

INFLUENCE DE L'ANHYDROBIOSE SUR L'INFESTATION DE *BIOMPHALARIA GLABRATA* PAR UN MIRACIDIUM DE *SCHISTOSOMA* *MANSONI*

FÉLIX LANCASTRE*, MARC VIANEY-LIAUD**, GÉRARD COUTRIS***,
JOSIANE BOLOGNINI-TRENEY*, GENEVIÈVE MOUGEOT* & JEAN-PIERRE OUAGHLISSI*

*Laboratoire de Parasitologie and ***Laboratoire de Biophysique, Faculté de Médecine Saint-Antoine, 27 rue Chaligny 75571 Paris Cedex 12, France **Laboratoire de Génétique, Institut des Sciences de l'Evolution, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Place Eugène Bataillon, 34060 Montpellier Cedex, France

The influence of anhydrobiosis on the infection of *Biomphalaria glabrata* with one miracidium of *Schistosoma mansoni* – 410 *Biomphalaria glabrata* (Caribbean strain of Guadeloupe) have been infected with one miracidium of *Schistosoma mansoni*, 110 snails, used as controls have been kept into water; the survival rate was 96.4% after 4 weeks and 25.4% produced cercariae. 300 snails were kept on wet soil, and submitted for 6 weeks to progressive desiccation. The survival rate was 23.4% but only 9 of them produced cercariae.

Periodic variations of the production of male and female larvae have been shown by the weekly test of the cercariae productions.

In previously desiccated snails, the production of male and female cercariae is similar while in controls the production of female larvae is more important.

In experimental snails, the larval development seems to be stopped during anhydrobiosis. The production of cercariae is just delayed for the length of the dry keeping.

Key words: *Biomphalaria glabrata* – *Schistosoma mansoni* – monoinfection – desiccation
larval development – periodic variations – cercarial production

Chez des *Biomphalaria glabrata* infestées par un miracidium de *Schistosoma mansoni*, on constate: 1^o) une moindre survie des planorbes hébergeant les formes larvaires femelles; 2^o) une plus grande production de cercaires femelles; 3^o) sur une durée de 14 semaines, des périodes de plus forte production de cercaires, tant mâles que femelles, survenant toutes les 4 semaines (Lancastre et al., 1984).

Le présent travail concerne l'infestation monomiracidiale et l'évolution des stades larvaires de *Schistosoma mansoni*, la production des cercaires, ainsi que la survie des *Biomphalaria glabrata* lorsque celles-ci sont soumises à plusieurs semaines d'anhydrobiose.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les *Biomphalaria glabrata* (*B.g.*) et les *Schistosoma mansoni* (*S.m.*) (souche Jacqueline) sont élevés au laboratoire depuis 1978, à partir de souches originaires de la Guadeloupe (Antilles françaises). 410 *B.g.* adultes (diamètre $10,0 \pm 2,0$ mm) ont été infestées individuellement par un miracidium de *S.m.*

Une semaine après l'infestation, 300 mollusques ont été placés dans des boîtes en plastique, contenant 150ml de terre humide provenant

d'un étang forestier du centre de la France, et fermées par un couvercle percé de plusieurs trous de 1 mm de diamètre. Ces planorbes constituaient le groupe *B.g.* TERRE. Les planorbes posées à la surface de la terre sont restées exposées pendant 6 semaines à une dessiccation progressive. Elles ont ensuite été placées dans des boîtes contenant de l'eau et de la laitue fraîche. Après 24 heures, les survivantes ont été testées pour émission de cercaires dans des tubes de Borrel contenant 5 ml d'eau. Ces tests, réalisés sous une intensité lumineuse de 2000 lux, ont été répétés chaque semaine pendant 14 semaines.

Les 110 autres planorbes infestées étaient mises dans des boîtes contenant 150 ml d'eau, nourries avec de la laitue, et testées à partir de la 3^{ème} semaine après leur infestation, pendant 14 semaines également. Ces planorbes constituaient le groupe témoin dénommé *B.g.* EAU.

Pour la détermination du sexe des *S.m.*, les cercaires recueillies lors des émissions hebdomadaires ont été dénombrées, puis ont servi à l'infestation de 2 souris "Swiss" mâles pour chaque mollusque infesté.

Pendant toute la durée des observations, la température de l'eau a été de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, le degré hygrométrique au niveau des boîtes a varié de 80% à 60%, et la photopériode était 12/12 heures.

Nous avons utilisé le test du "log rank" de Mantel pour l'étude comparée des taux de survie, celui de Wilcoxon pour les comparaisons des séries d'émissions cercariennes, et l'analyse de variance pour la comparaison des moyennes des émissions.

RÉSULTATS

Pour chacun des groupe "B.g. EAU" et "B.g. TERRE" nous avons enregistré chaque semaine les données concernant la survie des planorbes, leur positivité (émission de cercaires) ou leur négativité, le sexe des cercaires émises, le nombre d'émissions pour chaque sexe, et le nombre

moyen de cercaires par émission selon le sexe (Tableaux I et II).

Mollusques du "groupe B.g. EAU" (= témoin).

Des 110 planorbes de ce groupe, 106 (96,36%) ont survécu à la 4ème semaine, date du début des tests positifs, et 28 (25,45%) se sont révélées positives, dont 25 à la 4ème semaine et 1 respectivement aux 6ème, 7ème et 8ème semaines après l'infestation. Le pourcentage de 25,45% de mollusques positifs est tout à fait analogue aux 22,90% dans un couple homopatrique de B.g.-S.m. brésiliens (Lancastre et al., 1984).

TABLEAU I

Survie, positivité et émissions cercariennes après infestation monomiracidiale de *Schistosoma mansoni* chez *Biomphalaria glabrata* élevées en eau (B.g. EAU)

Semaines	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
<i>B. glabrata</i> survivantes	106	103	103	102	102	95	91	89	87	86	84	82	81	81
<i>B. glabrata</i> négatives	78	75	75	75	75	75	75	74	74	74	74	74	74	74
<i>B. glabrata</i> positives	28	28	28	27	27	20	16	15	13	12	10	8	7	7
Nombre d'émissions	2	24	25	26	25	15	15	12	11	4	9	6	6	4
Nombre de cercaires par émission	17,5	231,4	445,6	295	366,8	93,3	63,7	40,8	103,2	80	58,9	28,3	10	12,5

TABLEAU II

Survie, positivité et émissions cercariennes après infestation monomiracidiale de *Schistosoma mansoni* chez *Biomphalaria glabrata* soumises à la dessiccation durant 6 semaines (B.g. TERRE)

Semaines	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
<i>B. glabrata</i> survivantes	62	62	61	58	58	55	53	52	50	50	50	50	50	50
<i>B. glabrata</i> négatives	53	53	52	52	52	50	49	49	48	48	48	48	48	48
<i>B. glabrata</i> positives	9	9	9	6	6	5	4	3	2	2	2	2	2	2
Nombre d'émissions	6	6	3	6	5	5	4	2	2	2	1	1	1	1
Nombre de cercaires par émission	59,2	26,7	33,3	1100	965	560	155	37,5	600	550	15	50	20	50

Sur les 28 planorbes positives, 16 émettaient des cercaires femelles et 12 des mâles, la différence n'étant pas statistiquement significative. Comme en 1984 (Lancastre et al.) nous avons observé une différence très nette entre la survie des mollusques restés négatifs et celle des mollusques positifs ($p < 0,001$), et également entre les planorbes à émissions de cercaires mâles (plus résistantes) et celles hébergeant des formes larvaires femelles ($p < 0,01$ au test du log rank de Mantel). De même, il existe pour les cercaires des deux sexes de plus fortes émissions aux 6, 8, 10, 12 et 14èmes semaines, soit une semaine sur deux (Tableau III).

Sur les 14 semaines d'observation, il y a eu 93 émissions mâles (moyenne : 90 cercaires) et 91 émissions femelles (moyenne : 333 cercaires). Le test statistique de Wilcoxon appliqué à ces deux séries appariées d'émissions cercariennes, montre une différence significative ($p < 0,05$), ce que confirme la plus grande productivité des formes larvaires femelles.

Mollusques du groupe "*B.g.* TERRE" (= expérimental)

Sur les 300 *B. glabrata* soumises à la dessiccation progressive, 71 (23,66%) ont survécu au bout de 6 semaines, et 9 (3%) ont émis des cercaires. Au moment de la remise en eau, les planorbes étaient rétractées et occupaient le tiers environ de leur coquille. Cinq des mollus-

ques ont émis des cercaires femelles, et 4 des mâles, mais la survie des planorbes à cercaires femelles n'a pu être comparée à celle des *B.g.* parasitées par des larves mâles étant donné leur faible nombre. Les émissions de cercaires mâles apparaissent en moyenne un peu plus importantes que les émissions femelles, avec 444 cercaires mâles contre 378 femelles, mais la comparaison des moyennes ne montre pas de différence significative. Comme pour le groupe témoin, la survie des planorbes négatives est très supérieure à celle des planorbes positives ($p < 0,001$) (Tableau IV).

La production des planorbes parasitées par les schistosomes femelles est semblable à celle des homologues du groupe témoin mais les mollusques hébergeant des formes larvaires mâles émettent 5 fois plus de cercaires en moyenne que ceux du groupe témoin (444 contre 90). La différence est significative à $p < 0,001$.

Pour les deux sexes, nous avons observé des pics aux 7 et 8èmes semaines, et aux 12ème et 14ème semaines pour les cercaires femelles.

La production moyenne de cercaires par émission a été plus importante dans ce groupe que chez les *B.g.* gardées en eau (399 cercaires contre 210), mais l'étude statistique de ces moyennes n'a pas montré de véritable différence, étant donné le faible nombre des émissions des mollusques positifs après dessiccation et remise en eau.

TABLEAU III

Survie des planorbes positives du groupe témoin (*B.g.* EAU) et émissions des cercaires mâles et femelles de *Schistosoma mansoni*

Semaines	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
<i>B. glabrata</i> survivantes à cercaires ♀	16	16	16	15	15	9	7	6	5	4	3	2	1	1
Nombre d'émission ♀	1	14	15	15	13	7	7	6	4	3	3	2	1	0
Cercaires par émission ♀	20	339,6	594	375	556,1	145,7	79,3	65,8	225	105	146,7	75	25	0
<i>B. glabrata</i> à cercaires ♂	12	12	12	12	12	11	9	9	8	8	7	6	6	6
Nombre d'émissions ♂	1	10	10	11	12	8	8	6	7	1	6	4	5	4
Cercaires par émission ♂	15	80	223	185,9	161,7	47,5	50	15,8	33,8	5	15	5	7	12,5

TABLEAU IV

Survie des planorbes positives après anhydrobiose (*B. g.* TERRE) et émissions des cercaires mâles et femelles de *Schistosoma mansoni*

Semaines	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
<i>B. glabrata</i> survivantes à cercaires ♀	5	5	5	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2
Nombre d'émissions ♀	4	4	2	3	3	3	2	2	2	2	1	1	1	1
Cercaires par émission ♀	20	25	37,5	650	1253,3	908,3	272,5	37,5	600	550	15	50	20	50
<i>B. glabrata</i> survivants à cercaires ♂	4	4	4	3	3	3	2	1	0	0	0	0	0	0
Nombre d'émissions ♂	2	2	1	3	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Cercaires par émission ♂	137,5	30	25	1550	532,5	37,5	37,5	0	0	0	0	0	0	0

DISCUSSION

On sait depuis les observations d'Archibald au Soudan (1933), de Gordon et al. en Sierra Leone (1934), de Barlow en Egypte (1933, 1935) et de Brumpt en Guadeloupe (1941) que les mollusques hôtes intermédiaires de *S.m.* peuvent survivre plusieurs semaines, sinon plusieurs mois, aux conditions de dessèchement progressif et total de leur biotope. Le pourcentage de mollusques trouvés positifs par ces auteurs est extrêmement variable, mais le plus souvent nul. Sturrock (1970), à Sainte-Lucie, avait montré que les planorbes adultes résistaient beaucoup plus que les jeunes à des périodes d'assèchement importantes, et qu'un taux d'humidité relative élevé (90%) est un facteur favorable. Pointier & Combes (1976), en Guadeloupe, ont fait la même constatation pour divers mollusques dulçaquicoles sauvages, dont *B.g.* Au Brésil, Pieri et al. (1980), étudiant la survie de planorbes adultes placées sur du sable recouvert d'eau, et soumises à un dessèchement progressif, ont observé 79% de survivants après 20 jours de dessiccation. En 1986, nous avons démontré expérimentalement que des *B.g.* immatures et adultes, placées hors de l'eau et soumises à des taux d'humidité relative de 100% pouvaient survivre au moins 6 semaines (Vianey-Liaud & Lancaster, 1986 a et b). Néanmoins, pour la présente étude des mollusques parasités, nous avons utilisé des adultes résistant mieux à des conditions d'hygrométrie de 80 à 60%.

La résistance à l'estivation de *B. glabrata* est probablement fonction de souches adaptées

(Olivier, 1956; Richards, 1967), mais aussi de facteurs de comportements de recherche de milieux refuges (Pointier & Combes, 1976). Pour ce que concerne *S.m.*, les travaux de Barbosa & Barbosa (1958) et de Richards (1967) suggèrent que seuls les sporocystes du trématode peuvent entrer en "dormance" et ainsi survivre en anhydrobiose. En effet, les planorbes infestées expérimentalement ou récoltées dans la nature, et qui ont survécu à l'estivation, n'émettent de cercaires qu'après 10 à 30 jours de récupération en eau. Ces délais correspondent à la période prépatente de l'infestation, c'est-à-dire au temps nécessaire au développement des premiers stades larvaires pour aboutir aux cercaires, selon la plupart des auteurs cités par Anderson & May (1979).

Tous les mollusques observés par les auteurs cités ayant été infestés par un nombre inconnu de miracidiums, il n'est pas possible de savoir si une infestation polymiracidiale est nécessaire pour permettre la survie de certains sporocystes, ou encore si la survie de sporocystes I provenant d'un seul miracidium est normalement possible lorsque le mollusque hôte est en anhydrobiose.

Le délai de 1 semaine que nous-mêmes avons choisi entre l'infestation et le début de la dessiccation est juste suffisant pour le développement du sporocyste I. Ce développement est interrompu pendant l'estivation des planorbes. Le délai de 4 semaines entre la fin de l'estivation et les premières émissions de cercaires correspond à la reprise du développement larvaire

et à son accomplissement. La durée des transformations larvaires chez le mollusque hôte ne semble donc pas être modifiée par rapport à une infestation normale. Cependant, pour les planorbes soumises à l'anhydrobiose, et se révélant positives, nous avons observé des interruptions dans les émissions cercariennes, suivies, une semaine plus tard, de fortes émissions chez les mollusques concernés par ces pauses. Par exemple, 6 planorbes sur 9 n'ont pas émis à la 6ème semaine suivant la remise en eau (3ème semaine de positivité). Ces pauses dans la productivité cercarienne sont moins nombreuses dans le groupe témoin *B.g.* EAU pour lequel l'hôte reste continuellement dans l'eau.

L'infestation prépatente, par 1 miracidium de *S.m.*, de *B.g.* soumises à des conditions rigoureuses de déshydratation, n'interdit pas la survie des mollusques, que ceux-ci demeurent ou non parasités. La mise en anhydrobiose des *B.g.* porteuses de stades immatures (sporocystes 1) de *S.m.* permet le maintien du trématode, bien que dans notre expérience le bilan de 9 *B.g.* positives sur 71 survivantes (12,7%) soit significativement différent ($p < 0,05$) des 26,4% (28 positives sur 106 survivantes) obtenus chez les témoins maintenus dans les conditions habituelles du laboratoire.

RÉSUMÉ

Influence de l'anhydrobiose sur l'infestation de *Biomphalaria glabrata* par un miracidium de *Schistosoma mansoni* – Sur 410 *B. glabrata* infestées par 1 miracidium de *S. mansoni*, 300 ont été placées dans des boîtes aérées, sur de la terre humide, et soumises à 6 semaines de dessiccation progressive. Au terme de l'expérience, il y avait 71 survivantes (23,66%), dont 9 positives. Les 110 autres planorbes ont constitué le lot témoin, avec 106 survivantes (96,36%) à la première semaine d'apparition des cercaires. L'étude hebdomadaire des émissions cercariennes a montré des variations périodiques pour les deux sexes, une plus grande production de certaines femelles chez les témoins, mais une production de cercaires mâles ou femelles semblable chez les mollusques ayant subi l'anhydrobiose. Le faible nombre de ces derniers n'a pas permis une étude comparée significative de la survie des porteurs de formes larvaires mâles et femelles. La durée du développement du parasite chez son hôte ne semble pas modifiée si l'on tient compte de la phase d'estivation.

Mots clés: *Biomphalaria glabrata* – *Schistosoma mansoni* – monoinfestation – dessiccation – développement larvaire – variations périodiques – productions cercariennes

RESUMO

Influência da dessecação sobre a infecção de *Biomphalaria glabrata* por um miracídio de *Schistosoma mansoni* – Quatrocentos e dez *B. glabrata* (cepa de Guadelupe) foram infectadas por um miracídio de *S. mansoni*. Cento e dez caramujos, usados como controle, foram mantidos na água. A taxa de sobrevivência foi de 96,4% após quatro semanas e 25,4% eliminaram cercárias. Trezentos caramujos foram colocados sobre terra úmida e submetidos a uma dessecação progressiva durante seis semanas. A taxa de sobrevivência foi de 23,4% mas somente nove animais eliminaram cercárias.

A observação semanal da eliminação de cercárias revelou variações periódicas da eliminação de larvas machos e fêmeas. Em caramujos previamente mantidos fora da água, a eliminação de cercárias machos e fêmeas é equivalente, enquanto a eliminação de cercárias fêmeas é mais importante nos controles.

O desenvolvimento das larvas parece se deter durante a dessecação nos caramujos experimentais. A eliminação das cercárias é simplesmente atrasada de um período igual ao da dessecação.

Palavras-chave: *Biomphalaria glabrata* – *Schistosoma mansoni* – monoinfestação – dessecação – desenvolvimento de larvas – variações periódicas – produção de cercárias

REMERCIEMENTS

A Madame A. van de Moer pour avoir bien voulu traduire le résumé en portugais.

RÉFÉRENCES

- ANDERSON, R.M., & MAY, R.M., 1979. Prevalence of schistosome infections within molluscan population: observed patterns and theoretical predictions. *Parasitology*, 79 :63-94.
- ARCHIBALD, R.G., 1933. The epidemiology and epidemiology of schistosomiasis in the Sudan. *J. Trop. Med.*, 36 :345-348.
- BARBOSA, F.S. & BARBOSA, I., 1958. Dormancy during the larval stages of the trematode *Schistosoma mansoni* in snails estivating on the soil of dry natural habitats. *Ecology*, 39 :763-764.
- BARLOW, C.H., 1933. The effect of the "winter rotation" of water upon snails involved in the spread of schistosomiasis in Egypt, 1930-1931 and 1931-1932. *Am. J. Hyg.*, 17 :724-742.
- BARLOW, C.H., 1935. Further studies of the revival, after drying, of the snail hosts of the human schistosomes in Egypt. *Am. J. Hyg.*, 22 :376-391.
- BRUMPT, E., 1941. Observations biologiques diverses concernant *Planorbis (Australorbis) glabratus* hôte intermédiaire de *Schistosoma mansoni*. *Ann Parasitol.*, 18 :9-45.

- GORDON, R.M.; DAVEY, T.H. & PEASTON, H., 1934. The transmission of human bilharziasis in Sierra Leone with an account of the life-cycle of the schistosomes concerned, *S. mansoni* and *S. haematobium*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 28 :323-418.
- LANCASTRE, F.; COUTRIS, G.; BOLOGNINI-TRENEY, J.; TRAORE, L. & MOUGEOT, G., 1984 Schistosomose expérimentale. III. Observations sur l'infestation de *Biomphalaria glabrata* par un miracidium de *Schistosoma mansoni*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 59 :79-94.
- OLIVIER, L., 1956. Observations on vectors of schistosomiasis mansoni kept out of water in the laboratory. *J. Parasitol.*, 42 :137-146.
- PIERI, O.S.; RAYMUNDO, J.S. & JURBERG, P., 1980. Estudos sobre o comportamento dos planorbídeos: II. Enterramento de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) como meio de proteção contra a dessecação. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 75 :83-88.
- POINTIER, J.P. & COMBES, C., 1976. La saison sèche en Guadeloupe et ses conséquences sur la démographie des mollusques dans les biotopes à *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), vecteur de la bilharziose intestinale. *La Terre et la Vie*, 30 :121-147.
- RICHARDS, C.S., 1967. Estivation of *Biomphalaria glabrata* (Basommatophora: Planorbidae). *Am. J. Trop. Med. and Hyg.*, 16 :797-802.
- STURROCK, R.F., 1970. An investigation of some factors influencing the survival of St. Lucian *Biomphalaria glabrata* deprived of water. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 64 :365-371.
- VIANEY-LIAUD, M., & LANCASTRE, F., 1986a. Laboratory studies on the desiccation of immature stages of the freshwater snail *Biomphalaria glabrata*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 80 :257-259.
- VIANEY-LIAUD, M., and LANCASTRE, F., 1986b. Weight loss and survival of *Biomphalaria glabrata* deprived of water. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 81 :221-224.