



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

**INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
UNIVERSITE DE CONSTANTINE 1**

**THESE PRESENTEE EN VUE
DE L'OBTENTION DU DOCTORAT EN SCIENCES**

**LA PARAMPHISTOMOSE GASTRO-DUODENALE DES
RUMINANTS DANS LE NORD-EST ALGERIEN :
INVESTIGATIONS SUR LES BOVINS ET LE MOLLUSQUE HOTE**

Présentée par

TITI Amal

Membres du jury :

BENCHEIKH EL FEGOUN Med Chérif	Président	Professeur	Univ. Constantine1
BENAKHLA Ahmed	Examineur	Professeur	Univ. El Tarf
BENOUARETH Djamel Eddine	Examineur	Professeur	Univ. Guelma
TLIDJANE Abdelmadjid	Examineur	Professeur	Univ. Batna
MEKROUD Abdeslam	Dir. de thèse	Professeur	Univ. Constantine1
RONDELAUD Daniel	Membre invité	Professeur	Univ. Limoges

Année universitaire 2012-2013

DEDICACE

- À mes parents bien -aimés pour tous les sacrifices consentis pour ma formation, pendant ma jeunesse, et même bien après ; qui m'ont toujours encouragé à réaliser mes rêves et prié jours et nuits pour me voir arriver au plus haut niveau possible

- À mon mari, pour sa disponibilité et son aide précieuse

- À mes enfants, avec tout mon amour

- À la mémoire de ma sœur Messiada, mes beaux -parents, et mes grands parents, que Dieu puisse les accueillir dans son vaste paradis

- À toute ma famille, ma belle famille

- À toutes mes amies et collègues

- À tous les membres du laboratoire PADESCA

- À la mémoire, de notre directeur de laboratoire PADESCA, Monsieur le Professeur S. EL HADEF EL OKKI, que Dieu l'accueille dans son vaste paradis

..... *Je dédie ce mémoire*

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier vivement les membres du jury,

-Monsieur le Professeur **BENCHEIKH EL FEGOUN Mohamed Chérif**, de l'Université de Constantine 1, pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury

-Monsieur le Professeur **BENAKHLA Ahmed**, de l'Université d'El Tarf, pour avoir bien voulu jugé notre travail

-Monsieur le Professeur **BENOUARETH Djamel Eddine** de l'université de Guelma, pour avoir accepté de faire partie de notre jury

-Monsieur le Professeur **TLIDJANE Abdelmadjid** de l'université de Batna, pour nous avoir fait l'honneur de juger ce travail

-Monsieur le Professeur **RONDELAUD Daniel**, de l'université de Limoges qui a accepté d'être associé à ce jury, en qualité d'invité, pour toute l'aide qu'il nous fournit lors de nos différents stages à Limoges, et pour toute sa collaboration dans la partie malacologique

- Monsieur le Professeur **MEKROUD Abdeslam**, de l'université de Constantine 1, notre promoteur qui nous a encadré et guidé tout au long de notre travail

Qu'ils trouvent, tous, dans ces quelques lignes, tout notre respect notre reconnaissance et notre profonde gratitude.

Je tiens à remercier aussi,

-Monsieur le Professeur **DREYFUSS Gilles**, de l'université de limoges (laboratoire de parasitologie) pour nous avoir accueilli dans son laboratoire et financé, une partie de notre travail, notamment en biologie moléculaire. Qu'il trouve ici l'expression de toute notre gratitude

-Messieurs les inspecteurs vétérinaires des différentes wilayas pour nous avoir autorisés à accéder aux structures relevant de leur autorité (abattoirs).

-Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

PLAN DE THESE

Introduction générale.....	01
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
<i>Premier Chapitre</i>	
La paramphistomose gastro-duodénale des ruminants.	
Données générales	
1. Définition.....	03
2. Historique.....	03
3. La présentation du parasite.....	05
3.1. Systématique.....	05
3.1.1. Taxonomie	05
3.1.2. Classification.....	05
3.1.2.1. A partir des adultes.....	05
3.1.2.1.1. Selon le type d’atrium génital	07
3.1.2.1.2. Selon le type de pharynx.....	07
3.1.2.1.3. Selon le type d’acétabulum.....	07
3.1.2.2. A partir des formes larvaires.....	09
3.1.2.2.1. Le miracidium.....	09
3.1.2.2.2. Le sporocyste.....	09
3.1.2.2.2. La rédie.....	11
3.1.2.2.3. La cercaire.....	11
3.2. Synonymies.....	13
3.3. Morphologie.....	15
3.4. Répartition géographique.....	15
4. Biologie du parasite.....	18
4.1. Localisation et nutrition.....	18
4.2. Cycle évolutif.....	19
4.2.1. Les étapes du cycle.....	20
4.2.1.1. Description.....	20
4.2.1.2. Facteurs influençant le cycle.....	21
4.2.1.2.1. La température.....	21
4.2.1.2.2. La lumière.....	22
4.2.1.2.3. L’eau.....	22
4.2.1.2.4. Le climat.....	22
5. Les hôtes intermédiaires	23
5.1. Famille des Bulinidés.....	24
5.2. Famille des Planorbidés.....	25
5.3. Famille des Limnaeidés.....	26
6. Les hôtes définitifs.....	27
7. Epidémiologie.....	28
7.1. Epidémiologie descriptive.....	28
7.1.1. Caractéristiques des populations atteintes.....	28
7.1.2. Répartition géographique de cette parasitose.....	29
7.1.3. La répartition dans le temps.....	29
7.1.4. Importance économique.....	30
7.2. Epidémiologie analytique.....	31

7.2.1. Sources de parasites.....	31
7.2.1.1. Les sources directes.....	31
7.2.1.2. Les sources indirectes.....	31
7.2.2. La résistance des parasites.....	32
7.2.3. Mode d'infestation.....	32
7.2.4. Les causes favorisantes.....	33
7.2.4.1. Facteurs environnementaux.....	33
7.2.4.2. Facteurs de risque d'ordre démographique.....	34
7.2.4.2.1. L'âge de l'hôte définitif.....	34
7.2.4.2.2. Le sexe des animaux.....	34
7.2.4.2.3. La race des animaux.....	34
7.3. Epidémiologie synthétique.....	35
8. Etude anatomo-clinique.....	35
8.1. Pathogénie.....	36
8.2. Signes cliniques.....	38
8.2.1. La phase pré-imaginale.....	38
8.2.2. La phase imaginale.....	40
8.3. Lésions.....	41
8.3.1. La phase pré-imaginale.....	41
8.3.1.1. Lésions macroscopiques.....	41
8.3.1.2. Lésions microscopiques.....	42
8.3.2. La phase imaginale.....	43
8.3.2.1. Lésions macroscopique.....	43
8.3.2.2. Lésions microscopiques.....	43
8.4. Diagnostic.....	45
8.4.1. Diagnostic clinique et différentiel.....	45
8.4.2. Diagnostic nécropsique.....	46
8.4.3. Diagnostic expérimental (de laboratoire).....	46
8.4.3.1. Diagnostic Coprologique.....	46
8.4.3.1.1. Sédimentation simple.....	47
8.4.3.1.2. La Flottaison (flotation).....	47
8.4.3.2. Diagnostic immunologique.....	49
8.4.3.2.1. L'intra dermo réaction I.D.R).....	49
8.4.3.2.2. La fixation de complément.....	49
8.4.3.2.3. Immunoprécipitation.....	49
8.4.3.2.4. Immunofluorescence indirecte.....	51
8.4.3.2.5. E.L.I.S.A (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).....	51
8.5. Pronostic.....	52
8.5.1. Pronostic médical.....	52
8.5.2. Pronostic économique.....	52
9. Méthodes de lutte.....	52
9.1. Traitements	52
9.1.1. Le bithionoloxyde.....	53
9.1.2. L'oxyclosanide.....	53
9.1.3. Le niclosamide.....	54
9.2. Prophylaxie.....	55
9.2.1. Mesures préventives (défensives).....	55
9.2.2. Mesures curatives (offensives).....	57

ETUDE EXPERIMENTALE	
<i>Deuxième chapitre</i>	
Les caractéristiques des zones d'étude	61
1. Les Wilayas étudiées.....	61
1.1. Les wilayas de l'intérieur (Constantine et Sétif).....	62
1.2. Les wilayas côtières (Jijel et El Tarf).....	62
2. Les sites de prospections.....	63
2.1. Les abattoirs.....	63
2.2. Les gîtes à limnées.....	63
3. Les caractéristiques générales des zones de prospection.....	63
3.1. Données morphologiques sur les zones d'étude.....	63
3.2. Données éco-pédologiques.....	65
4. Climatologie.....	66
4.1. Wilaya de Jijel.....	66
4.2. Wilaya de Constantine.....	67
5. Le cheptel domestique.....	68
5.1. Les bovins.....	68
5.2. Conduite des élevages	68
<i>Troisième chapitre</i>	
Investigations sur l'hôte définitif	70
1. Etude préliminaire.....	70
2. Prévalence et intensité d'infestation chez les bovins, et leur corrélation avec divers paramètres	72
2.1. Objectifs de l'étude.....	72
2.2. Etude des paramètres parasitologiques.....	72
2.3. Protocole expérimental.....	73
2.4. Résultats et interprétations.....	74
2.4.1. Prévalence de l'infestation naturelle.....	74
2.4.1.1. Corrélacion entre la prévalence et la pluviométrie.....	76
2.4.1.2. Corrélacion entre la prévalence et la saison.....	77
2.4.1.3. Corrélacion entre la prévalence et le sexe de l'animal.....	80
2.4.2. Intensité de l'infestation naturelle.....	82
2.4.2.1. Corrélacion entre l'intensité d'infestation et la saison.....	84
3. Etude des variations hématologiques et de la courbe de poids chez des moutons infestés expérimentalement par des métacercaires de <i>Paramphistomum daubneyi</i>.	87
3.1. Objectifs de l'étude.....	87
3.2. Matériel et méthodes.....	87
3.2.1. Choix des animaux.....	87
3.2.2. Production des métacercaires.....	88
3.3. Protocole expérimental.....	88

3.3.1. Infestations expérimentales des ovins.....	88
3.3.2. Suivi des paramètres hématologiques.....	88
3.3.3. Suivi de l'évolution pondérale.....	89
3.3.4. Comptage de parasite adulte installés dans la panse à la 16 ^{ème} semaine.....	89
3.4. Résultats obtenus et interprétation.....	89
3.4.1. Paramètres hématologiques.....	89
3.4.2. Gain pondéral.....	93
3.4.3. Nombre de paramphistomes retrouvés à la fin de l'expérience.....	94
<i>Quatrième chapitre</i>	
Investigations sur l'hôte intermédiaire	96
1. Niveau d'infestation naturelle de <i>G. truncatula</i> par <i>Paramphistomum sp</i> dans la région de Jijel	96
1.1. Objectifs de l'étude.....	96
1.2. Protocole expérimental.....	97
1.3. Méthodologie.....	98
1.3.1. Technique de récolte et de dissection.....	98
1.3.2. Recherche de l'infestation naturelle.....	98
1.4. Résultats obtenus et interprétation.....	99
1.4.1. Prévalence de l'infestation naturelle chez les limnées tronquées.....	99
2. Sensibilité de trois espèces de limnées (<i>Galba truncatula</i>, <i>Lymnaea néotropica</i> et <i>Lymnaea viatrix var. ventricosa</i>) à l'infestation expérimentale par <i>Paramphistomum daubneyi</i>.	100
2.1. Objectifs de l'étude.....	100
2.2. Matériels et méthodes.....	101
2.3. Protocole expérimental.....	101
2.4. Méthodologie.....	103
2.4.1. Préparation des œufs de <i>Paramphistomum daubneyi</i>	104
2.4.2. Infestation par les miracidiums.....	104
2.4.3. Technique d'élevage des limnées.....	104
2.4.4. Suivi des émissions cercariennes.....	105
2.4.5. Contrôle des charges rédiennes et cercariennes chez les limnées infestées.....	105
2.5. Paramètres étudiés.....	106
2.6. Résultats obtenus.....	107
2.6.1. L'infestation des trois espèces de limnées par <i>P. daubneyi</i>	107
2.6.2. Les charges rédiennes et cercariennes chez les limnées disséquées au 65 ^{ème} j.....	108
2.7. Commentaires.....	109
<i>Cinquième chapitre</i>	
Identification génotypique des espèces de paramphistomes dans le nord-est Algérien	111
1. Introduction.....	111
2. Objectif de l'étude.....	112
3. Matériel animal.....	112

4. Rappels généraux sur la PCR (Polymérase Chain Reaction).....	113
4.1. Principe.....	113
4.2. Mode opératoire.....	114
5. Protocole expérimental.....	115
5.1. Extraction de l'ADN génomique.....	115
5.1.1. Lyse des échantillons.....	115
5.1.2. Précipitation de l'ADN par l'éthanol.....	115
5.1.3. Lavage de l'ADN.....	115
5.1.4. L'éluion.....	116
5.2. Quantification et contrôle de l'ADN.....	116
5.3. Amplification de l'ADN par PCR.....	116
5.3.1. Mode opératoire.....	116
5.4. Electrophorèse sur gel d'agarose à 2%.....	117
5.4.1. Préparation du gel.....	117
5.4.2. Dépôts des échantillons.....	117
5.4.3. La migration.....	117
5.4.4. Visualisation par photographie.....	118
5.5. Purification des produits de PCR.....	118
5.6. PCR de séquençage.....	118
5.6.1. Préparation du mix.....	118
5.6.2. Amplification.....	119
5.7. Purification des produits de séquençage.....	119
5.8. Analyse bioinformatique des séquences.....	120
6. Résultats et interprétation.....	120
6.1. Tailles des bandes sur gel d'agarose.....	120
6.2. Séquençage des amplicons.....	122
Conclusion générale.....	124
Recommandations et perspectives.....	127
Résumé (en français).....	129
Résumé (en anglais).....	130
Résumé (en arabe).....	131
Bibliographie.....	132

LISTE DES TABLEAUX, FIGURES, PLANCHES HISTOGRAMMES ET COUBRES

Tableaux

Tableau I : Taxinomie des paramphistomes gastro-duodénaux.	04
Tableau II : Synonymes donnés à pour <i>P. daubneyi</i> par différents auteurs,	14
Tableau III : Principaux signes cliniques et lésions anatomo-pathologiques constatés chez les bovins atteints de paramphistomose gastro-duodénale	44
Tableau IV : Récapitulatif des méthodes immunologiques étudiées pour le diagnostic des paramphistomoses gastro-duodénales.....	50
Tableau V : Tableau indiquant les différentes expérimentations entreprises par rapport à la localisation de la Wilaya et à la nature de l'hôte étudié.....	61
Tableau VI : Caractéristiques géologiques et pédologiques des deux zones d'étude.....	65
Tableau VII : Températures et pluviométrie mensuelles dans la Wilaya de Jijel au cours des 24 mois d'étude.....	66
Tableau VIII : Températures et pluviométrie mensuelles dans la Wilaya de Constantine au cours 12 mois d'étude.....	67
Tableau IX : Prévalence (%) et intensité d'infestation par <i>P. daubneyi</i> chez les bovins dans le nord est de l'Algérie.....	70
Tableau X : Nombre et (%) de bovins parasités pour chaque classe parasitaire chez les bovins dans le nord est de l'Algérie.....	71
Tableau XI : Nombre d'animaux examinés et prévalence (%) de la paramphistomose en fonction de l'âge des animaux.....	71
Tableau XII : Prévalences enregistrées sur les bovins sacrifiés au niveau des abattoirs de Constantine, Jijel et Sétif.....	75
Tableau XIII : Evolution mensuelle de la prévalence de la paramphistomose bovine dans Wilaya de Jijel.....	75
Tableau XIII : Evolution saisonnière de la prévalence de la paramphistomose bovine dans la Wilaya de Jijel et comparaison des moyennes saisonnières sur les deux années consécutives (Septembre 2010 à Aout 2012).....	78
Tableau XIV : Résultats de analyse statistique sur les variations de la prévalence en fonction des saisons sur les deux années de l'étude.....	79
Tableau XV: Prévalence moyenne saisonnière en fonction du sexe des bovins sacrifiés à l'abattoir de Jijel et Taher pour 12 mois d'étude (Septembre 2010 à Aout 2011).....	81
Tableau XVI: Prévalence moyenne saisonnière en fonction du sexe des bovins sacrifiés à l'abattoir de Jijel et Taher pour 12 mois d'étude (Septembre 2011 à Aout 2012).....	81
Tableau XVII Intensité de l'infestation moyenne de la paramphistomose bovine par mois et par saison durant les 24 mois d'étude.....	83
Tableau XVIII Résultats de l'analyse statistique sur la comparaison des variations de la charge parasitaire moyenne en fonction de la saison sur les deux années d'étude.....	84
Tableau XIX : Répartition des animaux parasités par classe parasitaire et en fonction des saisons.....	85
Tableau XX : Evolution du gain pondéral moyen des ovins dans les 4 lots après 16 semaines.....	93
Tableau XXI : Cinétique de l'infestation naturelle chez les limnées tronquées pendant 12 mois consécutifs dans trois habitats de la Wilaya de Jijel.....	99
Tableau XXII :Les différentes étapes réalisées lors de l'infestation expérimentale des 3 espèces de mollusques par <i>P. daubneyi</i>	103
Tableau XXIII: Les paramètres étudiés chez les les trois espèces de limnées	106
Tableau XXIV :Valeurs de différents paramètres chez les trois espèces de limnées infestées avec des miracidiums de <i>Paramphistomum daubneyi</i>	107
Tableau XXV : Les charges rédiennes et cercariennes chez trois espèces de limnées infestées expérimentalement par <i>P. daubneyi</i> et disséquées au 65 ^{ème} jour post-exposition.....	108
Tableau XXVI : Les caractéristiques des bovins chez lesquels les paramphistomes ont été prélevés pour notre étude.....	113

Tableau XXVII : Confrontation des séquences des échantillons étudiés avec celles de GenBank.....	122
--	-----

Figures

Figure 1 : Coupe sagittale d'un membre du genre <i>Paramphistomum</i> : <i>Paramphistomum togolense</i>	04
Figure 2 : Atrium génital de Paramphistomes	08
Figure 3 : Pharynx des paramphistomes.....	08
Figure 4 : Coupe médio-sagittale de l'acétabulum du genre <i>Paramphistomum</i> (<i>P. togolense</i>).....	08
Figure 5 : Structure anatomique du miracidium de <i>Paramphistomum daubneyi</i>	10
Figure 6 : (à gauche) Structures argyrophiles du miracidium du genre <i>Paramphistomum daubneyi</i>	10
Figure 7 : (à droite) Structures argyrophiles du miracidium du genre <i>Fasciola hepatica</i>	10
Figure 8 : Morphologie du sporocyste de <i>Paramphistomum togolense</i> âgé de 10 jours.....	12
Figure 9 : Schéma d'une rédie de <i>Paramphistomum cervi</i>	12
Figure 10 : Structure anatomique de la cercaire de <i>Paramphistomum daubneyi</i>	12
Figure 11 : Répartition géographique des différents paramphistomes.....	16
Figure 12 : Répartition des différentes espèces de paramphistomes par pays en Europe.....	17
Figure 13 : Cycle évolutif des espèces du genre <i>Paramphistomum</i>	19
Figure 14 : Les deux types d'amphibiose chez <i>G. truncatula</i>	27
Figure 15 : Concept de la lutte intégrée adapté aux paramphistomoses.....	56
Figure 16 : Chronologie des investigations menées sur les trois espèces de limnées infestées au Laboratoire.....	102

Planches

Planche A : Photographies de <i>P. daubneyi</i> adultes.....	14
Planche B : Spécimens de trois genres de Mollusques dulçaquicoles, vecteurs potentiels de la paramphistomose.....	24
Planche C : Coupes histologiques montrant des paramphistomes adultes enchâssés sur les villosités du Rumen.....	45
Planche D : (haut-gauche) bovins broutant dans des zones marécageuses à Constantine.....	64
(haut-droite) cours d'eau à Jijel. (Bas-gauche) fossé de route Constantine.....	64
(bas-droite) Gîtes à limnées à Jijel.....	64
Planche E : Photos de paramphistomes fixés sur les papilles du rumen.....	74
Planche F : Photo satellite de la région de Kaous montrant la localisation des trois gîtes de limnées...	97
Planche G : Photographies réalisées sur gel d'agarose avec les produits amplifiés provenant de l'ADN des paramphistomes.....	121

Histogrammes

Histogramme 1 : Evolution de la prévalence mensuelle de la paramphistomose bovine dans la Wilaya de Jijel pour 2010-2011.....	76
Histogramme 2 : Evolution de la prévalence mensuelle de la paramphistomose bovine dans la Wilaya de Jijel pour 2011-2012.....	76
Histogramme 3 : Répartition des animaux parasités par classes d'infestation.....	82
Histogramme 4 : Répartition des bovins parasités par classe parasitaire pour les deux saisons	

d'automne.....	86
Histogramme 5 : Répartition des bovins parasités par classe parasitaire pour les deux saisons d'hiver.	86
Histogramme 6 : Répartition des bovins parasités par classe parasitaire pour les deux saisons de Printemps.....	86
Histogramme 7 : Répartition des bovins parasités par classe parasitaire pour les deux saisons d'été.	86

Courbes

Courbe 1 : Variation numérique de globules rouges durant les 16 semaines de l'étude.....	89
Courbe 2 : Variation du taux d'hémoglobine durant les 16 semaines de l'étude.....	90
Courbe 3 : Variation du taux d'hématocrite durant les 16 semaines de l'étude.....	90
Courbe 4 : Variation du nombre total de leucocytes durant les 16 semaines de l'étude.....	91
Courbe 5: Variation du nombre d'éosinophiles durant les 16 semaines de l'étude.....	92
Courbe 6 : Variation du nombre de neutrophiles durant les 16 semaines de l'étude.....	92
Courbe 7 : Evolution mensuelle du gain pondéral moyen dans chaque lot	94

Introduction générale

La paramphistomose est une parasitose digestive des pâturages et particulièrement des zones marécageuses. Cela est lié à plusieurs faits : *i*) le cycle du Trématode est dixène, *ii*) le parasite utilise un Gastéropode d'eau douce comme hôte intermédiaire, et *iii*) plusieurs espèces de mollusques peuvent héberger le parasite (Bulinidés, Lymnaeidés, Planorbidés). Cette parasitose sévit dans le monde entier mais sa répartition géographique diffère selon les régions. Sur le plan économique, l'effet de cette pathologie est diversement apprécié. On peut affirmer qu'elle revêt un caractère modéré dans les pays tempérés alors qu'elle cause des préjudices plus importants dans les pays africains en raison du mauvais état général du bétail (POSTAL, 1984).

Les données sur cette parasitose dans notre pays sont très rares. Les seuls travaux sur la prévalence de la paramphistomose en Algérie sont ceux de PĀCENOVSKY *et al.* (1987) ou ceux de KECHEMIR (1988a, b) qui ont surtout traité de données sur le parasite dans l'ouest d'Alger. Il est vrai que la maladie a une évolution insidieuse et seules les très fortes infestations sont révélées par une symptomatologie digestive, mais il n'en demeure pas moins que cette pathologie doit être étudiée et mieux connue dans notre pays.

Malgré le regain d'intérêt pour l'étude de cette parasitose au cours des dernières années, celle-ci pose encore de nombreux problèmes. Le premier est l'identification difficile de l'espèce pour ce Trématode. Jusqu'à une date relativement récente, cette diagnose était basée sur des données morphométriques qui ne sont pas totalement infaillibles. Avec l'avènement de la biologie moléculaire (PCR et variantes, séquençage), il est beaucoup plus aisé aujourd'hui d'identifier l'espèce mise en cause avec très peu de risque d'erreurs.

Parfois, dans une même région peuvent exister plusieurs espèces. En France, cinq espèces de paramphistomes ont été signalées (SEY, 1989). Un deuxième problème réside dans la nature même de l'hôte intermédiaire car certains paramphistomes (du genre *Paramphistomum*) ont une gamme d'hôtes élargie alors qu'elle est étroite pour d'autres (DEGUEURCE, 1998).

Malgré les quelques études précédemment citées pour l'Algérie, nous estimons qu'il y a encore, dans notre pays, très peu d'information sur cette trématodose. C'est pour ces raisons que nous avons envisagé ces travaux afin d'en savoir plus sur cette parasitose. Le but de notre étude est de pouvoir apporter des réponses aux diverses questions énumérées ci-dessous :

- 1. Quelles sont la prévalence et l'intensité de l'infestation avec ce parasite chez les bovins dans certaines wilayas de l'est du pays, mais surtout à Jijel ?

- 2. Les saisons ont-elles une influence sur la prévalence de la parasitose ?
- 3. Quelles sont les espèces de paramphistomes qui sévissent dans l'est du pays ?
- 4. Quel est le niveau de l'infestation naturelle par *Paramphistomum* sp. chez la Limnée tronquée ?
- 5. Quelle est la réceptivité des diverses espèces de limnées à l'infestation expérimentale et quelle est leur capacité d'émission cercarienne pour chacune d'entre elles ?
- 6. Quelles sont les modifications hématologiques chez les ruminants lorsqu'ils sont infestés expérimentalement par des métacercaires de *Paramphistomum daubneyi* ?
- 7. La paramphistomose entraîne-t-elle une perte de poids chez ces ruminants ?

Afin de répondre à ces sept questions, nous nous sommes proposé de présenter les résultats de notre étude de la manière suivante :

Des données générales sur cette parasitose sont développées dans le premier chapitre en réalisant une étude bibliographique aussi complète que possible.

Le second est une description des zones d'étude (climatologie, écopédologie, etc).

Le troisième chapitre aborde les investigations faites sur l'hôte définitif. Il comprend deux volets, l'un portant sur l'étude de la prévalence et l'intensité de l'infestation naturelle chez les bovins de Jijel, et l'autre sur l'évolution mensuelle et saisonnière de ces deux paramètres sur deux années consécutives.

Les investigations réalisées sur le mollusque hôte sont présentées dans le quatrième chapitre. Deux aspects sont développés : *i*) une étude sur la prévalence de l'infestation naturelle chez les Limnées tronquées dans la wilaya de Jijel sur une période de 12 mois, et *ii*) une recherche sur la capacité de trois espèces de limnées à émettre des cercaires à la suite de leur infestation expérimentale en laboratoire.

Le cinquième chapitre est consacré aux investigations menées sur le parasite adulte. Il s'agit de la détermination de l'espèce par les techniques de biologie moléculaire.

Enfin, nous terminerons cette présentation par une conclusion générale à travers laquelle nous résumerons les réponses apportées aux principales questions posées et nous indiquerons les travaux en perspective.

**SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE**

La paramphistomose gastro-duodénale des ruminants.

Données générales sur le parasite

1. Définition :

La paramphistomose est une helminthose digestive. Les formes immatures des paramphistomes sont présentes dans la caillette et l'intestin grêle des ruminants. Les formes adultes vivant dans le rumen (BUSSIERAS et CHERMETTE, 1995).

2. Historique :

Cette parasitose a été signalée pour la première fois en France par DAUBENTON en 1753 (cité par EUZEBY, 1975) dans le rumen d'un bovin. Malheureusement, on a accordé peu d'intérêt à ce parasite. Près d'un siècle plus tard, RAILLET en 1898 (cité par EUZEBY, 1982) entamera un travail de zoologie sur les espèces d'amphistomes africains. En raison de la diversité des espèces trouvées de par le monde, les taxonomistes se sont attelés à mettre en place une clé d'identification. Néanmoins, beaucoup d'incertitudes et de confusions résident à ce jour sur la classification des espèces à partir des adultes et ceci pour de nombreuses similitudes morphométriques.

De nombreuses tentatives de classification sont venues plus tard comme celles de NASMARK (1937), YAMAGUTI en 1971 (cité par ALZIEU *et al.*, 1999) et EDUARDO (1982). PRIOUZEAU (1947) a été le premier à mettre en évidence le caractère biologique grave de ces parasites lors de ses travaux en Vendée. Quelques années plus tard, DINNIK et DINNIK (1954), HORAK (1971) et GRABER *et al.* (1979, 1980) ont fourni d'autres éléments sur le cycle biologique et l'épidémiologie (LEFEVRE *et al.*, 2003).

Cette trématodose ressemble beaucoup dans son cycle biologique à la fasciolose (cycle dixène utilisant un mollusque d'eau douce, famille des Trématodes), d'où son appellation : « douve du rumen ». Malheureusement, cette parasitose n'a pas suscité autant d'intérêt, probablement à cause de son caractère insidieux d'une part et de son incidence économique moindre d'autre part. Les parasites sont rarement découverts à l'abattoir car ils ne sont pas recherchés et, par conséquent, leur présence n'est pas portée sur les registres. Cela rend difficile la connaissance de sa prévalence et sa répartition géographique.

Tableau I.
Taxinomie des paramphistomes gastro-duodénaux.
(d'après BUSSIERAS et CHERMETTE, 1995).

Classification	Caractéristiques	
Embranchement : Plathelminthes	Vers plats	
Classe : Digènes	Acoelomates, hermaphrodites (sauf exception), corps non segmenté, cuticule non ciliée, tube digestif incomplet (pas d'anus). Endoparasites obligatoires des vertébrés, particulièrement oiseaux et mammifères. Cycle hétéroxène	
Ordre : Amphistomes	Corps épais, forme conique avec ventouse ventrale très développée. Cycle à un seul hôte intermédiaire	
Famille : Paramphistomidés	Corps régulièrement conique et dépourvu de poche ventrale. Pore génital parfois entouré d'une structure musculuse. Ventouse génitale à orifice étroit ou calice génital largement ouvert	
Genre : <i>Paramphistomum</i>	Ventouse postérieure moyennement développée	Pas de ventouse, ni de calice génital
Genre : <i>Cotylophoron</i>		Une ventouse génitale
Genre : <i>Calicophoron</i>		Un calice génital

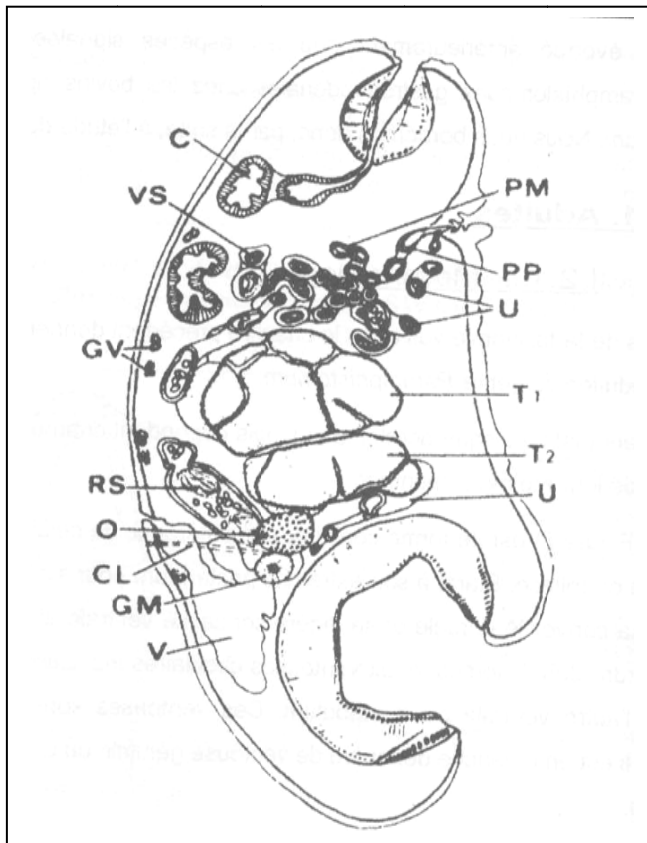


Figure 1.
Coupe sagittale d'un membre du
genre *Paramphistomum* :
Paramphistomum togolense
(ALBARET *et al.*, 1978).

C, Caecum. CL, Canal de Laurer.
GM, Glande de Mehlis. GV, Glandes
vitello-génitales. O, Ovaire. PM, Pars
musculosa. PP, Pars prostatica.
RS, Réceptacle séminal. T1, Testicule
antérieur. T2, Testicule postérieur.
U, Utérus. V, Vessie.

3. Présentation du parasite :

3.1. *Systématique* :

3.1.1. Taxonomie :

Le tableau I (page 4) montre la classification des paramphistomes et les différentes caractéristiques inter- et intraspécifiques. Une description de la morphologie est indiquée afin de pouvoir différencier les genres de paramphistomes entre eux.

3.1.2. Classification :

La systématique des paramphistomes est complexe. Elle fait appel à des différences morphologiques qui peuvent être minimes. Elle est basée sur l'analyse histologique de coupes sagittales de l'adulte. Cependant, on ne sait pas encore si les différences anatomiques rencontrées sont dues aux espèces elles mêmes ou bien à des variations individuelles au sein d'une même espèce.

Cela a suscité une polémique pendant de nombreuses années. Il en découle un excès dans le nombre des espèces que certains critères tendent de réduire. De nombreux auteurs se sont intéressés à la diagnose des espèces à partir des formes larvaires. L'étude chétotaxique des cercaires permet une identification plus sûre des espèces de paramphistomes (POSTAL, 1984).

Nous présentons ci-dessous une classification en utilisant les critères morphologiques des adultes, puis une autre basée sur les divers stades larvaires.

3.1.2.1. A partir des adultes (voir la figure 1, page 4) :

La difficulté réside dans le fait que l'identification et la classification des paramphistomes adultes pose des difficultés car il est impossible de savoir si les très légères différences morphologiques représentent des variantes individuelles à l'intérieur d'une même espèce ou si elles indiquent l'existence d'espèces jumelles.

La diagnose entre *P. microbothrium* Fiscoeder, 1901 et *P. daubneyi* Dinnik, 1962 est un bon exemple de ces difficultés. La position de l'extrémité postérieure des caecums constitue un caractère spécifique pour certains auteurs comme DINNIK en 1962 (cité par EUZEBY, 1971) et SEY (1972, 1974, 1979) alors que d'autres auteurs le considèrent comme inconstant (SAMNALIEV *et al.*, 1981 ; ODENING, 1983).

Il en résulte des classifications systématiques du genre *Paramphistomum* qui sont nombreuses et parfois contradictoires. Pour des raisons pratiques, nous nous référerons à la classification de SEY (1987).

FISCHOEDER en 1903 (cité par GERMAIN, 1930/1931) a été le premier à avoir mis en place un système d'identification à partir des données morphologiques.

Ensuite, LOSS en 1912 (cité par AGOSTI *et al.*, 1980) a apporté un complément de connaissances en étudiant certains organes (systèmes lymphatique, excréteur et génital). Mais MAPLESTONE en 1923 (cité par SEY, 1987) a écarté, pour des raisons pratiques, les caractéristiques de LOSS et a identifiée d'autres espèces de paramphistomes plus facilement différenciables.

Cependant, on a accordé trop d'importance à des variations individuelles et ainsi, on a vu le nombre d'espèces augmenter de façon considérable.

NÄSMARK en 1937 (cité par BAYSSADE-DUFOUR *et al.*, 1980) a établi alors une classification personnelle en se basant sur les travaux de LOSS. Dans son étude, il s'est surtout intéressé à la taille du parasite et aussi à la structure de certains organes (pharynx, atrium génital et acétabulum).

Même les travaux de NÄSMARK n'ont pas été épargnés par la critique. GUREVICH *et al.* en 1984 (cité par JOLY, 1991) ont démontré que l'état de relaxation ou de contraction du parasite ainsi que les angles de coupes histologiques conditionnent la morphologie et la taille des organes.

C'est SEY (1974) et SEY *et al.* (1983) qui ont accordé de l'importance à l'aspect écologique et à la distribution géographique de ces helminthes, ainsi qu'à la nature génétique de l'interaction entre les parasites et leurs hôtes intermédiaires. De ce fait, ces auteurs ont pu établir une nouvelle clé d'identification pour différencier les espèces du genre *Paramphistomum*. Ainsi, ils ont pu mettre en évidence de nombreuses synonymies.

Enfin, les travaux de SAMNALIEV *et al.* (1986) viennent confirmer, par la chéto-taxie cercarienne, le bien fondé des travaux que NÄSMARK a mené quelques décennies auparavant.

Nous avons estimé qu'il serait plus opportun de présenter la classification établie selon la comparaison des organes du parasite adulte en se référant à des schémas :

3.1.2.1.1. Selon le type d'atrium génital :

Dans cette classification, sont mentionnés les critères de différenciation entre les espèces (voir la figure 2, page 8).

Dans le genre *Cotylophoron*, l'atrium génital est entouré d'un gonotyle (ou ventouse génitale). Le genre *Paramphistomum* ne présente pas cette particularité. Dans ce dernier genre, nous avons trois types d'atrium génital :

- Le premier possède un sphincter génital (c'est le type *microbothrium*),
- Le deuxième type ne possède pas ce sphincter mais présente un sphincter papillaire (il s'agit du type *ichikawai*),
- Le troisième type ne possède ni sphincter génital, ni sphincter papillaire (c'est le type *gracile*).

3.1.2.1.2. Selon le type de pharynx :

Il existe un pharynx avec une couche musculaire moyenne et interne bien développées et il n'y a pas de sphincter pharyngien : c'est le type *liorchis* (voir la figure 3, page 8).

L'autre pharynx n'a pas de couche musculaire moyenne, ni de sphincter postérieur, mais il a une couche musculaire interne bien développée : c'est le type *paramphistomum*.

3.1.2.1.3. Selon le type d'acétabulum :

Quatre groupes ont été définis en fonction des dimensions calculées par l'index acétabulaire. Il s'agit (voir la figure 4, page 8) :

- ▶ du rapport entre le diamètre de la ventouse buccale et le diamètre acétabulaire,
- ▶ des fibres musculaires les constituant,
- ▶ de sa situation par rapport aux axes corporels dorso-ventraux,
- ▶ de sa situation par rapport aux axes latéro-latéraux (JOLY, 1991).

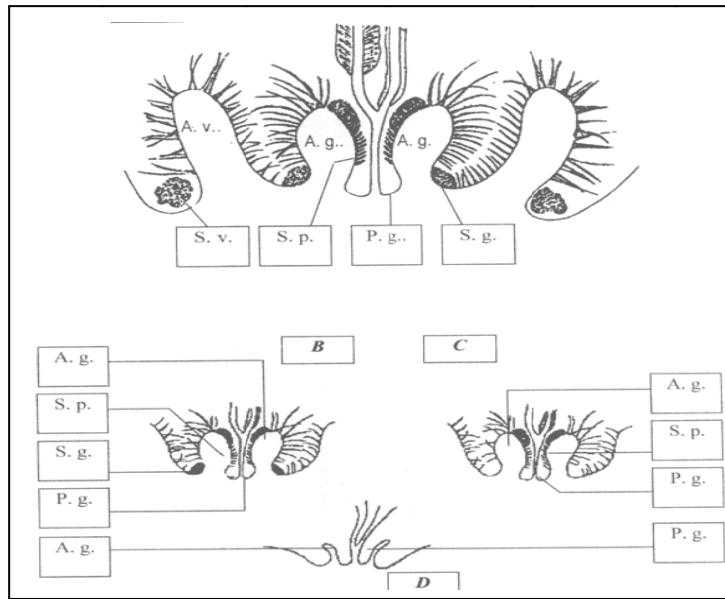


Figure 2.
Atrium génital de
Paramphistomes
(d'après NASMARK, 1937).

A : Morphologie générale. **B** : Type *microbothrium* **C** : Type *ichikawai*.
D : Type *gracile*.
A.g. : Atrium génital. **A.v.** : Atrium ventral. **P.g.** : Papille génitale.
S.g. : Sphincter génital.
S.p. : Sphincter papillaire.
S.v. : Sphincter ventral.

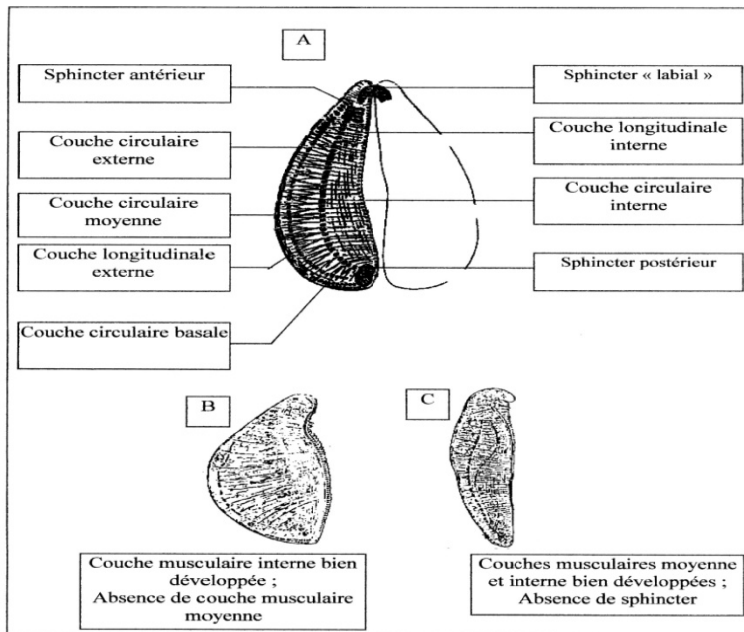


Figure 3.
Pharynx des paramphistomes
(selon NÄSMARK, 1937).

A : Morphologie générale.
B : Type *paramphistomum*.
C : Type *liorchis*.

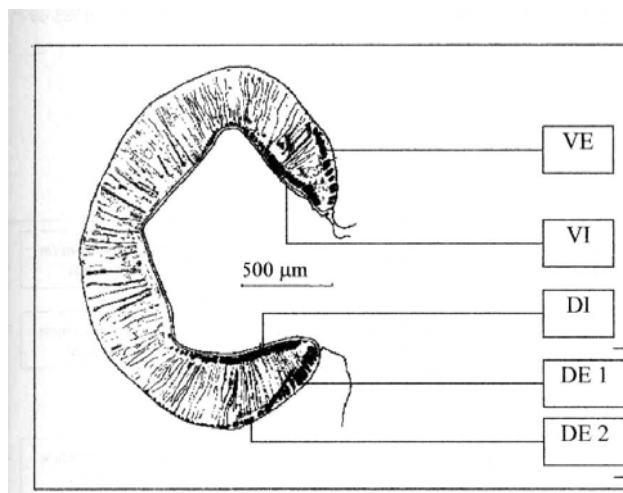


Figure 4.
Coupe médio-sagittale de
l'acétabulum du genre
Paramphistomum
(*P. togolense*)
(ALBARET *et al.*, 1978).

Muscles circulaires
DE : Dorsaux externes.
DI : Dorsaux internes.
VE : Ventraux externes.
VI : Ventraux internes.

3.1.2.2. A partir des formes larvaires :

Compte tenu des nombreux travaux, mais néanmoins contradictoires, la plupart des auteurs se sont attelés à mettre en place une classification en envisageant, non seulement les aspects morphologiques des adultes, mais également ceux des formes larvaires et des critères écologiques, biologiques ou iso-enzymologiques. L'étude de la chétotaxie larvaire s'inscrit également dans ce sens (POSTAL, 1984).

Cette méthode d'identification a été faite en utilisant la coloration au nitrate d'argent selon LYNCH (1933) et, plus récemment, selon COMBES *et al.* (1976).

3.1.2.2.1. Le miracidium :

C'est le premier stade larvaire, obtenu juste après l'éclosion de l'œuf dans le milieu extérieur. Compte tenu de l'importance de ce stade dans la différenciation des genres présents dans le rumen (*Paramphistomum*, *Cotylophoron* et *Calicophoron*), un développement de ce paragraphe s'avère nécessaire.

Sans préparation, le miracidium de *Paramphistomum* sp. est peu différenciable des miracidiums d'autres espèces. Il mesure environ 200 à 225 µm de long sur 65 à 70 µm de large (GRETERLAT, 1958, cité par EUZEBY, 1971). Son organisation interne apparaît extrêmement complexe (voir la figure 5, page 10).

Après coloration vitale, on distingue clairement les cils vibratiles qui le recouvrent. Après coloration au nitrate d'argent selon LYNCH (1933) ou COMBES *et al.* (1976), le trait caractéristique du miracidium dans le genre *Paramphistomum* est la présence de 20 cellules épidermiques réparties en 4 étages comprenant d'avant en arrière 6, 8, 4 et 2 cellules par comparaison avec le miracidium de *Fasciola hepatica* d'après FONTENEAU en 1979 (voir les figures 6 et 7, page 10).

3.1.2.2.2 : Le sporocyste (deuxième stade larvaire) :

Lors de sa pénétration dans le mollusque, le miracidium se débarrasse de ses cellules épidermiques et donc de sa ciliature pour se transformer en un sporocyste.

Certaines structures du miracidium (taches oculaires, glande adjacente et glandes latérales) persistent encore quelques jours avant de disparaître. Le sporocyste prend une forme en V ou oblongue, et s'accroît en taille.

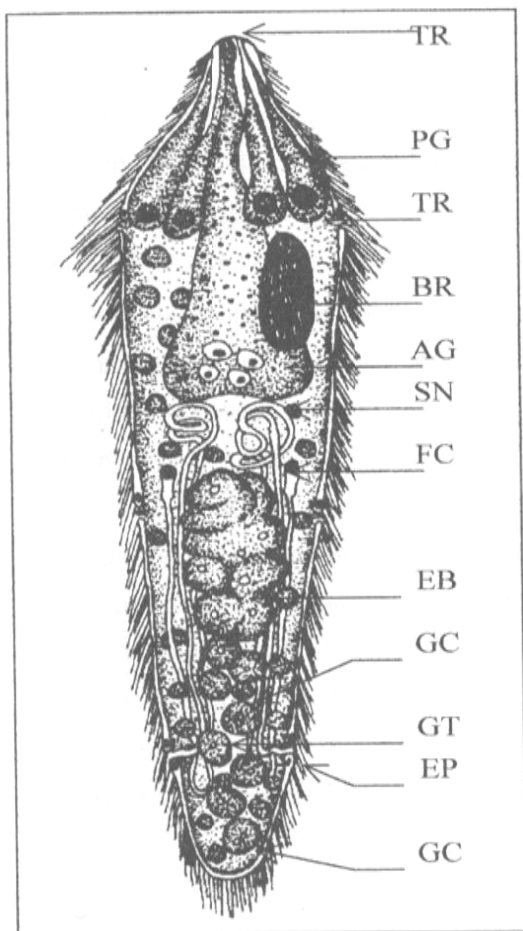


Figure 5.
Structure anatomique du miracidium de
Paramphistomum daubneyi
(SEY, 1979).

- AG : Glande apicale.
- BR : Cerveau.
- EB : Morula en développement.
- EP : Pore excréteur.
- FC : Cellule flamme.
- GC : Cellule germinale.
- GT : Tissu germinal.
- PG : Glande de pénétration.
- SN : Noyau épithélial.
- SP : Papille sensorielle.
- TR : Tébratorium.

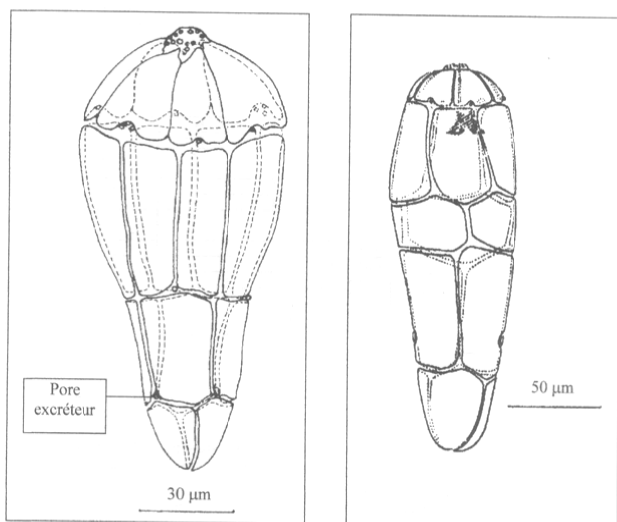


Figure 6 (à gauche).
Structures argyrophiles du
miracidium chez *P. daubneyi*
(SAMNALIEV *et al.*, 1981) :
4 rangées de cellules épidermiques.

Figure 7 (à droite).
Structures argyrophiles du
miracidium chez *F. hepatica*
(d'après ALBARET *et al.*, 1967,
cité par JOLY, 1991) :
5 rangées de cellules épidermiques.

Ces cellules germinales se multiplient et donnent naissance à des morulas (boules de cellules germinales), puis à des embryons dont la plupart donnent des rédies. Par exemple, chez *P. togolense*, (voir la figure 8, page 12), le sporocyste, observé 10 et 14 jours après l'infestation, contient une trentaine de morulas indifférenciées pour la plupart. (ALBARET *et al.*, 1987). Chez *P. daubneyi*, le sporocyste atteint une longueur de 600 à 700 µm et une largeur de 200 à 260 µm entre le 8^{ème} et le 10^{ème} jour post-exposition.

3.1.2.2.3. La rédie (troisième stade larvaire) :

Les rédies se développent chez l'hôte intermédiaire à partir des morulas présentes dans le sporocyste âgé de quelques jours. Leur taille présente de très grandes variations interspécifiques et, également, selon le degré de maturité des rédies.

Leur structure interne comporte plusieurs appareils (digestif, excréteur, germinal et un centre nerveux : figure 9, page 12).

Chez *P. daubneyi*, les jeunes rédies mesurent 100 à 200 µm sur 80 à 190 µm. Celles qui sont matures sont plus grandes : 458 µm à 680 µm de longueur et 180 à 250 µm de largeur (SEY, 1979).

Elles sont plus petites que les sporocystes et de forme allongée. Deux générations distinctes de rédies caractérisent *P. daubneyi* (ABROUS *et al.*, 1997, 1999a). On retrouve le même nombre chez *P. phillerouxi* (DINNIK, 1962) et *P. sukari* (DINNIK et DINNIK, 1954). Par contre, on note jusqu'à quatre générations chez *P. microbothrium* (DINNIK et DINNIK, 1954, 1957) et cinq chez *P. cervi* (KRANEBURG, 1977).

3.1.2.2.4. La cercaire (quatrième stade larvaire) :

A l'opposé de celle des miracidiums, la distribution des récepteurs sensoriels sur les cercaires varie selon les espèces (voir la figure 10, page 12). L'étude de leur répartition permet la diagnose différentielle des espèces entre elles (POSTAL, 1984).

Les cercaires de paramphistomes ont été décrites sous le nom de *Cercaria pigmentata* par SENSINO en 1892 (cité par BUTLER et YEOMAN, 1962) en raison de leur teneur en pigments, notamment dans la région oculaire. Le corps cercarien est rempli de cellules cystogènes à bâtonnets qui lui confèrent sa couleur brune. Elles se différencient ainsi des cercaires de *Fasciola* sp., lesquelles sont plus claires et sans taches oculaires (ODENING et SAMNALIEV, 1987).

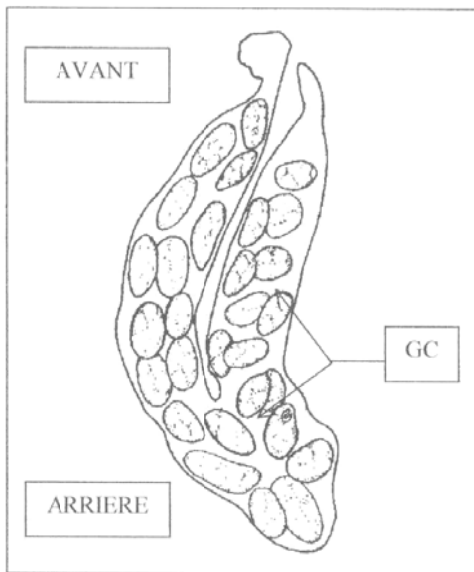


Figure 8.
Morphologie du sporocyste
de *P. togolense* âgé de 10 jours
(ALBARET *et al.*, 1978).
(GC : Cellules germinales).

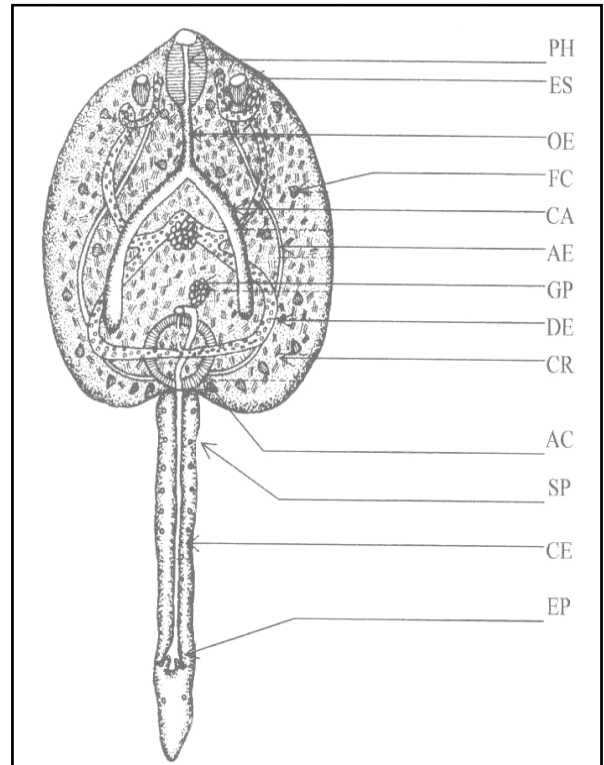


Figure 10.
Structure anatomique de la cercaire
de *P. daubneyi* (SEY, 1979).

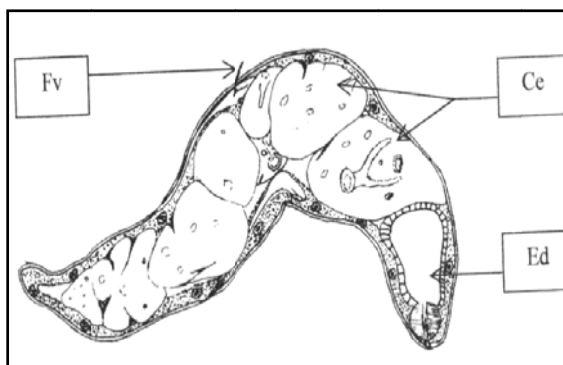


Figure 9.
Schéma d'une rédie de *P. cervi*
(JOLY, 1991).
Ce : cercaire. Ed : ébauche digestive.
Fv : Cellule à flamme vibratile.

AC : Acétabulum. AE : Canal excréteur ascendant.
CA : Caecum. CE : Canal excréteur caudal.
CR : Cellule cystogène. DE : Canal excréteur descendant. ES : Spot oculaire.
FC : Cellule flamme. GP : Cellules germinales primordiales. OE : Œsophage. PH : Pharynx.
SP : Papille sensorielle.

L'absence de diverticules pharyngiens permet également de les distinguer des cercaires de paramphistomes se développant chez les Batraciens (POSTAL, 1984).

Après coloration au nitrate d'argent, les papilles sensorielles apparaissent sous forme de petits cercles bruns (RICHARD, 1971, cité par PINO DE MORALES, 1983). Les différentes régions de la cercaire sont identifiées par des lettres (POSTAL, 1984 ; GILL et BALI, 1988) :

- C pour la région céphalique,
- A et M pour la région corporelle,
- S pour l'acétabulum,
- U pour la région caudale.

La chétotaxie de la cercaire de *P. togolense* est la première à avoir été étudiée.

Cette méthode fournit plusieurs arguments qui réfutent l'appartenance des espèces suivantes : *P. phillerouxi*, *P. daubneyi* et *P. microbothrium* au genre *Calicophoron* comme l'ont proposé EDUARDO (1982) et SAMNALIEV *et al.* (1986).

La chétotaxie des cercaires de *Paramphistomum* est actuellement connue chez six espèces : *P. daubneyi*, *P. leydenii*, *P. microbothrium*, *P. microbothrioïdes*, *P. phillerouxi* et *P. togolense* (ALBARET *et al.*, 1978, 1981 ; SAMNALIEV *et al.*, 1981, 1986 ; DIAW *et al.*, (1983, 1988). Cette technique a permis de différencier des espèces de paramphistomes dont la détermination des formes adultes faisait l'objet de confusion.

De nos jours, avec l'avènement des techniques de biologie moléculaire telles que la PCR et ses variantes, il est nettement plus aisé de procéder à cette identification car ces méthodes, certes lourdes financièrement et très élaborées, sont basées sur des études de l'ADN et, par conséquent, offrent plus de précision quant à l'identification de l'espèce.

3.2. Synonymies :

Contrairement à *F. hepatica*, où la nomenclature est clairement définie depuis Linné, plusieurs synonymes ont été employés pour dénommer les diverses espèces de paramphistomes.

A titre d'exemple, nous rapportons ci-dessous la liste que SEY (1987) a établie dans sa revue pour *P. daubneyi* (voir le tableau II, page suivante).

Tableau II.
Synonymes donnés à *P. daubneyi* par différents auteurs
(d'après SEY, 1979 et POSTAL, 1984).

Synonymes de <i>P. daubneyi</i>	Références
<i>Calicophoron ijimai</i> Näsmark, 1937	MIHAILOVA <i>et al.</i> , 1974
<i>Cotylophoron cotylophorum</i> Benett, 1936	GENTILE <i>et al.</i> , 1977
<i>Paramphistomum bothriophoron</i> Braun, 1892	MIHAILOVA <i>et al.</i> , 1974
<i>Paramphistomum clavula</i> Näsmark, 1937	MIHAILOVA <i>et al.</i> , 1974
<i>Paramphistomum microbothrium</i> Fischoeder, 1901	KOTLAN, 1958 ; GENOV, 1971 ; VISHNYAKOV <i>et al.</i> , 1971 ; KORTLA <i>et al.</i> , 1974 ; KAMBUROV et OSSIKOVSKI, 1976 ; VASSILEV et SAMNALIEV, 1974, 1978.
<i>Paramphistomum microbothrioides</i> Price et McIntosh, 1944	KOTLAN, 1958 ; ERHARDOVA, 1964.



Planche A.
Photographies de *P. daubneyi* adultes
(source : <http://www.parma.unilim.fr>).
Consulté le 15/10/2012.

3.3. Morphologie :

Le corps est épais, conique ou piriforme, et légèrement incurvé. Les dimensions sont les suivantes : de 6 à 10 mm de longueur sur 1,5 à 3 mm de largeur et 5 mm d'épaisseur. L'extrémité antérieure est amincie.

Le corps possède une ventouse buccale et un acétabulum (ventouse postérieure) situé en position terminale, ce qui évoque deux bouches. La ventouse buccale, représentée par l'origine du pharynx puissant, comporte 1 à 3 couches musculaires, pourvues ou non d'un bulbe. Les caecums sont non ramifiés et s'étendent le plus souvent jusqu'à l'extrémité postérieure du corps. L'ovaire est rétro-testiculaire et les glandes vitellogènes sont alignées tout au long de la longueur du corps. La planche A montre, à droite, la taille et l'aspect général des parasites adultes.

3.4. Répartition géographique :

Les données sur ce point sont peu nombreuses. Cette parasitose revêt une grande importance dans les pays tropicaux (Figure 11, page 16) où les espèces d'amphistomes sont nombreuses et les infestations souvent massives (BUSSIERAS et CHERMETTE, 1995).

Ces parasites sont beaucoup plus rares dans les pays tempérés mais ils sont parfois à l'origine de troubles possibles chez tous les ruminants. On les trouve dans plusieurs pays européens : Allemagne, Bulgarie, Canada, France, Grèce, Hongrie, Italie et République tchèque (DINNIK, 1962 ; SEY, 1974 ; BOUVRY et RAU, 1984). On pensait que la parasitose était spécifique des régions chaudes et tropicales, ou tout au moins qu'elle était retrouvée dans la moitié sud du globe. Mais depuis quelques années, des cas ont été signalés dans les zones nord du globe (Angleterre : FOSTER *et al.*, 2008) et parfois même dans des régions très proches des zones polaires (Irlande ; MURPHY *et al.*, 2008).

Malgré l'observation précitée, ce sont les pays tropicaux qui restent les plus touchés et qui présentent une grande variété de parasites. La maladie y évolue d'une façon enzootique et peut même prendre une allure épizootique.

Par contre, elle évolue d'une manière sporadique (ou enzootique) dans les pays européens où le nombre d'espèces de paramphistomes est réduit : seulement sept dans cette zone. En France, des cas ont été signalés dans plusieurs régions, notamment la Vendée (POSTAL, 1984), la Saône-et-Loire (DEGUEURCE, 1998), le Limousin (SZMIDT-ADJIDE, 1996), la Haute-Loire et la Nièvre (GRABER *et al.*, 1980).

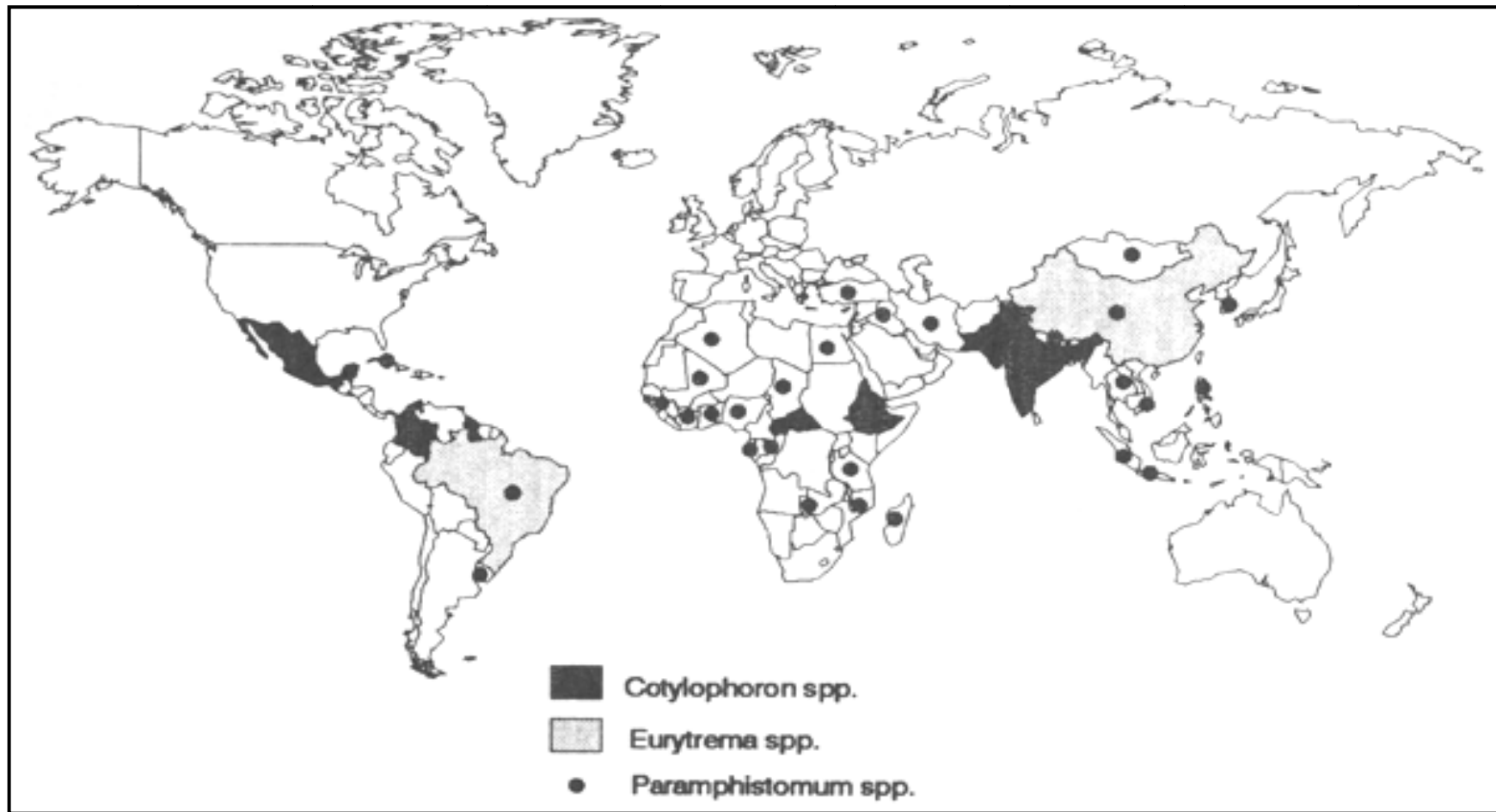


Figure 11.
Répartition géographique des différents paramphistomes.
(source : <http://www.fao.org/DOCREP/004/T0584E.gif>).
(Consulté le 15/10/2012).

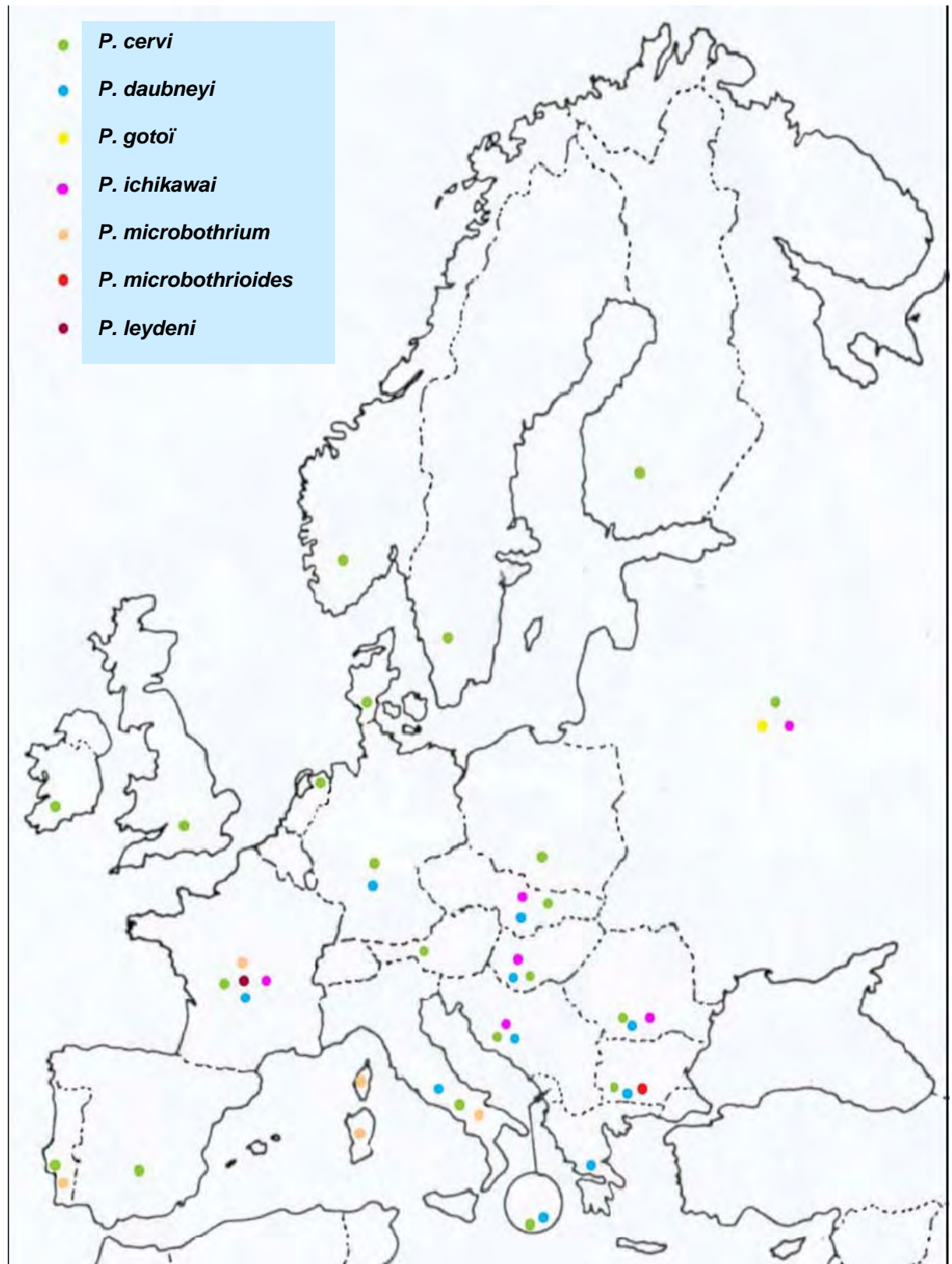


Figure 12.
Répartition des différentes espèces de paramphistomes
par pays en Europe
(d'après RIEU, 2004).

Cette parasitose est cosmopolite et des cas ont été rapportés un peu partout dans le monde comme en Asie (Inde : TARIQ *et al.*, 2008 ; Vietnam : GEURDEN *et al.*, 2008) et en Afrique (Nigeria : DUBE *et al.*, 2005). Depuis un certain nombre d'années, la réémergence de cette parasitose, particulièrement en Europe, commence à devenir fortement préoccupante (ALZIEU *et al.*, 2007). Des pays tels que l'Irlande, jusque-là non concernée, commencent à relever des cas de paramphistomose (DE WAAL, 2010). LOSSON *et al.* ont décrit en 1998 le premier cas de paramphistomose bovine dans la province de Liège (Belgique). Ainsi, la répartition de cette parasitose est mondiale, mais les pays tropicaux restent les plus touchés et présentent une grande variété de parasites tel que *P. daubneyi*, *P. microbothrium*, *P. sukari* et *P. togolense*, pour ne citer que ces exemples. On note que l'Afrique et l'Asie (surtout l'Inde) sont les régions les plus sévèrement touchées et cette parasitose y évolue d'une façon enzootique et parfois même épizootique. En France, cinq espèces ont été signalées : *P. cervi*, *P. daubneyi*, *P. gotoï*, *P. ichikawai* et *P. microbothrium*, auxquels on ajoute une sixième espèce, à savoir *P. leydeni* d'après RIEU *et al.* en 2004 (voir la figure 12, page 17).

4. Biologie du parasite :

4.1. Localisation et nutrition :

Les adultes vivent dans le rumen et le réseau des ruminants, fixés à la paroi par leurs ventouses postérieures. Ils sont pratiquement non pathogènes et se nourrissent du contenu des réservoirs gastriques car ils sont peu hématophages (BUSSIERAS et CHERMETTE, 1995).

Les stades immatures se trouvent dans les premières portions du duodénum et de la caillette. Ils sont, soit accrochés par leur acétabulum, ou enfoncés dans la muqueuse. C'est dans ces portions que les vers acquièrent leur maturation sexuelle avant d'entreprendre une migration rétrograde vers les pré-estomacs, à l'exception de *P. ichikawai* qui achève sa migration au niveau de la caillette. (BORAY, 1969 ; ROLFE et BORAY, 1991).

Chez l'hôte intermédiaire, les formes larvaires se développent dans l'hépatopancréas (glande digestive).

A la fin de cette migration, les adultes se fixent sur la muqueuse du rumen et du réseau par leur acétabulum. Cependant, il existe de rares cas chez *P. microbothrium* où les adultes sont enfoncés dans la sous-muqueuse ruménale de bovin (DINNIK *et al.* en 1962, cité par EUZEBY, 1975).

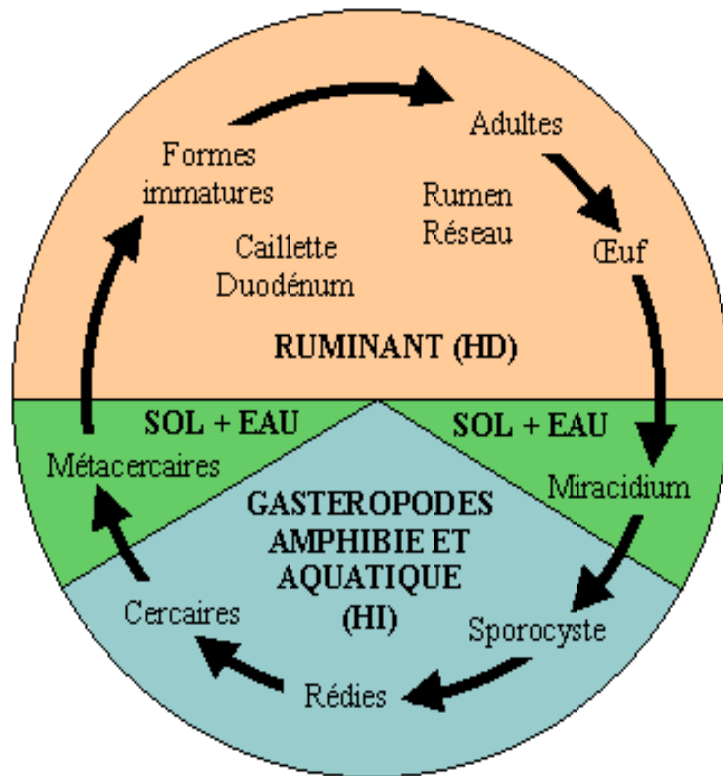


Figure 13.
 Cycle évolutif des espèces du genre *Paramphistomum*
 (source : <http://www2.vet-lyon.fr/edu/copro/diagnostic.gif>).
 Consulté le 15/10/2012.

Les formes immatures sont hématophages et s'enfoncent dans la muqueuse digestive ce qui peut entraîner des hémorragies (action térébrante). Il faut noter que l'hématophagie ne constitue pas le mode essentiel de nutrition des paramphistomes adultes comme en atteste la structure de leurs caecums simples et non ramifiés (à l'inverse de ceux de *F. hepatica* où ceux-ci sont ramifiés et dichotomisés afin d'offrir une forte surface d'absorption).

4.2. Cycle évolutif :

Le cycle nécessite deux hôtes (voir la figure 13). L'un (hôte définitif) héberge le parasite adulte tandis que le second (hôte intermédiaire) assure le développement des formes larvaires (aussi appelées parthenitae). Le cycle est donc dixène (SOULSBY, 1982 ; SZMIDT-ADJIDE, 1996 ; DORCHIES *et al.*, 2000).

4.2.1. Les étapes du cycle :

4.2.1.1. Description :

Le cycle de *Paramphistomum* ressemble énormément à celui de *F. hepatica*. Par contre, sa durée d'évolution et les délais de passage d'une étape à l'autre diffèrent d'une espèce à l'autre. Il existe quatre étapes avec deux libres qui se déroulent dans le milieu extérieur (voir la figure 13, page précédente, avec les zones vertes) et deux autres (phases parasitaires) qui ont lieu respectivement chez les deux hôtes précités (zones rose et bleue).

- *i*) Première étape endogène. L'hôte définitif (différentes espèces de Mammifères) s'infeste en ingérant des métacercaires avec la végétation dans les prairies humides. La période prépatente est de trois mois et se termine par la présence d'œufs embryonnés dans les fèces du Mammifère.

- *ii*) Seconde étape exogène. La période d'incubation des œufs dépend de la température ambiante. Par exemple, elle est de 20 jours à 20° C (OLLERENSHAW, 1971). Le miracidium, qui en sort, nage dans l'eau grâce à ses cils vibratiles et doit impérativement rencontrer rapidement son hôte, à savoir un mollusque amphibie ou aquatique : limnées, bulins ou planorbes (BUSSIERAS et CHERMETTE, 1995). Si cela ne se produit pas, le miracidium finira par perdre de son pouvoir infectant et mourra au maximum après 24 heures.

- *iii*) Troisième étape endogène. Elle a lieu à l'intérieur du mollusque hôte. Le miracidium se débarrasse de sa structure ciliée et se transforme en sporocyste qui migre dans les espaces hémolymphatiques du mollusque pendant quelques jours avant de se fixer. Deux semaines plus tard, il forme des rédies de première génération et celles-ci produisent à leur tour des rédies de deuxième génération et ainsi de suite selon l'espèce du paramphistome. Les rédies produisent des cercaires.

- *iv*) Quatrième étape exogène. Après deux mois d'évolution dans le mollusque, les cercaires vont être émises sous l'action de la température et de la lumière. Il s'agit, en fait, d'une sortie active dans le milieu aquatique où les cercaires nagent rapidement (POSTAL, 1984) pendant 20 à 30 min avant de s'enkyster en 30 à 40 min sur un support végétal pour se transformer en métacercaires infestantes.

Pour résister aux agressions du milieu extérieur, les métacercaires secrètent un kyste à deux couches. Il n'a pas été décrit de kystes flottants dans le cas de la paramphistomose à l'inverse de ce qui existe dans le cycle de la fasciolose.

Une fois avalées par l'animal, les métacercaires passent d'abord par le rumen, puis la caillette pour atteindre ensuite les premières portions de l'intestin grêle de l'hôte. Lorsque les métacercaires se désenkystent dans l'abomasum, elles ne tardent pas à quitter ce dernier pour migrer vers le duodénum car elles ne supportent pas l'acidité de ce milieu. Elles se fixent à la muqueuse duodénale, ou s'enfoncent dans la sous-muqueuse où elles se nourrissent de cellules épithéliales entourant les glandes de Brünner. SEY (1979) indique que la capacité de désenkystement des métacercaires apparaît lorsqu'elles sont âgées d'une semaine au moins.

Les pré-adultes, une fois arrivés à une certaine maturation dans le duodénum, vont entamer une migration rétrograde pour s'installer définitivement dans le rumen et le réseau. La période de migration peut varier d'une espèce à l'autre : de 10 à 35 jours pour *P. microbothrium*, mais parfois elle peut prendre plusieurs semaines (HORAK, 1971). Un retard dans la migration des paramphistomes peut survenir et cela peut s'expliquer par un retard de croissance du parasite, ou peut-être un état d'immunité ou de prémunition.

La période prépatente varie d'une espèce à l'autre (entre 77 et 87 jours : POSTAL, 1984 ; RIEU, 2004). Chez les adultes, des fluctuations dans la ponte ont été enregistrées au cours de la journée avec une diminution au cours de l'après midi (RIEU, 2004).

4.2.1.2. Facteurs influençant le cycle :

Le bon déroulement du cycle biologique des espèces du genre *Paramphistomum* ne dépend pas uniquement de l'hôte intermédiaire ou définitif, mais il fait intervenir d'autres facteurs environnementaux tels que la température la lumière et le climat.

4.2.1.2.1. La température :

C'est un facteur qui agit en même temps sur l'hôte intermédiaire et le développement embryonnaire des œufs. Les mollusques ne sont actifs qu'au dessus de 10° C pour *Lymnaea truncatula* et en dessous d'une valeur maximale limite (40° C). Ce n'est donc qu'entre ces deux limites de température que le miracidium pourra infester le mollusque.

L'éclosion des miracidiums dépend de la température du milieu. Ces derniers ne peuvent éclore qu'à partir de 13° C. Plus la température du milieu est basse, plus la période d'incubation est longue et l'éclosion retardée. Prenons l'exemple de *P. petrowi*. Ce dernier, met huit jours de développement à 30° C, 14 jours à 26° C ou 27° C, et 40 jours à 18° C. La température a aussi une grande influence sur le développement des autres stades larvaires ainsi que sur l'enkystement et la survie des métacercaires (RIEU, 2004).

L'émission cercarienne est optimale lorsque la température est comprise dans un intervalle spécifique, lequel varie selon les espèces de parasites. Ainsi pour les cercaires de *P. cervi*, elle est comprise entre 29° et 32° C. Pour celles de *P. microbothrium*, elle se situe entre 26° et 29° C (EUZEBY, 1975).

Des travaux ont été menés par plusieurs auteurs (ABROUS *et al*, 1999a, b, c) sur l'influence des fluctuations thermiques sur l'émission cercarienne de *P. daubneyi* chez *Galba truncatula*. Ces résultats montrent que la chute brutale et temporaire de la température, qui a lieu au cours de la nuit dans les conditions naturelles, provoque un stress et induit la sortie des cercaires.

4.2.1.2.2. La lumière :

L'éclosion des œufs dépend de l'intensité de la lumière : elle est indispensable. Elle réduit aussi la durée de vie du miracidium (POSTAL, 1984). Plus la lumière est intense, plus l'émission des cercaires est importante.

De nombreux auteurs comme LENGY en 1960 (cité par MAGE et DORCHIES, 1998), BUTLER et YEOMAN en 1962, HORAK en 1967 ou LEVASSEUR et ALZIEU en 1991 ont pu noter que des mollusques placés dans l'obscurité émettaient un nombre réduit de cercaires alors que l'émission était massive dans l'heure qui suivait l'exposition des mollusques à la lumière directe du jour (RONDELAUD *et al.*, 2002).

4.2.1.2.3. L'eau :

Comme les hôtes intermédiaires des paramphistomes sont des mollusques qui sont aquatiques ou amphibies, l'eau ne peut que représenter un facteur déterminant pour le cycle et est un élément indispensable pour la croissance de ces hôtes et le développement des stades larvaires libres du parasite (miracidiums, cercaires). En effet, le développement embryonnaire débute lorsque les œufs sont libérés dans les matières fécales (SMART et REINDERCRE en 1962, cité par HORAK, 1971) après que ces dernières aient été délitées par l'eau (SMITH et GRENFELL, 1984).

2.1.2.4. Le climat :

Le climat agit sur le cycle par l'action conjuguée de la température et de la pluviométrie. Il conditionne la répartition des hôtes intermédiaires. Par exemple, pour *P.*

microbothrium, les bulins, principaux hôtes intermédiaires de cette espèce, ne se trouvent que dans la zone méridionale de l'Europe et sous les tropiques. Il conditionne aussi leur extension locale par les inondations (POSTAL, 1984)

Ces facteurs associés vont avoir une influence saisonnière sur la durée de développement du miracidium : 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 (DORCHIES *et al.*, 1998).

Des travaux réalisés au Mexique par RANGEL-RUIZ *et al.* (2003) ont montré que la prévalence de la paramphistomose variait considérablement selon les saisons (de 3,54 à 96,6 %). Des travaux réalisés sur des bovins en Espagne (DIAZ *et al.*, 2007a, b) ont précisé les périodes à haut risque d'infestation, ainsi que les saisons durant lesquelles la parasitose voit sa prévalence augmentée (septembre et mars), mais cela reste fortement lié au climat de chaque année.

5. Les hôtes intermédiaires :

Ce sont des Mollusques Gastéropodes d'eau douce et plus précisément des Pulmonés Basommatophores (les yeux sont portés à la base des tentacules aplatis et triangulaires). Ils appartiennent aux familles des Bulinidés, des Lymnaeidae et des Planorbidae (voir la planche B, photographies 1, 2 et 3 sur la page suivante).

Toutes ces espèces vivent dans les eaux douces (mollusques dulçaquicoles) et peuvent respirer en utilisant l'oxygène atmosphérique grâce à leur poumon (d'où le nom de Pulmonés). Pour certains paramphistomes, les hôtes intermédiaires sont très nombreux (principalement *P. cervi*) et parfois sont communs avec d'autres espèces. Certains paramphistomes comme *P. daubneyi* ont des hôtes intermédiaires peu nombreux (POSTAL, 1984).

Certains hôtes intermédiaires sont très spécifiques du parasite. On sait que les Trématodes sont assez bien adaptés à leurs hôtes. Par exemple, *F. hepatica* ne se développe que chez *G. truncatula* et dans certaines conditions chez d'autres limnées (mollusques jeunes) mais avec un taux d'infestation beaucoup plus faible (MAGE et DORCHIES, 1998).



Planche B

Spécimens de trois genres de Mollusques dulçaquicoles, vecteurs potentiels de la paramphistomose.

1 : *Galba truncatula*. 2 *Bulinus truncatus*. 3 : *Planorbis planorbis*.
(Source : [http://www. Pharma-unilim.fr](http://www.Pharma-unilim.fr) (le 15 Octobre 2012.)

P. daubneyi a, d'ailleurs, un comportement semblable (POSTAL, 1984). Deux espèces de paramphistomes semblent présenter une spécificité d'hôte certaine. *P. daubneyi* se développe essentiellement chez *G. truncatula* et, à un degré moindre, chez *Radix peregra* (avec une prévalence de 3 à 5 % d'après SEY, 1979). *P. microbothrium* semble également inféodés à *Bulinus truncatus* dans les régions où celui-ci existe.

A l'inverse, *P. cervi* et, dans une moindre mesure, *P. ichikawai* ont de nombreux hôtes dans le genre *Anisus* (Planorbidés) dont certains leur sont communs (DEGUEURCE, 1998). En raison de la complexité de la systématique des paramphistomes et des difficultés d'identification des espèces, on peut émettre l'hypothèse qu'il existerait des espèces non différenciées ou des souches spécifiques d'un hôte donné qui sont encore toutes confondues sous un même nom.

Les différentes espèces de paramphistomes recensées permettent le développement larvaire du parasite avec des modalités d'infestation qui sont propres à chaque espèce. C'est ainsi que le nombre de générations rédiennes peut changer d'une espèce de paramphistome à une autre (ABROUS *et al*, 1999d, 2000).

5.1. Famille des *Bulinidés* :

Ce sont des mollusques strictement aquatiques, à coquille ovoïde, à enroulement senestre (ouverture à gauche), toujours plus haute que large, en cône inversé, ovale ou presque cylindrique et turrulée. Chaque coquille comprend de 4 à 5 tours de spire. L'ouverture est haute et large pour les formes à spire basse alors qu'elle est plus étroite chez les mollusques à spire haute. Le bord columellaire est évasé et recourbé. La couleur de la coquille est variable, souvent brune plus ou moins claire. A sa surface, on observe des sculptures formées de lignes

de croissance transversales, surtout sur les tours de spires. Un seul genre mérite d'être mentionné : c'est le genre *Bulinus*.

Le sous-genre *Bulinus* sensu stricto (ou *Isidora*) possède une columelle droite légèrement tordue. Il comprend deux groupes : *i) tropicus* avec une coquille brune mesurant de 7 à 17 mm, et *ii) truncatus* dont la coquille jaunâtre mesure 10 mm. Mais la distinction reste difficile entre les deux groupes d'un point de vue morphologique.

Deux autres sous-genres ont également été décrits : *Physopsis* avec une columelle tronquée vers le bas et pourvue d'une lamelle, et *Pyrgophysa*, sans lamelle.

Tous ces bulins sont susceptibles à des degrés divers de servir d'hôte intermédiaire à *P. microbothrium*, les vecteurs essentiels étant *B. tropicus* dans l'hémisphère sud et *B. truncatus* dans l'hémisphère nord. DUNCAN (1975) a noté deux générations annuelles de bulins. Cela a été également observé en Afrique du Nord et probablement dans les autres régions circumméditerranéennes, car les canaux d'irrigation se dessèchent au cours de l'hiver et les températures sont plus favorables pour le développement des mollusques au printemps.

Ce bulin est fortement incriminé dans la transmission d'une autre trématodose plus dangereuse pour l'homme, à savoir la bilharziose causée par *Schistosoma haematobium*. Cette parasitose est assez répandue dans les pays tropicaux et particulièrement chez les enfants (CISSE *et al.*, 2008 ; ZISKIND, 2009 ; ABDOU *et al.*, 2012 ; DIALLO *et al.*, 2012).

5.2. Famille des Planorbidés :

Ce sont des mollusques à coquille discoïde, à enroulement senestre et spiralé dans un plan. Ils vivent dans des eaux douces et saumâtres, stagnantes ou animées d'un léger courant, et très riches en végétation. Ils peuvent aussi vivre dans les zones marécageuses (DORCHIES *et al.*, 2002a). Ils se nourrissent essentiellement d'algues, de plantes aquatiques et de matières végétales en décomposition. Parmi toutes ces espèces, deux d'entre elles sont intéressantes :

- *Planorbis planorbis* existe en Afrique du Nord et dans la partie est de l'Asie. Son espérance de vie peut aller de 3 à 4 ans. Cette espèce vit dans des eaux relativement calmes à végétation fournie et à fond boueux. Les œufs éclosent en 11 à 14 jours à une température de 20° C. Les jeunes mollusques naissent en février, pondent des œufs qui seront à l'origine d'une autre génération en juillet. Cette dernière hibernera et donnera naissance à la première génération de l'année suivante avant de mourir.

- *Planorbarius corneus* est plutôt une espèce d'Europe et d'Asie de l'ouest. La ponte commence chez cette espèce lorsque la température est supérieure à 12° C (DE SOUZA *et al.*, 1988).

5.3. Famille des Lymnaeids :

On dénombre plusieurs espèces dans cette famille mais la Limnée tronquée (*G. truncatula*) est sans aucun doute la mieux connue car c'est la plus étudiée par les malacologistes. La coquille de cette limnée est "oblongue, spiralée, avec 4 à 5 tours superposés, à enroulement dextre, à péristome simple et non échancré » (EUZEBY, 1975). Les tours de spire sont convexes et disposés en "marches d'escalier". L'ouverture est ovalaire. C'est une espèce qui est capable de vivre dans l'eau ou de ramper sur le sédiment émergé (amphibiose).

G. truncatula s'adapte très bien à la vie dans les cours d'eau, dits « assez calmes », dans lesquels le ruissellement n'est pas très rapide. Elle s'adapte aussi bien aux eaux propres et limpides qu'à celles qui sont assez sales ou souillées par les déchets ménagers.

La figure 14a (page suivante) montre les variations saisonnières de l'amphibiose dans une région à sol acide, à climat tempéré et à basse altitude. Selon RONDELAUD *et al.* (2009), jusqu'au mois de mars, le mollusque reste immergé (déplacements mineurs). Quand les températures baissent de façon importante (températures négatives), la limnée peut s'enfoncer partiellement dans le sédiment (hibernation). Au printemps, le mollusque s'émerge de plus en plus jusqu'à s'émerger totalement au début du mois de juin. Lors des fortes chaleurs (été), il se produit un dessèchement des biotopes : la limnée entre alors en léthargie (estivation). Le retour des pluies en août-septembre induit le phénomène inverse et la limnée reprend peu à peu son activité en s'immergeant de plus en plus longtemps.

La figure 14b montre l'amphibiose journalière du mollusque en période de vie active. A la fin du printemps, l'animal passe le plus gros de son temps en zone émergée, à la recherche de sa nourriture (à 2 cm de l'interface eau-sédiment). Cependant le mollusque effectue aussi de courts déplacements en milieu immergé. La nuit tombée, la limnée effectue son repos sur une zone émergée plus sèche située à 4-5 cm du bord de l'eau.

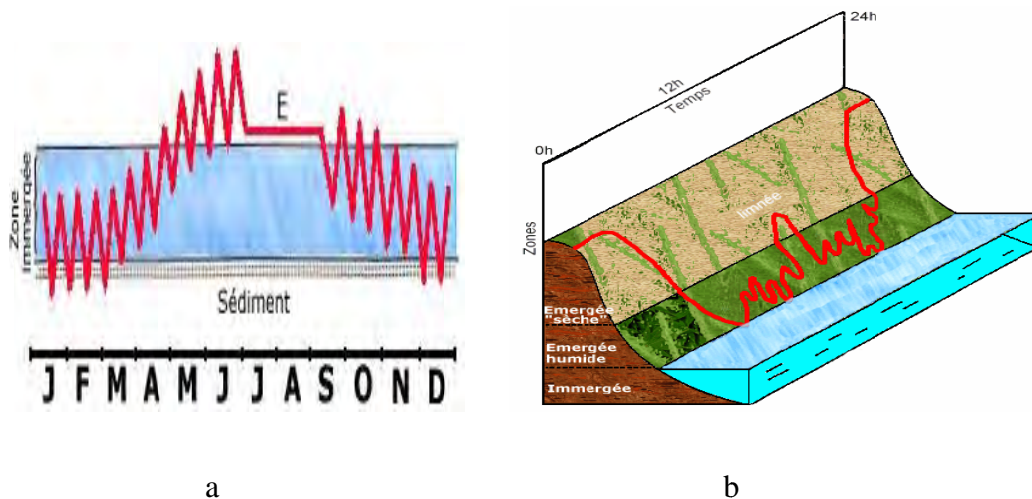


Figure 14.
 Les deux types d'amphibiose chez *G. truncatula* :
 au cours de l'année (a) et d'une journée durant la vie active (b)
 (selon RONDELAUD *et al.*, 2009).

Le paramètre altitude influe également sur les rythmes d'amphibiose chez le mollusque. Comme les habitats sont pérennes au-dessus de 1000 m d'altitude, les limnées sont plus aquatiques que leurs congénères de plaine.

6. Les hôtes définitifs :

La sous-famille des Paramphistominés se distingue des autres sous-familles de Paramphistomatidés par plusieurs caractères et notamment par le fait que ses membres sont parasites d'artiodactyles possédant un nombre pair de doigts à chaque patte (Ruminants, Porcins). SEY (1987) a établi une liste des ruminants domestiques et sauvages connus pour être des hôtes définitifs de certaines espèces de paramphistomes, à laquelle nous avons ajouté quelques données relatives à *P. phillerouxi*. (Voir Tableau en annexe). Dans le cas de *P. togolense*, l'hôte définitif reste inconnu à ce jour. Néanmoins, il a été expérimentalement prouvé que le mouton peut l'héberger (ALBARET *et al.*, 1978).

Il est encore difficile de déterminer la spécificité de l'hôte définitif vis-à-vis des paramphistomes. Si certains parasites peuvent se développer chez plusieurs espèces de ruminants, il est néanmoins clair aujourd'hui qu'ils sont plus adaptés à une espèce en particulier. En 1967, HORAK avait déjà noté qu'après l'infestation expérimentale d'ovins, de caprins et de bovins avec le même nombre de métacercaires de *P. microbothrium*, le pourcentage de vers adultes retrouvés dans le pré-estomac par rapport à la quantité de métacercaires administrées était, à terme, plus élevée chez les bovins. D'autre part, ces vers

adultes sont de plus petite taille chez les caprins que chez les bovins (DINNIK et DINNIK, 1957).

LEROUX en 1960 (cité par HORAK et CLARK, 1963) constate que des bovins, qui pâturaient avec des ovins atteints de paramphistomoses, ne semblaient pas affectés par la maladie. Le développement des paramphistomes varie donc selon l'espèce de l'hôte définitif. La longévité de *P. microbothrium* chez les bovins est, d'autre part, plus grande que celle observée chez les ovins et les caprins (HORAK, 1971).

ALABAY (1981) rapporte les résultats d'auteurs turcs qui affirment que les lapins pourraient assurer le développement de *P. cervi* sous sa forme adulte. La même constatation a été rapportée par SINGLA *et al.* (1998) en Inde.

Selon nos connaissances actuelles, l'homme ne semble pas être réceptif aux paramphistomes et aucun cas n'a été décrit dans la littérature. De ce fait, les paramphistomoses gastro-duodénales des ruminants ne sont pas des zoonoses (BEUGNET, 2000). Les animaux de laboratoire ne semblent pas réceptifs à la parasitose, mais SINGH *et al.* (1984) rapportent que le cobaye permet le développement de formes immatures de *P. explanatum* sans pour autant arriver à la forme adulte. BRUMPT (1936) n'a, cependant, pas réussi à infecter ce mammifère avec *P. microbothrium*.

Dans les pays à climat tempérés, la présence des parasites chez leurs hôtes définitifs passe souvent sous une forme insidieuse.

7. Epidémiologie :

7.1. Epidémiologie descriptive :

7.1.1. Caractéristiques des populations atteintes :

L'ensemble des ruminants domestiques et sauvages sont réceptifs aux paramphistomes. Ils peuvent constituer un bon réservoir de parasites. D'après leur cycle biologique, les paramphistomoses gastro-duodénales apparaissent comme des maladies de pâturage car les métacercaires (formes infestantes) sont ingérées lors de la consommation de l'herbe dans les prés ou lors d'ingestion de fourrage fauché.

Comme les hôtes intermédiaires ont une vie aquatique et que l'eau conditionne le cycle biologique des mollusques et des parasites, les populations de ruminants les plus

exposées sont celles qui évoluent sur les pâturages de zones humides (bords d'oued, zones à forte pluviométrie, marécages,...).

Des infestations à l'étable ont été signalées pendant les périodes de grand froid selon EUZEBY (1975), ce qui laisse supposer que des métacercaires pourraient résister dans le fourrage sec. POSTAL (1984) a relevé que des bovins élevés hors-sol pouvaient être infestés par ce parasite. On suppose que des métacercaires ont pu résister dans l'ensilage préparé à partir de l'herbe de marais qui servait d'aliment à ces animaux.

7.1.2. Répartition géographique de cette parasitose :

On peut attester de la présence du parasite dans une région à l'aide de divers moyens et méthodes comme *i*) l'examen nécropsique du tractus digestif à l'abattoir (CASSET en 1989 dans l'Allier, ou CHARTIER *et al.* en 1990 au Zaïre), *ii*) l'examen coproscopique (CAROFF, 1998) et *iii*) l'étude malacologique (POSTAL, 1984). En raison de la spécificité entre le parasite et son hôte, l'identification du gîte du mollusque peut faire suspecter la présence du parasite correspondant. L'étude de la carte du sol est également un bon moyen car si le sol est humide, c'est un outil fiable pour déterminer l'existence éventuelle du parasite. Enfin, la nature de la végétation est un bon indicateur pour détecter des gîtes à mollusques (MALONE *et al.* 1984-1985).

Les paramphistomoses gastro-duodénales sont cosmopolites. Des travaux récents menés en Uruguay (SANCHIS *et al.*, 2012) montrent que la parasitose sévissait dans des contrées jusque-là non explorées (province de Salto) à des taux non négligeables (7 %). En Espagne, la prévalence avoisine les 25 % en Galice (nord ouest du pays) selon les mêmes auteurs.

Dans les pays tropicaux, ces parasitoses sont présentes avec une prévalence de l'ordre de 50 % (POSTAL, 1984). Elles concernent une grande variété de parasites. Elles évoluent de façon enzootique et peuvent prendre une allure épizootique. Dans les pays à climat tempéré, elles sont beaucoup plus discrètes et peuvent être sporadiques ou enzootiques. Peu d'espèces de paramphistomes y ont été retrouvées.

7.1.3. Répartition dans le temps :

Les paramphistomoses gastro-duodénales sont des maladies à caractère saisonnier, notamment dans les pays tempérés. Le printemps et l'automne sont les plus favorables à l'infestation. Ces périodes de forte prévalence sont à corrélérer avec les conditions climatiques

qui sont nécessaires au bon déroulement du cycle, notamment la pluviométrie. En effet, celle-ci conditionne à la fois la biologie du parasite et celle de l'hôte intermédiaire. En voici des exemples :

- POSTAL (1984) a noté deux pics dans la prévalence (l'un en hiver, l'autre en été) en Vendée.

- Les études de SAHAY *et al.* (1989) sur les bovins de Bihar (Inde) ont montré une prévalence plus élevée en hiver (d'octobre à janvier) et pendant la mousson (de juillet à septembre) par rapport à l'été (avril-juin) et au printemps (février-mars). Les valeurs respectives sont 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, entre le printemps 1983 et l'été 1985, une étude de la prévalence a été entreprise sur des veaux provenant de prairies contaminées. A l'abattage, la charge parasitaire dans les panses montrait un pic au milieu et à la fin de l'été, puis un second à la fin de l'automne et au début de l'hiver (saison des pluies et des inondations) d'après ROLFE et BORAY (1988).

- Plus récemment, DIAZ *et al.* (2007b) ont montré dans le nord-ouest de l'Espagne que l'altitude, en plus du climat, influence la prévalence de la paramphistomose et que celle-ci est relativement plus élevée dans les zones où l'altitude dépasse les 600 mètres. Dans le nord de l'Ethiopie, SISSAY MENCHIR *et al.* (2007) ont constaté que les plus hautes prévalences de la trématodose se situaient dans les trois mois qui suivent la saison des pluies.

7.1.4. Importance économique :

L'incidence économique des paramphistomoses gastro-duodénales est surtout basée sur deux critères (mortalité, baisse de production). Ce sont les formes immatures qui causent la mortalité. Des études menées au Nigeria (CADMUS *et al.*, 2009) montrent un taux de mortalité très élevé dans le cheptel (35 %). En Inde, une mortalité moyenne de 27,7 % a été rapportée (SAHAY, 1989). Par contre, en Pologne, elle est inférieure à 10 % (ANCZYKOVOSKI et CHOWANIEK en 1969, cité par ROLFE et BORAY, 1993). C'est en Afrique du Sud qu'ont été rapportés les plus hauts taux de mortalité (40 % selon BORAY, 1982).

En France, aucune valeur n'est disponible à ce sujet. DORCHIES *et al.* (2002b) notent des cas de mortalité plus ou moins rapide chez des broutards en Côte d'Or, dans l'Eure et dans l'Allier. La mortalité est rare en pays tempérés et les pertes économiques sont plus liées aux baisses de production. Les animaux atteints de paramphistomose pré-imaginaire sont fortement dépréciés au point d'en devenir des non-valeurs économiques lors d'infestations

importantes (RIEU, 2004). Le premier cas clinique de la forme imaginaire, rapporté par MAROTEL et GRATECOS (1938) en France remonte à plus de quatre-vingt ans. D'autre part, les travaux qui abordent cet aspect, restent assez rares car il est très difficile d'estimer les mortalités causées par la paramphistomose car les animaux présentent souvent un polyparasitisme. Les pertes sont beaucoup moins évidentes lorsque l'animal présente une infestation parasitaire subclinique (DORCHIES, 1998). En 2004, RIEU rapporte que des infestations expérimentales (500 à 9.600 métacercaires de *P. daubneyi*) engendraient des pertes de poids allant de 25 à 36 % chez les agneaux de 4 à 6 mois et de 1,4 à 25 % chez des veaux de 6 mois. D'autre part, on a constaté une augmentation de la production laitière chez les vaches 30 jours après traitement contre la forme imaginaire.

La paramphistomose est considérée comme une pathologie émergente dans de nombreux pays d'Europe (TAYLOR, 2012) et les dégâts qu'elle occasionne sont loin d'être négligeables comme le montrent les travaux de ROJO-VASQUEZ *et al.* (2012) sur le mouton.

7.2. *Epidémiologie analytique :*

D'après CHERMETTE et BUISSIERAS (1995), l'épidémiologie de la paramphistomose rappelle celle de la fasciolose hépatique. Les métacercaires fixées sur des végétaux précédemment immergés représentent l'élément infestant de cette pathologie.

7.2.1. Sources de parasite :

7.2.1.1. *Les sources indirectes :*

Elles sont représentées essentiellement par les ruminants porteurs de paramphistomes (espèces domestiques et sauvages). Ces dernières, lorsqu'elles ne sont pas traitées, constituent un réservoir et une source de contamination importante pour les élevages. Ainsi, en l'absence de traitement, la source est constante car le parasite peut survivre plusieurs années chez l'hôte définitif. D'après DORCHIES (1998), cette source est également abondante car l'excrétion d'œufs est plus importante chez les paramphistomes que chez les autres parasites. Cependant, la ponte diminuerait avec l'âge du parasite (EUZEBY, 1975).

7.2.1.2. *Les sources directes :*

Elles sont constituées par les mollusques (Bulinidés, Planorbidés et Lymnaeidés) car ils permettent une prolifération active des larves des paramphistomes.

7.2.2. La résistance des parasites :

La durée de vie des parasites adultes chez l'hôte définitif est assez longue. D'après DINNIK (1962), celle de *P. microbothrium* est de 7 ans. Cependant, des durées de vie moins longues ont été rapportées et des cas de self-cure ont été parfois observés. Ce sont des cas d'ipso-libération qui interviennent en 12 mois (DINNIK *et al.*, 1971, cité par RIEU, 2004).

Les œufs du parasite ne résistent pas dans le milieu extérieur aux températures trop basses (KISILIEV, 1967). Les œufs de *P. ichikawai*, stockés à une température de - 8° C, n'ont pas survécu plus de 24 heures. Le développement embryonnaire n'a lieu qu'à partir de 13° C (KRANEBURG, 1977). Les miracidiums ont une durée de vie qui ne dépasse pas 24 heures dans les conditions ordinaires de température. Les cercaires, quant à elles, s'enkystent très vite dans l'heure qui suit leur émission. Elles ne survivent pas aux conditions hivernales. Cependant, elles restent viables pendant au moins six semaines à la température de 6° C (POSTAL, 1984).

Sur le terrain, la résistance est assurée par les métacercaires qui peuvent survivre pendant plusieurs mois. La métacercare de *P. microbothrium* survit 29 jours à la température ambiante si elle est maintenue en milieu humide (HORAK, 1971). Avec celles de *P. ichikawai*, on a obtenu 32 % de larves viables après un stockage de 6 mois dans l'eau. (DUQUET, 1993). Les métacercaires de *P. microbothrium* restent viables de 15 jours à un mois à 5° C (référence). En Vendée, les taurillons étaient parasités par des paramphistomes alors qu'ils étaient élevés hors-sol et n'avaient jamais pâturé dans les prairies de la région. La seule source de contamination possible serait l'ensilage d'herbe de marais qui aurait été distribuée en partie dans l'alimentation de ces jeunes bovins en période hivernale (POSTAL, 1984).

Les formes larvaires ont une durée de vie égale à celle du mollusque hôte. Elles sont capables d'hiberner ou estiver (EUZEBY, 1975).

7.2.3. Modalités de l'infestation :

Les métacercaires sont le matériel infestant. Les animaux s'infestent en ingérant ces formes larvaires enkystées sur des plantes immergées et sur des végétaux de prairies humides ou inondées. Selon l'espèce de paramphistome, cet enkystement se fait de façon sélective sur certains végétaux. A titre d'exemple, les cercaires de *P. microbothrium* en Tanzanie, s'enkys-

teraient préférentiellement sur *Cyperus digitatus* (Souchet digité), fréquent dans les gîtes de *Bulinus truncatus* (BUTLER et YEOMAN, 1962). GEORGIEV (1981) a retrouvé des métacercaires de *P. daubneyi* sur des feuilles de *Plantago lanceolata* (Plantain lancéolé).

La distribution des hôtes intermédiaires dans le milieu naturel conditionne les zones contaminées par les métacercaires. Par exemple, c'est à proximité des mares, des marécages et de tout point d'eau, où vont paître les animaux, que peuvent se trouver les métacercaires. Cette répartition est favorisée encore plus lors d'inondations et de nouveaux habitats pour les mollusques se créent alors. Remarquons que dans le cas de *P. daubneyi*, le comportement amphibie de *G. truncatula*, son hôte intermédiaire, suffit à cette importante contamination.

7.2.4. Les causes favorisantes :

Dans ce paragraphe, nous aborderons les facteurs environnementaux et ceux d'ordre démographique. Les premiers agissent sur le cycle évolutif des paramphistomes.

7.2.4.1. Facteurs environnementaux :

Le sol est l'un des maillons importants de la chaîne épidémiologique. Il doit être favorable au développement des mollusques (nature argileuse, non acide et riche en carbonate de calcium) pour l'élaboration de la coquille du mollusque. I.

La température influe sur l'activité des Gastéropodes et notamment sur leurs paramètres biologiques. La lumière est d'une nécessité absolue pour le développement embryonnaire de l'œuf et l'éclosion du miracidium. Elle stimule aussi l'émission cercarienne.

Enfin, l'eau est un élément indispensable pour la vie du mollusque et pour certains stades larvaires libres du parasite (miracidium, cercaire). Elle permet aux matières fécales de se déliter et, par conséquent, favorise le développement embryonnaire et l'éclosion des miracidiums. Une pluviométrie importante permet l'extension du territoire des mollusques. Ceci est surtout valable pour *P. daubneyi*. La Limnée tronquée amphibie peut étendre au maximum son aire de distribution (RONDELAUD *et al.*, 2004).

Le territoire des hôtes intermédiaires du genre *Anisus* est plus limité aux points d'eau en général (cours d'eau, mares, étangs). PRIOUZEAU (1947) avait remarqué que la paramphistomose est une maladie des années sèches lors de ses travaux dans le marais poitevin. En cas de sécheresse moyenne, le territoire des mollusques devient plus réduit et, de ce fait, le contact entre ruminants et mollusques devient important, surtout si ces points représentent les

seuls endroits d'abreuvement pour le bétail. Il faut signaler qu'une forte sécheresse est, bien sûr, défavorable au cycle.

7.2.4.2. Facteurs de risque d'ordre démographique :

7.2.4.2.1. L'âge de l'hôte définitif :

D'après BUTLER et YEOMAN (1962), les jeunes bovins seraient plus sensibles que les adultes car ils seraient moins résistants. Les constatations de DORCHIES *et al.* (1998) vont dans ce sens car ces auteurs constatent après une enquête coproscopique que les animaux infestés sont plus jeunes que les animaux non infestés. Par contre, de SOUZA *et al.* (1988) observent que ce sont les animaux de plus de huit années qui sont le plus parasités. Ceci concorde avec nos résultats antérieurs (TITI *et al.*, 2010).

7.2.4.2.2. Le sexe des animaux :

Les résultats de SZMIDT-ADJIDE *et al.* (2000) montrent que les femelles sont significativement plus infestées que les mâles. Le séjour en stabulation, plus long pour les mâles que pour les femelles, pourrait expliquer cette différence. Une autre explication possible est la différence qui existe entre les mâles et les femelles pour leur orientation vers l'abattage. Il s'agit de la destinée normale pour les premiers tandis que les femelles y sont le plus souvent conduites pour des problèmes de santé ou de production. A cela, s'ajoute un biais qui est de taille : l'âge de l'animal. Les mâles sacrifiés sont généralement de jeunes bovins d'embouche alors que les femelles sont constituées plutôt de vieilles vaches de réforme.

7.2.4.2.3. La race des animaux :

Les animaux de race charolaise, pure ou croisée, seraient plus infestés que les animaux de race Prim'Holstein, ce qui expliquerait l'extension de la maladie en France en relation avec l'extension de la race charolaise (DORCHIES *et al.*, 2002a). Toujours selon les mêmes auteurs, il existe d'autres facteurs de risque relatifs aux conditions d'élevage comme l'extension de celui-ci, tant en élevage allaitant que laitier, ainsi que le traitement antiparasitaire qui se fait une seule fois et à une période peu propice (non étudié). D'après SZMIDT-ADJIDE *et al.* (1996), ce sont également des pratiques d'élevage qui pourraient expliquer la plus forte infestation des femelles par rapport aux mâles.

7.3. Epidémiologie synthétique :

La paramphistomose bovine est une maladie saisonnière. Elle dépend de nombreux facteurs : *i*) le cycle biologique du parasite, *ii*) la biologie des hôtes intermédiaires, *iii*) les divers stades larvaires hébergés par le mollusque, et *iv*) leur capacité à estiver ou à hiberner avec eux. Même si ce schéma épidémiologique n'est pas transposable à toutes les régions, nous le citerons, à titre d'exemple, selon les procédés d'élevage appliqués en Europe.

D'après KARABAEV *et al.* (cité par EUZEBY, 1975), les mollusques hôtes commencent à se parasiter en mars-avril. Cette infestation est maximale en juillet-août et diminue en septembre. (POSTAL, 1984).

Lors de la mise à l'herbe en mars ou avril, les animaux sont en contact avec des métacercaires qui survivent à la faveur d'un hiver doux et celles qui proviennent de mollusques transhivernants, lesquels reprennent leur activité dès que la température dépasse 10° C (POSTAL, 1984). Le bétail s'infeste de juin à septembre, sans doute avec plus d'intensité en juillet-août alors que les animaux viennent s'abreuver aux points d'eau (KARABAEV *et al.*, cité par POSTAL, 1984). Les travaux de NIKITIN *et al.* (1972) vont dans le même sens. D'après ces auteurs, le bétail russe s'infeste avec *P. liorchis*, *P. cervi* ou *P. hiberniae* à partir de la mi-mai lorsque les animaux pâturent dans les prairies contaminées et les taux d'infestation sont plus élevés du milieu de l'été au mois de septembre. Les métacercaires, qui en découlent, causent la paramphistomose pré-imaginale de printemps, suivie de la forme imaginaire à la fin de l'été.

Les ruminants commencent à éliminer des œufs en mars-avril lorsque la température dépasse 13° C. Les œufs vont éclore et fournir des miracidiums qui infesteront les mollusques. Les métacercaires, qui proviennent de ces derniers, vont infester les ruminants de juin à juillet et, donc, seront responsables de la paramphistomose pré-imaginale de printemps ou d'été et de la forme imaginaire de la fin d'été et d'automne. On peut donc retenir que les paramphistomoses revêtent un caractère saisonnier et que l'on trouvera à l'abattoir des animaux parasités avec une plus grande fréquence à la fin de l'été et en hiver (POSTAL, 1984).

8. Etude anatomo-clinique :

Une fois absorbées par un ruminant, les métacercaires passent à travers le rumen et la caillette où elles se désenkystent sous l'action des sucs gastriques. Incapables de résister au pH acide de la caillette, les jeunes formes immatures se dirigent vers le duodénum où elles

continuent à croître pendant environ dix jours. Lorsqu'elles ont acquise une certaine résistance vis-à-vis du suc digestif, elles commencent une migration rétrograde qui les amènera jusqu'aux piliers du rumen (GRABER et PERROTIN, 1983, cité par GAYATRI et SHARMA, 2001).

8.1. Pathogénie :

Lors de leur localisation dans le duodénum et l'abomasum, les paramphistomes pré-adultes s'enfoncent dans la muqueuse et la détruisent (EUZEBY, 1975). Ils absorbent une petite partie de la muqueuse et étranglent celle-ci en provoquant sa chute, d'où une nécrose, des érosions et des pétéchies (HORAK, 1967). Lors de cette étape, le pouvoir pathogène est de loin le plus important, surtout lors de fortes infestations.

La présence de parasites immatures dans la sous-muqueuse se traduit par une infiltration locale de la lamina propria et du chorion entourant les glandes de Brünner par des macrophages et des lymphocytes (SAHAY *et al.*, 1989 ; SINGH et SHUKLA, 1990). Cette action antigénique détermine également une éosinophilie sanguine (EUZEBY, 1975).

Des études menées par SAHAI *et al.* (1985) sur les variations histochimiques lors d'infestation expérimentales de jeunes chevreaux par *P. cervi* ont montré une réduction importante du complexe mucopolysaccharidique au niveau de la muscularis mucosae (partie duodénale) et une forte baisse du glycogène dans la musculature lisse de la même portion. ROLFE *et al.* (1994) notent une forte entérite avec fibroplasie duodénale et perte de matières plus ou moins sévère au niveau des poches du rumen lors d'infestations importantes.

Les vers immatures exercent une action destructrice sur la muqueuse, ce qui peut mener à la nécrose d'une portion de l'intestin. Lorsque les parasites quittent le duodénum pour migrer vers le rumen, ces zones détruites forment des lésions épithéliales.

En plus de l'entérite, la présence des formes immatures entraîne de l'anorexie chez l'animal et de l'inappétence qui peut aller parfois jusqu'à une anorexie totale, surtout chez les ovins. Comme l'intestin est lésé, cela se répercute sur la qualité de l'absorption intestinale (réduction). Par ailleurs, les lésions de la muqueuse intestinale déterminent, comme dans le cas de l'oestertagiose, une fuite des protéines plasmatiques et un hypercatabolisme protidique, d'où des perturbations sanguines. Selon ROLFE *et al.* (1994), la variation du nombre de leucocytes serait étroitement liée au niveau de l'infestation. Cette même constatation a été

rapportée par d'autres auteurs : BORAY en 1959 (cité par EUZEBY, 1975), ZHARIKOV *et al.* en 1975 (cité par SAMNALIEV, 1986), ZAJICEK *et al.* (1977).

L'hyperhémie et l'œdème du duodénum sont à l'origine d'une occlusion partielle du canal cholédoque, ce qui conduit à une stase biliaire. Lors d'une réinfection (contact entre les jeunes immatures et le tissu digestif sensibilisé), on peut assister à un phénomène d'hypersensibilité de type I et ceci est comparable au syndrome aigu asthmatiforme de la dictyocaulose, du phénomène d'ipsolibération de l'haemonchose et de l'ascaridiose toxémique (DORCHIES, 1998). GHOSH et MISRA (2011) se sont intéressés à la répartition des différentes fractions lipidiques dans le liquide ruménal, le foie et le paramphistome chez des chèvres parasitées. D'après ces auteurs, les fortes charges parasitaires entraînent une augmentation des lipides neutres dans le parasite lui-même comme dans le liquide du rumen. Par ailleurs, les lipides dominant au niveau hépatique sont les phospholipides. La richesse du milieu ruménal s'explique par le fait que le parasite absorbe un plus grand nombre d'acides gras que son hôte.

Les allergènes s'associent aux IgE fixés aux mastocytes locaux. Le potage des récepteurs R-Fcα I entraîne leur dégranulation et la libération des médiateurs de l'inflammation, ce qui provoque un œdème local, le recrutement de polynucléaires éosinophiles et la contraction des muscles lisses de l'intestin (DORCHIES, 1998).

Une fois leur migration achevée, les paramphistomes s'installent dans le rumen et /ou le réseau où ils s'accrochent aux papilles stomacales à l'aide de leur acétabulum (VASILEV *et al.*, 1985). Celles-ci prennent une teinte blanchâtre qui contraste avec celle des papilles voisines. Elles s'atrophient et leur pointe tombe. Dans certains cas, il subsiste de petits bourgeons à tête renflée alors que pour d'autres, il se forme des plages dénudées dont l'étendue varie en fonction de l'importance du parasitisme. Les lésions s'accompagnent de troubles digestifs divers (anorexie, inrumination). On observe également une infiltration du tissu conjonctif par des cellules mononuclées (SINGH *et al.*, 1983). Puisque les parasites se nourrissent du contenu ruménal, DORCHIES (1998) n'exclut pas une action spoliatrice du parasite. Cet auteur émet l'hypothèse que la présence des vers modifie la composition chimique du contenu gastrique et donc la digestibilité, la résorption et le métabolisme alimentaire. Il suppose également une modification de l'absorption des médicaments. En tout état de cause, l'importance des symptômes dépend du nombre de métacercaires ingérées et du nombre d'adultes présents dans le pré-estomac.

8.2. Signes cliniques :

On a longtemps considéré les paramphistomes comme des commensaux ou des parasites inoffensifs. En effet, les signes cliniques ne s'observent que lorsque les charges parasitaires sont importantes et la sévérité des symptômes varie en fonction du nombre de parasites (POSTAL, 1984).

La paramphistomose est souvent une infestation inapparente. Néanmoins, une étude récente montre que l'un des signes les plus réguliers (qui fait immédiatement penser à la paramphistomose chez les ruminants, surtout lorsque ces derniers sont jeunes) est la consistance des fèces (allant de la simple mollesse à la diarrhée très aiguë lors d'infestations massives. DORNY *et al.* (2011) ont noté, chez de jeunes bovins (1 à 6 mois) du Cambodge, une corrélation positive significative entre la présence de la diarrhée et la paramphistomose. Cependant, ces auteurs n'ont pas pu mettre en évidence une corrélation entre l'intensité de l'infestation et le score de consistance des matières fécales. Par ailleurs, ils reconnaissent qu'il existe de nombreux biais pour dégager de pareilles constatations comme la nature du régime alimentaire, la quantité d'eau absorbée, l'existence d'autres pathologies non décelées, ...

8.2.1. Phase pré-imaginale :

BORAY (1978) a noté que les ovins ne présentent des symptômes qu'après avoir ingéré 11.000 métacercaires ou plus par animal, ou qu'ils aient été élevés dans de mauvaises conditions. ZHARIKOV *et al.* en 1976 (cité par RAYNAUD et KERBOEUF, 1981) constatent que l'administration de 3.000 jusqu'à 25.000 métacercaires chez des ovins reste asymptomatique et ce n'est qu'à partir de 62.000 métacercaires par animal que des signes cliniques évidents apparaissent d'une manière sub-aiguë. Par contre, lors d'infestations naturelles, il suffit d'un nombre plus réduit de métacercaires pour entraîner l'apparition des troubles et parfois de la mortalité. Il faut noter que dans les infestations expérimentales, on trouve uniquement 30 à 40 % du matériel infestant qui arrive au stade final et s'accroche dans le pré-estomac. Il faut reconnaître, cependant, que peu d'études ont été faites à ce sujet. La phase pré-imaginale se rencontre surtout chez les jeunes, au printemps et à l'automne. Elle est due à des infestations massives et s'observe surtout chez les moutons (DEGUEURCE, 1998). Elle se produit après une incubation de 10 jours (EUZEBY, 1978). On l'a observé au bout de 6 à 7 jours chez des moutons infestés expérimentalement avec 170.000 et plus ou moins 5.000 métacercaires de *P. microbothrium*. Au bout de 16 à 27 jours, on note une anorexie parfois totale (HORAK et CLARK, 1963). A ce signe, s'ajoutent une mauvaise absorption et une

inrumination des nutriments, ce qui donne de l'apathie, une soif intense et une diarrhée importante. Celle-ci est très liquide, profuse, de couleur verdâtre à noirâtre et d'odeur fétide. Parfois, elle revêt un caractère dysentérique (GUILHON et PRIOUZEAU, 1945). Dans le liquide diarrhéique, il existe des stries rouges dues à la présence de formes immatures, évacuées dans les fèces, avant leur fixation dans le rumen.

Après plusieurs infestations répétées, la diarrhée devient incoercible (HORAK, 1967), caractère que DORCHIES (1998) attribue à une réaction d'hypersensibilité de type I. Celle-ci s'accompagne de ténesmes et peut contenir du sang frais. Tout ce syndrome de gastro-entérite explique la consommation accrue d'eau ainsi que celle du lait pour les veaux mentionnées par BUTLER ET YEOMAN (1962). Cette forme aiguë peut conduire à la mort de l'animal s'il n'est pas traité à temps. Celle-ci peut être extrêmement rapide, sans symptôme apparent (DORCHIES *et al.*, 2002b). Lorsqu'il n'y a pas de mortalité, des formes subaiguës moins graves peuvent s'installer. Lors d'infestations massives, la migration rétrograde des formes immatures est retardée. Ceci explique la persistance des signes cliniques pendant plusieurs mois (HORAK, 1967 ; BORAY en 1959, cité par ROLFE et BORAY, 1987).

Depuis plus d'un demi-siècle, l'idée selon laquelle seules les infestations massives peuvent entraîner des signes cliniques, voire la mort surtout chez les petits ruminants est définitivement révolue. Avec la réémergence de cette parasitose, on a bien vu dans certaines régions de France, des moutons anorexiques et chachectiques sans pour autant que l'infestation soit importante. La phase pré-imaginale peut être à elle seule à l'origine de nombreuses perturbations digestives (RIEU *et al.*, 2007 ; KUMAR *et al.*, 2011 ; KHAN *et al.*, 2012).

Les animaux présentent une fatigue très prononcée, de la maigreur (HORAK, 1971). On relève un œdème dans les régions déclives et dans l'espace intermandibulaire, ce qui constitue le signe de la bouteille (ceci est dû à l'hypoprotidémie qui survient à la suite de la fuite protéique intestinale). Cet œdème peut toucher les organes profonds comme les poumons. L'hypercatabolisme protéique mis en place pour contrer cette hypoprotidémie entraîne une fonte musculaire importante, d'où une cachexie. Dès que les parasites arrivent aux pré-estomacs, il y a rémission des symptômes et régénération de la muqueuse intestinale comme le montre le tableau III (page 44) .

CAROFF (1998) rapporte que la carence en oligo-éléments due à une mauvaise assimilation serait responsable d'une diarrhée chez les veaux non sevrés provenant de vaches infestées. Pour les signes biologiques, ZAJICEK *et al.* (1977) signalent une baisse du taux d'érythrocytes entre le 30^{ème} et le 46^{ème} jour post-infestation. Ces mêmes auteurs notent une

hypophosphorémie associée à une hyposidérémie. On note souvent l'apparition d'une éosinophilie. Toujours selon ZAJICEK *et al.* (1977), GAYATRI et SHARMA (2001), des buffles infestés par *P. cervi* ont présenté une augmentation des enzymes hépatiques sériques par rapport à des témoins non parasités. Ils notent aussi une augmentation des valeurs sériques des phosphatases alcalines, de la cholestérolémie et de la bilirubinémie.

AMBROSI *et al.* (1982), SIDDIQUA *et al.* (1989) relèvent une augmentation des transaminases hépatiques, ce qui atteste d'un dysfonctionnement du foie. Ceci pourrait être la cause d'une cholestase, provoquant ainsi une distension de la vésicule biliaire.

8.2.2. La phase imaginale :

VISJNAKOO *et al.* en 1986 (cité par VARMA *et al.*, 1991) ont compté au maximum 1.630 parasites chez un bovin en Nouvelle-Zélande . Par ailleurs, 2.000 paramphistomes ont été responsables de la mort d'un mouton, et 23.703 parasites responsables de la mort d'un veau (observations faites en Tanzanie par BUTLER en 1962 (cité par RIMBAUD, 1995). .

D'après POSTAL (1984), ces infestations ne sont pas inhabituelles même si elles ne sont pas très fréquentes en Europe. La paramphistomose imaginale se déclare en fin d'été et surtout en fin d'automne. Une fois la migration des larves immatures terminée, on assiste à une régression des symptômes, ce qui correspond au temps de cicatrisation des lésions intestinales. Cependant, les adultes fixés à la paroi du rumen ne doivent pas être considérés comme inoffensifs. Les troubles se manifestent en cas de parasitisme massif. D'après EUZEBY (1975), il faut au moins 5.000 parasites pour qu'une irritation locale soit importante. Malgré tout, l'infestation demeure inapparente. SEYFARTH en 1930 (cité par ROLFE et BORAY, 1987) observe, sur un jeune bovin abattu d'urgence, que la plus grande partie de la muqueuse ruménale était occupée par ces vers et que leur présence était le seul facteur pathogène en cause.

Les vers adultes peuvent être responsables d'une ruminite et/ou d'une réticulite, avec parfois une atonie du rumen. Cela rappelle un syndrome de rumino-réticulite traumatique. Il en découle une météorisation chronique, signe d'appel le plus fréquent. Les animaux présentent de l'anorexie et de l'inrumination. DORCHIES *et al.* (2002a) mentionnent le cas de tympanisme plus ou moins irrégulier, surtout lors de l'ingestion de concentrés.

Les animaux présentent un syndrome diarrhéique intermittent. Il s'agit beaucoup plus d'un ramollissement des fèces que d'une véritable diarrhée. Les fèces peuvent aussi être de

consistance normale mais avec des fragments non digérés. Les animaux présentent de l'amai-grissement, un poil piqué et sont diminués sur le plan zootechnique. CĂSTRO-TRĚJO *et al.* (1990) parlent d'une diminution dans la production de laine chez le mouton. CAROFF (1998) rapporte une baisse qualitative et quantitative des protéines chez l'espèce ovine. La mort causée par la paramphistomose reste rare mais elle peut survenir chez des animaux en mauvais état physiologique. Parmi les signes relevés lors de la phase imaginale, les seuls mentionnés sont l'anémie, une leucocytose et une augmentation des gamma-globulines.

Nous pouvons en conclure que la paramphistomose ne s'exprime cliniquement et biologiquement que lors d'infestations massives. La symptomatologie est, en plus, peu caractéristique, quel que soit le degré de cette infestation. L'expression clinique la plus courante reste une dominance des troubles digestifs comme la diarrhée et la météorisation mais celles-ci ne sont pas pathognomoniques.

8.3. Les lésions :

Les lésions des paramphistomoses gastro-duodénales diffèrent d'une phase à l'autre de par leur localisation, leur sévérité et leur nature.

8.3.1. La phase pré-imaginale :

8.3.1.1. Les lésions macroscopiques :

L'incidence des lésions intestinales sur les caractéristiques des carcasses bovines est étroitement liée à la durée d'évolution de la maladie. Elle va d'une carcasse saine jusqu'à une émaciation très sévère avec atrophie des tissus adipeux. En cas de forme aiguë, les cavités splanchniques et le péricarde présentent une sérosité claire plus ou moins abondante. On observe un œdème pulmonaire (hydrothorax), avec abattement extrême, hypothermie et une sous-nutrition qui peut mener à la mort de l'animal (HORAK, 1967). Dans le cas d'une forme chronique, on note une atrophie de la rate, une atonie et une atrophie ruménale (BUTLER *et al.* en 1962, cité par THIENPONT, 1979). D'autres auteurs comme HORAB *et al.* en 1963 (cité par HASSAN *et al.*, 2002) rapportent des hémorragies du cortex surrénalien chez le mouton infesté expérimentalement par *P. microbothrium*. Une cholestase peut être à l'origine d'une rétention biliaire, ce qui conduit à la distension de la vésicule biliaire (bile épaisse et visqueuse). Cela entraîne une entérite catarrhale sur les trois premiers mètres de l'intestin grêle (la muqueuse est épaisse, oedematiée, congestionnée et présente des pétéchies disséminées avec des érosions). Dans l'intestin, on note que les nœuds lymphatiques mésentériques

tériques satellites sont oedematiés, les vaisseaux mésentériques congestionnés et la graisse mésentérique remplacée par un fluide séreux (HORAK et CLARK, 1963). On a décrit aussi la présence de formes parasitaires immatures flottantes dans la lumière, enfoncées dans la sous-muqueuse ou encore se trouvant sous la séreuse avec même une possibilité de perforation intestinale, d'où la présence de parasites dans l'abdomen. Les portions distales de l'intestin grêle sont distendues par un contenu muco-hémorragique avec de nombreux vers immatures chez les bovins (HORAK, 1967).

Chez les ovins et les caprins, les parasites sont retrouvés dans les premiers six mètres de l'intestin et dans la vésicule biliaire. Le contenu du caecum et du colon est extrêmement liquide et les hémorragies rectales ne sont pas rares dans les formes subaiguës et chroniques (HORAK en 1971, cité par POSTAL, 1984). La muqueuse abomasale peut présenter des érosions et des pétéchies ainsi qu'un œdème des plis spinaux qui parfois obstruent la lumière. Le poids de la caillette est considérablement augmenté (HORAK, 1967).

8.3.1.2. Les lésions microscopiques :

Des coupes histologiques faites dans la paroi duodénale de bovins montrent des formes immatures enfoncées dans la sous-muqueuse et la musculuse. Parfois, on les trouve en profondeur, juste sous la séreuse où les parasites sont visibles à la face péritonéale de l'intestin (HORAK, 1971). Lors d'une paramphistomose pré-imaginale avec *P. microbothrium* chez les bovins, le revêtement épithélial et celui des glandes de Lieberkühn desquament et se nécrosent (LENGY en 1965, cité par HORAK, 1971). La muscularis mucosae peut être nécrosée et les capillaires des villosités peuvent être congestionnés et distendus en allant jusqu'à leur rupture. La lamina propria et le chorion peuvent être infiltrés par des cellules polymorphes à dominante lymphocytaire, associées à quelques phagocytes et polynucléaires éosinophiles (SINGH *et al.*, 1984 ; DORCHIES *et al.*, 2002b). Cette infiltration concerne aussi le tissu conjonctif entourant les glandes de Brünner, lesquelles peuvent présenter une dilatation kystique (SINGH *et al.*, 1984 ; DORCHIES *et al.*, 2002b). D'après HORAK (1971), LENGY en 1965 rapporte qu'aucune lésion n'est observée à proximité immédiate des vers logés dans la muqueuse, à l'exception d'une congestion. La même constatation a été faite par SINGH *et al.* en 1984 pour la couche musculaire et la séreuse.

En plus des lésions microscopiques intestinales chez le mouton, des lésions dégénératives ont été notées au niveau des parenchymes (VASILEV *et al.*, 1985) : l'épithélium de la vésicule biliaire est le siège d'une nécrose. Les 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 été que très rarement décrites. DORCHIES *et al.* (2002b) les ont décrites à partir de trois cas de paramphistomose pré-imaginale aiguë, ce qu'ils considèrent comme une nouvelle entité pathologique. La rareté des observations a été interprétée par LEVASSEUR et ALZIEU (1991) comme la conséquence de la nature éphémère des lésions.

8.3.2. La phase imaginaire :

8.3.2.1. Les lésions macroscopiques :

Les paramphistomes adultes se trouvent le plus souvent regroupés en colonies et sont fixés à l'épithélium par leur ventouse postérieure (acétabulum) aux villosités. On les trouve souvent dans les mailles du réseau à la base des papilles, mais le plus souvent le long des piliers du rumen. Suite à l'aspiration qu'ils provoquent par leurs ventouses, cela entraîne une strangulation qui gêne l'irrigation sanguine des tissus aspirés, d'où une nécrose et une atrophie des papilles ruménales. Lors de la récolte des parasites, les papilles apparaissent anémiées, de couleur blanchâtre (HORAK, 1967). Au point de fixation, se développent des formations bourgeonnantes en boutons (HORAK, 1971). On a pu relever des plages de muqueuse ulcérées à contours irréguliers avec des plis oedémateux (GUILHON et PRIOUZEAU, 1945).

8.3.2.2. Les lésions microscopiques :

Certains auteurs comme GRAUBMANN *et al.* en 1978 (cité par POSTAL, 1984) et SINGH *et al.* (1984) ont étudié l'histologie des formations bourgeonnantes. Leur épithélium apparaît plat, continu et parfois hypertrophié. Le corps papillaire est fortement ramifié et infiltré de cellules éosinophiles. MUKHERJEE *et al.* en 1962 (cité par SINGH *et al.*, 1984) ont observé, sur le rumen du mouton, une prolifération épithéliale autour des parasites, une stratification de l'épithélium papillaire et une hypertrophie de la couche cornée. CANKOVIC *et al.* en 1963 (cité par JOLY, 1991) 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. Chez la chèvre, SINGH *et al.* (1984) ont relevé une érosion des villosités papillaires.

DORCHIES (1998) décrit une infiltration cellulaire de la muqueuse, en particulier par des mastocytes et des éosinophiles. Une coupe histologique (planche C, page suivante) montre comment les paramphistomes adultes sont enchâssés par leur acétabulum sur les villosités du rumen.

Tableau III.
Principaux signes cliniques et lésions anatomo-pathologiques
constatés chez les bovins atteints de paramphistomose gastro-duodénale
(d'après ZENNER, 2000, cité par RIEU, 2004).

<i>Paramètres</i>	<i>Phase pré-imaginale</i>	<i>Phase imaginale</i>
Signes cliniques :		
Formes aiguës	Apathie, anorexie, soif Intense. Diarrhées aqueuses ou muqueuses, d'un brun verdâtre et fétides, parfois dysentériques. Mort possible en l'absence de traitement	Néant
Formes chroniques ou subchroniques	Amaigrissement pouvant aller jusqu'à la cachexie. Guérison spontanée fréquente en deux 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'adolescarias dans la muqueuse, ensuite pénétration dans la sous-muqueuse. Gastro-entérite avec inflammation catarrhale de la sous-muqueuse qui s'épaissit, se congestionne ou s'infiltré. 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 ruménales. Ruminite 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 post-infestation, hypoalbuminémie	Anémie importante, baisse en azote total et en ions phosphates dans les muscles

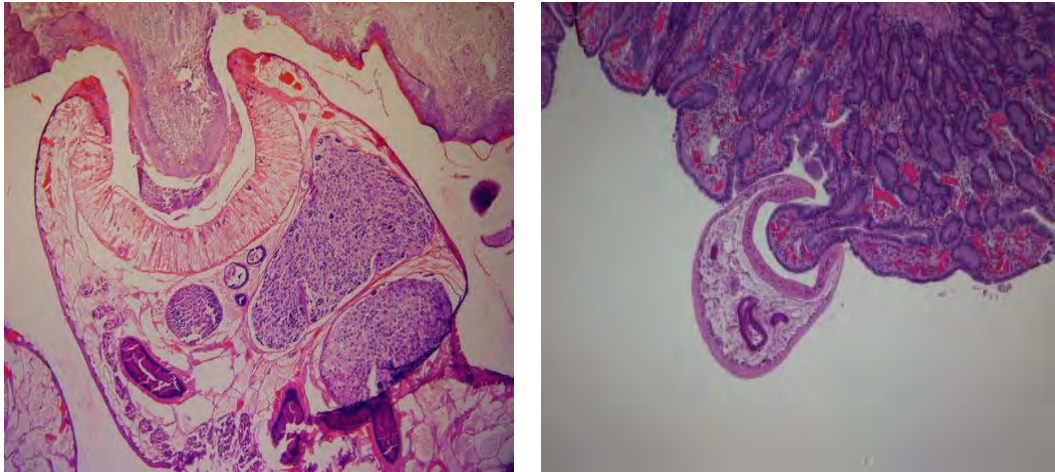


Planche C.

Coupes histologiques montrant des paramphistomes adultes enchâssés sur les villosités du rumen (source : <http://www2.vet-lyon.fr/edu/copro/diagnostic.gif>). Consulté le 15/10/2012.

8.4. Diagnostic :

Le diagnostic d'une paramphistomose latente ou cliniquement exprimée est difficile. Lors de la phase d'invasion, les symptômes ne sont pas pathognomoniques et la recherche des œufs dans les fèces se révèle négative (DORCHIES, 1989). Lors de la localisation ruméno-réticulaire, les symptômes sont frustes. Un diagnostic différentiel avec d'autres affections du tube digestif est nécessaire et les techniques immunologiques employées sont très nombreuses, avec leurs avantages et leurs inconvénients. Toutefois, dans des études récentes, des réactions croisées avec d'autres parasitoses telles que la fasciolose ont été enregistrées avec la techniques ELISA appliquée aux copro-antigènes (KAJUGU *et al.*, 2012)

8.4.1. Diagnostic clinique et différentiel :

Dans les pays tempérés, l'apparition à la fin du printemps ou en automne de signes digestifs dominés par une diarrhée fétide, liquide et de couleur bien verdâtre sur des animaux apathiques, anorexiques et polydipsiques évoluant sur des pâturages humides, voire marécageux devrait orienter le diagnostic vers la paramphistomose pré-imaginale. En cas de doute, une coproscopie et un traitement à visée diagnostique et thérapeutique pourraient alors être envisagés. Cependant, d'après POSTAL (1984), RIEU (2004), le diagnostic clinique s'avère toujours difficile.

La paramphistomose doit être différenciée de certaines affections digestives de symptomatologie proche telle que la maladie de Johne, la fasciolose et les strongyloses digestives

(oesophagostomose larvaire et oestertagiose de type I). Cependant, le diagnostic différentiel n'est pas une chose aisée d'autant plus que ces maladies peuvent coexister avec la paramphistomose (exemples donnés par EUZEBY en 1975 tels que la fasciolose et l'oesophagostomose). Face à des épisodes de météorisation, outre la paramphistomose imaginaire, devront être évoquées une indigestion aiguë ou une ruméno-réticulite par corps étranger. Les données épidémiologiques constituent une aide au diagnostic différentiel.

8.4.2. Diagnostic nécropsique :

Les données cliniques ne permettent pas de poser un diagnostic de certitude car les deux maladies, fasciolose et paramphistomose, peuvent exister chez les mêmes bovins (EUZEBY, 1975 ; AGOSTI *et al.*, 1980). Le seul diagnostic formel reste l'autopsie.

La mise en évidence des parasites adultes pendant la phase imaginaire est facile. Par contre, la recherche des formes immatures pendant la phase pré-imaginaire s'avère difficile car les larves peuvent s'enfoncer dans la muqueuse intestinale. Cependant, la présence des parasites n'est pas suffisante pour attribuer les symptômes et/ou la mort de l'animal aux paramphistomoses. Dans le cas de la forme pré-imaginaire, la carcasse présente de la cachexie (HOULBERT, 1998). La paroi de l'abomasum et du duodénum est hypertrophiée, oedématisée et congestionnée, tandis que la muqueuse présente des foyers de nécrose et des pétéchies.

Dans le cas de la paramphistomose imaginaire, la carcasse est amaigrie. Les papilles du rumen subissent une nécrose et une atrophie, car elles sont enserrées par les acétabulums. Il apparaît des formations bourgeonnantes (en bouton) au point de fixation (HORAK, 1971).

8.4.3. Diagnostic expérimental (de laboratoire) :

8.4.3.1. Diagnostic coprologique :

Pendant la phase pré-imaginaire, les parasites sont immatures et, par conséquent, on ne peut trouver d'œufs dans les selles. La période prépatente est d'environ 103 à 115 jours chez les bovins et les ovins (KRANEBURG, 1977).

Toutefois, on peut trouver des formes immatures du ver dans le flux diarrhéique (ils sont de couleur rosée et d'une taille de 2 à 3 mm). Ils peuvent être mis assez facilement en évidence par un examen attentif : c'est la coproscopie macroscopique. Elle nécessite de filtrer des matières fécales sur un tamis à mailles de 200 µm. BUTLER *et al.* en 1962 (cité par GEORGIEV, 1981) constatent que, malgré un nombre élevé de parasites observés à l'ouverture de l'intestin, la

quantité de vers trouvés dans les matières fécales est à la fois faible et variable. De ce fait, 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 est souvent laborieuse, surtout lors de pauciparasitisme. On doit avoir recours à des techniques permettant de concentrer des parasites fécaux. Le principe repose sur la différence de densité qui existe, entre ces œufs et les solutions aqueuses (SZMIDT-ADJIDE *et al.*, 2000).

Il existe deux méthodes qui peuvent être plus ou moins fiables et qui nécessitent d'abord une étape d'enrichissement. Celle-ci permet de concentrer les éléments parasitaires et d'éliminer les débris végétaux. Les deux méthodes sont la flottation et la sédimentation. En ce qui concerne la sédimentation, elle est la plus utilisée car elle nécessite peu de matériel.

8.4.3.1.1. La sédimentation simple :

Cinq à dix grammes de fèces sont dilués dans 5 à 10 fois leur poids d'eau. On délite et on mélange, puis on passe au tamis pour laisser reposer le filtrat 10 à 12 heures dans un verre conique. On élimine ensuite les 4/5^{èmes} supérieurs du liquide, on homogénéise le cinquième restant et on examine deux gouttes entre lame et lamelle.

C'est une méthode qui peut être améliorée si l'on dispose d'une centrifugeuse. Après tamisage et décantation, le culot est réparti dans des tubes à centrifuger que l'on fait tourner pendant 3 minutes à 3.000 tours/min d'après GRABER *et al.* (1979), ou bien à 1.500 tours/min pendant 5 minutes selon BUSSIERAS et CHERMETTE (1995). Les deux tiers du surnageant sont ensuite rejetés et le culot homogénéisé. On en prélève une ou deux gouttes que l'on examine au microscope entre lame et lamelle. La lecture des lames est rendue difficile par la présence de nombreux débris, mais les auteurs trouvent cette méthode excellente, rapide, peu coûteuse et facile à mettre en œuvre dans les pays en voie de développement, lesquels ont souvent des moyens limités. Elle donne, en général, un aperçu sur le degré d'infestation, sauf lorsque les animaux sont faiblement infestés (pauci-infestations).

8.4.3.1.2. La flottaison (ou flottation) :

Le principe est de diluer les fèces dans un liquide dense de telle sorte que sous l'action de la pesanteur ou d'une centrifugation, les éléments parasitaires montent à la surface du liquide où l'on peut les recueillir. Les liquides utilisables sont le sulfate de zinc ($ZnSO_4$) à 33 % ($d = 1,18$), le chlorure de sodium en solution saturée ($d = 1,19$), le saccharose en solution saturée ($d = 1,27$), le sulfate de magnésium en solution saturée ($d = 1,28$), le sulfate de zinc en solution

saturée ($d = 1,39$) et l'iodomercurate de potassium ($d = 1,44$). Ce dernier est le plus utilisé lorsqu'il s'agit d'œufs lourds. La formule de l'iodomercurate de potassium est le biodure de mercure à 150 g, l'iodure de potassium à 111 g et l'eau à 399 g. La solution d'iodomercurate de potassium est donc appropriée. Cependant, elle nécessite un maximum de précautions lors de sa manipulation 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.

Les solutions saturées sont beaucoup moins denses et EUZEBY (1981) rapporte qu'une solution de sulfate de zinc à 33 % concentre en moyenne 15 à 20 fois moins d'œufs de *F. hepatica*, que la solution d'iodomercurate de potassium. Après enrichissement, les échantillons sont observés au microscope entre lame et lamelle, et l'utilisation de lames de Mac Master permet une analyse quantitative.

D'après DORCHIES (1998), la coproscopie semble être une méthode de dépistage fiable, à condition d'être effectuée en fin d'hiver et sur des animaux hébergeant au minimum une trentaine de parasites (MAGE *et al.*, 1997).

La relation entre le nombre d'Oeufs Par Gramme (OPG) de matières fécales et la charge parasitaire a été étudiée par beaucoup d'auteurs. MAGE *et al.* (2002) ont étudié ce point en utilisant la technique de flottation avec l'iodomercurate de potassium et la cellule de Mac Master. Ils constatent qu'un résultat compris entre 0 et 15 OPG doit être pris en considération avec précaution et qu'une moyenne de 14,5 OPG correspond à une charge de 215 parasites. Cependant, ces résultats ne sont pas vérifiables sur le plan statistique, étant donné le faible effectif des animaux (WILLMOT *et al.* en 1950, cité par RIEU, 2004).

La coproscopie peut être très utile pour le diagnostic de la paramphistomose mais elle connaît de nombreuses limites. En plus, du fait de l'impossibilité de mettre en évidence des œufs pendant la période prépatente (phase pré-imaginale), la ponte peut diminuer avec l'âge des parasites. Elle peut être faible aussi quand la charge parasitaire est très grande.

Un autre inconvénient important est à noter : il s'agit de la confusion entre les œufs de *F. hepatica* et ceux de paramphistomes. Cette confusion est à l'origine de faux négatifs, car la fasciolose est plus souvent suspectée dans les régions où les paramphistomes sont méconnus. Ceci a été relevé par CASSET (1989) dans l'Allier. Cependant, LEVASSEUR et ALZIEU (1991) remettent en cause cette possibilité de confusion en s'appuyant sur un critère assez fiable qui est la couleur des œufs. D'autre part, certains critères morphologiques, et la couleur

permettent toutefois de les différencier. Les œufs apparaissent jaune brunâtre pour *F. hepatica* et gris verdâtre pour *Paramphistomum* sp.

8.4.3.2. Diagnostic immunologique :

Au travers de ce paragraphe, nous présenterons successivement cinq méthodes basées sur la sérologie et qui peuvent être utilisées dans le cas des Trématodes. La plupart d'entre elles sont largement employées dans le cas de *F. hepatica*, mais pour la paramphistomose, les résultats obtenus par ces techniques sérologiques ne sont pas encore au point. Elles sont toute regroupées dans le tableau III (page 50).

8.4.3.2.1. L'intradermoréaction (IDR):

C'est une méthode basée sur la mise en évidence d'une réaction d'hypersensibilité de type I, lorsque l'animal est positif. Plusieurs essais ont été faits par différents auteurs sur les moutons comme ceux de KATYAR *et al.* en 1963 (cité par HORAK, 1967) avec un extrait de *P. microbothrium*. Par contre, SAHAY (1989) a travaillé sur des chèvres mais aucun essai n'a été fait sur les bovins. Toutes ces tentatives se sont soldées par des échecs et les hypothèses qui ont été émises pour expliquer ces derniers sont les suivantes :

- la non standardisation de l'antigène,
- l'absence de réponse à médiation cellulaire au moment du test,
- la nécessité d'employer un antigène spécifique de stade.

8.4.3.2.2. La fixation du complément :

HORAK (1967) a utilisé une technique modifiée de la fixation du complément mais celle-ci est difficile à réaliser et à interpréter. De plus, ce test ne permet, ni la différenciation entre animaux infestés et animaux immunisés, ni le diagnostic des formes aiguës.

8.4.3.2.3. Immunoprécipitation :

Des adultes et des adoloscarias de *P. microbothrium* sont mis à incuber à 38° C, en présence de sérums d'ovins, de caprins et de bovins, infestés ou non. Au bout de 150 min, on observe la présence de précipités autour des vers adultes (importants autour des formes immatures). Ces précipitées sont plus fertiles chez les ovins et les caprins, mais très marqués chez les bovins infestés et immunisés (HORAK, 1967). Ce test peut être utile dans le cas de la paramphistomose bovine mais le fait qu'il nécessite un matériel antigénique vivant et l'impossibilité de distinguer entre l'animal infesté et l'animal immunisé le rend peu pratique (RIEU, 2004).

Tableau IV.
Récapitulatif des méthodes immunologiques étudiées
pour le diagnostic des paramphistomes gastro-duodénales
(d'après RIEU, 2004)

<i>Méthode</i>	<i>Principe</i>	<i>Résultats</i>		<i>Références</i>
Intradermo réaction	Test positif si réaction inflammatoire Significative au point d'inoculation	Ovins	Aucune réaction locale	KATIYAR et VARSHNEY (1963)*
		Ovins	Réaction locale significative, mais test non spécifique (réaction croisée avec <i>F. hepatica</i> , Nématodes, <i>Schistosoma matthei</i>)	HORAK (1967)
		Ovins	Réaction locale immédiate mais due à un antigène de paramphistome ?	SAHAY (1981)**
		Ovins	Réaction locale non significative	SINGH <i>et al.</i> (1983)
Fixation de complément	Test positif si absence d'hémolyse (calcul d'un index ratio)	Ovins	Valeurs faibles chez les ovins non infestés, infestés et traités, infestés par d'autres parasites, ou atteints de paramphistomose aiguë. Valeurs élevées chez les ovins infestés massivement ou immunisés.	HORAK (1967)
Immuno-précipitation	Présence d'un système précipitant si test positif	Ovins Caprins Bovins	Formation de précipités en 150 min (surtout PE, AG et CA). Bovin >> ovin et caprin : pas de distinction entre animal immunisé et animal infesté	HORAK (1967)
Immuno-fluorescence Indirecte	Complexes Ag-Ac fluorescents visualisés sous ultraviolets	Ovins	Titres détectés entre le 14 ^{ème} et le 18 ^{ème} jour p.i. Test non spécifique (réactions croisées), positivité marquée sur le tégument débutant entre le 15 ^{ème} et le 27 ^{ème} jour p.i., maximale entre le 42 ^{ème} et le 56 ^{ème} jour p.i., puis chute après la maturité sexuelle des parasites	ALABAY (1981) BOCH <i>et al.</i> (1983)*** KELLER (1983)***
ELISA	Révélation par réaction enzymatique	Ovins Bovins	Titres détectés dès le 8 ^{ème} jour p.i., Test sensible mais peu spécifique (réaction croisée avec <i>F. hepatica</i>)	ALABAY (1981), BOCH <i>et al.</i> (1983)***,

(* , d'après HORAK, 1971 ; **, d'après par SINGH *et al.*, 1983 ;
***, d'après JOLY, 1991. p.i., post-infestation).

8.4.3.2.4. Immunofluorescence indirecte (IFI):

On met en présence de coupes de parasites qui font office d'antigènes (Ag) et des anticorps couplés à des molécules fluorescentes (Ac). Ce complexe est révélé à l'aide d'un microscope à fluorescence. Plusieurs auteurs ont mené des travaux sur cette question comme ALABAY (1981). Ce dernier a infesté trois groupes de moutons avec respectivement 5.000, 10.000 et 15.000 métacercaires. Après 14 jours, des anticorps ont été détectés par IFI dans les groupes I et II, et au bout de 18 jours, dans le groupe III. Après le traitement des animaux, les titres ont diminué progressivement et sont descendus en dessous du seuil de positivité 40 jours après traitement.

KELLER en 1983 (cité par RIEU, 2004) observe la fluorescence du 15^{ème} au 27^{ème} jour après le début de l'infestation. Celle-ci devient maximale entre le 42^{ème} et le 56^{ème} jour pour ensuite baisser une fois que le parasite a atteint sa maturité sexuelle (ceci augmente le risque des résultats faussement négatifs).

8.4.3.2.5. ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay):

Cette méthode utilise le même principe que le test d'immunofluorescence Elle est indirecte mais la détection des complexes immuns est réalisée grâce à une réaction immuno-enzymatique.

D'après les travaux d'ALABAY (1981), les anticorps spécifiques peuvent être détectés dès le 8^{ème} jour post-infestation. Ces titres diminuent après le traitement et les mêmes risques de faux positifs et de faux négatifs observés avec l'IFI sont rencontrés. Ainsi, on peut conclure que malgré une très bonne sensibilité, le test ELISA sur sérum de bovin souffre d'un manque de spécificité certaine. Le risque de faux positifs est trop important pour une utilisation en routine sur le terrain.

En faisant le point sur les différentes méthodes de diagnostic des paramphistomoses, il faut reconnaître que celles-ci s'avèrent concluantes. Sur l'animal vivant, les signes cliniques sont frustes, non pathognomoniques et font appel alors à un diagnostic expérimental. Seulement, aucune méthode immunologique n'a prouvé son efficacité. Seule, la coprologie s'avère plus ou moins fiable, ceci malgré toutes les limites déjà mentionnées. En un mot, seul l'examen post-mortem peut être considéré comme diagnostic de certitude.

8.5. Pronostic :

8.5.1. Pronostic médical :

Il est grave pendant la phase pré-imaginale et la mort peut survenir en cas d'infestation massive.

8.5.2. Pronostic économique :

Les pertes économiques ne sont pas négligeables. En plus de la mortalité, on peut noter des pertes de rendement, ainsi que des pertes de la production qui sont dues à l'altération de l'état général et de la fonction digestive (le gain moyen quotidien est ralenti et on assiste à une diminution quantitative et qualitative de la production laitière, ainsi qu'à une émaciation, ce qui entraîne une dépréciation de la valeur économique des animaux, principalement ceux de la filière viande).

D'après HORAK (1967), la résistance des animaux au pouvoir pathogène est d'autant plus élevée que les conditions zootechniques, ainsi que la quantité et la qualité des aliments sont bonnes. Cela explique le fait que les zones tropicales soient les plus touchées par cette pathologie.

9. Méthodes de lutte :

9.1. Traitements :

Le traitement contre la paramphistomose gastro-duodénale vise deux aspects. En premier lieu, il doit être curatif et individuel de sorte à débarrasser l'animal des parasites dont il est porteur. En second lieu, il doit assurer une action préventive visant à réduire l'infestation chez les animaux porteurs cliniques et subcliniques afin d'interrompre le cycle de transmission et, par conséquent, de protéger les animaux sains. POSTAL (1984) rapporte, chiffres à l'appui, la nécessité du traitement pour augmenter la productivité. En 1962, trente-quatre fermes de Biélorussie étaient touchées par la paramphistomose, vraisemblablement due à *P. liorchis*, *P. cervi*, *P. scotiae* ou *P. ichikawai*. Dans ces fermes, 400 animaux morts de paramphistomose et 2.677 bêtes infestés ont été recensés. Au cours de la même année, seules 2.037 têtes de bétail dans le pays avaient été traitées par des anthelminthiques. En 1971, alors que le nombre d'animaux traités dans la même région venait d'atteindre le chiffre de 57.000, le nombre de fermes touchées par la paramphistomose est tombé à sept, avec seulement 57 animaux morts et 465 animaux malades.

En plus de ces pertes directement visibles, rappelons les pertes indirectes (retard de croissance, ...) qui peuvent être causées par l'infestation latente comme le démontrent NIKITIN *et al.* (1972). A ce propos, ces auteurs rapportent qu'après le traitement de veaux infestés expérimentalement, le gain de poids obtenu était nettement supérieur à celui de témoins non traités (POSTAL, 1984). La mise en place d'un traitement antiparasitaire s'avère difficile car la paramphistomose, à la différence de la fasciolose, ne bénéficie pas d'un arsenal thérapeutique très riche et facile à gérer pour de multiples raisons. A notre connaissance, aucune préparation galénique n'a l'indication exclusive « paramphistomose », en dehors des spécialités qui renferment du niclosamide (Yomesan[®]), et qui sont efficaces contre les formes immatures. Les posologies indiquées sont donc celles qui concernent d'autres parasites (Grande Douve, Cestodes, strongles...) et une extrapolation n'est pas toujours adéquate. Les fasciolicides modernes ne sont pas tous efficaces sur les paramphistomes. Les médicaments actifs sur les formes immatures le sont beaucoup moins sur les formes adultes et réciproquement (ceci est dû à des raisons d'environnement et de nutrition du parasite). Brièvement, voici les médicaments les plus fréquemment utilisés. Les traitements les plus couramment utilisés sont les suivants :

9.1.1. Le bithionoloxyde (fasciolicide) :

C'est un diphénol administré par voie orale. Le métabolite actif (bithionol) a été, quant à lui, retiré du marché à cause de sa toxicité. Le bithionoloxyde est utilisé à une posologie moindre de 40 mg/kg (au lieu de 70 mg/kg, voire même de 60 mg/kg) sur les formes immatures. Il est actif sur les adultes à partir de 25 mg/kg (GUILHON et GRABER, 1979 ; MAGE et REYNAL, 1990 ; MAGE et DORCHIES, 1998).

Plusieurs auteurs ont tenté d'associer le bithionoloxyde et le lévamisole, et ces essais ont prouvé leur efficacité à 90 %. En Serbie, des expérimentations faites sur les moutons à raison de 75 mg/kg ont montré une efficacité complète après examen nécropsique et coproscopique. Ce produit a été retiré du marché en janvier 2002 (DORCHIES *et al.*, 2002a).

9.1.2. L'oxyclosanide (fasciolicide) :

C'est le pentachloro, 3,3',5,5',6-dihydroxy 2,2' salicylanilide (ZANIL[®], DIPLIN[®]). Il est utilisé par voie buccale sous forme de suspension aqueuse renfermant 3,4 % de principe actif (pas de diète). La posologie recommandée par le fabricant est de 15 mg/kg. Grâce à des bilans parasitaires, on a établi que la posologie de 18,7 mg/kg aboutissait à des taux d'élimination qui variaient de 50 à 77 % selon la localisation des parasites et qui peuvent atteindre 100 % lorsque

deux produits sont administrés à trois jours d'intervalle (SAHAY *et al.* en 1983, cité par GEVREY et BOURDOISEAU, 1998). Chez le buffle, une très bonne efficacité à la posologie de 10 mg/kg a été aussi signalée (GILL et BALI, 1988). L'oxyclosanide utilisé à la posologie de 15 mg/kg s'est révélé aussi efficace chez des chèvres infestées expérimentalement que le resorantel (SAHAY *et al.*, 1985). Cette molécule est administrée sans danger pour les vaches gestantes et, pour éviter les résidus, on observe un délai d'attente pour la viande de 14 jours alors que le délai d'attente est nul pour le lait (GRABER *et al.*, 1979).

9.1.3. Le niclosamide (cestodicide) :

C'est le 2'chloro, 4'nitrophenyl 5 chlorsalicylanilide (Tredemine[®]). Il a des propriétés cestodicides intéressantes, notamment contre *Moniezia* sp. chez les ovins (GEVREY et BOURDOISEAU, 1998). La posologie cestodicide est de 65 mg/kg chez les bovins et de 80 mg/kg chez les ovins. Son activité sur les formes immatures de paramphistomes est remarquable à la dose de 100 mg/kg (BORAY, 1969 ; ROLFE *et al.* en 1988, cité par MAGE et REYNAL, 1990). Les formes aiguës peuvent être traitées à la posologie de 50 mg/kg car le produit est efficace contre les parasites de 7 à 20 jours (HORAK, 1967). La posologie de 160 mg/kg est nécessaire pour combattre les paramphistomes adultes, que ce soit chez les ovins ou les bovins, et l'efficacité peut atteindre 90 % (SEY, 1989).

A priori, les vétérinaires ne sont pas totalement désarmés pour supprimer la paramphistomose exprimée cliniquement mais l'arsenal thérapeutique existant s'avère insuffisant d'autant plus que le bithionol et le bithionoloxyde ont été supprimés du marché. De plus, le traitement au triclabendazole, traitement de choix contre la fasciolose pré-imaginale et imaginale, n'est pas efficace vis-à-vis des paramphistomes. Par ailleurs, l'apparition de nouveaux fasciolicides très performants mais sans effet sur les paramphistomes, le développement de strongylicides doués d'une activité fasciolicide et de macrolides endectocides ont amené une régression de l'emploi de molécules anciennes qui ont peu d'activité sur les paramphistomes. On peut se poser la question si ce n'est pas une cause principale de l'actuelle recrudescence de la paramphistomose.

Le choix de la formule à utiliser dépend de plusieurs critères, d'abord, des actions attendues (actions curative et préventive), puis de la forme à combattre. L'administration systématique de deux traitements annuels ne semble pas être le plus efficace pour la maîtrise des paramphistomes. ABROUS *et al.* (1999d) ont montré que la maturité des paramphistomes était assez tardive au cours de l'hiver, probablement en relation avec la date de la libération des métacercaires. Deux interventions sont conseillées pour une meilleure efficacité :

- un premier traitement avant l'entrée à l'étable, avec un composé actif contre les formes immatures,

- un autre traitement dirigé contre les formes adultes avant la mise à l'herbe (puisque la maturation des parasites est assez tardive au cours de l'hiver).

On utilise, contre les formes immatures, un produit à base de niclosamide (l'oxyclosanide pourra être envisagé s'il est administré à la dose de 18,7 mg/kg en deux fois à 3 jours d'intervalle). Par contre, contre les adultes, on emploie un produit à base d'oxyclosanide (RIEU, 2004).

9.2. La prophylaxie :

Il est question de mettre en place un ensemble de mesures médicales et hygiéniques visant à prévenir l'apparition de la maladie, à limiter son développement et à assurer sa disparition dans la mesure du possible.

Dans le cas de la paramphistomose gastro-duodénale, EUZEBY (1981) suggère d'agir sur chacun des maillons de la chaîne épidémiologique (voir la figure 15, page suivante). Afin d'empêcher l'infestation des milieux, on assainit ceux qui sont déjà contaminés tout en empêchant le bétail d'y pénétrer. Les stratégies de lutte à mettre en oeuvre dépendent de la structure de chaque exploitation. En milieu sain, il s'agira surtout de mesures défensives, mais en milieu contaminé, les mesures qu'il faut prendre sont plutôt offensives afin d'éliminer le parasite.

De ces deux aspects, est né le concept de lutte intégrée qui consiste à utiliser intelligemment les deux méthodes de lutte visant à réduire considérablement, voire éradiquer la pathologie en question. Il s'agit d'un concept relativement récent.

9.2.1. Les mesures préventives (ou défensives) :

Ces mesures ont pour but d'interdire le contact entre les animaux non infestés et les sources de parasites. Il faudra donc éviter d'introduire le parasite dans l'élevage en respectant un certain nombre de règles telles que la mise en quarantaine de tout animal nouvellement introduit (temporairement comme pour la reproduction, ou définitivement comme dans le cas de l'achat) Les animaux doivent être soumis à des examens coproscopiques avant d'être traités en conséquence.

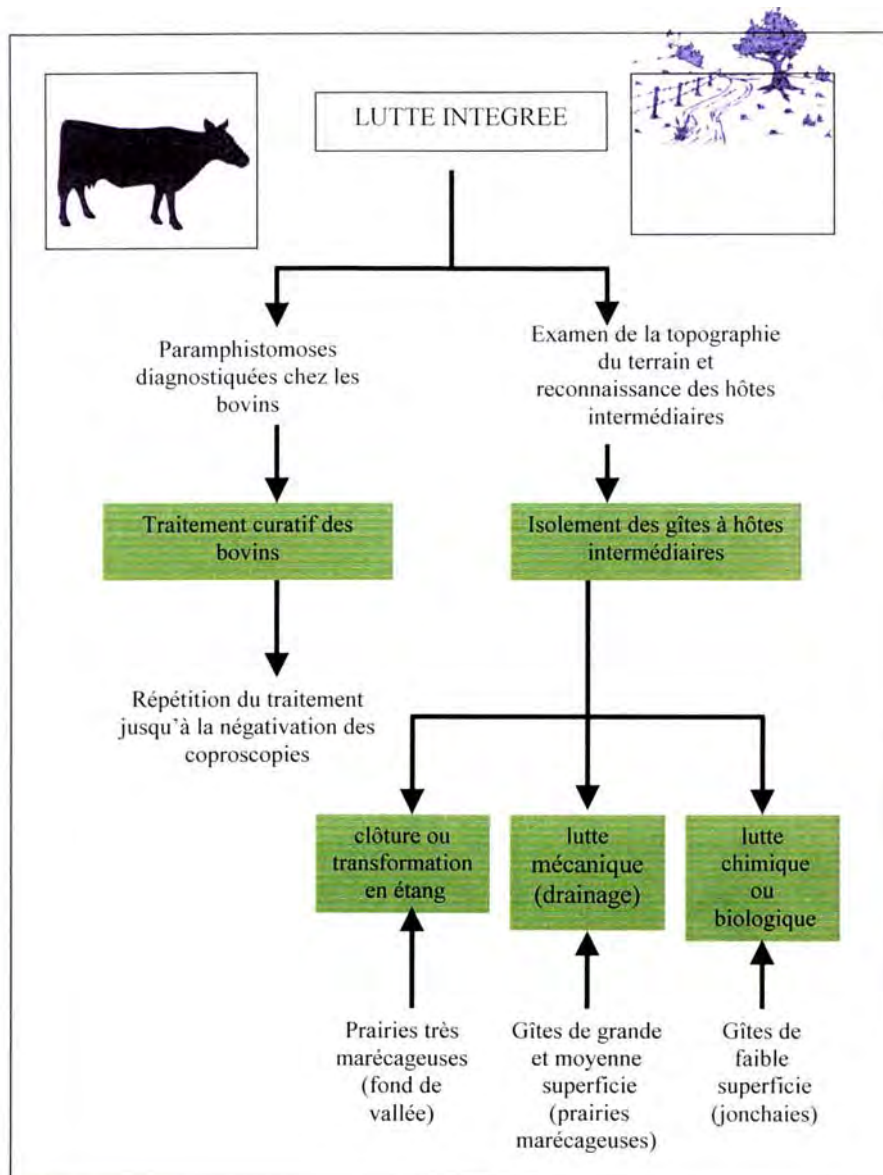


Figure 15.
Concept de la lutte intégrée adapté aux paramphistomoses
(d'après XIMENES *et al.* (1993),

Selon EUZEBY (1978), une durée d'une semaine serait suffisante en cas de paramphistomose gastro-duodénale et ne nécessite en aucun cas d'utiliser la stratégie que l'on emploie contre les maladies infectieuses. Cette mesure devra être appliquée aux bovins ainsi qu'à tous les ruminants domestiques, puisque certaines espèces de paramphistomes peuvent se développer chez les hôtes définitifs d'espèces différentes.

Il existe d'autres sources plus insidieuses qui doivent être prises en considération. Il faut ainsi repérer les cours d'eau qui représentent des voies d'extension potentielle (mollusques, miracidiums et cercaires). Mais le risque devient assez faible si l'on interdit à l'animal d'accéder à ces collections d'eau. De plus, les animaux sauvages constituent un risque, soit parce qu'ils sont porteurs de paramphistomes (ruminants), soit parce qu'ils jouent un rôle de porteurs mécaniques tels que les animaux migrateurs qui portent des mollusques infestés dans leurs plumes (FONTENEAU, 1979).

Il est conseillé pour les éleveurs d'interdire à leur bétail de pénétrer sur des zones potentiellement à risque lors de fortes pluies, et d'effectuer dans la mesure du possible un traitement chimiopréventif.

9.2.2. Les mesures curatives (ou offensives) :

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

- i) Appliquer un traitement adulticide :

Celui-ci se fera une fois par an afin de réduire le risque de contamination des parcours (en diminuant le nombre d'œufs excrétés dans le milieu extérieur). Si les fèces sont utilisées comme engrais, elles doivent faire l'objet d'un assainissement avant leur utilisation. 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).

- ii) Eliminer les hôtes intermédiaires :

C'est la destruction des mollusques pour éviter la ré-infestation. C'est une méthode connue car elle est utilisée dans le cas de la fasciolose. Si l'élimination des porteurs de parasites est facile à réaliser en traitant l'ensemble du troupeau, celle qui vise à éliminer les mollusques n'est pas toujours aisée à mettre en œuvre et reste souvent peu rentable.

Les techniques de drainage dans les prairies marécageuses réduisent le nombre de gîtes à mollusques mais restent coûteuses et lourdes à mettre à exécution.

L'assainissement des prairies contaminées est réalisé en utilisant des molluscicides à raison de 10 à 15 ppm de sulfate de cuivre (efficace sur les formes larvaires de paramphistomes). Pour des surfaces plus importantes, on a souvent suggéré l'utilisation de pentachlorophénate de sodium et de niclosamide aux doses respectives de 5 ppm et de 3 ppm, mais ceci n'a jamais été vraiment mis en pratique en raison de la toxicité des produits sur la flore et la faune associée.

Il existe aussi la lutte biologique. Un Gastéropode prédateur (exemple : *Zonitoïdes nitidus*, actif contre *Galba truncatula*) est alors utilisé. XIMENES *et al.* (1993) ont comparé trois méthodes de lutte contre la Limnée tronquée. Ils ont associé les méthodes de lutte chimique et biologique et sont arrivés à un résultat satisfaisant lorsque la lutte chimique est effectuée au préalable avant l'introduction des prédateurs.

- iii) Utiliser les pâturages de façon rationnelle :

L'accès aux surfaces traitées devra être temporairement interdit au bétail. Les mesures d'élimination du parasite s'avèrent difficiles à appliquer et les résultats semblent partiels.

Il est donc plus judicieux d'utiliser d'une façon rationnelle un milieu contaminé ou un milieu à risques. Dans un tel écosystème, on peut apprécier quelques paramètres qui influencent l'épidémiologie des paramphistomes comme les données climatologiques, et analyser les résultats des prospections malacologiques. Autrement dit, on peut estimer le degré d'infestation des mollusques (MEREMINSKI *et al.* en 1979, cité par POSTAL, 1984).

Parmi les données climatologiques, citons la pluviométrie, le nombre de jours d'ensoleillement, le niveau des inondations et la température extérieure. Le résultat obtenu lors des prospections malacologiques permettra de prévoir si l'année sera favorable ou non à la maladie et d'envisager des mesures plus ou moins sévères comme :

- l'interdiction d'accès du bétail aux points d'eau naturelle par une clôture,
- fournir de l'eau dans des abreuvoirs spéciaux,
- faire un traitement, bien conduit (pour limiter, au maximum, les risques d'extension de la maladie),
- l'intégration d'une gestion raisonnée des pâturages.

En Australie, ROLFE et BORAY (1993) indiquent que le niveau d'infestation est plus élevé en automne et en hiver. Par conséquent, une utilisation des prairies inondées au printemps

et au début de l'été peut conduire à des infestations, d'où la nécessité d'une prémunition (RIEU, 2004).

En conclusion de cette synthèse bibliographique, nous pouvons retenir que les paramphistomoses des ruminants sont des affections dues à des Trématodes de la famille des Paramphistomatidés. Cette pathologie revêt un caractère saisonnier et le cycle est dixène. Il fait intervenir, comme hôtes intermédiaires, une grande variété de Mollusques Gastéropodes aquatiques ou amphibies. Ces parasitoses, qui ont une répartition mondiale, sont beaucoup plus fréquentes dans les pays tropicaux.

En Algérie, si l'on excepte les travaux de PÁCENOVSKY *et al.* (1987) ou ceux de KECHEMIR *et al.* 1988a, b), aucune recherche sur cette pathologie n'a été réalisée jusqu'à ce jour à notre connaissance.

Comme l'identification du paramphistome n'est pas une chose aisée, elle nécessite des moyens de biologie moléculaire avec différentes variantes. Depuis plusieurs années, de nombreux chercheurs se sont intéressés à ces méthodes d'identification très précises, mais assez lourdes et coûteuses. Ainsi, la caractérisation moléculaire de l'espèce peut reposer sur l'analyse du fragment d'ADN ribosomal ITS-2 (Internal Transcribed Spacer 2) comme l'ont rapporté ITAGAKI *et al.* (2003), BAZSALOVICSOVA *et al.* (2010) ou SANABRIA *et al.* (2010).

Par ailleurs, il est possible de faire des identifications à partir de coupes histologiques de parasites adultes, ou encore de réaliser une chétotaxie cercarienne. Cette dernière méthode, même si elle est plus sûre que l'identification à partir d'adultes, a tendance à se perdre. Il faut reconnaître qu'avec l'avènement de la biologie moléculaire (PCR et ses variantes), ces méthodes basées sur les variations des caractéristiques morphométriques ont tendance à être de plus en plus abandonnées.

Le pouvoir pathogène des paramphistomes a toujours été considéré comme négligeable, surtout dans le cas des formes adultes, où il y a une absence totale de signes pathognomoniques. Dans le cas des formes immatures, celui-ci s'exprime par un syndrome diarrhéique et une altération de l'état général, les deux menant à long terme à des pertes économiques plus ou moins importantes selon l'intensité de l'infestation chez les bovins surtout.

La lutte contre cette pathologie ne semble pas être facile. Sur le plan thérapeutique, on ne possède que quelques moyens réduits. On utilise plutôt des fasciolicides et des cestodocides qui, à des doses normales, ne sont pas efficaces contre les paramphistomes et sont même toxiques à des

doses élevées. Sur le plan prophylactique, de nombreux problèmes sont rencontrés tels que la dissémination aisée des métacercaires, leur grande résistance, l'élimination difficile des hôtes intermédiaires, et la longévité des parasites, c'est-à-dire autant de problèmes qui rendent la prophylaxie contre cette parasitose quelque peu obsolète. Cela étant dit, le risque zéro ne semble pas être recherché car une immunité de prémunition, maintenue par l'ingestion de petites quantités de métacercaires est toujours souhaitée.

L'existence des paramphistomes dans le bassin méditerranéen et, plus particulièrement en France où plusieurs travaux montrent l'importance des répercussions économiques de cette pathologie, a poussé notre curiosité pour rechercher ce type d'affection et déterminer la prévalence de l'infestation naturelle chez nous en Algérie. Cette recherche s'appuie également sur le fait que les mollusques hôtes existent sous toutes leurs formes dans notre pays (cela a été mentionné dans plusieurs travaux réalisés par des vétérinaires dans le cadre de la fasciolose et par certains biologistes).

**ETUDE
EXPERIMENTALE**

Les caractéristiques des zones d'étude

Le but de cette partie est de présenter sommairement les principales caractéristiques des zones d'étude au sein desquelles nous avons effectué nos investigations, que ce soit sur l'hôte définitif, le parasite ou sur l'hôte intermédiaire.

Tableau V.
Tableau indiquant les différentes expérimentations entreprises par rapport à la localisation de la Wilaya et à la nature de l'hôte étudié.

Wilayas	Hôte définitif	Parasite	Mollusque hôte
Constantine	Etude de la prévalence et de l'intensité de la parasitose sur les bovins sacrifiés à l'abattoir (sur 4 mois)	Récolte de paramphistomes adultes en vue d'identifier l'espèce par biologie moléculaire (PCR)	---
Sétif	Etude de la prévalence et de l'intensité de la parasitose sur les bovins sacrifiés à l'abattoir (sur 6 mois)		---
Jijel	Etude de la prévalence et de l'intensité de la parasitose sur les bovins sacrifiés à l'abattoir (sur 24 mois). Etude des variations hématologiques chez des moutons infestés expérimentalement par des métacercaires de <i>P. daubneyi</i>		Etude de l'infestation naturelle par <i>Paramphistomum</i> spp. (12 mois, 3 habitats)
El Tarf	---		---
Limoges	---	---	Suivi des émissions cercariennes chez 3 espèces de limnées infestées expérimentalement par <i>P. daubneyi</i>

1. Les Wilayas étudiées :

Une Wilaya a fait l'objet d'une étude globale sur le bétail et l'hôte intermédiaire alors que trois autres régions ne sont concernées que par certains aspects. Le tableau V présente les différentes investigations réalisées sur le bétail, le parasite et les mollusques.

Les études sur la prévalence de la parasitose chez l'hôte définitif ont été menées dans trois Wilayas (Constantine, Jijel et Sétif) avec des périodes d'étude différentes. Ces régions appartiennent à des étages bioclimatiques différents et sont réparties comme suit :

- Constantine et Sétif : régions de l'intérieur, à climat semi-aride,
- El Tarf* et Jijel : régions du littoral, à climat humide.

La Wilaya de Jijel est, seule, concernée par une étude assez globale sur les deux hôtes. Nous nous proposons de développer, dans les paragraphes suivants, les différents aspects que présentent ces zones d'étude.

Le mode d'élevage, appliqué dans l'ensemble des quatre Wilayas, est généralement de type extensif, plus rarement de type semi-intensif.

1.1. Les Wilayas de l'intérieur (Constantine, Sétif) :

Leur altitude moyenne est, respectivement, de 700 et de 1200 mètres. Elles font partie de la zone des hauts plateaux de l'Atlas tellien. Le relief est généralement vallonné et ce sont des régions à vocation céréalière.

1.2. Les Wilayas côtières (El Tarf et Jijel) :

Celle d'El Tarf est située à l'extrême est du pays et est mitoyenne à la frontière tunisienne. Le relief y est peu accidenté et on y relève la présence de nombreux lacs et du parc national d'El Kala où vit une faune et une flore très diversifiée.

Cette Wilaya, à l'instar des autres zones côtières, est réputée pour ses cultures d'oliviers et de vignes. C'est aussi une région agricole par excellence et elle représente l'un des principaux réservoirs nationaux pour le cheptel surtout bovin.

La région de Jijel est située au pied des Monts de Texenna (800 m d'altitude). Le relief est, dans l'ensemble, assez montagneux. Les falaises constituées de granite s'étendent à l'ouest sur près de 70 km.

Il existe, cependant, des endroits qui sont moins accidentés que les précédents (en bordure de la mer) : ils forment les quelques plaines côtières de la région de Belghimouz, dans la daïra d'El Milia.

* : La Wilaya d'El Tarf n'est pas concernée par l'étude de la prévalence sur l'hôte définitif

2. Les sites de prospection :

2.1. Les abattoirs :

Les structures d'abattage retenues dans notre travail sont les abattoirs communaux, situés dans les villes d'El Khroub (Wilaya de Constantine), de Sétif et de Jijel. Ce sont des structures plus ou moins adaptées à l'abattage (structures modernes à Jijel et Sétif, moins conforme à Constantine). L'abattage se fait, en général, tôt le matin, à l'exception de la saison estivale au cours de laquelle les sacrificateurs travaillent tard dans la soirée en raison des températures élevées le jour. Les inspections sont faites dans l'heure qui suit l'abattage des animaux, et ceci à des rythmes différents selon l'abattoir.

2.2. Les gîtes à limnées :

Pour cette étude, nous nous sommes contentés de travailler sur des gîtes préalablement connus dans la région de Jijel.

Deux volets ont été étudiés sur les mollusques, à savoir :

- le contrôle de l'infestation naturelle par les paramphistomes
- un suivi des émissions cercariennes de *P. daubneyi* au laboratoire grâce à des infestations expérimentales de trois espèces de limnées

3. Les caractéristiques générales des zones de prospection :

3.1. Données morphologiques sur les zones d'étude :

Comme les photographies de la planche D (page suivante) le montrent, divers sites de prospection à Constantine et à Jijel ont été photographiés.

Dans l'étage bioclimatique semi-aride (Constantine et Sétif), les cours d'eau sont assez rares. Ceux-ci représentent des gîtes temporaires pour les mollusques hôtes intermédiaires. Néanmoins, l'existence de quelques rivières permanentes et de leurs affluents permet un maintien de certains gîtes en eau presque toute l'année, à l'exception des mois de juillet et août où la quasi-totalité des gîtes est totalement à sec (période d'assèchement estival).

Dans la bande littorale (El Tarf et Jijel), le climat est beaucoup moins rude mais il est surtout très pluvieux. Cela maintient les habitats des mollusques en eau durant toute l'année.

Par ailleurs, dans la région de Jijel, on relève la présence de nombreuses zones marécageuses qui persistent longtemps au cours de l'année. A El Tarf, le parc national d'El Kala (classé patrimoine mondial) possède trois grands lacs qui alimentent constamment les cours d'eau si bien qu'ils ne se dessèchent pas souvent en été. Il est vrai que souvent les cours d'eau, que ce soit à El Tarf ou à Jijel, sont souvent bordés de ronces et d'épineux, ce qui rend leur accès difficile, voire impossible parfois sur plusieurs dizaines de mètres.



Planche D.

Haut gauche : bovins broutant dans une zone marécageuse à Constantine.

Haut droite : cours d'eau à Jijel.

Bas gauche : fossé de route à Constantine

Bas droite : gîte à limnées à Jijel.

Les affluents concernés par nos prospections dans la Wilaya de Jijel sont relativement « propres » sur l'essentiel de leur longueur, avec des lits dont la morphologie est à peu près identique. Une végétation de densité moyenne pousse sur les bords. Des algues filamenteuses de couleur verdâtre sont visibles au milieu de l'eau. La profondeur des oueds est souvent de 20 à 40 cm et, parfois, de 1 à 1,5 m.

Lors de fortes précipitations dans la région littorale, il arrive que de vastes étendues se transforment en zones marécageuses à proximité des cours d'eau et que celles-ci persistent

souvent même en début de période estivale, ce qui suffit à maintenir un biotope favorable au développement et à la croissance des mollusques dulçaquicoles de tous genres.

3.2. Données éco-pédologiques :

Ces données sont presque identiques pour Constantine et Sétif d'une part, et pour El Tarf et Jijel d'autre part. Cela tient au fait que les deux Wilayas citées dans chaque cas appartiennent au même étage bioclimatique. C'est la raison pour laquelle nous décrivons les caractéristiques de la Wilaya de Jijel pour la zone côtière, et celles de la région de Constantine pour les Wilayas des hauts plateaux à l'intérieur du pays.

Le tableau VI résume les caractéristiques géologiques et pédologiques des deux Wilayas précitées. En examinant de plus près ce tableau, on peut dégager les remarques suivantes :

Tableau VI.
Caractéristiques géologiques et pédologiques des deux zones d'étude
(Informations recueillies auprès de la Faculté des Sciences de la Terre,
Université de Constantine, Z010).

Caractéristiques	Région de Constantine		Région de Jijel
Géologiques	<ul style="list-style-type: none"> - Grès numidiens, - Flyschs numidiens, - Argiles et argiles schisteuses, - Marne à boules jaunes, - Alluvions. 	<ul style="list-style-type: none"> - Marno-calcaire, - Calcaires lacustres, - Calcaires, - Alluvions récentes. 	<ul style="list-style-type: none"> - Marne et silice, - Argile, - Marnes sableuses, - Alluvions récentes.
Pédologiques	<ul style="list-style-type: none"> - Sols peu évolués, - Régosols, - Sols calcaro-magnésiens, - Sols d'apport. 	<ul style="list-style-type: none"> - Sols calcaro-magnésiens, - Régosols, - Argiles brunes, - Sols hydromorphes, - Croûtes calcaires développées à certains endroits. 	<ul style="list-style-type: none"> - Sols siliceux, - Argiles brunes, - Sols d'apport.

La Wilaya de Jijel, comme celle d'El Tarf, sont connues pour avoir un terrain siliceux. Quelques zones argileuses sont présentes, mais elles ne représentent que des parcelles très limitées et circonscrites (argiles brunes et sols lessivés).

La Wilaya de Constantine et celle de Sétif sont des zones connues pour leur terre très calcaire, et particulièrement sur le plateau d'Ain El Bey. On note aussi l'existence de sols calcaro-magnésiens et de terrains hydromorphes avec des croûtes calcaires en certains endroits. Enfin, des zones d'argile brune s'observent également, mais de façon éparse.

4. Climatologie :

En Algérie, le climat est tempéré dans son ensemble (type méditerranéen). Mais il y a des différences appréciables entre le climat doux tempéré et humide des régions côtières, et celui rude et sec qui existe à l'intérieur du pays (hauts plateaux).

4.1. Wilaya de Jijel :

Le tableau VII répertorie les données météorologiques relevées au niveau de la Wilaya de Jijel pour les deux années d'étude consécutives (septembre 2010 à août 2012).

Tableau VII.
Températures et pluviométrie mensuelles dans la Wilaya de Jijel
au cours des 24 mois de l'étude (septembre 2010 à août 2012).

Mois	Septembre 2010 à août 2011		Septembre 2011 à août 2012	
	Température (° C)	Pluviométrie (mm)	Température (° C)	Pluviométrie (mm)
Septembre	23,2	52,8	24,1	16,2
Octobre	20,2	214,6	20,4	157,3
Novembre	15,6	193,3	17,2	203
Décembre	12,9	109,4	13,1	142,7
Janvier	11,9	138	10,8	62,8
Février	11,4	144,5	8,4	375,8
Mars	14,1	99,4	13,2	98,1
Avril	17	67,8	15,6	192,7
Mai	19,2	40,9	18,6	0,3
Juin	22,2	29,1	23,8	0
Juillet	26,4	8,2	26,6	0,3
Août	26,1	5,1	27,7	3,1
Précipitations annuelles (mm)		1103,1	1252,3	

Maximum, Minimum.

On y note une pluviométrie très importante. C'est la deuxième Wilaya du pays (après celle d'El Tarf) pour l'abondance des précipitations. Les valeurs annuelles relevées dans le tableau précédent montrent clairement qu'il s'agit bien d'une région très arrosée (plus de 1.100 mm/an, pour chacune des deux années d'étude). Les pics mensuels de précipitations pour les deux années se situent entre octobre et février, durées au cours desquelles on relève plus de 70 % des précipitations annuelles (72,5 % et 75,1 %, respectivement, pour les années 2010-2011 et 2011-2012).

Quant aux températures, celles-ci fluctuent dans des limites allant de 11,4° à 26,4° C pour l'année 2010-2011, et de 8,4° à 27,7° C pour l'année 2011-2012. Les mois les plus froids de l'année sont janvier et février et les plus chauds restent juillet et août. Les journées de gel sont très rares dans cette Wilaya.

4.2. Wilaya de Constantine :

Le tableau VIII présente les données météorologiques relevées dans la Wilaya de Constantine durant une année d'étude.

Tableau VIII.
Températures et pluviométrie mensuelles dans la Wilaya de Constantine au cours des 12 mois d'étude.

Mois	Septembre 2011 à août 2012	
	Température (° C)	Pluviométrie (mm)
Septembre	18,5	3,1
Octobre	13,7	33
Novembre	12,7	33,1
Décembre	8	54,2
Janvier	6,6	35,2
Février	4	107,2
Mars	10,7	55,7
Avril	12,9	70
Mai	17,8	21,9
Juin	25,6	6,2
Juillet	27,4	1,8
Août	28,5	2,6
Précipitations annuelles (mm)		424

Maximum, Minimum.

C'est une région beaucoup moins humide. En effet, le cumul des précipitations annuelles est moins important (424 mm/an pour l'année 2011-2012). On enregistre, généralement, deux saisons bien différenciées : l'une chaude et sèche, qui va du mois de mai à la fin septembre, et l'autre froide et plus ou moins humide qui s'étale du mois d'octobre au mois d'avril.

Les températures moyennes mensuelles sont très basses en hiver (4° C au mois de février) et assez élevées en août (28,5° C) alors que la pluviométrie mensuelle cumulée est de quelques millimètres de juin à septembre et ne dépasse pas les 110 mm pour le mois le plus pluvieux (février). Au cours de la saison humide, la pluviométrie n'est pas nécessairement importante. Il arrive souvent que durant tout un hiver, il ne pleut que très peu, mais la région de Constantine est réputée pour être une zone où il gèle très fréquemment en hiver.

5. Le cheptel domestique :

5.1. *Les bovins :*

Dans la Wilaya d'El Tarf, qui représente l'une des principales régions du pays pour le nombre de têtes de bovins, l'essentiel du cheptel est constitué par la race locale. Les exploitations sont réparties de manière plus ou moins homogène sur toute la Wilaya. Il en est de même à Jijel où l'on note une concentration importante des fermes pratiquant l'élevage dans les régions avoisinantes (Chekfa, El Aouana, El Milia, Kaous, Taher, Texenna, ...). L'élevage est surtout de type extensif, familial et est pratiqué de façon très artisanale et archaïque. Il est très rare de trouver des éleveurs ayant plus de quinze têtes de bovins.

Sur les hauts plateaux constantinois et sétifiens, deux populations bovines locales (Guelmoise et Brune de l'Atlas) forment l'essentiel des troupeaux. Cependant, il faut noter qu'avec l'autorisation des importations de bovins à lait et à viande, de nouvelles races apparaissent en raison des croisements effectués. Les élevages sont généralement de type extensif (la race locale) ou semi-intensif (les races importées).

5.2. *Conduite des élevages :*

Le principal mode d'élevage est le mode extensif et familial. Les animaux sont toute l'année sur les pâturages, quel que soit leur âge. Ces pratiques sont très influencées par les conditions climatiques assez clémentes. Il y a rarement des hivers longs et rigoureux qui nécessitent une entrée à l'étable pour la période hivernale. De plus, ce type d'élevage

engendre des contraintes pour les éleveurs (distribution d'aliments, changement de litière, aération des étables,...) qu'ils n'ont pas l'habitude de supporter. Cette précision est importante car le mode d'infestation naturelle par les parasitoses en général et la paramphistomose en particulier en dépend.

Les exploitations sont, pour la plupart d'entre elles, relativement petites et leur cheptel bovin ne dépasse que très rarement les 20 têtes. Dans la Wilaya de Jijel, les fermes sont très dispersées, ce qui complique davantage les prospections lors des campagnes de vaccination ou de dépistage contre les maladies infectieuses (ou même parasitaires). Dans l'intérieur du pays, la dispersion des exploitations est moins prononcée. Les programmes nationaux lancés par le gouvernement, visant à favoriser le développement de l'élevage en général, ont réduit le nombre de ce type d'exploitation et ont permis, à certaines d'entre elles, de se moderniser et de passer à un mode d'élevage semi-intensif, voire intensif.

Investigations sur l'hôte définitif

Dans ce chapitre, nous rapportons les résultats que nous avons obtenus *i)* sur la prévalence de l'infestation naturelle chez des bovins paramphistomisés, et *ii)* les variations des paramètres hématologiques chez des ovins parasités expérimentalement par des métacercaires de *P. daubneyi*.

Nous avons choisi d'étudier la prévalence de l'infestation naturelle chez les bovins car ce sont eux qui sont le plus touché par cette parasitose. En effet, lors d'une étude antérieure sur plus de 1.200 ovins inspectés dans deux Wilayas (Constantine et Jijel), seuls quatre d'entre eux étaient parasités (TITI, 2008). Les données bibliographiques existantes n'écartent pas la possibilité d'infestation chez cette espèce. A ce propos d'ailleurs, il est utile de rappeler les résultats préliminaires trouvés sur la paramphistomose lors de travaux antérieurs réalisés à l'est du pays.

1. Etude préliminaire :

Une étude préliminaire a été menée par notre équipe en 2006 et 2007 sur plus de 2.000 bovins dans trois Wilayas du nord-est de l'Algérie : Constantine, Jijel et Mila (Daira de Ferdjioua), sur une période de 14 mois. Des prévalences différentes ont été notées d'une Wilaya à l'autre. Le taux d'infestation par les paramphistomes était de 1,2 % à Constantine alors qu'à Jijel, il atteignait les 12,1 %. Dans la Wilaya de Mila, on a une valeur intermédiaire (7,6 %). Le tableau IX présente les prévalences et les intensités de l'infestation chez les bovins dans les trois Wilayas précitées.

Tableau IX.
Prévalence (%) et intensité de l'infestation par *P. daubneyi*
chez les bovins dans le nord-est de l'Algérie.

Paramètres	Constantine	Jijel	Mila
Nombre d'animaux examinés	498	792	743
Nombre d'animaux parasités	06	96	56
Prévalence (%)			
- Minimale-maximale	0-2,0	8,7-15,2	5,3-8,6
- Moyenne	1,2	12,1	7,5
Intensité d'infestation			
- Minimale-maximale	276-1678	13-240	20-324
- Moyenne \pm écart-type	984,1 \pm 478,8	87,1 \pm 56,9	140,7 \pm 87,2

Au regard des données présentées sur le tableau IX, on peut noter que la prévalence de la paramphistomose chez les bovins de Constantine est significativement moins élevée que chez ceux de Jijel et Mila ($\chi^2 = 50,92$; $P < 0,1$ %). De la même façon, le nombre moyen de parasites adultes par panse à Constantine est significativement plus important que les chiffres enregistrés à Jijel et Mila ($\chi^2 = 167,36$; $P < 0,1$ %).

Lorsque l'on s'intéresse de plus près à la charge parasitaire (voir le tableau X), on note qu'à Constantine, tous les animaux parasités ont une charge supérieure à 200 parasites (soit 100 % des bovins infestés). Par contre, à Jijel et Mila, la répartition entre les différentes classes de charge parasitaire est beaucoup plus uniforme.

Tableau X.
Nombre et pourcentage de bovins parasités pour chaque classe parasitaire chez les bovins dans le nord est de l'Algérie.

Classes	Constantine	Jijel	Mila
< 51 parasites	0	22 (22,9)	11 (19,6)
51 à 100 parasites	0	32 (33,3)	19 (33,9)
101 à 150 parasites	0	12 (12,5)	12 (21,4)
151 à 200 parasites	0	12 (12,5)	3 (5,3)
> 200 parasites	6 (100)	18 (18,7)	11 (19,6)

Si l'on s'intéresse à la prévalence de l'infestation en fonction de l'âge (tableau XI), on note que les animaux âgés de 2 à 5 ans sont significativement plus parasités ($\chi^2 = 23,29$; $P < 0,1$ %) à Jijel que dans les deux autres Wilayas. Par contre, à Mila, ce sont les animaux les plus vieux (> 5 ans) qui présentent les plus fortes prévalences ($\chi^2 = 19,08$; $P < 0,1$ %).

Tableau XI.
Nombre d'animaux examinés et prévalence (%) de la paramphistomose en fonction de l'âge des animaux.

Wilaya	Nombre de bovins examinés (Prévalence en %)		
	< 2 ans	2 à 5 ans	> 5 ans
Constantine	224 (0)	140 (0)	134 (4,4)
Jijel	313 (9,2)	333 (17,7)	146 (5,4)
Mila	252 (2,7)	242 (6,1)	249 (13,6)

Ces premiers résultats obtenus sur la prévalence de la paramphistomose chez les bovins nous ont incité à engager de nouvelles études afin de compléter nos connaissances sur l'épidémiologie de cette trématodose dans notre pays et, plus précisément dans la Wilaya de Jijel où toutes les conditions sont réunies pour une étude approfondie.

2. Prévalence et intensité de l'infestation chez les bovins, et leur corrélation avec divers paramètres :

2.1. Objectifs de l'étude :

Cette partie a été développée afin de répondre à plusieurs questions posées antérieurement. En effet, cette parasitose a été pendant longtemps ignorée aussi bien par les éleveurs que par les vétérinaires, même en Europe, probablement pour le peu d'intérêt clinique qu'elle avait aux yeux de ces derniers. Depuis plusieurs années, la paramphistomose a vu sa prévalence augmenter de façon considérable dans plusieurs régions à travers le monde, et cela a contraint les différents secteurs (éleveurs, vétérinaires, pouvoirs publics) à s'activer pour éviter qu'elle ne s'installe de façon épizootique. Dans le cas de notre pays, les rares travaux (PACENOVSKI *et al*, 1987 ; KECEMIR , 1988a et b) menés jusque-là sont si insuffisants qu'il nous a paru nécessaire *i*) de mener une étude épidémiologique aussi complète que possible sur la maladie, *ii*) de déterminer la prévalence de l'infestation naturelle chez les bovins dans une Wilaya phare (Jijel), *iii*) de préciser l'intensité moyenne de l'infestation chez les bovins parasités, *iv*) de suivre l'évolution mensuelle de cette parasitose, et *v*) de voir s'il existe une corrélation entre la prévalence et les saisons, ou encore entre la prévalence et l'intensité de l'infestation.

2.2. Etude des paramètres parasitologiques :

Ces deux paramètres ont été étudiés en *post-mortem* à la suite de l'examen macroscopique des panses de bovins sacrifiés au niveau des abattoirs de Jijel et de Taher.

Dans le cas des Wilayas de Constantine et de Sétif, le nombre des animaux examinés est très inférieur à celui de Jijel. De plus, la durée des investigations dans ces abattoirs est nettement plus réduite que celle effectuée à Jijel. Malgré ces limites, nous avons rapporté, sur le tableau XII (page 78), les prévalences relevées dans chacune de ces trois Wilayas. A l'inverse des deux abattoirs précités, nous avons eu toutes les facilités nécessaires au niveau des abattoirs de la Wilaya de Jijel, ce qui nous a permis de réaliser notre suivi de la prévalence sur deux années consécutives.

Nous avons tenté d'établir une corrélation entre les paramètres parasitologiques (prévalence, intensité de l'infestation) et la saison ou la pluviométrie. La prévalence (en %) a été calculée de la manière suivante : Nombre de bovins parasités / Nombre d'animaux examinés x 100. L'intensité d'infestation est le nombre de parasites récoltés par animal. La valeur moyenne de cette intensité a été calculée en utilisant la formule suivante : Nombre total de parasites comptés / nombre total d'animaux parasités.

Une étude des corrélations pouvant exister entre les différents paramètres étudiés a été réalisée statistiquement à l'aide du test Chi2 ou d'une analyse de variance à un seul facteur (ANOVA). Ces analyses ont été effectuées avec le logiciel XLSTAT.

2.3. Protocole expérimental :

Nos investigations ont consisté essentiellement en des visites régulières aux abattoirs des différentes villes retenues dans le cadre de notre étude, mais avec une périodicité très différente d'un abattoir à l'autre.

L'examen des pré-estomacs (mais surtout des panses) a été effectué lors de nos inspections aux abattoirs. Le rythme de ces visites a varié selon les Wilayas :

- Par exemple, à Constantine, nous n'avons pu réaliser que quatre séries d'inspection alors qu'à Sétif, nous avons pu en faire sept.

- A Jijel, les visites d'inspection ont été beaucoup plus régulières (deux à trois par mois dans les deux abattoirs de la Wilaya) et se sont étalées sur 24 mois sans discontinuité (de septembre 2010 à août 2012).

Après avoir vidé et lavé la panse et les autres compartiments gastriques, on procède à l'inspection (recherche de parasites adultes accrochés à la muqueuse). Une attention soutenue est accordée à la région des piliers du rumen.

Le comptage des parasites ne concerne que les adultes fixés sur la muqueuse de la panse, car il est techniquement impossible de comptabiliser ceux qui ne sont pas accrochés ou qui sont évacués lors du lavage des estomacs.

Une série de renseignements sur les animaux sacrifiés (race, âge, espèce, provenance, motif d'abattage) est, d'autre part, relevée. Lorsque l'on trouve des paramphistomes, on les compte et le résultat est porté sur la fiche de l'animal.



Planche E.
Photos de paramphistomes fixés sur les papilles du rumen
(photographies personnelles).

La planche E montre des paramphistomes adultes au niveau du rumen. Ces parasites sont souvent très nombreux (plusieurs centaines) et parfois clairsemés au niveau de la panse (quelque dizaines). Ils sont facilement identifiables grâce à leur couleur rosâtre.

2.4. Résultats et interprétation :

2.4.1. Prévalence de l'infestation naturelle :

Le tableau ci-dessous indique le nombre total des bovins examinés et leur répartition selon les wilayas d'étude.

Wilaya	Constantine	Jijel	Sétif	Total
Nombre de bovins examinés	178	1.523	148	1.849

Quant aux prévalences enregistrées dans les différents abattoirs, celles-ci sont regroupées sur le tableau XII.

Tableau XII.
Prévalences enregistrées sur les bovins sacrifiés au niveau
des abattoirs de Constantine, Jijel et Sétif.

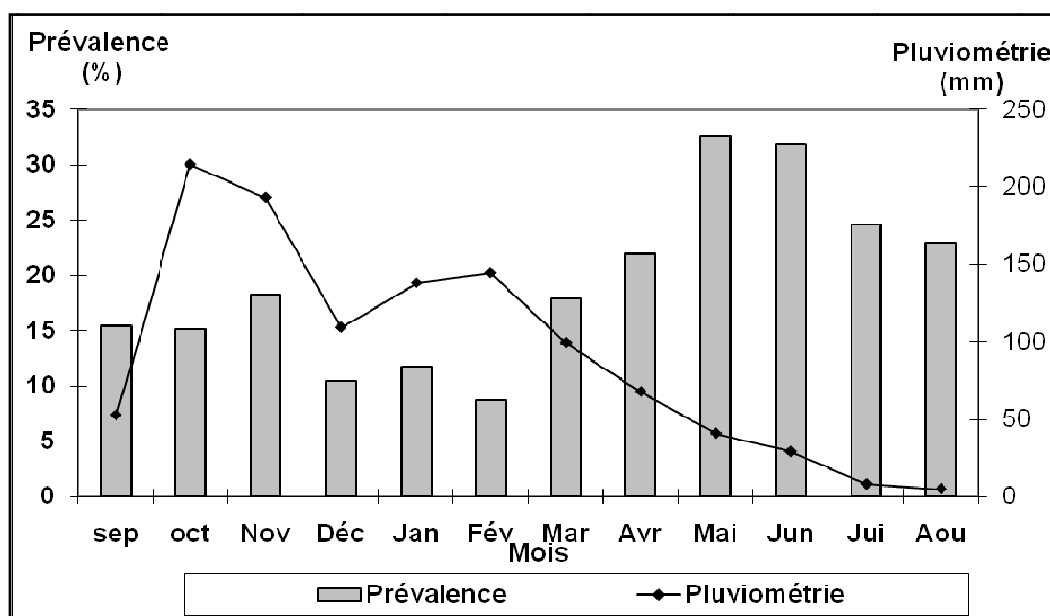
Wilaya	Nombre de bovins		Prévalence (%)
	Examinés	Parasités	
Constantine	178	09	5,05
Jijel	1523	272	17,6
Sétif	148	04	2,70

Sans pour autant vouloir faire une comparaison statistique, (compte tenu des effectifs très inégaux entre les Wilayas de Constantine et de Sétif par rapport à celui de Jijel), on constate néanmoins que la prévalence est nettement plus élevée dans cette dernière région (17,6 % au lieu de 5,05 % et 2,7 % par ordre respectif). Pour les raisons pratiques et les facilités trouvées dans les abattoirs, nous nous contenterons d'axer notre étude sur les bovins sacrifiés dans la Wilaya de Jijel.

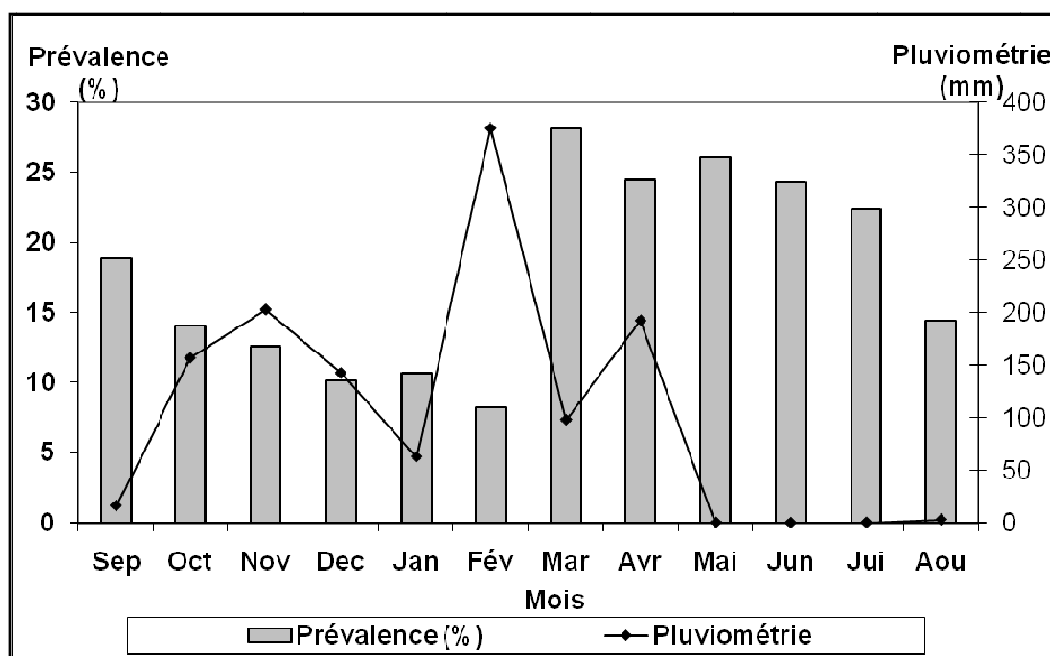
Tableau XIII.
Evolution mensuelle de la prévalence de la paramphistomose bovine
dans la Wilaya de Jijel (septembre 2010 à août 2012).

Mois	Septembre 2012 à août 2011		Septembre 2011 à août 2012	
	Nombre de bovins parasités / examinés	Prévalence (%)	Nombre de bovins parasités / examinés	Prévalence (%)
Septembre	15 / 97	15,4	14 / 74	18,9
Octobre	19 / 125	15,2	12 / 85	14,1
Novembre	9 / 49	18,3	8 / 63	12,6
Décembre	8 / 76	10,5	5 / 49	10,2
Janvier	7 / 59	11,8	6 / 56	10,7
Février	5 / 57	8,7	6 / 72	8,3
Mars	14 / 78	17,9	13 / 46	28,2
Avril	15 / 68	22,0	13 / 53	24,5
Mai	17 / 52	32,6	11 / 42	26,1
Juin	15 / 47	31,9	9 / 37	24,3
Juillet	17 / 69	24,6	11 / 49	22,4
Aout	15 / 65	23,0	8 / 55	14,5
Total	156 / 842	18,5	116 / 681	17,0

2.4.1.1. Corrélation entre la prévalence et la pluviométrie :



Histogramme 1.
Evolution de la prévalence mensuelle de la paramphistomose bovine dans la Wilaya de Jijel pour 2010-2011.



Histogramme 2.
Evolution de la prévalence mensuelle de la paramphistomose bovine dans la Wilaya de Jijel pour 2011-2012.

Les histogrammes 1 et 2 (page précédente) montrent l'évolution mensuelle de la prévalence et de la pluviométrie. Leur examen permet les constatations suivantes :

- Au cours de la première année d'étude, les plus fortes prévalences sont enregistrées au début du printemps (mars) et se maintiennent ainsi jusqu'à la fin de l'été (août). Par ailleurs, elles surviennent environ 4 à 5 mois après le début de la saison des fortes pluies (entre octobre et février).

- Sans vouloir tirer de conclusions hâtives, il semble que cela concorde quelque peu avec le cycle biologique de la parasitose. En effet, si l'on s'en tient aux données bibliographiques, les œufs du parasite, une fois rejeté par l'hôte définitif et après l'éclosion des miracidiums, séjournent deux à trois mois chez l'hôte intermédiaire, puis en sortent sous forme de cercaires. Ces dernières s'accrochent à un support végétal et s'enkystent pour se transformer en métacercaires (formes infestantes). Après leur ingestion par l'hôte définitif, ces dernières subissent des transformations pour devenir des formes préadultes. La migration chez l'hôte définitif peut durer trois semaines à deux mois.

- Cette corrélation existant entre la prévalence et la pluviométrie concorde parfaitement avec nos données d'abattoir, car les premières prévalences élevées sont notées en mars alors que le début des fortes pluies a été enregistré au mois d'octobre de l'année précédente. A ce propos, de nombreux auteurs ont confirmé la forte influence de la pluviométrie et de la température sur l'épidémiologie de la parasitose. KHAN et MAQBOOL (2012) ont montré qu'une très forte pluviométrie était suivie d'une prévalence élevée de la paramphistomose alors qu'après les saisons chaudes (2 à 3 mois environ), on notait une forte baisse de la parasitose. HAKALAHTI *et al.* (2006) démontrent que la pluviométrie influait de façon directe sur la dynamique des populations de parasites et, par conséquent, sur la transmission de la maladie. Cependant, il n'existe aucune corrélation entre le niveau d'infestation des mollusques et celui des hôtes définitifs.

Trop de paramètres sont à prendre en considération. Cette constatation a besoin d'être étayée par la maîtrise d'un grand nombre de paramètres comme le lieu où le bétail s'est infesté, le niveau du parasitisme naturel chez les mollusques, la charge parasitaire de ces derniers, etc. Or ce type d'étude est très lourd, voire impossible à réaliser sur le terrain.

2.4.1.2. Corrélation entre la prévalence et la saison :

Nous avons tenté d'établir une corrélation entre la prévalence de l'infestation naturelle et la saison.

Tableau XIII.

Evolution saisonnière de la prévalence de la paramphistomose bovine dans la Wilaya de Jijel et comparaison des moyennes saisonnière sur les deux années consécutives (septembre 2010 à août 2012).

Saison	Mois / année	Nombre de bovins		Prévalence (%)	Prévalence moyenne sur 2 années
		Examinés	Parasités		
AUTOMNE	09 / 2010	97	15	15,4	77 / 493 x 100 15,6 %
	10 / 2010	125	19	15,2	
	11 / 2010	49	9	18,3	
	Moy. saison	271	43	15,8	
	09 / 2011	74	14	18,9	
	10 / 2011	85	12	14,1	
	11 / 2011	63	8	12,6	
	Moy. saison	222	34	15,3	
HIVER	12 / 2010	76	8	10,5	37 / 369 x 100 10,6 %
	01 / 2011	59	7	11,8	
	02 / 2011	57	5	8,7	
	Moy. saison	192	20	10,4	
	12 / 2011	49	5	10,2	
	01 / 2012	56	6	10,7	
	02 / 2012	72	6	8,3	
	Moy. saison	177	17	9,6	
PRINTEMPS	03 / 2011	78	14	17,9	83 / 339 x 100 24,4 %
	04 / 2011	68	15	22,0	
	05 / 2011	52	17	32,6	
	Moy. saison	198	46	23,2	
	03 / 2012	46	13	28,2	
	04 / 2012	53	13	24,5	
	05 / 2012	42	11	26,1	
	Moy. saison	141	37	26,2	
ETE	06 / 2011	47	15	31,9	75 / 322 x 100 23,2 %
	07 / 2011	69	17	24,6	
	08 / 2011	65	15	23,0	
	Moy. saison	181	47	25,9	
	06 / 2012	37	9	24,3	
	07 / 2012	49	11	22,4	
	08 / 2012	55	8	14,5	
	Moy. saison	141	28	19,8	

Tableau XIV.
 Résultats de l'analyse statistique sur les variations de la
 prévalence en fonction des saisons au cours des deux années de l'étude.

Paramètres comparés	Valeur du Chi2	Signification statistique
Automne-1 x Hiver-1	$\chi^2 = 2,17$	NS
Automne-1 x Printemps-1	$\chi^2 = 2,72$	NS
Automne-1 x Eté-1	$\chi^2 = 4,56$	$P < 5 \%$
Hiver-1 x Printemps-1	$\chi^2 = 0,021$	NS
Hiver-1 x Eté-1	$\chi^2 = 2,80$	NS
Printemps-1 x Eté-1	$\chi^2 = 4,19$	$P < 5 \%$
Automne-2 x Hiver-2	$\chi^2 = 0,72$	NS
Automne-2 x Printemps-2	$\chi^2 = 8,12$	$P < 0,1 \%$
Automne-2 x Eté-2	$\chi^2 = 10,63$	$P < 0,1 \%$
Hiver-2 x Printemps-2	$\chi^2 = 1,68$	NS
Hiver-2 x Eté-2	$\chi^2 = 0,05$	NS
Printemps-2 x Eté-2	$\chi^2 = 9,99$	$P < 0,1 \%$
Automne-1 x Automne-2	$\chi^2 = 4,34$	$P < 5 \%$
Automne-1 x Hiver-2	$\chi^2 = 0,23$	NS
Automne-1 x Printemps-2	$\chi^2 = 2,88$	NS
Automne-1 x Eté-2	$\chi^2 = 8,93$	$P < 5 \%$
Hiver-1 x Automne-2	$\chi^2 = 0,24$	NS
Hiver-1 x Hiver-2	$\chi^2 = 0,35$	NS
Hiver-1 x Printemps-2	$\chi^2 = 4,65$	$P < 5 \%$
Hiver-1 x Eté-2	$\chi^2 = 11,44$	$P < 0,1 \%$
Printemps-1 x Automne-2	$\chi^2 = 0,02$	NS
Printemps-1 x Hiver-2	$\chi^2 = 1,03$	NS
Printemps-1 x Printemps-2	$\chi^2 = 2,24$	NS
Printemps-1 x Eté-2	$\chi^2 = 4,32$	$P < 5 \%$
Eté-1 x Automne-2	$\chi^2 = 0,88$	NS
Eté-1 x Hiver-2	$\chi^2 = 10,81$	$P < 0,1 \%$
Eté-1 x Printemps-2	$\chi^2 = 5,06$	$P < 5 \%$
Eté-1 x Eté-2	$\chi^2 = 1,01$	NS

1 : 1^{ère} année ; 2 : 2^{ème} année ; NS : Différence non significative ; P : Probabilité au seuil de.

Les tableaux XIII et XIV (pages 78 et 79) indiquent la prévalence mensuelle, la moyenne saisonnière de celle-ci et la moyenne saisonnière sur les deux années d'étude. Leur examen permet de dégager les commentaires suivants :

- A partir des résultats répertoriés dans le tableau XIV, on note que les prévalences chez les bovins sont significativement plus élevées au printemps et en été, surtout pour la deuxième année d'étude ($P < 0,1 \%$).

- Par ailleurs, il n'existe pas de différence significative lorsque les mêmes saisons sont comparées entre elles d'une année à l'autre.

La première constatation est que les différences entre les prévalences moyennes pour une même saison ne sont pas importantes sur les deux années d'étude pour l'automne et l'hiver. (Automne 2010 : 15,8 % ; automne 2011 : 15,3 % . Hiver 2011: 10,4 % ; hiver 2012 : 9,6 %).

Au printemps et en été, les différences sont un peu plus importantes mais ne sont pas significatives. Cependant, les pics de prévalence chez l'hôte définitif ont été enregistrés au printemps et en été à l'inverse de l'automne et de l'hiver (24,4 % et 23,2 % au lieu de 15,6 % et 10,6 % par ordre respectif).

Pour expliquer les prévalences les plus basses chez le bétail en automne et en hiver, il faut remarquer que ces deux saisons succèdent à l'été qui est généralement assez chaud et où le nombre de gîtes à mollusques est considérablement réduit (surtout pour la plupart des habitats temporaires en raison de l'assèchement quasi-total des cours d'eau). De ce fait, les mollusques disparaissent ou entrent en estivation, et cela entraîne une forte baisse de la prévalence. Malgré tout, ces prévalences de 15,6 % et 10,6 % sont probablement entretenues par les habitats permanents de mollusques. Ces gîtes, même si leur nombre est assez réduit, suffisent pour maintenir la continuité du cycle évolutif et transmission de la parasitose.

Lors du retour des pluies en octobre (fin de l'automne) et jusqu'à février (fin de l'hiver), les fortes précipitations ravivent les cours d'eau et les habitats temporaires réapparaissent. Les mollusques sortent alors de leur léthargie post-estivale et vont commencer à se ré-infester par les miracidiums de paramphistomes (les œufs sont présents dans les fèces des ruminants), ce qui permet aux infestations d'apparaître de nouveau en début de printemps chez les ruminants.

2.4.1.3. Corrélation entre la prévalence et le sexe de l'animal :

Les résultats sont fournis sur les tableaux XV et XVI (page suivante).

Tableau XV.

Prévalence moyenne saisonnière en fonction du sexe des bovins sacrifiés
aux abattoirs de Jijel et de Taher pour 12 mois d'étude (septembre 2010 à août 2011).

Mois	Saison	Mâles		Femelles	
		Parasités / Examinés	Prévalence (%)	Parasitées / examinées	Prévalence (%)
Septembre 2010 Octobre 2010 Novembre 2010	Automne 2010	37 / 253	14,6	06 / 18	33,3
Décembre 2010 Janvier 2011 Février 2011	Hiver 2010/2011	16 / 176	9,09	04 / 16	25,0
Mars 2011 Avril 2011 Mai 2011	Printemps 2011	37 / 185	20,0	09 / 13	69,2
Juin 2011 Juillet 2011 Août 2011	Eté 2011	39 / 169	23,0	08 / 12	66,6
Totaux		129 / 783	14,6	27 / 59	45,7

Tableau XVI.

Prévalence moyenne saisonnière en fonction du sexe des bovins sacrifiés
aux abattoirs de Jijel et de Taher pour 12 mois d'étude (septembre 2011 à août 2012).

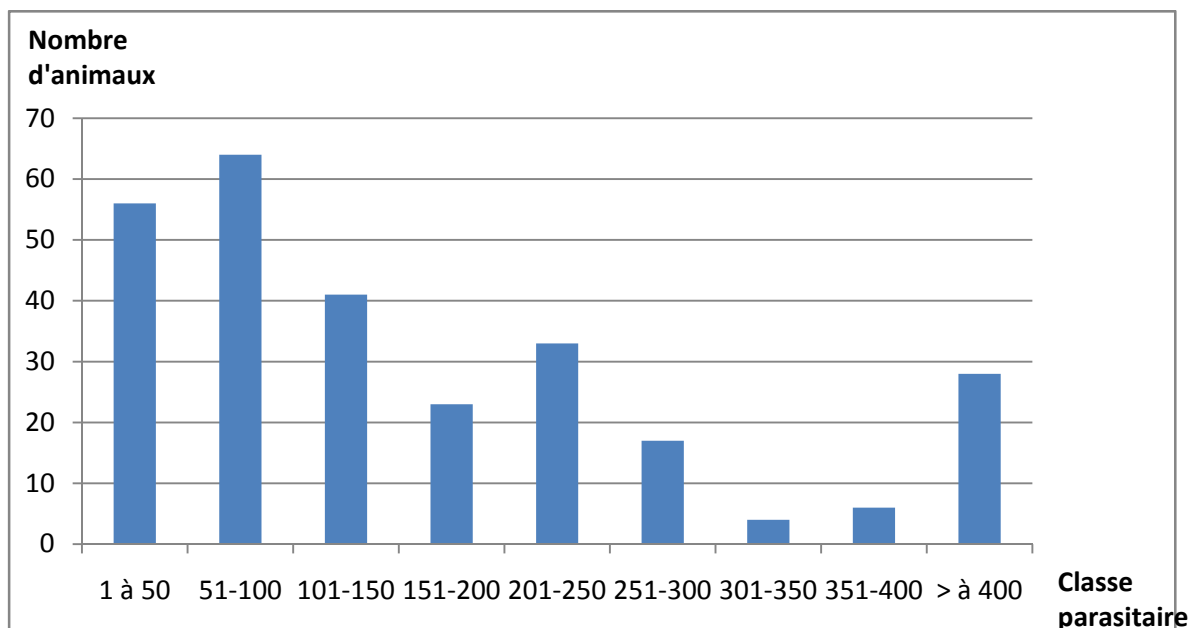
Mois	Saison	Mâles		Femelles	
		Parasités / Examinés	Prévalence (%)	Parasitées / examinées	Prévalence (%)
Septembre 2011 Octobre 2011 Novembre 2011	Automne 2011	29 / 211	13,7	05 / 11	45,4
Décembre 2011 Janvier 2012 Février 2012	Hiver 2011/2012	14 / 169	8,2	03 / 08	37,5
Mars 2012 Avril 2012 Mai 2012	Printemps 2012	28 / 121	23,1	09 / 20	45,0
Juin 2012 Juillet 2012 Août 2012	Eté 2012	19 / 118	16,1	09 / 23	39,1
Totaux		90 / 619	14,5	26 / 62	41,9

Au regard des tableaux XV et XVI (page 81), il apparait clairement que les femelles sont nettement plus parasitées que les mâles ($\chi^2 = 31,17$; $P < 0,1$ % pour la première année, $\chi^2 = 29,92$; $P < 0,1$ % pour la deuxième année, et $\chi^2 = 60,3$; $P < 0,1$ % pour les deux années successives). Cependant, il faut noter qu'il existe un grand déséquilibre entre les effectifs des deux sexes. A titre d'exemple, durant la première année d'étude sur les 842 bovins sacrifiés, 783 étaient des mâles (soit 92,9 %).

Cela s'explique par le fait que les jeunes mâles à l'engrais ont l'abattoir comme destination naturelle alors que les femelles sacrifiées sont généralement des bêtes en fin de production (vaches de réforme) ou les cas d'abattage d'urgence. A cet effet, un biais de taille (l'âge) vient se greffer dans la comparaison entre les sexes. Si les femelles sont significativement plus parasitées que les mâles, cela doit être attribué plus à l'âge des bêtes plutôt qu'au sexe. Par ailleurs, nous ne connaissons pas d'étude rapportant une plus grande prédisposition des femelles aux parasitoses. Par contre, de nombreux auteurs ont expliqué la fragilité des animaux âgés aux infestations parasitaires par un effondrement des défenses immunitaires.

2.4.2. Intensité de l'infestation naturelle :

Sur un total de 272 animaux parasités, l'intensité moyenne de l'infestation est de 164,2 parasites par bovin. La répartition des animaux en fonction du nombre de parasites récoltés est présentée sur l'histogramme 3.



Histogramme 3.
Répartition des animaux parasités par classe d'infestation.

Tableau XVII.
 Intensité de l'infestation moyenne de la paramphistomose
 bovine par mois et par saison durant les 24 mois d'étude.

Saison	Mois /année	Nombre de		Intensité moyenne ± écart type	Intensité moyenne saisonnière	Prévalence moyenne sur 2 années
		Parasites	Bovins parasités			
Automne	09 / 2010	2.958	15	197,2 ± 153,7	252,1	15259 / 77
	10 / 2010	3.938	19	207,2 ± 248,5		
	11 / 2010	1.426	09	158,4 ± 112,2		
	Total	8.322	33			
	09 / 2011	2.530	14	180,7 ± 156,4	204,0	198,1
	10 / 2011	2.349	12	195,7 ± 157,6		
	11 / 2011	2.058	08	257,2 ± 276,9		
Total	6.937	34				
Hiver	12 / 2010	1.425	08	178,1 ± 71,2	222,1	9231 / 37
	01 / 2011	1.721	07	245,8 ± 145,7		
	02 / 2011	1.297	05	259,4 ± 163,6		
	Total	4.443	20			
	12 / 2011	1.464	05	292,8 ± 276,9	281,6	249,4
	01 / 2012	1.680	06	280,0 ± 189,6		
	02 / 2012	1.644	06	274,0 ± 205,8		
Total	4.788	17				
Printemps	03 / 2011	1.920	14	137,1 ± 90,9	124,5	10046 / 83
	04 / 2011	2.477	15	165,1 ± 120,3		
	05 / 2011	1.332	17	78,3 ± 54,6		
	Total	5.729	46			
	03 / 2012	1.827	13	140,5 ± 156,4	116,6	121,0
	04 / 2012	1.527	13	117,4 ± 151,0		
	05 / 2012	963	11	87,5 ± 72,1		
Total	4.317	37				
Eté	06 / 2011	1.459	15	97,2 ± 62,7	136,2	10160 / 75
	07 / 2011	2.231	17	131,2 ± 94,5		
	08 / 2011	2.714	15	180,9 ± 238,2		
	Total	6.404	47			
	06 / 2012	898	09	99,7 ± 69,6	134,1	135,4
	07 / 2012	1.616	11	146,9 ± 95,3		
	08 / 2012	1.242	08	155,2 ± 110,5		
Total	3.756	28				

Sur l'histogramme 3, on note que la plupart des bovins infestés ont des charges parasitaires relativement faibles (entre 1 et 150 paramphistomes / animal). Ces derniers représentent plus de la moitié (59,1 %) de l'effectif total des animaux parasités. On peut relever aussi que plus des 4 / 5^{èmes} de l'effectif (86 %) ont une charge inférieure à 300 parasites/animal. Enfin, seuls 10,2 % des animaux infestés ont plus de 400 paramphistomes dans leur panse.

2.4.2.1. Corrélation entre l'intensité d'infestation et la saison :

Le test statistique appliqué à cette comparaison est une analyse de variance à un facteur et le test de corrélation a été fait entre la charge parasitaire et la saison. Le tableau XVII (page précédente), rapporte les moyennes mensuelle et saisonnière de cette intensité.

Tableau XVIII.

Résultats de l'analyse statistique sur la comparaison des variations de la charge parasitaire moyenne en fonction de la saison sur les deux années d'étude.

Saisons comparées	Effectif	Moyenne ± écart-type	Valeur de <i>F</i>	Signification
Automne 1 - Printemps 1	43 46	193,5 ± 192,7 124,5 ± 96,8	<i>F</i> = 4,65	<i>P</i> < 5 %
Hiver 1 - Printemps 1	20 46	222,1 ± 124,9 124,5 ± 96,8	<i>F</i> = 11,84	<i>P</i> < 0,1 %
Hiver 1 - Eté 1	20 47	222,1 ± 124,9 136,3 ± 150,8	<i>F</i> = 5,01	<i>P</i> < 5 %
Automne 2 - Printemps 2	34 37	204,0 ± 142,7 116,7 ± 133,0	<i>F</i> = 7,13	<i>P</i> < 0,1 %
Automne 2 - Eté 2	34 28	204,0 ± 142,7 134,1 ± 92,5	<i>F</i> = 4,98	<i>P</i> < 5 %
Hiver 2 - Printemps 2	17 37	281,6 ± 209,1 116,7 ± 133,0	<i>F</i> = 12,34	<i>P</i> < 0,1 %
Hiver 2 - Eté 2	17 28	281,6 ± 209,1 134,1 ± 92,5	<i>F</i> = 10,63	<i>P</i> < 0,1 %

1 : 1^{ère} année ; 2 : 2^{ème} année ; *F* : valeur du rapport *F* de Fischer ; *P* : Probabilité au seuil de.

Le tableau XVIII présente les résultats de la comparaison entre les saisons et la charge parasitaire moyenne, ainsi que les valeurs statistiques obtenues. Nous n'avons représenté que les comparaisons donnant lieu à des valeurs significativement différentes sur le plan statistique.

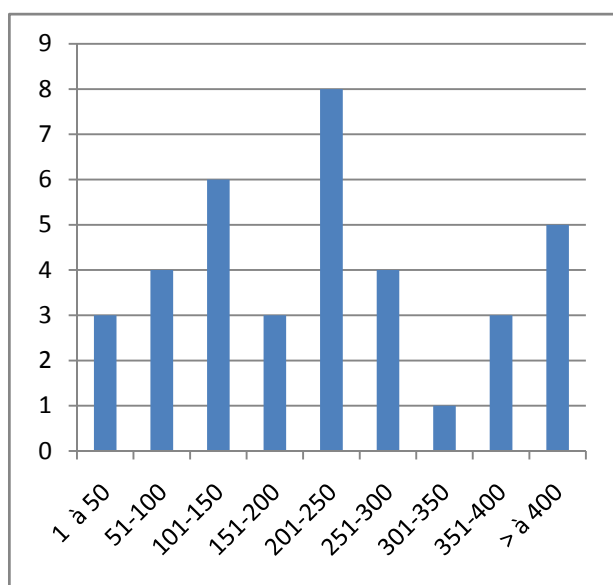
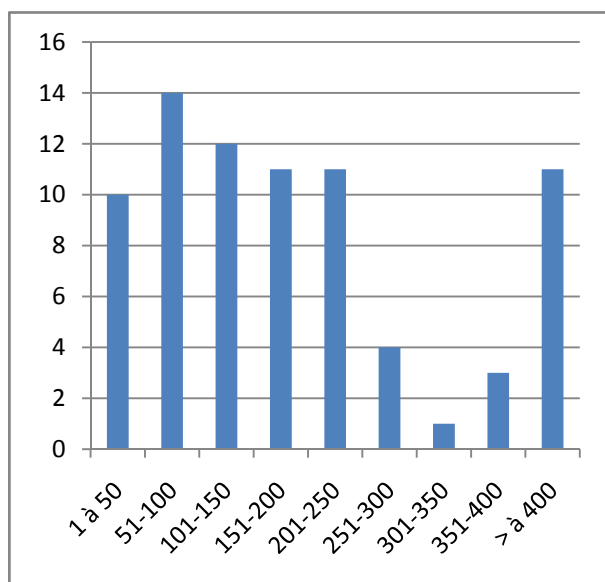
Sur le tableau XVII, on note que la charge parasitaire en automne et en hiver est un peu supérieure à celles relevées au printemps et en été (198,1 et 249,4 parasites au lieu de 121,0 et 135,4 par ordre respectif). Cette constatation est confirmée statistiquement par les valeurs de l'analyse de variance (tableau XVIII). Cette situation, quelque peu paradoxale par rapport à la prévalence, montre que plus il y a d'animaux qui s'infestent (prévalence assez élevée) et moins la charge parasitaire est importante.

Nous proposons l'explication suivante. Lorsque les habitats des mollusques sont nombreux et abondants, le risque d'infestation d'un plus grand nombre de ruminants est certes plus élevé ; mais, en raison de la dispersion de ces habitats et comme les mollusques ne se déplacent que très peu, la dissémination du matériel infestant serait plus étendue et, de ce fait, les charges parasitaires individuelles seraient moins fortes. Au contraire, lors des saisons relativement chaudes (printemps et été), il y a une forte réduction dans le nombre des gîtes à limnées et celles-ci se concentrent au niveau des moindres résurgences d'eau pour se maintenir en vie. La raréfaction de ces biotopes incite les ruminants à rechercher ces petits « coins verts » où l'herbe est assez tendre et verte. Peu d'animaux accèdent probablement à ces zones pour y paître mais ceux qui y arrivent se voient plus exposés aux infestations relativement importantes du fait de la réduction des biotopes à mollusque et, par conséquent, de la forte concentration des parasites et du risque plus élevé d'ingérer du matériel infestant. Afin d'étayer cette hypothèse, nous avons réparti les charges parasitaires par classe et par saison.

Tableau XIX.
Répartition des animaux parasités par classe parasitaire et en fonction des saisons.

Automne (2010 et 2011)									
CP	1-50	51-100	101-150	151-200	201-250	251-300	301-350	351-400	> 400
N	10	14	12	11	11	4	1	3	11
Hiver (2011 et 2012)									
CP	1-50	51-100	101-150	151-200	201-250	251-300	301-350	351-400	> 400
N	3	4	6	3	8	4	1	3	5
Printemps (2011 et 2012)									
CP	1-50	51-100	101-150	151-200	201-250	251-300	301-350	351-400	> 400
N	24	22	14	7	5	1	1	0	9
Été (2011 et 2012)									
CP	1-50	51-100	101-150	151-200	201-250	251-300	301-350	351-400	> 400
N	19	24	9	2	9	8	1	0	3

CP : Classe parasitaire ; N : Nombre d'animaux infestés.



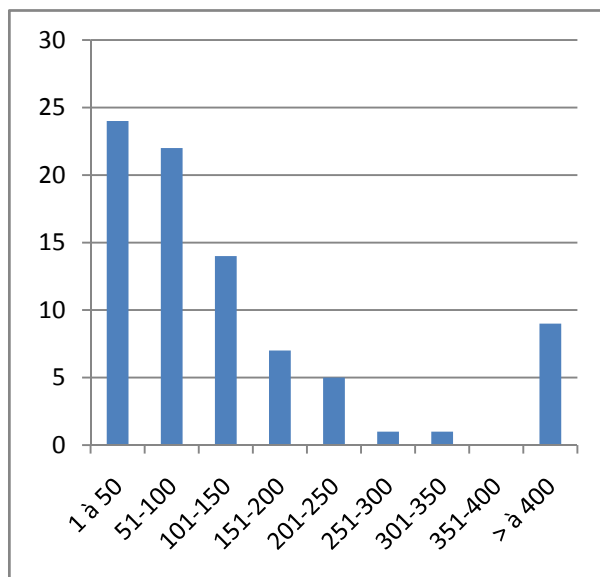
Histogramme 4.

Répartition des bovins parasités par classe parasitaire pour les deux saisons d'automne.

Histogramme 5.

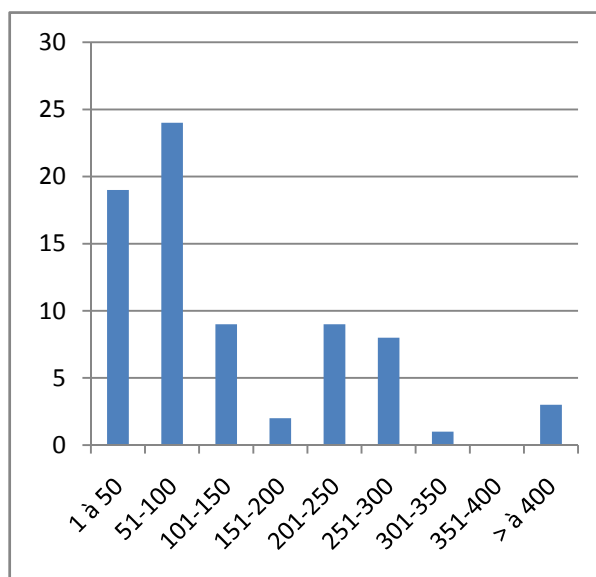
Répartition des bovins parasités par classe parasitaire pour les deux saisons d'hiver.

En lisant le tableau XIX et l'histogramme 4 pour l'automne, on remarque que sur les 77 animaux parasités, 30 d'entre eux ont une charge supérieure à 200 parasites / animal (39 %). Par ailleurs, 14,2 % des animaux ont une charge supérieure à 400 parasites / animal. En hiver (histogramme 5), cette constatation est encore renforcée. Sur 37 animaux, 21 ont une charge supérieure à 200 parasites / animal (56,7 %) et 13,5 % des bovins ont une charge supérieure à 400 parasites / animal.



Histogramme 6.

Répartition des bovins parasités par classe parasitaire pour les deux saisons de printemps.



Histogramme 7.

Répartition des bovins parasités par classe parasitaire pour les deux saisons d'été.

Si l'on effectue le même comparatif avec les autres saisons (printemps et été), on note que pour le printemps (histogramme 6), 16 bovins (sur 83 parasités) avaient une charge supérieure à 200 paramphistomes (soit 19,2 %). Pour les charges supérieures à 400 parasites, seuls 10,8% des animaux sont concernés. Pour la période estivale (histogramme 7), 21 / 75 (soit 28 %) ont une charge supérieure à 200 parasites / bovin alors que seuls 3 / 75 (soit 4 %) ont de fortes charges (> 400).

Sur le plan statistique, il semble que durant l'automne et l'hiver, le nombre d'animaux parasités est certes plus faible, mais la charge parasitaire est relativement plus élevée : sur un total de 114 bovins infestés, 51 d'entre eux avaient plus de 200 paramphistomes, soit 44,7 %. Au printemps et en été, le nombre des bovins parasités augmente, mais la charge moyenne est plus réduite : sur 158 bovins infestés, seuls 37 d'entre eux avaient une charge supérieure à 200 paramphistomes / animal, soit 23,4 % ($\chi^2 = 13,75$; $P < 0,1$ %).

3. Etude des variations hématologiques et de la courbe de poids chez des moutons infestés expérimentalement par des métacercaires de *Paramphistomum daubneyi* :

3.1. Objectif de l'étude :

Ce travail a été mené dans le but de vérifier s'il existe des paramètres sanguins, utilisés en clinique courante, qui peuvent être utilisés comme témoins, ou tout au moins qui peuvent

permettre, avec un tableau clinique bien établi et une anamnèse bien orientée, de suspecter fortement l'existence de la parasitose.

3.2. Matériel et méthodes :

3.2.1. Choix des animaux :

Vingt ovins de moins de deux ans, issus de populations locales avec une dominance de la race Ouled Djellal, ont été retenus dans notre expérimentation.

Les animaux ont été rentrés à la bergerie en début d'expérimentation et ne sont plus sortis sur les pâturages pendant 16 semaines*. L'aliment (constitué essentiellement de foin et de concentré) leur a été donné sur place à raison de deux rations/jour. Aucune restriction n'a été faite pour l'eau et les ovins s'abreuvaient deux à trois fois par jour.

* : Une coprologie de dépistage en début d'expérimentation a montré la non infestation des animaux

3.2.2. Production des métacercaires :

Elle a été réalisée par le Laboratoire de Parasitologie à la Faculté de Pharmacie, Université de Limoges (France). Cette production a été mise à notre disposition gracieusement par le Professeur Rondelaud.

Les métacercaires proviennent de Limnées tronquées infestées par les miracidiums de *P. daubneyi*. L'émission des cercaires a débuté aux environs du 60^{ème} jour post-infestation et la période patente a duré en moyenne 20 à 25 jours. Le nombre moyen de métacercaires par mollusque est de 350 ± 25 . Une fois produites, les métacercaires sont aliquotés dans des tubes Eppendorf de 2 ml, à raison de 100 métacercaires par tube.

3.3. Protocole expérimental :

3.3.1. Infestation expérimentale des ovins :

Les animaux ont été répartis en quatre lots de 5 ovins chacun :

- Lot 1 : animaux témoins,
- Lot 2 : animaux ayant reçu 1.000 métacercaires en une seule prise à J 0,
- Lot 3 : animaux ayant reçu 400 métacercaires en une seule prise à J 0.
- Lot 4 : animaux ayant reçu 400 métacercaires (200 métacercaires à J 0, puis 200 à J 28).

L'administration de ces métacercaires aux animaux se fait par voie buccale. Le contenu des tubes Eppendorf est tout d'abord agité, puis aspiré à l'aide d'une seringue. Pour les administrer à l'animal, on retire l'aiguille de la seringue, puis on place cette dernière au niveau de la commissure labiale pour évacuer son contenu dans la cavité buccale de l'animal. Une légère pression est appliquée au niveau de la gorge, ce qui provoque un réflexe de déglutition, et le contenu est ainsi avalé.

3.3.2. Suivi des paramètres hématologiques :

Les animaux sont prélevés chaque semaine. La prise de sang se fait au niveau de la veine jugulaire sur tube à EDTA (Ethylène diamine tétraacétate), puis elle est transportée dans des conditions isothermes vers le laboratoire. Les analyses sanguines sont effectuées sur automate (Coulter) au plus tard dans les 24 heures qui suivent le prélèvement.

Le suivi des paramètres sanguins s'est fait durant 16 semaines. Nous avons étudié le nombre des globules rouges (GR), le nombre des globules blancs (GB), l'hématocrite (Ht), le taux d'hémoglobine (Hb) et la formule leucocytaire (FL) avec les cinq principales lignées blanches (neutrophiles, éosinophiles, basophiles, lymphocytes et monocytes).

3.3.3. Suivi de l'évolution pondérale :

Les animaux ont été pesés cinq fois durant toute la période de l'expérimentation (une pesée mensuelle) afin de faire un suivi du gain pondéral chez les différents lots. Les animaux sont mis sur bascule et le poids est enregistré à 0, 4, 8, 12 et 16 semaines. Une moyenne de poids est établie pour chaque lot.

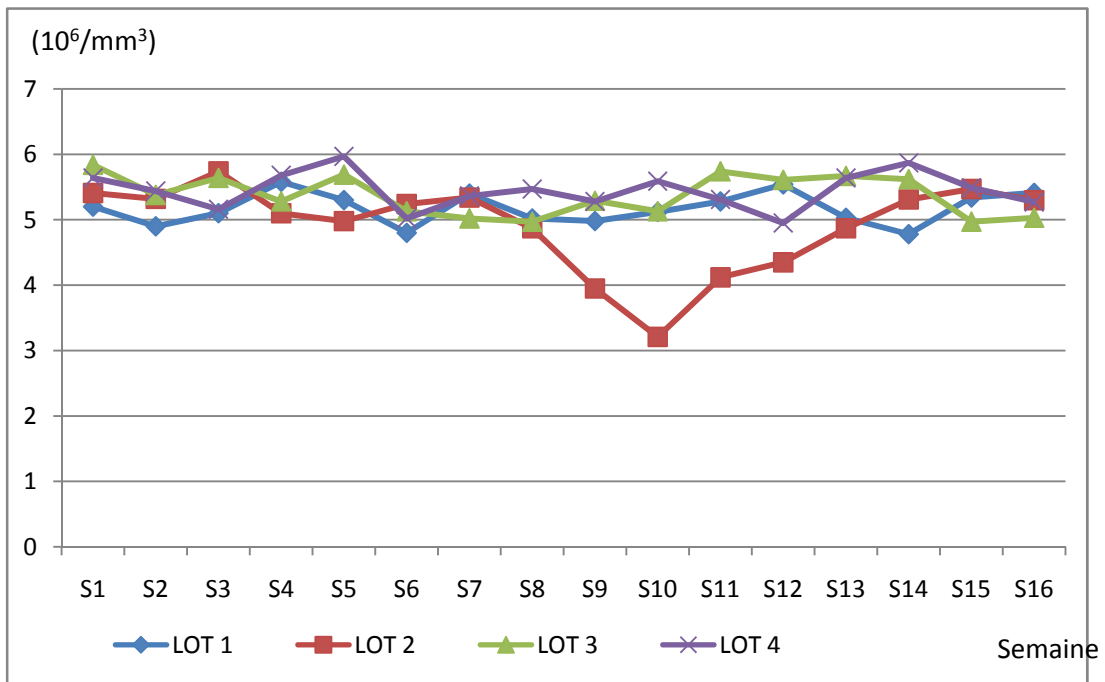
3.3.4. Comptage de parasite adulte installés dans la panse à la 16^{ème} semaine :

Ce travail n'a pu être effectué que sur deux animaux. Nous avons procédé à la fin de l'expérimentation au sacrifice de deux ovins appartenant au lot 2 (le plus infesté) et le pré-estomac a été récupéré afin de compter le nombre de paramphistomes attachés au niveau de la panse.

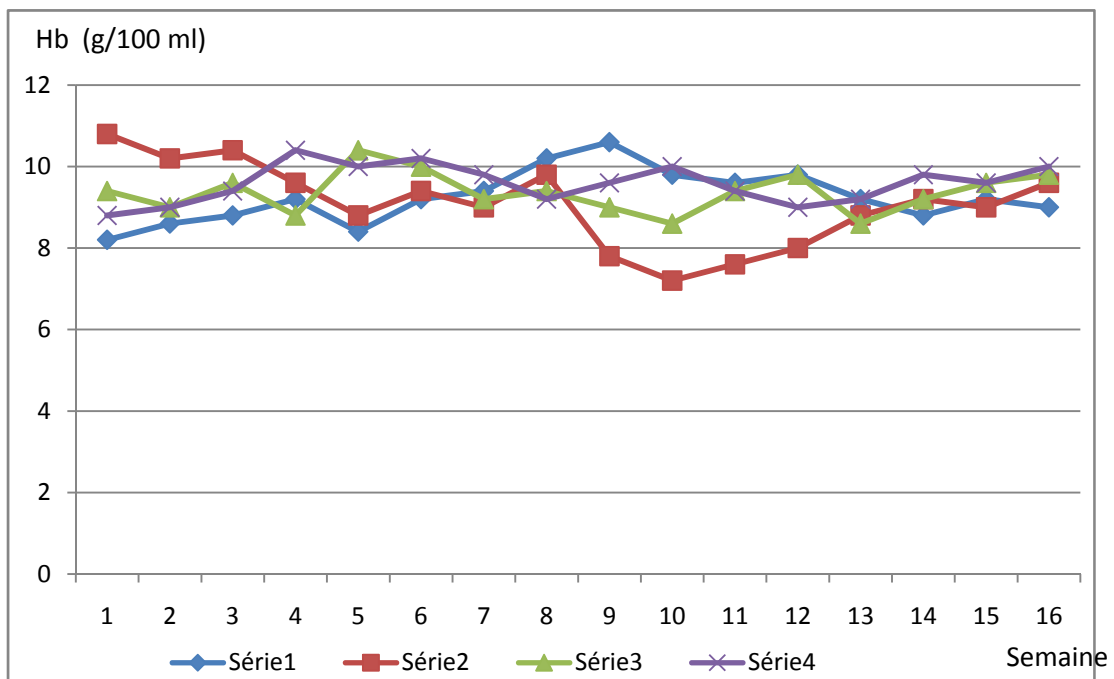
3.4. Résultats obtenus et interprétation :

3.4.1. Paramètres hématologiques :

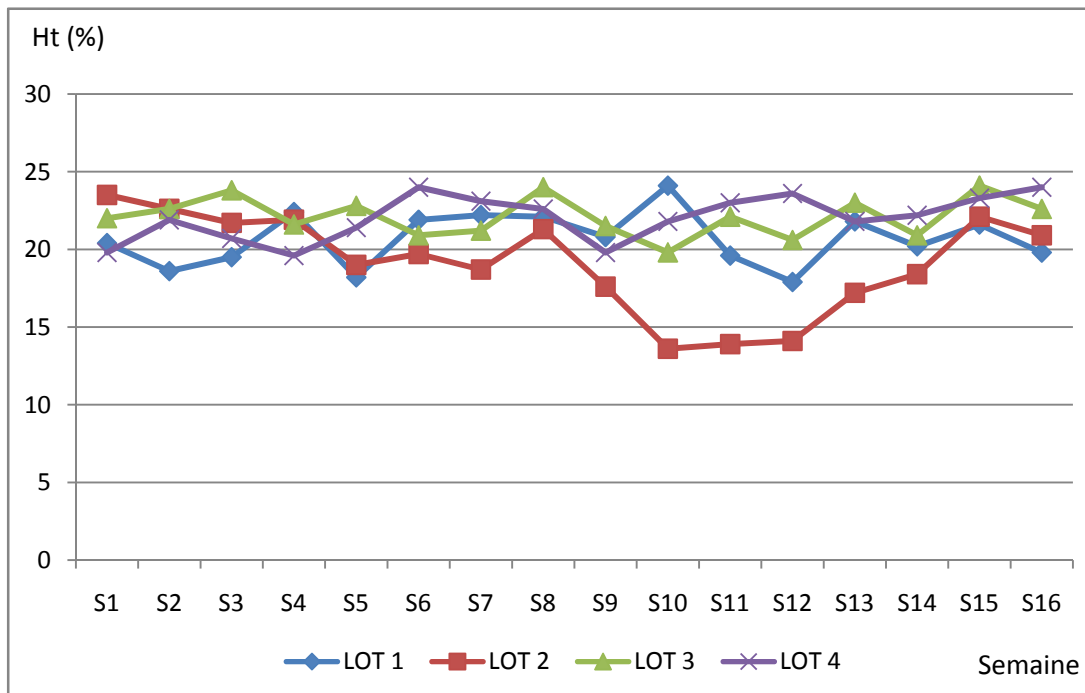
Les courbes 1 (ci-dessous), 2 et 3 (page suivante) présentent les variations numériques des globules rouges, du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite (par ordre respectif).



Courbe 1.
Variation numérique des globules rouges durant les 16 semaines de l'étude.



Courbe 2.
Variation du taux d'hémoglobine durant les 16 semaines de l'étude.

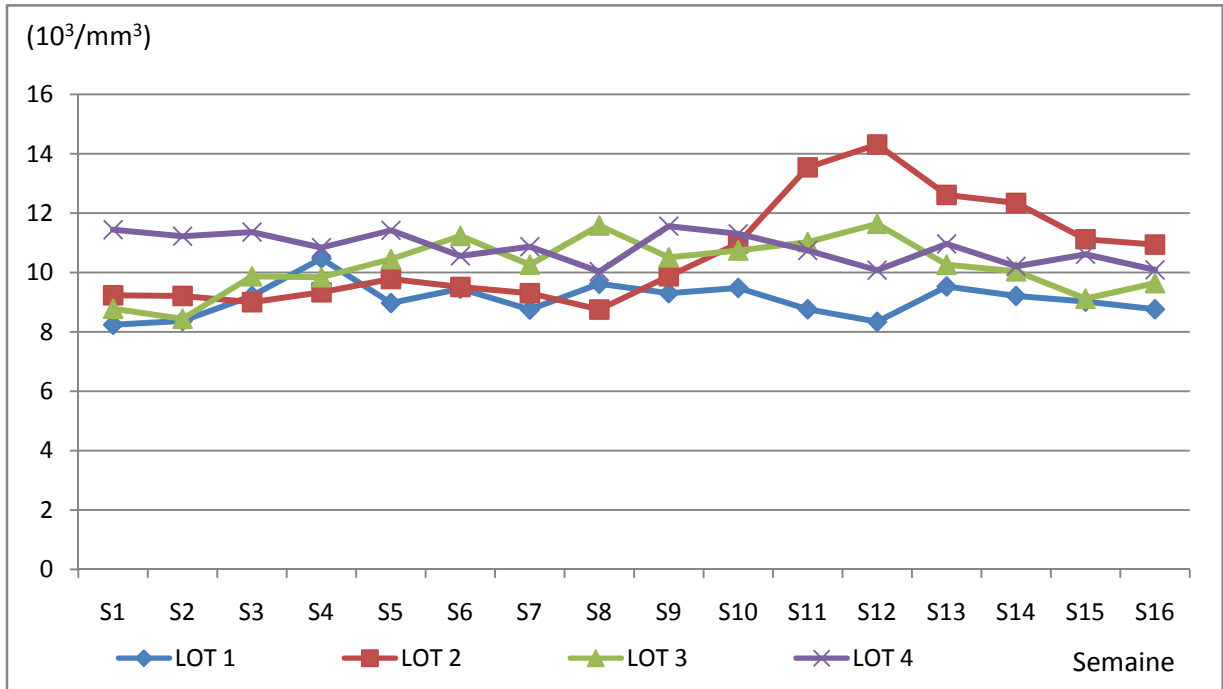


Courbe 3.
Variation de l'hématocrite durant les 16 semaines de l'étude.

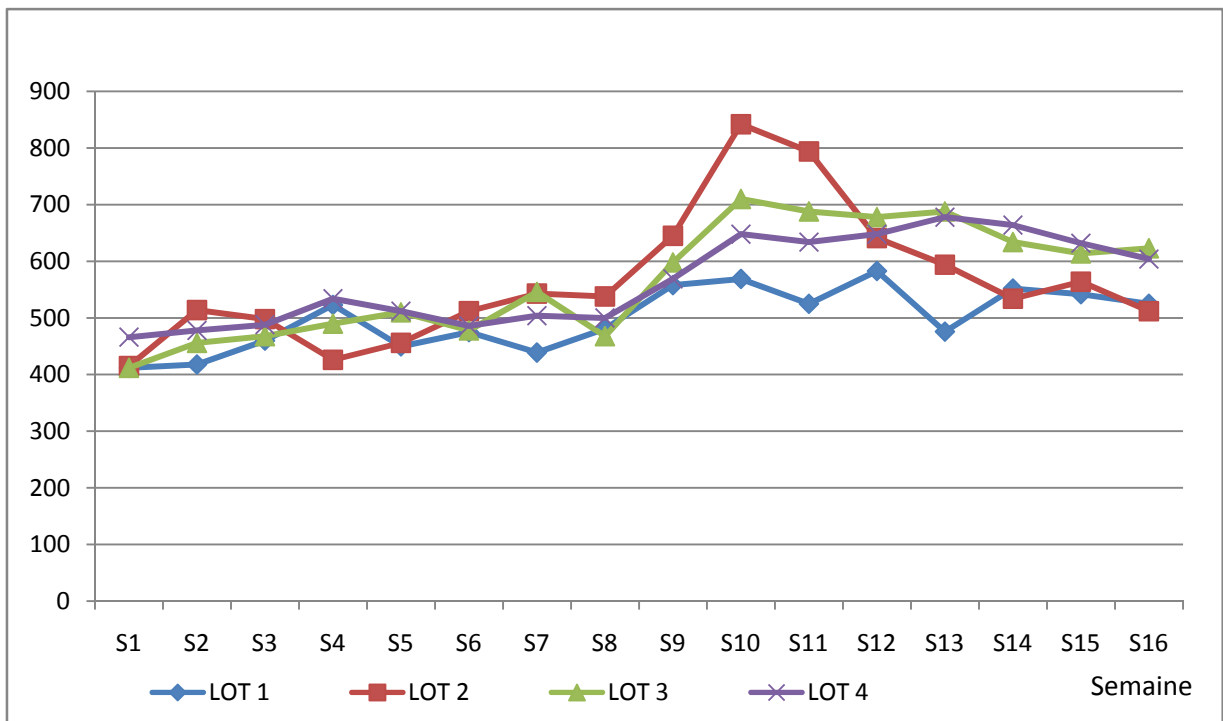
Seul, le lot 2 (qui a reçu 1.000 métacercaires en une prise unique) présente des modifications appréciables de certains paramètres. Ainsi, on note une baisse globale dans le nombre d'érythrocytes entre la 9^{ème} et la 11^{ème} semaine post-infestation avec une valeur de $3,21 \times 10^6 / \text{mm}^3$ à la 10^{ème} semaine alors que le lot témoin a un nombre de globules rouges de $5,12 \times 10^6 / \text{mm}^3$ à la même date. Les mêmes variations sont notées aussi pour le taux d'hémoglobine et l'hématocrite, mais avec moins de sévérité. L'hématocrite du lot 2 reste relativement bas par rapport aux valeurs relevées dans les autres lots jusqu'à la 13^{ème} semaine.

L'analyse statistique ne montre aucune variation significative si ce n'est une baisse du taux de globules rouges à la 10^{ème} semaine chez le lot 2. ($\chi^2 = 4,15$; $P < 5\%$). En raison de l'interdépendance des deux autres paramètres (taux d'hémoglobine et hématocrite), on note également une baisse de ces deux paramètres sans que cette baisse soit pour autant statistiquement significative.

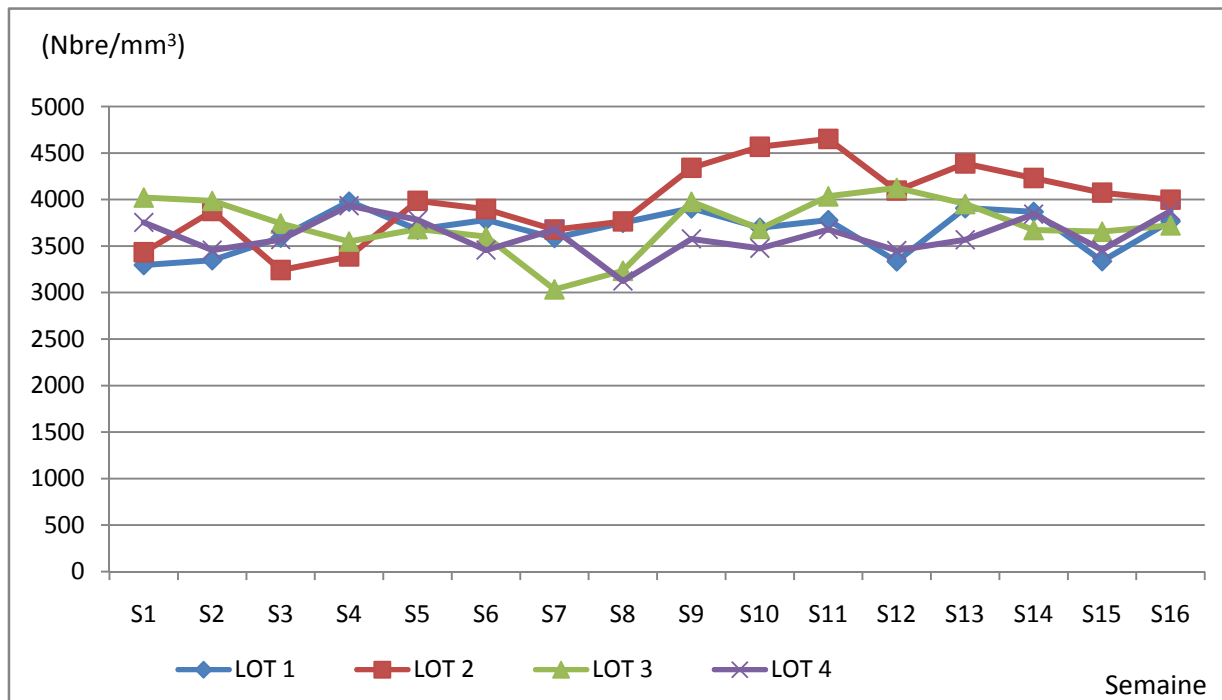
Cela pourrait s'expliquer par l'action spoliatrice et légèrement hématophage des formes immatures de paramphistomes, car durant leur migration rétrograde vers le rumen, elles empruntent des trajets à travers la muqueuse du duodénum et de la caillette. Comme ces organes sont richement vascularisés, cela pourrait entraîner de légères pertes de sang, qui sont assez vite réparées puisque cette situation est rétablie dès la 12^{ème} semaine post-infestation.



Courbe 4
Variation du nombre total de leucocytes durant les 16 semaines de l'étude.



Courbe 5.
Variation du nombre d'éosinophiles durant les 16 semaines de l'étude.



Courbe 6.

Variation du nombre de neutrophiles durant les 16 semaines de l'étude.

Les courbes 4, 5 et 6 (pages précédentes) présentent les variations numériques du nombre total de leucocytes, des granulocytes éosinophiles et des neutrophiles par ordre respectif. On peut remarquer les variations suivantes :

- Dans le lot 2, on note une leucocytose (courbe 4) à partir de la 11^{ème} semaine post-infestation. Les lots 3 et 4 présentent une légère leucocytose mais celle-ci n'est pas significative.

- La variation la plus marquée concerne l'éosinophilie qui se révèle assez importante dans le lot 2 à la 10^{ème} et la 11^{ème} semaine (courbe 5). Pour les deux autres lots infestés, l'éosinophilie est moins évidente mais dure plus longtemps jusqu'à la 16^{ème} semaine.

- Dans le lot 2, une légère neutrophilie (courbe 6) se maintient à des valeurs peu élevées entre la 9^{ème} et la 14^{ème} semaine, sans que cette variation soit significative.

Les autres lignées blanches (monocytes, lymphocytes et granulocytes basophiles) n'ont pas été représentées, car aucune variation appréciable ne s'est produite durant l'étude.

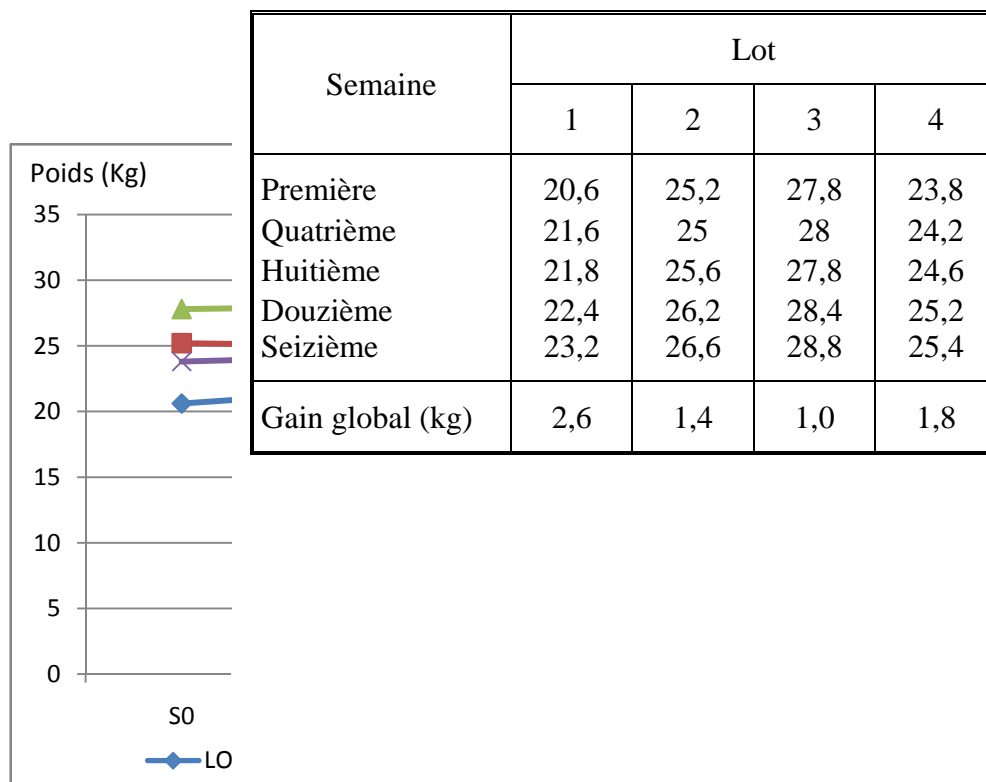
Les variations du nombre total des leucocytes, des neutrophiles et des éosinophiles enregistrées dans ce travail découlent probablement des phénomènes inflammatoires engendrés par la paramphistomose.

3.4.2. Gain pondéral :

Le tableau XX montre l'évolution de ce gain au cours de l'expérimentation.

Tableau XX.

Evolution du gain pondéral moyen des ovins dans les 4 lots après 16 semaines.



Courbe 7.

Evolution mensuelle du gain pondéral moyen dans chaque lot.

La comparaison du gain pondéral par rapport au nombre de métacercaires ingérées par l'animal montre des différences minimales mais qui ne sont pas significatives sur le plan statistique. Nous pensons que ces charges administrées aux animaux ne sont pas assez importantes pour avoir une influence sur le gain de poids. A ce propos, SAMNALIEV *et al*, (2000) rapportent que des charges de 5.000 à 10.000 métacercaires sont nécessaires pour espérer des variations sur le gain de poids. Par ailleurs, nous estimons que la durée de l'étude n'est pas assez longue (4 mois seulement).

3.4.3. Nombre de paramphistomes retrouvés à la fin de l'expérience :

Chez les deux ovins du lot 2 (1.000 métacercaires par animal en une seule prise), nous avons dénombré dans les panses 177 et 234 parasites adultes par ordre respectif. Ceci montre que l'infestation employée ne reflète pas exactement la charge parasitaire réelle de l'animal,

car 17,7 % et 23,4 % des métacercaires administrées dans notre expérience arrivent au stade de parasites adultes. VIGNOLES *et al.* (2008) ont obtenu 27 à 38 parasites adultes lors d'une infestation expérimentale d'agneaux (âge lors de l'infestation : 3 mois) avec 100 métacercaires par animal. Il est possible que l'âge de l'hôte définitif joue un rôle sur le succès des métacercaires pour se transformer en formes immatures et, plus tard, en adultes.

En conclusion de cette seconde partie, les quelques modifications hématologiques observées chez ces ovins, à savoir une baisse du nombre de globules rouges entre la 9^{ème} et la 11^{ème} semaine et une augmentation correspondante des granulocytes éosinophiles et neutrophiles sur la même période, n'ont été observées que dans le lot 2 (celui qui a reçu 1000 métacercaires en une prise unique). Ces perturbations semblent dues à l'action térébrante et au régime hématophages des pré-adultes d'une part et à l'inflammation d'autre part. Ces actions peuvent être notées aussi bien lors de la migration que lors du séjour des parasites dans le rumen. Néanmoins, des travaux menés récemment par MAVENYENGWA *et al.*, (2010), ont montré des différences significatives sur ces mêmes paramètres dès la 3^{ème} semaine post-infestation. Il faut cependant préciser que les auteurs ont utilisé des doses infestantes de métacercaires nettement plus élevés que les nôtres à savoir 5000, 15000 et 25000 métacercaires. Le gain pondéral ne présente pas de modifications importantes, quel que soit le lot. Il semble que les doses utilisées pour infester ces moutons ait été insuffisantes pour provoquer des perturbations dans les paramètres hématologiques et le gain pondéral des animaux. Mais on ne peut exclure aussi l'âge de l'hôte définitif au moment de son infestation.

Quatrième chapitre

Investigations sur l'hôte intermédiaire

Comme cela a été rapporté précédemment, les principaux hôtes intermédiaires de cette trématodose connus jusqu'à ce jour sont des mollusques dulçaquicoles de différents genres (Bulinidés, Lymnaeidés, Planorbidés). A ce propos, *G. truncatula* (Lymnaeidés) est, sans conteste, l'un des hôtes préférentiels de la paramphistomose. C'est pour cela que nous avons axé notre travail sur ce mollusque pour deux raisons :

- 1) la quantité d'informations récoltée au sujet de ce mollusque dans la transmission de la paramphistomose de par le monde,
- 2) la facilité de se procurer des populations locales de ce mollusque pour nos investigations.

Deux aspects sur ce Gastéropode seront développés :

- le niveau de son infestation naturelle (suivi d'une étude sur 3 habitats permanents à Jijel),
- L'étude des caractéristiques parasitologiques (émissions cercariennes) de trois espèces de limnées lors d'infestations expérimentales.

1. L'infestation naturelle de *G. truncatula* par *Paramphistomum* sp. dans la région de Jijel :

1.1. Objectif de l'étude :

Le but de ce travail est essentiellement prospectif. Nous nous sommes inspirés des travaux réalisés par MEKROUD *et al.* (2002). La région de Jijel a été choisie en raison de deux arguments :

- 1) le niveau de prévalence pour cette parasitose est assez élevé chez les ruminants (surtout bovins) et peut atteindre parfois les 15 %.
- 2) la région, de par ses caractéristiques bioclimatiques, offre les conditions idéales pour le développement des mollusques dulçaquicoles en général.

Après repérage des gîtes à limnées (habitats permanents), on procède à la récolte de spécimens de taille variable (4 mm et plus) afin d'y rechercher des formes larvaires de

Paramphistomum sp. Cette étude est réalisée sur 12 mois afin d'établir une cinétique pour la prévalence de l'infestation chez les limnées et, par conséquent, compléter dans la mesure du possible nos investigations épidémiologiques sur la paramphistomose.

1.2. Protocole expérimental :

L'étude a été réalisée d'octobre 2010 à septembre 2011. Trois habitats de limnées, situés dans la région de Kaous (à 5 kilomètres du chef-lieu de la Wilaya) ont été choisis pour notre travail. Une fois les habitats repérés, ces derniers sont marqués et font l'objet d'une prospection mensuelle. Celle-ci consiste en un prélèvement de près de 20 mollusques par habitat. Les individus récoltés sont tous adultes (4 mm et plus) et sont transportés vers le laboratoire pour y être disséqués.

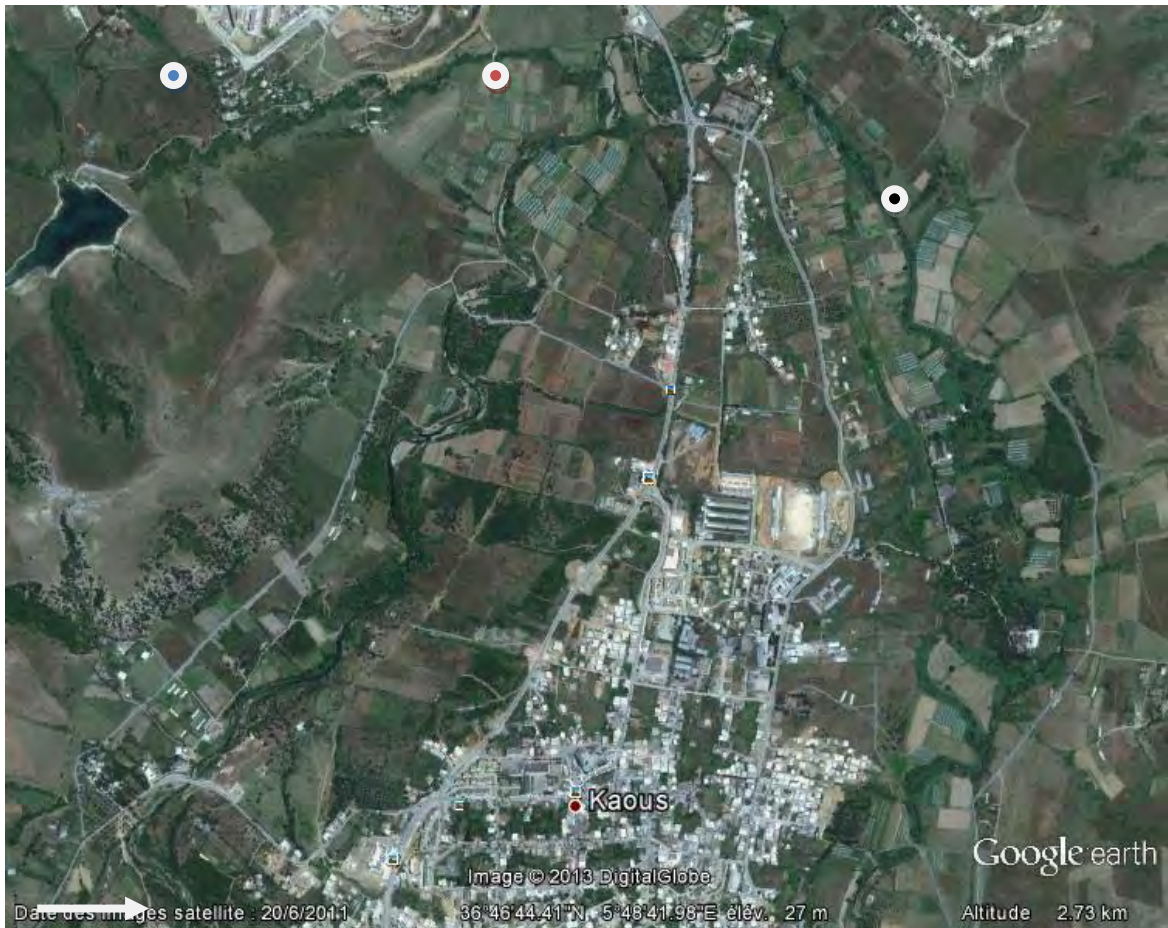


Planche F.

Photo satellite de la région de Kaous, montrant la localisation des trois gîtes à limnées.

Habitat 1 : 36° 47' 14'' N, 5° 48' 00'' E ; habitat 2 : 36° 47' 20'' N, 5° 48' 24'' E ;

habitat 3 : 36° 47' 09'' N, 5° 49' 11'' E.

Ces habitats, indiqués sur la photographie de la planche F, sont permanents et le fond de chaque site est constamment humidifié par des résurgences. Ces trois gîtes sont distants les uns des autres d'environ 2 à 3 kilomètres. Leur surface est assez variable (habitat 1, environ 8 m² ; habitat 2 : près de 13 m², et habitat 3 : près de 10 m²).

1.3. Méthodologie :

1.3.1. Techniques de récolte et de dissection :

Les limnées sont récoltées, soit par simple chasse à vue (lorsque le cours d'eau est asséché), soit à l'aide d'une passoire à thé. Ils sont transportés au laboratoire dans des conditions isothermes dans le but d'y être disséqués ultérieurement.

Cette dissection permet de rechercher des formes larvaires de Paramphistomes. ou celles d'autres parasites (comme ceux de *F. hepatica*). Une fois les mollusques arrivés au laboratoire, ils sont disséqués un à un pour être observés sous loupe binoculaire. A l'aide d'une pince souple, on prend le mollusque dans la partie large de la coquille, puis on l'immobilise. A l'aide d'une pointe, on appuie sur la suture dorsale du mollusque (c'est le point faible de la coquille) qui cède sous la pression.

1.3.2. Recherche de l'infestation naturelle :

Une fois que la coquille de la limnée est cassée sous loupe binoculaire, on dilacère les organes internes parmi lesquels on recherche les formes larvaires des paramphistomes. (rédies, procercaires, cercaires libres).

Les cercaires des paramphistomes sont facilement différenciables de ceux des autres Trématodes (essentiellement ceux de *F. hepatica*) car elles sont de couleur jaunâtre alors que celles du second sont blanchâtres. De plus, les rédies des paramphistomes possèdent une protubérance latérale (épaule) que l'on ne retrouve pas dans les rédies de *F. hepatica*.

Les différentes formes larvaires sont consignées pour chaque mollusque sur un registre.

La prévalence de l'infestation naturelle est établie sur la base d'un pourcentage des individus infestés par rapport à l'effectif des mollusques examinés.

1.4. Résultats obtenus et interprétation :

1.4.1. Prévalence de l'infestation naturelle chez les Limnées tronquées :

Le tableau XXI regroupe les résultats de l'infestation naturelle chez les limnées récoltées durant les 12 mois dans la région de Jijel.

Tableau XXI.

Cinétique de l'infestation naturelle chez les Limnées tronquées pendant 12 mois consécutifs dans trois habitats de la Wilaya de Jijel (octobre 2010 à septembre 2011).

Mois	Kaous 1			Kaous 2			Kaous 3		
	LR	LI	P (%)	LR	LI	P (%)	LR	LI	P (%)
Octobre	20	0	0	21	1	4,7	20	0	0
Novembre	20	0	0	20	0	0	22	0	0
Décembre	19	1	5,2	19	0	0	20	0	0
Janvier	21	0	0	23	0	0	18	0	0
Février	20	0	0	20	0	0	23	1	4,3
Mars	23	3	13,0	22	0	0	18	1	5,5
Avril	20	1	5,0	18	1	5,5	19	1	5,2
Mai	19	0	0	20	2	10,0	20	2	10,0
Juin	19	2	10,5	17	0	0	20	3	15,0
Juillet	17	0	0	15	0	0	16	0	0
Août	15	0	0	17	0	0	17	0	0
Septembre	19	0	0	20	0	0	20	0	0

LR : Limnées récoltées ; LI : Limnées infestées ; P : Prévalence de l'infestation.

La lecture du tableau XXI montre que les mollusques sont parasités à des périodes totalement différentes au cours de l'année, avec cependant une prévalence non négligeable au printemps et au début de l'été. Si l'on prend comme exemple l'habitat 1, on note une infestation en décembre (5,2 %), puis une autre période en mars-avril (13,0 % et 5,0 % par ordre respectif) et une autre en juin (10,5 %). Dans le cas de l'habitat 2, on relève une infestation en octobre (4,7 %), puis en avril et mai avec 5,5 % et 10,0 % par ordre respectif). L'infestation des limnées dans l'habitat 3 a été établie sur cinq mois successifs (de février à juin avec 4,3 %, 5,5 %, 5,2 %, 10 % et 15 % par ordre respectif).

Il ne semble pas y avoir de règle établie quant aux modalités de l'infestation des mollusques car cela est lié à de nombreux paramètres difficiles à maîtriser (existence du parasite dans la région, proximité de « fermes à paramphistomes »). Néanmoins, des travaux menés par MEKROUD (2004) sur la fasciolose (une autre trématodose) dans la

région d'El Tarf montrent que la période du printemps est celle où l'on relève les plus hautes prévalences de la parasitose au niveau des mollusques.

2. Sensibilité de trois espèces de limnées (*G. truncatula*, *Lymnaea neotropica* et *Lymnaea viatrix* var. *ventricosa*) à l'infestation expérimentale par *P. daubneyi* :⁵

Ce travail a été mené avec la collaboration de deux laboratoires étrangers, à savoir le Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Pharmacie, Université de Limoges (France) et le Laboratoire CEDIVE, Faculté de Médecine Vétérinaire de Buenos Aires (Argentine). Ce dernier nous a fourni les mollusques pour cette expérimentation.

2.1. Objectifs de l'étude :

La question qui se pose est de savoir pourquoi nous avons expérimenté ces espèces de limnées sud-américaines. Deux raisons essentielles ont motivé cette étude :

- 1) La méconnaissance totale de la malacofaune algérienne, ce qui n'exempt pas l'existence de ces espèces dans nos zones.

- 2) Le but précis de cette étude était de voir parmi *G. truncatula* et les deux limnées sud-américaines celle qui pourrait être choisie pour la production de métacercaires afin de réaliser des travaux scientifiques (infestations expérimentales).

Le choix de ces Lymnaeidae nous a été dicté pour les deux raisons suivantes : *i*) selon la plupart des auteurs, ce sont les mollusques préférentiels de *Paramphistomum daubneyi*, et *ii*) les techniques d'élevage de ces mollusques en laboratoire sont très bien maîtrisées. Au travers de cette étude, nous espérons en savoir plus sur la manière dont réagissent les Limnées tronquées par rapport à celles du continent sud américain lors des infestations expérimentales avec des miracidiums de *P. daubneyi* et, par là même, répondre aux questions suivantes :

- La prévalence de l'infestation diffère-t-elle selon l'espèce du mollusque ?
- La prévalence de l'infestation est-elle élevée ?
- Quelles sont les données parasitologiques pour chaque espèce de limnée et sont-elles toutes aussi aptes à héberger le parasite ?

⁵ Ces résultats ont fait l'objet d'une publication scientifique dans le journal *Parasite* (SANABRIA *et al.*, 2012).

- Le parasite se développe-t-il dans chacune de ces espèces et est-ce que l'évolution parasitaire arrive à son terme ?

Les réponses à ces questions essentielles doivent probablement nous amener des informations très intéressantes qui permettront de compléter les données épidémiologiques existantes sur cette parasitose encore largement méconnue dans notre pays. Cela nous aidera à mieux comprendre les modalités d'infestation du mollusque hôte et, par voie de conséquence, sa capacité à transmettre la maladie aux animaux.

2.2. Matériel et méthodes :

Deux expériences ont été menées simultanément sur les espèces de mollusques, la première (exp. A) afin de suivre les paramètres parasitologiques (périodes prépatente, période patente, et émissions cercariennes), et l'autre (exp. B) dans laquelle les mollusques infestés ont été disséqués pour y rechercher les différentes formes larvaires (rédies libres, procercaires et cercaires libres).

Comme l'identification des limnées sud-américaines ne peut se faire à l'aide de la seule morphologie (DUFFY *et al.*, 2009 ; MERA Y SIERRA *et al.*, 2009), celle-ci a été réalisée en utilisant la PCR-RFLP et le séquençage du segment ITS-1 de leur rDNA nucléaire (SANABRIA *et al.*, 2012). Les deux espèces ont été identifiées comme *L. neotropica* et *L. viatrix* var. *ventricosa*.

Des mollusques mesurant 4 mm de hauteur et plus (100 pour chaque espèce de limnée dans l'expérience A, et 50 mollusques par espèce pour la B) ont été exposés chacun à 4 miracidiums pendant 4 heures à température ambiante (20° C). Le choix de ces infestations quadrimiracidiennes nous a été dicté par le fait que des expériences menées par RONDELAUD *et al.* (2007) avec 1 ou 2 miracidiums par limnée n'avaient pas donné des infestations importantes de mollusques.

2.3. Protocole expérimental :

La figure 16 (page suivante) montre la chronologie des étapes d'infestation.

Après une période d'acclimatation aux conditions du laboratoire, les limnées sont exposées aux miracidiums de *P. daubneyi* à raison de 4 larves par mollusque pendant 4 h dans un volume d'eau réduit. Après l'infestation, les individus de chaque espèce sont mis dans des boîtes de Pétri (diamètre, 14 cm) à raison de 10 par récipient.

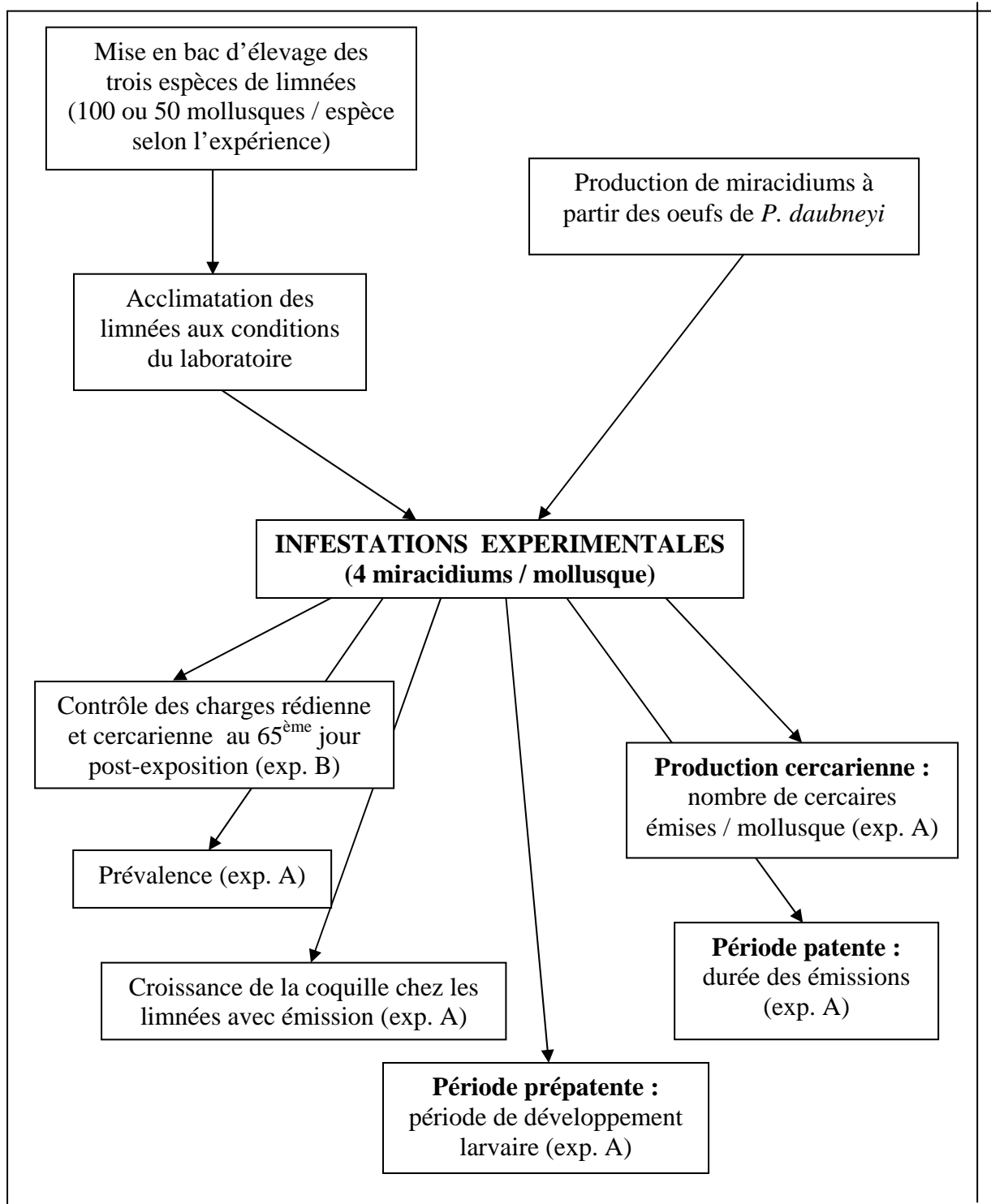


Figure 16.
Chronologie des investigations menées sur les trois espèces de limnées infestées au laboratoire (expériences A et B)

On procède à des inspections régulières afin de vérifier s'il y a mortalité. Si cette dernière est relevée, les mollusques sont immédiatement disséqués à la recherche d'éventuelles formes larvaires du parasite.

Au 30^e jour suivant, les survivants sont isolés dans des boîtes de Pétri individuelles (diamètre, 35 mm) contenant 3,5 ml d'eau de source et un morceau de salade. La surveillance s'effectue chaque jour jusqu'à la mort des mollusques. Elle porte sur le dénombrement des cercaires éventuelles, et le changement de l'eau par une solution plus fraîche a lieu quotidiennement.

2.4. Méthodologie :

Le tableau XXII précise toutes les étapes de la méthodologie employée lors des infestations expérimentales.

Tableau XXII.
Les différentes étapes réalisées lors de l'infestation expérimentale des 3 espèces de mollusques par *P. daubneyi*.

Etape	Technique employée	Observations
Préparation des œufs de <i>P. daubneyi</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Récolte de parasites adultes au niveau du rumen. - Adultes placés dans du liquide physiologique pendant 3 heures à 37° C. - Filtration pour éliminer les impuretés. - Incubation des œufs 15 jours à 25° C et à l'obscurité totale. 	Au terme de l'incubation, l'éclosion des miracidiums se produit 20 minutes après l'exposition à une source lumineuse
Infestation des limnées par les miracidiums	Quatre miracidiums par limnée. Contact : 4 heures.	Surveillance des mollusques pendant 4 heures pour éviter leur émergence.
Elevage des mollusques	<ul style="list-style-type: none"> - Au laboratoire, dans des boîtes de Pétri de 14 cm de diamètre, couvertes. - Eau oxygénée en permanence. 18°-22° C, éclairage naturel. 	Dimension des boîtes 14 x 2,5 cm. Densité (10 mollusques / boîte).
Suivi des émissions cercariennes	Surveillance individuelle et quotidienne des mollusques à partir du 30 ^{ème} jour post-exposition.	Le suivi est effectué jusqu'à la mort de l'animal

2.4.1. Préparation des œufs de *P. daubneyi* :

Ils proviennent de paramphistomes adultes récoltés dans les panses d'animaux infestés. Les vers sont lavés plusieurs fois dans du sérum physiologique et mis dans des boîtes de Pétri contenant chacune 10 ml de sérum physiologique (NaCl, 9 ‰). Ils sont ensuite incubés à 37° C durant 3 heures. Cette durée est assez longue mais elle permet la récupération d'un maximum d'œufs.

Les œufs de paramphistomes, comme ceux de la Grande Douve, sont relativement lourds et forment un sédiment au fond de chaque boîte. Ils sont filtrés sur une passoire (porosité, 250 µm) et sont ensuite concentrés dans plusieurs pots de 8 cm de hauteur sous une épaisseur d'eau de source de 1 cm environ (150 à 200 œufs / 5 ml). Après avoir été mis dans de petits pots, les œufs sont placés à l'obscurité totale et à +4° à +6° C au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation pour des infestations expérimentales ultérieures. La conservation au réfrigérateur peut durer jusqu'à 3 à 4 mois.

Au moment de l'infestation expérimentale des mollusques, les œufs sont retirés du réfrigérateur et sont mis dans une étuve à 25° C pendant 15 jours à l'obscurité totale (OLLERENSHAW, 1971) pour leur incubation.

2.4.2. Infestation par les miracidiums :

Au terme de la période d'incubation, les œufs de *P. daubneyi* sont exposés sous une lumière artificielle et l'éclosion se produit dans les 20 minutes qui suivent. Chaque limnée est isolée dans un tube à hémolyse de 5 ml, avec 2 à 3 ml d'eau du milieu d'élevage.

Quatre miracidiums sont mis au contact de chaque limnée et la durée de l'exposition est de 4 heures. Pour cette opération, les larves, qui viennent d'éclore, sont prélevées sous une loupe binoculaire à l'aide d'une pipette Pasteur à bout effilé, reliée à une poire.

Une attention particulière est accordée durant les 4 heures de contact car les limnées ont tendance à sortir de l'eau. Beaucoup de mollusques se rétractent au début dans leur coquille, mais cette situation de stress disparaît rapidement dès que l'on remet les mollusques dans leurs boîtes. Ils sont élevés ainsi jusqu'au 30^{ème} jour qui suit l'exposition.

2.4.3. Technique d'élevage des limnées :

Nous avons utilisé des boîtes de Pétri de 14 cm de diamètre (hauteur, 2,5 cm). Chaque récipient reçoit 10 millilitres d'eau de source et 10 limnées. Ainsi, pour chaque

espèce de limnée, des lots de 10 boîtes (expérience A) ou de 5 (expérience B) ont été constitués. L'eau est oxygénée en permanence par la mise en place de tiges de *Fontinalis* sp. et le simple soulèvement du couvercle chaque jour.

De la nourriture sous forme de feuilles de laitue séchées et de tiges de graminées mortes sont mises dans chaque boîte. Les récipients sont placés sur une paille de laboratoire afin que les mollusques aient les mêmes conditions de luminosité que celles du milieu extérieur. Quant à la température, celle-ci fluctue entre 18° et 22° C (moyenne, 20° C). L'eau des boîtes est changée tous les deux ou trois jours ainsi que la nourriture si nécessaire. Il faut éviter d'utiliser l'eau du robinet pour les changements en raison de sa teneur élevée en chlore car elle entraînerait la mort des limnées.

2.4.4. Suivi des émissions cercariennes :

Les survivants de chaque boîte sont isolés individuellement au 30^{ème} jour post-exposition dans des boîtes de Pétri plus petites (Ø, 35 mm), chacune contenant 2 millilitres d'eau de source et un petit morceau de salade. Les récipients sont disposés dans les mêmes conditions que les autres boîtes de 14 cm (température et luminosité appropriées).

Chaque jour, ou tous les deux jours au maximum, le nombre de métacercaires est relevé et ceci jusqu'à la mort de la limnée. Les larves sont ensuite éliminées par un simple grattage de la paroi de la boîte à l'aide d'une pince en forme de spatule. L'eau est changée et un nouveau morceau de salade fraîche est disposé dans la boîte si nécessaire.

Dès la première émission cercarienne, les mollusques sont soumis à un choc thermique (10°-13°C) pendant deux à trois heures tous les deux à trois jours afin de stimuler la sortie des cercaires. Il est aisé de reconnaître les mollusques morts en s'aidant des remarques suivantes :

- l'attitude de la limnée, en position semi-rétractée dans sa coquille,
- la couleur gris claire du pied (au lieu d'être noirâtre chez l'animal vivant),
- l'absence de réaction lors du pincement d'un tentacule.

2.4.5. Contrôle des charges rédienne et cercarienne chez les limnées infestées (expérience B) :

Ce travail a été réalisé à Limoges avec le concours du Professeur D. Rondelaud. L'infestation des trois espèces de limnées a été réalisée dans les mêmes conditions que

celle de l'expérience A. Au 30^{ème} jour post-exposition les survivants sont répertoriés et on établit le taux de survie. Au 65^{ème} jour post-infestation, les mollusques sont disséqués en vue d'y rechercher les différents stades larvaires (rédiés indépendantes, procercaires libres, cercaires libres et métacercaires).

2.5. Paramètres étudiés :

Le tableau XXIII présente les neuf paramètres étudiés dans ce travail ainsi que leur définition ou leur mode de calcul.

Tableau XXIII.
Les paramètres étudiés chez les trois espèces de limnées
(expériences A et B).

Paramètre	Définition ou mode de calcul
Survie (en %) au 30 ^{ème} jour post-exposition (exp. A et B)	Nombre de limnées survivantes / Nombre initial de limnées exposées aux miracidiums.
Prévalence (en %) de l'infestation (exp. A)	Nombre de mollusques parasités avec ou sans émission / Nombre de limnées survivant au 30 ^{ème} jour.
Croissance (en mm) des limnées avec émission au cours de l'expérimentation (exp. A)	Différence entre la hauteur de la coquille lors de l'exposition aux miracidiums et celle à la mort du mollusque
Durée (en jours) de la période prépatente (exp. A)	Intervalle de temps entre l'exposition aux miracidiums et la 1 ^{ère} émission cercarienne.
Durée (en jours) de la période patente (exp. A)	Durée de la période au cours de laquelle les émissions ont lieu.
Nombre total de cercaires émises (exp. A et B)	Ce chiffre tient compte des métacercaires flottantes ou fixées, ainsi que des cercaires qui meurent après leur sortie.
Nombre de rédiés indépendantes par mollusque (exp. B)	Ces trois derniers paramètres sont évalués par simple comptage des formes larvaires présentes dans le mollusque disséqué
Nombre de procercaires indépendantes par mollusque (exp. B)	
Nombre de cercaires libres (présentes dans le mollusque) par limnée (exp. B)	

Les taux de survie et les prévalences de l'infestation ont été traités par le test de comparaison des fréquences expérimentales afin de déterminer les niveaux de signification statistique.

Dans le cas des autres paramètres, les valeurs individuelles ont été ramenées à une moyenne, encadrée d'un écart type, en tenant compte de la nature de la variable et de la série expérimentale. Les moyennes ont été confrontées entre elles par une analyse de variance à un seul facteur en tenant compte de l'espèce de limnée considérée.

2.6. Résultats obtenus :

2.6.1. L'infestation des trois espèces de limnées par *P. daubneyi* (exp. A) :

Les résultats obtenus sont répertoriés dans le tableau XXIV.

Tableau XXIV.
Valeurs de différents paramètres chez les trois espèces de limnées infestées avec des miracidiums de *P. daubneyi* (expérience A).

Paramètres	<i>G. truncatula</i>	<i>L. neotropica</i>	<i>L. v. ventricosa</i>
Nombre de			
- de limnées au départ,	100	100	100
- de survivants au 30 ^{ème} jour (%)	68 (68,0)	81 (81,0)	59 (59,0)
- de limnées avec émission,	25	34	16
- de limnées infestées sans émission	11	7	7
Prévalence de l'infestation (%)	52,9	50,6	54,5
Croissance de la coquille (en mm) chez les limnées avec émission*	2,7 (0,6)	2,6 (0,8)	2,7 (0,7)
Période prépatente (rn jours)*	69,3 (3,1)	73,1 (4,6)	71,5 (2,9)
Période patente (en jours)*	24,8 (1,9)	27,6 (6,0)	25,0 (8,5)
Nombre de cercaires émises*	169,2 (76,1)	37,4 (25,2)	253,0 (151,2)

* Valeur moyenne (\pm écart type).

Par rapport au taux de survie de *G. truncatula* au 30^{ème} jour, celui de *L. neotropica* est significativement plus élevé alors que celui de *L. v. ventricosa* est plus faible ($\chi^2 = 11,50$; $P < 1$ %). Les différences entre les prévalences de l'infestation, la croissance des coquilles au cours de l'expérience, les périodes prépatentes et les périodes patentes sont toutes non significatives.

Par contre, le nombre de cercaires émises par *L. neotropica* est significativement plus faible ($F = 4,70$; $P < 5$ %) que celui fourni par les deux autres espèces de limnées. A l'inverse de *G. truncatula* qui émet ses cercaires sur plusieurs vagues, la plupart des *L.*

neotropica et des *L. v. ventricosa* fournissent leurs cercaires en une seule vague et meurent aussitôt après (résultats non représentés).

2.6.2. Les charges rédienne et cercarienne chez les limnées disséquées au 65^{ème} jour (exp. B) :

Les données de cette expérience sont regroupées sur le tableau XXV.

Tableau XXV.

Les charges rédienne et cercarienne chez trois espèces de limnées infestées expérimentalement par *P. daubneyi* et disséquées au 65^{ème} jour post-exposition (expérience B).

Paramètres	<i>G. truncatula</i>	<i>L. neotropica</i>	<i>L. v. ventricosa</i>
Nombre :			
- de limnées exposées	50	50	50
- de survivants au 30 ^{ème} jour (%)	37 (74,0)	45 (90)	26 (52,0)
- de limnées avec cercaires* (prévalence en %)	19 (51,3)	22 (48,8)	13 (50,0)
- de rédies indépendantes*	34,4 (5,1)	26,2 (8,6)	39,5 (6,2)
- de procercaires*	81,4 (21,0)	62,5 (15,6)	99,5 (29,9)
- de cercaires libres*	142,4 (32,3)	110,2 (27,4)	177,3 (52,9)
Production cercarienne totale*/ **	223,8 (27,3)	172,7 (21,8)	276,8 (27,1)

* Moyenne (\pm écart type) ; ** les métacercaires formées avant le 65^{ème} jour sont incluses dans ces chiffres.

Des différences significatives ($\chi^2 = 18,05$; $P < 0,1$ %) ont été notées entre la survie de *G. truncatula* au 30^{ème} jour post-exposition et les taux des deux autres limnées. Comme pour l'expérience A, les prévalences de l'infestation par *P. daubneyi* dans les trois groupes ne présentent pas de différence significative entre elles. Par contre, des chiffres significativement plus faibles ont été trouvés chez *L. neotropica* pour les rédies indépendantes ($F = 4,26$; $P < 5$ %) et les cercaires libres ($F = 3,58$; $P < 5$ %), alors que les différences existant entre les deux autres espèces de limnées sont toutes non significatives. Dans les trois groupes, les nombres de procercaires indépendantes se distribuent dans la même échelle de valeurs et aucune différence significative n'a été notée.

Si le nombre de cercaires émises (Tableau XXIV) est comparé par rapport à la production cercarienne total présente dans le corps des limnées (Tableau XXV), le pourcentage de larves qui sort du mollusque est de 75,6 % chez *G. truncatula* et de 91,4 % chez *L. v. ventricosa*, alors qu'il n'est que de 21,6 % chez *L. neotropica*.

2.7. Commentaires :

Comme les hôtes intermédiaires de *P. daubneyi* en Afrique et en Europe sont *G. truncatula* et *Lymnaea peregra* (SEY, 1979), les résultats rapportés dans la présente étude démontrent que *L. neotropica* et *L. v. ventricosa* sont aussi des hôtes intermédiaires potentiels pour ce Digène. Deux hypothèses, peut-être complémentaires, seraient proposées pour expliquer ces données. Tout d'abord, *P. daubneyi* serait présent à l'heure actuelle en Amérique du Sud, tout au moins en Argentine et en Uruguay, même si d'autres Paramphistomidés comme *Paramphistomum cervi* (NASCIMENTO *et al.*, 2006) et *Paramphistomum leydeni* (SANABRIA *et al.*, 2011a, b) ont déjà été signalés sur ce continent. La deuxième hypothèse est que le développement larvaire de *P. daubneyi* pourrait se produire chez plusieurs espèces du genre *Galba / Fossaria*. Un élément supportant cette dernière approche est la publication de CASTRO-TREJO *et al.* (1990) qui rapporte que les larves de *P. cervi* peuvent se développer chez trois limnées (*Lymnaea cubensis*, *Lymnaea humilis* et *Lymnaea palustris*).

Chez les deux limnées sud-américaines, il y a une forte disparité dans la réponse du mollusque au développement larvaire de *P. daubneyi*. Par rapport à *G. truncatula* (qui sert ici de témoin), les charges moyennes en rédies et en cercaires du Digène chez *L. v. ventricosa* (Tableau XXV) sont légèrement plus élevées et cette population de limnées émet 91,4 % de ses cercaires dans l'expérience B. Par contre, chez *L. neotropica*, les charges rédienne et cercarienne sont significativement plus faibles (Tableau XXV) et 21,6 % seulement des cercaires sont émises. Ces données peuvent être interprétées comme les conséquences d'une adaptation encore incomplète entre les deux partenaires et cette adaptation incomplète serait plus importante chez *L. neotropica* que chez *L. v. ventricosa*. Cette hypothèse est supportée par le fait que de nombreuses limnées sud-américaines dans l'expérience A ont émis leurs cercaires en une seule vague. D'après RONDELAUD *et al.* (2009), la sortie des cercaires de *F. hepatica* en une seule vague sur un ou plusieurs jours, suivie de la mort du mollusque, indique une adaptation incomplète entre la population de limnées et le parasite.

Des périodes patentes de plus faible durée ont été notes chez les *L. neotropica* et les *L. v. ventricosa* parasités dans l'expérience A. Par contre, des périodes plus longues allant jusqu'à une moyenne de 96,3 jours pour *L. v. ventricosa*, par exemple, lorsque cette espèce est infestée par *Fascioloides magna* (SANABRIA *et al.*, 2012), ont été rapportées. Comme les *G. truncatula* (témoins) montrent aussi des périodes patentes de faible durée (Tableau XXIV), ces résultats peuvent s'expliquer par l'emploi de 4 miracidiums par mollusque.

Même si la charge miracidienne de *P. daubneyi* utilisée dans cette étude semble clairement réduire l'espérance de vie des *L. v. ventricosa* infestées, cette espèce est un bon candidat pour la production métacercarienne de ce Digène. Comme l'élevage de cette espèce au laboratoire en utilisant la méthode de RONDELAUD *et al.* (2007) est plus facile que celui de *G. truncatula*, cette limnée pourrait remplacer *G. truncatula* comme mollusque hôte pour *P. daubneyi*. Cependant, une étude sur la viabilité des métacercaires produites par *L. v. ventricosa* et leur développement en adultes chez l'hôte définitif est encore nécessaire pour optimiser les caractéristiques de cette limnée.

Identification génotypique des espèces de paramphistomes dans le nord-est Algérien.

1. Introduction :

Le manque total d'informations sur les espèce de paramphistome sévissant dans l'est du pays nous a incité à faire une première tentative de détermination en utilisant les outils de la biologie moléculaire.

Les moyens classiques pour déterminer les espèces de Paramphistomidae comme l'identification morphologique semblent très difficiles à réaliser (HORAK, 1971). Nous estimons que les techniques de biologie moléculaire, comme cela a été rapporté dans plusieurs travaux (RINALDI *et al*, 2005 ; WAEL *et al*, 2010 ; SANABRIA *et al*, 2011, 2013), sont les moyens les plus sûrs pour faire la diagnose des différentes espèces de paramphistomes.

Plusieurs genres de paramphistomes sont à l'origine de la paramphistomose et les plus communs sont *Paramphistomum*, *Calicophoron* et *Cotylophoron*. Dans ce travail, nous essaierons surtout de confirmer l'existence, dans l'est du pays, des espèces déjà citées auparavant dans la région centre, à savoir *Paramphistomum daubneyi* et *P. microbothrium* (PACE-NOVSKY *et al.*, 1987 ; KECHEMIR, 1988). Ces résultats déjà obtenus en Algérie ne sont basés que sur des modes classiques pour l'identification (chétotaxie cercarienne, morphologie des adultes, etc.) et n'ont pas été confirmés par la biologie moléculaire. Il était donc utile de vérifier s'il existe d'autres genres ou d'autres espèces comme cela a été rapporté dans des pays circumméditerranéens (*P. cervi*, *P. gotoi*, *P. ichikawai*, *P. leydeni*), ou encore certains genres et espèces existant en Afrique comme le genre *Cotylophoron* ou les espèces *Param-phistomum sukari* et *P. togolense*.

Dans une étude antérieure menée par notre équipe, nous avons procédé à une identification des paramphistomes, récoltés au niveau de l'abattoir de la Wilaya de Jijel, en se basant sur la morphologie des adultes. Il s'est avéré que les espèces en cause étaient apparentées à *P. microbothrium* ou plus encore à *P. daubneyi* (TITI, 2008). Cette nouvelle étude permettra de confirmer ou d'infirmier nos conclusions antérieures.

Les principales étapes de l'identification génotypique consiste en :

- Extraction de l'ADN génomique
- Quantification et contrôle de l'ADN
- Amplification de l'ADN ribosomale 28S par PCR
- Electrophorèse sur gel d'agarose
- Purification des produits de PCR
- PCR de séquençage
- Purification des produits de séquençage
- Analyse bioinformatique des séquences et confrontation avec l'outil BLAST
- Notre étude moléculaire a été réalisée au niveau du Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Pharmacie à l'Université de Limoges (unité INSERM U 1094).

2. Objectif de l'étude:

Le but de ce travail est de procéder à une caractérisation du segment ITS-2 dans l'ADN ribosomal de paramphistomes provenant de plusieurs Wilayas de l'est Algérien.

3. Matériel animal :

Des paramphistomes adultes ont été récoltés à partir du rumen et du réticulum de bovins au niveau des abattoirs de Constantine, d'El Tarf, de Jijel et de Sétif. Le tableau ci-dessous indique les coordonnées GPS (Global Positionning System) de chaque abattoir :

Ville (lieu de l'abattoir)	Coordonnées GPS
Constantine	36° 19' 48'' N, 6° 35' 34'' E
El Tarf	36° 47' 01'' N, 8° 22' 57'' E
Jijel	36° 49' 19'' N, 5° 45' 13'' E
Sétif	36° 11' 31'' N, 5° 24' 21'' E

Les bovins choisis sont d'âge et de sexe différents. Ils proviennent généralement des localités avoisinantes dans un rayon de 50 km, sauf pour Constantine où il est très difficile de connaître l'origine des animaux car ces derniers peuvent provenir du marché à bestiaux d'El Khroub. Dans ce dernier cas, les animaux peuvent provenir de contrées plus lointaines.

Les paramphistomes sont récoltés à la main, puis rincés avec du sérum physiologique à 9‰. Ils sont ensuite conservés dans de l'éthanol à 70 % en vue de leur identification ultérieure.

Le tableau XXVI (ci-dessous) précise les données relatives aux bovins. Quatre animaux par région d'étude ont fait l'objet d'un prélèvement de dis paramphistomes adultes au niveau du rumen.

Tableau XXVI.
Les caractéristiques des bovins chez lesquels des paramphistomes ont été prélevés pour notre étude.

Région	Code animal	Données concernant l'animal
Constantine	Ca	Race FFPN, femelle, 5 ans, El Khroub*
	Cb	Race locale, femelle, 6 ans, El Khroub*
	Cc	Race locale, mâle, 24 mois, El Khroub*
	Cd	Race Pie rouge, femelle, 6 ans, El Khroub*
El Tarf	Ta	Race locale, femelle, 5 ans, Ain Assel
	Tb	Race locale, mâle, 18 mois, Ramel souk
	Tc	Race FFPN, femelle, 7 ans, El Tarf
	Td	Race locale, mâle, 24 mois, Ain Assel
Jijel	Ja	Race locale, mâle, 24 mois, Texenna
	Jb	Race locale, mâle, 18 mois, Taher
	Jc	Race locale, mâle, 20 mois, Jijel
	Jd	Race locale, mâle, 18 mois, Kaous
Sétif	Sa	Race locale, mâle, 24 mois, Ain Oulmane
	Sb	Race Pie rouge, femelle, 5 ans, Sétif
	Sc	Race locale, mâle, 30 mois, El Eulma
	Sd	Race FFPN, femelle, 6 ans, Sétif

FFPN : Frisonne Française Pie Noire.

* : les animaux ont été achetés au niveau du marché à bestiaux.

4. Rappels généraux sur la PCR (Réaction de polymérisation en chaîne) :

4.1. Principe :

La réaction de polymérisation en chaîne est une technique d'amplification d'un segment d'ADN compris entre deux régions de séquences connues par un procédé d'extension d'amorces. Elle consiste à utiliser deux amorces oligonucléotidiques de synthèse de 20 à 25 nucléotides, complémentaires des extrémités 3' des deux brins d'ADN encadrant la séquence à amplifier. (voir schéma en annexe)

L'une de ces amorces est une copie du brin codant et l'autre du brin non codant. Sous l'action d'une enzyme (Taq polymérase), chaque amorce est allongée dans le sens 5' → 3',

d'une séquence exactement complémentaire du brin recopié. La répétition des cycles aboutit à une amplification exponentielle de la séquence cible considérée.

4.2. Mode opératoire :

On prépare le tube contenant le milieu réactionnel, appelé (mix), sous une hotte pour PCR. Chaque tube contient :

- Une enzyme : la Taq polymérase, thermostable permet la synthèse de nouveaux brins d'ADN identiques aux précédents par élongation des amorces.

- Les dNTP (désoxynucléotides triphosphates libres) : dATP, dCTP, dGTP et dTTP qui sont incorporables pour former le brin d'ADN néo-synthétisé. Ces bases sont les unités constitutives de l'ADN. Leur ordre d'association constitue le code de l'expression pour l'information génétique.

- $MgCl_2$: ce sel donne son pH au milieu réactionnel et établit une concentration saline optimale pour le fonctionnement de l'enzyme.

- Les amorces (primers) : ce sont des oligonucléotides monobrans, capables de s'hybrider sélectivement avec une région particulière de l'ADN.

- Un tampon contenant Tris-HCl, KCl et $MgCl_2$: 15 mM à pH 8,7.

Une fois le mélange distribué dans les tubes appropriés, les échantillons d'ADN sont ajoutés individuellement et dilués avec de l'eau dépourvue de DNase et de RNase. Le tube contenant le milieu réactionnel est placé dans un appareil appelé thermocycleur. Chaque cycle de PCR comporte trois phases : la dénaturation de l'ADN, l'hybridation spécifique des amorces à une température bien déterminée, et l'élongation (= synthèse) grâce à l'enzyme thermostable (Taq polymérase) qui polymérise l'amorce dans le sens 5' → 3' en prenant comme matrice l'ADN à étudier.

De nombreux travaux sur les Plathelminthes ont montré que les séquences ITS-1 et ITS-2 (Internal Transcribed Spacers) de l'ADN ribosomal (rDNA) sont des marqueurs génétiques communs (GRASSER et CHILTON, 1995 ; HUANG *et al.*, 2004). La séquence ITS-2 permet, en particulier, de différencier *F. hepatica* de *Fasciola gigantica* (ADLARD *et al.*, 1993 ; AGATSUMA *et al.*, 2000) et *Schistosoma bovis* de *Schistosoma heamatobium* (BARBER *et al.*, 2000).

5. Protocole expérimental :

5.1. *Extraction de l'ADN génomique :*

Elle est réalisée grâce au Kit QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Allemagne) en suivant les indications du fournisseur. Ce kit permet une extraction rapide, facile et évite l'utilisation de réactifs irritants ou toxiques (phénol, chloroforme, ...).

Chaque paramphistome est lavé deux fois avec du tampon PBS (Phosphate Buffer Saline) afin d'enlever toute trace d'alcool. Il est ensuite découpé en petits morceaux, lesquels sont placés dans du PBS (pH, 7,4) dans un tube Eppendorf. Ces fragments sont rincés deux autres fois avec du PBS mais le second lavage se fait sous agitation pendant 30 min.

5.1.1. Lyse des échantillons :

Chaque échantillon subit une protéolyse en utilisant le mélange suivant : 20 µl de protéinase et 180 µl de tampon ATL (Tissue Lysis Buffer). Cette digestion enzymatique s'effectue dans un incubateur à 56° C toute une nuit jusqu'à la lyse complète des tissus.

Le lysat est ensuite mélangé à l'aide d'un vortex pendant 15 sec et centrifugé 1 min à 8.000 tours / min. On y rajoute 200 µl de tampon AL (Lysis Buffer) en prenant soin de bien mélanger pendant 15 sec. Les tubes sont placés dans l'incubateur à 70° C pendant 10 min.

5.1.2. Précipitation de l'ADN par l'éthanol :

Les tubes sont retirés de l'incubateur et leur contenu est agité au vortex pendant 15 sec. On centrifuge ensuite leur contenu pendant 1 min à 8.000 tours / min.

On procède, par la suite, à la précipitation de l'ADN en ajoutant 200 µl d'éthanol à 100 % avant d'homogénéiser le mélange et de le soumettre à une nouvelle centrifugation à 8.000 tours / min. Le mélange est transféré dans une colonne de filtration (QiaAmp), elle-même positionnée sur un tube de collecte de 2 ml. Le contenu du tube est enfin centrifugé à 8.000 tours / min pendant 1 min et on remplace le tube collecteur.

5.1.3. Lavage de l'ADN :

L'ADN présent sur la membrane est lavé avec le tampon AW1 (Qiagen) et l'ensemble est centrifugé à 8.000 tours /min pendant 1 min. On procède ensuite à un deuxième lavage avec le tampon AW2 (Qiagen) en centrifugeant à 13.000 tours / min pendant 3 min.

5.1.4. L'élution :

La colonne est placée dans un tube Eppendorf. 90 µl de tampon AE (Qiagen) y sont ajoutés puis le tout est centrifugé à 13.000 tours / min pendant 1 min afin de récupérer l'ADN au fond du tube Eppendorf.

5.2. *Quantification et contrôle de l'ADN* :

Une fois l'ADN extrait des différents échantillons, celui-ci est dosé à l'aide d'un spectrophotomètre Nano Drop (cet appareil permet de donner la concentration de 1 µl d'ADN sans dilution préalable). Le tableau ci-dessous indique la concentration de l'ADN dans les divers échantillons.

Constantine		El Tarf		Jijel		Sétif	
Echantillon	ng / µl	Echantillon	ng / µl	Echantillon	ng / µl	Echantillon	ng / µl
Ca	518,47	Ta	320,37	Ja	462,31	Sa	285,88
Cb	387,99	Tb	404,21	Jb	263,26	Sb	270,53
Cc	422,10	Tc	367,07	Jc	68,86	Sc	298,76
Cd	94,29	Td	47,04	Jd	129,49	Sd	249,44

5.3. *Amplification de l'ADN par PCR* :

La PCR s'est déroulée selon le programme décrit par GOLAN *et al.* (2008) avec un volume réactionnel de 25 µL contenant :

Produit	Tampon	MgCl ₂	dNTP	Amorce		Taq polymérase	H ₂ O	ADN	Total
				sens	Anti-sens				
Quantité (µl)	5	1	0,8	0,5	0,5	0,5	*	**	25

* : Volume rajouté après le calcul de la concentration de l'ADN (q.s.p. 25 µl).

** : Volume défini en fonction de la concentration de l'ADN.

5.3.1. Mode opératoire :

Afin de pouvoir réaliser une étude phylogénétique, une PCR permet d'amplifier la fraction ITS-2 de l'ADN ribosomal.

Les amorces utilisées sont ITS-2 F (5'-TGTGTCGATGAAGAGCGCAG-3') et ITS-2 R (5'-TGGTTAGTTTCTTTTCCTCCGC-3') comme ITAGAKI *et al.* (2003) les ont définies.

L'ADN est amplifié dans un thermocycleur Perkin-Elmer (Applied Biosystems, Warrington, Grande Bretagne) selon un programme de 35 cycles :

Etape	Dénaturation initiale	35 cycles, chacun comprenant			Elongation finale
		Dénaturation	Hybridation	Elongation	
Température	95° C	94° C	53° C	72° C	72° C
Durée	10 min	1 min	90 sec	1 min	10 min

A l'arrêt du thermocycleur, les produits de la PCR sont mis à + 4° C.

5.4. Electrophorèse sur gel d'agarose à 2 % :

La présence des amplicons est révélée sur gel d'agarose à 2 % .

5.4.1. Préparation du gel :

Dans 75 ml de tampon TBE (Tris-Borate-EDTA), on ajoute 1,5 g d'agarose. Le mélange est chauffé jusqu'à dissolution totale de ce produit. A ce mélange, 7,5 µl de bromure d'éthidium sont alors ajoutés, ce qui permet la visualisation des molécules d'ADN lorsqu'on les expose à une lumière ultraviolette.

Le gel est ensuite coulé dans une cuve. On place un peigne afin de créer des puits de dépôt puis laissé sécher à l'air libre afin de polymériser à la température ambiante.

5.4.2. Dépôt des échantillons :

Cinq microlitres d'ADN de chaque produit amplifié sont mélangés avec 2 µl de bleu de bromophénol (Gel Loading Solution type I : Sigma, Saint-Louis, USA) et l'ensemble est déposé dans chaque puits du gel. La même opération est réalisée avec 0,5 µl d'un marqueur de poids moléculaire (Invitrogen, Carlsbad, USA). Ce dernier produit permet d'apprécier la taille des fragments amplifiés. Les produits sont soumis à un courant continu de 100 volts pendant 30 min dans un support de migration pour électrophorèse (Thermo Minicel Primo EC320, Electrophoretic gel system).

5.4.3. La migration :

La charge négative de l'ADN lui permet de migrer dans le gel. Il va se déplacer dans un champ électrique en allant du pôle négatif vers le pôle positif si bien que les molécules se

séparent en fonction de leur taille et de leur forme. Les grosses molécules migrent lentement, alors que les plus petites molécules, repliées sur elles-mêmes, migrent rapidement.

5.4.4. Visualisation par photographie :

La photographie du gel est réalisée dans une chambre photographique numérique à ultraviolets. Les résultats sont analysés avec le logiciel GELSMART 7.0 (Clara Vision, Verrières-le-Buisson, France).

5.5. Purification des produits de PCR :

Ces produits ont été purifiés en utilisant le QIAquick PCR purification kit (Qiagen, Hilden, Allemagne).

A 1 volume de produit amplifié, est ajouté 5 fois le volume de tampon phosphate.

Le mélange est centrifugé à 13.000 tours / min pendant 1 min puis le contenu du tube est vidé et on conserve la colonne dans laquelle les ADN ont été adsorbés (ceux-ci sont chargés positivement).

L'ADN est lavé avec 750 µl de tampon PE et 220 ml d'éthanol. Le tube est centrifugé à 13.000 tours /min pendant 1 min.

On vide à nouveau le contenu du tube et la colonne contenant l'ADN est gardée. Il est procédé à une nouvelle centrifugation à 13.000 tours / min pendant 1 min.

80 µl du tampon d'éluion sont rajoutés dans la colonne. Après une minute, on centrifuge le contenu à 13.000 tours / min pendant 1 min.

Enfin la colonne est jetée et son contenu (ADN) récupérée dans un tube Eppendorf.

5.6. PCR de séquençage :

5.6.1. Préparation du mix :

Afin d'éviter les risques d'erreur et de contamination, une solution mixte contenant tous les composants de la PCR est préparée (voir page suivante).

Produit	Volume (µl)
Big Dye (tampon Taq, MgCl ₂ , Taq polymérase, dNTP)	2,5
Tampon	2,5
Amorce sens ou anti-sens	4
H ₂ O	4
ADN	2
Total	15

Dans notre cas, nous avons travaillé sur 11 échantillons. La solution mixte se fait de la même manière que le mélange réactionnel utilisé pour la PCR. L'eau est mise en premier, puis le tampon, les amorces, et enfin le Big Dye. L'ADN est mis en dernier et en dehors de la hotte dans une autre salle pour éviter toute contamination.

5.6.2. Amplification :

Le tableau (ci-dessous) montre les températures et les durées utilisées pour chaque étape de la réaction dans le thermocycleur.

Etape	Dénaturation initiale	25 cycles, chacun comprenant			Elongation finale
		Dénaturation	Hybridation	Elongation	
Température	96° C	96° C	50° C	60° C	72° C
Durée	1 min	10 sec	5 sec	4 min	10 min

N.B : Une fois l'élongation finale terminée, le produit peut être conservé au réfrigérateur (+ 4°C), pendant six mois.

5.7. *Purification des produits de séquençage* :

Avant le séquençage, les produits de la PCR sont purifiés selon le protocole suivant.

De la poudre de résine est déposée dans les puits d'une plaque. On transfère ensuite cette poudre sur la plaque à filtre et 300 µl d'eau osmosée (isotonique) sont ajoutés pour faire gonfler la résine.

Pour cela, le couvercle est placé sur les puits et l'ensemble est mis au réfrigérateur pendant 30 minutes au moins pour que la résine se solidifie.

Une centrifugation à 2.570 tours / min pendant 3 min est réalisée afin que la phase aqueuse soit éliminée.

De l'ADN est déposé dans chaque puits (15 µl au minimum) et le volume est complété éventuellement par 15-20 µl d'eau osmosée. L'ensemble est alors soumis à une nouvelle centrifugation à 2.570 tours /min pendant 3 minutes et la phase aqueuse est éliminée.

L'ADN est rincé avec 300 µl d'eau osmosée et soumis à une centrifugation à 2.570 tours / min pendant 3 min. Il est alors prêt pour son analyse avec le séquenceur ABI 3100 (Azco Biotech Inc., Oceanside, USA).

5.8. Analyse bioinformatique des séquences :

Les analyses phylogénétiques basées sur les séquences ITS-2 de l'ADN ribosomal ont été réalisées en comparant celles obtenues avec les parasites isolés et les séquences disponibles dans GenBank.

Cette comparaison a été effectuée en utilisant le logiciel BLAST (Basic Local Aligned Search Tool) qui est disponible sur Internet et libre de droit (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/index/html>). (voir alignement en annexe)

L'alignement des séquences a été pratiqué à l'aide du logiciel Clustal W 1.4 (MEGA 4, EBI, Hinxton, Grande Bretagne).

Les parties (ou domaines) sont étudiées les unes au-dessus des autres en minimisant leurs différences.

Les sites possédant le même état pour chaque haplotype sont appelés sites conservés tandis que ceux qui ont un changement d'état sont des substitutions.

L'alignement est une étape essentielle et parfois complexe en raison de la présence de délétions. De cet alignement, dépend toute l'analyse phylogénétique.

6. Résultats et interprétation :

6.1. Taille des bandes sur gel d'agarose :

Parmi les 16 ADN amplifiées, seuls 11 d'entre eux ont donné des bandes bien visibles sur le gel et par conséquent ont fait l'objet su séquençage.

La planche F montre des photographies réalisées sur gel d'agarose avec les produits amplifiés de 11 de nos échantillons.

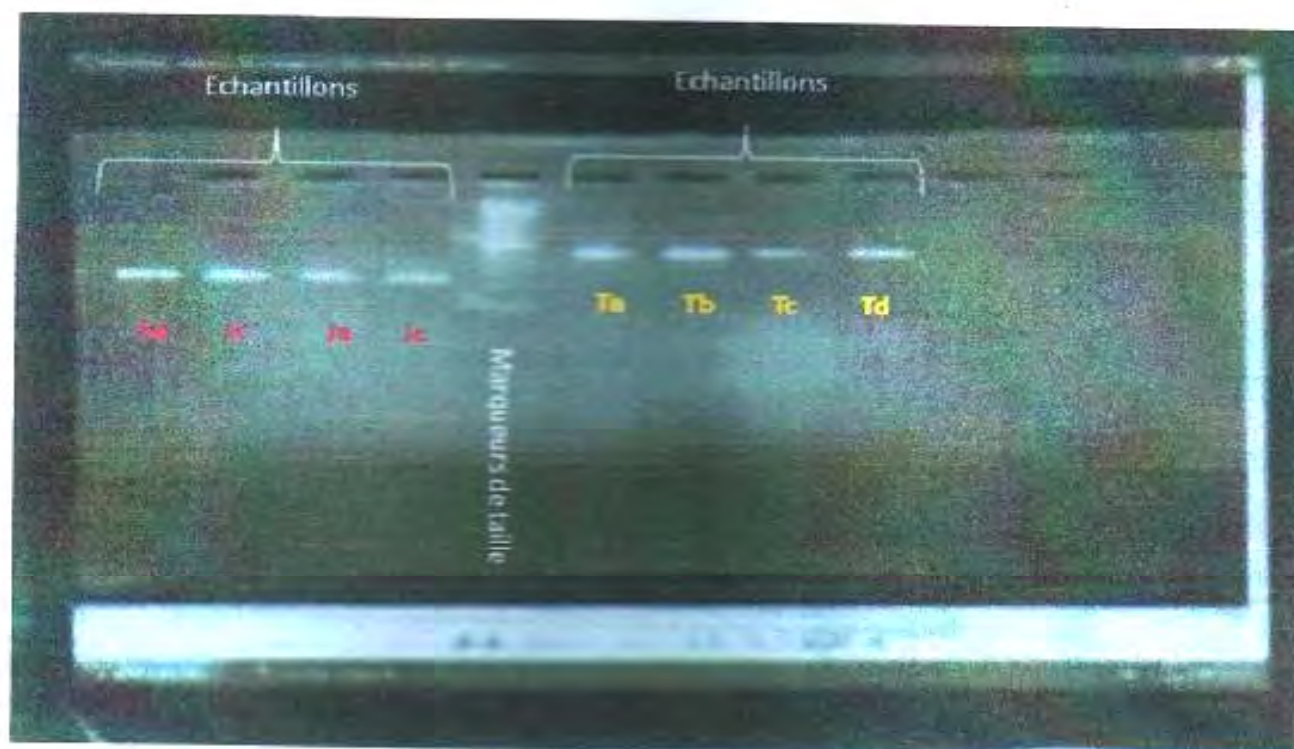
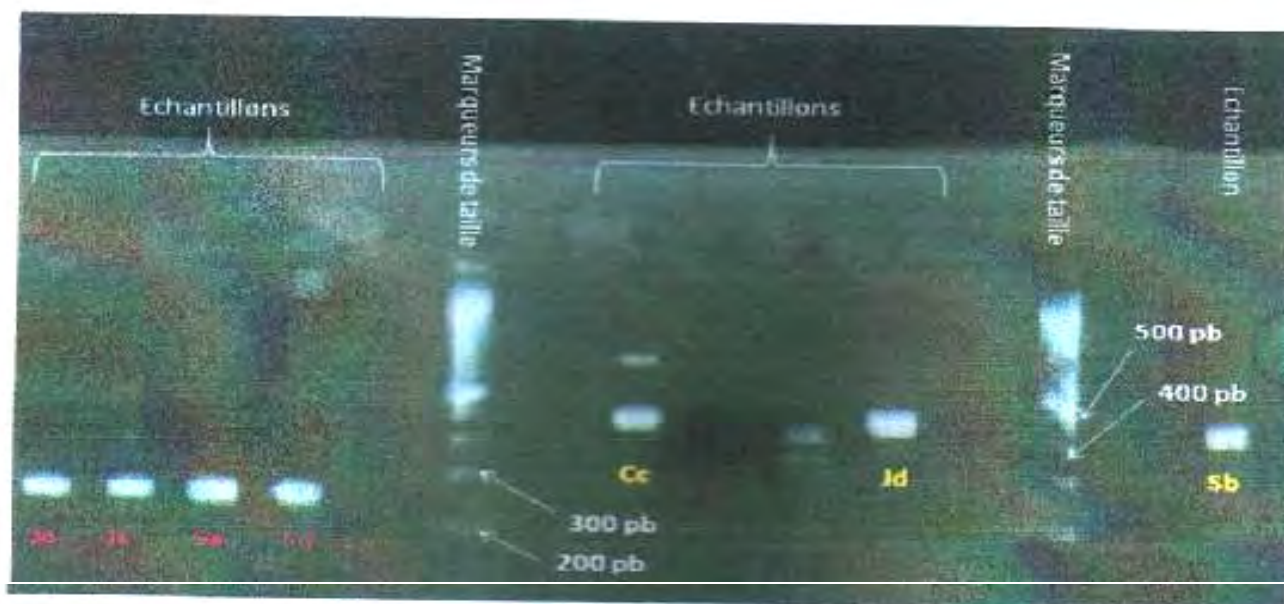


Planche G.
 Photographies réalisées sur gel d'agarose avec les produits amplifiés
 provenant de l'ADN des paramphistomes.

Les photos de la planche F représentent la migration des produits de PCR de la séquence déterminée pour tous les échantillons testés. Les bandes de fragments d'ADN dont la taille est comprise entre 400 et 500 paires de bases, et qui correspondent aux échantillons

(Cc, Jd, Sb, Ta, Tb, Tc, Td) s'apparentent à *P. daubneyi* (RINALDI *et al*, 2005) Les autres échantillons (Ja, Jc, Sa, Sd) dont la taille est plutôt comprise entre 200 et 300 paires de bases, s'apparentent à *P. microbothrium*.

Les résultats trouvés par PCR, concordent parfaitement, avec ceux trouvés dans notre étude, antérieure (TITI, 2008), au cours de laquelle l'identification avait été faite sur la base de critères morphologiques utilisant la clé de SEY, 1972) sur des spécimens de paramphistomes récoltés dans la région de Jijel. Ces derniers s'apparentaient *P. daubneyi*

6.2. Séquençage des amplicons :

Les séquences ont été traitées par les moyens bioinformatiques précités afin d'établir des liens de parenté phylogénétique entre ces spécimens. Le tableau XXVII (ci-dessous) présente les résultats obtenus.

Tableau XXVII.
Confrontation des séquences des échantillons étudiés avec celles de GenBank.

Séquence Inconnue	Souche proposée par GenBank	Score	Valeur de E	Pourcentage d'identité
Constantine c	<i>P. daubneyi</i>	643	0	100 %
El Tarf a		715	0	100 %
El Tarf b		660	0	100 %
El Tarf c		695	0	100 %
El Tarf d		654	0	100 %
Jijel d		632	5^{-178}	99 %
Sétif b		664	0	100 %
Jijel a	<i>P. microbothrium</i>	612	7^{-172}	99 %
Jijel c		601	1^{-168}	99 %
Sétif a		601	1^{-168}	99 %
Sétif d		641	0	99 %

Le score correspond aux nombres de nucléotides qui sont identiques dans les deux séquences (celle de notre étude et celle GenBank). Il se traduit par un pourcentage d'identité. La valeur de E est la probabilité d'observer ce score au hasard dans les banques de séquences considérées. Plus cette valeur est faible, plus l'alignement est significatif. Dans notre cas, la plupart des valeurs de E sont nulles, ce qui signifie que les identités retrouvées dans nos séquences et celles proposées par GenBank ne sont pas dues au hasard (voir annexe).

Sur les 11 séquences alignées, six d'entre elles ont présenté 100 % d'identité avec des valeurs de E nulles ce qui signifie qu'elles sont toutes apparentées à l'espèce *P. daubneyi*. Il s'agit des 4 échantillons récoltés à El Tarf, d'un provenant de Sétif et du dernier de Constantine. Une seule séquence, appartenant à l'échantillon Jijel d, a présenté un pourcentage d'identité de 99 % et une valeur de E égale à 5^{-178} , ce qui veut dire, que cette espèce est très proche de *P. daubneyi*.

Parmi les quatre séquences restantes, (Jijel a, Jijel c, Sétif a et Sétif d) ont présenté 99 % d'identité avec une valeur de E très proches de zéro pour les trois premiers (respectivement 7^{-172} , 1^{-168} et 1^{-168}) et une E value nulle pour le dernier. Cela signifie que ces séquences sont très proches de celles appartenant à *P. microbothrium*. (Voir arbre phylogénétique en annexe).

En conclusion, on peut noter qu'il existe l'espèce *P. daubneyi* dans les Wilayas d'El Tarf, Sétif et Jijel, car les spécimens de parasites sur lesquels nous avons travaillé proviennent de bovins élevés dans les régions citées.

Par contre, pour les parasites provenant du bovin de Constantine, ceux-ci ne peuvent être considérés comme relevés dans la Wilaya puisque l'animal en question a été acheté au niveau du marché à bestiaux d'El Khroub, et par conséquent peut provenir d'une autre Wilaya de l'est algérien. Néanmoins le spécimen analysé est quand même apparenté à *P. daubneyi*.

Pour *P. microbothrium*, son existence est confirmée dans les deux wilayas (Jijel et Sétif) car les spécimens de parasites proviennent d'animaux élevés dans les Wilayas sus-citées.

Conclusion générale

En conclusion, nous pouvons retenir de cette étude ce qui suit :

La paramphistomose, malgré l'intérêt porté à cette trématodose à travers le monde et particulièrement en Europe où elle est en nette recrudescence, reste une parasitose très peu connue ou tout au moins qui suscite peu d'intérêt dans notre pays.

Cela est probablement dû tout d'abord au caractère insidieux de la maladie, mais également au fait que les éleveurs n'arrivent pas à apprécier concrètement, les pertes économiques engendrées par cette parasitose.

Pourtant, cette pathologie semble gagner du terrain en Algérie puisque dans la Wilaya de Jijel, elle est passée en l'espace de 3 années de 15,2% à 32,6%, lors des saisons de fortes prévalences. Cette augmentation doit nous inciter à plus de vigilance et il serait utile de réfléchir d'ores et déjà à des stratégies de lutte adaptées au contexte épidémiologique et aux contingences locales.

Lorsque l'on compare les prévalences moyennes relevées dans les zones littorales et celles notées à l'intérieur du pays on note des valeurs significativement plus élevées à Jijel (17,6%) comparativement à celles enregistrées à Constantine ou Sétif (respectivement 5,05% et 2,70%).

Les prévalences moyennes enregistrées dans la Wilaya de Jijel sur deux années ont été de 18,5% en 2011 et de 17,0% en 2012 avec respectivement des pics mensuels de 32,6% et 28,2%.

Le facteur saison influe fortement sur la prévalence et il est noté que les plus forts taux d'infestations sont enregistrés lors des périodes suivant les fortes pluies avec des moyennes saisonnières de 24,4% au printemps et 23,2% en été contre 15,6% en automne et 10,6% en hiver ($P < 0,01$). A ce propos, des travaux récents menés dans le nord de l'Iran (Province du Mazenderan) ont montré que les saisons influencent fortement sur la prévalence de la paramphistomose (ESLAMI *et al*, 2011). En effet les plus hautes valeurs sont enregistrées lors des périodes qui succèdent aux fortes précipitations. Au Benin ASSOGBA et YOUSAO

(2001) ont noté des constatations similaires, et que les prévalences sont nettement plus élevées en zone littorale (51,8%) comparativement à l'intérieur du pays (17%).

Paradoxalement, lors des fortes prévalences, la charge parasitaire semble être plus basse. En d'autres termes, plus le nombre d'animaux qui s'infestent est élevé et plus la charge parasitaire moyenne est faible. Cela pourrait s'expliquer par une sorte de « partage » du parasitisme entre les animaux. Le nombre d'animaux qui s'infestent est certes plus faible, mais la charge parasitaires est élevée du fait de la réduction de la surface des gîtes et d'une plus grande densité de mollusque au mètre carré. Cependant aucune étude n'a été faite à ce sujet pour confirmer ou infirmer cette hypothèse.

Pour le facteur sexe, et même s'il paraît que les femelles sont significativement plus atteintes que les mâles (45,7% contre 14,6% pour la première année et 41,9% contre 14,5% pour la deuxième année, $P < 0,001$), un biais de taille (âge) vient perturber cette constatation. En effet les femelles qui ont fait l'objet d'inspection à l'abattoir sont des vieilles vaches de réforme pour la plupart d'entre elles, alors que les jeunes mâles (taurillon d'embouche) ne dépassent que très rarement les 30 mois d'âge.

Le suivi de quelques paramètres hématologiques chez des ovins infestés expérimentalement par différentes doses de métacercaires ne montre pas de grandes différences, excepté chez le lot 2 (1000 métacercaires en prise unique).

Dans ce lot pré-cité, on relève une légère anémie, légère leucocytose avec éosinophilie entre la 9^{ème} à 12^{ème} semaine post-infestation. L'anémie pourrait être expliquée par l'action spoliatrice et térébrante des formes immatures lors de leur migration rétrograde vers le rumen.

Les charges parasitaires utilisées n'ont pas d'influence sur le gain pondéral des animaux. A notre avis la charge de parasite ingéré n'est pas suffisante pour pouvoir influencer significativement sur le gain pondéral. Pour preuve, le sacrifice de deux animaux du lot 2, montre que seulement 17,7% et 23,4% des métacercaires administrés arrivent dans la panse.

Concernant les investigations effectuées sur l'hôte intermédiaire, et précisément pour le suivi de l'infestation naturelle, il apparaît que les limnées peuvent s'infester durant tous les mois de l'année avec cependant une plus forte probabilité lors des saisons assez humides (fin automne jusqu'à la fin du printemps). Il est à noter que les charges parasitaires des mollusques

est loin d'être négligeable (jusqu'à 13% et 15%). En fait, le cycle est entretenu par le maintien des mollusques en vie, ce qui dépend fortement des conditions climatiques et géologiques.

Pour l'infestation expérimentale réalisées sur trois espèces de limnées, il a été clairement démontré que l'espèce *L. viatrix ventricosa* paraît la mieux indiquée pour produire des métacercaires comparativement aux deux autres espèces expérimentées (*G. truncatula* et *L. néotropica*) (respectivement 253 cercaires contre 169,2 et 37,4). Une étude malacologique approfondie permettra de confirmer ou d'infirmier l'existence de cette espèce de limnée. Il ne faudra pas pour autant négliger le fait que jusqu'à ce jour, *G. truncatula* reste le mollusque le mieux connu dans notre pays et par conséquent le principal hôte intermédiaire de la parasitose.

Enfin en ce qui concerne l'identification génotypique des espèces de paramphistomes par outils moléculaires, celle-ci a permis de révéler l'existence deux espèces de paramphistomes à savoir *P. daubneyi* et *P. microbothrium* dans l'est Algérien.

Recommandations et perspectives

La paramphistomose est une trématodose gastro-duodénale qui reste méconnue dans notre pays et sa nette recrudescence dans la Wilaya de Jijel (comme relaté au cours de notre conclusion générale), nous incite à quelques recommandations pour empêcher ou tout au moins freiner la propagation de cette parasitose.

Ces **recommandations** se résument comme suit :

- Faire prendre conscience du danger de cette pathologie qui, jusqu'à ce jour, est considérée sans incidence économique ou médicale tant pour les éleveurs que pour les professionnels du secteur.
- Récolter des données sur la maladie en inspectant systématiquement au niveau des abattoirs, les panses et réticulum des ruminants, afin d'établir une cartographie assez fiable concernant la répartition de la parasitose dans le pays.
- Encourager les vétérinaires et les laboratoires d'analyses à effectuer un dépistage coprologique au niveau des fermes.
- Mettre en place de mesures prophylactiques contre la parasitose
 - o *Moyens défensifs* : Administration de produits médicamenteux appropriés dans les zones à risques, interdire aux animaux l'accès aux zones marécageuses, les cours d'eau, etc..).
 - o *Moyens offensifs* : prodiguer des traitements adaptés lors de la confirmation de l'existence de la paramphistomose.
- In faudra cependant tenir compte des particularités socio-économiques du pays dans la mise en place de tout plan de lutte

Quant aux **perspectives**, celles-ci sont nombreuses et nous ne pouvons toutes les énumérer à travers ce travail. Néanmoins, nous en citerons quelques unes. Celles concernent aussi bien l'hôte définitif que l'hôte intermédiaire.

- Sur l'hôte définitif

- Continuer à établir une cartographie de la paramphistomose à travers l'Algérie, en procédant de la manière suivante
 - Rechercher le parasite au niveau des abattoirs par examen nécropsique
 - Rechercher le parasite au niveau des fermes par examen coproscopique.

-Etablir un suivi des performances zootechniques lors d'infestations expérimentales importantes (gain pondéral, perte en lait, influence sur la fertilité,...).

-Faire des essais thérapeutiques et étudier le rapport efficacité/cout du traitement

-Appliquer des mesures préventives étudiées (lutte intégrée) selon la région et le type d'élevage en tenant compte des contingences locales.

-Sur l'hôte intermédiaire

- Récolter différents mollusques, hôtes intermédiaires des trématodes dans les régions à haute prévalence comme Jijel et Tarf et vérifier en cinétique l'infestation naturelle de ces derniers par la paramphistomose, afin de compléter l'étude épidémiologique de la parasitose.

- Etudier la malacofaune algérienne pouvant être impliquée dans la transmission de la parasitose.

- Produire des métacercaires à des fins d'études cliniques en faisant des infestations expérimentales des mollusques hôtes.

Résumé

Des études sur la paramphistomose ont été réalisées pendant 2 années consécutives, afin de préciser la prévalence de cette trématodose chez les bovins dans la wilaya de Jijel. Les prévalences de cette parasitose sont de 18.5% en 2011 et de 17.0 en 2012, avec respectivement des pics mensuels de 32.60% et 28.2%. L'étude a montré que la prévalence de cette parasitose est plus importante dans les wilayas du littoral, telle que Jijel, (17.6%), comparativement à celles de l'intérieur du pays, (Constantine et Sétif avec respectivement 5.05% et 2.70%). Lors des fortes prévalences, il est enregistré des charges parasitaires faibles. Cela peut être expliqué par la raréfaction des gîtes à limnées, en dehors des périodes de fortes pluviométries, mais aucune étude n'a été effectuée dans ce sens

Des infestations expérimentales réalisées sur 20 ovins, avec *Paramphostomum daubneyi* ont montré que seulement le lot ayant reçu 1000 métacercaires ont présenté des modifications hématologiques, (une légère anémie, une leucocytose et une éosinophilie), ceci entre la 9^{ème} et la 12^{ème} semaine post-infestation.

Des investigations malacologiques au niveau de la wilaya de Jijel en 2010, ont montré que les mollusques, hôtes intermédiaires sont infestés durant toute l'année, avec des prévalences plus élevées lors de la période humide. Des infestations expérimentales sur 3 espèces de Lymnées par *P. daubneyi*, ont montré que *Lymnea viatrix* est la plus apte à produire des métacercaires en laboratoire, comparée à *Galba truncatula* et *Lymnea neotropica*

L'identification des espèces de paramphistomes par outils moléculaires, a confirmé l'existence de 2 espèces *P. daubneyi* et *P. microbothrium*, dans les différentes wilayas de l'est Algériens (Jijel, Tarf, Constantine et Sétif).

Mots-clés : *Paramphistomose, prévalence, bovins, lymnée, saison, identification moléculaire.*

Abstract

Studies on paramphistomosis have been achieved for two consecutive years for the purpose of specifying the prevalence of this trématodosi in cattle in the governorate of Jijel. The prevalence of this parasitosis is estimated at 18.5% in 2011 and 17.0 in 2012, with monthly peaks of 32.6% and 28.2% respectively. Our study has shown that this parasitosis is more significant in the coastal governorates such as Jijel, (17.6%), compared with the inland ones (Constantine and Sétif with respectively 5.05% and 2.70%). When there is strong prevalence, low parasitic loads have been recorded. This may be explained by the rarefaction of snails habitats, outside the periods of high pluviometry, but no study has been undertaken in this matter.

Experimental infestations carried out on 20 sheep with *Paramphostomum daubneyi* have shown that only those receiving 1000 métacercarias have shown haematological modifications (light anaemia, polycythemia and eosinophilia), between the 9th and 12th post-infestation.

Malacological investigations in the governorate of Jijel in 2010 have shown that molluscs, intermediary hosts, are infested during all year with a higher prevalence during the humid period. Experimental infestations on 3 species of Lymneidas by *P.daubneyi* have shown that *Lymnea viatrix* is the most apt to produce métacercarias inside a laboratory, compared to both *Galba truncatula* and *Lymnea neotropica*

The identification of the paramphistomes species using molecular tools has confirmed the existence of two species which are *P. daubneyi* and *P. microbothrium*, in the various governorates of the Eastern Algeria (Jijel, Tarf, Constantine and Sétif).

Key Words: *Paramphistomosis, prevalence, cattle,snails hosts, season, molecular identification.*

ملخص

الدراسات التي أجريت على paramphistomose خلال سنتين متتاليتين أظهرت زيادة هذا العامل المرض عند الأبقار و ذلك بولاية جيجل. و قد قدرت هذه الزيادات ب 18.5% في 2011 و 17.0 % في 2012 مع تسجيل معدلات حادة خلال بعض الأشهر وصلت حد 32.6 % و 28.2 %

تشير هذه الدراسة أنه هناك انتشار كبير لهذا العامل المرض في الولايات الساحلية مثل جيجل التي سجلت بها زيادة وصلت 17.6 % مقارنة بالأماكن الداخلية في الجزائر (قسنطينة و سطيف مثلا) التي سجلت انخفاضا وصل 5.05 % و 2.7 % على الترتيب.

ما يمكن ملاحظته هو أنه في حالة الاصابات المرضية المرتفعة تم تسجيل حمولة طفيلية ضعيفة و هذا ما يمكن تفسيره بنقص في عدد القواقع الحلزونية التي تعتبر وسائط مرضية خارج الأوقات ذات التساقطات المطرية المرتفعة دون تأكيد ذلك بسبب عدم وجود أية دراسة سابقة في هذا المجال.

في اصابات مرضية تجريبية استهدفت 20 فردا من الأغنام بواسطة P.daubneyi بينت أن العينة التي تلقت 1000 métacercaires فقط هي التي أظهرت تغيرات في تركيبة الدم تمثلت في فقر دم خفيف (نقص في كريات الدم الحمراء) و زيادة في كريات الدم البيضاء, زيادة في نوع متعددة النوى (Eosinophiles.) و هذا ما بين الأسبوع 9 و 12 بعد الاصابة.

على مستوى ولاية جيجل و في سنة 2010 أجريت تحريات خاصة على الرخويات الوسيطة أظهرت اصابات عالية خلال طول السنة و تزداد أكثر خلال الفترات الأكثر خلال الفترات الأكثر رطوبة.

بين تعمد اصابة تجريبية بواسطة 3 أنواع من القواقع الحلزونية من طرف P.daubneyi. أن Lymnea viatrix هو الأكثر قدرة على انتاج métacercaires مقارنة ب.G.truncatula. و L.neotropica باستعمال تقنيات التحليل الجزيئي من أجل التعرف على أنواع الطفيل تحت الدراسة أثبت تواجد نوعين و هما :P.daubneyi. و P.microbothrium. و ذلك في مختلف ولايات الشرق الجزائري (جيجل، الطارف، قسنطينة، سطيف).

الكلمات المفاتيح:

Paramphistomose ، العامل المرض، الأبقار ، الحلزون ، الفصل ، التعريف الجزيئي.

ANNEXES

Alignement local des 11 séquences

(etabli par le programme BLASTN)

Tarf a

Calicophoron daubneyi 5.8 S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [gb|AY790883.1](#) Length: 428 Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 42 to 428 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities
715 bits(387)	0.0	387/387(100%)
Query 28	TTGAACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTA	87
Sbjct 42	TTGAACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTA	101
Query 88	TAAACTATCACGACGCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTTCCT	147
Sbjct 102	TAAACTATCACGACGCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTTCCT	161
Query 148	CTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCAGATCTATGGCGTTTTCTAATGTCTCCGGACACAA	207
Sbjct 162	CTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCAGATCTATGGCGTTTTCTAATGTCTCCGGACACAA	221
Query 208	CCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTG	267
Sbjct 222	CCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTG	281
Query 268	TAATGGTAGCAGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGC	327
Sbjct 282	TAATGGTAGCAGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGC	341
Query 328	TGTCGGTCCAATCATGATCACCTACTGTGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGT	387
Sbjct 342	TGTCGGTCCAATCATGATCACCTACTGTGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGT	401
Query 388	GAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCA 414	
Sbjct 402	GAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCA 428	

Tarfb

Calicophoron daubneyi 5.8 S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [gb|AY790883.1](#) Length: 428 Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 72 to 428 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities
660 bits(357)	0.0	357/357(100%)
Query 28	TGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCAAAAAGTCGTGG	87
Sbjct 72	TGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCAAAAAGTCGTGG	131
Query 88	CTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCT	147
Sbjct 132	CTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCT	191
Query 148	ATGGCGTTTTCTAATGTCTCCGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGT	207
Sbjct 192	ATGGCGTTTTCTAATGTCTCCGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGT	251
Query 208	GTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCCTCTGCTGTTGTGCCTT	267
Sbjct 252	GTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCCTCTGCTGTTGTGCCTT	311
Query 268	TGAATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCGAATCATGATCACCTACTGTGG	327
Sbjct 312	TGAATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCGAATCATGATCACCTACTGTGG	371
Query 328	TGTTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCA 384	
Sbjct 372	TGTTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCA 428	

Tarfc

Calicophoron daubneyi 5.8 S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [gb|AY790883.1](#) Length: 428 Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 53 to 428 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities
695 bits(376)	0.0	376/376(100%)
Query 28	TTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCAC	87
Sbjct 53	TTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCAC	112
Query 88	GACGCCCAAAAAGTCGTGGCTTGGAACTGCGCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTTCGC	147
Sbjct 113	GACGCCCAAAAAGTCGTGGCTTGGAACTGCGCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTTCGC	172
Query 148	CACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTCTTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGC	207
Sbjct 173	CACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTCTTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGC	232
Query 208	TGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCA	267
Sbjct 233	TGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCA	292
Query 268	CGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAA	327
Sbjct 293	CGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAA	352
Query 328	TCATGATCACCTACTGTGGTGTCTGTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCT	387
Sbjct 353	TCATGATCACCTACTGTGGTGTCTGTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCT	412
Query 388	GAACTTAAGCATATCA 403	
Sbjct 413	GAACTTAAGCATATCA 428	

Tarfd

Calicophoron daubneyi 5.8 S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [gb|AY790883.1](#) Length: 428 Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 75 to 428 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities
654 bits(354)	0.0	354/354(100%)
Query 28	GGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCGTGGCTT	87
Sbjct 75	GGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCGTGGCTT	134
Query 88	GGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATG	147
Sbjct 135	GGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATG	194
Query 148	GCGTTTCTTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTG	207
Sbjct 195	GCGTTTCTTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTG	254
Query 208	GCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGA	267
Sbjct 255	GCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGA	314
Query 268	ATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTGTGGTGT	327
Sbjct 315	ATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTGTGGTGT	374
Query 328	TCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA 381	
Sbjct 375	TCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA 428	

Jijeld

Calicophoron daubneyi 5.8 S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [gb|AY790883.1](#)|Length: 428|Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 84 to 428 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities
632 bits(342)	5e-178	344/345(99%)
Query 28	TGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCGTGGCTTGGAACTCTGC	87
Sbjct 84	TGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCGTGGCTTGGAACTCTGC	143
Query 88	CAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTC	147
Sbjct 144	CAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTC	203
Query 148	TAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAG	207
Sbjct 204	TAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAG	263
Query 208	TCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACT	267
Sbjct 264	TCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACT	323
Query 268	GGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTGTGGTGTCTGTTACC	327
Sbjct 324	GGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTGTGGTGTCTGTTACC	383
Query 328	TGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA 372	
Sbjct 384	TGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA 428	

Sétifb

Calicophoron daubneyi 5.8 S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [gb|AY790883.1](#)|Length: 428|Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 70 to 428 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities
664 bits(359)	0.0	359/359(100%)
Query 28	CCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCGT	87
Sbjct 70	CCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCGT	129
Query 88	GGCTTGGAACTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGAT	147
Sbjct 130	GGCTTGGAACTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGAT	189
Query 148	CTATGGCGTTTTCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGG	207
Sbjct 190	CTATGGCGTTTTCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGG	249
Query 208	GTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCC	267
Sbjct 250	GTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCC	309
Query 268	TTTGAATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTGT	327
Sbjct 310	TTTGAATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTGT	369
Query 328	GGTGTCTGTACTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA 386	
Sbjct 370	GGTGTCTGTACTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA 428	

Constantine c

Calicophoron daubneyi 5.8 S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [gb|AY790883.1](#)|Length: 428|Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 81 to 428 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities
643 bits(348)	0.0	348/348(100%)
Query 30	GCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATC	89
Sbjct 81	GCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATC	140
Query 90	TGCCAGCTGGCGTGATTTCCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTT	149
Sbjct 141	TGCCAGCTGGCGTGATTTCCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTT	200
Query 150	TCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTA	209
Sbjct 201	TCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTA	260
Query 210	GAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTA	269
Sbjct 261	GAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTA	320
Query 270	ACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTGTGGTGTCTGTT	329
Sbjct 321	ACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTGTGGTGTCTGTT	380
Query 330	ACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA 377	
Sbjct 381	ACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA 428	

Sétifa

Calicophoron microbothrium isolate P1 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [gb|GU735639.1](#)|Length: 359|Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 25 to 359 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities
601 bits(325)	1e-168	332/335(99%)
Query 28	TGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCGTGG	87
Sbjct 25	TGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCGTGG	84
Query 88	CTTGGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCT	147
Sbjct 85	CTTGGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCT	144
Query 148	ATGGCGTTTTCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCGCAGACGAGGGT	207
Sbjct 145	ATGGCGTTTTCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCGCAGACGAGGGT	204
Query 208	GTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTACTGTTGTGCCTT	267
Sbjct 205	GTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTGACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTT	264
Query 268	TGT-AGTGTAACCTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTATG	326
Sbjct 265	TGTTAGTGTAACCTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTATG	324
Query 327	GTGTTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAAT 361	
Sbjct 325	GTGTTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAAT 359	

Sétifd

Calicophoron microbothrium isolate P1 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [gb|GU735639.1](#) Length: 359 Number of Matches: 1
Related Information
Range 1: 3 to 359 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score		Expect		Identities
641 bits(347)		0.0		354/357(99%)
Query 28	ACATTGCGGCCACGGGTTTTCCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTAT			87
Sbjct 3	ACATTGCGGCCACGGGTTTTCCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTAT			62
Query 88	CACGACGCCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTT			147
Sbjct 63	CACGACGCCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTT			122
Query 148	CGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCT			207
Sbjct 123	CGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCT			182
Query 208	TGCTGGTAGCGCAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTA			267
Sbjct 183	TGCTGGTAGCGCAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTGACTGTAATGGTA			242
Query 268	GCACGCTCTACTGTTGTGCCTTTGTTAG-GTAACTGGTTGAGATGCTATTGCTGTCCGT			326
Sbjct 243	GCACGCTCTACTGTTGTGCCTTTGTTAGTAACTGGTTGAGATGCTATTGCTGTCCGT			302
Query 327	CCAATCATGATCACCTACTATGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAAT			383
Sbjct 303	CCAATCATGATCACCTACTATGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAAT			359

Jijelc

Calicophoron microbothrium isolate P1 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [gb|GU735639.1](#) Length: 359 Number of Matches: 1
Related Information
Range 1: 23 to 359 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score		Expect		Identities
601 bits(325)		1e-168		334/338(99%)
Query 28	CCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGCTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCG			87
Sbjct 23	CCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGG-TCGGCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCG			81
Query 88	TGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTTCGCCACGTGAGGTGCCAGA			147
Sbjct 82	TGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTTCGCCACGTGAGGTGCCAGA			141
Query 148	TCTATGGCGTTTTCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCGCAGACGAG			207
Sbjct 142	TCTATGGCGTTTTCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCGCAGACGAG			201
Query 208	GGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTACTGTTGTGC			267
Sbjct 202	GGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTGACTGTAATGGTAGCACGCTCTACTGTTGTGC			261
Query 268	CTTTGTTAG-GTAACTGGTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCGAATCATGATCACCTACT			326
Sbjct 262	CTTTGTTAGTAACTGGTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCGAATCATGATCACCTACT			321
Query 327	ATGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAAT	364		
Sbjct 322	ATGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAAT	359		

Jijela

Calicophoron microbothrium isolate P1 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [gb|GU735639.1](#) Length: 359 Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 19 to 359 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score		Expect		Identities
612 bits(331)		7e-172		338/341(99%)
Query 28	TTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCAGCAGCCCAAAAAG			87
Sbjct 19	TTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCAGCAGCCCAAAAAG			78
Query 88	TCGTGGCTTGGAACTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCCGCCACGTGAGGTGCC			147
Sbjct 79	TCGTGGCTTGGAACTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCCGCCACGTGAGGTGCC			138
Query 148	AGATCTATGGCGTTTTCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCGCAGAC			207
Sbjct 139	AGATCTATGGCGTTTTCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCGCAGAC			198
Query 208	GAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTACTGTTG			267
Sbjct 199	GAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTGACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTG			258
Query 268	TGCCTTTGTTAG-GTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCT			326
Sbjct 259	TGCCTTTGTTAGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCT			318
Query 327	ACTATGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAAT	367		
Sbjct 319	ACTATGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAAT	359		

Alignement séquences en annexe

Résultat détaillé, des 11 espèces de paramphistome, affiché par l'outil BLASTN ; chaque espèce proposée par BLASTN, est accompagnée de son score(s), de sa E-value (E), et de son pourcentage d'identité (%ident).

>Td 428pb.

GCACATTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCC
CAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGAT
CTATGGCGTTTTCTTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTA
GAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTTGAG
ATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTGTGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTG
AATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

XX

C.daubneyi gi|55775573|gb|AY790883.1| 5.8 S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence S=654, E= 0.0, %ident=100

TGAATTAATGTGAACTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTCC
TGTGGCCACGCCGTGCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTG
CCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTCTTAATGTCTCC
GGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAA
TGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCA
TGATCACCTACTGTGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT
CA

XX

XX

>Sb 428 nucleotides.

TGAACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACG
ACGCCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGC
CAGATCTATGGCGTTTTCTTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGG
CGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGT
TTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTGTGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAG
ACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

XX

>C.daubneyi gi|55775573|gb|AY790883.1| 5.8 S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence S=664, E= 0.0, %ident=100

TGAATTAATGTGAACTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTCC
TGTGGCCACGCCGTGCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTG
CCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTCTTAATGTCTCC
GGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAA
TGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCA
TGATCACCTACTGTGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT
CA

XX

XX

>Tc 428 nucleotides.

TTTGAACATCGACATCTTGAACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCCG
GCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGG
TTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTCTTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAG
CACAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCC
TTTGAATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTGTGGTGTCTGTT
ACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

XX

>C.daubneyi gi|55775573|gb|AY790883.1| 5.8 S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence S=695, E= 0.0, %ident=100

TGAATTAATGTGAACTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTCC
TGTGGCCACGCCGTGCCGAGGGTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTG
CCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTCTTAATGTCTCC
GGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAA
TGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCA

TGATCACCTACTGTGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT
CA

XX
XX

>Tb 428 nucleotides.

AACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTTCGGCTTATAAACTATCACGAC
GCCCCAAAAGTCGTGGCTTGGAACTCGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCCGCCACGTGAGGTGCCA
GATCTATGGCGTTTTTCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCG
GTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTT
GAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTGTGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGAC
GTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

XX

>C.daubneyi gi|55775573|gb|AY790883.1| 5.8 S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal
transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence S=660,
E= 0.0, %ident=100

TGAATTAATGTGAACTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTTC
TGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCAAAAGTCGTGGCTTGGAACTCTG
CCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTTCCTAATGTCTCC
GGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAA
TGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTTGAAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCA
TGATCACCTACTGTGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT
CA

XX
XX

>Jd 428 nucleotides.

GGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCAAAAGTC
GTGGCTTGGAACTCGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGT
TTTTCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGG
CTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTTGAAGATGCTATTG
CTGTCCGTCCAATCATGATCACTTACTGTGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGC
TGAACTTAAGCATATCA

XX
XX

>C.daubneyi gi|55775573|gb|AY790883.1| 5.8 S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal
transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence S=632,
E=5⁻¹⁷⁸, %ident=99

TGAATTAATGTGAACTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTTC
TGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCAAAAGTCGTGGCTTGGAACTCTG
CCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTTCCTAATGTCTCC
GGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAA
TGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTTGAAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCA
TGATCACCTACTGTGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT
CA

XX
XX

>Ta 428 nucleotides.

CTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTG
TCCGAGGGTTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCAAAAGTCGTGGCTTGGAACTCGCCAGCTGGCGTGAT
TTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTTCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGT
CTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCT
GCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTTGAAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTGT
GGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATC

XX

>C.daubneyi gi|55775573|gb|AY790883.1| 5.8 S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal
transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence S=71,
E= 0.0, %ident=100

TGAATTAATGTGAACTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTTC
TGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCAAAAGTCGTGGCTTGGAACTCTG

CCAGCTGGCGTGATTTCCCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTCCCTAATGTCTCC
GGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAA
TGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCA
TGATCACCTACTGTGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT
CA

XX
XX

>Cc 428 nucleotides.

CCTGGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCAA
AAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCCCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTA
TGGCGTTTTCCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAG
TCGTGGCTCAgTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTTGAGATG
CTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTGTGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAAT
ACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

XX

>C.daubneyi gi|55775573|gb|AY790883.1| 5.8 S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal
transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence S=649,
E=0.0, %ident=100

TGAATTAATGTGAACTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTCC
TGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTTCGGCTTATAAACTATCACGACGCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTG
CCAGCTGGCGTGATTTCCCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTCCCTAATGTCTCC
GGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCACAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAA
TGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGAATGGTAACTGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCA
TGATCACCTACTGTGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT
CA

XX
XX

>Sa 428 nucleotides.

AACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTTCGGCTTATAAACTATCACGAC
GCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCCCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCA
GATCTATGGCGTTTTCCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCGCAGACGAGGGTGTGGCG
GTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTACTGTTGTGCCTTTGTAGTGTAACGGTTT
GAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTATGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGAC
GTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

XX

>C.microbothrium gi|311707255|gb|GU735655.1| isolate P17 5.8S ribosomal RNA gene, partial
sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence;and 28SribosomalRNA gene,
partialsequence S=601,E=1°-168 %ident=

GCACATTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTTCGGCTTATAAACTATCACGACGCC
CAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCCCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGAT
CTATGGCGTTTTCCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCGCAGACGAGGGTGTGGCGGTA
GAGTCGTGGCTCAGTTGACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGTTAGTGTAACGGTTTGA
GATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTATGGTGTCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGT
GAAT

XX
XX

>Sd 428 nucleotides.

TGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGG
TCGGCTTATAAACTATCACGACGCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCCCTCTG
TGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGATCTATGGCGTTTTCCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGG
TAGCGCAGACGAGGGTGTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTACTGTTGT
GCCTTTGTTAGGTAACGGTTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTATGGTGTCTG
GTTACCTGACCTCGGATCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

XX

>C.microbothrium gi|311707255|gb|GU735655.1| isolate P17 5.8S ribosomal RNA gene, partial
sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence;and 28SribosomalRNA gene,
partialsequence S=641,E=0.0 ident=99

GCACATTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTTCGGCTTATAAACTATCACGACGCC
CAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCCCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGAT
CTATGGCGTTTTCCCTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCGCAGACGAGGGTGTGGCGGTA

GAGTCGTGGCTCAGTTGACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGTTAGTGTAAC TGGTTTGA
GATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTATGGTGTTCCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGT
GA

XX
XX

>Jc 429 nucleotides.
TGAACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGCTCGGCTTATAAACTATCAC
GACGCCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTG
CCAGATCTATGGCGTTTTCTTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCGCAGACGAGGGTGTG
GCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTACTGTTGTGCCTTTGTTAGGTAAC TGG
TTTGAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTATGGTGTTCCTGTTACCTGACCTCGGATCA
GACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

XX

>C.microbothrium gi|311707255|gb|GU735655.1| isolate P17 5.8S ribosomal RNA gene, partial
sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene,
partial sequence S=601, E=1⁻¹⁶⁸ %ident=99
GCACATTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTTCGGCTTATAAACTATCACGACGCC
CAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGAT
CTATGGCGTTTTCTTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCGCAGACGAGGGTGTGGCGGTA
GAGTCGTGGCTCAGTTGACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGTTAGTGTAAC TGGTTTGA
GATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTATGGTGTTCCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGT
GA

XX
XX

>Ja 428 nucleotides
CTCTTGAACGCACATTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTTCGGCTTATAAACTAT
CACGACGCCCAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAG
GTGCCAGATCTATGGCGTTTTCTTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCGCAGACGAGGGT
GTGGCGGTAGAGTCGTGGCTCAGTTAACTGTAATGGTAGCACGCTCTACTGTTGTGCCTTTGTTAGGTAAC
TGGTTTGAAGATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTATGGTGTTCCTGTTACCTGACCTCGGA
TCAGACGTGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

XX

>C.microbothrium gi|311707255|gb|GU735655.1| isolate P17 5.8S ribosomal RNA gene, partial
sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene,
partial sequence S=612, E=7⁻¹⁷², ident=99
GCACATTGCGGCCACGGGTTTTCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTTCGGCTTATAAACTATCACGACGCC
CAAAAAGTCGTGGCTTGAATCTGCCAGCTGGCGTGATTTCTCTGTGGTTCGCCACGTGAGGTGCCAGAT
CTATGGCGTTTTCTTAATGTCTCCGGACACAACCGCGTCTTGCTGGTAGCGCAGACGAGGGTGTGGCGGTA
GAGTCGTGGCTCAGTTGACTGTAATGGTAGCACGCTCTGCTGTTGTGCCTTTGTTAGTGTAAC TGGTTTGA
GATGCTATTGCTGTCCGTCCAATCATGATCACCTACTATGGTGTTCCTGTTACCTGACCTCGGATCAGACGT
GA