatif ne peut être considéré comme significatif qu'après la répétition de nombreuses observations.

La mise en évidence des œufs dans les fèces nécessite au préalable une étape d'enrichissement afin d'éliminer les débris végétaux et de concentrer les éléments parasitaires. Deux techniques existent : la flottation (ou flottaison) et la sédimentation. La première est le plus souvent employée car elle nécessite moins de matériel. Le liquide de flottation devra être dense pour permettre la remontée des œufs de paramphistomes qui, comme ceux de tous les trématodes, sont des œufs lourds. La solution d'iodomercurate de potassium ($d = 1,44$) est appropriée. Cependant, elle nécessite une récupération et une régénération en raison de ses propriétés corrosives et polluantes (BEUGNET, 2000). De plus il s'agit d'une substance toxique pour la peau et les muqueuses. Elle ne sera donc employée que dans le cadre du laboratoire. D'autres solutions sont disponibles : sulfate de magnésium ($d = 1,28$), sulfate de zinc ($d = 1,18$) et mélange sulfate et acétate de zinc ($d = 1,18$) (BEUGNET, 2000). Mais, elles sont beaucoup moins denses et EUZEBY (1982) rapporte qu'une solution de sulfate de zinc à 33 % concentre en moyenne 15 à 20 fois moins d'œufs de *Fasciola hepatica* que la solution d'iodomercurate de potassium.

Après enrichissement, les échantillons sont observés au microscope entre lame et lamelle. L'utilisation de lames de MacMaster permet une analyse quantitative.

La coproscopie semble être une méthode de dépistage fiable à condition d'être effectuée plutôt en fin d'hiver (DORCHIES, 1998) et sur des animaux hébergeant au minimum une trentaine de parasites (MAGE & DORCHIES, 1998). Certains auteurs ont étudié la relation entre le nombre d'œufs par gramme de matières fécales (opg) et la charge parasitaire. Les observations de WILLMOTT & PESTER (1950 - cités par EUZEBY, 1982) sont récapitulées dans le tableau XXV. MAGE & DORCHIES (1998) ont travaillé avec la technique de MacMaster à l'iodomercurate de potassium complétée par une flottation en tube. Ils constatent qu'un résultat compris entre 0 et 15 opg doit être regardé avec prudence, et qu'une moyenne de 41,5 opg correspond à une moyenne de 215 parasites. Cependant, ces résultats ne sont pas vérifiables sur le plan statistique étant donné le faible effectif des animaux.

Bien que, la coproscopie soit actuellement la méthode de diagnostic la plus fiable, elle connaît cependant de nombreuses limites. En effet, il est impossible de mettre en évidence des œufs dans les matières fécales au cours de la période pré-patente, les parasites n'ayant pas encore atteint leur maturité sexuelle. De plus, la ponte peut diminuer avec l'âge ou lors de charge parasitaire trop importante. Elle est également variable tout au long de la journée (HORAK, 1971). Le risque de résultats faussement négatifs est donc élevé.

D'autre part, les œufs de paramphistomes sont proches de ceux de *Fasciola hepatica* et la confusion est possible comme en a fait l'expérience CASSET (1989) dans le laboratoire départemental de l'Allier. Cette confusion est à l'origine de faux négatifs, la fasciolose étant plus souvent suspectée dans les régions où les paramphistomoses sont méconnues. Certains critères morphologiques permettent toutefois de les différencier (Tableau XXVI). Cependant, la solution d'iodomercurate de potassium modifie l'aspect des œufs par contraction, disparition de l'opercule et éclaircissement (EUZEBY, 1982). Malgré tout, la différence de coloration permet la différenciation (DORCHIES, 1989). Les œufs apparaissent jaune brunâtre pour *Fasciola hepatica* et gris verdâtre pour *Paramphistomum* sp.

| Nombre d'œufs pour 6 grammes de fèces | Nombre de paramphistomes adultes dans les pré-estomacs |
|--|---|
| 1 | 1 à 9 |
| 3 | 40 |
| 9 | 70 |
| 15 | 123 |
| 30 | 143 |
| 40 | 145 |

Tableau XXV : Correspondance entre le nombre d'œufs pour 6 grammes de fèces et le nombre de paramphistomes adultes dans les pré-estomacs (WILLMOTT & PESTER, 1957 - cités par EUZEBY, 1982).

| Critères de différenciation | Œufs de <i>Fasciola hepatica</i> | Œufs de <i>Paramphistomidae</i> |
|------------------------------------|---|--|
| Taille | 130 à 150 × 70 à 90 µm | Selon les espèces : 125 à 150 × 50 à 70 µm 150 à 180 × 75 à 100 µm |
| Aspect des pôles | Egaux | Inégaux : un pôle plus pointu |
| Couleur | Jaune | Incolore ou vert pâle |

Tableau XXVI: Diagnostic coproscopique différentiel entre les œufs de *Fasciola hepatica* et ceux de paramphistomes d'après EUZEBY (1975).

IV.3.2. Diagnostic immunologique

IV.3.2.1. Intra-dermo réaction

L'intra-dermo réaction (I.D.R.) est un test diagnostique basé ici sur la mise en place d'une réaction d'hypersensibilité de type I. Cette réaction correspond à la dégranulation des mastocytes (dans les tissus ; dans le sang, elle concerne les polynucléaires circulants) suite au pontage des Ig E au contact de l'allergène chez un animal sensibilisé. Ceci se traduit en 20 à 30 minutes par un œdème et un érythème local au point d'inoculation et parfois une atteinte générale. Elle n'a donc lieu que chez des individus ayant déjà été en contact avec l'allergène. Cette réaction est « quantifiable » par la mesure et la comparaison de l'épaisseur de la peau au point d'inoculation avant et après injection. Des phénomènes généraux peuvent se manifester tel que de la fièvre. Ce type de test est largement employé pour le dépistage de la tuberculose, mais celui-ci exploite un phénomène d'hypersensibilité de type IV qui se traduit en 24 à 48 heures par une réaction inflammatoire de type cellulaire et non vasculaire.

KATIYAR & VARSHNEY (1963 - cités par HORAK, 1971) ont tenté de mettre au point ce type de test pour le dépistage des paramphistomoses gastroduodénales chez le mouton. Ils ont utilisé un extrait salin de parasites adultes inoculé dans une zone glabre. Ils n'ont pas observé de modification de l'épaisseur cutanée ou de modification de la température corporelle chez les animaux infestés par rapport aux animaux témoins.

HORAK (1967) emploie, également chez le mouton, trois types d'extraits antigéniques préparés à partir de *Paramphistomum microbothrium* : un extrait salin d'Ag de parasites immatures, un extrait salin d'Ag de métacercaires et un extrait alcoolique de parasites adultes et immatures. 0,1 mL de ces extraits est inoculé par voie intradermique au niveau de la région axillaire glabre. Il remarque alors la formation en 1 à 30 minutes d'une zone rouge sombre à violette entourée d'un œdème étendu. Cependant, aucun des trois extraits antigéniques ne semble spécifique puisque des réactions positives apparaissent également chez les moutons infestés par des nématodes, *Fasciola hepatica* ou *Schistosoma matthei*. De plus, l'extrait alcoolique n'entraîne une réaction que chez les animaux infestés par *Fasciola hepatica* et non ceux hébergeant *Paramphistomum microbothrium*.

Une réaction intradermique immédiate a été obtenue chez des chèvres parasitées par des paramphistomes adultes après l'inoculation d'extraits salins d'Ag de parasites adultes appartenant à des espèces différentes (SAHAY, 1981 - cité par SINGH & *al.*, 1983). Mais l'interprétation de ces résultats reste délicate étant donné qu'aucune mention n'est faite sur la quantité de protéines

contenue dans 0,1 mL de la solution antigénique et que toute protéine étrangère injectée en grande quantité entraîne une telle réaction (SINGH & *al.*, 1983).

Plus récemment, des essais sur des chevreaux atteints de paramphistomose imaginale avec un extrait salin d'Ag de *Paramphistomum cervi* adultes ont été effectués en Inde par SINGH & *al.* (1983). Ils n'ont pas pu mettre en évidence d'augmentation significative de l'épaisseur de la peau. Trois hypothèses sont émises pour expliquer cet échec : la non standardisation des Ag avant leur utilisation, l'absence de réponse immune à médiation cellulaire au moment du test ou la nécessité d'employer un antigène spécifique de stade.

Les essais de mise au point d'un test I.D.R. pour le diagnostic des paramphistomoses gastroduodénales n'ont à notre connaissance pas été effectués chez les bovins. Nous supposons que les résultats de ce test dans cette espèce seraient également insatisfaisants.

IV.3.2.2. Fixation du complément

Ce type de test utilise la propriété du complément à lyser les hématies complexées à des hémolysines. Des Ag sont mis en présence des sérums à tester. La formation de complexes antigène-anticorps spécifiques va entraîner l'activation et donc la « consommation » du complément. Les hématies porteuses d'hémolysines alors ajoutées ne seront donc pas lysées et vont sédimenter.

HORAK (1967) a utilisé une technique modifiée de la fixation du complément. L'évaluation de la puissance du test est faite par le calcul de son « Index ratio », qui correspond à la quantité de complément nécessaire pour produire 50 % d'hémolyse en présence d'antigène et de sérum immun divisé par la quantité de complément nécessaire pour produire 50 % d'hémolyse en présence de sérum immun seul. Cette technique a été appliquée à du sérum de moutons infestés par *Paramphistomum microbothrium* et du sérum de moutons indemnes ou infestés par *Haemonchus contortus* ou *Fasciola hepatica*. La solution antigénique utilisée est un extrait alcoolique d'Ag de parasites adultes et immatures. Les index ratio se révèlent bas pour les sérums de moutons non infestés, les sérums de moutons infestés récemment traités, les sérums de moutons infestés par d'autres parasites et les sérums de moutons atteints de paramphistomose aiguë. Ils sont élevés pour les sérums de moutons massivement infestés et de moutons immunisés. L'antigène s'avère donc spécifique de *Paramphistomum microbothrium*, mais les difficultés de réalisation et d'interprétation de ce type de test n'en font pas un outil pratique pour le diagnostic. De plus, il ne permet pas la différenciation entre animaux infestés et animaux immunisés, ni le diagnostic des formes aiguës.

IV.3.2.3. Immuno-précipitation

HORAK (1967) a mis à incuber à 38 °C des adultes et des adolescaria de *Paramphistomum microbothrium* en présence de sérum d'ovins, caprins et bovins infestés et non infestés. Il a alors observé la formation, en environ 2 heures 30, de précipités autour des vers adultes, en particulier au niveau du pore excréteur, de l'atrium génital et de la cuticule de la partie antérieure des parasites. Par contre, ces précipités n'étaient pas aussi importants autour des formes immatures. De même, ces précipités étaient faibles lorsque les parasites étaient mis à incuber en présence de sérum d'ovins ou de caprins alors qu'ils se montraient très marqués lorsque les vers étaient en présence de sérum de bovins infestés ou immunisés. Ce test rapide peut donc s'avérer utile au diagnostic des paramphistomoses gastroduodénales bovines. Il présente cependant deux inconvénients : la nécessité de matériel antigénique vivant et l'impossibilité de distinction entre animal infesté et animal immunisé.

IV.3.2.4. Immunofluorescence indirecte

Dans cette technique, des Ac couplés à une molécule fluorescente sont mis en présence de coupes de parasite qui font office d'Ag. La présence des Ac couplés à la molécule fluorescente est révélée en utilisant un microscope à fluorescence.

ALABAY (1981) a infesté trois groupes de moutons (I, II et III) avec respectivement 5 000, 10 000 et 15 000 métacercaires de *Paramphistomum cervi*. Des Ac spécifiques ont alors été détectés par la méthode d'immunofluorescence indirecte après un certain délai : 14 jours post-infestation dans les groupes I et II, et 18 jours post-infestation dans le groupe III. L'auteur a ensuite renouvelé le test après le traitement des animaux : les titres ont alors progressivement diminué et sont devenus inférieurs au seuil de positivité 40 jours après le traitement. Le même test utilisé chez des animaux témoins donne des résultats positifs. Le risque de résultats faussement négatifs et faussement positifs sont donc élevés.

BOCH & al. (1983 - cités par JOLY, 1991) ont remarqué une réaction importante sur la cuticule et le revêtement interne de l'acétabulum. Les Ac semblent donc dirigés contre les Ag de surface. Cette fluorescence s'observe à partir du 15^{ème} au 27^{ème} jours après le début de l'infestation, devient maximale entre le 42^{ème} et le 56^{ème} jours pour ensuite diminuer une fois que le parasite a atteint sa maturité sexuelle (KELLER, 1983 - cité par JOLY, 1991). Ceci augmente le risque de résultats faussement négatifs.

IV.3.2.5. Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Ce test est communément appelé « test E.L.I.S.A. ». Son principe est le même que celui de l'immunofluorescence mis à part que la détection des complexes immuns est réalisée grâce à une réaction immuno-enzymatique.

ALABAY (1981) a évalué le test E.L.I.S.A. parallèlement à l' immunofluorescence indirecte et sur les mêmes groupes de moutons. Avec cette technique, les Ac spécifiques ont pu être détectés dès le 8^{ème} jour post-infestation. Ces titres ont également diminué après le traitement. Les mêmes risques de faux positifs et de faux négatifs observés avec l'immunofluorescence indirecte sont rencontrés. L'auteur conclut pour les deux types de tests que leur fiabilité et leur sensibilité sont très insuffisantes. BOCH & *al.* (1983 - cités par POSTAL, 1984) ont également constaté une détection précoce des titres positifs pour l'antigène « adulte » (8 à 24 jours après infestation) avec un pic après 24 à 50 jours.

Récemment, JOLY (1991) a essayé de mettre au point un test E.L.I.S.A. sur sérum et d'en évaluer les paramètres intrinsèques en prenant la coproscopie comme test de référence. Son travail a porté sur 107 bovins. Les résultats sont récapitulés dans le Tableau XXVII. L'auteur estime alors la sensibilité du test à environ 96 %, résultat honorable. Au contraire, la spécificité a été évaluée à seulement 13 % en prenant le complémentaire à 100 du pourcentage d'animaux séropositifs parmi les copronégatifs. Cependant, nos calculs sur les données fournies par l'auteur diffèrent. Si les résultats sérologiques douteux sont considérés comme positifs comme c'est le cas pour le calcul de la sensibilité ($64 / 67 \times 100 = 96\%$), nous calculons une spécificité de 3 %. Au contraire, si les résultats douteux sont considérés comme négatifs, la spécificité est bien de 13 % mais la sensibilité est alors de 81 %. L'auteur n'a pu évaluer les réactions croisées éventuelles.

Ainsi, malgré une très bonne sensibilité, ce test E.L.I.S.A. sur sérum de bovin souffre d'un manque de spécificité certain. Le risque de faux positifs est trop important pour une utilisation sur le terrain.

| Sérologie paramphistome | Sérologie grande douve | Coproscopie paramphistome | | | | Total |
|-------------------------|------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|
| | | Positive | | Négative | | |
| | | Coproscopie grande douve positive | Coproscopie grande douve négative | Coproscopie grande douve positive | Coproscopie grande douve négative | |
| Positive | positive | 16 | 19 | 13 | 15 | 63 |
| | douteuse | 1 | 14 | 1 | 4 | 20 |
| | négative | 0 | 4 | 0 | 2 | 6 |
| Douteuse | positive | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| | douteuse | 0 | 4 | 0 | 2 | 6 |
| | négative | 0 | 5 | 0 | 1 | 6 |
| Négative | positive | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | douteuse | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | négative | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 |
| Total | | 18 | 49 | 15 | 25 | 107 |

Tableau XXVII : Résultats coproscopiques et sérologiques (test E.L.I.S.A. sur sérum) d'une population de 107 bovins vis-à-vis des paramphistomoses et de la fasciolose (JOLY, 1991).

Bilan sur les méthodes diagnostiques

Le diagnostic des paramphistomoses gastroduodénales bovines s'avère donc particulièrement difficile. Seul l'examen post-mortem des animaux permet un diagnostic de certitude. Du vivant de l'animal, le tableau clinique fruste et exempt de signes pathognomoniques oblige à faire appel au diagnostic expérimental dont la coproscopie apparaît être, à l'heure actuelle, le seul examen fiable, malgré toutes les limites que nous avons pu mentionner. Aucune méthode immunologique (Tableau XXVIII) n'a pour l'instant donné de résultats satisfaisants malgré les résultats prometteurs obtenus avec le test E.L.I.S.A. sur sérum pour le diagnostic d'une autre trématodose, la fasciolose, mis au point par TAILLEZ (1970 - cité par JOLY, 1991). Il faut cependant noter qu'il utilise pour ce test des Ag purifiés de *Fasciola hepatica* alors que la purification par chromatographie des fractions antigéniques de paramphistomes n'a jusqu'ici fait l'objet d'aucune étude.

| Méthode | Principe | Résultats | | Référence |
|------------------------------|---|-------------------------|--|---|
| Intra-dermo réaction | Test positif si réaction inflammatoire significative au point d'inoculation | Ovin | Aucune réaction locale | KATIYAR & VARSHNEY (1963)* |
| | | Ovin | Réaction locale significative mais test non spécifique (réaction croisée avec <i>Fasciola hepatica</i> , Nématodes, <i>Schistosoma matthei</i>). | HORAK (1967) |
| | | Ovin | Réaction locale immédiate mais due à antigène de paramphistome ? | SAHAY (1981)** |
| | | Ovin | Réaction locale non significative. | SINGH & al. (1983) |
| Fixation du complément | Test positif si absence d'hémolyse (calcul Index ratio) | Ovin | Valeurs faibles chez ovins non infestés, infestés et traités, infestés par d'autres parasites ou atteints de paramphistomose aiguë ; valeurs élevées chez ovins infestés massivement ou immunisés. | HORAK (1967) |
| Immuno-précipitation | Présence d'un système précipitant si test positif | Ovin Caprin Bovin | Formation de précipités en 2 H 30 (surtout PE, AG et CA) ; bovin >> ovin et caprin ; pas de distinction entre animal immunisé et animal infesté. | HORAK (1967) |
| Immunofluorescence indirecte | Complexes Ag-Ac fluorescents visualisés sous ultraviolets | Ovin | Titres détectés entre le 14 ^{ème} et le 18 ^{ème} jour PI. Test non spécifique (réactions croisées) ; positivité marquée sur le tégument débutant entre le 15 ^{ème} et le 27 ^{ème} jours PI, maximale entre le 42 ^{ème} et le 56 ^{ème} jours PI puis chute après la maturité sexuelle des parasites. | ALABAY (1981) BOCH & al. (1983)*** KELLER (1983)*** |
| E.L.I.S.A. | Révélation par une réaction enzymatique | Ovin Bovin | Titres détectés dès le 8 ^{ème} jour PI ; test sensible mais peu spécifique (réaction croisée avec <i>Fasciola hepatica</i>). | ALABAY (1981) BOCH & al. (1983)*** JOLY (1991) |

Tableau XXVIII : Récapitulatif des méthodes immunologiques étudiées pour le diagnostic des paramphistomoses gastroduodénales
(* = cités par HORAK, 1971 ; ** = cité par SINGH & al., 1983 ;
*** = cité par JOLY, 1991 ; PI = Post-Infestation).

V. Pronostic des paramphistomoses gastroduodénales bovines et méthodes de lutte

V.1. Pronostic

Le pronostic médical des paramphistomoses gastroduodénales bovines dépend de la phase prise en considération. Il peut être grave pour la phase pré-imaginale puisque la mort peut survenir en cas d'infestation massive. Cependant, les cas de mortalité sont rares en pays tempéré. Le pronostic est le plus souvent bénin pour la phase imaginaire.

En revanche, le pronostic économique est non négligeable. En effet, mis à part la mortalité éventuelle, les pertes de rendement et de production peuvent être importantes en raison de l'altération de l'état général et de la fonction digestive : gain moyen quotidien ralenti, diminution quantitative et qualitative de la production laitière et émaciation entraînant une non valeur économique des animaux destinés à la filière viande.

Cependant, la gravité du pronostic, tant médical qu'économique, dépend également des conditions dans lesquelles les animaux sont élevés : les animaux ayant à leur disposition une quantité et une qualité de nourriture ainsi qu'un encadrement zootechnique satisfaisants ont une capacité de résistance au pouvoir pathogène des vers plus élevée (HORAK, 1967). Tout dépend donc de l'état d'entretien dans lequel se trouvent les animaux au moment où ils entrent en contact avec les métacercaires infestantes. Il est alors compréhensible que les animaux élevés en pays tropicaux, ne bénéficiant pas des conditions zootechniques rencontrées en pays tempérés comme la France, soient plus affectés.

V.2 Traitement

L'utilisation d'anthalminthiques pour lutter contre les paramphistomoses gastroduodénales doit avoir deux objectifs : une action curative et une action préventive. L'action curative, réservée aux individus malades, vise à libérer l'animal des helminthes dont il est porteur. Elle est nécessaire pour améliorer le pronostic économique. L'action préventive doit être entreprise sur l'ensemble des bovins. Elle permettra de diminuer l'infestation chez les animaux porteurs cliniques et infestés sub-cliniques, et de protéger les individus sains.

Nous envisagerons tout d'abord les différents principes actifs utilisables dans la lutte contre les paramphistomoses gastroduodénales bovines, puis nous nous intéresserons aux modalités du traitement.

V.2.1. Antiparasitaires utilisables

V.2.1.1. Dérivés du diphenyl sulfure

➤ Le bithionol

Le bithionol ou 2-2' thio-bis(4,6 dichlorophénol) est connu pour son efficacité dans le traitement de la fasciolose à *Fasciola hepatica*. GUILHON & GRABER (1962) ont montré son efficacité à éliminer les formes adultes non seulement de *Fasciola gigantica* mais également de *Paramphistomum microbothrium* à la dose unique de 25 mg/kg administrée à des bovins de 9 à 22 mois, après une diète de 20 heures. Ces résultats ont par la suite été confirmés par RENAUD (1983 - cité par POSTAL, 1984). Ce composé s'avère également efficace à des posologies plus faibles : une administration de 20 mg / kg de bithionol associé à l'hexachlorofène permet l'élimination des paramphistomes adultes (TEUSCHER & *al.*, 1956 - cités par EUZEBY, 1975). Il en est de même avec une administration de bithionol seul à la dose de 7 mg / kg renouvelée dix jours plus tard (NIKITIN, 1972).

Les formes immatures ne sont cependant affectées qu'à des posologies bien supérieures. MEREMINSKII & GLUZMAN (1968 - cités par HORAK, 1971) ainsi que FEDORCHENKO (1966) et VASILEV (1967 ; 1970) (cités par EUZEBY, 1975) ont montré que son activité sur les formes immatures des paramphistomes n'est effective qu'à des doses d'au moins 70 mg / kg. Cependant, HORAK (1965 - cité par HORAK, 1971) obtient, chez deux bovins, une efficacité comprise entre 99,9 et 100 % sur les formes immatures de *Paramphistomum microbothrium* âgées de 9 jours avec des posologies de 25 et 35 mg / kg respectivement. MALAN (1965 - cité par HORAK, 1971) n'obtient aucune activité avec 20 mg / kg.

D'une manière générale, la plupart des auteurs s'accordent pour dire que le traitement par le bithionol de la paramphistomose pré-imaginale nécessite des doses trop élevées pour être tolérées par les bovins (GUILHON & GRABER, 1979 ; BORAY, 1971 - cité par POSTAL, 1984). Il entraîne en effet des réactions intestinales avec une diarrhée intense ainsi qu'une photosensibilisation, en particulier chez les animaux dépigmentés. Des recherches ont alors été menées pour remplacer le bithionol par un corps chimiquement voisin tout aussi efficace mais ne présentant pas ces effets indésirables. Signalons de plus que ce produit n'est aujourd'hui plus commercialisé en France.

➤ Le bithionoloxide

Le bithionoloxide, également nommé bithionol sulfoxide, est le métabolique actif du bithionol. Il présente par rapport à ce dernier les avantages d'être moins毒ique, moins onéreux et mieux absorbé par l'organisme (GUILHON & GRABER, 1979 ; GEVREY & BOURDOISEAU, 1998). Il peut également être utilisé à des posologies beaucoup plus faibles. Des études menées au Japon, en Afrique et en France par divers auteurs ont mis en évidence l'activité de ce composé à la fois sur les trématodes parasites du foie (*Fasciola hepatica* et *F. gigantica*) ou parasites du rumen (*Paramphistomum* sp.) et sur les cestodes intestinaux (GUILHON & GRABER, 1979). Ce composé s'administre par voie orale sans diète préalable, sous forme de poudre en suspension dans l'eau ou incorporée à la nourriture.

Certains auteurs observent une efficacité sur les formes adultes de paramphistomes à la dose de 25 mg / kg (GUILHON & GRABER, 1979). La posologie initialement fixée est cependant de 40 mg / kg. A cette posologie, de nombreux auteurs font état de son efficacité sur les formes adultes de paramphistomes. Des auteurs d'Europe de l'Est ont montré qu'à cette dose l'efficacité du bithionoloxide sur les formes adultes est de 100 % chez les bovins (GUILHON & GRABER, 1979). GRABER & al. (1979) l'associe au thiabendazole ou au tartrate de morantel chez des zébus au Niger et en Ethiopie. Les résultats sont différents entre les deux pays : au Niger l'efficacité, calculée à l'autopsie en comparant les charges parasitaires chez les animaux traités et les animaux témoins, est de 100 % sur les formes adultes alors qu'elle est de 93 % en Ethiopie. MAGE, DELAS & REYNAL (1997) comparent chez des vaches l'effet du traitement selon le respect ou non de la dose maximale autorisée (DMA) (200 ml pour un poids supérieur ou égal à 500 kg). Les efficacités, basées sur la diminution de l'excrétion fécale d'œufs, sont alors respectivement de 95 à 97,7 % et 96,6 à 100 %. Le traitement n'a pas eu d'effet sur l'état corporel des vaches, état essentiellement dépendant des conditions d'alimentation. Le non respect de la DMA entraîne une activité plus importante sans effets néfastes mais les auteurs estiment que son utilisation n'est cependant pas justifiée. En parallèle, ils remarquent chez des génisses traitées au bithionoloxide, avec respect de la DMA, une efficacité de 99,5 à 100 % sur les formes adultes ainsi qu'un effet bénéfique du traitement sur la croissance. COURROUBLES & al. (2003) rapportent également une très bonne efficacité du bithionol sur les formes adultes à cette posologie chez les bovins : l'excrétion d'œufs dans les selles est diminuée de 98 % six semaines après le traitement.

MAGE & REYNAL (1990) administrent une dose de 32 mg / kg avec une DMA de 150 à 160 ml selon la présentation. L'efficacité évaluée par comparaison du nombre d'œufs éliminés dans les fèces avant le traitement et 28 jours plus tard est de 70 % et 93 % selon la présentation.

Cependant, le bithionoloxide utilisé à cette posologie n'a aucune efficacité sur les formes immatures déjà présentes dans le rumen. GRABER & al. (1979) préconisent alors l'administration du bithionoloxide à la dose de 60 mg / kg qui permet l'élimination de 99 % des formes adultes et immatures du rumen et assure des résultats plus constants. Nous venons de voir en effet que l'efficacité à la posologie de 40 mg / kg est assez fluctuante.

En ce qui concerne les formes immatures localisées au duodénum, peu de données sont disponibles. Chez des ovins atteints de paramphistomose pré-imaginale aiguë, l'administration de 35 à 50 mg / kg de bithionoloxide semble éliminer 75 % des parasites (SCHILLORN VAN VEEN & BIDA, 1975 - cités par GUILHON & GRABER, 1979). Ce traitement entraîne également une diminution de la mortalité et une augmentation du poids des animaux. Divers auteurs russes notent, chez des bovins, une amélioration considérable de l'état général et une augmentation significative du poids après administration de 80 mg / kg en une fois ou deux fois à six jours d'intervalle.

Aux doses thérapeutiques, le bithionoloxyde n'a pratiquement pas d'effets secondaires. On observe un ramollissement des fèces voire une légère diarrhée rétrocédant rapidement. Les jeunes animaux ayant un bon état général peuvent supporter des doses allant jusqu'à 300 mg / kg (GUILHON & GRABER, 1979). Cependant, ce produit a été retiré du marché en janvier 2002 en raison de l'absence de limite maximale de résidus (DORCHIES & al., 2002 a).

V.2.1.2. Dérivés du résorcinol

Le Bromo 4, dihydroxy 2,6 benzanilide ou résorantel, encore nommé térénoïl, est connu pour son activité sur les *Moniezia*, cestodes des Ruminants. Il semble efficace sur les formes adultes et immatures de *Paramphistomum* sp. OGUZ (1971) l'utilise chez 10 bovins naturellement infestés à la dose de 65 mg / kg administrée par voie orale. A l'inspection post-mortem effectuées 2 à 15 jours après le traitement, il n'observe aucun parasite ni dans le duodénum, ni dans le rumen. Selon le même protocole, KOBULEJ & UDVARHEYI (1972) constatent la disparition totale de l'infestation chez 36 bovins naturellement infestés sur un total de 40. Toujours à la dose de 65 mg / kg, GAENSSLER (1974 - cité par ROLFE & BORAY, 1987) constate une efficacité de 100 % sur les formes adultes et de 62,7 % sur les formes immatures. L'administration de 65 mg / kg de résorantel à des vaches laitières entraîne la disparition de l'excrétion fécale d'œufs mais une augmentation du taux d'infestation est observée dans les jours qui suivent : 7,8 % et 10,2% respectivement à 14 et 21 jours après le traitement (ROMANIUK, 1974 - cité par POSTAL, 1984). Chez des bovins infestés par *Paramphistomum microbothrium* ayant reçu 65 mg / kg de résorantel, WIKERHAUSER, BRGLEZ & KUTICIC (1975) effectuent, une semaine et un mois après le traitement, des comptages d'œufs

dans les matières fécales qui s'avèrent nuls, excepté pour un cas où le nombre d'œufs avait diminué de 60 %. Les signes cliniques et l'excrétion d'œufs dans les fèces disparaissent rapidement après l'administration de résorantel à la posologie de 65 mg / kg, mais les parasites persistent encore plusieurs mois. Une dose plus élevée de 100 mg / kg permet une disparition plus rapide, mais elle entraîne chez les bovins une diarrhée transitoire et une inappétence dans les 24 heures qui suivent l'administration (OGUZ, 1971). Cette molécule n'est pas disponible en France.

V.2.1.3. Dérivés de la salicylanilide

➤ La niclosamide

La niclosamide ou 2 chloro, 4 nitrophenyl 5 chlorsalicylanilide a des propriétés cestodicides intéressantes notamment contre les *Moniezia* des ovins. Les posologies cestodicides sont respectivement de 65 et 80 mg / kg chez les bovins et les ovins. Ce composé ne possède en revanche qu'une activité très faible sur les formes de *Paramphistomum* sp. présentes dans le rumen. HORAK (1964 - cité par HORAK, 1971) ne remarque aucune efficacité de la niclosamide administrée à la posologie de 100 mg / kg sur les parasites localisés dans le rumen de bovins infestés par *Paramphistomum microbothrium*. A la dose unique de 160 mg / kg, l'efficacité de la niclosamide s'avère toujours nulle sur les formes présentes dans le rumen des bovins et elle n'est que de 27,4 % lorsque cette dose est renouvelée à 3 jours d'intervalle (ROLFE & BORAY, 1987).

L'efficacité sur les formes immatures du duodénum et de l'abomasum est variable. A la posologie de 100 mg / kg, HORAK (1964 - cité par HORAK, 1971) observe une efficacité de 96,4 % chez un animal et une absence d'activité chez deux autres bovins traités avec 50 et 100 mg / kg de niclosamide. A la posologie de 160 mg / kg, ROLFE & BORAY (1987) rapportent une efficacité sur les formes immatures du duodénum de 91,1 % lorsque la dose est unique, et de 92,6 % lorsqu'elle est renouvelée trois jours plus tard.

Chez les ovins, des constations similaires ont été faites (HORAK, 1971 ; ROLFE & BORAY, 1988).

Cette molécule est disponible en France.

➤ L'oxyclozanide

De nombreuses études ont été faites concernant l'efficacité de ce composé sur les paramphistomes. Celle-ci est évaluée de différentes manières.

Elle peut être basée sur le pourcentage de réduction de l'excrétion d'œufs dans les selles avant et après traitement. Elle concerne donc seulement les formes adultes. CHHABRA & BALI

(1976) observent une très bonne efficacité de l'oxyclozanide seul à la posologie de 15 mg / kg. A la posologie A.M.M. de 10,2 mg / kg avec respect de la DMA (100 ml par bovin) l'efficacité est faible : de 12 % (MAGE & REYNAL, 1990) à 15 % (ALZIEU, BERGEAUD & DORCHIES, 1999). Pour cette même posologie, le non respect de la DMA améliore nettement l'efficacité de l'oxyclozanide : elle est estimée à 94 % par ALZIEU, BERGEAUD & DORCHIES (1999), à 97 % par COURROUBLE & *al.* (2003) et 98,5 % par LEVASSEUR (2003). La posologie de 18 mg / kg sans DMA ou administrée deux fois à trois jours d'intervalle réduit le nombre d'œufs dans les matières fécales de 99,5 % (ALZIEU, BERGEAUD & DORCHIES, 1999 ; COURROUBLE & *al.*, 2003).

Certains auteurs mesurent également l'efficacité selon le pourcentage d'animaux restés positifs après le traitement. A la dose de 10 mg / kg, 0 à 50 % de bovins infestés par *Paramphistomum microbothrium* sont restés positifs (GEORGIEV & GRUEV, 1979). COURROUBLE & *al.* (2003) constatent que le nombre d'animaux positifs après l'administration de 18,7 mg / kg d'oxyclozanide, sans respect de la DMA, est plus faible (5,6 à 11,1 %) par rapport à l'administration de 10,2 mg / kg, également sans respect de la DMA (22,2 à 50 %).

Le dénombrement des parasites à l'autopsie entre lot traité et lot témoin montre une meilleure action de l'oxyclozanide lorsqu'il est administré à la posologie de 18,7 mg / kg renouvelée trois jours plus tard, et ce à la fois sur les formes adultes et les formes immatures. En effet, les efficacités contre les formes adultes et contre les formes immatures sont respectivement de 87,5 % et 85 % pour une dose de 15 mg / kg (CORBA & *al.*, 1976 - cités par ROLFE & BORAY, 1987), de 50 à 96,1 % et 56,5 à 98,1% pour une dose unique de 18,7 mg / kg et de 99,9 à 100 % et 100 % lorsque cette même dose est renouvelée (ROLFE & BORAY, 1987).

Ainsi, la dose 10,2 mg / kg sans respect de la DMA semble suffisante pour contrôler la maladie. Mais, pour atteindre les formes immatures et obtenir une diminution plus importante de la pression parasitaire, une posologie plus élevée de 18,7 mg / kg est nécessaire. Son renouvellement semble permettre une élimination totale des parasites tant adultes qu'immatures. Il faut cependant prendre en compte le délai d'attente qui ne permet pas de traiter les femelles en lactation à une posologie supérieure à 15 mg / kg (MAGE, 2001). Notons également que l'oxyclozanide présente une certaine toxicité. On constate en effet une diarrhée transitoire, mais parfois importante, suite à l'administration de 18,7 mg/ kg d'oxyclozanide. Cette diarrhée peut aggraver l'état des animaux atteints de paramphistomose pré-imaginale aiguë (DORCHIES & *al.*, 2002 a et b).

Cette molécule est disponible en France.

V.2.1.4. Divers

L'hexachlorophène utilisé à la dose de 20 mg / kg, associé à 15 mg / kg de bithional, permet l'élimination de la presque totalité des paramphistomes, adultes et immatures (ROLFE & BORAY, 1987). Il présente cependant une certaine toxicité chez les bovins. BOSMAN & *al.* (1961 - cités par EUZEBY, 1975) proposent de l'éviter en employant une dose plus faible (10 mg / kg) dont ils estiment que l'efficacité sur la diminution de l'excrétion d'œufs dans les fèces est convenable.

L'albendazole, antiparasitaire à la fois strongylicide et fasciolicide, présente une activité extrêmement variable. MAGE & REYNAL (1990) observent une efficacité nulle à la posologie de 7,5 mg / kg, ou très faible (9 % de réduction de l'excrétion fécale d'œufs) à la dose de 10 mg / kg. A 15 mg / kg, l'efficacité constatée sur la diminution du nombre d'œufs excrétés est de 82 à 85,40 % mais elle n'est que transitoire et tous les animaux restent excréteurs (MOHAPATRA, MISRA & RAO, 1990; DAS & *al.*, 1990).

MOHAPATRA, MISRA & RAO (1990) et MAGE & REYNAL (1990) ont étudié l'efficacité du thiophanate chez les bovins dans les conditions expérimentales. Ils l'expriment en calculant le pourcentage de réduction d'œufs excrétés dans les fèces avant et après traitement. Ils observent alors respectivement une efficacité de 95,25 % dès la septième semaine suivant l'administration de 10 mg / kg de thiophanate et de seulement 24,5 % 28 jours après administration de 6 mg / kg.

Le tableau XXIX regroupe les données présentées ci-dessus. Il est complété avec d'autres antiparasitaires qui ont fait l'objet de peu d'expérimentation.

De cette énumération se dégagent plusieurs constatations. D'une part, la comparaison des résultats obtenus dans des études différentes est difficile. En effet, les critères d'efficacité et les posologies utilisées pour un même principe actif diffèrent selon les auteurs. D'autre part, nous pouvons constater que la palette de composés actifs est très restreinte. De plus, des médicaments actifs sur les formes immatures ne sont pas toujours efficaces contre les formes adultes ou bien à d'autres posologies, et réciproquement. Ceci rend difficile la gestion du traitement. Enfin, pour lutter contre les paramphistomes, il est souvent nécessaire d'utiliser ces composés hors A.M.M..

Le traitement des paramphistomoses gastroduodénales bovines souffre d'un arsenal thérapeutique réduit, et ce d'autant plus que le bithionol et le bithionoloxide ont été supprimés du marché. L'efficacité des composés disponibles varie selon différents paramètres tels que le stade des parasites et la posologie, ce qui rend sa mise en place difficile. De plus le triclabendazole, traitement de choix de la fasciolose pré-imaginale et imaginaire, n'est pas efficace vis-à-vis des paramphistomes.

| Principe actif | Dose mg / kg | Efficacité (%) | | | % d'animaux parasités après traitement | Effets secondaires | Référence | | | |
|----------------|-----------------|---|----------|-------------------|--|--|--|--|--|--|
| | | Formes immatures | | Formes adultes | | | | | | |
| | | Duodénum | Abomasum | | | | | | | |
| Bithionol | 25 | | | (100) | - | Réaction intestinale avec diarrhée Photo sensibilisation <i>(Suppression du marché)</i> | GUILHON & GRABER (1962) | | | |
| | 20 | + hexa chlorophène | | +++ | - | | TEUSCHER & <i>al.</i> (1965)* | | | |
| | 7 | 2 fois à [10j] | | +++ | - | | NIKITIN (1972) | | | |
| | ≥ 70 | 2 fois | +++ | - | ++ | | MEREMINSKII & GLUZMAN (1968)** FEDORCHENKO (1966)* VASILEV (1967 ; 1970)* | | | |
| | 25 | | 99,9 | - | - | | HORAK (1965)** | | | |
| | 35 | | 100 | - | - | | HORAK (1965)** | | | |
| | 40 | + thiabendazole ou tartrate de morantel | | - | 93-100 | | GUILHON & <i>al.</i> (1979) | | | |
| Bithionoloxyde | 40 | avec DMA (200 ml) vache | | - | (95-97,7) | Ramollissement des fèces voire diarrhée transitoire <i>(Suppression du marché)</i> | MAGE & <i>al.</i> (1997) | | | |
| | 40 | avec DMA (200 ml) génisse | | - | (99,5-100) | | MAGE & <i>al.</i> (1997) | | | |
| | 40 | sans DMA | | | (96,6-100) | | MAGE & <i>al.</i> (1997) | | | |
| | 40 | sans DMA | | | (98) | | COURROUBLE & <i>al.</i> (2003) | | | |
| | 32 | avec DMA | | | (70-93) | | MAGE & <i>al.</i> (1990) | | | |
| | 60 | | | | 99 (FI + FA) | | GRABER & <i>al.</i> (1990) | | | |
| | 65 | | 100 | - | 100 | | | | | |
| Résorantel | 65 | | 62,7 | - | 100 | Inappétence Diarrhée transitoire <i>(Non disponible)</i> | OGUZ (1971) | | | |
| | 65 | | | | 100 | | GAENSSLER (1974)*** | | | |
| | 65 | | | | 100 | | ROMANIUK (1974)**** | | | |
| | 65 | | | | 60-100 | | WIKERHAUSER & <i>al.</i> (1975) | | | |
| Niclosamide | 100 | | 96,4 | | 0 | <i>(Disponible)</i> | HORAK (1964)** | | | |
| | 160 | dose unique | 91,1 | | 0 | | ROLFE & BORAY (1987) | | | |
| | 160 | 2 fois à [3j] | 92,6 | 32,8 | 27,4 | | ROLFE & BORAY (1987) | | | |
| Thiophanate | 10 | | | | (95,25) | | MOHAPATRA & <i>al.</i> ; (1990) | | | |
| | 6 | | | | (24,5) | | MOHAPATRA & <i>al.</i> (1990) | | | |

| | | | | | | | | |
|----------------------------|--------|-------------------------------|---------|---------|-----------|----------|---|---|
| Clioxanide | ? | | | | 90 | | | CHHABRA & BALI (1976)*** |
| Trichlorfon | 100 | | | | +++ | | | VISNJAKOV & IVANOV (1964)*** |
| Oxyclozanide | 15 | | | | 100 | | Diarrhée transitoire à 18,7 mg / kg Délai attente lait (Disponible) | CHHABRA & BALI (1976)*** |
| | 10,2 | avec DMA (100 ml) | | | (12) | | | MAGE & REYNAL (1990) |
| | 10,2 | avec DMA (100 ml) | | | (15) | | | ALZIEU & <i>al.</i> (1999) |
| | 10,2 | sans DMA | | | (94) | | | ALZIEU & <i>al.</i> (1999) |
| | 10,2 | sans DMA | | | (97) | 22,5-50 | | COURROUBLE & <i>al.</i> (2003) |
| | 15 | + levamisole | 85 | | 87,5 | | | CORBA & <i>al.</i> (1976) |
| | 18,7 | + levamisole | 61-96,1 | 50-92,6 | 56,5-98,1 | | | ROLFE & BORAY (1987) |
| | 18,7 | sans DMA | | | (99,5) | 5,6-11,1 | | COURROUBLE & <i>al.</i> (2003) |
| | 18,7 | 2 fois à [3j] | | | (99,5) | | | ALZIEU & <i>al.</i> (1999) |
| | 18,7 | + levamisole 2 fois à [3j] | 99,9 | 100 | 100 | | | ROLFE & BORAY (1987) |
| Hexachlorophène | 20 | + 15 mg/kg de bithional | | | ++ | | | TEUSCHER & BERGER (1965)*** |
| | 20 | | 99,5 | 100 | 100 | | | ROLFE & BORAY (1987) |
| | 10-15 | | | | (++) | | | BOSMAN & <i>al.</i> (1961)*** |
| | 6,5-10 | | (++) | | + | | | BINDUMADHAU (1980)*** |
| Albendazole | 7,5 | | | | (0) | | | MAGE & REYNAL (1990) |
| | 9 | | | | (9) | | | MAGE & REYNAL (1990) |
| | 15 | | | | (82-85,5) | 100 | | MOHAPATRA & <i>al.</i> ; (1990) DAS (1990) |
| Tetrachloro difluoroéthane | 50-100 | | | | 99,6-100 | | | HORAK (1964)* |

Tableau XXIX : Principaux antiparasitaires utilisés pour lutter contre les paramphistomes : posologie et efficacité

(DMA = Dose Maximale Autorisée ; 90 = % de réduction de la charge parasitaire ; (90), (+) = % évalué par coproscopie ; + = faible ; ++ = moyenne ; +++ = élevée ; * = cité(s) par EUZEBY (1975) ; ** = cité(s) par HORAK (1971) ; *** = cité(s) par ROLFE & BORAY (1987) ; **** = cité(s) par POSTAL (1984))

V.2.2. Modalités du traitement

Le choix de l'antiparasitaire dépend du stade contre lequel la lutte est envisagée ainsi que de l'action attendue, curative ou préventive. Contre les formes immatures, il sera préférable d'utiliser un produit à base de niclosamide. L'oxy clozanide pourra aussi être envisagé s'il est administré à la posologie de 18,7 mg / kg deux fois à trois jours d'intervalle. Il conviendra de retirer les animaux des pâtures contaminées avant l'administration du traitement. Contre les formes adultes, le produit employé sera à base d'oxy clozanide. Deux interventions sont conseillées pour une meilleure efficacité : un traitement avant l'entrée à l'étable avec un composé actif sur les formes immatures et un traitement dirigé contre les formes adultes avant la mise à l'herbe puisque la maturation des parasites est assez tardive en cours d'hiver (ABROUS, RONDELAUD & DREYFUSS, 1997 ; DORCHIES, 1998). Rappelons que l'action préventive doit concerner l'ensemble des animaux.

Enfin, les animaux sont généralement atteints de polyparasitisme. Il sera donc intéressant de recourir à des composés ou des associations à large spectre.

V.3. Prophylaxie

La prophylaxie correspond à l'ensemble des mesures médicales et hygiéniques visant à prévenir l'apparition d'une maladie, à en limiter le développement et à en assurer la disparition. Elle a donc pour objectif de maîtriser voire d'éradiquer une maladie. Dans le cas des paramphistomoses gastroduodénales bovines, la prophylaxie comprendra des mesures intervenant sur les différents maillons du cycle évolutif des parasites à savoir le milieu extérieur, l'hôte définitif et l'hôte intermédiaire, l'objectif étant d'interrompre ce cycle. Ces mesures seront de nature différente selon le milieu dans lequel elles sont appliquées, les mesures défensives étant mises en place en milieu sain et les mesures offensives en milieu contaminé.

V.3.1. Mesures défensives

Les mesures défensives visent à éviter le contact entre animaux non infestés évoluant dans un milieu sain et les sources de parasites. Comme nous l'avons vu lors du chapitre sur l'épidémiologie descriptive, celles-ci sont représentées par les animaux porteurs de paramphistomes qui excrètent des œufs dans leurs fèces. Il est alors aisément compréhensible que toute introduction d'animaux, qu'elle soit temporaire ou définitive, devra s'accompagner de mesures de précaution. Une quarantaine devra être imposée aux animaux nouvellement introduits au cours de laquelle ils seront soumis à des examens coproscopiques afin de déterminer leur statut vis-à-vis des

paramphistomoses gastroduodénales, puis traités en conséquence. Une durée d'une semaine est suffisante en ce qui concerne les helminthoses gastro-intestinales (EUZEBY, 1978), durée qui n'excède pas celles qui doivent être appliquées dans le cadre des maladies infectieuses. Cette mesure devra être appliquée aux bovins mais également à tout ruminant domestique puisque certaines espèces du genre *Paramphistomum* peuvent se développer chez des hôtes définitifs d'espèces différentes.

D'autres sources plus insidieuses doivent également être prises en compte. Les métacercaires peuvent en effet être véhiculées par les cours d'eau et le territoire des mollusques hôtes intermédiaires peut s'étendre en cas d'inondations. De plus, les animaux sauvages constituent un risque soit parce qu'ils sont porteurs de paramphistomes (ruminants) soit parce qu'ils jouent le rôle de porteurs mécaniques tels que les oiseaux migrateurs (FONTENEAU, 1979 a). Face à ces dangers éventuels, l'éleveur pourra prohiber les zones potentiellement à risque lors de fortes pluies et effectuer un traitement chimiopréventif. L'immunité vaccinale vue précédemment pourrait trouver ici une bonne application.

V.3.2. Mesures offensives

Ces mesures ont pour but l'élimination des parasites en agissant sur les trois maillons du cycle évolutif des parasites en milieu contaminé.

Un traitement adulticide annuel limitera la contamination des parcours en diminuant le nombre d'œufs excrétés dans le milieu extérieur. Nous ne reviendrons pas sur la stratégie thérapeutique déjà mentionnée plus haut. Signalons toutefois que si les fèces sont utilisées comme engrais, elles devront subir un assainissement avant épandage. Celui-ci consiste en leur récolte pendant 4 à 5 jours après le traitement et leur stérilisation par enfouissement au cœur d'un tas de fumier en fermentation (EUZEBY, 1975).

La prophylaxie offensive des paramphistomoses gastroduodénales, comme pour la fasciolose, passe obligatoirement par la destruction des hôtes intermédiaires ou tout du moins leur éloignement. La réduction du nombre de gîtes des mollusques vecteurs s'obtient par différentes méthodes. Le choix de l'une ou l'autre est fonction de la surface à traiter.

L'assèchement s'effectuera par drainage dans les zones de grande superficie et par captage dans les zones de superficie plus faible. Cependant, ces techniques sont coûteuses et parfois difficiles à mettre en œuvre, notamment dans les prairies très marécageuses. Dans ce cas, il faudra interdire l'accès aux zones à risque au moyen de clôtures et mettre à la disposition des animaux des abreuvoirs alimentés en eau pure.

L'assainissement des pâtures peut aussi être obtenu grâce à des méthodes de lutte chimique ou biologique. Dans le premier cas, le choix du molluscicide dépendra également de l'étendue et de la nature de la surface à traiter (EUZEBY, 1978). Le sulfate de cuivre à la dose de 10 à 15 p.p.m. sera employé pour le traitement de petites zones pauvres en matière organique. De plus, d'après MUKHERJEE (1973 - cité par POSTAL, 1984), ce molluscicide présente une certaine toxicité pour les formes larvaires de paramphistomes. Les surfaces plus importantes peuvent être traitées à l'aide de pentachlorophénate de sodium à la dose de 5 p.p.m. ou de la niclosamide à la dose de 3 p.p.m. Cependant, ceci n'est jamais fait en pratique.

En ce qui concerne la lutte biologique, nous prendrons comme exemple *Lymnaea truncatula* pour laquelle des études ont été menées. La lutte biologique consiste en l'utilisation d'organismes vivants capables d'exercer une action nocive sur un animal donné. Dans le cas de la limnée tronquée, il s'agit de palmipèdes et de mollusques terrestres ou aquatiques (Tableau XXX) tel que *Zonitoides nitidus*, gastéropode prédateur actif de la limnée tronquée. XIMENES & al. (1993) ont comparé trois méthodes de lutte contre *L. truncatula*, associant ou non lutte chimique et biologique (Tableau XXXI). Les meilleurs résultats sont obtenus lorsqu'un traitement chimique est effectué au préalable de l'introduction de prédateurs.

Enfin, la prophylaxie offensive devra intégrer une gestion raisonnée des pâturages. En Australie, ROLFE & BORAY (1991), ayant constaté des niveaux d'infestation chez les bovins plus élevés en automne et en hiver, conseillent l'utilisation des prairies inondées uniquement pour le pâturage de printemps et de début d'été afin d'éviter les manifestations cliniques. Les légères infestations qui en résultent permettraient l'établissement de l'immunité de prémunition. Les pâturages pourront également être classés en fonction du niveau de risque. Celui-ci sera apprécié en fonction des données climatologiques (pluviométrie, température...) et des résultats de prospection malacologique. D'après ROLFE & BORAY (1991), la charge parasitaire chez les bovins peut être estimée selon la formule « $\log_{10}(1 + \text{charge parasitaire}) = 2,7334 + 1,886 \times \text{prévalence de l'infestation chez les mollusques}$ ». Ainsi, un taux de prévalence de 30 % chez les hôtes intermédiaires correspondrait à une charge parasitaire de 2 000 vers chez les animaux. Le taux de prévalence de l'infestation chez les mollusques est corrélé au niveau d'eau de leur habitat. Le niveau d'eau permet également de prévoir l'importance de la charge parasitaire : « $\log_{10}(1 + \text{charge parasitaire}) = 2,7780 + 0,142 \times \text{niveau d'eau en cm au bout de 8 semaines de pâture}$ ». Il ne sera ainsi pas nécessaire de traiter les animaux ayant pâtré en zone saine après vérification de leur statut indemne. Il est alors intéressant en élevage laitier de privilégier sur ces zones les femelles en lactation étant donné la difficulté, le coût et les délais d'attente du traitement (MAGE & CHAUVIN,

1997). Cette économie permettra un meilleur traitement des animaux évoluant dans les zones à risque.

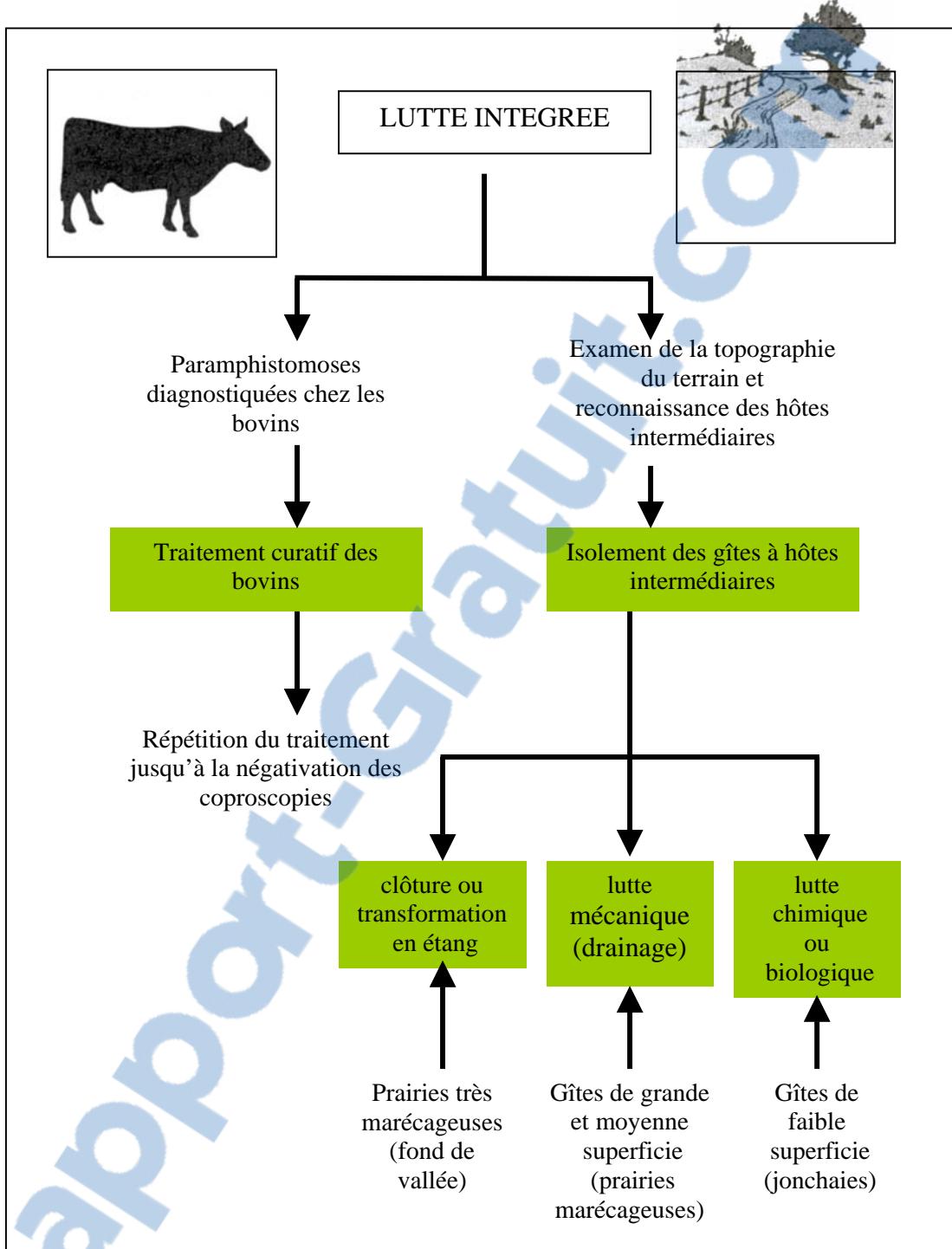
Comme pour la fasciolose, la prophylaxie offensive des paramphistomoses gastroduodénales bovines implique donc des mesures de chimioprophylaxie et des mesures de lutte contre les mollusques hôtes intermédiaires qui doivent être menées simultanément : certains auteurs parlent de lutte intégrée (Figure 40), concept qui donne de bons résultats dans le cadre de la fasciolose (XIMENES & al., 1993). Toutefois, ces mesures n'étant pas toujours mises en œuvre pour la fasciolose pourtant plus pathogène, des doutes peuvent être émis quant à leur application pour lutter contre les paramphistomoses gastroduodénales. De plus, FONTENEAU (1979 a et b) déplore l'absence de déclaration et d'information des observations faites à l'abattoir par les vétérinaires inspecteurs aux vétérinaires praticiens et aux éleveurs. Cette collaboration serait pourtant d'un grand intérêt pour une prophylaxie plus rapide et plus efficace.

| Nom scientifiques des prédateurs | Caractéristiques | Observations |
|---|---|---|
| <i>Zonitoides nitidus</i> (Zonitidae) animal terrestre | Coquille discoïde, aplatie Diamètre : 6-7 mm Animal noir luisant | Prédateur actif des limnées dans les conditions naturelles |
| <i>Oxychilus draparnaudi</i> (Zonitidae) animal terrestre | Coquille discoïde, aplatie Diamètre : 11-16 mm Animal gris-bleuté | <i>O. draparnaudi</i> peut être remplacée par des espèces appartenant aux genres <i>Oxychilus</i> et <i>Aegopinella</i> |
| <i>Physa acuta</i> (Physidae) espèce aquatique | Coquille globuleuse, à ouverture senestre Hauteur : 17 mm Animal gris ou noir | Prédateur accessoire de la Limnée tronquée dans les habitats immersés |

Tableau XXX : Principales caractéristiques des trois espèces de mollusques utilisées par XIMENES & al. (1993) comme agents de lutte biologique dans le contrôle de *Lymnaea truncatula*.

| Technique | Caractéristiques du traitement chimique | Caractéristique du traitement biologique | Nombre de prédateurs par m² de gîte à limnée |
|--|--|--|--|
| Méthode | | | |
| Lutte biologique avec milieu naturel modifié | Pas de traitement chimique préalable | Fauche de la végétation hygrophile et dépôt de celle-ci sur les habitats en juin-juillet afin de conserver l'humidité Introduction des prédateurs ou non selon le type d'habitat | 16 <i>Zonitoides nitidus</i> + 4 <i>Oxychilus draparnaudi</i> |
| Lutte biologique avec milieu naturel non modifié | Pas de traitement chimique préalable | Pas de fauche du milieu naturel Introduction des prédateurs | 48 <i>Zonitoides nitidus</i> + 12 <i>Oxychilus draparnaudi</i> + 10 <i>Physa acuta</i> |
| Lutte chimique et biologique | Déversement de 8 litres de CuCl ₂ (à 0,1 mg/L) dans chaque station au printemps | Fauche de la végétation hygrophile et dépôt de celle-ci sur les habitats en juin ou juillet afin de conserver l'humidité Introduction des prédateurs ou non selon le type d'habitat | 20 <i>Zonitoides nitidus</i> |

Tableau XXXI : Description des trois méthodes de luttes utilisées par XIMENES & al. (1993) pour le contrôle de *Lymnaea truncatula*.



**Figure 40 : Concept de la lutte intégrée d'après XIMENES & al. (1993)
adapté aux paramphistomoses.**

Les paramphistomoses gastroduodénales sont donc des maladies parasitaires, à caractère saisonnier, dues à des trématodes de la famille des *Paramphistomidae*. Le cycle évolutif dixième de ces parasites fait intervenir comme hôtes intermédiaires une variété de mollusques gastéropodes inféodés aux milieux humides et des ruminants comme hôtes définitifs. Ces parasites ont une répartition mondiale. En France, la distribution de ces parasitoses est le fruit d'une diffusion progressive. Elles semblent s'étendre à l'heure actuelle à la majeure partie du pays. Seules trois espèces ont été identifiées de façon certaine sur le territoire français : *Paramphistomum ichikawai*, *P. leydeni* et *P. daubneyi*. Les deux premières se retrouvent essentiellement chez les petits ruminants et plus rarement chez les bovins au contraire de la troisième. *Paramphistomum microbothrium* serait également rencontrée (SEY, 1980). Une cinquième espèce, appartenant toujours au genre *Paramphistomum*, n'a pas encore été clairement identifiée. Cette identification fait appel à l'observation de coupes histologiques de parasites adultes et de la chétotaxie des formes larvaires. Elle reste cependant difficile, expliquant les nombreuses controverses de la taxinomie.

Le pouvoir pathogène de ces parasites a longtemps été considéré comme négligeable, notamment pour les formes adultes, certainement à cause des difficultés diagnostiques qui ne permettent que rarement de rattacher la symptomatologie à l'agent causal. Celui-ci s'exprime pourtant, particulièrement au stade immature, par un syndrome diarrhéique et une altération de l'état général des animaux infestés. Le pouvoir pathogène des formes adultes est plus discret et ne se manifeste cliniquement que lors de fortes infestations. Ces deux formes sont responsables, à plus ou moins long terme, de pertes directes et indirectes pouvant être assez importantes pour pénaliser la rentabilité des élevages bovins.

Les moyens de lutte sont limités en raison d'un arsenal thérapeutique réduit et des difficultés de lutte contre les hôtes intermédiaires dans le milieu extérieur. Cependant le risque « zéro » ne semble pas être souhaitable puisqu'il s'établit une immunité de prémunition suite à des contacts répétés avec de petites quantités de métacercaires.

L'extension des paramphistomoses gastroduodénales bovines en France, où elles sont encore méconnues, et l'importance de leurs répercussions économiques donnent donc toute sa légitimité à une étude sur ces parasitoses.

DEUXIEME PARTIE :
ENQUETE
EPIDEMIOLOGIQUE EN
CHAMPAGNE-ARDENNE

Les paramphistomoses gastroduodénales bovines sont des parasitoses de répartition mondiale, très fréquentes en pays tropicaux où leur taux de prévalence avoisine souvent les 50 %. En pays tempérés, il oscille entre 10 et 20 % et connaît des variations locales. En France, ces parasitoses, considérées comme pseudo-émergentes et extensives, ont un taux de prévalence moyen variant entre 1 et 30 % selon les départements, l'année et le type d'enquête.

Les méthodes diagnostiques et les moyens thérapeutiques et prophylactiques sont limités et difficilement applicables (donc peu appliqués), ce qui ne permet pas d'enrayer efficacement l'extension des paramphistomoses sur le territoire français. Or, outre la mortalité possible mais rare en pays tempérés, elles sont responsables de baisse de production entraînant des pertes économiques non négligeables pour les élevages tant allaitants que laitiers : animaux infestés devenant des non-valeurs économiques (DORCHIES & *al.*, 2002 b), perte de poids variant de 1,4 à 25 % (DENEV & *al.*, 1982 – cités par POSTAL, 1984), production laitière affectée qualitativement et quantitativement (SPENCE & *al.*, 1992 ; SPENCE, FRASER & CHANG, 1996), auxquelles s'ajoute le coût du traitement.

L'amélioration des moyens de détection et de lutte passe par une meilleure connaissance épidémiologique de ces maladies, notamment l'identification de facteurs de risque. Peu d'études sur le sujet ont été entreprises. A notre connaissance, aucun facteur de risque associé à la maladie n'a été clairement identifié mis à part ceux découlant du cycle biologique des parasites (pâturage, sols humides). Seules des variables potentiellement explicatives non vérifiées par une étude analytique, à savoir l'âge, le sexe et la race des animaux, ont été avancées suite à des enquêtes de type descriptif (D'SOUZA & *al.*, 1988; DORCHIES, 1998; SZMIDT-ADJIDE & *al.*, 2000). Cependant, ces enquêtes présentent des biais d'échantillonnage et aboutissent parfois à des résultats contradictoires comme c'est le cas pour l'âge (D'SOUZA & *al.*, 1988; DORCHIES, 1998; SZMIDT-ADJIDE & *al.*, 2000). De plus, seule l'association statistique entre le sexe et la maladie a été mesurée (SZMIDT-ADJIDE & *al.*).

d'informations : celles relatives à la maladie, qui nous intéressent, et celles d'ordre démographique qui déforment notre image de la maladie. Il convient donc d'identifier et d'éliminer ces perturbations d'ordre démographique par des méthodes d'ajustement afin d'observer la véritable image de la maladie.

Nous nous proposons d'appliquer ces recommandations épidémiologiques dans cette étude, commanditée par la FRGTV de Champagne-Ardenne et le laboratoire Schering-Plough Vétérinaire dans le but de sensibiliser les vétérinaires praticiens et les éleveurs de cette région à ces parasitoses et de leur fournir un arbre décisionnel pour une prescription raisonnée du traitement. Compte tenu des contraintes de temps et de moyens, notamment la nécessité d'un test de dépistage fiable dont la mise au point est développée en troisième partie, l'étude a été fragmentée. Ce travail se limite à l'enquête épidémiologique descriptive, visant à connaître l'importance et les facteurs conditionnant la distribution de cette parasitose en Champagne-Ardenne à l'automne 2002. Ses objectifs sont donc d'une part l'estimation des taux de prévalence instantanée bruts et spécifiques de ces parasitoses, d'autre part l'identification de leurs facteurs de variabilité et l'évaluation de leur association statistique avec ces maladies.

I. Matériels et méthodes

Cette enquête est une enquête épidémiologique de type descriptif. Elle s'est déroulée sur une période de 13 jours au cours des mois de novembre et décembre 2002. Son protocole a été conditionné par le seul moyen d'observation fiable existant à l'heure actuelle : l'examen nécropsique. En l'absence de toutes autres possibilités d'observation (absence de tests diagnostiques fiables et de signes cliniques évidents), il s'est donc avéré obligatoire de valoriser une situation déjà existante, à savoir l'abattoir.

I.1. Echantillonnage

I.1.1. Population cible

La population cible est représentée par l'ensemble des bovins ayant déjà effectué un séjour au pâturage et consommant du fourrage. Ceci entraîne donc l'exclusion des bovins de moins de huit mois, ou veaux de lait, abattus. Aucune difficulté n'a été rencontrée dans la détermination de l'appartenance ou non de l'animal à la population cible, d'une part parce que l'anatomie et le contenu des pré-estomacs sont caractéristiques, d'autre part parce que les veaux de lait sont abattus séparément des autres bovins.

I.1.2. Abattoirs

Les abattoirs susceptibles de s'approvisionner dans la région Champagne-Ardenne ont été définis comme étant les abattoirs de cette même région auxquels nous avons ajouté les abattoirs des départements de l'Aisne et du Nord qui en sont limitrophes. Ces abattoirs sont au nombre de treize (tableau XXXII). Parmi ces abattoirs, trois ont été retenus comme lieu d'observation sur la base de la faisabilité de l'enquête au sein de leurs locaux. Cette faisabilité tient compte de l'accord du directeur de chaque abattoir mais également de l'agencement de la triperie ainsi que du rythme et de l'ordre de tuerie qui devaient permettre l'examen et l'identification des pré-estomacs. Il s'agit des abattoirs BIGARD de Avesnes-sur-helpe (59), SOBEVIR de Rethel (08) et SOCADA de Charleville-Mézières (08) qui représentent respectivement 11,52 %, 5,81 % et 2,88 % du tonnage de viande annuel pour l'ensemble de la zone définie ci-dessus. Leurs caractéristiques sont présentées dans le tableau XXXIII.

| Département | Localité | Tonnage de viande annuel |
|------------------|-----------------------------|--------------------------|
| Ardennes (08) | Rethel | 5 550 |
| | Charleville-Mézières | 2 750 |
| Marne (51) | Reims | 16 050 |
| | Vitry-le-François | 16 850 |
| Aube (10) | Troyes | 2 450 |
| Haute-Marne (52) | Chaumont | 2 850 |
| Nord (59) | Douai | 7 700 |
| | Valenciennes | 5 200 |
| | Avesnes-sur-Helpe | 11 000 |
| Aisne (02) | St Quentin | 7 300 |
| | Le Nouvion-en-Thiérache | 13 200 |
| | Hirson | 900 |
| | Laon | 3 700 |
| Total | | 95 500 |

Tableau XXXII: Présentation des abattoirs susceptibles de s'approvisionner dans la région Champagne-Ardenne et leur tonnage de viande annuel respectif.

| Abattoirs | Jours de tuerie | Nombre moyen de bovins de plus de 8 mois abattus par semaine | Type de bovins abattus | Tva | % du tonnage dans l'ensemble de la région |
|--------------------------------|--|--|--|--------|---|
| SOCADA Charleville-Mézières | Mardi Jeudi | 70 à 80 | essentiellement de jeunes animaux de boucherie | 2 750 | 2,88 % |
| SOBEVIR Rethel | Lundi Mardi* Mercredi Vendredi* | 200 à 250 | essentiellement de jeunes animaux de boucherie | 5 550 | 5,81 % |
| BIGARD Avesnes-sur-Helpe | Lundi Mardi Mercredi Vendredi | 900 | essentiellement des animaux de réforme | 11 000 | 11,52 % |

* jours de tuerie principaux

Tableau XXXIII : Présentation des principales caractéristiques des trois abattoirs retenus comme lieux d'observation pour l'enquête (Tva = tonnage de viande annuel).

I.1.3. Taille de l'échantillon

Bien que descriptive, cette enquête ne visait pas seulement à estimer une prévalence, ce qui aurait nécessité un échantillon d'animaux réduit. En effet, une enquête similaire réalisée en 2001 en Lorraine à l'abattoir de Mirecourt sur 2 440 bovins (LOOCK, communication personnelle ; thèse vétérinaire parue en 2003) et une préenquête de deux jours, portant sur 277 animaux, ont révélé des taux de prévalence élevés : respectivement $29,34 \pm 1,84\%$ et $37,5 \pm 5,7\%$.

Le but étant d'obtenir une connaissance plus approfondie des divers facteurs associés permettant d'orienter la réflexion ultérieure sur un arbre décisionnel, la taille de l'échantillon devait nécessairement être plus importante, afin d'autoriser les analyses nécessaires exigeant des effectifs importants. Cet effectif en animaux devait être d'autant plus important que l'effectif de cheptels, qui constituent une unité épidémiologique importante en santé animale (TOMA & *al.*, 2001), ne pouvait être connu *qu'a posteriori* (observation en abattoir). Un nombre assez élevé d'animaux était donc également nécessaire afin d'optimiser le nombre final de cheptels de l'échantillon.

Ce sont des considérations pratiques (durée de prospection) qui ont limité la taille de notre échantillon à environ 1 300 animaux. Notre discussion devra établir si cette taille est suffisante.

I.1.4. Sélection des animaux

La représentativité de l'échantillon, paramètre conditionnant l'exactitude des résultats, est obtenue grâce au sondage aléatoire des unités épidémiologiques à partir de la population cible.

Ce type de sondage était impossible d'une part parce que l'enquête s'effectue en abattoir, d'autre part en raison de contraintes d'intendance nous obligeant à rassembler les jours d'observation et à ne pas dépasser une certaine durée d'enquête. Le seul tirage au sort possible a été celui de l'attribution des jours d'examen à chaque abattoir, tous les animaux abattus le jour de l'examen étant inclus dans l'échantillon. Mais cette attribution est elle-même limitée par des contraintes techniques qui sont les jours de tuerie et le nombre de têtes abattues par jour dans chaque abattoir à mettre en relation avec les contraintes d'intendance citées plus haut (observer le maximum d'animaux dans un minimum de temps).

I.2. Récolte des données

I.2.1. Examen des pré-estomacs

Nous entendons par pré-estomacs l'ensemble rumen-réseau, terme impropre puisque le feuillet n'est pas compris mais qui, nous pensons, facilitera la lecture.

L'examen des pré-estomacs était le seul examen possible, les intestins étant éliminés en tant que Matières à Risque Spécifiées (Arrêté du 17 mars 1992, modifié). Or, les parasites peuvent se trouver en localisation duodénale. Ce risque a été supposé nul car à cette période de l'année (milieu à fin d'automne), la migration rétrograde des formes immatures vers les pré-estomacs peut être considérée comme achevée (sauf en cas de très forte association où elle peut être différée...).

➤ Cadre de l'inspection

L'inspection des pré-estomacs a été réalisée dans la salle de triperie de chaque abattoir, attenante à la chaîne d'abattage. L'ensemble du tractus digestif des animaux abattus y est acheminé dans l'ordre de tuerie : après ouverture de la paroi abdominale et rupture des adhérences entre le tube digestif et le reste de la carcasse, opérations qui ont lieu sur la chaîne d'abattage, celui-ci tombe sur un tapis roulant qui aboutit à la triperie. L'avertissement par le personnel de la triperie d'un éventuel décalage entre l'ordre d'arrivée, correspondant à l'ordre de tuerie, et l'ordre d'ouverture des pré-estomacs permettait de rétablir cet ordre. Les rythmes d'abattage de chaque abattoir autorisaient un temps d'examen d'environ une minute par pré-estomac.

➤ Technique d'inspection

A l'arrivée dans le local de la triperie, le rumen et le réseau étaient séparés du reste du tractus digestif. Le personnel procédait ensuite à l'ouverture et à la vidange de ces organes. Ils étaient alors soumis à un examen visuel minutieux de leurs parois : soulèvement des papilles ruminales, écartement du maillage réticulaire et, au besoin, élimination du contenu digestif résiduel sous un filet d'eau. Cet examen concernait toutes les faces de ces organes avec une attention particulière au niveau des zones de localisation préférentielles des parasites : gouttière œsophagienne, ligne d'intersection entre le rumen et le réseau, pourtours des piliers et parois des culs de sac du rumen.

➤ Critères de mesure

Le statut parasitaire des animaux était déterminé en fonction de la présence ou de l'absence de paramphistomes dans leurs pré-estomacs.

Le niveau d'infestation a été évalué par une estimation visuelle qualitative réalisée sur un modèle inspiré de la grille de notation de propreté des vaches établies par l'INRA (FAYE & BARNOUIN, 1985 ; Annexe I) : l'appréciation de l'étendue et de la densité des colonies parasitaires, sur l'ensemble des parois puis au niveau des zones préférentielles précitées, permettait d'attribuer une note globale d'infestation sous-forme de croix. Ainsi, il a été convenu que une croix correspondait à une charge parasitaire d'une dizaine de parasites, deux croix équivalaient à une centaine de parasites et trois croix à plus de mille parasites. Plusieurs éventualités pouvaient être rencontrées. Par exemple, pour une note d'une croix, la dizaine de parasite pouvait être confinée au réseau, au pilier ou toute autre partie, ou bien disséminée sur l'ensemble des parois. Seule la note finale a été retenue, la répartition des parasites n'a pas été enregistrée. Ces mesures qualitatives du niveau d'infestation sont d'une moindre variabilité puisqu'elles ont été effectuées par une seule et même personne.

I.2.2. Données concernant les animaux de l'échantillon

Les listings quotidiens d'abattage édités sous format papier dans l'ordre de tuerie nous étaient remis après chaque journée d'observation.

Ces listings nous ont permis de connaître le numéro d'identification à dix chiffres, la race, la date de naissance, le sexe et la catégorie ainsi que des indications sur l'état de la carcasse (poids, classement selon la norme EUROPA et note d'engraissement) de la majorité des animaux dans chacun des abattoirs, mis à part les bovins abattus dans l'abattoir de Rethel pour le compte de la SOREDEX (seuls le numéro d'identification, le poids et le classement de la carcasse étaient alors délivrés). Le numéro du cheptel éleveur était indiqué pour la plupart des animaux abattus dans les établissements de Charleville-Mézières et d'Avesnes-sur-Helpe ; cette information ne figurait pas sur les listings de l'abattoir de Rethel.

Pour les animaux abattus dans l'abattoir de Rethel, le statut parasitaire vis-à-vis de *Fasciola hepatica* et de *Dicrocoelium lanceolatum*, établi sur la base des lésions observées à l'inspection hépatique, était communiqué par les services vétérinaires.

I.2.3. Données concernant les cheptels éleveurs des animaux de l'échantillon

Les informations relatives aux cheptels éleveurs des animaux de l'échantillon ont été obtenues par consultation des fichiers des Groupements de Défense Sanitaire (GDS) des départements de l'Aisne, des Ardennes et du Nord. Seuls ces départements ont été retenus pour

deux raisons. D'une part, il s'agit des départements de provenance de l'immense majorité des animaux observés. D'autres part, les directeurs de ces GDS ont accepté de nous recevoir et nous ont autorisé à effectuer nos recherches. La zone géographique de l'enquête a ainsi été redéfinie et délimitée à ces trois départements. Cette redéfinition a de plus été encouragée par les directeurs des GDS concernés, désireux d'avoir un retour de l'information.

La recherche informatique a été réalisée à partir des numéros de cheptels directement fournis par les listings d'abattage, sinon *via* le numéro d'identification de l'animal permettant de retrouver le numéro de son cheptel éleveur. Cette recherche nous a renseigné sur l'adresse du cheptel, son type de production (laitier, allaitant ou mixte), soit directement défini dans le fichier, soit déduit d'après les races des bovins présents, et sur le nombre moyen d'animaux présents pour l'année 2002.

I.3. Variables étudiées

L'unité épidémiologique n'a pas pu être clairement définie à partir des données de la littérature. Celle-ci fait état de l'existence d'une composante individuelle. Nous savons cependant qu'en santé animale, l'unité épidémiologique principale est le troupeau. Nous considérerons donc à la fois l'unité « Animal » et l'unité « Cheptel », en supposant qu'il n'y a qu'un seul troupeau par cheptel. Un cheptel était alors considéré comme infesté si au moins un animal observé de ce cheptel était infesté.

Le choix des variables étudiées découle des variables descriptives associées aux paramphistomoses gastroduodénales bovines mentionnées dans la littérature.

Nous envisagerons la zone géographique d'élevage compte tenu du fait que ces parasitoses sont des maladies de pâturage en zones humides. L'étude de cette variable nous a conduit à réaliser un travail cartographique étant donné que zones géographiques et zones administratives ne sont pas concordantes. Les limites des zones géographiques ont été tracées à partir des frontières communales afin de se placer au plus près de la réalité. Douze zones géographiques ont été identifiées (Figure 41) : le massif des Ardennes, l'Argonne, l'Avesnois, les Crêtes pré-ardennaises, le Hainaut, le Laonnois, le Soissonnais, le Tardenois, la Thiérache, le Vermandois, la Champagne crayeuse et la Flandre. Les dix premières zones géographiques ont une pluviométrie assez élevée et leur paysage présente des zones favorables au développement des paramphistomes, notamment les tourbières du massif des Ardennes et du Vermandois. D'après leur géographie, leur pluviométrie plus modérée et, surtout, leur pédologie, la Champagne crayeuse et la Flandre sont *a priori*

supposées être des zones à moindre risque. En effet, leur sous-sol, de nature respectivement crayeuse et sableuse, est perméable ce qui entraîne un assèchement du sol de surface.

Nous savons que la conduite d'élevage conditionne le contact entre les animaux et la forme infestante des parasites notamment la durée et la période de pâturage. Nous nous sommes donc intéressé à des variables caractérisant la conduite d'élevage qui sont le type de production du cheptel éleveur et la catégorie des animaux.

L'âge, la race et le sexe des animaux ayant été rapportés comme des facteurs associés à l'infestation par les paramphistomes dans la littérature, nous les avons également pris en compte. Cependant, l'âge et le sexe des animaux et leur catégorie sont des données redondantes. De même la race est une donnée peu pertinente et nous lui avons préféré le type de production du cheptel éleveur.

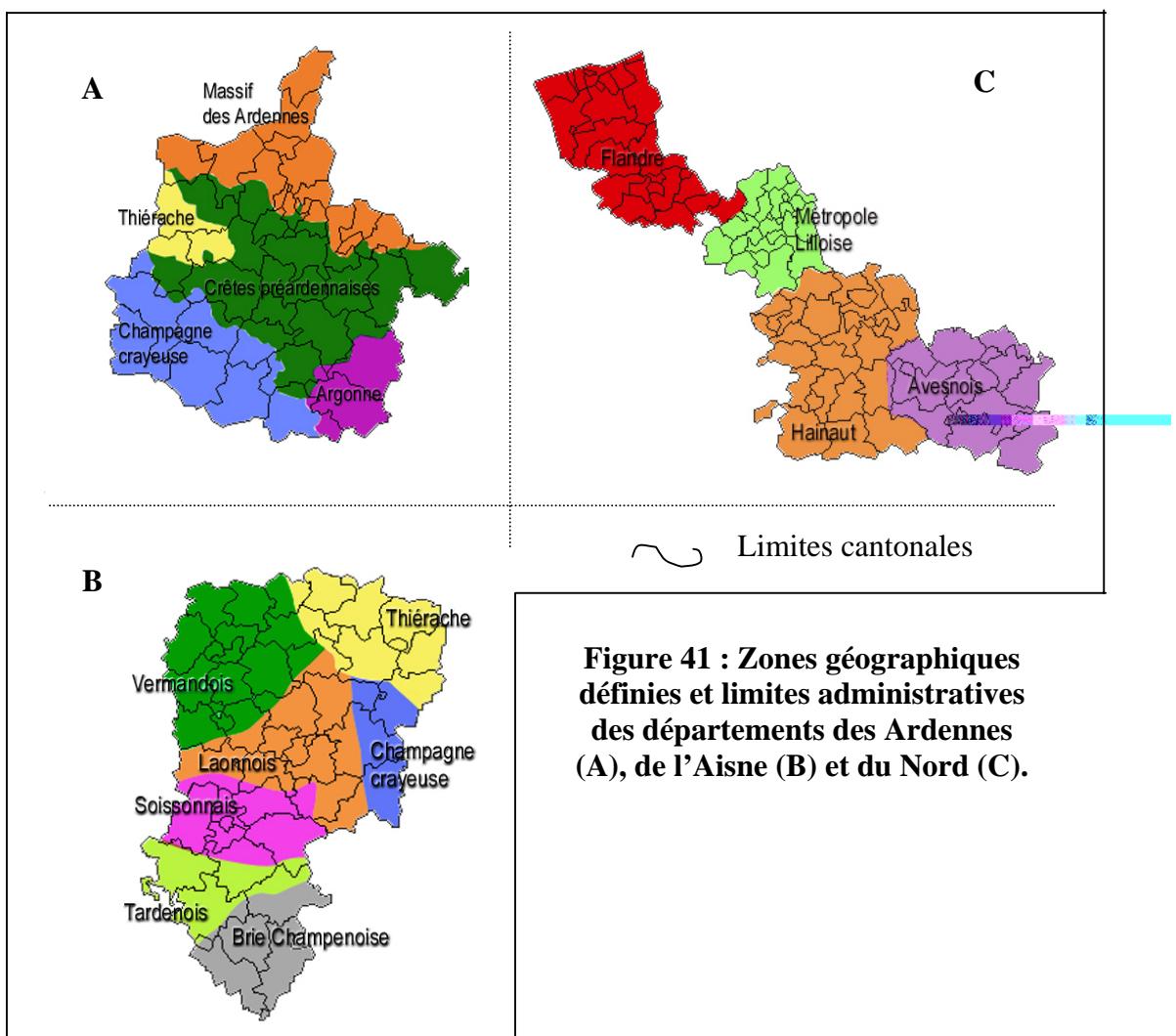


Figure 41 : Zones géographiques définies et limites administratives des départements des Ardennes (A), de l'Aisne (B) et du Nord (C).

Enfin, nous avons examiné la relation entre les paramphistomoses et deux autres parasitoses qui sont la fasciolose et la dicrocoeliose. La première est souvent concomitante de la paramphistomose, les parasites en cause ayant des cycles évolutifs très proches, inféodés au milieu aqueux. La seconde fait au contraire intervenir un parasite, *Dicrocoelium lanceolatum*, dont les hôtes intermédiaires (un gastéropode terrestre puis une fourmi) vivent dans un milieu extérieur sec. Il nous a donc semblé intéressant de voir si la présence de la première et l'absence de la seconde étaient des indicateurs de la présence des paramphistomoses.

I.4. Gestion des données

Etant donné la définition géographique de l'enquête, seuls les animaux issus de cheptels éleveurs situés dans les départements de l'Aisne, des Ardennes et du Nord ont été retenus pour l'analyse statistique ultérieure. Ont donc été exclus les animaux provenant de Belgique et ceux dont les cheptels éleveurs sont situés dans d'autres départements.

Toutes les données ont été codées et enregistrées à l'aide du logiciel Excel. Ces données ont été réparties en deux bases de données hiérarchisées et appariées deux à deux selon une variable identifiant le niveau hiérarchique supérieur : une première base, contenant les données sur les animaux, appariée selon la variable « numéro du cheptel éleveur » à une deuxième base contenant les données relatives aux cheptels éleveurs. Ces deux bases ont ensuite été importées et articulées dans le logiciel STATA.

La variable quantitative continue « âge » a été transformée en une variable qualitative à deux classes : une classe regroupant les animaux de 3 ans et moins, et une classe regroupant les animaux de plus de trois ans. La première classe correspond aux animaux jeunes n'ayant généralement effectué qu'une seule saison de pâture et dont l'éventuel contact avec les parasites constitue une primo-infestation. La deuxième regroupe des animaux ayant pu établir des contacts répétés avec les parasites et ainsi développer une immunité de prémunition contre leur installation.

La variable « race » a été scindée en trois classes correspondant au type racial des animaux : laitier, mixte ou viande.

En raison des trop faibles effectifs d'animaux appartenant à certaines catégories (baby ou taureau), ces dernières ont été regroupées avec la catégorie bœuf. La variable « catégorie » a donc compris trois modalités : vache, génisse et bœufs.

Les modalités de la variable « localisation géographique » ont également été regroupées. Dans un premier temps, les zones « Laonnois », « Soissonnais », « Tardenois » et « Vermandois »

ont été regroupées en une classe nommée « LSTV » en raison du trop faible effectif en animaux observés provenant de ces zones et de leur proximité géographique (zones limitrophes). Puis, suite à une mesure bivariée préalable de l'association statistique entre la localisation géographique et la maladie montrant des odds ratios équivalents pour certaines zones (Annexe II), d'autres regroupements ont été faits. Trois classes ont été créées : une classe regroupant les zones « Ardennes », « Avesnois », « Laonnois », « Soissonnais », « Tardenois », « Thiérache » et « Vermandois » nommée « AALSTTV », une classe regroupant les zones « Flandre » et « Hainaut » nommée « FH » et une classe regroupant les zones « Argonne », « Champagne » et « Crêtes pré-ardennaises » nommée « ACC ».

La variable « abattoir » a été identifiée comme

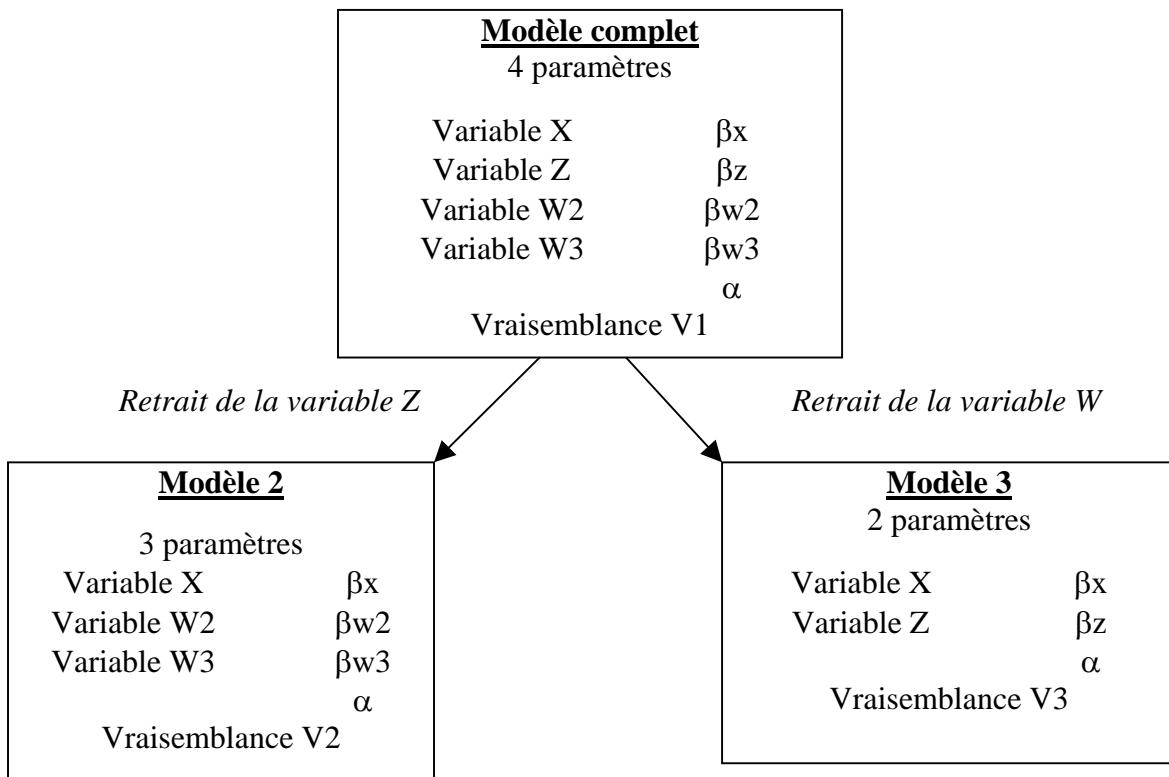
Rappelons qu'un odds ratio est le rapport de l'odds de la prévalence d'une maladie chez les exposés sur l'odds de la prévalence de la maladie chez les non exposés ($OR = (P_E / (1 - P_E)) / (P_N / (1 - P_N))$). Un OR égal à 2 signifie donc que chez les sujets exposés, l'odds de la prévalence est multiplié par 2, c'est à dire qu'il y a deux fois plus de malades par rapport aux non malades chez les sujets exposés que de malades par rapport aux non malades chez les sujets non exposés.

L'élaboration du modèle de régression logistique a compris deux étapes.

Dans un premier temps, nous avons procédé à une analyse bivariée afin de mesurer l'association entre la maladie et chaque variable individuellement. Les variables pour lesquelles le degré de signification était inférieur à 20 % ($p \leq 0,20$) ont été incluses dans le modèle complet. Cependant, quels que soient les résultats, il a été choisi de ne pas inclure l'âge et le sexe, redondants avec la catégorie, ni le type racial.

Soit Y la variable qualitative à deux classes à expliquer et X, Z et W les variables potentiellement explicatives où X et Z sont codées en 0 et 1 et W en 1, 2 et 3 avec :

$$\text{Logit } P = \alpha + \beta_x X + \beta_z Z + \beta_{w2} W_2 + \beta_{w3} W_3 \quad \text{où } P = P(Y=1 | X, Z, W_2, W_3)$$



$2 \ln(V1/V2)$ suit une loi du chi 2
à $4 - 3 = 1$ degré de liberté :
 \Rightarrow si $2 \ln(V1/V2) \geq \chi^2_{5\%}$ (1):
 rejet de H_0 : « $\beta_z = 0$ »
 avec un risque d'erreur de 5 %.

$2 \ln(V1/V3)$ suit une loi du chi 2
à $4 - 2 = 2$ degrés de liberté
 \Rightarrow si $2 \ln(V1/V2) \geq \chi^2_{25\%}$ (2):
 rejet de H_0 : « $\beta_{w2} = \beta_{w3} = 0$ »
 avec un risque d'erreur de 5 %.

Figure 42 : Schématisation de la deuxième étape de l'analyse statistique multivariée aboutissant au modèle final (BOUYER & al., 1996).

II. Résultats

II.1. Caractéristiques de l'échantillon

Sur les 1 522 bovins abattus au cours de la période d'observation, 1 449 ont pu être soumis à un examen de leurs pré-estomacs, les autres ayant fait l'objet de saisie, soit un taux de « non réponse » de 3,09 %. Parmi les 1 449 animaux dont les pances ont été observées, 1 289 entrent dans notre critère d'inclusion géographique à savoir la provenance d'un des départements suivants : Ardennes, Aisne ou Nord. Ces animaux appartenaient à 513 cheptels. Les caractéristiques des animaux et des cheptels de l'échantillon sont présentées dans les tableaux XXXIV et XXXV. Nous remarquons que des animaux appartenant au même cheptel éleveur ont été abattus dans des abattoirs différents. Deux cheptels éleveurs ont ainsi été comptés deux fois, certains de leurs animaux ayant été abattus chez BIGARD et d'autres chez SOCADA, d'où un total de cheptels pour la variable « abattoir » de 515 et non 513.

II.2. Prévalence de l'infestation par les paramphistomes

Sur les 1 289 pré-estomacs observés, 657 contenaient des paramphistomes, soit un taux de prévalence « animal » brut de $50,97 \pm 2,77\%$. Parmi ces animaux infestés, la fréquence du niveau d'infestation « + », comprise entre 53,5 et 61,2 %, est significativement supérieure à celle des autres niveaux (Test du chi 2 d'ajustement ; $p < 0,001$). Les taux de prévalence spécifiques « animal » en fonction de l'abattoir, de l'âge, de la catégorie, du type racial, du sexe, du type de production du cheptel éleveur, de la zone géographique et du statut parasitaire vis-à-vis de la fasciolose et de la dicrocoeliose sont présentés dans le tableau XXXIV. À titre d'exemple, le taux d'infestation par les paramphistomes parmi les animaux abattus dans l'abattoir BIGARD est compris, avec un risque d'erreur de 5 %, entre 36,5 et 43,2 % ($39,8 \pm 3,3$), tandis qu'il se situe entre 69,3 et 77,9 % ($73,8 \pm 4,3\%$) pour les animaux abattus dans les abattoirs SOBEVIR et SOCADA.

Parmi les 513 cheptels éleveurs, 337 avaient au moins un animal hébergeant des paramphistomes et étaient donc considérés comme infestés. Le taux de prévalence « cheptel » est donc de $65,7 \pm 4,1\%$. Les taux de prévalence spécifiques en fonction de l'abattoir, de la zone géographique et du type de production sont présentés dans le tableau XXXV. Ainsi, parmi les cheptels laitiers $64,5 \pm 8,0\%$ sont infestés par les paramphistomes tandis que $68,5 \pm 8,8\%$ des cheptels allaitants et $65,9 \pm 5,8\%$ des cheptels mixtes sont infestés.

Le nombre d'animaux observés par cheptel est faible (2 à 3 en moyenne) et ne permet pas d'entreprendre des analyses pour déterminer la situation intracheptel de l'infestation.

II.3. Facteurs de variabilité

L'analyse bivariée de l'association statistique entre la maladie et chaque variable prise individuellement a permis d'identifier 5 variables pertinentes associées aux paramphistomoses ($p \leq 0,20$) : l'abattoir, la catégorie, le type de production du cheptel éleveur, la zone géographique et le statut parasitaire vis-à-vis de *Dicrocoelium lanceolatum* (Tableau XXXVI).

Quatre variables ont été incluses dans le modèle complet général : l'abattoir, la catégorie des animaux, la zone géographique d'élevage et le type de production du cheptel éleveur.

La deuxième étape de l'analyse a abouti au modèle général final (tableau XXXVII), identique au modèle complet général, chacune des quatre variables étant significativement liée à la maladie (test du rapport de vraisemblance ; $p < 0,05$).

Les OR ajustés montrent que lorsque les animaux appartiennent à la catégorie « vache », l'odds de l'infestation des animaux par les paramphistomes est multiplié par 2 comparativement à la catégorie « bœuf » prise comme référence ($OR_{vache} = 2,06$; $p = 0,009$). L'appartenance à la catégorie « génisse » n'entraîne pas de façon significative d'augmentation de l'odds de l'infestation ($OR_{génisse} = 1,76$; $p = 0,093$).

Le fait pour les animaux d'être élevés dans la zone « Flandre et Hainaut » ($OR_{FH} = 2,18$; $p = 0,022$) et le fait d'être abattus dans les abattoirs SOBEVIR et SOCADA ($OR_{SOB-SOC} = 7,91$; $p < 0,001$) augmentent également l'odds de l'infestation.

La comparaison du modèle général final avec le même modèle sans prise en compte de l'effet élevage a démontré l'existence réelle d'une corrélation entre les observations faites sur des animaux appartenant au même cheptel et l'importance de la prise en compte de cette effet (test du rapport de vraisemblance ; $p < 0,001$).

L'analyse multivariée générale en fonction du niveau d'infestation n'a pas apporté d'informations supplémentaires, les facteurs de variabilité sont les mêmes pour chaque niveau d'infestation que ceux de l'analyse globale.

En plus des quatre variables incluses dans le modèle complet général, le statut parasitaire vis-à-vis de la dicrocoeliose a été ajouté au modèle complet spécial. La deuxième étape de l'analyse n'a mis en évidence aucune association statistique entre l'infestation par *D. lanceolatum* et les paramphistomoses (test du rapport de vraisemblance ; $p > 0,05$).

| Variables unité « animal » | | Observés n | (%) ^a | Infestés | TI ^b en % | IC ^c à 95 % |
|---|------------|---------------|------------------|----------|-------------------------|------------------------|
| Total animaux | | 1289 | | 657 | 50,97 | 48,20-53,73 |
| Animaux infestés* | NI « + » | | | 377 | 57,4 | 53,5-61,2 |
| | NI « ++ » | | | 163 | 24,8 | 21,6-28,3 |
| | NI « +++ » | | | 117 | 17,8 | 15,0-21,0 |
| Abattoir | BIGARD | 866 | (67,18) | 345 | 39,8 | 36,6-43,2 |
| | SOB-SOC | 423 | (32,82) | 312 | 73,8 | 69,3-77,9 |
| Age | ≤ 3 ans | 364 | (28,24) | 193 | 53,0 | 47,8-58,2 |
| | > 3 ans | 892 | (69,20) | 439 | 49,2 | 45,9-52,6 |
| | Inconnu | 33 | (2,56) | | | |
| Catégorie | Vache | 877 | (68,04) | 418 | 47,7 | 44,3-51,0 |
| | Génisse | 175 | (13,58) | 126 | 72,0 | 64,7-78,5 |
| | Bœuf | 237 | (18,39) | 113 | 47,7 | 41,2-54,2 |
| Type racial | Laitier | 803 | (62,30) | 349 | 43,5 | 40,0-47,0 |
| | Viande | 262 | (20,33) | 185 | 70,6 | 64,7-76,1 |
| | Mixte | 191 | (14,82) | 98 | 51,3 | 44,0-58,6 |
| | Inconnu | 33 | (2,56) | | | |
| Sexe | Femelle | 1054 | (81,77) | 544 | 51,61 | 48,55-54,67 |
| | Mâle | 228 | (17,69) | 109 | 47,8 | 41,2-54,5 |
| | Inconnu | 7 | (0,54) | | | |
| TPC | Laitier | 386 | (29,95) | 173 | 44,8 | 39,8-49,9 |
| | Viande | 229 | (17,77) | 155 | 67,7 | 61,2-73,7 |
| | Mixte | 647 | (50,19) | 320 | 49,5 | 45,5-53,4 |
| | Inconnu | 27 | (2,09) | | | |
| Zone géographique | AALSTTV | 773 | (59,97) | 319 | 41,3 | 37,8-44,8 |
| | FH | 109 | (8,46) | 59 | 54,1 | 44,3-63,7 |
| | ACC | 407 | (31,57) | 279 | 68,6 | 63,8-73,0 |
| Infestation par <i>Fasciola hepatica</i> | Oui | 36 | (2,79) | 29 | 81 | 64-92 |
| | Non | 299 | (23,20) | 224 | 74,9 | 69,6-79,7 |
| | Inconnue | 954 | (74,01) | | | |
| Infestation par <i>Dicrocoelium lanceolatum</i> | Oui | 16 | (1,24) | 8 | 50 | 25-75 |
| | Non | 319 | (24,75) | 245 | 76,8 | 71,8-81,3 |
| | Inconnue | 954 | (74,01) | | | |

Tableau XXXIV : Caractéristiques de l'échantillon et taux d'infestation par les paramphistomes, bruts et spécifiques : unité animal

(^a (%)) = % du nombre total d'animaux observés ; ^b TI= taux d'infestation ;

^c IC= intervalle de confiance de TI à 95 % ; NI = niveau d'infestation ; TPC = type de production du cheptel éleveur ; * : test du chi2 d'ajustement, p < 0,001).

| Variables unité « cheptel » | | Observés | | Infesté | TI ^b | IC ^c à 95 % |
|--------------------------------|---------|------------------|--------|---------|-----------------|------------------------|
| | n | (%) ^a | | | en % | |
| Total cheptels | 513 | | 337 | 65,7 | 61,4-69,8 | |
| Abattoir | BIGARD | 323 | (62,7) | 194 | 60,1 | 54,5-65,4 |
| | SOB-SOC | 192 | (37,3) | 144 | 75,0 | 68,3-81,0 |
| TPC | Laitier | 138 | (26,9) | 89 | 64,5 | 55,9-72,4 |
| | Viande | 108 | (21,1) | 74 | 68,5 | 58,9-77,1 |
| | Mixte | 261 | (50,9) | 172 | 65,9 | 59,8-71,6 |
| | Inconnu | 6 | (1,2) | | | |
| Zone géographique | AALSTTV | 276 | (53,8) | 171 | 62,0 | 55,9-67,7 |
| | FH | 26 | (5,1) | 18 | 69 | 48-86 |
| | ACC | 211 | (41,1) | 148 | 70,1 | 63,5-76,2 |

Tableau XXXV : Caractéristiques de l'échantillon et taux d'infestation par les paramphistomes, bruts et spécifiques : unité cheptel

^a (%) = % du nombre total de cheptels de l'échantillon ; ^b TI= taux d'infestation ;
^c IC= intervalle de confiance de TI à 95 % ; TPC = Type de production du cheptel éleveur).

| Variables | | OR | IC ^b à 95 % | p ^c |
|---|---------|------|------------------------|----------------|
| Abattoir | BIGARD | | | |
| | SOB-SOC | 4,24 | 3,26-5,53 | <0,001 |
| Age | ≤ 3 ans | | | |
| | > 3 ans | 0,86 | 0,67-1,10 | 0,221 |
| Catégorie | Vache | | | |
| | Génisse | 2,82 | 1,97-4,05 | <0,001 |
| | Bœuf | 1,00 | 0,75-1,33 | |
| Type racial | Laitier | | | |
| | Viande | 3,13 | 2,29-4,26 | <0,001 |
| | Mixte | 1,37 | 0,99-1,88 | |
| Sexe | Mâle | | | |
| | Femelle | 1,16 | 0,87-1,57 | 0,297 |
| TPC | Laitier | | | |
| | Viande | 2,58 | 1,82-3,66 | <0,001 |
| | Mixte | 1,20 | 0,94-1,55 | |
| Zone géographique | ALSTV | | | |
| | FH | 1,68 | 1,12-2,52 | <0,001 |
| | ACC | 3,10 | 2,39-4,03 | |
| Infestation par <i>Fasciola hepatica</i> | Oui | | | |
| | Non | 1,39 | 0,56-3,90 | 0,457 |
| Infestation par <i>Dicrocoelium lanceolatum</i> | Oui | | | |
| | Non | 0,30 | 0,10-0,96 | 0,031 |

Tableau XXXVI : Variables associées à l'infestation par les paramphistomes dans le modèle bivarié

(^a OR = odds ratio; ^b IC = intervalle de confiance de OR à 95 %;
^c p = degré de signification ; TPC = type de production du cheptel éleveur).

| Variable | β^a | OR^b | IC^c à 95 % | | p^d |
|------------------------------|-----------------------------|-----------------------|------------------------------|-------|----------------------|
| Catégorie Génisse | 0,5653 | 1,76 | 0,91 | 3,41 | 0,093 |
| Catégorie Vache | 0,7218 | 2,06 | 1,20 | 3,54 | 0,009 |
| Type de production Allaitant | 0,1517 | 1,16 | 0,60 | 2,27 | 0,656 |
| Type de production Mixte | 0,2130 | 1,24 | 0,78 | 1,96 | 0,363 |
| Zone « FH » | 0,7778 | 2,18 | 1,12 | 4,23 | 0,022 |
| Zone « ACC » | 0,1896 | 1,21 | 0,68 | 2,16 | 0,521 |
| Abattoir « SOB-SOC » | 2,0687 | 7,91 | 4,06 | 15,43 | < 0,001 |

Tableau XXXVII : Variables associées à l'infestation par les paramphistomes dans le modèle de régression logistique final

(^a β = coefficient estimé par la régression logistique ; ^b OR = Odds Ratio ($\ln \beta$) ;
^c IC = Intervalle de confiance de OR à 95 % ; ^d p = degré de signification).

III. Discussion

III.1. Echantillonnage

Notre enquête souffre d'un biais d'échantillonnage certain lié à l'obligation d'effectuer les observations en abattoir. En effet, tous les bovins n'ont pas la même probabilité d'être abattus. Il s'agit de la destinée « normale » de certains animaux tels que les jeunes bovins de boucherie ou les vaches réformées en fin de carrière, alors qu'elle est accidentelle pour d'autres (vache en milieu de carrière réformée suite à des problèmes de santé par exemple). L'abattage d'un animal μ à un temps τ dans un abattoir λ n'est pas le fruit du hasard mais celui d'une décision non aléatoire motivée par des raisons économiques. L'échantillon n'est donc pas représentatif de la population totale de bovins de plus de huit mois des trois départements concernés.

Nous n'avons pas pu vérifier s'il était représentatif de la population bovine de plus de huit mois abattue dans ces départements ou de la population bovine de plus de plus de huit mois abattue dans les trois abattoirs où ont eu lieu les observations, les caractéristiques de ces populations n'ayant pu nous être communiquées à temps. Cependant, le choix non aléatoire des abattoirs, mais conditionné par la faisabilité de l'enquête, et les contraintes rencontrées pour le tirage au sort des jours d'observation dans chaque abattoir ne sont pas en faveur d'un échantillon représentatif de l'une ou l'autre de ces populations. L'exactitude des résultats obtenus sur l'échantillon est donc mise en question et toute extrapolation nous paraît dangereuse.

Si notre étude s'était limitée à l'estimation d'une prévalence, la taille de l'échantillon aurait été suffisante. La précision obtenue est en effet satisfaisante : 5,43 % et 6,2 % pour les taux de prévalence bruts calculés respectivement pour l'unité « animal » et l'unité « cheptel ». Mais une telle précision n'était pas indispensable, l'intérêt du calcul de la prévalence étant simplement de montrer la présence et l'importance des paramphistomoses gastroduodénales bovines dans la région afin de sensibiliser les vétérinaires praticiens et les éleveurs. En revanche, cette taille s'avère plutôt faible pour permettre une analyse poussée de l'association statistique entre l'infestation et les différentes variables puisque des regroupements de zones géographiques, d'abattoirs et de catégories ont du être effectués. Les données concernant le statut parasitaire des animaux vis-à-vis de *Fasciola hepatica* et *Dicrocoelium lanceolatum* sont, elles, très insuffisantes.

III.2. Importance des paramphistomoses gastroduodénales bovines

Malgré ce biais d'échantillonnage, il ressort des résultats que les paramphistomoses gastroduodénales bovines sont présentes dans la zone comprenant les départements de l'Aisne, des Ardennes et du Nord. L'importance des taux de prévalence obtenus laisse penser que la pression d'infestation y est élevée, et ceci que l'on se place au niveau global ou au niveau de chaque strate des différentes variables étudiées. Dans une optique purement descriptive, une carte géographique de la prévalence de l'infestation aurait été un bon outil de communication visuel. Mais le biais d'échantillonnage n'autorisant aucune extrapolation des résultats obtenus avec notre échantillon, nous ne pouvons pas élaborer une telle carte.

Parmi les animaux infestés de notre échantillon, ceux hébergeant moins de cent paramphistomes dans leurs pré-estomacs sont significativement plus nombreux. Plusieurs explications sont possibles : soit il s'agit de primo-infestations après un premier contact avec des populations de paramphistomes réduites, dans ce cas il pourrait être envisagé que l'installation des paramphistomes est récente dans la région, soit les contacts étaient répétés mais les parasites ont été éliminés suite à un phénomène d'ipso-libération, à l'acquisition d'une immunité de prémunition ou à l'administration d'un traitement.

Il aurait été intéressant de caractériser la dynamique de l'infestation en comparant l'incidence de la maladie, calculée en divisant la prévalence par 5 (5 ans étant la durée moyenne de survie du parasite chez son hôte définitif en l'absence de traitement), en fonction de l'âge des animaux. Une incidence élevée chez les animaux jeunes puis stabilisée voire décroissante chez les animaux âgés aurait traduit une maladie en cours d'installation, tandis que l'absence de différence significative de l'incidence entre les classes d'âge aurait été en accord avec une maladie dont l'installation est déjà établie. En l'absence de sondage aléatoire, une telle analyse n'a pas pu être effectuée sur nos observations : toutes les classes d'âge n'étant pas représentées avec la même probabilité dans notre échantillon, les résultats auraient été faussés.

Par ailleurs, dans les conditions d'abattoir, la pression d'observation des animaux est différente d'un cheptel à l'autre. Il serait alors difficile de savoir si les résultats d'une analyse intracheptel reflèteraient réellement l'infestation ou bien les critères d'envoi des animaux à l'abattoir.

III.3. Facteurs de variabilité

Les résultats de l'analyse statistique soulignent l'importance de l'utilisation d'outils adéquats permettant la prise en compte de l'effet « troupeau ». En effet, non seulement certaines pratiques peuvent être spécifiques à chaque élevage, mais les animaux appartenant à un même troupeau partagent un certain nombre de facteurs (alimentation, environnement, technicité de l'éleveur) qui peuvent influencer la survenue de la maladie au sein de l'élevage. Les observations faites sur ces animaux ne peuvent donc pas être considérées comme indépendantes.

La différence des valeurs des odds ratios entre l'analyse bivariée et l'analyse multivariée montre la nécessité de ne pas limiter l'analyse à une mesure individuelle de l'association statistique entre chaque variable et la maladie. En effet, contrairement aux études expérimentales, l'environnement des animaux observés dans une enquête épidémiologique n'est pas contrôlé, les groupes ne sont pas strictement comparables, surtout dans une enquête purement descriptive. L'estimation de l'association entre le facteur étudié et la maladie peut être biaisée, masquée voire inversée, par la présence de facteurs de confusions. De plus, les maladies sont généralement multifactorielles et les différents facteurs n'agissent pas de façon simple mais peuvent interagir de façon synergique ou antagoniste.

Aucune association significative n'est observée entre l'infestation par les paramphistomes et l'infestation par *Fasciola hepatica* ou *Dicrocoelium lanceolatum*. Toutefois, le faible nombre d'observations pour ces deux variables peut être à l'origine d'un manque de puissance du test.

Contrairement aux autres travaux, aucune association significative n'est mise en évidence entre l'infestation par les paramphistomes et l'âge ou le sexe des animaux pris séparément. Par contre, une association statistique est mise en évidence entre l'infestation et la catégorie des animaux, définie selon leur âge et leur sexe.

Après ajustement sur les autres variables, les vaches semblent plus infestées par les paramphistomes que les bœufs ou les génisses. Il est probable que ces derniers soient maintenus plus longtemps en stabulation pour favoriser leur croissance et leur engrangement en vue de l'abattoir qui est leur destinée normale. Nous pouvons également supposer que les parcelles destinées à la pâture des vaches ne sont pas du même type que celles destinées aux génisses ou aux bœufs. Il serait intéressant d'étudier les différents types de pâtures utilisés pour chaque catégorie ainsi que leur période et leur durée d'utilisation.

Curieusement, par rapport aux autres zones, l'infestation semble plus importante dans la Flandre et le Hainaut alors que la nature du sous-sol de la Flandre laissait penser que le sol sec était

peu propice au développement des parasites. Toutefois, les zones géographiques considérées sont vastes et des micro-zones plus humides, telles que les bordures de cours d'eau, peuvent constituer des micro-niches écologiques favorables aux mollusques et aux parasites. Nous pouvons alors supposer que dans des zones au sol globalement sec, il se produit le même phénomène que lors de sécheresse modérée : les animaux sont concentrés autour des points d'eau où l'herbe est plus abondante et de meilleure qualité. Le risque de contact avec les formes infestantes est ainsi augmenté. Il conviendrait alors de réduire l'échelle géographique et d'étudier les caractéristiques des pâtures : sèches, inondables, marécageuses, bordées d'un cours d'eau.... .

La très forte association entre la maladie et les abattoirs SOBEVIR et SOCADA, qui persiste après ajustement sur la zone géographique, la catégorie et le type de production du cheptel, n'a pas de sens biologique. La variable abattoir masque un facteur associé à l'infestation non pris en compte dans notre étude. Pour identifier ce facteur, nous avons interrogé les abattoirs afin de savoir si le recrutement des animaux implique un critère autre que la catégorie et la proximité géographique. Il s'avère que ce recrutement n'est pas le fait des abattoirs eux-mêmes mais celui des marchands de bestiaux fournisseurs et des chevillards. Quel que soit l'abattoir, le critère est de nature commerciale : l'offre répond à la demande du marché. Ce critère, basé sur des considérations de conformation et d'engraissement des carcasses, ne peut pas expliquer une telle association, d'autant qu'il est identique aux trois abattoirs.

D'autres facteurs sont à rechercher au niveau des cheptels éleveurs, notamment la connaissance ou non du parasite, l'existence ou non d'un traitement systématique, la mise en place de mesures prophylactiques, conscientes ou inconscientes (mesures défensives contre la fasciolose efficaces contre les paramphistomoses) et, encore une fois, la nature des pâtures et leurs périodes et durées d'utilisation.

Pour étudier ces différents facteurs, il est nécessaire d'effectuer une étude de terrain directement auprès des cheptels. Les enquêtes en abattoirs limitent les informations disponibles. Le recueil de ces différents paramètres, relatifs à la conduite d'élevage spécifique à chaque cheptel, à partir de telles enquêtes serait en effet d'une durée et d'un coût prohibitifs. De plus, il est difficile à partir d'une carcasse de remonter dans le temps pour connaître dans quelles pâtures l'animal a évolué, quand et pendant combien de temps. Ceci demanderait un effort de mémoire considérable de la part de l'éleveur et serait certainement la source de nombreuses erreurs.

**TROISIEME PARTIE : MISE AU POINT
D'UN TEST E.L.I.S.A. POUR LA
DETECTION DE COPROANTIGENES
DE PARAMPHISTOMES**

Les enquêtes épidémiologiques sur les paramphistomoses gastroduodénales bovines sont confrontées à l'absence d'outil de dépistage fiable sur l'animal vivant.

La coproscopie microscopique, détectant les œufs de paramphistomes dans les fèces, est impossible au cours de la période prépatente. Au cours de la période patente, elle se heurte à la variabilité de la ponte des paramphistomes qui fluctue tout au long de la journée mais également selon l'âge et le nombre des parasites présents dans le rumen (HORAK, 1971 ; EUZEBY, 1975). Elle est également limitée par la similitude morphologique entre les œufs de *Fasciola hepatica* et les œufs de *Paramphistomum* sp. qui peut être une source de confusion pour des personnes peu expérimentées. Ces difficultés liées à la nature de l'élément parasitaire recherché conduisent à une forte proportion d'erreurs par défaut. De plus, aucune corrélation statistique entre le nombre d'œufs et la charge parasitaire n'a été mise en évidence à ce jour.

L'interprétation de la recherche d'anticorps sériques est délicate en raison du délai nécessaire pour la séroconversion, de la persistance des anticorps après l'élimination des parasites et de l'impossibilité de distinguer les animaux réellement infestés des animaux immunisés. De plus, les méthodes de sérodiagnostic étudiées pour le diagnostic des paramphistomoses gastroduodénales présentent une sensibilité et/ou une spécificité peu satisfaisantes (HORAK, 1967 ; HORAK, 1971 ; ALABAY, 1981 ; SINGH & al., 1983 ; JOLY, 1991).

Pourtant, vu l'importance de ces parasitoses en Champagne – Ardennes, des études plus approfondies méritent d'être entreprises pour vérifier les hypothèses de facteurs de risques émises lors de l'enquête descriptive afin d'élaborer l'arbre décisionnel pour le traitement. La détection d'antigènes parasitaires dans les fèces par la technique E.L.I.S.A. (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) qui a fait zymeles -ORA -1etechni8.66n,

I. Principe du test E.L.I.S.A. pour la détection de coproantigènes parasitaires

I.1. Principe du test

Le test E.L.I.S.A. est un test immunologique fondé sur la détection de complexes immuns par une réaction immuno-enzymatique. Ainsi, il permet la détection d'anticorps (Ac) ou d'antigènes (Ag). Son principe est semblable à celui de l'immunofluorescence excepté le conjugué qui fait intervenir non pas un composé fluorescent mais une enzyme. Les Ac et les Ag peuvent en effet être couplés à des enzymes tout en conservant leurs propriétés et leurs activités propres. De plus, ces conjugués sont stables et peuvent être entreposés pendant de longues périodes sans perdre de leur activité (KEMENY & CHANTLER, 1988). L'ajout du substrat chromogène de l'enzyme induira en sa présence une réaction colorée. Selon la technique employée, cette réaction révèle la présence ou l'absence de la molécule à détecter. Sa quantification est permise par la mesure de la densité optique au moyen d'un spectrophotomètre.

Le principe de ce test exploite également la capacité des molécules de nature protéique à s'adsorber à une phase solide. Cette adsorption peut être appliquée aux Ag et aux Ac sans affecter leur activité immunologique. La phase solide employée est une plaque de microtitration comportant un grand nombre de puits. Ces plaques sont d'une grande facilité de manipulation et permettent le traitement simultané de plusieurs échantillons.

Plusieurs variantes de cette technique existent : directe, indirecte, sandwich, compétitive, de blocage,... Dans la technique indirecte qui a été utilisée, l'Ag est adsorbé à la surface solide. Les sites restés libres après incubation sont saturés par une solution protéique. L'Ac de souris spécifique de l'Ag est ajouté. Le complexe immun ainsi formé est reconnu par un Ac anti-immunoglobuline G1 (Ig G1) de souris couplé à une enzyme. L'apparition d'une réaction colorée après l'ajout du substrat chromogène de l'enzyme indique la présence de l'Ag recherché dans l'échantillon testé. Chaque étape est suivie d'une incubation et d'un lavage de la surface solide pour éliminer le surplus de matériel non fixé.

Dans notre cas, les Ag recherchés sont les Ag présents dans les matières fécales ou coproantigènes (copro-Ag). En effet, étant donné la localisation digestive des paramphistomes, les Ag de ces parasites ne peuvent être détectés sur sérum. La possibilité de détection de copro-Ag parasitaires a été démontrée avec différentes techniques (BABOS, 1962 – cité par DEPLAZES & *al*, 1992 ; GREEN, 1986) et notamment par la technique E.L.I.S.A. (ALLAN & CRAIG, 1985 - cités par

ALLAN & *al.*, 1990). Depuis, de nombreux essais ont été entrepris avec cette technique pour la détection des Ag de divers parasites digestifs dans les fèces de leur hôte définitif, naturel ou expérimental.

I.2. Intérêts

I.2.1. Avantages par rapport aux autres tests de dépistage

Par rapport aux autres techniques de dépistage, la technique E.L.I.S.A. présente l'avantage d'autoriser le traitement simultané de très nombreux échantillons grâce à la nature de la phase solide employée. De plus, il s'agit d'une technique simple qui ne nécessite pas d'équipement lourd. Son automatisation et la lecture objective des résultats obtenus en font une technique adéquate au dépistage des maladies animales. De plus, la possibilité de transformation d'un grand nombre de molécules chromogènes en composés colorés par une seule enzyme lui confère une sensibilité élevée (KEMENY & CHANTLER, 1988).

Contrairement aux Ac sériques, les copro-Ag parasitaires sont les marqueurs d'une infestation effective. Leur détection par la technique E.L.I.S.A. est précoce : respectivement cinq et onze jours après l'infestation par *Echinococcus multilocularis* et *Taenia pisiformis* chez le chien (DEPLAZES & *al.*, 1990 ; ALLAN & *al.*, 1992). Leur disparition est rapide voire immédiate après l'élimination des parasites (ALLAN & *al.*, 1990 ; DEPLAZES & *al.*, 1990 ; DEPLAZES & *al.*, 1992).

Par ailleurs, cette méthode de diagnostic semble être spécifique de genre. Ceci a été montré notamment dans le diagnostic d'infestations par des parasites du genre *Taenia* par ALLAN & *al.* (1992) et DEPLAZES & *al.* (1992). Si une telle spécificité peut être obtenue pour le genre *Paramphistomum*, elle permettrait de pallier le risque de confusion des œufs de *Paramphistomum* sp. et de *Fasciola hepatica*.

Outre ces avantages, les valeurs de densité optique obtenues avec cette technique sont en étroite relation avec la charge parasitaire en ce qui concerne *Echinococcus multilocularis* chez le renard, *E. granulosus* chez le chien, *Fasciola hepatica* chez les bovins, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* et *Cryptosporidium* sp. chez l'homme (DEPLAZES & *al.*, 1992 ; CRAIG & *al.*, 1995 ; DUMENIGO & *al.*, 1996 ; HASSAN & *al.*, 2002).

I.3.2. Succès du test dans le dépistage d'autres parasitoses digestives

L'étude de ce test pour le diagnostic de protozooses, cestodes et trématodes chez l'homme, les carnivores, les animaux de laboratoires et les bovins montre qu'il présente des paramètres intrinsèques (sensibilité et spécificité) très satisfaisants, malgré une sensibilité souvent dépendante de la charge parasitaire. Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau XXXVIII qui indique également, lorsqu'ils sont mentionnés, le test de référence utilisé et les paramètres d'autres tests communément employés. A titre d'exemple, le test E.L.I.S.A. pour le diagnostic de la fasciolose chez les bovins a été évalué par DUMENIGO, ESPINO & FINLAY (1996). Ils ont utilisé des Ac monoclonaux de souris vaccinées avec des Ag d'excrétion-sécrétion (Ag E/S) de *Fasciola hepatica* comme Ac de capture. La sensibilité et la spécificité du test se sont avérées excellentes : 100 %. Des réactions positives ont été observées même pour des charges parasitaires aussi faibles que 5 parasites.

Le test E.L.I.S.A. pour la détection de copro-Ag parasitaires apparaît donc comme un outil utile et de bonne qualité dans le cadre du diagnostic et des programmes d'épidémiologie des parasitoses digestives. Il a d'ailleurs été adopté comme technique de routine pour la surveillance de l'échinococcose à *E. granulosus* dans de nombreux pays (EL-SHEHABI & al., 2000).

| Parasites | HD | Test de référence | Test E.L.I.S.A. Copro-Ag | | | Autres techniques | | | Références |
|------------------------------------|---------|---------------------------|--|---|------------|-------------------|--------|-------|--------------------------------|
| | | | Technique | Se | Sp | Technique | Se | Sp | |
| <i>Giardia duodenalis</i> | Homme | | Ac polyclonaux purifiés | 100 | 98 | Coproskopie | 50 | - | GREENN (1986) |
| | Homme | | Sérum de lapin | 96,15 | 93,48 | CIEP | 69 ,23 | 82,61 | ROMIA, ABOU-ZAKHAM & al., 1990 |
| | Homme | | E.L.I.S.A. sandwich Ac purifiés par chromatographie | 100 | 92,5 | | | | HASSAN & al. (2002) |
| <i>Entamoeba histolytica</i> | Homme | | | 100 | 87,5 | | | | |
| <i>Cryptosporidium sp.</i> | Homme | | | 96,6 | 95 | | | | |
| <i>Taenia solium</i> | Homme | Diagnostic thérapeutique | E.L.I.S.A. sandwich ; Ag somatiques ; Ac de lapin | 100 | 95,5 à 100 | | | | ALLAN & al. (1992) |
| | Hamster | Infestation expérimentale | E.L.I.S.A. sandwich ; Ag somatiques ; Ac de lapin | 100 | 100 | | | | ALLAN & al. (1990) |
| <i>Taenia pisiformis</i> | Chien | Infestation expérimentale | E.L.I.S.A. sandwich ; Ag somatiques ; Ac de lapin | 100 | 95,5 à 100 | Coproskopie | 26 | | ALLAN & al. (1992) |
| <i>Taenia saginata</i> | Homme | | E.L.I.S.A. sandwich ; Ag somatiques ; Ac de lapin | 85 | excellente | Coproskopie | 62 | | ALLAN & al. (1990) |
| | Homme | | E.L.I.S.A. sandwich ; Ag E/S ; Ac polyclonaux purifiés (lapin) | 85 | 95 | | | | DEPLAZES & al. (1991) |
| <i>Echinococcus multilocularis</i> | Renard | Diagnostic nécropsique | E.L.I.S.A. sandwich ; Ag E/S ; Ac polyclonaux purifiés (lapin) | 46 * (18 ^E ; 39 ^D ; 100 ^G) | 98 | | | | DEPLAZES & al. (1992) |

| | | | | | | | | | |
|--------------------------------|-----------------|---|--|-----------------------------|------------|----------------------|---------------|------------|---|
| <i>Echinococcus granulosus</i> | Chien | Infestation expérimentale | E.L.I.S.A. sandwich ; Ag somatiques ; Ac de lapin | 100 | 95,5 à 100 | | | | ALLAN & al. (1992) |
| | Dingo | Diagnostic nécropsique Infestation expérimentale | E.L.I.S.A. sandwich ; Ag E/S ; Ac polyclonaux (lapin) | 46 | 98 | | | | DEPLAZES & al. (1992) |
| | Chien | | | 56 | 98 | | | | |
| | Chien | Purgation à l'arécoline | E.L.I.S.A. sandwich ; Ag somatiques ; Ac purifiés (lapin) | 76,9 | | E.L.I.S.A. sur sérum | 34,6 | | CRAIG & al. (1995) |
| | Chien et renard | Diagnostic nécropsique | E.L.I.S.A. sandwich ; Ag somatiques ; Ac purifiés (lapin) | 61,5 * (87,5 ; 100~) | 91 | | | | EL-SHEHABI & al. (2000) |
| <i>Fasciola hepatica</i> | Bovin | Diagnostic nécropsique Infestation expérimentale | E.L.I.S.A. sandwich ; Ag E/S ; Ac monoclonaux (souris) | 100 | 100 | | | | DUMENIGO & al. (1996) |
| | Souris | | Ag somatiques Ac polyclonaux purifiés | 83,3 | | | | | MOUSTAFA, HEGAB & HASSAN, (1998) |
| | Rat | | | 75 | | | | | |
| | Lapin | | | 66,7 | | | | | |
| | Homme | | Ag E/S ; Ac monoclonaux (lapin) | 91,4 | 92.3 | EITB CIEP | 45,2 38 ,7 | 100 100 | ARAFA & al. (1999) |
| <i>Opistorchis viverrini</i> | | | E.L.I.S.A. sandwich ; Ag E/S ; Ac monoclonaux (souris et lapin) | 88,3 | excellente | | | | SIRISHINA & al. (1991, 1995 - cités par ILLA, 1998) |

Tableau XXXVIII : Paramètres intrinsèques du test E.L.I.S.A. pour la détection de coproantigènes parasitaires lors de son utilisation pour le diagnostic de différentes parasitoses digestives et comparaison avec d'autres tests

(CIEP = Counter ImmunoElectroPhoresis ; EITB = Enzyme-linked Immunoelectrotransfer Blot assay ;
HD = hôte définitif ; Se = sensibilité ; Sp = spécificité ; * = sensibilité globale ;
sensibilité pour une charge parasitaire :

II. Matériels et méthodes

Ce travail a été effectué en collaboration avec le laboratoire Schering–Plough Vétérinaire, la FRGTV de Champagne – Ardenne, les laboratoires de Parasitologie des Ecoles Nationales Vétérinaires de Toulouse et d'Alfort (ENVT et ENVA) et la SEPPIC, laboratoire de recherche rattaché à l'UMR BIPAR (Biologie moléculaire et Immunologie PARasitaires et fongiques).

Le laboratoire de Parasitologie de l'ENVT a réalisé des examens coproscopiques.

Le laboratoire de Parasitologie de l'ENVA a permis le stockage et la préparation des fèces destinées à la mise au point du test E.L.I.S.A.

La SEPPIC a mis à notre disposition le matériel et les réactifs nécessaires et nous a apporté son appui technique pour la mise au point du test E.L.I.S.A..

II.1. Obtention du matériel.

II.1.1. Prélèvements des fèces

Les prélèvements de matières fécales ont été effectués à partir de bovins abattus dans les abattoirs de Rethel (08) et de Beaunes (21) où l'aménagement des locaux permet l'examen simultané des pré-estomacs et l'accès à la portion intestinale du tube digestif avant son élimination.

Dans la mesure du possible, les matières fécales ont été prélevées au niveau de l'ampoule rectale afin de se placer dans les conditions de terrain. Toutefois, la mise à jeun des animaux avant abattage et le stress des animaux lors de la saignée, responsable d'une défécation, réduisent la quantité de fèces dans cette portion du tube digestif. De nombreux prélèvements ont dû être réalisés dans des portions plus antérieures, au niveau du colon.

Les prélèvements ont été effectués en double exemplaire à l'aide de pots à bouchon vissé d'une contenance de 50 mL. Cette quantité importante de matériel a pour but de pallier la dilution des fèces de ruminants. Un exemplaire de chaque échantillon de fèces était destiné à l'analyse coproscopique. Un deuxième exemplaire était destiné au test E.L.I.S.A. pour la détection de copro-Ag de paramphistomes. L'examen nécropsique des pré-estomacs des bovins inclus dans cette étude a été effectué selon la technique présentée dans l'étude épidémiologique. Brièvement, les pré-estomacs étaient ouverts et vidés de leur contenu. Les parois ruminale et réticulaire étaient inspectées avec soin et le niveau d'infestation a été estimé visuellement (« + » = une dizaine de parasites, « ++ » = une centaine de parasites et « +++ » = plus de 1 000 parasites).

Afin de calculer les paramètres intrinsèques des deux tests, deux lots ont été formés chacun divisé en sous-groupes.

Un lot témoin a été constitué avec des animaux reconnus non infestés de paramphistomes par l'examen visuel des pré-estomacs. Il était di

II.1.2. Obtention d'antigènes d'excrétion-sécrétion

SOULSBY (1994 - cité par PROUDMAN & TREES, 1996) évoque le besoin d'étudier les produits d'excrétion - sécrétion des parasites pour le développement de système de diagnostic plus précis. DEPLAZES & *al.* (1992) supposent que les Ag E/S sont libérés de façon plus constante que les Ag somatiques.

La comparaison de techniques utilisant soit des Ag somatiques soit des Ag E/S a montré que l'utilisation d'Ag E/S présente une meilleure sensibilité pour détecter les Ac dirigés contre *Taenia ovis* et *Echinococcus granulosus* chez le chien (YONG & HEATH, 1984 ; GASSER & *al.*, 1992 - cités par PROUDMAN & TREES, 1996).

Notre choix s'est donc orienté vers l'utilisation d'Ag E/S plutôt que d'Ag somatiques. De plus, les parasites du genre *Paramphistomum* sont de taille réduite. Il peut alors être supposé qu'une faible quantité d'Ag somatiques est libérée dans la lumière du tractus digestif. Cette libération doit avoir lieu principalement lors de la ponte ou de la mort des parasites. Au contraire, la production d'Ag E/S s'effectue pendant toute la durée de vie du ver comme le suggèrent PROUDMAN & TREES (1996) pour *Anoplocephala perfoliata*.

Pour obtenir ces Ag, une centaine de parasites a été prélevée après ouverture et vidange des pré-estomacs puis lavage de la muqueuse sous un filet d'eau froide.

Les parasites ont ensuite été placés dans 250 mL d'une solution PBS et d'eau stérile. Après dix minutes d'incubation, les parasites ont été passés au tamis et placés dans une solution identique. Au bout du même délai, les parasites ont à nouveau été passés au tamis puis placés dans 250 mL d'une solution antibiotique (solution PBS contenant 250 UI/mL de pénicilline et 200 µg/mL de streptomycine). Cette opération a été renouvelée une deuxième fois.

Les parasites lavés ont alors été mis à incuber à 37°C en étuve sèche dans 120 mL d'une solution PBS contenant 2,5 mg/mL de glucose, assurant leur nutrition, et 200 UI/mL de pénicilline et 200 µg/mL de streptomycine, empêchant le développement d'éventuelles colonies bactériennes. Le milieu a été récolté au bout de 6 et 24 heures d'incubation. Les parasites ont alors été fixés dans du formol en vue de leur identification. Etant donné l'aspect trouble, brun orangé, et floconneux du liquide après 24 heures d'incubation, seul le milieu recueilli après 6 heures d'incubation a été conservé.

Après centrifugation 10 minutes à 3000 tours par minutes, les surnageants ont été filtrés sur des membranes de porosité 0,45 µm puis 0,22 µm sous hotte à flux laminaire.

50 mL d'extrait antigénique ont alors été prélevés et concentrés environ 20 fois grâce à des systèmes sans contrainte MINICON® de la société MILLIPORE.

II.1.3. Dosage de la solution antigénique

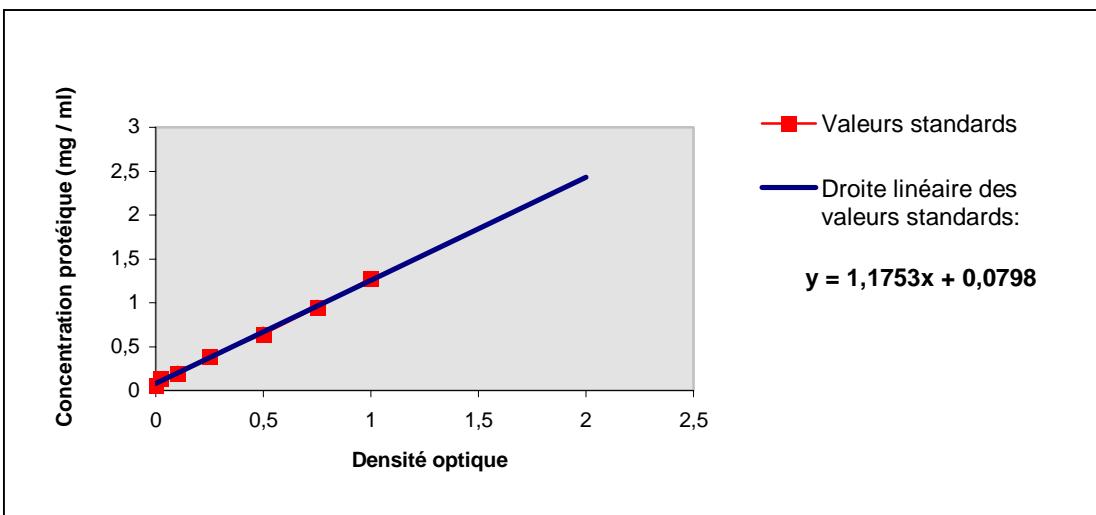


Figure 43 : Gamme étalon à l’albumine sérique bovine (BSA) pour la détermination de la concentration protéique de l’extrait antigénique concentré.

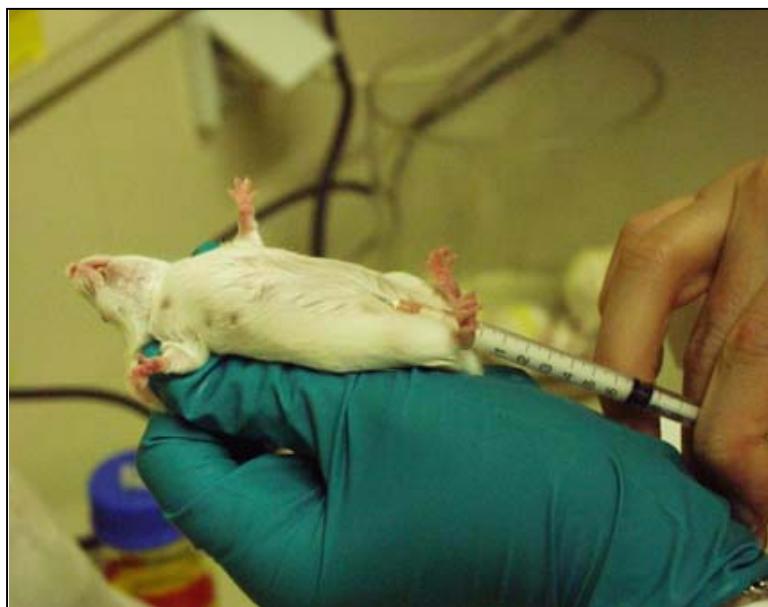


Figure 44 : Inoculation à des souris, par voie sous cutanée au niveau de la ligne médiane, de 100 µl de l’extrait antigénique concentré adjuvé (dose vaccinale : 10 µg).

II.1.3. Préparation des coproantigènes

20 grammes de matières fécales ont été mélangés à 15 mL de tampon de fixation puis homogénéisés à l'aide d'une spatule jusqu'à l'obtention de purin. Le mélange obtenu a été centrifugé à 3 200 tours par minutes pendant 10 minutes à 15 °C. Le surnageant recueilli était distribué dans des tubes eppendorf de 1,5 mL puis centrifugé à 13 000 tours par minute pendant 10 minutes. Une partie du surnageant finalement recueilli était concentrée 20 fois sur colonne MINICON®.

II.2. Examens coproscopiques

L'analyse coproscopique était effectuée au laboratoire de Parasitologie de l'ENVT. La technique utilisée était la méthode de MacMaster modifiée par Raynaud, 1971. Elle associe un examen en lame de MacMaster et un examen en lame de flottaison. L'enrichissement est effectué par une flottation en tube avec de l'iodomercurate de potassium comme liquide dense ($d = 1,44$) dont la composition est la suivante :

| | |
|-----------------------|---------|
| ✓ biiodure de mercure | 150 g |
| ✓ iodure de potassium | 111 g |
| ✓ eau | 399 mL. |

La sensibilité est ainsi abaissée à 7 œufs par gramme de fèces (opg).

II.2.3. Technique (Figure 45)

3 grammes de fèces ont été homogénéisés avec 42 mL de liquide dense dans un verre à pied. Le tout est filtré au travers d'une passoire à thé afin d'éliminer les plus gros débris.

1 mL de cette préparation est prélevé à l'aide d'une pipette et est destiné à la lecture en lame de MacMaster (0,5 mL par chambre). Cette lame est une lame porte objet (75 × 25 mm) d'une épaisseur de 2 mm sur laquelle sont collés, aux extrémités et au milieu, 3 plots d'une épaisseur de 1,5 mm, d'une largeur égale à celle de la lame et d'une longueur de 15 mm pour les deux plots extrêmes et de 5 mm pour le plot médian. Sur ces plots est fixée une lame de longueur égale à celle de la lame porte objet, d'une largeur de 17 mm et d'une épaisseur de 0,5 mm. Deux cellules ou chambres sont ainsi délimitées de part et d'autre du plan médian (20 × 17 × 1,5 mm) d'une contenance de 0,5 mL. Sur la lame supérieure sont tracés deux carrés de 10 mm de côté eux-mêmes divisés dans le sens de la largeur de la lame porte objet en 6 rectangles (10 × 1,7 mm). Le volume délimité par ces carrés et l'espace compris entre les deux lames est de 0,15 mL.

Le reste de la préparation est soumis à une flottation totale. Un tube est rempli jusqu'au sommet de la suspension fécale de façon à obtenir à son ouverture un ménisque liquide convexe sur lequel est déposée une lamelle (22 × 22 mm). Au bout de 10 minutes, la lamelle est retirée et posée sur une lame porte objet. Les éléments parasitaires qui se sont élevés dans la suspension dense sont ainsi transportés sur la lame dans le liquide qui adhère à la face inférieure de la lamelle.

II.2.4. Interprétation

La diagnose des œufs de paramphistomes fait appel à leurs caractères morphologiques (Figure 21 ; Tableaux XII et XVI) . Ce sont des œufs de grande taille (160 × 90 µm en moyenne) de forme ovoïde allongée et dont les pôles sont inégaux (un pôle plus pointu et operculé). Cependant, l'iodomercurate de potassium en modifie l'aspect (contraction, disparition de l'opercule, éclaircissement). La différence de coloration permet toutefois la différenciation d'avec les œufs de *Fasciola hepatica* : les œufs de paramphistomes apparaissent gris verdâtre et non jaune brunâtre comme ceux de *F. hepatica*.

➤ Lame de MacMaster

Sous le microscope, les œufs sont comptés sur toute la lame. Le nombre d'œufs compté à l'intérieur du quadrillage est multiplié par un coefficient de 50. Si les œufs sont situés uniquement à l'extérieur du quadrillage, donc peu nombreux, leur nombre est multiplié par un coefficient de 15.

➤ Lame de flottaison

Si aucun œuf n'est dénombré par le procédé de la lame MacMaster, l'examen en lame de flottaison est effectué. Quel que soit le nombre d'œufs observés, le résultat sera, par convention, de 7 opg.

Ont été recherchés les œufs de paramphistomes mais également ceux de grande et petite douves, de strongles digestifs (dont *Nematodirus*), *Dictyocaulus* et trichures ainsi que la présence de *Moniezia* et de coccidies. Seule la recherche d'œufs de paramphistomes et de douves du foie entre dans le cadre de notre étude.

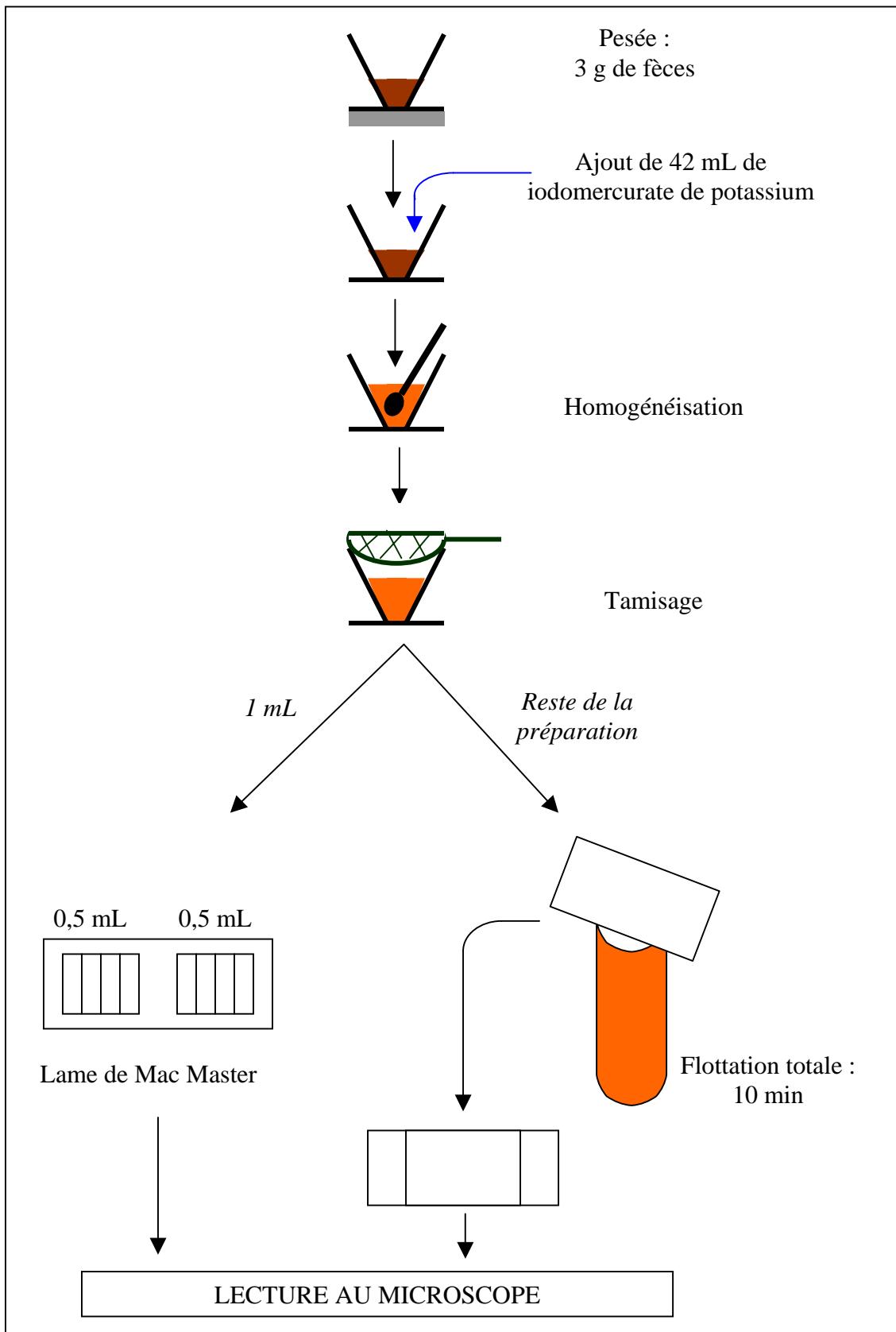


Figure 45 : Schéma de la technique coproscopique de MacMaster modifiée par Raynaud, 1971.

II.3. Mise au point du test E.L.I.S.A.

II.3.1. Technique générale (Figure 46)

La plaque de microtitration était sensibilisée avec les échantillons à tester, dont un échantillon reconnu comme négatif et un reconnu comme positif avec une infestation de niveau « +++ ». Une colonne était réservée au témoin positif représenté par l'extrait d'Ag E/S dilué au demi. Une autre colonne était réservée au témoin négatif constitué simplement de tampon PBS. Ces témoins positif et négatif permettent le contrôle de validité des réactions.

100 µL de chaque solution étaient déposés dans les premiers puits de chaque colonne. Une dilution au ½ était ensuite effectuée entre les puits de chaque colonne. Cette titration en damier a été réalisée dans le but de déterminer la concentration d'Ag à utiliser pour une sensibilisation optimale de la plaque.

La plaque était mise à incuber pendant 2 heures à 37 °C. Elle était ensuite lavée avec un tampon de lavage (1mL de Tween 20 + eau distillée qsp 2L) afin d'éliminer les molécules non fixées.

La plaque était ensuite saturée avec un tampon de saturation déposé à raison de 100 µL par puits. Puis, elle était mise à incuber une demi-heure à 37°C. Cinq lavages étaient à nouveau répétés.

100 µL de sérum hyperimmun de souris dilué au 1 : 10^{ème} étaient ajoutés dans les premiers puits de chaque colonne puis dilué au demi d'un puits à l'autre. Au terme d'une incubation de 1 heure à 37 °C, la plaque était lavée cinq fois.

Une solution diluée au 1 : 6 000^{ème} contenant des Ac anti-Ig G1 de souris couplés à la peroxydase était ajoutée à raison de 100 µL dans les premiers puits de chaque colonne qui étaient dilués au demi dans les puits suivants. La plaque était mise à incuber 1 H à 37°C puis lavée cinq fois.

Au cours de la dernière étape, étape de révélation, un substrat chromogène de la peroxydase était ajouté à chaque puits sous hôte à flux laminaire. La réaction colorée qui a lieu en présence de l'enzyme était stoppée au bout de quelques minutes. La densité optique était lue grâce à un spectrophotomètre à la longueur d'onde de 450 nm.

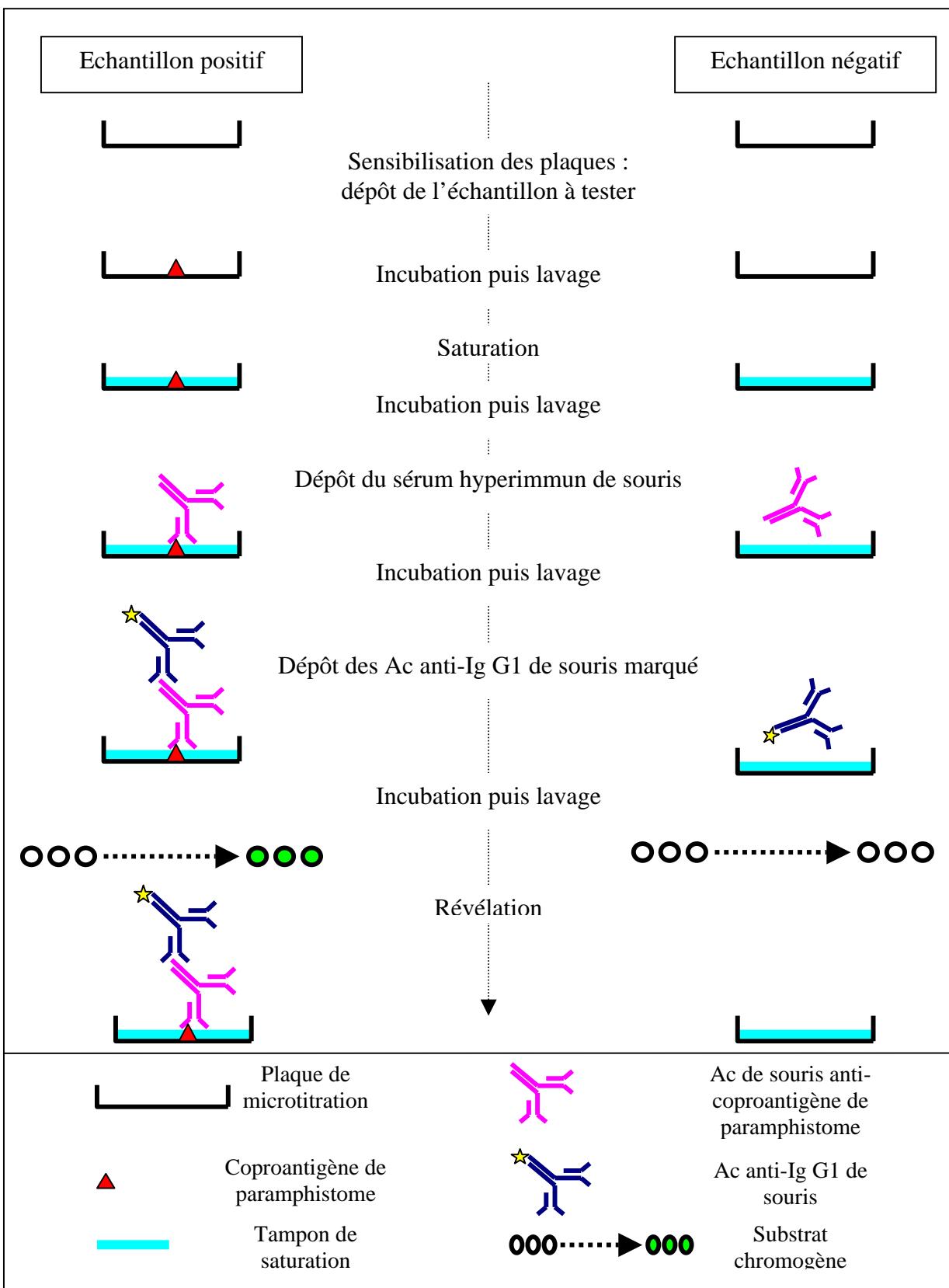


Figure 46 : Technique générale du test E.L.I.S.A. évalué pour la détection de coproantigènes de paramphistomes.

II.3.2. Détermination des paramètres techniques du test

A chaque étape de la mise au point du test, plusieurs éventualités quant à la nature des réactifs ainsi que des variations de la technique générale ont été testées, d'une part en raison de l'absence d'étude antérieure sur la mise au point d'un tel test pour le diagnostic des paramphistomoses gastroduodénales bovines, d'autre part pour tenter de résoudre certaines difficultés rencontrées.

Premièrement, la méthode de titration en damier a été utilisée afin de déterminer la concentration optimale d'Ag à employer dans la phase de sensibilisation des plaques de microtitration. En effet, la qualité de l'adsorption dépend de cette concentration. Ainsi, une dilution au demi a été effectuée entre les puits consécutifs d'une même colonne de la plaque, pour les différents échantillons (positif, négatif, témoins positif et négatif).

Ensuite, les effets de plusieurs facteurs chimiques (type et concentration des réactifs) et physiques (temps et température d'incubation, type de plaque) ont été étudiés.

Trois types de tampons ont été utilisés pour le traitement des matières fécales afin de connaître lequel d'entre eux permet la meilleure extraction des copro-Ag de paramphistomes : une phase hydrophobe, une phase hydrophile et une phase basique. Leurs compositions sont données dans le tableau XXXX. D'autre part, des essais ont été effectués en parallèle sur des préparations coproantigéniques concentrées et non concentrées.

Avec le premier substrat de la peroxidase utilisé, l'ortophénilène diamine, aucune réaction colorée n'était observée. Ce substrat a donc été remplacé par le TMB (3,3' 5,5'-tetramethylbenzidine).

Afin d'optimiser la phase de sensibilisation, trois types de support ont été testés : IMMULON, POLYSORB et MAXISORB. La température et le temps d'incubation de cette étape ont été modifiés : 2^h 00 à 37 °C ou 1^h 00 à 37 °C suivi d'une nuit à 4 °C.

Afin d'optimiser la phase de saturation, trois types de tampons de saturation ont été testés : gélatine 5%, gélatine 10% et BSA 2%.

Afin de diminuer le bruit de fond sans altérer la réaction colorée, des essais ont été effectués en variant la dilution du sérum et du conjugué. Les dilutions optimales ont respectivement été déterminées à 1 : 10^{ème} pour le sérum et 1 : 24 000^{ème} pour le conjugué.

| Tampon de prélèvement | Composition | |
|-------------------------|---------------------------------|------------------------------|
| Phase basique | Na ₂ CO ₃ | 1, 59 g |
| | NaHCO ₃ | 2,93 g |
| | H ₂ O distillée | qsp 1 L |
| Phase hydrophobe | Essai SM 04974 | 30 % du volume final de NaCl |
| | NaCl 1M | 50 mL |
| Phase aqueuse | NaCl 1M | 50 mL |
| | Tween 20 | 25 µl |

Tableau XXXX : Composition des trois phases utilisées comme tampon de prélèvement pour l'extraction des antigènes de paramphistomes à partir des matières fécales bovines.

II.4. Traitement et analyse statistique

Les résultats des tests ont été enregistrés à l'aide du logiciel Excel puis analysés sous STATA après importation de la base données.

Les tests ont été comparés à l'examen nécropsique des pances, pris comme test de référence, par le test du chi2 de MacNemar pour échantillons appariés, avec un risque d'erreur de 5 %. La concordance des tests avec le test de référence est évaluée par le calcul du coefficient kappa (κ) qui chiffre l'intensité de l'accord réel entre deux jugements qualitatifs appariés. La concordance est considérée comme excellente pour $\kappa \geq 0,81$, bonne pour κ compris entre 0,80 et 0,61, modérée pour κ compris entre 0,41 et 0,60, médiocre pour κ compris entre 0,21 et 0,40, mauvaise pour κ compris entre 0 et 0,20 et très mauvaise pour $\kappa < 0,0$.

La sensibilité et la spécificité des tests ont été déterminées en prenant l'examen nécropsique comme test de référence. La sensibilité est l'aptitude d'un test à fournir une réponse positive chez un individu malade. La spécificité est l'aptitude d'un test à fournir une réponse négative chez un individu non malade. Elles sont exprimées sous forme d'intervalles de confiance calculés par la loi binomiale avec un risque d'erreur de 5 %. De la même manière, la sensibilité des tests a été évaluée en fonction du niveau d'infestation. Les valeurs de sensibilité obtenues ont été comparées : elles sont considérées significativement différentes si leurs intervalles de confiance ne sont pas superposés.

La relation entre le nombre d'opg compté à l'examen coproscopique et le niveau d'infestation est évaluée en comparant les moyennes de chaque niveau par un test ANOVA. Le

nombre d'opg suivant une loi de Poisson (dénombrement), nous avons pris le logarithme népérien du nombre d'opg + 1 (le nombre d'opg étant parfois nul) qui suit une loi Normale. Dans le cas du rejet de l'hypothèse nulle d'absence de relation significative, il a été décidé d'établir quels sont les niveaux d'infestation pour lesquels les moyennes diffèrent par la technique de comparaison multiple de Bonferroni.

La valeur seuil du nombre d'opg limitant les niveaux d'infestation a été déterminée à l'aide d'une courbe ROC (Response-Operating Characteristic curve). Cette courbe représente la sensibilité et la spécificité d'un test pour différents seuils possibles, avec en abscisses le complémentaire à 1 de la spécificité et en ordonnées la sensibilité. L'aire sous la courbe correspond à l'efficacité globale du test. Elle doit être statistiquement différente de 0,5 pour que le test puisse être considéré comme informatif (pour un test parfaitement discriminant, l'aire sous la courbe est égale à 1, la sensibilité et la spécificité étant alors de 1). Le point d'inflexion de la courbe correspond au seuil pour lequel l'information est maximale ou encore pour lequel les erreurs par défauts et par excès sont réduites au maximum (couple « sensibilité et spécificité » maximal).

La même analyse a été effectuée pour évaluer la relation entre la valeur de densité optique obtenue par le test E.L.I.S.A. et le niveau d'infestation.

III. Résultats

III.1. Evaluation des examens coproscopiques

III.1.1. Concordance avec l'examen nécropsique, sensibilité et spécificité

Sur les 60 prélèvements provenant d'animaux reconnus comme étant infestés, 56 ont donné des résultats positifs à la coproscopie. Parmi les 87 prélèvements provenant d'animaux reconnus comme non infestés, un seul résultat faussement positif est obtenu (Tableau XXXI).

| | <u>Examen nécropsique</u> | | | | | | Total | |
|--|---------------------------|--------------|---------------|---------------------------------------|----------|----|-------|--|
| | <u>Positif</u> | | | <u>Négatif</u> | | | | |
| | Niveau d'infestation | | | Infestation par les douves hépatiques | | | | |
| | NI « + » | NI « ++ » | NI « +++ » | Positive | Négative | | | |
| Coproscopie : présence d'œufs de paramphistomes | Positive | 16 | 20 | 19 | 0 | 1 | 56 | |
| | Négative | 4 | 0 | 1 | 12 | 75 | 92 | |
| | Total | 20 | 20 | 20 | 12 | 76 | 148 | |

Tableau XXXI : Résultats de l'analyse coproscopique pour la détection d'œufs de paramphistomes dans les fèces de 148 bovins dont 60 sont reconnus infestés à l'examen nécropsique et 88 sont reconnus indemnes (NI : niveau d'infestation).

Aucune différence significative n'est observée entre l'examen coproscopique et l'examen nécropsique (Chi 2 de MacNemar = 2,67, p > 0,05). Le coefficient kappa, de 0,915, est supérieur à 0,81. La concordance entre l'examen coproscopique et l'examen visuel est donc excellente.

La sensibilité globale de la coproscopie est comprise entre 83,8 et 98,2 %. Les intervalles de confiance de la sensibilité sont respectivement [62,1 ; 96,8] %, [83,2 ; 100] % et [83,8 ; 98,2] % pour les niveaux « + », « ++ » et « +++ ». Ces intervalles de confiance se chevauchant tous les trois, aucune différence significative n'est mise en évidence.

La spécificité du test est comprise entre 93,8 et 99,9%. Aucune réaction croisée n'a été observée pour les 12 animaux indemnes de paramphistomoses gastroduodénales mais atteints de fasciolose ou de dicrocoeliose.

III.1.2. Relation entre le nombre d'œufs par grammes de fèces et le niveau d'infestation

Il existe une relation significative entre le nombre d'opg et le niveau d'infestation (test ANOVA, $p < 0,0001$). La comparaison du nombre d'opg par niveau d'infestation (Test de Bonferroni) montre qu'il existe une différence significative entre les niveaux « + » et « ++ » ($p < 0,001$) et les niveaux « + » et « +++ » ($p < 0,001$) mais pas entre les niveaux « ++ » et « +++ » ($p = 0,632$). Ces deux derniers niveaux ont donc été regroupés pour la détermination de la valeur seuil du nombre d'œufs entre le niveau « + » et les niveaux supérieurs.

La courbe ROC du test donnant un résultat négatif lorsque le niveau d'infestation est de « + » et positif pour un niveau supérieur à « + » a été établie. L'aire sous la courbe est comprise entre 0,803 et 0,975. La qualité discriminante de ce test est donc satisfaisante.

Le point d'inflexion de la courbe correspond à une valeur seuil de 4,61 512 soit un nombre d'opg de 100 ($\exp(4,61\,512) - 1 = 99,99$). Il donne une sensibilité de 82,50 % et une spécificité de 90,00 %.

La figure 47, construite à partir des données de la courbe ROC, montre les valeurs de sensibilité et spécificité du test en fonction du nombre d'opg pris comme valeur seuil.

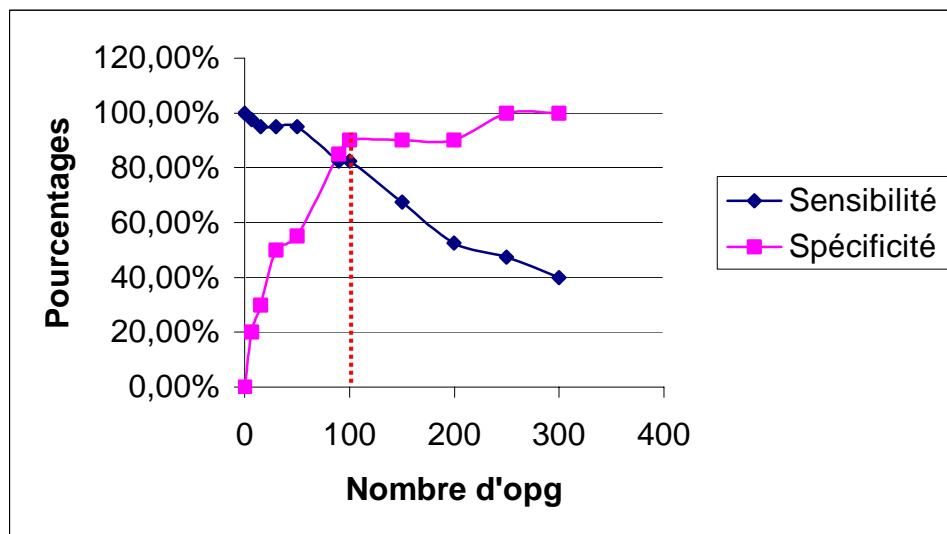


Figure 47 : Sensibilité et spécificité du test " 0 = niveau « + » et 1 = niveau « >+ »" en fonction du nombre d'œufs par gramme de fèces (opg).

III.2. Mise au point du test E.L.I.S.A.

Malgré les nombreuses tentatives en faveur de l'optimisation des résultats du test E.L.I.S.A. pour la détection de copro-Ag de paramphistomes, ces derniers ne sont pas concluants. En effet, quels que soient le tampon d'extraction, la dilution, le type de plaque, la température et le temps d'incubation de la phase de sensibilisation et le tampon de saturation, l'échantillon positif et l'échantillon négatif ne peuvent être distingués. L'utilisation des dilutions de sérum et de conjugués minimisant le bruit de fond n'entraîne aucune amélioration.

Les paramètres intrinsèques du test, sa concordance avec l'examen nécropsique, sa comparaison avec la coproscopie et l'éventuelle relation entre les valeurs de densité optique et le niveau d'infestation n'ont donc pas pu être analysés.

III.3. Identification de l'espèce de paramphistomes

Les parasites fixés dans le formol après retrait du milieu d'incubation pour l'obtention d'Ag E/S ont été identifiés comme appartenant à l'espèce *Paramphistomum daubneyi* (KILANI & GUILLOT, communication personnelle).

IV. Discussion

IV.1. Test E.L.I.S.A. pour la détection de coproantigènes de paramphistomes

Le test E.L.I.S.A. pour la détection de copro-Ag s'est révélé efficace pour le diagnostic de nombreuses parasitoses digestives. Il présente en effet une spécificité de genre excellente. La sensibilité s'avère quelque fois faible, notamment lors de charge parasitaire réduite. Malgré cela, ce test reste intéressant dans la mesure où un résultat positif indique une infestation réellement en cours, tant en période patente qu'en période pré-patente.

Nous avons tenté de mettre au point un tel test dans le but d'améliorer le dépistage des paramphistomoses gastroduodénales bovines dont les techniques actuelles souffrent de nombreuses limites.

En dépit des nombreuses tentatives de mise au point d'un test E.L.I.S.A. pour la détection de copro-Ag de paramphistomes et le succès de ce test dans le diagnostic d'autres parasitoses digestives, les résultats de notre étude ne sont pas concluants. Nous sommes confrontés à deux problèmes majeurs : un bruit de fond anormalement élevé et une sensibilité nulle puisque aucune distinction ne peut être faite entre échantillons positifs et négatifs. Ces mêmes problèmes ont été rencontrés lors d'un travail similaire effectué en parallèle chez des chevaux infestés par le cestode *Anoplocephala perfoliata*.

Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour expliquer l'absence de détection des copro-Ag de paramphistomes.

IV.1.1. Nature du prélèvement biologique testé

L'échec peut être inhérent à la nature du prélèvement biologique testé.

VISCIDI & *al.* (1984) constatent la présence dans les prélèvements fécaux de substances entraînant la désorption de 50 à 68 % des immunoréactifs. Elles seraient également responsables de leur dénaturation et de leur protéolyse (GREEN, 1986).

D'autre part, les matières fécales des herbivores sont très diluées, la concentration antigénique est donc plus faible que dans des fèces d'omnivores ou de carnivores. Cette faible concentration des Ag dans les matières fécales de bovins entraînerait l'adsorption d'une trop faible quantité d'Ag pour que ceux-ci puissent être détectés.

Ils peuvent également être masqués par des protéines de plus grande affinité ou présentes en concentration plus élevée. Pourtant, DUMENIGO & *al.* (1994) obtiennent de très bons résultats lorsqu'ils emploient ce test pour le diagnostic de la fasciolose chez les ruminants.

IV.1.2. Variante de la technique E.L.I.S.A. utilisée

Les différents travaux cités sont effectués à l'aide d'une technique E.L.I.S.A. sandwich où la sensibilisation des plaques de microtitration ne s'effectue pas avec les Ag mais les Ac présents dans le sérum hyperimmun. Or, la capacité d'adsorption des Ag sur une phase solide semble inférieure à celle des Ac (KEMENY & CHANTLER, 1988) et une désorption est à craindre au cours des différentes manipulations.

De plus, la plupart des auteurs de ces travaux, dont DUMENIGO & *al.* (1994), utilisent des Ac monoclonaux ou polyclonaux purifiés. L'emploi de tels Ac améliore la sensibilité du test.

IV.1.3. Divergence entre Ag E/S expérimentaux et naturels

Nous pouvons supposer que les Ag E/S libérés dans le tube digestif subissent l'action des protéases bactériennes. Le rumen contient en effet 10^{12} bactéries / mL. Les Ag de paramphistomes sont donc plus confrontés à l'action protéolytique de ces enzymes que ceux de *Fasciola hepatica* qui occupe une position hépatique. Les Ag E/S présents dans les portions digestives terminales peuvent ainsi différer de ceux obtenus dans le milieu d'incubation où la présence d'antibiotique empêchait une éventuelle colonisation bactérienne. Cette dénaturation des Ag E/S peut être responsable de la non-reconnaissance de ces Ag par les Ac de souris.

Cette non-détection pourrait aussi être due à la variabilité antigénique des paramphistomes. Les parasites utilisés pour l'obtention de sérum hyperimmun n'excrétaient peut-être pas les mêmes Ag que ceux présents dans les pré-estomacs des animaux prélevés.

Il est probable également que les conditions d'incubation des paramphistomes ayant servi à l'obtention des Ag E/S n'aient pas été suffisantes. Le temps d'incubation était de 6 heures seulement alors que la plupart des auteurs précités incubent les parasites pendant plusieurs jours en remplaçant régulièrement le milieu. Cependant, au bout de 24 heures, notre milieu d'incubation était trouble et présentait de nombreuses particules en suspension, ce qui nous a poussé à ne pas l'utiliser.

De plus, PROUDMAN & TREES (1996) préconisent un délai d'incubation court pour ne pas affecter la viabilité des parasites. Celle-ci peut être remise en question dans notre étude puisque les parasites, lors de leur retrait du milieu d'incubation, ne présentaient aucune mobilité qui puisse attester de leur survie.

Ainsi, l'échec de la mise au point du test E.L.I.S.A. peut être imputé à de nombreuses causes, physiologiques ou techniques. Certaines mesures pourraient cependant être prises, dans le cadre d'études ultérieures, afin d'y remédier.

L'activité protéolytique des substances présentes dans les matières fécales, responsable de la dénaturation et de la désorption des immunoréactifs, peut être partiellement inhibée par l'ajout d'inhibiteurs des protéases, spécifiques ou non spécifiques. Ainsi, la dilution des matières fécales dans du tampon citrate à 0,25 M ($\text{pH} = 4,7$) ou préférentiellement dans un volume égal de sérum fœtal de veau inactivé par la chaleur permet de réduire la désorption et donc d'augmenter la sensibilité du test (VISCIDI & *al.*, 1984 ; GREEN, 1986). Mais le coût de cette méthode a constitué un frein à son application.

La mesure la plus importante nous semble cependant être l'identification et la caractérisation du ou des Ag spécifiques du genre *Paramphistomum* par analyse biochimique. Ceci permettrait la production d'Ac polyclonaux purifiés ou d'Ac monoclonaux spécifiques. L'utilisation de tels sérum améliorerait fortement la sensibilité du test. De plus, l'emploi d'Ac monoclonaux améliorerait également la spécificité et l'uniformité du test ainsi que l'approvisionnement en Ac.

La recherche pourrait également se tourner vers d'autres techniques diagnostiques d'avenir et de très haute sensibilité, basées sur la détection d'ADN spécifique à partir de différents éléments parasitaires éliminés dans les fèces (œufs, débris tissulaires) telle que la réaction de polymérisation en chaîne ou P.C.R..

IV.2. Examen coproscopique

Contre toute attente, l'examen coproscopique présente des résultats très satisfaisants. Il n'est pas statistiquement différent de l'examen nécropsique, seul diagnostic de certitude, et peut même être considéré comme équivalent compte tenu de la haute concordance entre les deux examens ($\kappa = 0,915$). La sensibilité est relativement bonne : 83,8 à 98,2 % et n'est pas dépendante de la charge parasitaire. La spécificité est également élevée : 93,8 à 99,0 %.

Toutefois, il faut noter que ces deux examens concernent la présence de parasites adultes dans le rumen donc ayant acquis leur maturité sexuelle. Les résultats ci-dessus ne sont donc valables que pour le diagnostic de la phase imaginaire des paramphistomoses gastroduodénales bovines. De plus, ces examens ont été effectués dans un laboratoire de Parasitologie par un personnel très expérimenté. Dans ces conditions, la probabilité de confusion des œufs de paramphistomes avec ceux de *Fasciola hepatica* peut être considérée comme extrêmement réduite. Il nous paraît donc difficile d'extrapoler ces résultats lorsque la coproscopie est effectuée en cabinet, d'autant que l'iodomercurate de potassium ne peut y être utilisé comme liquide dense étant donné son coût, sa toxicité et les normes requises pour son élimination.

Cette étude a permis d'établir statistiquement l'existence d'une relation entre le nombre d'opg et le niveau d'infestation. Le nombre d'œufs éliminés est significativement différent entre une charge parasitaire d'une dizaine de parasite et une charge parasitaire de plus de 100 parasites. Lorsque le nombre d'opg est supérieur à 100, il est possible d'affirmer, avec une sensibilité et une spécificité de 82,5 et 90,0 %, que l'animal héberge plus de 100 parasites adultes dans son rumen. Cette information est particulièrement intéressante pour la prise de décision thérapeutique. En effet, une charge parasitaire de moins de 100 parasites est trop faible pour entraîner des pertes économiques. Par contre, il est très probable que les animaux hébergeant moins de 100 paramphistomes vont ou ont développé une immunité de prémunition dont il paraît judicieux de tirer profit. Ces animaux peuvent donc être exemptés de traitement, ce qui réduit également les frais engendrés.

L'absence de différence du nombre d'opg pour des niveaux d'infestation supérieurs à 100 parasites peut s'expliquer par le fait que la ponte diminue lorsque la charge parasitaire augmente (HORAK, 1971).

Ainsi, la coproscopie reste un outil diagnostique limité car elle ne permet pas de révéler une infestation en période prépatente. Par ailleurs, la technique utilisée dans notre étude, employant l'iodomercurate de potassium comme liquide dense, ne peut être adoptée comme examen de routine en cabinet mais est réservée aux laboratoires spécialisés.

Cependant, elle représente un outil de dépistage fiable dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques, à condition de se placer dans une situation où la maturité sexuelle des parasites est acquise de façon certaine, à savoir en fin d'été et d'automne.

De plus, le nombre d'opg constitue un critère intéressant à inclure dans l'arbre décisionnel pour une prescription raisonnée du traitement.

DISCUSSION GENERALE

Longtemps considérées comme des maladies tropicales, les paramphistomoses gastroduodénales bovines constituent depuis quelques années une préoccupation pour l'élevage français. Leur présence ne cesse d'être mise en évidence dans les différents départements à des taux de prévalence pouvant atteindre 30 %. Leur importance tient non seulement aux répercussions économiques non négligeables dont elles sont responsables, mais également à la méconnaissance de ces parasitoses limitant les moyens mis en œuvre pour enrayer leur progression.

La FRGTV de Champagne-Ardenne et le Laboratoire Schering-Plough Vétérinaire se sont engagés à sensibiliser les vétérinaires praticiens et les éleveurs de cette région à l'importance de ces parasitoses et à leur fournir une aide au traitement sous la forme d'un arbre décisionnel.

Face à l'envergure de ce projet, un travail préalable de réflexion quant à l'élaboration du protocole et la définition claire des objectifs était nécessaire. La fragmentation du projet en étapes successives et complémentaires s'imposait. En effet, compte tenu de l'absence de données bibliographiques statistiquement valables concernant les facteurs de risques associés à ces maladies, l'élaboration de l'arbre décisionnel nécessitait l'identification préalable de tels facteurs.

Une première enquête descriptive devait être entreprise afin non seulement d'estimer la prévalence de ces parasitoses dans la région mais, surtout, d'en déterminer les facteurs de variabilité qui seraient par la suite confirmés par une enquête analytique.

La taille de l'échantillon animal de cette première enquête ne devait donc plus être établie en fonction d'une prévalence attendue et d'une précision relative choisie, mais devait être assez importante pour autoriser les analyses statistiques requises. De plus, les difficultés du diagnostic clinique et l'absence de méthodes diagnostiques expérimentales fiables sur l'animal vivant nous obligeaient à utiliser le diagnostic nécropsique comme outil de dépistage et donc à effectuer nos observations en abattoir. L'effectif animal devait donc être d'autant plus important que l'effectif des cheptels ne pouvait être connu qu'*a posteriori*. Le nombre de 1 300 animaux a été déterminé suivant des considérations pratiques. Cet effectif aurait été suffisant dans le cadre d'une enquête se limitant à un calcul de prévalence puisque les précisions obtenues sont très satisfaisantes. Par contre, il s'est avéré insuffisant pour la détermination des facteurs de variabilités, nous obligeant à regrouper certaines modalités de nos variables. Mais il n'est même pas certain que l'observation d'un plus grand nombre d'animaux aurait empêché ces regroupements puisque leur recrutement à l'abattoir est fonction de la demande fluctuante du marché de la viande. Il est difficile de savoir si un effectif total d'animaux multiplié par deux aurait permis de doubler les effectifs de chaque modalité des différentes strates. Il en va de même pour le nombre d'animaux observés par cheptel.

L'obligation d'observation en abattoir rendait également impossible l'élaboration du protocole de cette enquête descriptive dans le respect rigoureux des règles épidémiologiques fondamentales. Il en résulte des biais d'échantillonnage incontournables, responsables de la non-représentativité de notre échantillon, interdisant l'extrapolation de nos résultats à la population bovine totale de la zone d'enquête, qui a d'ailleurs dû être redéfinie en fonction des observations. Notons par ailleurs que ce biais d'échantillonnage ne permet d'envisager l'abattoir comme source de données pour un réseau d'épidémiosurveillance des paramphistomoses dans la région comme il avait été évoqué lors de premières discussions avec les commanditaires.

Outre ces difficultés, la diversité des informations disponibles est réduite dans ce type d'enquête en abattoir, et dans la limite d'un coût et d'une durée raisonnables, ce qui a limité les variables pouvant être étudiées, notamment les caractéristiques des pâtures ou les éventuels actes thérapeutiques.

Malgré tout, cette enquête fournit des informations intéressantes.

Elle a permis de mettre en évidence la présence de parasites du genre *Paramphistomum* chez les bovins abattus dans les abattoirs de Rethel (08), de Charleville-Mézières (08) et d'Avesnes-sur-Helpe (59). L'analyse purement descriptive révèle des taux de prévalence très élevés, de l'ordre de 50 %. Bien sûr, ces résultats ne sont pas exacts d'un point de vue statistique, mais ils permettent de supposer que la pression d'infestation est forte dans la zone concernée par l'enquête.

Grâce à l'utilisation d'un outil analytique adapté, la régression logistique, des hypothèses de facteurs de variabilité de l'infestation ont pu être avancées à partir de cette enquête descriptive. Cet outil nous a permis d'étudier simultanément plusieurs variables, de prendre en compte leurs éventuelles interactions, les possibles facteurs de confusion et l'absence d'indépendance statistique entre individus provenant d'un même cheptel. Ainsi, après ajustement, les vaches semblent plus atteintes que les autres catégories. De même, les animaux élevés en Flandre et Hainaut apparaissent plus infestés que ceux élevés dans les autres zones étudiées. Par contre, un ou plusieurs autres facteurs, masqués derrière l'effet abattoir persistant même après ajustement sur l'ensemble des variables disponibles, n'ont pu être identifiés.

Ces hypothèses doivent maintenant être confirmées par une enquête analytique. Seule une enquête de terrain auprès des cheptels pourra fournir des résultats non faussés par les biais d'échantillonnage rencontrés lors d'enquêtes en abattoir et permettre d'identifier les facteurs dissimulés sous l'effet abattoir, certainement liés à des pratiques d'élevage.

Il nous a donc semblé indispensable de rechercher un outil de dépistage fiable sur l'animal vivant rendant possible une telle enquête. Notre choix s'est orienté vers la détection de coproantigènes parasitaires par la technique E.L.I.S.A. en raison des nombreuses publications encourageantes à son sujet. L'objectif de cette recherche était de mettre au point cette technique pour le dépistage des paramphistomoses gastroduodénales bovines, de déterminer ses paramètres intrinsèques en prenant le diagnostic nécropsique comme test de référence et de la comparer à la méthode coproscopique de MacMaster modifiée par Raynaud, 1971.

Malheureusement, les résultats de cette mise au point n'ont pas été concluants. Cet échec peut être attribué à diverses causes dont les principales nous semblent être l'importante dilution des fèces d'herbivores et l'absence de détermination des antigènes spécifiques du genre *Paramphistomum*. Cette détermination aurait permis d'augmenter la sensibilité du test grâce à l'utilisation d'anticorps monoclaux. Il serait intéressant que des études soient faites dans cette optique. La recherche pourrait également se tourner vers d'autres techniques de biologie moléculaire qui sont très sensibles.

En revanche, grâce à cette étude, nous avons pu mettre en évidence la fiabilité de la technique coproscopique réalisée par le laboratoire de parasitologie de l'ENVT, associant un examen en lame de MacMaster et un examen en lame de flottaison, le liquide dense utilisé étant l'iodomercurate de potassium (méthode de Mac Master modifiée par Raynaud, 1971). Elle s'avère équivalente à l'examen nécropsique pour le dépistage des paramphistomes adultes.

L'emploi de cette méthode comme outil de dépistage autorisera l'enquêteur à s'affranchir des observations en abattoir à condition de respecter les périodes où la maturité sexuelle des parasites est acquise, à savoir en fin d'été et d'automne. L'inconvénient de cette méthode est qu'elle ne peut être utilisée dans un cabinet vétérinaire en raison de la toxicité du iodomercurate de potassium. Le recours à des laboratoires d'analyse régionaux n'est possible que si les conditions de faisabilité de cette méthode sont remplies, à savoir un dispositif de gestion et d'élimination du iodomercurate de potassium. Nous pouvons également nous poser la question de sa reproductibilité dans de tels laboratoires. Si celle-ci était respectée, l'analyse dans un laboratoire régional équipé limiterait les frais d'envoi des prélèvements et la durée d'obtention des résultats.

Ces recherches épidémiologiques et de laboratoire avaient pour but d'orienter la réflexion sur l'élaboration de l'arbre décisionnel et d'en faciliter la mise en œuvre. Cet arbre est un outil qui doit fournir aux vétérinaires praticiens des plans de traitements raisonnés associant, si possible, des mesures d'ordre zootechnique (lutte contre les hôtes intermédiaires, limitation d'accès aux points

d'eau, rotation judicieuse des pâtures...) adaptés aux diverses situations épidémiologiques des élevages bovins vis-à-vis de l'infestation par les paramphistomes. Il s'agit d'un guide pratique orientant le vétérinaire praticien dans sa conduite face à ces différentes situations : qui traiter et quelles mesures sanitaires associer face à des symptômes de paramphistomose évidents dans un élevage ? En cas de symptômes frustes, quelles analyses doivent être entreprises pour confirmer l'infestation, avec quel test diagnostique et sur combien d'animaux, puis quel traitement mettre en place sur quels animaux et associé à quelles mesures sanitaires ? Que faire après la découverte d'œufs de paramphistomes lors de coproscopies de routine ?

Pour répondre à ces besoins, nous pouvons imaginer deux études distinctes et complémentaires : une enquête analytique et une étude de cas.

L'enquête analytique aurait pour objectif l'identification des facteurs de risques associés aux paramphistomoses gastroduodénales bovines, dont certaines hypothèses ont été émises à l'issue de l'enquête épidémiologique. Elle devrait également s'intéresser à d'autres variables afin de déterminer quels sont les facteurs masqués par l'effet abattoir.

Il nous semble évident que les hypothèses émises, à savoir que les vaches et les bovins élevés en Flandre et Hainaut sont significativement plus infestés, et les facteurs « masqués » sont liés à des micro-zones géographiques et des conduites d'élevages particulières.

Les micro-zones géographiques à risque peuvent être pré-supposées d'après le cycle évolutif des paramphistomes : pâtures humides, marécageuses, en bordure de cours d'eau ou de points d'eau. Compte tenu du fait que l'espèce identifiée est *Paramphistomum daubneyi*, dont l'hôte intermédiaire, *Lymnaea truncatula*, est une espèce amphibia, les zones temporairement inondées devront également être considérées comme à risque. Ces zones peuvent être identifiées à l'aide d'une étude malacologique ou, plus rapidement, au moyen de cartes des sols distinguant sols secs et sols humides comme l'on fait WRIGHT & SWIRE (1984).

La connaissance des paramphistomoses gastroduodénales bovines par les éleveurs de bovins, les éventuels traitements et leurs modalités (principe(s) actif(s), nombre annuel, période, animaux concernés), les éventuelles mesures prophylactiques, spécifiquement dirigées contre les paramphistomoses mais également contre la fasciolose, la nature des pâtures, la durée et la période de leur utilisation ainsi que le(s) type(s) d'animaux qui y évoluent, sont autant de variables qui devraient être étudiées.

La technique coproscopique de MacMaster modifiée par Raynaud, 1971, pourrait être utilisée comme outil de dépistage si l'enquête est effectuée en fin d'été ou d'automne (nécessité d'excrétion d'œufs dans les fèces).

Se pose également le choix du type d'enquête analytique à mettre en œuvre : cas / témoins ou exposé / non exposé. La fréquence des paramphistomoses gastroduodénales et la durée relativement courte entre le contact avec les métacercaires de paramphistomes et l'acquisition de la maturité sexuelle des adultes tendraient à nous faire opter pour une enquête exposé / non exposé. Cependant, les difficultés de réalisation de ce type d'enquête, son coût plus élevé et la nécessité d'effectifs plus importants, sans oublier les éventuels perdus de vue, nous orientent plutôt vers une enquête cas / témoin. De plus, les enquêtes cas / témoins permettent l'étude de plusieurs facteurs de risque et l'obtention des résultats est plus rapide. Donc, malgré les inconvénients de ce type d'enquête (éventuels biais de mesure de l'exposition, possible non-représentativité de l'échantillon témoin), il nous semble plus approprié.

L'objectif de cette enquête ne devrait pas se limiter à la seule connaissance des facteurs de risque révélés par une analyse statistique multivariée (régression logistique). En effet, un programme de lutte ne peut agir sur tous les facteurs et des priorités doivent être établies. Les facteurs devraient donc être hiérarchisés en fonction bien entendu de la force de leur association avec les paramphistomoses mais aussi de la fréquence de l'exposition à ces facteurs. Il faudrait donc raisonner en terme de pourcentage de risque attribuable dans la population.

L'étude de cas consisterait en un suivi de cheptels reconnus indemnes et de cheptels reconnus infestés de paramphistomes afin d'identifier les différentes situations dans lesquelles peuvent se trouver les élevages vis-à-vis de l'infestation par les paramphistomes et les indicateurs associés, indicateurs objectifs, facilement repérables et mesurables par le vétérinaire praticien. Ceci permettrait au vétérinaire praticien de connaître la probabilité d'être face à une infestation par les paramphistomes et dans une situation épidémiologique donnée lorsqu'un ou plusieurs indicateurs sont présents dans l'élevage.

Puis, en fonction des résultats de cette première étape, l'étude devrait évaluer différentes thérapeutiques et déterminer la relation entre les indicateurs préalablement identifiés et les résultats du traitement. Outre les résultats parasitologiques, l'évaluation du traitement devrait prendre en compte des considérations économiques. Le bénéfice du traitement est-il plus élevé que son coût ? En d'autres termes, est-il nécessaire de traiter un animal si les répercussions économiques de son infestation sont minimes, ce qui est le cas lors de faible charge parasitaire ? Au contraire, l'installation d'une immunité de prémunition ne serait-elle pas plus souhaitable ? En cela, la relation entre le niveau d'infestation et le nombre d'œufs par gramme de fèces, déterminé par la méthode coproscopique de MacMaster, est une information précieuse à inclure dans l'arbre décisionnel. Malheureusement elle n'est possible que pour les paramphistomoses imaginaires. Les

paramphistomoses pré-imaginaires ne peuvent être diagnostiquées de façon certaine du vivant de l'animal (absence de symptômes spécifiques, coproscopie négative en période pré-patente). Or, la forme aiguë, due aux stades immatures, est la forme la plus préoccupante pour la santé de l'animal. Compte tenu de cette défaillance en moyens diagnostiques immédiats, l'association entre les indicateurs éventuels et la présence de formes immatures de paramphistomes ne pourra être établie qu'*a posteriori*: suspicion de paramphistomose pré-imaginale et collecte des données puis attente de la période patente pour confirmer l'infestation par coproscopie ou examen nécropsique à l'abattoir. Une méthode diagnostique fiable sur l'animal vivant pour le dépistage des paramphistomes à la fois adultes et immatures est donc indispensable. L'intérêt du développement d'un test E.L.I.S.A. pour la détection de coproantigènes de paramphistomes reste donc entier.

Donc, outre la complexité du protocole de cette étude nécessitant un important travail de réflexion (rythme des observations à adopter ? Nombre d'élevages et d'animaux par élevage à inclure ?), il s'agit d'une procédure lourde, chronophage et certainement très coûteuse. Il est légitime de se demander si un tel déploiement de moyens et d'argent pour la collecte des informations et le développement d'une telle méthode diagnostique n'est pas disproportionné par rapport à l'usage qui sera fait en pratique de l'arbre décisionnel. Il pourrait peut-être suffire d'envisager une étude visant à l'évaluation sur le terrain d'une grille de décision élaborée par les vétérinaires praticiens, donc adaptée à leurs pratiques, à la lumière des connaissances bibliographiques acquises et des résultats de l'enquête descriptive réalisée et de l'enquête analytique à venir.

Les méthodes envisageables pour l'élaboration de l'arbre décisionnel doivent donc encore faire l'objet de réflexions et de discussions afin d'aboutir à un protocole rationnel, en juste équilibre entre son intérêt pratique et les moyens à mettre en œuvre.

CONCLUSION

Après la maîtrise de la fasciolose, l'intérêt des vétérinaires se porte aujourd'hui vers d'autres trématodes : les parasites du genre *Paramphistomum*. Les paramphistomoses gastroduodénales bovines dont ils sont responsables entraînent des pertes économiques non négligeables. Cependant, les moyens de détection et de lutte sont limités et une meilleure connaissance épidémiologique de ces parasitoses s'impose.

Afin d'évaluer la prévalence des paramphistomoses gastroduodénales bovines en Champagne-Ardenne et d'identifier les facteurs de variabilité, nous avons procédé à l'observation visuelle des pré-estomacs de 1289 bovins abattus dans trois abattoirs de la région. Notre étude a été confrontée à de nombreuses difficultés dues aux conditions d'observations (abattoir).

Malgré tout, elle a permis de mettre en évidence la présence de parasites du genre *Paramphistomum* chez les bovins abattus dans les abattoirs de Rethel (08), de Charleville-Mézières (08) et d'Avesnes-sur-Helpe (59). L'espèce identifiée est *Paramphistomum daubneyi*.

L'analyse purement descriptive révèle des taux de prévalence très élevés : $50,97 \pm 2,77\%$ des animaux et $65,7 \pm 4,1\%$ des cheptels dont ils sont issus étaient infestés. La mise en place d'un programme de lutte pour enrayer ces parasitoses est donc tout à fait justifiée. Il nécessite la caractérisation des animaux et des élevages à risque.

Grâce à l'utilisation d'un outil analytique adapté, la régression logistique, des hypothèses de facteurs de variabilité de l'infestation ont pu être avancées à partir de cette enquête descriptive : catégorie « vache » ($OR_{vache} = 2,06$), zone géographique « Flandre-Hainaut » ($OR_{FH} = 2,18$). Le ou les facteurs masqués par l'effet abattoir restent à identifier ($OR_{SOB-SOC} = 7,91$).

Pour confirmer ces hypothèses et identifier les facteurs cachés derrière l'effet abattoir, une enquête analytique de type cas / témoin doit être entreprise directement auprès des cheptels éleveurs. Pour cela, un outil de dépistage fiable sur l'animal vivant est indispensable. Nous avons tenté de développer un test E.L.I.S.A. pour la détection de coproantigènes de paramphistomes. Dans ce but, 148 prélèvements fécaux, dont 60 provenant de bovins indemnes et 88 de bovins infestés, ont été effectués. Cependant, les résultats de ce test ne sont pas satisfaisants. En revanche, l'analyse coproscopique de MacMaster modifiée par Raynaud, 1971, donne des résultats équivalents à ceux de l'examen nécropsique pour le dépistage des paramphistomes adultes ($p > 0,05$; $\kappa = 0,915$). La sensibilité et la spécificité sont respectivement de $91,0 \pm 7,2\%$ et $96,9 \pm 3,05\%$. La sensibilité n'est pas dépendante de la charge parasitaire. Par contre, le nombre d'opg et le niveau d'infestation sont liés : un nombre d'opg supérieur à 100 correspond à un niveau d'infestation de plus de 100 parasites avec une sensibilité de 82,5 % et une spécificité de 90,0 %. Elle constitue donc un outil fiable pour le dépistage des paramphistomes adultes. Ceci oblige à

réaliser l'enquête en fin d'été ou d'automne, période où la maturité sexuelle des paramphistomes est acquise.

L'enquête analytique associée à une étude de cas (suivi de cheptels infestés et indemnes), dont les protocoles doivent encore être discutés, devraient permettre d'atteindre le but du programme d'étude lancé par la FRGTV de Champagne-Ardenne et le laboratoire Schering-Plough Vétérinaire, à savoir un arbre décisionnel pour une prescription raisonnée du traitement. Il faudra, pour son élaboration, tenir compte du pourcentage de risque attribuable dans la population, ainsi que de la justification économique du traitement.

BIBLIOGRAPHIE

ABROUS M, RONDELAUD D & DREYFUSS G. (1997) *Paramphistomum daubneyi*: the development of redial generations in the snail *Lymnaea truncatula*. *Parasitology-Research*, **83** (1), 64-9.

ABROUS M, RONDELAUD D & DREYFUSS G. (1999) Influence of low temperatures on the cercarial shedding of *Paramphistomum daubneyi* from the snail *Lymnaea truncatula*. *Parasite*, **6**, 85-88.

ABROUS M, VAREILLE-MOREL C, RONDELAUD D, DREYFUSS G & CABARET J. (2001) Metacercarial aggregation in Digenea (*Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi*): environmental or species determinism? *Journal of Helminthology*, **75** (4), 307-11.

AGOSTI M, CAVALLETTI E & POZZA O. (1980) Clinica e epizootologica della paramphistomiasi bovina nella provincia di Milano. *Clinica Veterinaria*, **103**, 284-296.

ALABAY M. (1981) Comparative diagnostic studies on *Paramphistomum cervi* infection in sheep with the immunoperoxidase (E.L.I.S.A.) and indirect immunofluorescence (I.F.A.T.) techniques. *Veteriner Fakultesi Dergesi Ankara Universitesi*, **28**, 72-88. - in *Veterinary Bulletin*, **52**, Abstract 7050.

ALBARET JL, BAYSSADE-DUFOUR C, DIAW OT, VASSILIADES G, SEY O & GRUNER L. (1981) Dispositions des organites argyrophiles superficiels du miracidium et de la cercaire de *Paramphistomum phillerouxi*, Dinnik, 1961. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **56**, 147-154.

ALBARET JL, BAYSSADE-DUFOUR C, GUILHON J, KULO SD & PICOT H. (1978) Cycle biologique de *Paramphistomum togolense*. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **53**, 495-510.

ALBARET JL, BAYSSADE-DUFOUR C, NGENDAHAYO D, POSTAL JM & PICOT H. (1987a) Chétotaxie de la cercaire de *Paramphistomum* sp. parasite du bétail en Vendée. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **62** (3), 271-275.

ALLAN JC, AVILA G, GARCIA NOVAL J, FLISSE A & CRAIG PS. (1990) Immunodiagnosis of taeniasis by coproantigen detection. *Parasitology*, **101**, 473-477.

ALLAN JC, CRAIG PS, GARCIA NOVAL J, MENCOS F, LIU D, WANG Y & al. (1992) Coproantigen detection for immunodiagnosis of echinococcosis and taeniasis in dogs and humans. *Parasitology*, **104**, 347-355.

- ALZIEU JP, BERGEAUD JP & DORCHIES P. (1999) Essai de traitement de la paramphistomose bovine par l'oxyclozanide. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **150**, 715-718.
- AMBROSI M, BAIocco D & FRUGANTI G. (1982) Aspetti clinici ed epidemiologici della Paramphistomiasi bovina nel Lazio. *Atti della Societa Italiana di Buiatia*, **13**, 453-464.
- ARAFA MS, ABAZA SM, EL-SHEWY KA, MOHAREB EW & EL-MOAMLY AA. (1999) Detection of *Fasciola*-specific excretory/secretory (E/S) protein fraction band (49,5kDa) and its utilization in diagnosis of early fasciolosis using different diagnostic techniques. *J. Egypt. Soc. Parasitol.*, **29**, 911-926.
- BEUGNET F. (2000) Diagnostic coproscopique en pratique. *Action Vétérinaire*, Cahier clinique, **1510**, I-VII.
- BOURDOISEAU G. (1997) Les paramphistomes ou "douves des estomacs". *Le Point Vétérinaire*, **28**, 18-19.
- BOUYER J, HEMON D, CORDIER S & al. (1995) *Epidémiologie. Principes et méthodes quantitatives*. Paris : INSERM, 498p.
- BRATANOV V, LILKOVA N & STOIANOVA-ZAIKOVA L. (1981) Immunodiffusion studies of the complete somatic antigens of *Paramphistomum* sp. and *Fasciola hepatica*. *Veterinarnomeditsinski Nauki*, **18**(5), 8-15.
- BROSI A. *The trail of the snail* [en-ligne], Mise à jour le 1er mai 2003 [<http://members.tripod.com/arnobrosi/snail.htm>], (consulté le 12 mai 2003).
- BUTLER RW & YEOMAN GH. (1962) Acute intestinal paramphistomiasis in zebu cattle in Tanganyika. *The Veterinary Record*, **74**, 227-231.
- CAROFF JY. (1998) Enquêtes coprologiques en Auvergne : *Paramphistomum* dans le tiercé de tête. *La Semaine Vétérinaire*, **904**, 38.
- CASSET I. (1989) Enquête sur la paramphistomose bovine : recherche des parasites en abattoir. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **140**, **10**, 925-927.
- CASTRO-TERJO L, GARCIA-VASQUEZ Z & CASILDO-NIETO J. (1990) The susceptibility of limnaeid snails to *Paramphistomum cervi* infections in Mexico. *Veterinary Parasitology*, **35**, 157-161.
- CHARTIER C, BUSHU M & ANICAN U. (1990) Les dominantes du parasitisme helminthique chez les bovins en Ituri (Haut-Zaire). II. Les associations parasitaires. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, **43**, 491-497.

- CHHABRA RC & BALI HS. (1976) Efficacy of some drugs against amphistomes in cattle and buffaloes under field conditions in the Punjab. Journal of Research, Punjab Agricultural University, **13**, 226-231.- in *Veterinary Bulletin*, **47**, Abstract 5038.
- COURROUBLES F, TESSIER P, RIZET X & REMMY D. (2003) La Paramphistomose chez les bovins en France: réalité clinique, impact zootechnique, données récentes sur le traitement par l'oxyclozanide. Poster, SNGTV, Nantes.
- CRAIG PS, GASSER RB, PARADA L, CABRERA P, PARRIETTI S, BORGUES C & al. (1995) Diagnosis of canine echinococcosis: comparison of coproantigen and serum antibody tests with arecoline purgation in Uruguay. *Veterinary Parasitology*, **56**, 91-103.
- DAS AK, CHATTOPADHYAY DD, MITRA K, CHAKRABORTY J & BISWAS G. (1990) Efficacy of albendazole against amphistome infection in cattle - a field trial. *Indian Veterinary Journal*, **67**, 862-863.
- DEPLAZES P, ECKERT J, PAWLOWSKI ZS, MACHOWSKA L & GOTTSSTEIN B. (1991) An enzyme-linked immunosorbent assay for diagnostic detection of *Taenia saginata* coproantigens in humans. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg*, **85** (3), 391-396.
- DEPLAZES P, GOTTSSTEIN B, ECKERT J, JENKINS DJ, EWALD D & JIMENEZ-PALACIOS S. (1992) Detection of *Echinococcus* coproantigens by enzyme-linked immunosorbent assay in dogs, dingoes and foxes. *Parasitol. Res.*, **78**, 303-308.
- DEPLAZES P, GOTTSSTEIN B, STINGELIN Y & ECKERT J. (1990) Detection of *Taenia hydatigena* copro-antigens by ELISA in dogs. *Veterinary Parasitology*, **36**, 91-103.
- DIAW OT, SAMNALIEV P, PINO LA, BAYSSADE-DUFOUR C, ALBARET JL & VASSILIADES G. (1983) Structures argyrophiles des formes larvaires de deux souches de *Paramphistomum microbothrium*. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **58**, 455-465.
- DIAW OT, SEYE M & SARR Y. (1988) Epidemiology of trematodiasis in livestock in Kolda region. Casamance (Senegal). *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, **41**, 257-264.
- DORCHIES P. (1989) Les paramphistomidés: leur apparente extension en France et les difficultés pratiques d'identification en coproscopie. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **140**, 573-577.
- DORCHIES P. (1998) La Paramphistomose bovine en France: une parasitose en extension. *Bulletin-Mensuel-de-la-Société-vétérinaire-Pratique-de-France*, **82** (08), 423-438.

- DORCHIES P, BERGEAUD JP, DURANTON C, PREVOT F & 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 P, LACROUX C, LEVASSEUR G & ALZIEU JP. (2002) La paramphistomose bovine. *Bulletin des G.T.V.*, **13**, 13-16.
- DORCHIES P, LACROUX C, NAVETAT H, RIZET C, GUENEAU E & al. (2002) Trois cas d'une nouvelle entité pathologique: la paramphistomose larvaire chez les bovins. *Bulletin des G.T.V.*, **13**, 17-19.
- D'SOUZA PE, JAGANNATH MS & ABDUL RAHMAN S. (1988) Prevalence of gastrointestinal parasitism cows and buffaloes. *Indian Journal of Animal Sciences*, **58**, 748-752.
- DUMENIGO BE, ESPINO AM & FINLAY CM. (1996) Detection of *Fasciola hepatica* antigen in cattle faeces by a monoclonal antibody-based sandwich immunoassay. *Research in Veterinary Science*, **60**, 278-279.
- DUNN TS, HANNA REB & NIZAMI WA. (1985) Studies on the ultrastructure and histochemistry of the lymph system in three species of amphistome (Trematoda: *Digenea*) *Gigantocotyle explanatum*, *Gastrothylax crumenifer* and *Srivastavaia indica* from the Indian Water Buffalo *Bubalus bubalis*. *Journal of Helminthology*, **59**, 1-18.
- DUNN TS, DANG PH, MATTISON G, HANNA REB & NIZAMI WA. (1992) Ultrastructural observations on the redial tegument of *Paramphistomum epiclitum* from the planorbid snail, *Indoplanorbis exustus*. *Journal of Helminthology*, **66**, 167-176.
- DUNN TS, HANNA REB & NIZAMI WA. (1987a) Ultrastructural and cytochemical observations on the tegument of three species of paramphistomes (Platyhelminthes: *Digenea*) from the indian water buffalo, *Bubalus bubalis*, *International Journal for Parasitology*, **17** (6), 1153-1161.
- DUNN TS, HANNA REB & NIZAMI WA. (1987b) Ultrastructural and histochemical observations on the foregut and gut caeca of *Gigantocotyle explanatum*, *Gastrothylax crumenifer* and *Srivastavaia indica* (Trematoda: *Paramphistomidae*). *International Journal for Parasitology*, **17** (6), 1141-1152.
- EDUARDO 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.

- EL-SHEHABI FS, KAMHAWI SA, SCHANTZ PM, CRAIG PS & ABDEL-HAFEZ SK. (2000) Diagnosis of canine echinococcosis: comparison of coproantigen detection with necropsy in stray dogs and red foxes from northern Jordan. *Parasite*, **7**, 83-90.
- EUZEBY JA. (1975) *Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leur incidence sur la pathologie humaine. Tome II. Maladies dues aux plathelminthes Fascicule 3. Trématodes autres que les formes hépatobiliaires-Bilharzioses-Trématodes des poissons*. Paris: VIGOT ET FRERES, 855p.
- EUZEBY JA. (1978) Helminthoses gastrointestinales et élevage bovin moderne en Europe occidentale. Note III: Action sur l'environnement, réalisation pratique. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **128**, 193-233.
- EUZEBY JA. (1982) *Diagnostic expérimentale des helminthoses animales (Animaux domestiques - Animaux de laboratoire - Primates). Travaux pratiques d'helminthologie vétérinaire. Livre 1: diagnostic direct post mortem - diagnostic indirect (diagnostic biologique)*. Editions "Informations techniques des services vétérinaires" Ministère de l'agriculture, Direction générale de l'alimentation, 175 rue du chevaleret 75646 Paris cedex, Tome 2, 364p.
- FAYE B & BARNOUIN J. (1985) Objectivation de la propreté des vaches laitières et des stabulation. L'indice de propreté. *Bulletin Technique C.R.Z.V. Theix IN.R.A.* **59**, 61-67.
- FONTENEAU M. (1979a) La paramphistomose bovine en expansion dans l'ouest de la France. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, **52**, 367-372.
- FONTENEAU M. (1979b) La paramphistomose en expansion en Vendée. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **130**, 1649-1652.
- GAYATRI S & SHARMA PN. (2001) Observations on haematological and biochemical values of *Bubalus bubalis* infected naturally with *Paramphistomum cervi* (Trematoda: *Digenea*). *Journal of Parasitology and Applied Animal Biology*, **10** (1/2), 75-78.
- GEORGIEV B. (1981) Method for obtaining *Paramphistomum daubneyi*, Dinnik, 1962 metacercariae. *Veterinarnomeditsinski Nauki*, **18** (3), 39-45.
- GEORGIEV B & GRUEV A. (1979) Efficacy of levamisole and oxclozanide against *Paramphistomum* in sheep and cattle. *Veterinarnomeditsinski Nauki*, **16**, 47-51.- in Veterinary Bulletin, **50**, Abstract 4997.
- GEVREY JP & BOURDOISEAU G. (1998) Le traitement de la paramphistomose des ruminants. *Le Point Vétérinaire*, **29** (194), 47-48.

- GRABER M, CHAUVE C & FONTENEAU M. (1980) Existence en France de *Paramphistomum daubneyi* Dinnik 1962. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 53, 265-271.
- GRABER M, EUZEBY JA & GEVREY JP. (1980) Présence en France de *Paramphistomum leydeni*, Näsmark, 1937 (Trematoda, Paramphistomata). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 55, 565-569.
- GRABER M, TAGER-KAGAN P, DELAVENAY R & PERROTIN C. (1979) Essai de traitement, dans les conditions africaines, du polyparasitisme du zébu, à l'aide des associations Disto-5-thiabendazole, Disto-5-tartrate de morantel et Disto-5-tétramisole. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 32, 169-180.
- GREEN MA. (1986) Immunological detection of parasite antigen in faeces. *Parasitology Today*, 2, 144-151.
- GUILHON J & GRABER M. (1962) Action du bithionol sur les Amphistomes et sur *Fasciola gigantica*. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 35, 275-278.
- GUILHON J & GRABER M. (1979) Considérations sur les propriétés antihelminthiques du bis (2-hydroxy 3, 5 dichlorophényl) sulfoxide et sur son utilisation contre divers parasites internes des ruminants domestiques. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 52, 225-237.
- GUILHON J & PRIOUZEAU T. (1945) La paramphistomose bovine en France. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 121, 225-237.
- GUPTA BC, PARSHAD VR & GURAYA SS. (1983) Morphological and histochemical observations on the oocapt and oviducal transport of oocytes in *Paramphistomum cervi* (Zeder, 1790) (Digenea: Trematoda). *Journal of Helminthology*, 57 (2), 149-53.
- GUPTA BC, PARSHAD VR & GURAYA SS. (1987a) Histochemical studies on eggshell formation in *Paramphistomum cervi* (Digenea: *Paramphistomatidae*). *Journal of Helminthology*, 61 (1), 59-64.
- GUPTA BC, PARSHAD VR & GURAYA SS. (1987b) Morphological and histochemical observations on the vitelline cells of developing and adult *Paramphistomum cervi* (Trematoda: *Digenea*). *Journal of Helminthology*, 61 (4), 297-305.
- HASSAN MM, AFIFY H, ABDEL-GHAFFAR M, DYAB AK, HASSOUNAH O, EL-BEDRAWY el-SM & al. (2002) Detection of *E. histolytica*, *G. lamblia* and *Cryptosporidium* copro-antigènes in stool samples. *J. Egypt. Soc. Parasitol.*, 32 (1), 191-200.

- HORAK IG. (1967) Host-parasite relationships of *Paramphistomum microbothrium* FISCHOEDER, 1901, in experimentally infested ruminants, with particular reference to sheep. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, **34**, 451-540.
- HORAK IG. (1971) Paramphistomiasis of domestic ruminants. *Adv Parasitol*, **9**, 33-72.
- HORAK IG & CLARK R. (1963) Studies on paramphistomiasis. V. The pathological physiology of the acute disease in sheep. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, **30** (2), 145-160.
- HOULBERT J. (1998) *La paramphistomose bovine*. Thèse Méd. Vét., Nantes, 106p.
- ILLA D. (1998) *Intérêts des coproantigènes dans le dépistage des infestations parasitaires : synthèse bibliographique*. Thèse Méd. Vét., Toulouse, 253p.
- JOLY Y. (1991) *Contribution à l'étude du diagnostic sérologique de la paramphistomose bovine par la méthode E.L.I.S.A.* Thèse Méd. Vét., Lyon, 193.
- KABAGAMBE J, NSHIMIYIMANA A, MUBERUKA J & NYILIGIRA JB. (1988) Les maladies enzootiques des bovins au Bugesera. *Bulletin Agricole du Rwanda*, **21** (3), 159-168.
- KECHEMIR N. (1988a) Description and life cycle of *Paramphistomum microbothrium*, Fischoeder, 1901 (Trematoda, *Paramphistomidae*). *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie*, **56**, 147-159.
- KECHEMIR N. (1988b) Trematodes of *Bulinus truncatus* (Mollusca, Planorbidae) in Algeria. *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie*, **56**, 161-185.
- KEMENY DM & CHANTLER S. (1988) An Introduction to ELISA. In: KEMENY DM & CHALLACOMBE SJ, editors. *ELISA and Other Solid Phase Immunoassay: Theoretical and Practical Aspects*. Chichester: JOHN WILEY AND SONS, 1-29.
- KILANI M, GUILLOT J, CHERMETTE R. (2003) Amphistomoses digestives. In : LEFEVRE PC, BLANCOU J & CHERMETTE R, editors. *Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et régions chaudes. Tome II. Maladies bactériennes-Mycoses-Maladies parasitaires*. Paris : Editions TEC & DOC, 1400-1410.
- KISILIEV NP. (1967) Biology of *Paramphistomum ichikawai* Fukui. *Veterinariya Moscov*, **44**, 51-53.- in *Veterinary Bulletin*, **38**, Abstract 3193.
- KOBULEJ T & UDVARHLEYI J. (1972) Efficacy of Terenol in the treatment of cattle with natural ruminant paramphistome infestations. *Act. Vet. Acad. Sci. Hung.*, **22**, 219-223.- in *Veterinary Bulletin*, **43**, Abstract 1174.

LEVASSEUR G. (2003) Données épidémiologiques appliquées à la gestion de la Paramphistomose. Poster, SNGTV, Nantes.

LEVASSEUR G & ALZIEU JP. (1991) La paramphistomose. *Bulletin des G.T.V.*, **6B** (404), 154-155.

LOSSON B, MIGNON B & CASSART C (1998) Infestation par *Paramphistomum* sp. chez les bovins: description d'un premier cas en Belgique. *Annales de Médecine Vétérinaire*, **142**, 341-344.

MAGE C. (2001) Parasites du rumen : les paramphistomes gagnent du terrain. *Réussir Lait/Elevage*, **134**, 113-114.

MAGE C & CHAUVIN A. (1997) Gestion agronomique et thérapeutique de l'infestation des ruminants par *Fasciola hepatica* : choix d'un schéma de prévention. *Le Point Vétérinaire*, **28**, 139-146.

MAGE C, BOURGNE H, TOULLIEU JM, RONDELAUD D & DREYFUSS G. (2002) *Fasciola hepatica* et *Paramphistomum daubneyi*: changes in prevalence of natural infections in cattle and in *Lymnaea truncatula* from central France over the past 12 years. *Vet. Res.*, **33** (5), 439-447.

MAGE C, DELAS P & REYNAL PH. (1997) Contrôle des paramphistomes chez les bovins avec le bithionoloxyde (NILZAN ND). *Bulletin des G.T.V.*, **3B** (555), 39-43.

MAGE C & DORCHIES P. (1998) Paramphistomose des bovins: étude des relations coproscopies-populations parasitaires. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **149** (10), 927-929.

MAGE C & REYNAL PH. (1990) Les paramphistomidés. Essai d'activité de quelques anthelmintiques. *Bulletin des GTV*, **4B** (356), 9-11.

MAQBOOL-ALAM S & NIZAMI WA. (1988) Protein polymorphism of some amphistomes and their host tissue. *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, **36**, 247-250.

MAROTEL G & GRATECOS M. (1938) Apparition soudaine d'une helminthose exotique. Urgence à l'enrayer. *Bulletin de l'Académie de Médecine*, **119**, 408-410.

MATTISON RG, HANNA REB. & NIZAMI WA. (1992a) Ultrastructure and histochemistry of the protonephridial system of juvenile *Paramphistomum epiclitum* and *Fischoederius elongatus* (Paramphistomidae: Digenea) during migration in Indian ruminants. *International Journal for Parasitology*, **22** (8), 1103-15.

MATTISON RG, HANNA REB & NIZAMI WA. (1992b) Ultrastructure and histochemistry of the lymph system and parenchyma of juvenile paramphistomes (Paramphistomidae: Digenea) during migration in Indian ruminants. *International Journal for Parasitology*, **22** (8), 1117-35.

- MATTISON RG, HANNA REB & NIZAMI WA. (1994) Ultrastructure and histochemistry of the tegument of juvenile paramphistomes during migration in indian ruminants. *Journal of Helminthology*, **68**, 211-221.
- MOHAPATRA PK, MISRA SC & RAO AT. (1990) Flukicidal activity of thiophanate and Albomar against bovine paramphistomes. *Indian Veterinary Journal*, **67**, 756-759.
- MOUSTAFA NE, HEGAB MH & HASSAN MM. (1998) Role of ELISA in early detection of *Fasciola* coproantigens in experimentally infected animals. *J. Egypt Soc. Parasitol*, **28** (2), 379-387.
- NASHER AK. (1990) Parasites of livestock in Asir Province, Southwestern Saudi Arabia. *Veterinary Parasitology*, **37**, 297-300.
- NGUYEN VK, HOANG DN, JACQUIET P & DORCHIES P. (1997) Prévalence de *Gigantocotyle explanatum* chez le buffle au Vietnam. Etude histopathologique. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **148** (10), 789-792.
- NIKITIN VF, PROSHIN YG, SOLONINKIN VG, AGAFONOV MI & MESHCHERYAKOV AV. (1972) Trial of bithionol and sulfone (bithionol sulfoxyde) in acute paramphistomiasis in cattle. Byulleten Vsesoyuznogo Instituta Gel'mintologii, 8, 45-47. - in *Veterinary Bulletin*, **43**, Abstract 4526.
- ODENING K. (1983) What is *Paramphistomum cervi*? *Angew Parasitol*, **24** (4), 205-16.
- OGURINADE AF & ABATAN MO. (1987) Detection and quantitation of humoral immunity to *Paramphistomum microbothrium* in gut mucosa of cattle, *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, **40**, 275-277.
- OGUZ T. (1971) Therapeutic trial with Terenol (Resorantel) against *Paramphistomum* infections in sheep and cattle. *Veteriner Fakultesi Dergesi*, 18, 209-213. - in *Veterinary Bulletin*, **42**, Abstract 5354.
- PACENOVSKY J, ZAHOR Z & KRUPICER I. (1987) The first finding of *Paramphistomum daubneyi* (Dinnik, 1962) in beef cattle in Algeria. *Vet Med (Praha)*, **32** (6), 379-84.
- POSTAL JM. (1984) *Les paramphistomoses gastroduodénales des ruminants*. Thèse Méd. Vét., Alfort, 193p.
- PRASAD A, MALVIYA HC, VARMA TK & DWIVEDI P. (1994) Development of *Paramphistomum epiclitum* Fischoeder 1904 in snail host. *Indian Journal of Animal Sciences*, **64**, 568-573.
- PROUDMAN CJ & TREES AJ. (1996) Use of excretory-secretory antigens for the sero-diagnosis of *Anoplocephala perfoliata* cestodosis. *Veterinary Parasitology*, **61**, 239-247.

ROLFE PF & BORAY JC. (1987) Chemotherapy of paramphistomosis in cattle. *Australian Veterinary Journal*, **64**, 328-332.

ROLFE PF & BORAY JC. (1988) Chemotherapy of paramphistomosis in sheep. *Australian Veterinary Journal*, **65** (5), 148-150.

ROLFE PF & BORAY JC. (1991) Epidemiology of paramphistomosis in cattle. *International Journal for Parasitology*, **21**, 813-819.

ROMIA SA, ABOU-ZAKHAM AA & HEGAZY MM. (1990) Detection of *Giardia lamblia* copro-antigens by enzyme-linked immunosorbent assay and counterimmunoelectrophoresis. *J. Egypt Soc. Parasitol.*, **20** (2), 627-632.

RONDELAUD D, ABROUS M & DREYFUSS G (2002) The influence of different food sources on cercarial production in *Lymnaea truncatula* experimentally infected with Digenea. *Vet. Res.*, **33** (1), 95-99.

SAHAI BN, SINGH RP & PRASAD G. (1985) Histochemical alterations in the duodenum of goats experimentally infected with *Paramphistomum cervi*. *Veterinary Parasitology*, **17** (2), 131-138.

SAHAY MN, SAHAI BN & SINGH SK. (1989) Survey of paramphistome infection in bovine: its seasonal and regional variations in the states of Bihar (India). *Indian Journal of Animal Health*, **28**, 91-98.

SAMNALIEV P, ALBARET JL, BAYSSADE-DUFOUR C, DIMITROV V & CASSONE J. (1986) Structures argyrophiles superficielles du miracidium et de la cercaire de *Paramphistomum microbothrioides*, Price and MacIntosh, 1944 (Trematoda, Paramphistomidae). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **61**, 625-631.

SAMNALIEV P, BAYSSADE-DUFOUR C, ALBARET JL, DIMITROV V, CASSONE J & KAMBUROV P. (1981) Structures argyrophiles tégumentaires du miracidium, de la rédie et de la cercaire de *Paramphistomum daubneyi*, Dinnik 1962, (Trematoda, Paramphistomidae). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **56**, 155_166.

SAMNALIEV P, PINO LA, BAYSSADE-DUFOUR C & ALBARET JL. (1984) Structures argyrophiles superficielles du miracidium et de la cercaire de *Paramphistomum leydeni* Näsmark, 1937. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **59** (2), 151-159.

SCALA A, LIGIOS C, SATTA G, GAETANI W & SINI T. (1997) Parassitosi bovine: rilievi epidemiologici in Sardegna. *Praxis Veterinaria (Milano)*, **18** (3), 10-13.

- SEY O. (1974) On the species of *Paramphistomum* of cattle and sheep in Hungary. *Acta Veterinaria Scientiarum Hungaricae*, Tomus 24 (1-2), 19-37.
- SEY O. (1976) Studies on the stomach flukes of buffalo in Egypt (Trematoda: Paramphistomata). *Folia Parasitologica (Praha)*, 23 (3), 237-42.
- SEY O. (1978) Examination of Rumen flukes (Trematoda Paramphistomata) of cattle in Rumania. *Parasitologia Hungarica*, 11, 23-25.
- SEY O. (1979) Life cycle and geographical distribution of *Paramphistomum daubneyi*, Dinnik 1962, (Trematoda, Paramphistomata). *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, 27, 115-130.
- SEY O. (1980) Revision of the Amphistomes of European ruminants. *Parasitologia Hungarica*, 13, 13-25.
- SHARMA PN & HANNA REB. (1988) Ultrastructure and cytochemistry of the tegument of Orthocoelium scoliocoelium and *Paramphistomum cervi* (Trematoda digenea). *Journal of Helminthology*, 62, 331-343.
- SHARMA PN & HORA C. (1983) Role of oesophageal glands in the digestive physiology of two rumen amphistomes Orthocoelium scoliocoelium and *Paramphistomum cervi*. *Journal of Helminthology*, 57 (1), 11-20.
- SIDDIQUA A, MANNAN MA & HUSSAIN MA. (1989) Some biochemical studies in the blood of goat naturally with intestinal parasites. *Indian Veterinary Journal*, 66, 502-504.
- SINGH HS & SHUKLA SK. (1990) Neurosecretory cells in *Paramphistomum* sp. *Archiva Veterinaria*, 20, 155-160.
- SINGH RP, PRASAD KD, ANSARI MZ & SAHAI BN. (1983) Observations on intradermal skin test for diagnosis of *Paramphistomum cervi* in goats. *Indian Journal of Animal Health*, 22, 67-68.
- SINGH RP, SAHAI BN & JHA GJ. (1984) Histopathology of the duodenum and rumen of goats during experimental infections with *Paramphistomum cervi*. *Vet Parasitol*, 15 (1), 39-46.
- SPENCE SA, FRASER GC & CHANG S. (1996) Response in milk production to the control of gastro intestinal nematode and paramphistome parasites in dairy cattle. *Australian Veterinary Journal* 74, 456-459.
- SPENCE SA, FRASER GC, DETTMAN EB & BATTESE DF. (1992) Production response to internal parasite control in dairy cattle,. *Australian Veterinary Journal*, 69, 217-220.

- SRIVASTAVA PS, SINHA RP & RAMA P. (1989) Efficacy of morantel citrate (Banminth) against spontaneous immature amphistomiasis in indigenous goats. *Indian Veterinary Journal*, **66**, 400-404.
- SWART PJ. (1967) A study of the epidermal structures of the miracidia of *Calicophoron calicophorum* (FISCHOEDER, 1901) NÄSMARK, 1937 and *Paramphistomum microbothrium* (FISCHOEDER, 1901). *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, **34** (1), 129-136.
- SZMIDT-ADJIDE V, ABROUS M, ADJIDE CC, DREYFUSS G, LECOMpte A., CABARET (J.) & al. (2000) Prevalence of *Paramphistomum daubneyi* infection in cattle in central France. *Veterinary Parasitology*, **87** (2-3), 133-138.
- SZMIDT-ADJIDE V, ADJIDE CC, 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.
- TOMA B, DUFOUR B, SANAA M & al. (2001) *Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures*. 2^{ème} édition. Maisons-Alfort : AEEMA, 696p.
- VARMA TK, MALVIYA HC, PRASAD A & DWIVEDI P. (1991) Observations on the establishment of *Paramphistomum cervi* and its humoral immune response in lambs and kids. *Indian Journal of Animal Sciences*, **61**, 677-679.
- VASILEV I, DENEV I, SAVOVA S, KOSTOV R. & GEORGIEV (B.) (1985) Pathogenesis of paramphistomiasis in sheep. *Veterinarnomeditsinski Nauki*, **22** (2), 67-73.
- VISCIDI R, LAUGHON BE, HANVANICH M, BARLETT JG & YOLKEN RH. (1984) Improved enzyme immunoassays for the detection of antigens in fecal specimens. Investigations and correction of interfering factors. *J. Immunol. Methods*, **67** (1), 129-43.
- WIKERHAUSER T, BRGLEZ J & KUTICIC V. (1975) Anthelmintic efficacy of Terenol (Resorantel) against *Paramphistomum microbothrium* in cattle. *Acta Parasitologica Iugoslavia*, **6**, 25-29.- in *Veterinary Bulletin*, **46**, Abstract 1603.
- WRIGHT PS & SWIRE PW. (1984) Soil type and the distribution of *Lymnaea truncatula*. *The Veterinary Record*, **114**: 294-295.
- 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.

ZAJICEK D, MAROVA M, ZAHRADNIKOVA W & RYSAVY B. (1977) Experimental *Paramphistomum* infection in lambs. Veterinarni Medicina, 22, 99-108.- in *Veterinary Bulletin*, 48, Abstract 222.

ANNEXES

ANNEXE I

Un indice objectif pour apprécier la propreté des vaches laitières

La propreté des animaux constitue généralement un élément important pour apprécier l'hygiène générale du troupeau. Et c'est d'ailleurs un critère fréquemment retenu dans les enquêtes et études sanitaires. Encore faut-il pouvoir convenablement l'objectiver pour homogénéiser les observations et faciliter l'interprétation des résultats. Dans ce but, les chercheurs du laboratoire d'écopathologie de Theix ont mis au point **un indice de propreté individuelle** à partir duquel est apprécié **un état de propreté de stabulation**.

L'observation de 5 régions du corps de l'animal donne une note...

Le jugement objectif de la propreté de l'animal se réalise à partir de l'appréciation du degré de souillure des zones anatomiques particulièrement vulnérables aux maladies :

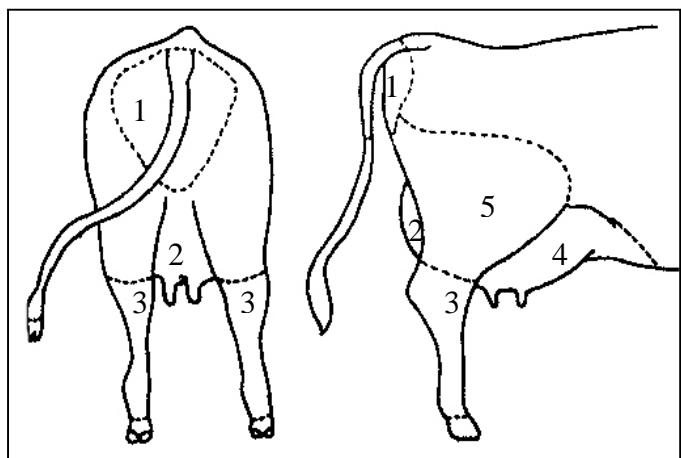
Zone 1 : région comprise entre la base de la queue, les pointes des fesses et le point d'attache de la mamelle.

Zone 2 : la mamelle vue de derrière.

Zone 3 : la partie inférieure des membres postérieurs entre le dessus du jarret et des ergots.

Zone 4 : mamelle et ventre en avant de la mamelle jusqu'à l'ombilic.

Zone 5 : ensemble de la cuisse.



A chacune de ces régions est accordée une note allant de 0 à 2 (voir critères de notation).

La somme des notes des zones 1, 2, 3, 4 donne l'indice de propreté individuelle qui varie de 0 à 8.

La moyenne des notes obtenues pour toutes les vaches de la stabulation sur les zones 1, 2, 3, 4 et 5 (cette dernière zone étant particulièrement révélatrice de la propreté de la litière) qualifie l'état de propreté de la stabulation (note de 0 à 10).

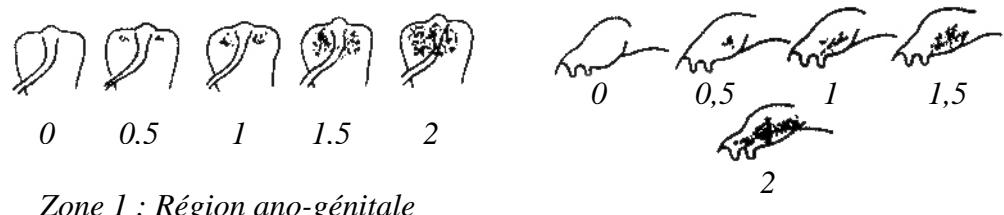
... en deux minutes avec une précision satisfaisante

Cette grille de notation qui nécessite moins de 2 mn d'observation par animal, permet d'objectiver la propreté des animaux et des stabulations avec une précision assez satisfaisantes. En effet un essai réalisé avec 10 « pointeurs » dans 5 stabulations entravées, sur 65 vaches laitières à montré que les 2/3 des notes attribuées ne s'écartent pas plus de $\pm 0,5$ point (sur 8) de la note de référence établie par un « pointeur » averti.

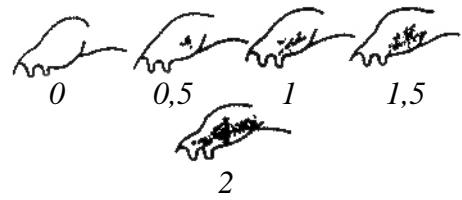
Toutefois, 15 % s'éloignant encore de $\pm 1,5$ point, un entraînement préalable des notateurs est nécessaire pour homogénéiser leur notation.

Au même titre que la notation de l'état d'engraissement, les bilans de fécondité, ou les bilans sanitaires, cette grille peut constituer un outil utile.

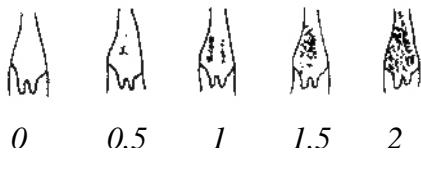
- Critères de notation de l'état de propreté des différentes régions anatomiques.



Zone 1 : Région ano-génitale



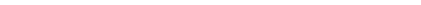
Zone 4 : Mamelle vue de côté



Zone 2 : Mamelle vue arrière



Zone 5 : Cuisse



0 : Pas de souillure

0,5 : Quelques souillures peu étendues

1 : Souillures étendues représentant moins de 50 p. 100 de la zone considérée

1,5 : Souillures étendues à plus de 50 p. 100 de la zone considérée

2 : Zone totalement souillée ou recouverte d'une croûte épaisse.

- Définition de la classe de propreté de la stabulation

- stabulation très propre : 0 - < 2
- stabulation propre : 2 - < 4
- stabulation un peu sale : 4 - < 6
- stabulation sale : 6 - < 8
- stabulation très sale : 8 - < 10

FAYE & BARNOUIN (1985)

ANNEXE II

Analyse bivariée de l'association statistique entre les zones géographiques non regroupées et l'infestation par les paramphistomes

| Zone géographique | OR^a | IC^b à 95 % | p^c |
|--------------------------|-----------------------|------------------------------|----------------------|
| Ardennes | | | |
| Argonne | 10,35 | 2,95-36,36 | < 0,001 |
| Avesnois | 0,77 | 0,41-1,45 | 0,4193 |
| Champagne crayeuse | 2,94 | 1,27-6,82 | 0,0085 |
| Crêtes préardennaises | 2,06 | 1,07-3,95 | 0,0262 |
| Flandre | 1,81 | 0,79-4,12 | 0,1535 |
| Hainaut | 1,03 | 0,46-2,30 | 0,906 |
| LSTV * | 0,64 | 0,29-1,41 | 0,2663 |
| Thiérache | 0,87 | 0,46-1,66 | 0,6827 |

*LSTV = Zones du Laonnois, Soissonnais, Tardenois et Vermandois regroupées pour cause de faible effectif

Tableau Ann. II.1 :

Association statistique entre les zones géographiques non regroupées et l'infestation par les paramphistomes mesurée lors d'une analyse bivariée

(^a OR = Odds Ratio ; ^b IC = intervalle de confiance de OR à 95 % ;

^c p = degré de signification).

Trois remarques peuvent être émises à la lecture du tableau Ann. II.1. :

- 1) La Champagne crayeuse, les Crêtes préardennaises et l'Argonne ont des OR significativement supérieurs à celui des Ardennes, zone prise comme référence (flèches pleines) ; elles ont été regroupées.
- 2) La Flandre et le Hainaut n'ont pas des OR significativement différents de l'OR des Ardennes, mais ils sont supérieurs à 1 et les bornes supérieures de leurs intervalles de confiance sont grandes (flèches simples) ; elles ont été regroupées.
- 3) Les autres zones ont un OR non significativement différents de celui des Ardennes et les bornes de leurs intervalles de confiance ne sont pas extrêmes ; elles ont été regroupées avec les Ardennes.

**PARAMPHISTOMOSES GASTRODUODENALES BOVINES :
ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE EN CHAMPAGNE-ARDENNE ET MISE AU POINT D'UN TEST
E.L.I.S.A. POUR LA DETECTION DE COPROANTIGENES PARASITAIRES**

RIEU Emilie

RESUME : Les paramphistomoses gastroduodénales bovines semblent en expansion en France. Les moyens de lutte demeurent cependant limités. Notre enquête épidémiologique, réalisée dans trois abattoirs du nord de la France, a consisté en l'observation visuelle de pânses de bovins. Tous les bovins abattus le jour de l'examen étaient inclus dans l'échantillon. Environ 50 % des 1289 bovins observés étaient infestés. Les vaches et des bovins de Flandre et Hainaut étaient significativement plus fréquemment infestés. D'autres facteurs associés, masqués par un effet abattoir, restent à identifier. Cette identification et la confirmation des hypothèses précédentes fera l'objet d'une enquête analytique visant à élaborer un arbre décisionnel pour le traitement. Le développement d'un test E.L.I.S.A. pour la détection de coproantigènes parasitaires afin d'obtenir un outil de dépistage fiable sur l'animal vivant, a échoué. En revanche, les résultats de la technique coproscopique de MacMaster, étudiée en parallèle, sont équivalents à ceux de l'examen nécropsique. Le nombre d'œufs par gramme de féces est lié au niveau d'infestation.

Mots clés : Paramphistomoses, bovin, épidémiologie, enquête descriptive, prévalence, régression logistique, facteur de risque, test E.L.I.S.A., coproantigène, coproscopie

Jury : Président : Pr.

Directeur : Pr. Jean-Jacques BENET

Assesseur : Pr. Jacques GUILLOT

Adresse de l'auteur : Le village

07 590 St ETIENNE DE LUGDARES

**BOVINE GASTRODUODENAL PARAMPHISTOMOSES:
EPIDEMIOLOGICAL INVESTIGATION IN CHAMPAGNE-ARDENNE AND DEVELOPMENT OF AN
E.L.I.S.A. ASSAY FOR THE DETECTION OF THE CPROANTIGENS FROM THE PARASITES**

RIEU Emilie

Summary: Bovine gastroduodenal paramphistomoses seem to be spreading in France. However, means of control are limited. Our epidemiological survey, carried out in three slaughterhouses of Northern France, consisted in the visual observation of bovine paunches. All the bovines slaughtered the day of the exam were included in the sample. About 50 % of the 1289 slaughtered bovins were infested. Cows and animals from Flandre and Hainaut were significantly more frequently infested. Other factors, masked by the slaughterhouse confounding effect, should be identified. This identification and the confirmation of the previous hypothesis will be the object of an incoming analytic investigation whose purpose will be the elaboration of a decision-making key for the treatment. In order to obtain a reliable tool for the screening on live animals, we tried to develop an E.L.I.S.A. assay for the detection of coproantigens. Unfortunately, the development was unsuccessful. By contrast, the results of the Mac Master's coproscopic method, assessed at the same time, were equivalent to the necropsic examination. The number of eggs per gram of faeces is related to the infestation level.

Keywords: Paramphistomoses, cattle, epidemiology, descriptive investigation, prevalence, logistic regression, risk factors, E.L.I.S.A. assay, coproantigen, coproscopy

Jury: President : Pr.

Director : Pr. Jean-Jacques BENET

Assessor : Pr. Jacques GUILLOT

Author's address: Le Village

07 590 St ETIENNE DE LUGDARES