République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences

En Sciences Vétérinaires

Thème :

Etude épidémiologique et dépistage sérologique de la fasciolose bovine au niveau des élevages de la wilaya de Boumerdes et de Reghaia

Présentée par : **Taibi amina**

Soutenue le : **26 Septembre 2019**

Les membres du jury :

Président(e) du jury: **MILLA Amel**	Professeur	E.N.S.V- Alger
Directrice de thèse : **AISSI Miriem**	Professeur	E.N.S.V- Alger
Examinateur : **MOULOUA Abdelkamel**	M.C.A	Université de Tizi-ouzou
Examinateur : **ZIAM Hocine**	M.C.A	Université de Blida
Invité d'honneur : **HARHOURA Khaled**	Professeur	E.N.S.V- Alger

Année universitaire 2018/2019

Remerciements

Ce travail est le fruit de plusieurs collaborations, pour cela je tiens à remercier tout particulièrement :

Madame **AISSI miriem**, Professeur de parasitologie et de mycologie à l'E.N.S.V. d'El Alia pour avoir accepté de m'encadrer et de m'avoir accordé toute sa confiance, son aide et ses encouragements durant ces sept longues années.

A notre présidente de jury, le professeur **Milla Amel**, nous vous remercions pour le grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider cette thèse.

Aux membres du jury : Dr. **Mouloua Abdelkamel** maitre de conférences A à l'université Mouloud mammeri, Dr. **Ziam Hocine** maitre de conférences A à l'université Saad dahlab et Dr. **Baroudi Djamel** maitre de conférences A à l'école nationale supérieure vétérinaire pour avoir accepté d'examiner ce travail.

A monsieur **Harhoura Khaled** Professeur à l'école nationale supérieure vétérinaire pour sa bonne humeur, sa gentillesse, sa disponibilité et pour m'avoir fait l'honneur d'être présent en ce jour important.

Je remercie également :

-Dr **Hennab mina** (Docteur vétérinaire)

-Dr **Klanmer rabeh** (Inséminateur)

-Dr **Addad salah eddine** (Docteur vétérinaire praticien)

-Dr **Amour** (Docteur vétérinaire praticien)

-Dr **El Megherbi madjid** (Docteur vétérinaire praticien)

-Monsieur **Athman** (Technicien en laboratoire et analyses C.P.M.C Mustapha pacha)

-Dr **Goumeziane** (Docteur vétérinaire à l'abattoir de Thénia)

Remerciements

- Monsieur **Saadi rachid ahmed** (Technicien au sein du laboratoire de Parasitologie et Mycologie de l'E.N.S.V. d'El Alia)

Pour leur compétence, leur dynamisme, leur disponibilité ainsi que pour leur qualité humaine et professionnelle. Vous avez suscité mon admiration. Permettez-moi donc de vous présenter ma reconnaissance et mon plus profond respect.

Je remercie tout particulièrement le Professeur **Khemmar Farida** pour m'avoir bien accueilli au sein de son laboratoire (LRZA) et avoir mis à ma disposition tout le matériel nécessaire à la réalisation de ce travail.

J'adresse mes remerciements au Professeur **Hamrioui Boussad** (Chef de service du laboratoire de parasitologie et mycologie- Mustapha pacha) et au Dr **Madani** (Chef de service du laboratoire de parasitologie et mycologie- Mustapha pacha) pour m'avoir ouvert les portes de leur service.

Au Dr. **Zait Houria** (Responsable du laboratoire de fasciolose- parasitologie C.H.U. Mustapha pacha) pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et pour m'avoir initié à la technique de Biologie moléculaire.

Dédicaces

Au terme de ce travail, je tiens à avoir une pensée tout particulière pour mon défunt père **Taibi Foudil** qui a toujours été ma source d'inspiration et ma référence en termes de bonté, d'honnêteté et de réussite, que dieu le tout puissant te compte parmi les siens dans son vaste paradis.

Je dédie se modeste travail a ma chère maman qui m'a toujours soutenu. Aucun mot ne saura te rendre hommage. J'espère t'avoir rendu un temps soit peu fière de moi.

A mon frère **Sid-Ali**, je tiens à te remercier pour ton soutien moral et physique. Je pense que tu ne pourras pas oublier ta virée dans Oued Sebaou.

A **Farah,** pour ton soutien moral et ta bonne humeur.

A **Nadia,** pour la précieuse aide que tu m'as apporté lors de la rédaction de l'article.

Et à **Assia** pour t'être investi à bras le corps lors de nos virées dans les fermes

Je tiens tout particulièrement à vous exprimer ma gratitude pour votre aide morale et physique qui a été indéfectible durant ses années de dur labeur.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Liste des abréviations

A

Ag^+ : Antigène positif
AC : Anticorps
ADN : Acide désoxyribonucleique
Ag- Ac : Antigène- Anticorps
Ag^- : Antigène négatif
AMM : Autorisation de mise sur le marché
AH : Artère hépatique
Abs : Absorbance

C

CPMC : Centre pierre et marie curie
CP : Contrôle positif
CN : Contrôle négatif
CI : Cellules Inflammatoires
CG : Capsule de Glisson
CB : Canal biliaire
Cr : Croisée
CK : Créatine Kinase

D

DO : Densité optique
DON : Densité optique nette
d : Facteur de dilution
DD : Douve dégénérée du foie
D : Débris

E

ELISA : Enzyme – linked Immuno-Sorbent Essay
ES : excrétion –sécrétion
EDTA : Ethylène diamine tétra acétique
EP : Espace péri-portal
ESM : Erreur standard à la moyenne

F

f2 : Antigène f2

G

Gamma GT : Gamma glutamyl transférase
GLDH : Glutamate déshydrogénase
GST : Glutathion S transférase
GPE : Granulocyte polynucléaire éosinophile
GPN : Granulocyte polynucléaire neutrophile
GR : Globule rouge
GI : Granulome inflammatoire

O

OMS : Organisation Mondiale de la Santé
ONM : Office nationale de météorologie

H

H : Hépatocyte
HAI : Hémagglutination indirecte
ha : hectare
Ho : Holstein

I

IFI : Immunofluorescence indirecte
IgG : Immunoglobuline de type G
IgM : Immunoglobuline de type M

K

Kv : Kilovolt

L

LRZA : Laboratoire de recherche sur les zones arides
LDH : Lactate déshydrogénase
Lo : Locale
LH : Lobule hépatique

M

mT : Température minimale
MT : Température maximale
T moy : Température moyenne
Mo : Montbéliarde
MEB : Microscope électronique à balayage

N

nm : nanomètre
NS : Non significatif
NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide (forme réduite)
NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide
No : Normande
NE : Valeur de densité optique nette

S

SC : Sous cutané
SA : Structure acellulaire
S : Sinusoïde
SEM : Scanning Electron Microscopy
SDH : Succinate déshydrogénase

Liste des abréviations

P **PCR :** Plymerase chain reaction **Po :** Per os **Pmoy :** Pluviométrie moyenne **Pa :** Pascal **p :** Probabilité	**T** **TP :** Triade portale **TF** : Tissu fibreux **TR :** Travées de Remak **TMB :** Tétramethylbenzidine **Tmoy :** Température moyenne
Q **Q2 :** Cotient pluviométrique d'Emberger	**U** **UI/L :** Unité internationale /litre
R **rpm :**Round per minute	**V** **VCL :** Veine Centro-lobulaire **VP :** Veine porte **Vs :** Versus

LISTE DES CARTES, FIGURES, PHOTOS ET TABLEAUX

Liste des cartes et des figures

Liste des cartes

Carte 1: Répartition mondiale de la fasciolose.....12
Carte 2 : Cartographie représentative des différentes zones de prélèvements.....33

Liste des figures

Figure 1: Les différents stades larvaires de *Fasciola hepatica*.....6
Figure 2 : Cycle évolutif de *Fasciola hepatica* 9
Figure 3: Représentation schématique des lésions occasionnées par les formes parasitaires chez l'hôte définitif.....19
Figure 4: Schématisation de l'organisation du tissu hépatique 28
Figure 5: Diagramme ombro-thermique de Gaussen relatif à la wilaya de Boumerdes et Reghaia.....36
Figure 6: Evaluation des taux d'anticorps anti-f2 de *Fasciola hepatica*, des proteines totales, de l'albumine et des enzymes hépatiques en réponse à l'infection parasitaire en fonction du sexe dans les deux régions d'étude.....57
Figure 7: Evaluation des taux d'anticorps anti- f2, des protéines totales, de l'albumine et des enzymes hépatiques en fonction du sexe dans les 13 fermes sélectionnées (Aà M). 58
Figure 8: Evaluation des taux d'anticorps anti-f2 de *Fasciola hepatica*, des protéines totales, de l'albumine et des enzymes hépatiques en fonction du facteur race dans les deux régions d'étude. 59
Figure 9: Evaluation des taux d'anticorps anti-f2, des proteines totales, de l'albumine et des enzymes hépatiques en fonction des races dans les 13 fermes sélectionnées (A à M).....61
Figure 10: Coupe histologique montrant la juxtaposition de lobules hépatiques et la triade portale dans un foie bovin sain récupéré à l'abattoir et utilisé comme témoin négatif coloré au Trichrome de Masson.....62
Figure 11: Coupes histologiques montrant une perturbation de l'intégrité du foie avec un leucocyte péri portal et lobulaire.....64
Figure 12: Hyperplasie du canal biliaire entouré d'une épaisse couche de tissu conjonctif fibreux. Fibrose sévère de la voie biliaire avec douve immature encapsulée et dégénérescente avec suspicion d'une structure acellulaire suggérant *F.hepatica* calcifiée.....65
Figure 13: A gauche, image macroscopique montrant des débris de *F.hepatica* dans le canal biliaire sur foie douvé et **A droite,** les détails des calcifications pathologiques observées au microscope éléctronique à balayage.....66

Liste des photos et des tableaux

Liste des photos

Photo 1: Œuf operculé de *Fasciola hepatica* 5
Photo 2 : *Galba truncatula*.....7
Photo 3: Elevage bovin situé à proximité de Oued Sebaou (La ferme E). 39
Photo 4: Elevage bovin situé dans la localité de Bordj Menael (La ferme F) 39
Photo 5: Composition du Kit IDEXX ELISA fasciolose.....43
Photo 6: Laveur de microplaque.....43
Photo 7: Agitateur et incubateur de microplaque.....43
Photo 8: Plaques à barrettes, 96 puits pour test ELISA.....43
Photo 9: Oeuf de *Fasciola hepatica* isolés après sédimentation.....50

Liste des tableaux

Tableau 1: Répartition et prévalence mondiale de *Fasciola hepatica* chez les bovins. 12
Tableau 2: Molécules actives sur *Fasciola hepatica*, posologie et délai d'attente……..25
Tableau 3 : Moyennes mensuelles de la pluviométrie, des températures minimales et maximales de la wilaya de Boumerdes. 35
Tableau 4: Moyennes mensuelles de la pluviométrie, des températures minimales et maximales de la wilaya d'Alger (Reghaia).....35
Tableau 5: Nombre de prélèvements effectués dans les deux zones d'études en fonction du sexe.....38
Tableau 6: Nombre de prélèvements effectués dans les deux zones d'études en fonction des races.....38
Tableau 7 : Constituants du Kit IDEXX…….Annexe 1
Tableau 8 : Les réactifs intervenants dans le dosage des protéines totales……Annexe 2
Tableau 9 : Protocol de dosage des protéines totales……..44
Tableau 10 : Les réactifs intervenants dans le dosage de l'albumine……..Annexe 2
Tableau 11 : Protocol de dosage de l'albumine…….....45
Tableau 12 : Les réactifs intervenants dans le dosage de la PAL……...Annexe 2
Tableau 13 : Les réactifs intervenants dans le dosage de la Gamma GT……Annexe 2
Tableau 14 : Les réactifs intervenants dans le dosage de l'ASAT……..Annexe 2
Tableau 15 : Les réactifs intervenants dans le dosage de l'ALAT…….Annexe 2
Tableau 16 : Taux d'infestation des bovins à *Fasciola hepatica* dans les deux régions étudiées…….50
Tableau 17 : Prévalence de l'infestation à *Fasciola hepatica* dans les 13 fermes (A à M) en fonction de l'âge, du sexe et de la race…….52
Tableau 18 : Analyse des différences entre les modalités (coprologie, race et sexe) en fixant le variable dépendante (anticorps anti-f2) et explicative (âge)……53
Tableau 19 : L'expression des paramètres sérologiques après l'infestation à *Fasciola hepatica* en fonction de l'âge dans les fermes et au sein des deux régions……..56

Table des matières

Table des matières

Introduction……....1
Chapitre 1 : La distomatose à *Fasciola hepatica*……..3
I - Historique 3
I -1 Systématique de Fasciola (La grande douve) 3
I -2 Description de la forme adulte du parasite 3
I -3 Morphologie des différents stades évolutifs de *Fasciola hepatica* 4
I - 3.1 L'œuf 4
I - 3.2 Le miracidium 5
I - 3.3 Le sporocyste 5
I - 3.4 La rédie 5
I - 3.5 La cercaire 6
I - 3.6 La métacercaire 7
I -4 Systématique de *Galba truncatula* 7
I - 4.1 Présentation du mollusque « *Galba truncatula* » 7
I - 4.2 L'habitat 8
II - Cycle biologique 10
II -1 Phase interne : dans l'hôte définitif 10
II -2 Phase externe : passage par le milieu extérieur et l'hôte intermédiaire 10
III - Epidémiologie de la fasciolose 11
III -1 Epidémiologie descriptive 11
III - 1.1 Prévalence et répartition géographique de *F. hepatica* 11
III - 1.2 Les espèces affectées 13
III -2 Epidémiologie analytique 13
III - 2.1 Source de parasites 13
III - 2.2 Résistance des parasites 14
III - 2.3 Mode d'infestation 14
III - 2.4 Causes favorisantes 15
III -3 Epidémiologie synthétique 16
IV - Impact économique et sanitaire de la fasciolose 16
V - Symptomatologie et évolution de la maladie 17
V -1 La forme aigue 17
V -2 La forme subaiguë 18
V -3 La forme chronique 18
VI - Lésions 18
VII - Diagnostic 20
VII -1 Chez l'hôte intermédiaire 20
VII -2 Chez l'hôte définitif 20
VII - 2.1 Diagnostic anté-mortem 20
VII - 2.2 Diagnostic post-mortem 24
VIII - Traitement 24

Table des matières

IX - Prévention et contrôle.....25
IX -1 Prophylaxie médicale.....26
IX - 1.1 La vaccination.....26
IX -2 Prophylaxie sanitaire.....26
IX - 2.1 Mesures offensives.....27
IX - 2.2 Mesures défensives.....27
Chapitre 2: Exploration de la fonction hépatique.....28
I - Généralités.....28
II - Les parasitoses à localisation hépatique.....29
III - Les biomarqueurs.....29
III -1 Protéines totales.....30
III -2 Albumine.....30
III -3 Globulines.....30
III - 3.1 Les alpha globulines.....30
III - 3.2 Les béta globulines.....30
III - 3.3 La gamma globuline.....30
IV - Les indicateurs d'une atteinte hépatocellulaire.....31
IV -1 La transaminase glutamopyruvique (TGP) ou Alanine aminotransférase (ALAT)...31
IV -2 La transaminase glutamo-oxaloacétique (TGO) ou Aspartate aminotransférase (ASAT).....31
V - Les indicateurs de cholestase.....31
V -1 La phosphatase alcaline (PAL).....31
V -2 La gamma glutamyl transferase (ɣGT).....31
Chapitre 3: Materiel et méthodes.....33
I - L'objectif.....33
II - Présentation de la zone d'étude.....33
II -1 Boumerdes (36° 46'00N3° 28' 00 E).....34
II -2 Reghaia (36° 44'00N 3°21'00 E).....34
II -3 La couverture végétale.....34
II -4 Les paramètres climatiques.....34
III – Echantillonnage.....37
IV - Prélèvements.....40
V - Analyses coprologiques.....40
V -1 Méthode de sédimentation.....40
VI - Analyse immuno- enzymatique (test ELISA).....41
VII - Analyses biochimiques (Kit BIOLABO).....44
VII -1 Les protéines totale (PT).....44
VII -2 L'albumine.....45
VII -3 La phosphatase alcaline (PAL).....45
VII -4 La Gamma glutamyl transférase (ɣGT).....46
VII -5 Alanine aminotransférase/ le glutamate pyruvate transaminase (ALAT/TGP).....46
VII-6 Aspartate amino transférase ou transaminase glutamique- oxaloacétique (ASAT/TGO).....47

Table des matières

VIII - Analyses histologiques.....47
IX - Observation au microscope électronique à balayage (MEB).....49
X - Etude statistique 49
Chapitre 4: Résultats.....50
I - Analyse coprologique 50
II - La sérologie.....50
III - Analyse biochimique.....53
IV - Le facteur sexe.....57
V - Le facteur race 59
VI - Les modifications macroscopiques.....62
VII - Les altérations microscopiques.....62
Chapitre 5: Discussion.....68
I - Le facteur âge.....70
II - Le facteur sexe.....72
III - Le facteur race.....74
IV - Histologie.....76
Conclusion et recommandations.....79
Références bibliographiques.....80
Annexe 1
Annexe 2
Fiche de renseignements (*Fasciola hepatica*)
Résumé

INTRODUCTION

Introduction

La fasciolose est une helminthose à caractère zoonotique causée par un trématode hermaphrodite nommé *Fasciola hepatica*. Ce parasite se définie comme étant histophage à l'état immature et hématophage dans les voies biliaires à l'état adulte (Messaoudene, 2012).

Nombreuses sont les appellations données à la fasciolose telles que la distomatose hépatique, distomatose hépatobiliaire, anémie vermineuse, anémie d'hiver ou encore pourriture du foie. La distomatose hépatobiliaire est une parasitose qui atteint de nombreux mammifères domestiques et sauvages y compris l'homme (Miraton, 2008).

L'évolution de cette parasitose nécessite la présence obligatoire et systématique de deux hôtes : un hôte définitif qui s'infecte en consommant de l'eau ou en ingérant des aliments contaminés par des métacercaires (forme infestante de *Fasciola hepatica*) et d'un hôte intermédiaire qui est représenté par un mollusque gastéropode pulmoné d'eau douce nommé : *Galba truncatula* (Wele, 1998).

Les lésions provoquées par ce parasite dans le parenchyme hépatique engendre d'importante pertes économiques considérables du vivant de l'animal telle que la perte en poids corporel, chute de la production laitière et de laine (Bussiéras et chermette, 1995), mais également lors des saisies de foies aux abattoirs.

De répartition mondiale, elle présente des prévalences variables d'un pays à l'autre : en Californie la prévalence de cette parasitose est estimée à 52.7% (Briskey et *al*., 1994), au Chili >94% (Alcaino, 1985), en Belgique 12.5% (Genicot et *al* ., 1991).

L'Algérie n'est pas en reste, étant donné que les recherches effectuées dans ce sens ont révélé que cette parasitose est répandue sur tout le territoire algérien mais avec une prédominance dans les régions Nord et Nord-est. Celles-ci s'expriment avec des prévalences de 26% à Jijel, 12% à Constantine, 65% à El tarf (Bentounssi, 1999), 43.8% à Bouinan, 20.9% à Birtouta et 8.3% à Boufarik (Aissi et *al*., 2009).

L'épidémiologie de la fasciolose bovine est intimement liée aux conditions climatiques et éco-pédologiques de chaque région ou pays. En Algérie la présence de petits élevages bovins familiaux, la présence des gastéropodes sur les zones de pâturage, le manque d'éducation ou de sensibilisation du public à cette parasitose et l'absence totale de traçabilité sont autant de facteurs qui favorisent l'expansion de cette maladie.

Introduction

Aux vues des constatations faites au travers de la bibliographie, il nous a semblé judicieux d'axer notre étude dans un premier temps sur la prévalence de la fasciolose bovine au sein des fermes de deux régions à ce jour, peu ou pas explorées (Boumerdes et Reghaia) par des tests coprologiques et immuno-enzymatiques (ELISA) ainsi que l'influence des facteurs âge, sexe et race sur l'expression de la distomatose hépatique.

Dans un deuxième temps, nous consacrerons notre étude à l'effet de cette parasitose sur l'activité des enzymes hépatiques (dosages biochimiques) et nous réaliserons des coupes histologiques à partir de foie saisie à l'abattoir pour fasciolose.

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

Chapitre 1 : La distomatose à *Fasciola hepatica*

I - Historique

Les premiers œufs de *Fasciola hepatica* ont été découverts chez des momies, montrant que l'infection humaine se produisait déjà à l'époque pharaonique. En effet, *F. hepatica* a été le premier cas de douve ou de trématode signalé. Elle a été observée en France, chez le Mouton, dès 1379, par Jehan DE BRIE, Intendant des bergeries de Charles V (Deschiens et Lamy., 1957). En 1549, GABUCINUS décrivait ces vers vivant dans les vaisseaux sanguins des ovins et des caprins tout en les comparant à des graines de citrouilles, par la suite leur présence dans les canaux biliaires fut rapportée par FABER pour la première fois en 1670 qui mentionna que les ovins s'infestaient a partir des œufs. Quant a la ponte des œufs, elle a été observée en 1688 par Rédie. En 1755, NICHOLLS remarqua la calcification des canaux biliaires chez des veaux atteint de cette pathologie nommée par la suite distomatose hépatobiliaire. Le premier cas humain fut rapporté en 1760 par PALLAS. L'appellation anciennement proposée de *Fasciola hepatica* par LINEE en 1758 est a ce jour utilisée et elle reste d'actualité (Messaoudene., 2012).

I -1 Systématique de Fasciola (La grande douve)

Phylum : Platyhelmintes

Classe : Trematoda

Sous- classe : Digenea

Ordre : Prosostomata

Sous- ordre : Distomata

Famille : Fasciolidae

Genre : Fasciola

Espèce : *Fasciola hepatica* (*Linnæus, 1758*)

Fasciola gigantica

I -2 Description de la forme adulte du parasite

Fasciola hepatica ou « grande douve du foie » ; forme adulte du parasite, se présente sous forme foliacée triangulaire, de couleur brune grisâtre pouvant atteindre une taille de 30x30mm ou 20 à 30 mm de long sur 8 à 13 mm de large (Hansen et Perry, 1995). Elle

possède un tégument recouvert d'épines étroitement serrées aplaties dorso-ventralement et postérieurement lui permettant de se fixer et de se maintenir dans les canaux biliaires (Donnadieu, 2001). La partie antérieure du parasite est plus large que sa partie postérieure. L'extrémité antérieure porte une projection en forme de cône et une paire de larges épaules, la base se rétrécit en un cône dit céphalique portant la ventouse buccale dans laquelle débouchent l'orifice pharyngé et la ventouse ventrale se situant à 5 mm de l'extrémité antérieure (Guillaume, 2007).

Le tube digestif se divise en deux régions distinctes: L'intestin antérieur comprenant la bouche, le pharynx et l'œsophage et la paire de caeca intestinaux dont les diverticules latéraux sont fortement ramifiés chez la douve adulte (Fairweather et *al* ., 1999).
Les testicules et les ovaires sont également ramifiés et le pore génital se situe en avant de la ventouse ventrale, quant à l'utérus, il s'étend à travers la partie médiane du pore génital commun juste en avant du cotyle.

Les œufs mesurent environ 140x75µm et dispose d'un opercule difficilement observable (Griffiths, 1978) leur émission chez les ovins est importante compte tenu du nombre moyen émis par jour (25000 œufs/20 douves) (équivalent à la libération de 500 000 œufs par jour et par mouton) (Happich et Boray, 1969).

I -3 Morphologie des différents stades évolutifs de *Fasciola hepatica*

I - 3.1 L'œuf

L'œuf de *Fasciola hepatica* est de grande taille, il mesure environ (130-150x80µm), de forme ellipsoïdale, operculé, renfermant un contenu homogène et formé par une coque assez épaisse, lisse avec quelquefois un précipité diffus autour sous forme de halo (Guillaume, 2007).
Ils se distinguent des œufs de *Paramphistomum* part leur couleur (jaune pour *Fasciola hepatica* et vert pour *Paramphistomum)* mais également par le syncytium embryonnaire (masse de cytoplasme contenant plusieurs noyaux) qui se trouve proche de l'opercule pour *Fasciola hepatica* et en position équatoriale chez *paramphistomum spp*.

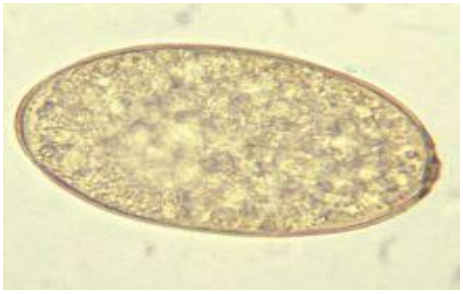


Photo 1: Œuf operculé de *Fasciola hepatica* (Millemann et *al*., 2008)

I - 3.2 Le miracidium

Embryon issu de l'œuf des plathelminthes de trématode (Euzeby et *al*., 2005). Le miracidium est une larve piriforme de 100 à 150 µm, bordée par un épiderme constitué d'au moins 21 cellules juxtaposées et ciliées. Il comporte un rostre antérieur musculeux et sensoriel richement innervé, une ébauche de tube digestif, deux pores excréteurs latéraux et deux taches oculaires sur la face dorsale (Bendiaf, 2011).

I - 3.3 Le sporocyste

Le terme désigne la première larve des trématodes faisant suite au miracidium. A ce stade le parasite arbore une couche tégumentaire syncytiale, doublée d'une couche musculaire. Il présente un orifice buccal avec parfois un orifice d'expulsion des sporocystes fils ou des rédies (Bendiaf, 2011). Certaines cellules germinatives se multiplient activement et forment des amas de cellules embryonnaires indifférenciées, le sporocyste devient alors important puis prend la forme d'un sac allongé rempli de cellules germinatives qui en se différenciant formeront par la suite les futures rédies (Dar, 2004).

Dès lors, ils migrent durant plusieurs jours à travers les tissus du gastéropode jusqu'à atteindre sa destination finale: La glande digestive de la limnée.

I - 3.4 La rédie

Troisième forme larvaire. La rédie renferme des cellules germinatives qui deviendront des rédies filles ou des cercaires.

La rédie est un sac allongé portant une bouche, un pharynx musculeux, un tube digestif simple et un orifice de ponte à l'avant. Les cellules germinales présentes dans la rédie, prolifèrent et se différencient en cercaires lorsque les conditions climatiques sont adéquates, ou en rédies filles en cas de sécheresse. Après déchirure du sac de la rédie, chaque rédie

migre vers l'hépatho-pancréas de la limnée donnant naissance à 15 cercaires qui seront libérées activement par les limnées en milieu aqueux (Zagare, 1992).

I - 3.5 La cercaire

La cercaire constitue le troisième stade larvaire formé dans la limnée. C'est une larve nageuse qui est constituée de deux grandes parties. Le corps : de forme discoïde, de 330 à 350 µm de diamètre, possédant des constituants morphologiquement semblables à la forme adulte correspondante, mais immatures d'un point de vu fonctionnel et d'un appendice caudal : deux fois plus long que le corps cercarien 600-700 µm (Euzeby, 1998). La cercaire possède une ventouse buccale située à proximité de l'extrémité antérieure du corps, et d'un acetabulum dans la moitié antérieure (Euzeby et *al.*, 2005). De plus elle présente des glandes élaboratrices d'une substance destinée à former la couche externe du stade évolutif ultérieur lorsque celle-ci se retrouve dans le milieu extérieur.

Ces dernières s'échappent du corps du mollusque et nagent à la recherche d'une plante aquatique (Cresson, pissenlit, mâche) puis elles perdent leur queue et s'enkystent sur les végétaux (Euzeby, 1971).

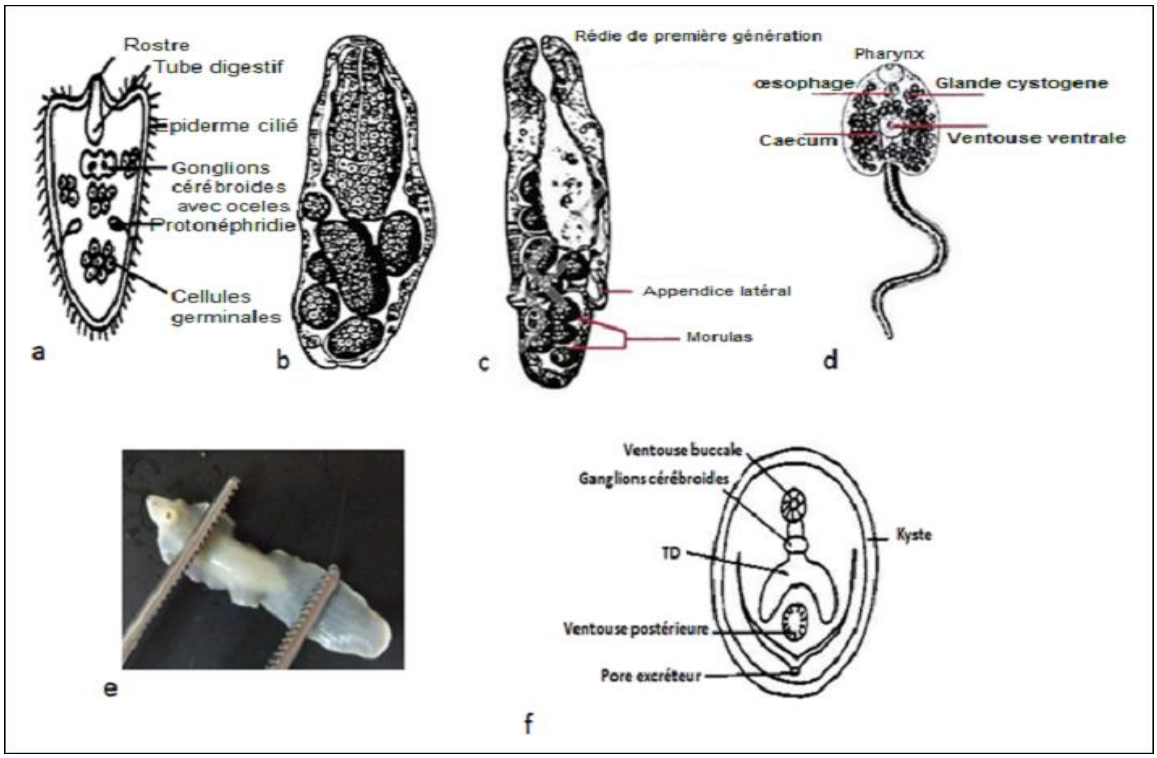


Figure 1: Les différents stades larvaires de *Fasciola hepatica* : a) Miracidium, b) Sporocyste, c) Rédie, d) Cercaire, e) *Fasciola hepatica* adulte, f) Métacercaire (Bendiaf, 2011)

I - 3.6 La métacercaire

Les métacercaires ont l'aspect de granulations sub-sphériques blanchâtres de 300 à 500µm de diamètre, leur structure est très proche de celle du corps cercarien. Elle ne possède pas de cellules kystogènes mais elle dispose par contre de glandes de pénétration dont la sécrétion joue un rôle important lors de la migration du parasite chez l'hôte définitif (Nozais et *al.*, 1996).

Il arrive que la paroi de la coque soit double. La couche de la paroi interne protège la métacercaire de l'environnement chimique pendant sa traversée dans l'estomac, le désenkystement est un processus mécanique qui entraine la formation de douves juvéniles migrant à travers le parenchyme hépatique puis atteignant les canaux biliaires donnant ainsi la forme adulte des douves (Andrews, 1999). A ce stade, on observe le développement de l'appareil génital et du tube digestif qui prennent leur aspect définitif.

I -4 Systématique de *Galba truncatula*

Règne : Animalia

Embranchement : Mollusca

Classe : Gasteropoda

Ordre : Pulmonata

S/Ordre : Basommatophora

Super famille : Lymnaeoidae

Famille : Lymnaeidae

Genre : Galba

Espèce : *Galba truncatula* (Müller, 1774)

Photo 2 : *Galba truncatula* (O.F. Muller,1774)
(www.nmr-pics.nl)

I - 4.1 Présentation du mollusque « *Galba truncatula* »

Galba truncatula ou encore appelée limnée tronquée, hôte intermédiaire de la grande douve est un gastéropode amphibien d'eau douce mesurant environ 8 à 12 mm de hauteur et possède une coquille en spirale dite en « forme de marche d'escalier », son ouverture est ovale et ne dépasse pas la moitié de sa hauteur totale (Mage, 2008). L'identification se fait comme ceci : La coquille s'enroule autour d'un axe dans le sens dextre, si l'on tient la coquille pointe

dirigée vers le haut et on l'oriente de façon à avoir l'ouverture vers soi, cette dernière est située à droite de l'axe.

Selon Vasquez, (2015), celles-ci se rencontres dans les pays tempérés, allant des zones de plaines aux régions plus montagneuses tant que ses exigences éco-pédologiques sont satisfaites (l'humidité, la lumière, la température et la nature du sol).

I - 4.2 L'habitat

Selon le professeur Chauvin (2006), les zones humides des élevages constituent les gites potentiels des limnées tronquées. Elles se multiplient sur les berges plus ou moins vaseuses dans les zones ou l'eau est stagnante, il peut s'agir de terrains humides en bordure de cours d'eau où l'eau stagne en l'absence d'écoulement ; l'insuffisance du système de drainage superficiel permet le développement des limnées sur le bord des rigoles plus ou moins effondrées. Les zones de piétinements autour des abreuvoirs représentent un autre gite potentiel pour les limnées, car lors de l'abreuvement à la mare, les empreintes immergées augmentent la surface disponible et par conséquent le développement de ces gastéropodes. D'autres zones peuvent aussi être colonisées à la faveur de conditions climatiques particulières telles que lors d'inondations. Les limnées s'y développent tant que les conditions climatiques restent favorables (Bosquet et *al*., 2007).

En effet, tel qu'il a été rapporté dans les travaux de Rondelaud et *al*., en 2009, la limnée peut coloniser tous les sites humides qui sont instables sur le plan écologique sous réserve qu'ils soient colonisés par des algues unicellulaires et qu'il n'y ait pas d'organismes antagonistes à l'exemple des prédateurs, compétiteurs et parasites. En recensant ces gîtes à limnées dans les prairies du Limousin, Vareille-Morel et *al*., (1999 ; 2007) ont montré que la plupart des habitats à limnées sont localisés à la périphérie d'un réseau hydrographique comme l'extrémité périphérique des rigoles de drainage superficiel ou encore le point d'émergence d'une source. A un niveau inférieur, ces gîtes sont généralement limités en étendue sur les berges des canaux d'évacuations. Enfin d'après les auteurs précités, *Galba truncatula* colonise souvent les fossés de route ou des chemins qui entourent les prairies permanentes.

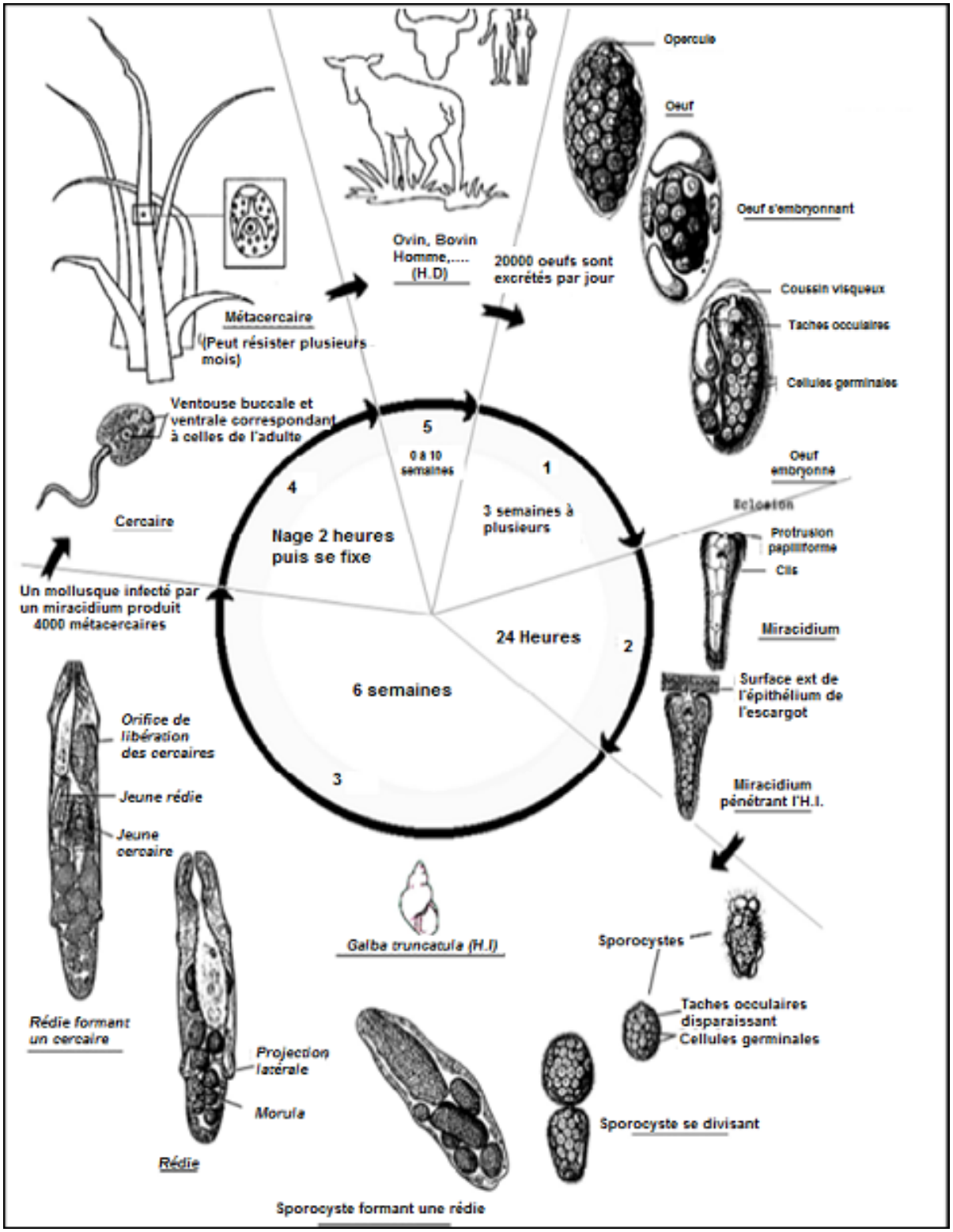


Figure 2 : Cycle évolutif de *Fasciola hepatica* (Andrews., 1999 modifié) Les phases 1,2 et 4 se déroulent dans l'environnement tandisque la phase 5 se déroule dans l'hôte définitif alors que la phase 3 à lieu dans l'hôte intermédiaire.

II - Cycle biologique

Le cycle évolutif de *Fasciola hepatica* est hétéroxène, il comprend une étape sexuée se déroulant dans le foie de l'hôte définitif (exemple: bovins) et une autre phase asexuée comprenant son évolution dans le milieu extérieur puis son développement dans les tissus de l'hôte intermédiaire (gastéropode).

II -1 Phase interne : dans l'hôte définitif

Le cycle de vie de *Fasciola hepatica* est complexe et comprend un certain nombre de stades de développement (Figure 1). Selon Miraton (2008), après ingestion d'eau ou de végétaux souillés par les métacercaires, l'enveloppe kystique de ce dernier subit une digestion libérant ainsi les douves immatures appelées « adolescaria ». Elles traversent la barrière intestinale et rejoignent la cavité péritonéale où elles migrent sur le tissu disponible et atteignent le foie en 4-6 jours post infection (Andrews, 1999). Celles-ci vont ensuite pénétrer et migrer dans le parenchyme hépatique 7 à 8 semaines creusant des galeries responsables d'hémorragies et de fibrose. Ce trajet aura pour but la colonisation des canaux biliaires (7 semaines après l'infection), une fois sur site, elles s'accrochent et se nourrissent de sang. Elles devront encore attendre 2 à 3 semaines pour devenir des douves adultes et atteindre leur maturité sexuelle. Dès lors, elles deviennent aptes à pondre des œufs et le cycle se répète (Andrews, 1999; Schmidt et Roberts, 2005). Une grande partie du corps de la douve adulte renferme les organes reproducteurs (Hanna et *al*., 2006) et chaque parasite a le potentiel de produire un grand nombre œufs par jour (Happich et Boray, 1969).

Le cycle de vie du parasite est très prolifique et la multiplication asexuée chez le gastéropode peut mener à une contamination rapide et étendue des pâturages (Schmidt et Roberts, 2005).

II -2 Phase externe : passage par le milieu extérieur et l'hôte intermédiaire

Une fois les œufs de *Fasciola hepatica* éliminés par la bile puis par les matières fécales sur les pâturages, ces derniers s'embryonnent en 9 à 10 jours quant les conditions climatiques sont adéquates ; humidité et températures (plus de 10°C) (Schmidt et Roberts, 2005).

Lorsque le taux d'humidité est atteint, les œufs éclosent en larves ciliées, vivant en liberté connus comme étant **les miracidiums**. Chaque miracidium cherche activement durant les 24 heures suivantes à pénétrer un hôte intermédiaire « mollusque » appartenant au genre lymnée. Ils réagissent à la lumière, ce qui les amène au plus près de la surface de l'eau en

augmentant leur chance de rencontrer un potentiel hôte intermédiaire (Kalbe et *al*., 1997; Saladin, 1979).Parallèlement, les températures élevées réduisent considérablement la durée de vie du miracidium (6 heures à 25°C) (Smith et Grenfell, 1984).

Un miracidium ne réussi à infecter un gastéropode que s'il le pénètre dans les 3 heures suivant l'éclosion (Kalbe et *al*., 1997), une fois à l'intérieur, il migre à travers les tissus de l'hôte et se transforme en sporocystes.

Dans le sporocyste, se trouve un certain nombre de cellules germinales qui se reproduisent pour donner naissance **aux rédies**, les premières apparaissent au bout de 14 jours à 20°C ; elles gagnent ensuite la glande digestive de la limnée puis chacune forme alors de 16 à 20 cercaires pourvues d'une queue mobile (Donnadieu, 2001). Elles seront libérées dans le milieu extérieur après rupture du sporocyste.

Les boules germinales au sein de la rédie se reproduisent et se développent pour donner naissance au dernier stade larvaire : **la cercaire**.

La mue des cercaires est initiée par la présence d'eau douce (Kendall et Mc cullough, 1951; Walton, 1918). Les cercaires quittent le gastéropode par migration à travers les tissus digestifs vers la glande salivaire, ils nagent librement dans l'eau et s'enkystent sur la végétation puis se transforment en **métacercaires** ; le stade infectieux. Les métacercaires ingérés avec la végétation (Acosta et *al*., 2008; Andrews, 1999) subiront ainsi un désenkystement dans l'intestin grêle de l'hôte définitif vertébré (Andrews, 1999).

III - Epidémiologie de la fasciolose

III -1 Epidémiologie descriptive

III - 1.1 Prévalence et répartition géographique de *F. hepatica*

Fasciola hepatica est de répartition mondiale, souvent localisée dans les régions à climat tempéré tel qu'il est démontré dans le tableau 1 et la carte 1 ci-dessous

Carte 1: Répartition mondiale de la fasciolose, (OMS 2017 Cité par Sabourin., 2018)**.**

Tableau 1: Répartition et prévalence mondiale de *Fasciola hepatica* chez les bovins.

Pays/Région	Prévalence (%)	Auteurs
Afrique		
Maroc	10.4	(Moukrim et Rondelaud, 1991)
Algérie	52.4	(Boucheikhchoukh et *al*., 2012)
	18.8	(Aissi et *al*., 2009)
Amérique latine		
Brésil	0.95	(Luz et *al*., 1992)
Chili	> 94	(Alcaino, 1985)
Jamaïque	22.2	(Bundy et *al*., 1983)
Mexique	5.2	(Encinas-Garcia et *al*., 1989)
Pérou	29	(Leguia et *al*., 1989)
USA		
Californie	52.7	(Briskey et *al*., 1994)
Floride	68	(Kaplan, 1994)
Montana	17.2	(Knapp et *al*., 1992)
Asie et Australie		
Nouvelle Zélande	8.5	(Mitchell, 1995)
Turquie	29.3	(Celeb et ultav, 1988)
Europe		
Belgique	12.5	(Genicot et *al*., 1991)
Allemagne	10.7	(Simmank, 1987)
Italie	5	(Poglayen et *al*., 1995)
Pologne	7.2	(Konopka, 1993)
Espagne	29.5	(González et *al*., 1989)
Angleterre	10	(Taylor, 1989)

III - 1.2 Les espèces affectées

Cette parasitose atteint un large éventail de vertébrés domestiques et sauvages. Elle est considérée comme banale chez de nombreux animaux tel que les ovins, les bovins et les caprins mais elle a également été observée par Alves et *al*., 1988 ; Haridy et *al*.,2002 chez les chevaux et les ânes.

Ce trématode a été rapporté chez les oiseaux pour la première fois par Vaughan et *al*., (1997) ; Hurtrez-Boussès et *al*., (2001), chez des émeus d'élevage espèce (*Dromaius novaehollandiae).*

Nombreuses sont les espèces sauvages chez lesquelles *Fasciola hepatica* a été découverte, nous citerons les lamas et les alpacas cités par Cornick., (1988) ; Neyra et *al*., (2002), le castor (*Castor fiber*), le lièvre (*Lepus europaeus*), le sanglier (*Sus scrofa*), le cerf commun (*Cervus elaphus*), le wapiti(*Alces alces*), le chevreuil (*Capreolus capreolus*), la loutre (*Lutra lutra*) et le blaireau (*Meles meles*) (shimalov et shiminov., 2000) ; mais aussi, les ragondins et les léporidés qui font partie des petites espèces sauvages fréquemment atteintes par ce parasite (Masade, 2010). Nous notons également, une atteinte naturelle ou expérimentale des rongeurs et lagomorphes appartenant aux espèces (*Mus musculus* et *Rattus rattus* et *Rattus norvegicus* et Wistar, souche de laboratoire) (Valero et *al*., 2002) et *O. cuniculus* et *M. coypus* (Ménard et *al*., 2000).

Quant à l'homme, il fait l'objet le plus souvent d'une contamination accidentelle à *Fasciola hepatica* par ingestion d'eau ou de végétaux aquatiques (cresson, mâche ou pissenlit).

III -2 Epidémiologie analytique

III - 2.1 Source de parasites

Plusieurs sources de contamination peuvent jouer un rôle dans la dissémination du parasite, les principales sont représentées majoritairement par les ovins ou les bovins.

Chaque hôte peut assurer une dissémination active : les mammifères par leurs excréments et les mollusques par leurs déplacements dans les milieux humides.

Une contamination du biotope de la limnée est possible à partir d'épandage ou d'effluents d'abattoirs contenant des œufs.

Le ragondin est, à lui seul capable d'assurer la pérennité de l'enzootie, et il constitue un redoutable danger pour les cultures en milieu humide. D'autres herbivores sauvages tels que les cervidés peuvent aussi assurer la dissémination du parasite (anses, 2016).

III - 2.2 Résistance des parasites

La longévité de *Fasciola hepatica* varie en fonction de l'hôte. Chez les bovins, elle est très réduite de 9 à 12 mois c'est-à-dire moins d'une année en raison de la calcification des canaux biliaires entravant la progression des jeunes douves et entrainant par conséquent leur mort et leur élimination, contrairement aux ovins où se parasite peut subsister au-delà d'une dizaine d'années (Bussieras et Chermette, 1995).

L'homme demeure infesté durant de nombreuses années et constitue un cul de sac épidémiologique pour cette espèce parasitaire. Les formes immatures présentes dans le foie sont détruites avant d'atteindre les voies biliaires, pour celles qui y sont parvenues, elles ne produiront que peu d'œufs qui sont pour la plupart non viables (Nosais et *al.*, 1996).

Durant la période estivale, lors de l'élévation des températures, les lymnées ont tendance à s'enfouir dans les sols vaseux ou boueux provoquant un arrêt du développement (croissance) du gastéropode et du parasite qu'il héberge. De même, en hiver celles-ci entrent en hibernation entrainant un arrêt du développement parasitaire.
Dans le milieu extérieur, les œufs de *Fasciola* sont très sensibles aux fortes températures et sont systématiquement détruits en hiver en quelques heures à -3°C.

Concernant les formes infestantes (métacercaires), elles survivent quelques mois sur les faces inférieures des feuilles des végétaux immergés mais sont détruites entre 25°C et 32 °C (Bussieras et Chermette, 1995).

III - 2.3 Mode d'infestation

L'infestation peut avoir lieu dans les étables par ingestion d'herbe humide fraichement récoltée et renfermant des métacercaires mais, le plus souvent les hôtes définitifs se contaminent au contact des pâturages et fréquemment durant l'été car ils se rapprochent des points d'eau, là ou la végétation est la plus dense et fournie, abritant à sa surface des métacercaires.

Le Bailly, (2005) estime que l'homme se retrouve parasité en ingérant des plantes aquatiques ou immergées telles le pissenlit (*Taraxa cumdens leonis)*, le cresson (*Nasturtium officinale*), la mâche (*Valerianella olitoria*), la chicorée (*Cichorium intybus*), ou la menthe sauvage (*Mentha aquatica*) sur lesquelles se déposent les formes enkystées infestante du parasite.

Cela dit, il existe d'autres voies de contamination qui demeurent très rares telles que l'infestation par voie trans-placentaire. L'infestation se fait par passage des jeunes douves à travers la paroi de l'utérus pour rejoindre le foie du fœtus (Colin., 2009).

III - 2.4 Causes favorisantes

a - Nature du sol

La nature du sol hébergeant les lymnées doit posséder certaines caractéristiques physico-chimiques. Qu'il soit inondable, riche en calcium, élément indispensable au développement des coquilles de limnées. Il doit être lourd à surface lisse et de nature argileuse permettant la croissance et la prolifération des algues microscopiques aliments des limnées (Bendiaf, 2011).

b - Le climat

Le climat possède une incidence non négligeable sur la prévalence de la fasciolose des ruminants domestiques. En effet, Ollerenshaw et smith, (1969) rapportent que les fluctuations de la prévalence de la fasciolose dépondent étroitement des variations de température et d'humidité, ces dernières sont indispensables au développement des formes libres et des limnées.

c - Le model d'élevage

La fasciolose est une maladie des pâturages, elle ne concerne que très rarement les animaux en stabulation permanente (Bussieras et Chermette, 1995). Il semblerait de ce fait que les bovins allaitant soient plus infestés par la grande douve que les races laitières, probablement à cause du temps passé dans les près (Miraton, 2008).

d - La réceptivité

D'après Bussieras et Chermette, (1995), l'état de santé de l'animal joue un rôle prépondérant dans le facteur de réceptivité, car tout animal déficient poly-parasité et sous alimenté représente un sujet idéal à une contamination par *Fasciola hepatica.*

Il semblerait que les ovins soient plus réceptifs et sensibles à la fasciolose, car la réaction de l'organisme vis-à-vis du parasite est faible et n'entraine par conséquent aucune calcification des canaux biliaires. Nous observons le phénomène inverse chez les bovins avec quelques exceptions chez d'autres espèces (Miraton ,2008).

III -3 Epidémiologie synthétique

La pérennisation de la fasciolose dans une zone requiert en un même lieu la présence des œufs de *Fasciola hepatica*, des limnées, de l'eau en nature et des températures appropriées.

Souvent les gites à limnées sont d'une superficie limitée entravant ainsi le déroulement du cycle parasitaire. Néanmoins, une fois libérée, la cercaire se fixe sur un végétal immergé situé le plus proche de la limnée dont il est issu (Chauvin et Mage, 1997).

Cette transmission est considérablement influencée par les changements ou les bouleversements climatiques et peut prendre un aspect annuel ou saisonnier. Par exemple, certaines années, les étés particulièrement pluvieux sont fortement favorables au développement de la grande douve car ils favorisent l'éclosion des œufs, la prolifération et la croissance des limnées ainsi que la dispersion des cercaires.

De même, il est possible d'observer des fascioloses saisonnières dites d'été faisant suite à l'ingestion de métacercaires provenant de limnées trans-hivernales ayant repris leur activité, ou encore une fasciolose d'hiver consécutive à une population estivale de lymnées parasitées qui donneront à leur tour de nombreux métacercaires en automne.

IV - Impact économique et sanitaire de la fasciolose

La fasciolose possède une incidence économique grave en raison des pertes qu'elle occasionne du vivant de l'animal et aux abattoirs. Elle se caractérise par une baisse des performances et du rendement des individus atteints (Houin, 2004). Ses conséquences sont beaucoup plus zootechniques que pathologiques, avec une diminution de la production laitière estimée à un minimum d'un litre par jour et par vache alors que Dargie, (1987) a évalué la perte de lait de 90 à 300 Kg par lactation annuelle chez le bovin.

Concernant la croissance pondérale et le rendement en viande kountouon Da, (1992) a considéré que les pertes de poids à l'échelle individuel étaient négligeables.

Selon Ribot et Razafindrakoto, (1966), la dépréciation de la toison chez les ovins et les caprins est nettement observée chez les animaux très parasités, il s'avère que la perte de l'appétit en est la principale cause.

La fasciolose est une zoonose mineure économiquement très nuisible ne serait ce que par les saisies de foie qu'elle génère aux abattoirs. Elle ne constitue plus l'apanage seul des animaux, puisqu'elle peut aussi sévir chez l'homme de manière accidentelle suite à l'ingestion de végétaux contaminés par les métacercaires engendrant de graves troubles d'où l'importance d'un diagnostic précoce et d'une lutte ciblée (kountouon Da, 1992).

V - Symptomatologie et évolution de la maladie

La symptomatologie de la fasciolose dépend de l'espèce animale mise en cause et du nombre de métacercaires ingérés.

Selon Ballweber, (2001), la migration des douves immatures cause une hépatite traumatique hémorragique, les adultes ingèrent le sang et peuvent ainsi causer une anémie ; la présence d'adultes provoque une vaste prolifération de l'épithélium des canaux biliaires, une cholangite, et une nécrose de la paroi canalaire, survient par la suite une fibrose de la lamina propria des voies biliaires qui peut éventuellement se calcifier.

La maladie clinique se déroule en trois formes :

V -1 La forme aigue

Cette forme est rarement observable chez le bovin. Elle se produit lors de la phase d'invasion lorsque les adolescaria migrent dans le parenchyme hépatique ou lorsqu'un nombre massif de métacercaires (>10 000) sont absorbés à la fois. Il s'ensuit une désorganisation du parenchyme hépatique due à la migration des douves immatures. L'animal reste à la traine du troupeau, haletant, l'abdomen distendu et douloureux, il se couche, la tête sur le coté puis il sombre dans le coma et meurt après 48 à 72 heures (Troncy, 1981). Dans certains cas, la capsule du foie peut se rompre dans la cavité péritonéale entrainant la mort par péritonite. Des signes cliniques incluent une perte d'appétit, une perte de poids, pâleur des muqueuses, des douleurs abdominales, de l'anémie, de l'ascite, de l'asthénie et un œdème dans la région de l'auge sont également observés. Ce phénomène est accentué chez les ovins et les caprins qui se traduit par une mort subite.

V -2 La forme subaiguë

Elle est due à une infestation plus légère, les animaux sont nonchalants et en mauvais état général. Cette forme sévit pendant le début de la saison des pluies. Les signes cliniques comprennent une anorexie, une diminution du gain de poids ou perte de poids, une anémie progressive, une insuffisance hépatique. Ce schéma se traduit par la mort de l'animal en 4 à 8 semaines (Ballweber, 2001).

V -3 La forme chronique

C'est la forme la plus répondue chez les bovins, Rakotoarisoa, (2002) rapporte qu'elle est liée à la présence de douves adultes dans les canaux biliaires, cette forme comporte elle-même plusieurs phases : la première coïncide avec la migration des douves, la seconde phase décrit des animaux avec des muqueuses anémiées, les animaux sont nonchalants, essoufflés et faibles. Les signes cliniques comprennent une diminution de la prise alimentaire et du gain de poids, la réduction de la production laitière, un amaigrissement. Durant la phase finale, on remarque un œdème sous-maxillaire, des régions déclives et même au niveau des paupières, une ascite et apparition d'une diarrhée chronique. De manière générale, l'évolution de cette maladie est lente et peut durée plusieurs années sans porter atteinte à l'état général des bovins (Ravoniarison, 2001).

VI - Lésions

Les lésions de distomatose hépatique sont caractéristiques des trajets migratoires des trématodes et de leur évolution au travers du parenchyme hépatique.

Les douves immatures migrant au travers du parenchyme hépatique des bovins provoquent des lésions interstitielles aigue évoluant vers la chronicité (Doy et Hughes, 1984). Les conséquences de cette phase sont représentés par une hépatomégalie, des hémorragies et des trajets de sang coagulés. Lorsque la forme chronique s'installe des zones nécrotiques apparaissent sur le trajet empreinté par les douves. Quant aux formes adultes, celles-ci provoquent une angiocholite hyperplasique suivie d'une fibrose et d'une calcification lors de leur installation dans les canaux biliaires. Ces canaux présentent alors une forme caractéristique dite en « tuyau de pipe » (Ross, 1968).

Contrairement aux douvules qui sont histophages, les formes adultes sont hématophages et ingèrent près de 0.2ml de sang par jour (Malone, 1986).

Chez les petits ruminants, lors d'atteintes aigües, la migration des douves immatures à travers le parenchyme hépatique est à l'origine d'hémorragies sévères pouvant être fatales d'autant plus si elles se compliquent par une surinfection à *Clostridium novyi*. Bien que moins sévères, les formes subaigües et chroniques provoquent des anémies hémorragiques avec hypo-albuminémie engendrant un œdème de l'auge ou communément appelé signe de la bouteille (Taylor et *al*., 2007).

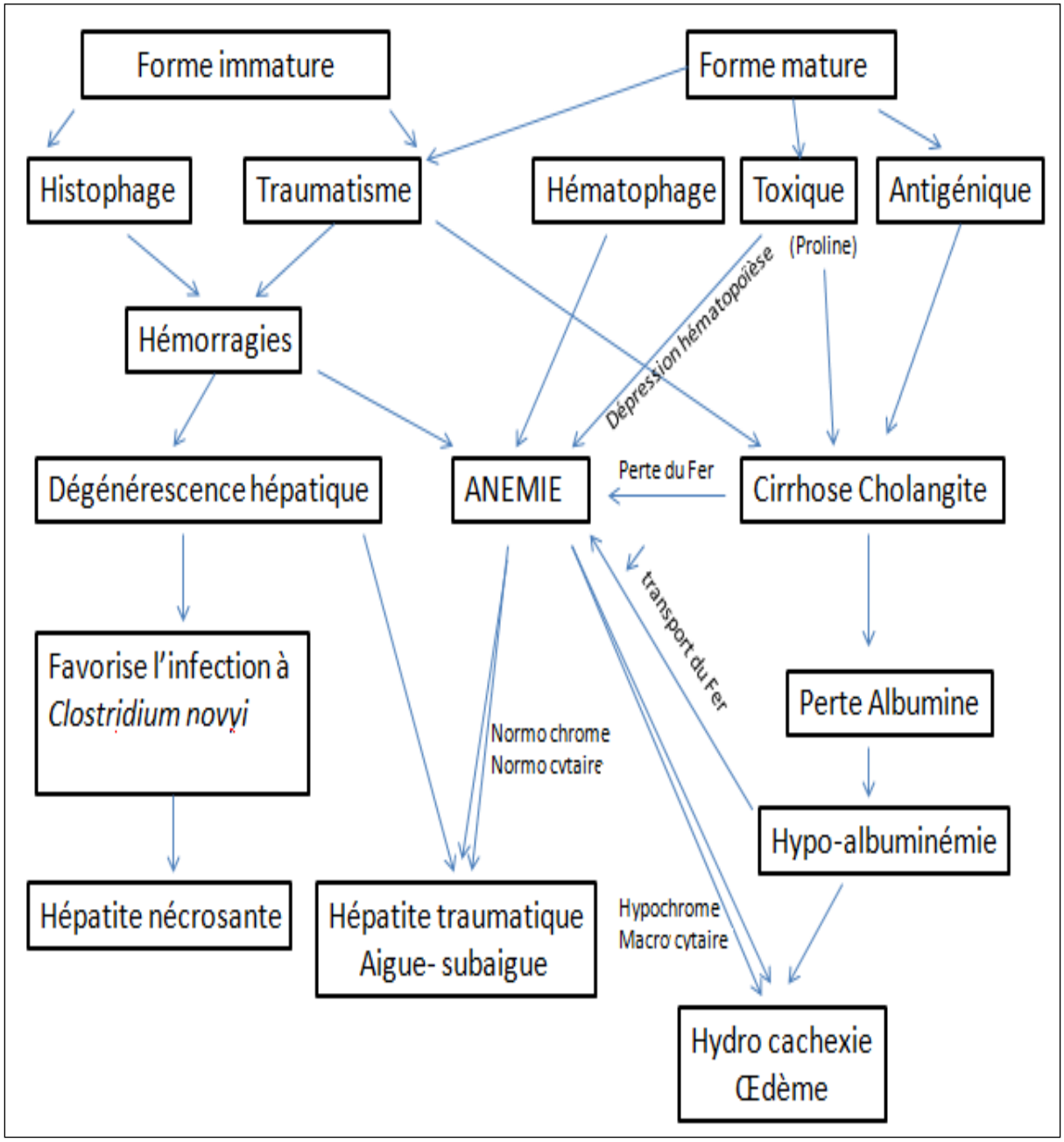


Figure 3: Représentation schématique des lésions occasionnées par les formes parasitaires chez l'hôte définitif (Ravoniarison, 2001).

VII - Diagnostic

VII -1 Chez l'hôte intermédiaire

De nombreux outils de diagnostic sont utilisés pour dépister la maladie chez l'hôte définitif, cependant les méthodes relatives à la détection de l'infection naturelle chez le mollusque reposent essentiellement sur l'écrasement, la dissection microscopique et l'observation de l'émission cercarienne. Une méthode plus spécifique et hautement sensible (PCR) a été mise au point en utilisant une séquence d'ADN spécifique du génome de *Fasciola sp* (Kaplan et *al*., 1995 ; Caron et *al*., 2007). Cette technique a été optimisée par l'utilisation d'un protocole d'extraction d'ADN novateur, rapide et peu onéreux ainsi que par la mise en place d'un contrôle interne (PCR multiplexe) permettant d'éliminer les faux négatifs (Caron et *al*., 2011).

VII -2 Chez l'hôte définitif

VII - 2.1 Diagnostic anté-mortem

En raison de son évolution chronique, le diagnostic de la fasciolose bovine est le plus souvent tardif. Il se fonde sur l'anamnèse et la recherche des œufs dans les selles ou le liquide duodénal.

Un diagnostic précoce est problématique, puisque les œufs sont absents durant les trois premiers mois suivant l'infection.

a - Tests coprologiques

- **Technique de flottation ou flottaison**

La technique de flottaison consiste à diluer le prélèvement dans une solution de densité élevée (le liquide de flottaison) afin de concentrer les éléments parasitaires, de densité inférieure à la surface du liquide. Nous citerons par exemple la méthode décrite par **Janeckso Urbanyi en 1931** : Cette technique nécessite la dilution de 3 à 5 g de selles dans une solution iodo-mercurique. Le tout est tamisé à travers les mailles (1mm) d'un passe thé métallique. Le filtrat obtenu est centrifugé durant 3 minutes à 2500 rpm.

La partie superficielle est récoltée puis déposée entre lame et lamelle pour observation avant l'altération des œufs.

Cette méthode de référence a toutefois été abandonnée en raison de la toxicité des produites utilisés.

- **La technique de sédimentation**

Principe de la méthode de **Van Someren et Grégoire** en colonne haute.

Le principe de cette méthode est de diluer le prélèvement dans une solution aqueuse de faible densité afin de concentrer les éléments parasitaires de densité supérieure. Cette technique permet d'obtenir des œufs de toutes les espèces de parasites, en particulier les œufs de trématodes qui sont de grandes tailles.

La colonne remplie d'une solution de teepol à 1% va accueillir quelques grammes de selles diluées dans 36 ml de cette dernière. Tamisées à travers les mailles de différentes passoires, le filtrat est alors versé lentement dans le liquide de la colonne. Après 20 minutes, la pince du tuyau en caoutchouc est serrée et au robinet, on recueille quelques gouttes de liquide ou se sont condensés les œufs de douves (densité : 1.2) (Rousset, 1993).

Selon Zajac et Condoy, (2012) le diagnostic se fait sur la base de la présence de grands œufs bruns détectés en utilisant une procédure de sédimentation. Les œufs peuvent être difficiles à détecter et ne reflètent pas le niveau d'infection dans un troupeau. Un appareil disponible dans le commerce, la Flukefinder, simplifie cette dernière.

Les œufs de *Fasciola hepatica* peuvent être mis en évidence dans les matières fécales. L'élimination des œufs étant assez limitée, elle nécessite l'utilisation d'une technique d'enrichissement telle que la flottaison et la sédimentation avec des solutions de densité élevées (iodomercurate de potassium ou le sulfate de zinc à saturation), l'identification des œufs est alors aisée mais reste toutefois délicate en raison de l'amalgame fait avec les œufs de Paramphistomes (Bourdoiseau , 1997 ; Chauvin et Mage, 1998).

L'extrême variation d'excrétion des œufs de douves adultes doit être prise en compte, car celle-ci varie d'un jour à l'autre chez un même bovin mais également chez les bovins d'un même élevage. D'après Mage, (1989), la période la plus propice pour mettre en évidence les œufs de grande douve serait l'hiver.

La présence d'œufs dans les bouses d'un bovin doit conclure à l'infestation du troupeau par contre l'absence d'œufs chez un ou plusieurs sujets n'est pas synonyme d'absence de fasciolose.

Meissonnier et Mage, (2007) ont rapporté que la coprologie est une méthode de diagnostic tardive, elle ne permet de révéler la présence des parasites qu'au terme de la période prépatante, de plus, elle est peu sensible surtout chez les animaux présentant un faible taux d'infestation. Cette technique est de moins en moins adaptée c'est pour cela qu'elle est complétée ou associée aux techniques sérologiques.

b - Tests immunologiques

Plusieurs techniques ont été décrites :

- Immunoélectrophorèse : Cette technique très spécifique mais peu sensible est positive dans 96% des cas de fasciolose dès la troisième semaine post infection (El mohtarim, 2016). Elle met en jeu une séparation des protéines par électrophorèse sur un gel d'agarose suivie d'une double diffusion contre des anticorps spécifiques selon une direction perpendiculaire à l'axe de migration électrophorétique. Chaque zone d'équivalence correspond à un précipité Ag-Ac qui se traduit par un arc de précipitation. L'immunoélectrophorèse permet de caractériser ou d'identifier des antigènes (ce n'est pas une méthode quantitative). Elle permet la révélation de plusieurs arcs de précipitation dont l'arc 2, spécifique de la fasciolose (Revillard, 2001).
- Dosage des anticorps spécifiques dans le sang par fixation du complément (RFC) : Manque de sensibilité et de spécificité.
- Immunofluorescence indirecte (IFI) : (Dovero, 2006) rapporte que le principe est basé sur une réaction antigène anticorps qui est visualisée grâce à une molécule fluorescente, la détection s'effectue dans ce cas par l'intermédiaire d'un anticorps secondaire, spécifique de l'anticorps primaire utilisé pour détecter l'antigène et marquer avec un fluorochrome. Elle est réalisée sur coupes de douves congelées. C'est une technique rapide, sensible et relativement spécifique.
- Hémagglutination indirecte (HAI) : Méthode simple et rapide, détecte les IgG et les IgM, mais se négative rapidement. Un titre supérieur ou égal à 320 est en faveur d'une distomatose. Les anticorps présents dans le sérum mis en contact avec les

hématies porteuses d'antigènes fasciolien entrainent l'agglutination des cellules sensibilisées, ce qui rend visible le complexe immun ainsi formé (Zagare, 1992).

- Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) (Chauvin, 2000) : Cette méthode est fondée sur la recherche d'anticorps dirigés contre l'antigène f2 spécifique de la douve. La recherche des anticorps est également possible dans le lait par la méthode ELISA (Pourquier et *al*., 1995). L'antigène f2 est fixé sur les parois des puits par l'intermédiaire d'un anticorps monoclonal anti-f2. Les puits de rang impair sont sensibilisés avec l'anticorps monoclonal seul. Les cupules de rang pair portent l'antigène f2 fixé par l'anticorps monoclonal. Le lait ou le sérum à tester est dilué et mis à incuber dans les puits ; s'il contient des anticorps anti-f2, il se forme alors des complexes antigènes- anticorps bovins fixés sur la paroi. Après le rinçage des cupules, une immunoglobuline anti-anticorps bovin couplée à l'enzyme est mise à incuber ; le conjugué immunoglobuline-enzyme se fixe sur le complexe immunologique. Après un nouveau rinçage, le substrat de l'enzyme est déposé dans les puits ; en présence de l'enzyme, ce substrat se transforme en un composé coloré bleu devenant jaune après blocage de la réaction. L'intensité de la coloration est proportionnelle au taux d'anticorps présents dans le lait ou le sérum testé.

Cette méthode donne des résultats semi-quantitatifs par classe : 0 à + ; ++ et +++, fonction de la densité optique (Donnadieu, 2001).

Ces méthodes sont spécifiques et sensibles. Elles permettent de diagnostiquer l'infestation 2 à 6 semaines après qu'elle ait eu lieu. Le taux d'anticorps augmente jusqu'à 6 à 12 semaines post-infestation puis décroit légèrement.

c - Tests antigéniques

Les antigènes peuvent être retrouvés dans le sang des individus parasités (antigénémie), ils sont identifiés comme les antigènes bruts somatiques, les antigènes d'excrétion-sécrétion (ou antigènes ES) bruts ou purifiés ou bien l'antigène f2. C'est une méthode de diagnostic très précoce puisque les antigènes peuvent être détectables dès le sixième jour post infestation (Leclipteux et *al*., 1998) selon la méthode employée. L'antigénémie est indépendante des infestations précédentes (contrairement aux méthodes de diagnostic immunologique). Les antigènes sont présents dans le sang une dizaine de semaines post-infestation et après une seule infestation contre 2 à 6 mois pour les anticorps. Les antigènes E-S sont aussi détectables

dans les fèces mais seulement 4 semaines post- infestation (Duménigo et *al*., 1999; Almazan et *al*., 2001).

d - Biologique

Les marqueurs sériques de l'activité hépatique représentés par les enzymes peuvent servir d'indicateurs de l'infestation du foie par la douve : la γ- Glutamyl Transferase ou γ GT est quelquefois utilisée mais semble avoir peu de lien avec le niveau d'infestation ; en revanche, avec la Glutamate déshydrogénase (ou GLDH) et l'Aspartate Amino- Transferse (ou ASAT), on aurait une bonne corrélation entre leur niveau de concentration sanguine et le nombre de douves immatures présentes dans le foie d'après Leclipteux et *al*., (1998) et Ferre et *al*., (1997). Avec le sorbitol déshydrogénase, la GLDH est le signe d'une destruction du parenchyme due à une digestion enzymatique par le parasite. D'autres techniques existent comme celles utilisant la recherche des anticorps dans la bile citée par Ferre et *al*., (1997).

VII - 2.2 Diagnostic post-mortem

L'action mécanique des grandes douves dans les grands canaux biliaires est responsable de cholangite chronique. Les lésions sont toutefois peu pathognomoniques (à différencier des lésions dues à la petite douve), raison pour laquelle l'inspection sanitaire des foies à l'abattoir retient le critère de la présence de douves vivantes ou calcifiées.

Lafon, (2008) rapporte que l'examen post mortem a une faible sensibilité, de l'ordre de 65% et les faux négatifs sont fréquents, d'autant plus que la prévalence de l'infestation est faible ou qu'elle remonte à moins de 3 mois. « Le problème majeur de cette inspection en abattoir réside dans l'absence fréquente de transmission des motifs de saisie des foies aux éleveurs et à leur vétérinaire dans les zones où la fasciolose est encore enzootique ».

VIII - Traitement

De manière générale, la lutte contre la fasciolose consiste à interrompre le cycle biologique du parasite en utilisant des fasciolicides ou des douvicides.

De nombreux auteurs dont Bussieras et Chermette, (1995) ; Kaufmann, (1996) et Mage et Chauvin, (1997) ont avancé que divers molécules été disponibles, toutefois, leur utilisation dépendait du type de production animal, du temps d'attente, de la voie d'administration et du

spectre d'action du fasciolicide qui est plus au moins actif sur les douves immatures **(Tableau 2 décrit ci-dessous).**

De plus, l'administration d'extraits de certaines plantes médicinales semble également avoir un effet fasciolicide, à l'exemple du *Dicoma incana, chenopodium ambrosioides, Tephrosia bogelii, Dalberzia spp* (Rakotoarisoa, 2002).

Tableau 2: Molécules actives sur *Fasciola hepatica*, posologie et délai d'attente (**Usage vétérinaire)**

Principe actif	**Age de sensibilité des douves (semaines)**	**Nom déposé**	**Posologie**	**Voie d'administration**	**Temps d'attente (jours)**	
					Lait	**Viande**
Triclabendazole	2	Fascicur	10mg/kg	PO	Interdit	56
		Fascinex				14
		Parasifal				
		Triclanil				
Closantel	6	Flukiver	5mg/kg	SC	Interdit	28
		Seponver	10mg/kg	PO	Interdit	
Nitroxinil	6	Dovenix	10mg/kg	SC	Interdit	66
Clorsulon	8	Ivomec-D	2mg/kg	SC	Interdit*	28
		Virbamec-D			Interdit	80
Albendazole	10	Actifuge	10mg/kg	PO	Interdit	10
		Bilutac 30				
		Rumifuge				
Oxyclozanide	10	Douvistome	10mg/kg	PO	0	14
		Imena-L			Interdit	
		Spectril				
		Zanil			0	
Netobimin	10	Hapadex**	20mg/kg	PO	Interdit	10

Possible au tarissement et au moins 28 jours avant le vêlage.
** AMM bovins sans indication pour la fasciolose
(PO: Per os, Sc: Sous cutané)

IX - Prévention et contrôle

Le contrôle de la fasciolose est important à double titre : d'une part pour minimiser les pertes économiques liées à la réduction des performances des animaux infestés par *Fasciola*

hepatica et à la saisie des foies à l'abattoir, et d'autre part pour réduire la pression d'infestation parasitaire du troupeau en limitant le déroulement du cycle.

Il existe des méthodes efficaces pour lutter contre la fasciolose hépatique. Dans un contexte d'utilisation raisonnée des médicaments et vu le coût des traitements et l'apparition de lésions non négligeables même sur un animal traité régulièrement, ces méthodes de lutte doivent être privilégiées.

IX -1 Prophylaxie médicale

Salaün en 2004 a rapporté que la destruction des parasites chez l'hôte définitif se fait par le biais de nombreuses molécules actives sur les adolescaria, il s'agit de Diamphenetide à 120 mg /Kg et du Triclabendazole à 10mg/Kg, plus faiblement par le Rafoxanide à 3mg/Kg et le nitroxinil à10mg/Kg, alors que la destruction des adultes passe par l'utilisation de molécules comme l'Oxyclozanide 15mg/Kg, le Tetrachlorure de carbone à 50mg/Kg et le Bithionol sulfoxyde 40mg/Kg.

Concernant le premier traitement, il est administré un mois avant la mise au pâturage afin d'éviter toute contamination des prairies par les œufs au printemps, interrompant le cycle d'été, le second traitement se fait huit semaines après avec un produit actif sur les adultes et les jeunes. Ce traitement limite aussi l'infestation des limnées en automne, interrompant le cycle trans-hivernal. Le troisième traitement administré à la fin de l'automne induit la destruction de la population adulte issue de l'infestation automnale, contre la fasciolose d'hiver (Salaün, 2004).

IX - 1.1 La vaccination

De nombreuses recherches axées sur la mise au point d'un vaccin font l'objet d'études. Actuellement, diverses substances comme la Glutathione s-transferase (GST) ou une cathépsin- L ont montré une certaines capacité à induire une immunité contre ce parasite. Toutefois cette immunité n'est que partielle aboutissant à une diminution soit de l'intensité parasitaire (non de la prévalence) soit de la ponte des œufs (Millemann et *al* ., 2008).

IX -2 Prophylaxie sanitaire

La prophylaxie sanitaire a pour but de maintenir l'animal à l'abri des agents pathogènes, en prévenant la maladie et en évitant l'infestation des animaux. Le plus urgent consiste à

empêcher l'absorption des métacercaires par les individus sensibles. Elle comprend des mesures offensives et défensives.

IX - 2.1 Mesures offensives

Les mesures offensives consisteront à agir sur les différentes formes de parasites partout où elles se trouvent (Rakotoarisoa, 2002). La destruction des limnées semble être le moyen le plus intéressant.

Selon Rondelaud et Mage, (1988) et Ximenes et *al.*, (1993), la prophylaxie passe aussi par la destruction de l'hôte intermédiaire par des modifications du biotope (le drainage des sols, zones de piétinement, le parcage des zone humides dans la mesure du possible), des moyens chimiques (épondage de molluscicides tel que le sulfate de cuivre …etc) mais elle est envisageable que sur les gites de faible surface, l'absence de sélectivité des mollusques éliminés, la toxicité pour l'environnement, la possibilité de recolonisation rapide par les limnées d'un site voisin, font de cette lutte une méthode médiocre.

Le choix des moyens biologiques est possible par l'utilisation de mollusques prédateurs de la famille des zonitidae ou encore des algues parasites des œufs : *Catheneria anguillulae.*

IX - 2.2 Mesures défensives

Les mesures défensives consistant à retirer les animaux des pâturages infestés ou les disperser sur une large surface de point d'eau. Les bovins reçoivent ainsi un ensemencement moindre par des métacercaires, et la probabilité d'infestation du bétail s'en trouvera réduite (Rakotoarisoa, 2002).

Chapitre 2 : Exploration de la fonction hépatique

I - Généralités

Le foie est un organe noble, il est le siège de nombreuses activités métaboliques telles que l'anabolisme (protéique), le catabolisme et l'excrétion. Son importance structurelle et fonctionnelle le situe au carrefour de nombreuses fonctions et donc sujet à de fréquentes atteintes hépatiques ou hépatobiliaires, d'où la nécessité d'explorer ces fonctions.

Le foie présente une coloration rouge-brun homogène, lisse, de consistance ferme, sa surface est revêtue en grande partie de péritoine et d'une capsule fibreuse dite : Capsule de Glisson. L'unité fonctionnelle de cet organe est le lobule hépatique. Il est formé d'hépatocytes organisés en entravées autour des sinusoïdes. Les échanges sanguins se font principalement par la veine porte et l'artère hépatique.

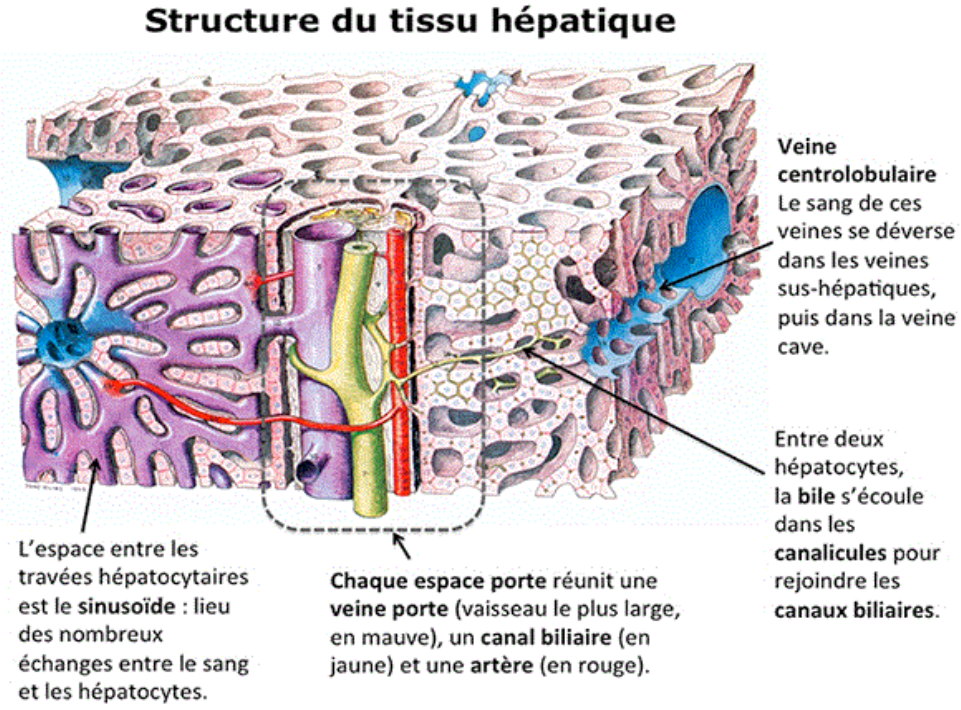


Figure 4: Schématisation de l'organisation du tissu hépatique **(Ciacio et Castaing., 2015)**. www.centre-hepato-biliaire.org/maladies-foie.html

Les lobules hépatiques sont séparés les uns des autres par des travées de tissu conjonctif, auxquels on donne le nom d'espace porte ou espace de Kiernan. Chaque espace porte est formé par une triade qui est composée à son tour d'une veine porte, d'une artère et d'un canal biliaire (figure 4).

II - Les parasitoses à localisation hépatique

Le foie par sa position anatomique constitue une barrière entre les agents pathogènes provenant des muqueuses digestives et de la circulation systémique, notamment pour les parasites ingérés, mais aussi pour ceux dont la migration implique un passage dans les vaisseaux drainés par le système porte (Vuitton et *al*., 2004).

Le foie est un site de transit ou de migration erratique pour les infestations parasitaires. L'agression parasitaire engendre des réactions immunologiques et des altérations parenchymateuses ou biliaires à l'origine de granulomatose ou de fibrose (Ndiaye et *al*., 2013) .

Nombreuses sont les parasitoses à localisation hépatique. Toutefois, Bourée et Resende, (2006), à travers leurs travaux en ont décrits quelques unes citant par exemple : les douves du foie, les *Echinococcus granulosus* et *Echinococcus multilocularis* à localisation élective dans le foie, avec parfois des atteintes à localisation erratique.

Les Bilharzioses intestinales peuvent à leur tour provoquer une fibrose portale sévère, mais également les *Larva migrans* lors de leur migration erratique.

Il a été mentionné également la formation d'abcès par *Entamoeba histolytica* suite à leur passage de l'intestin vers le foie.

En plus de cibler le foie, plusieurs autres parasites infestent les canaux biliaires, soit pendant leur stade de maturation, ou bien en tant que vers adultes : *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis viverrini*, *Opisthorchis felineus* et ***Fasciola hepatica*** (Lim et *al* ., 2007).

Les parasites de l'arbre biliaires peuvent être à l'origine d'une pancréatite, d'une cholécystite, d'une obstruction des arbres biliaires, d'une cholangite récurrente, de sténose des arbres biliaires et certains peuvent même conduire à un cholangio-carcinome (Mohamed et *al*., 1997).

III - Les biomarqueurs

L'infestation parasitaire hépatique entraine des désordres métaboliques qui sont révélés par les modifications de certains paramètres biochimiques miroirs de l'intégrité du foie.

III -1 Protéines totales

Le dosage de la protéinémie totale intervient dans de nombreuses infections notamment parasitaires responsables de l'élévation du taux de protéines totales suite à l'effet spoliateur des parasites hématophages tels que les douves et les ankylostomes.

III -2 Albumine

L'albumine sérique a une synthèse strictement hépatique à partir d'un ensemble d'acides aminés intracellulaires.

Elle représente la fraction protéique la plus abondante de l'organisme animal, responsable de l'osmose plasmatique et du transport de différentes molécules (Kouamo et *al*., 2001).

Elle présente un intérêt clinique lors de l'exploration de la fonction hépatique.

-L'hypo-albuminémie est observée lors de troubles hépatiques (cirrhose), de néphropathies, de maladies nutritionnelles mais également lors de trouble de gastro-entéropathie.

-L'hyper-albuminémie plus rare, notée lors de déshydratation.

III -3 Globulines

III - 3.1 Les alpha globulines

Elles sont pour la plupart synthétisées dans le foie et interviennent principalement dans le métabolisme du tissu conjonctif. Elles diminuent dans les troubles du foie (insuffisance hépatocellulaire).

III - 3.2 Les béta globulines

Elles sont synthétisées dans le foie et dans le système réticulo-endothélial. Leur augmentation a lieu lors d'affection hépato-canaliculaire, de cirrhose, d'hépatites aiguës, du syndrome néphrétique et d'anémie. Elles diminuent lors d'hépatites chroniques et d'inflammation aiguës.

III - 3.3 La gamma globuline

Taux élevés peuvent être le signe d'un cancer, d'une maladie auto-immune, d'une atteinte hépatique chronique ou d'une infection bactérienne, virale ou parasitaire. Parallèlement des taux relativement bas pourraient être dus à un déficit immunitaire.

IV - Les indicateurs d'une atteinte hépatocellulaire

Une augmentation anormale de leur concentration dans le sang signe une altération récente. Lorsque la demi-vie d'une enzyme est longue, cela permet de révéler une atteinte plus ancienne .Ainsi une nette élévation des paramètres hépatiques sera en faveur d'une hépatite aigue, tandis qu'une élévation modérée fera pensée à une affection chronique.

IV -1 La transaminase glutamopyruvique (TGP) ou Alanine aminotransférase (ALAT)

Se sont des enzymes majoritairement cytoplasmiques, non spécifiques du foie, leur répartition est principalement hépatique et musculaire (Ouedraogo, 1986).

IV -2 La transaminase glutamo-oxaloacétique (TGO) ou Aspartate aminotransférase (ASAT)

Cette enzyme ubiquitaire est à la fois une enzyme cytoplasmique et mitochondriale. Elle est caractéristique du muscle squelettique, mais se rencontre également dans le rein, le pancréas, le foie, la rate, le placenta et l'utérus. Toutes les lésions musculaires provoquent une augmentation importante du taux sérique de l'ASAT. Bien qu'elle ne soit pas spécifique de la fonction hépatique, elle représente néanmoins un indicateur de l'évolution des troubles hépatiques chroniques. L'augmentation de l'ASAT est observée lors d'hépatites toxiques et parasitaires ainsi que lors d'ictères secondaires à une obstruction des canaux biliaires (Kountouon, 1992).

V - Les indicateurs de cholestase

V -1 La phosphatase alcaline (PAL)

On la rencontre dans de nombreux organes tels que le foie, l'os, le rein, la rate et les cellules sanguines. Achard, (2005) a rapporté que les valeurs sériques de la phosphatase alcaline chez les bovins sont assez peu utilisées en raison de très grandes variabilités individuelles dans cette espèce.

V -2 La gamma glutamyl transferase (ɣGT)

La Gamma glutamyl transferase est une enzyme qui se situe dans les canaux biliaires et plus particulièrement dans les cellules épithéliales de la muqueuse bordant les canaux biliaires

(Naphtalin et *al*., 1969). Elle possède de nombreux sites d'action parmi lesquels nous citons : Le foie, le rein, le pancréas, le poumon, l'intestin, la rate et la mamelle. Elle représente le principal marqueur sérique d'une atteinte du système hépatobiliaire associé à la cholestase. La plupart des cellules ont une activité γGT, toutefois, son pouvoir catalytique est principalement hépatique.

L'activité de la gamma glutamyl transferase est relativement élevée dans le foie des vaches, des chevaux, des moutons et des chèvres, mais elle est considérablement plus faible dans le foie des chiens et des chats (Tennant et Center, 2008).

Chez les vaches adultes, la mesure du taux sanguin de cette enzyme représente le test par excellence pour la mise en évidence d'éventuels désordres hépatobiliaires.

L'augmentation de la concentration sanguine de la γ-GT est très spécifique -de lésions épithéliales des canaux biliaires et souvent de la présence de grandes douves adultes.

L'augmentation de son niveau chez les bovins est très représentative d'une insuffisance hépatique (Meurant, 2004).

Achard, (2005) et Boudebza, (2015) présentent le dosage des ALAT et des PAL comme ayant peu d'intérêt en médecine bovine. En revanche, la recherche d'ASAT peut se révéler utile notamment dans le dépistage et surtout le suivi des hépatites aigues mais comme cela peut aussi suggérer une atteinte musculaire, elle doit être utilisée avec d'autres marqueurs plus spécifiques tels que la γ GT, GDH : glutamate déshydrogénase ou SDH : succinate déshydrogénase pour le foie et la CK : La créatine kinase pour les muscles.

MATERIEL ET METHODES

Chapitre 3 : Matériel et méthodes

I - L'objectif

Devant la recrudescence des cas de fasciolose enregistrées dans les abattoirs et celles passées inaperçu dans les élevages, les pouvoirs publics ont tiré la sonnette d'alarme devant cette parasitose en soulignant l'importance de cartographier les zones à risque afin de mettre en place un plan de surveillance. Cette étude réalisée dans les élevages de la région de Boumerdes et de Reghaia va permettre de connaitre le taux d'infestation réelle à *Fasciola hepatica* en s'appuyant sur une étude tout d'abord coprologique et sérologique puis sur une évaluation histologique validée par un cas avéré de foie douvé récupéré au niveau de l'abattoir de Thénia.

Nombreuses études antérieurs réalisées au niveau des abattoirs Algériens ont révélé des contaminations bovines par la douve du foie à Alger (El Harrach), 5.63% (Terchi et *al*., 2014) Ain bessam wilaya de Bouira de l'ordre de 17% (Maidi et merniche, 2017), Sétif 1.37% (Arroussi et Djoudi, 2016) et Boufarik 0.31% en sont un exemple concret.

Certes, il existe de nombreux moyens de dépistage de cette parasitose très souvent onéreuse obligeant les vétérinaires à trouver des outils alternatifs et dont la plus utilisée et la plus concluante est sans conteste l'inspection des foies au niveau des abattoirs car la coprologie bien que révélatrice, elle reste néanmoins approximative du fait de l'excrétion aléatoire et périodique des œufs de douve (Massade, 2010).

II - Présentation de la zone d'étude

Carte 2 : Cartographie représentative des différentes zones de prélèvements (www.odej-boumerdes.dz/Boumerdes/Site-geo.html)

II -1 Boumerdes (36° 46'00N3° 28' 00 E)

Wilaya côtière comprenant 9 Daïras et 32 communes, elle s'étend sur une superficie de 1456,16 Km^2 avec 100 Km de profil littoral allant de cap de Boudouaou El Bahri à l'ouest, à la limite Est de la commune d'Afir, cernée à l'Est par Alger et à l'Ouest par Tizi ouzou.

Le relief de la wilaya de Boumerdes se divise en plusieurs unités physiques : Les plaines et les vallées au nord, les collines et les plateaux dans la partie intermédiaire et les montagnes au sud.

II -2 Reghaia (36° 44'00N 3°21'00 E)

La commune de Reghaia située sur une vaste plaine du nord de la Mitidja et à environ 28 Km au Nord-est de la wilaya d'Alger. Elle possède une petite bordure côtière au nord.

Au nord de la commune se trouve une zone de marais humides avec un lac de 75 hectares (2.5 Km de long).

II -3 La couverture végétale

La région de Boumerdes est une wilaya à vocation agricole, elle comprend 22 951 ha d'espaces forestiers composés de bois, sous bois et maquis, la superficie agricole représente 68% de la superficie totale de la wilaya.

Toutefois de nombreux hectares de terres agricoles ont été abandonnés au détriment de vignobles ce qui a été préjudiciable pour les élevages et les zones de pâtures.

Quant à la région de Reghaia, le nord de celle-ci est composé d'une grande zone agricole, très fertile, à prédominance maraichère.

II -4 Les paramètres climatiques

Les données climatiques sur dix ans (1999-2008) comprenant les wilayas de Boumerdes et d'Alger ont été récupérées auprès de l'Office Nationale de Météorologie (O.N.M) de Dar el Beida, analysées puis regroupées dans deux tableaux.

Tableau 3 : Moyennes mensuelles de la pluviométrie, des températures minimales et maximales de la wilaya de Boumerdes.

	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Aout	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
m T (C°)	**8,88**	8,97	10,49	12,4	15,24	18,39	21,08	22,04	19,9	17,73	12,78	10,1
M T (C°)	15,9	16,19	17,74	19,89	21,99	25,11	27,91	**29,13**	26,89	25,11	19,87	16,88
T moy	12,35	12,59	14,12	16,15	18,63	21,76	24,5	25,59	23,39	21,43	16,32	13,49
P moy (mm)	125,02	53,12	68,075	42,895	71,92	6,27	2,07	6,71	38,2	39,77	121,23	168,4

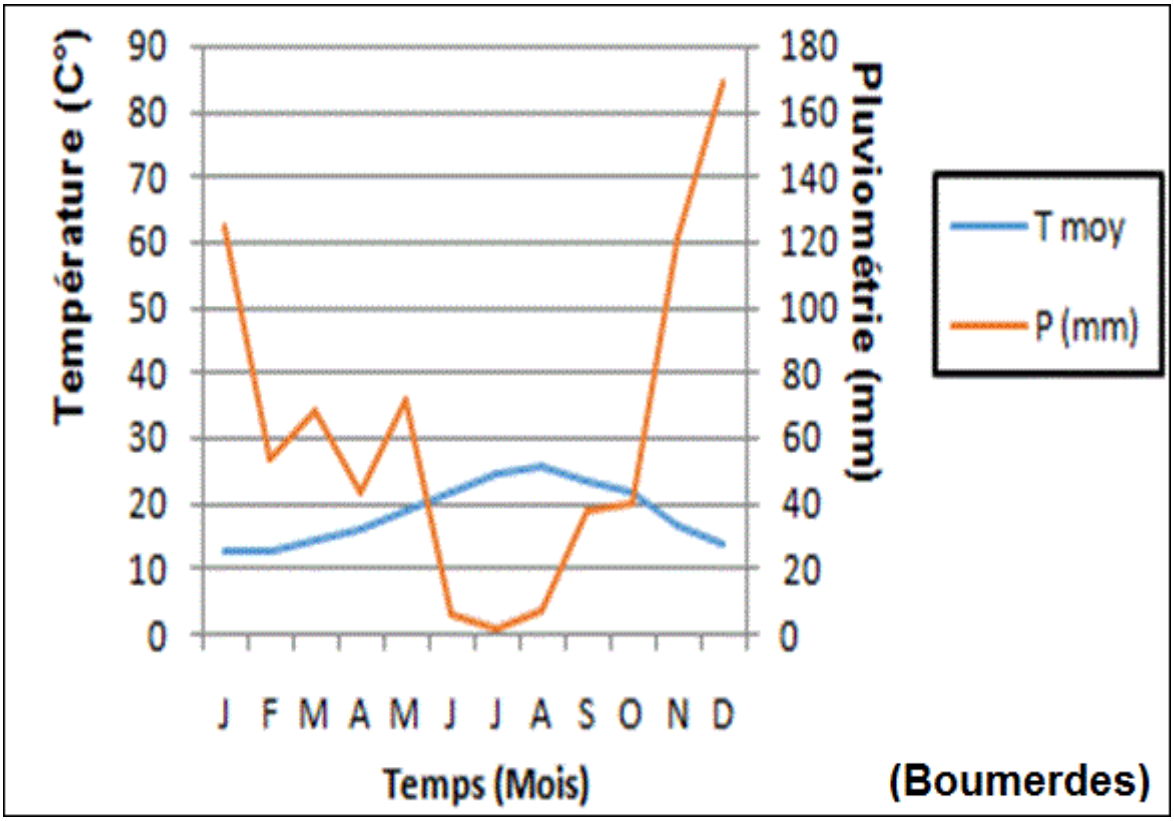
Tableau 4: Moyennes mensuelles de la pluviométrie, des températures minimales et maximales de la wilaya d'Alger (Reghaia).

	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Aout	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
m T (C°)	**4.81**	5.09	7.52	9.26	12.89	16.52	19.28	20.18	17.64	14.92	9.56	6.8
M T (C°)	16.92	17.04	20.14	22.24	25.33	29.64	32.11	**32.85**	29.81	26.98	20.64	17.53
T moy	10.85	11.25	13.83	15.74	19.1	23.08	25.71	26.52	23.72	20.96	15.13	12.19
P moy (mm)	76.24	75.64	47.82	55.45	48.89	4.91	2.61	10.68	26.76	52.13	107.37	98.43

Afin de déterminer le type de climat associé à nos deux régions d'étude, nous avons dans un premier temps calculé le quotient pluviométrique d'Emberger puis le diagramme ombro-thermique de Gaussen.

L'analyse a permis d'identifier les étages climatiques de nos zones d'études. Celles-ci possèdent un climat très humide dépassant largement les 70% d'humidité durant tous les mois de l'année. Les températures moyennes maximales sont atteintes au mois d'Aout et les minimales au mois de Janvier.

Le diagramme ombro-thermique de Gaussen nous a renseigné sur la période aride qui se caractérise par le croisement des mois de faible pluviométrie avec les mois de forte chaleur en l'occurrence la période sèche se situe entre le mois de juin et octobre pour la wilaya de Boumerdes et de mai à octobre pour la région de Reghaia.



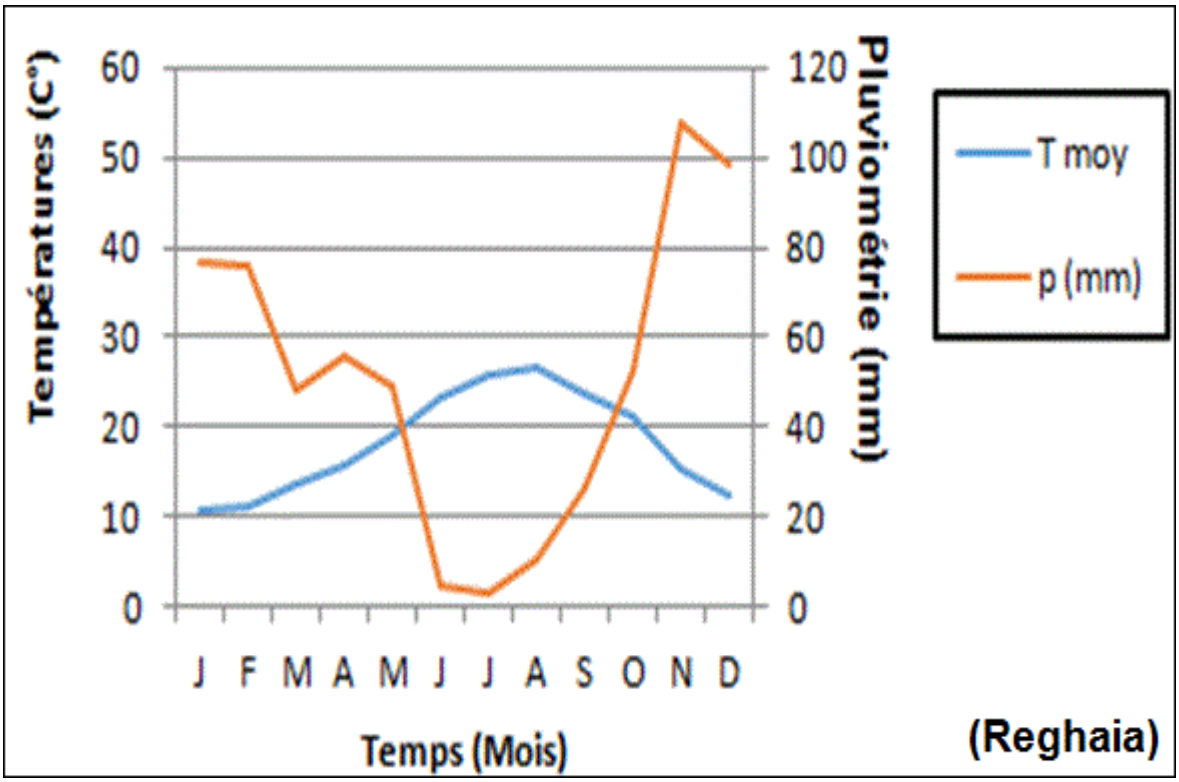


Figure 5: Diagramme ombro-thermique de Gaussen relatif à la wilaya de Boumerdes et Reghaia **(T.moy : Température moyenne, p (mm) : Pluviométrie)**

Le quotient pluviométrique d'Emberger (Khanfouci, 2005) permet de determiner l'étage bioclimatique de la région d'étude:

Q_2: quotient pluviométrique d'Emberger

P : Précipitations moyennes annuelles en mm

M: Moyenne des maxima du mois le plus chaud en degrés Kelvin

m : Moyenne des minima du mois le plus froid en degrés Kelvin

1 Kelvin = Température en C° + 273

Q_2= 743,70* 2000/ (29, 13 + 273) ² - (8,79 + 273) ² .

Le quotient pluviométrique d'Emberger Q_2 est de **125,23** pour la wilaya de Boumerdes**.**

Q_2=606,95* 2000/ (32,85+ 273)^2 – (4,81+ 273)^2.

Le quotient pluvimétrique d'Emberger Q2 est de 74.11 pour la région de Reghaia.

En combinant le quotient Q2 et la moyenne des températures minimales du mois le plus froid (m) sur un climagramme, ce dernier classe notre zone d'étude dans l'étage bioclimatique subhumide.

III - Echantillonnage

Notre experimentation s'est déroulée de novembre 2014 à novembre 2015. Environ 14 prélèvements sanguins et coprologiques ont été réalisés sur des bovins au niveau de l'abattoir de thénia provenant tous de la wilaya de Boumerdes (**Beni amrane, Afir, Ammal, Beni aarab, Bordj Menaïel, Chabet El Ameur...etc**).

Avec une moyenne de dix bovins abattus par jour, sur un mois de prélèvement seul 14 provenaient de Boumerdes et uniquement 1 cas était positif à *Fasciola hepatica*.

Rapidement, nous avons constaté que la plupart des bovins provenaient des régions Est de l'Algérie. Les informations recueillies sur site (abattoir) ont été établies sur la base des allégations des maquignons. De ce fait, nous avons été contraints de revoir notre protocole d'échantillonnage, nous avons donc opté pour une étude antémortem dans des élevages bovins de la wilaya de Boumerdes et la région de Reghaia.

Ainsi, 143 bovins ont fait l'objet de notre étude. Les prélèvements ont été récoltés au niveau des fermes privées de la wialya de Boumerdes (Ben choud, Beghlia, Oued aissa, Bordj Menaïel) et de Reghaia (Les aisset, Heraoua) sur des bovins de sexe, d'âge et de race différentes (Tableaux 5 et 6).

Tableau 5: Nombre de prélèvements effectués dans les deux zones d'études en fonction du sexe.

Sexe \ Régions	Boumerdes (n=87)	Reghaia (n=56)
Mâles	12	03
Femelles	75	53

Tableau 6: Nombre de prélèvements effectués dans les deux zones d'études en fonction des races.

Régions\ Races	Montbéliarde	Holstein	Croisée	Locale	Normande
Boumerdes	59	19	07	01	01
Reghaia	15	26	15	0	0

Les echantillons ont été étiquetés puis codifiés en utilisant une lettre alphabétique pour identifier la ferme à prélever suivi d'un chiffre en fonction du nombre de bovins prélevés par ferme (**Exemple:** Ferme A1 à A13).

Photo 3: Elevage bovin situé à proximité de Oued Sebaou (La ferme E) (Taibi A., 2015).

Photo 4: Elevage bovin situé dans la localité de Bordj Menael (La ferme F) (Taibi A., 2015)

IV - Prélèvements

Muni de gants appropriés, un échantillonnage significatif de matières fécales est récolté directement du rectum des bovins. Cette étape visant à éliminer toute probabilité de contamination croisée avec les autres animaux du même élevage. Les prélèvements sont préservés dans les gants par retournement.

Parallèlement, dix millilitre de sang sont prélevés de la veine jugulaire de chaque bovin dans un tube sec.

Les tubes préalablement préparés, portés les renseignements suivants (La ferme, le sexe, l'âge, la race et la région). Les prélèvements sont ensuite transportés sous réserve de froid le plus vite possible au laboratoire de Parasitologie et de Mycologie de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire où nous avons procédé à leur centrifugation (3000 rpm durant 5 minutes); les tubes aliquotés sont directement transférés dans des tubes Eppendorfs et congelés à -20°C jusqu'à la réalisation des tests.

Une fiche d'accompagnement renfermant les informations relatives aux bovins a été remplie par nos soins en présence du vétérinaire traitant et du propriétaire de la ferme (Annexe 3). Le questionnaire a été rédigé afin d'orienter l'étude. Nous avons exploité statistiquement tous les aspects relatifs aux animaux par ferme (nombre d'animaux, sexe, âge et race). Par exemple nous avions mentionné sur notre fiche qu'aucun animal n'a été traité, cela suggère qu'il est impossible de faire une étude comparative, toutefois, nous avons rapporté les données quantitatives (biochimie et immunologie). Il a été difficile voir même impossible d'avoir des réponses concernant la fiche due probablement à l'ignorance des éleveurs.

V - Analyses coprologiques

V -1 Méthode de sédimentation

Les matières fécales déposées dans un mortier sont délayées avec de l'eau du robinet, filtrées grossièrement à travers un passe thé ou une gaze, puis sédimentées durant toute une nuit. Le surnagent jeté, l'opération est reconduite plusieurs fois jusqu'à ce que le sédiment devienne plus ou moins clair et dépourvu de détritus.

Une goutte de sédiment est déposée entre lame et lamelle puis observée sous microscopie

photonique d'abord au faible grossissement (x100) puis au plus fort (x400) jusqu'à épuisement de la totalité du sédiment ou lorsque la lame se révèle positive (présence d'œufs de *Fasciola hepatica*).

VI - Analyse immuno- enzymatique (test ELISA)

Le kit IDEXX Fasciolosis est un test immuno-enzymatique qui détecte les anticorps dirigés contre *Fasciola hepatica* à partir d'échantillons individuels ou d'un mélange de sera ou de lait de tank.

Principe de la méthode

Les microplaques prêtes à l'emploi sont alternativement sensibilisées avec un antigène de contrôle négatif (-Ag) et un antigène positif f2 (+Ag). Les sera sont mis à incuber dans les puits de la microplaque sensibilisée en présence d'anticorps spécifiques de l'antigène à rechercher (f2). Il se forme dès lors des complexes immuns dans les puits (+Ag).

Après un premier lavage, le conjugué immunoglobuline anti ruminants couplé à une enzyme est mis à incuber. Ce dernier se fixe sur les complexes immuns, après un second lavage, le substrat de l'enzyme est distribué dans les puits. En présence de l'enzyme, le substrat est oxydé et développe une coloration bleue virant au jaune après distribution de la solution d'arrêt. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'anticorps anti f2 présente dans les sera testés.

DON (Densité optique nette)= quantité d'**AC** (Anticorps) spécifique de **Ag** (Antigène) f2.

DON=Do des puits (+Ag) - Do des puits (-Ag).

Description de la méthode

190µl de tampon de dilution N°2 (Tableau 7 Annexe 1) sont réparties dans les 96 puits de la microplaque sensibilisée. Nous distribuons par la suite 10µl de contrôle négatif non dilué dans un puits (-Ag) colonne impaire et un puits (+Ag) colonne paire puis nous procédons à la distribution de 10µl de contrôle positif non dilué dans deux puits renfermant les antigènes (-Ag) (+Ag).

10µl de chaque sérum bovin non dilué sont réparties dans les puits restants de la microplaque.

La microplaque est ensuite déposée sur un agitateur afin d'homogénéiser le contenu, elle sera recouverte d'un film plastique adhésif et mise à incuber durant 1 heure à 37°C.

Une fois l'incubation terminée, les puits de la microplaque sont vidés par retournement puis rincés avec 300µl de la solution de lavage diluée au 1/20 (Annexe1). Successivement, 100µl du conjugué dilué au (1/100) (Annexe1) est distribué dans chaque puits de la microplaque, elle est recouverte puis incubée une seconde fois à 37°C durant 30 minutes.

Trois autres lavages à raison de 300µl par puits de solution de lavage diluée seront nécessaires. L'ultime lavage servira à éliminer le liquide résiduel.

100µl du substrat TMB n°13 sera déposé dans les 96 puits de la microplaque et remise à incuber dans l'obscurité pendant 20 minutes à une température comprise entre 18-26 °C.

L'opération sera achevée par l'ajout de 100µl de solution d'arrêt n°3 dans tous les puits de la microplaque, la lecture s'effectuera à la longueur d'onde de 450 nm.

Photo 5: Composition du Kit IDEXX ELISA fasciolose (Taibi. A., 2016)

Photo 6: Laveur de microplaque (Taibi A., 2016)

Photo 7: Agitateur et incubateur de microplaque (Taibi A., 2016)

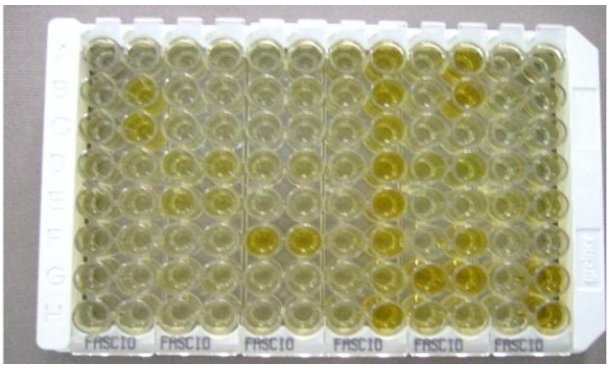


Photo 8: Plaques à barrettes, 96 puits pour test ELISA (Taibi A., 2016)

VII - Analyses biochimiques (Kit BIOLABO)

Nous avons procédé à l'analyse de plusieurs facteurs biochimiques (Proteines totales, Albumine, phosphatase alcaline, γ GT, ALAT et ASAT) ayant un rapport direct ou indirect avec la fonction hépatique (intégrité du parenchyme hépatique) en utilisant des kits près a l'emploi vendus dans le commerce. pour cela, nous avons apporté au laboratoire du LRZA, les sera que nous avions réservé à cette fin en suivant le protocol suivant :

VII -1 Les protéines totale (PT)

Principe

Les protéines donnent une coloration bleue violacée en milieu alcalin en présence de sels de cuivre. Ces sels contiennent de l'iodure qui agit comme un antioxydant. L'intensité de la colortion formée est proportionnelle à la quantité de protéines totales du sérum analysé.

Méthode

Les réactifs décrits dans le tableau 8 (Annexe 2) sont utilisés dans le dosage des protéines totales. La première étape consiste à allumer le spéctrophotomètre puis le regler à la longeur d'onde de 540 nm enfin, nous procédons à l'analyse des sera bovins comme décrit dans le tableau suivant :

Tableau 9 : Protocole de dosage des protéines totales

	Blanc	**Etalon**	**Echantillon**
R (ml) (Tableau7)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	--	25	--
Echantillon (µl)	--	--	25

Le tout est mélangé et incubé à 37°C ou à température ambiante durant 10 minutes, par la suite nous lisons l'absorbance de l'étalon et de l'échantillon en comparaison avec le blanc du réactif.

Le calcule se fait selon l'equation suivante :

$$\frac{Echantillon-Blanc}{Etalon-Blanc}\ x\ 7\ (Etalon\ concentré) = \boldsymbol{g/dl}\ \ de\ protéines\ totales$$

VII -2 L'albumine

Principe

Le vert de bromocrésol se combine à l'albumine à un pH de 4.2 pour former un complexe coloré dont l'absorbance à la longeur d'onde de 630 nm est proportionnelle à la concentration en albumine dans le sérum analysé.

Méthode

Tout d'abord les réactifs Tableau 10 (Annexe 2) sont ramenés à température ambiante puis nous procédons au dosage suivant les étapes décrites dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Protocole de dosage de l'albumine

	Blanc	Etalon	Dosage
Réactif	2 ml	2ml	2ml
Eau distillée	10µl	-	-
Echantillon	-	-	10µl
Etalon	-	10µl	-

Après mélange, nous mesurons dans les trois minutes qui suivent, la densité optique (DO) de l'échatillon contre le blanc à 630 nm.

Le calcul est déterminé selon l'équation suivante :

$$Albumine = \frac{Abs\ (Dosage)}{Abs\ (Etalon)}\ X\ 50\ (concentration\ de\ l'etalon).$$

VII -3 La phosphatase alcaline (PAL)

Principe

Les phosphatases alcalines catalysent l'hydrolyse du p- nitrophénylphosphate en p-nitrophénol et phosphate en milieu alcalin.

La vitesse d'apparition du p-nitophénol et la variation d'absorbance à 405 nm est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline de l'échantillon.

Méthode

Le spectrophotomètre est réglé à la longueur d'onde de 405nm. Les sera sont amenés à température ambiante puis agités à l'aide d'un vortex.1 ml du réactif (Tableau 12) (Annexe2) est déposé dans une cuve de 1cm de trajet optique, nous laissons la température s'équilibrée à 37°C puis nous additionnons un volume de 10µl de sérum puis nous mélangeons.

Nous effectuons la lecture après 1 minute puis toutes les minutes pendant 3 minutes.

Les résultats sont calculés selon la formule suivante :

UI/L= (ΔAbs/ min) X 5450 (Facteur théorique).

VII -4 La Gamma glutamyl transférase (ɣGT)

Principe

La vitesse de formation du p-nitroaniline est proportionnelle à l'activité de la γ GT dans le sérum.

Méthode

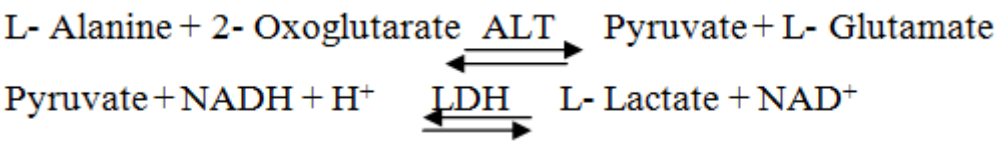
Nous avons déposé dans une cuve 1 ml de réactif (Tableau 13)(Annexe 2) et 50µl de l'échantillon à analyser, bien mélanger puis nous avons lu l'absorbance à 405 nm à 30 secondes puis toutes les minutes durant trois minutes. Le calcul se fait sur la base de cette formule :

Gamma GT (UI/L)= (Abs/min) X 2121 (Facteur théorique)**.**

VII -5 Alanine aminotransférase/ le glutamate pyruvate transaminase (ALAT/TGP)

Principe

Schéma réactionnel de l'enzyme TGP/ALAT :



La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD+ est proportionnelle à l'activité de l'ALAT dans le sérum analysé.

VII -6 Aspartate amino transférase ou transaminase glutamique- oxaloacétique (ASAT/TGO)

Principe Schéma réactionnel de l'enzyme TGO/ASAT

Méthode

Nous avons récupéré nos prélèvements et les réactifs (Tableau 14 et 15) (Annexe 2) du congélateur et nous les avons ramené à température ambiante puis nous avons déposé 1ml du réactif dans une cuve de 1 cm de trajet optique que nous laissons à température se stabiliser à 37°C. Nous additionnons par la suite 100µl de notre sérum, nous mélangeons bien et nous lisons l'absorbance à 1 minute puis toute les minutes durant 3 minutes à la longueur d'onde de 340nm et ce pour les deux enzymes hépatiques ALT et AST.

Enfin, nous réalisons le calcul de la moyenne des variations d'absorbance (Δabs/ min).

ALAT ou ASAT UI/L= (ΔAbs/ min) X 1746 (Facteur théorique)**.**

VIII - Analyses histologiques

Afin d'identifier les éventuelles lésions hépatiques, une analyse microscopique a été réalisé sur deux foies, l'un sain et l'autre distomien récupérés lors d'une inspection au niveau de l'abattoir de Thénia, ce dernier provenant d'un élevage suspecté positif.

Nous nous sommes reposées sur la technique de coloration au Trichrome de Masson modifié « Goldner ».

Les prélèvements de foie fixés dans du formol tamponné à 10%, sont transportés au laboratoire du LRZA (Laboratoire de recherche sur les zones arides) pour traitement. Les pièces histologiques ont subi une série de déshydratation dans des bains d'alcool croissants puis clarifiées dans deux bains de xylène, l'imprégnation à la paraffine se fait dans

les rapports (V:V) volume à volume dans une étuve réglée à 60°C suivi de deux bains de paraffine pure d'une heure chacun. La confection des blocs terminés, ils seront conservés au froid.

Des coupes de 5µm de diamètre seront réalisées à l'aide du microtome **(LEICA RM 2125 RT),** les fines bandes obtenues sont déposées sur une lame préalablement répandue de gélatine à 1%, les lames ainsi préparées sont étalées sur une plaque chauffante de type BINDER à 40 °C afin d'éviter au maximum la formation de plis et entraver la lecture ultérieure des lames.

Les lames sont mises à l'étuve pendant 24 heures à une température de 20 à 25 °C puis elles sont plongées dans deux bains de xylène de 5 minutes chacun afin d'ôter les résidus de paraffine.

Les lames sont introduites dans des bains d'alcool décroissants (100°, 96° et 70°), 5 minutes chacun puis 10 minutes dans l'Hémalun de Groat. Un rinçage à l'eau du robinet qui permet la réhydratation totale de l'organe mais également qui permettrait d'ôter tout résidu de colorant qui pourrait persister.

Colorer dans une solution de Fushine Ponceau durant 5 minutes, puis rincer dans deux bains d'acide acétique à 1%, mordancer dans de l'acide phospho-molybdique durant 3minutes.

Sans rincer, colorer les lames dans le vert lumière 15 minutes puis rincer à nouveau les lames histologiques dans deux bains d'acide acétique à 1%.

Les lames sont épongées sur du papier absorbant après chaque étape précédemment décrite.

La déshydratation consiste à plonger les lames 5 minutes dans des bains d'alcool croissants 70°,96°,100° et un bain de xylène.

L'ultime étape consiste au montage entre lame et lamelle en présence d'une goutte de l'Eukitt.

IX - Observation au microscope électronique à balayage (MEB)

Après avoir identifié les lésions hépatiques sur coupes histologiques, des doutes subsistants sur certaines structures identifiées comme amorphes, nous a obligé à pousser nos investigations en utilisant un outil plus performant le (MEB ou SEM).

L'analyse d'un fragment hépatique par microscopie électronique à balayage FEI Quanta 250 (SEM/EDX) couplé à un détecteur d'électrons secondaires (LFD) sans pré traitement de l'échantillon a été réalisée. Le MEB est utilisé en mode sous vide (10 à 130 Pa) pour l'imagerie et la microanalyse des échantillons non conducteurs sans prétraitement avec un grossissement de 41 à 600 fois. L'image est prise à 10.00 Kv, les particules sont analysées par différents détecteurs qui permettent de reconstruire une image de la surface de l'échantillon en trois dimensions.

X - Etude statistique

Les données ont été initialement organisées sur une feuille de calcul Excel, puis importées dans le logiciel statistique XLSTAT (Version 2017). Dans notre étude, la prévalence de *Fasciola hepatica* a été calculée en pourcentage. L'analyse ANOVA a été utilisée pour déterminer l'association statistique entre les taux d'infection et les trois facteurs de risque épidémiologiques (âge, sexe et race) qui pourraient probablement contribuer aux infections de la douve du foie chez les bovins.

Des tests de comparaison multiples ont également été réalisés pour comparer la réponse immunologique à l'infection (présence sérologique d'anticorps anti-f2 de *F.hepatica*) et les enzymes hépatiques incluant les taux de protéines et d'albumine entre les régions (Boumerdes et Reghaia) puis entre les élevages (fermes de A à M).

Une association statistiquement significative entre les variables a été considérée comme existante si la valeur p calculée est inférieure à 0.05 avec un niveau de confiance de 95%.

RESULTATS

Chapitre 4 : Résultats

Afin d'établir la prévalence de *Fasciola hepatica,* 143 bovins ont été testés dans 13 fermes réparties dans deux régions de l'Ouest Algérois (Boumerdes et Reghaia).

I - Analyse coprologique

La coprologie a révélée la présence d'œufs allongés, jaunâtres et operculés correspondant aux œufs de *Fasciola hepatica* dans les fèces de 11 bovins (Photo 9) avec des taux d'infestations de l'ordre de 6.90% et 8.93% respectivement pour les régions de Boumerdes et Reghaia.

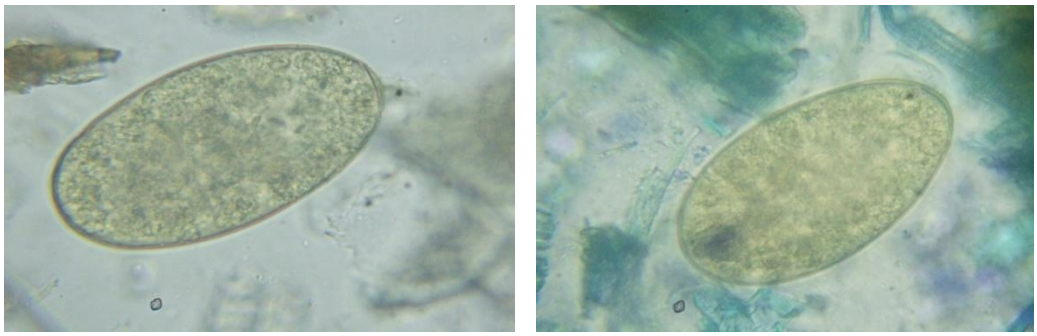


Photo 9: Œuf de *Fasciola hepatica* isolés après sédimentation (Gx400) (Taibi A., 2015)

II - La sérologie

La prévalence totale à l'infestation par la fasciolose bovine est de l'ordre de 22.37% avec une répartition légèrement plus élevée pour la région de Boumerdes (24.13%) par rapport à celle de Reghaia (19.64%) (Tableau 16).

Tableau 16 : Taux d'infestation des bovins à *Fasciola hepatica* dans les deux régions étudiées

	Taux d' l'infestations (%) (Densité optique)					**Valeur de p**			
Régions	**absence**	**Basse**	**Moyenne**	**Forte**	**Infestation globale**	**Age**	**Sexe**	**Race**	**Coprologie**
Boumerdes (n=87)	75.86	5.75	9.19	9.19	24.13	NS	NS	NS	p<0.0001
Reghaia (n=56)	80.36	5.36	10.71	3.57	19.64	NS	NS	p=0.021	p<0.0001

Dans le tableau 16 sont représentés les niveaux d'infestations chez les bovins. Il semblerait que ces niveaux soient quasi semblables excepté une plus forte infestation pour les bovins de Boumerdes.

Sur l'ensemble des 13 fermes étudiées, 9 se sont révélées positives à l'infection avec une hétérogénéité dans l'expression de cette parasitose. Le tableau 17 montre des taux de 59.09%, 36.84% et 10% respectivement pour les fermes C, D et E dans la région de Boumerdes versus 75%, 33.34%,66.67%, 28.56%,5.88%, 6.25% dans les fermes G, I, J, K, Let M pour la région de Reghaia. Nous notons également que quatre fermes sur les 13 étudiées semblent indemnes de cette zoonose.

Nous avons réalisé des tests statistiques intégrant indépendamment quelques facteurs (âge, sexe, race et coprologie) afin d'estimer si ces derniers sont susceptibles d'exercer une quelconque influence sur la prévalence, la fréquence, la distribution et l'évolution de cette distomatose hépatique (tableau16). Il ressort des résultats obtenus que la coprologie est hautement significative ($p<0.0001$) dans les deux régions d'étude par opposition aux facteurs âge, sexe et race qui ne présentent aucune significativité pour Boumerdes avec une petite exception concernant le facteur race dans la région de Reghaia ($p=0.021$).

La prospection sur site (fermes d'élevages) montre que la coprologie se révèle très significative pour la ferme « D » avec un niveau de significativité de l'ordre de $p=0.0003$ alors qu'aucun autre facteur semble intervenir dans l'expression de la pathologie.

En s'appuyant sur les données enregistrées dans le tableau 17, nous notons aucune significativité par rapport aux facteurs sexe et race pour toutes les fermes confondues excepté la ferme E ($p<0.0001$). Parallèlement l'âge semblerait jouer un rôle déterminant pour les fermes G ($p=0.002$) et I ($p=0.001$).

Tableau 17 : Prévalence de l'infestation à *Fasciola hepatica* dans les 13 fermes (A à M) en fonction de l'âge, du sexe et de la race.

			Prévalence de l'infestation (%)				Valeur de p			
	N°	Fermes	Pas	Basse	Moyenne	Forte	Age	Sexe	Race	Coprologie
Echantillons n=143	1	**A** (n=13)	100	0	0	0	NS	-	NS	-
	2	**B** (n=13)	100	0	0	0	NS	-	NS	-
	3	**C** (n=22)	40.91	18.18	27.27	13.64	NS	-	NS	-
	4	**D** (n=19)	63.16	0	10.53	26.31	NS	NS	NS	p=0.0003
	5	**E** (n=10)	90	10	0	0	NS	p<0.0001	p<0.0001	-
	6	**F** (n=10)	100	0	0	0	NS	-	NS	-
	7	**G** (n= 4)	25	25	50	0	p=0.002	NS	NS	p=0.056
	8	**H** (n=3)	100	0	0	0	NS	NS	NS	-
	9	**I** (n=6)	66.67	0	16.67	16.67	p=0.001	-	NS	-
	10	**J** (n=3)	33.33	0	66.67	0	NS	-	NS	NS
	11	**K** (n=7)	71.43	14.28	14.28	0	NS	-	NS	NS
	12	**L** (n= 17)	94.12	0	0	5.88	NS	-	NS	-
	13	**M** (n=16)	93.75	6.25	0	0	NS	NS	NS	-

Tableau 18 : Analyse des différences entre les modalités (coprologie, race et sexe) en fixant la variable dépendante (anticorps anti-f2) et explicative (âge).

		Anticorps anti-f2				
Boumerdes	Age	p=0.003	p=0.017	p=0.001	p=0.022	-
	Coprologie	p<0.0001	p<0.0001	p<0.0001	-	p<0.0001
	Race	NS	NS	-	NS	NS
	Sexe	NS	-	p=0.035	p=0.010	NS
Reghaia	Age	NS	NS	NS	NS	-
	Coprologie	p=0.020	p=0.018	p<0.0001	-	p=0.009
	Race	NS	NS	-	p=0.021	NS
	Sexe	NS	-	NS	NS	NS

Dans le tableau18, nous avons effectué des comparaisons multiples dans le but de se rapprocher le plus de l'état *in vivo* chez les bovins en fixant les anticorps anti-f2 comme variable dépendante et le facteur âge comme variable explicative tout en intégrant le sexe, la race et la coprologie comme facteurs qualitatifs. Le découpage du tableau 18 en colonnes montre différentes significativités en fonction des variables intégrés, ainsi l'étude statistique consolide et renforce les données de la coprologie. Fixés dès le départ, l'âge exprime incontestablement son rôle dans la région de Boumerdes alors qu'il est loin de l'être dans la région de Reghaia. Indépendamment des facteurs suscités, la race (p=0.021) et le sexe (p=0.010) s'expriment favorablement dans l'une et l'autre des régions après avoir éliminé systématiquement la coprologie de l'équation (colonne N°4). Ce phénomène se reproduit dans la colonne N°3 en soustrayant le facteur race (sexe : p= 0.035).

III - Analyse biochimique

Afin d'explorer la fonction hépatique, nous nous sommes basés sur les valeurs cliniques des paramètres biochimiques. Les résultats enregistrés dans le tableau19 affichent les moyennes sériques en fonction de l'âge. Ces derniers sont subdivisés en deux catégories : les protéines (Anticorps anti-f2, protéines totales et l'albumine) et les enzymes hépatiques.

L'analyse relative aux protéines montre une certaine disparité dans leur expression en fonction de l'âge. En effet, on remarque globalement l'effet de l'infection sur le niveau moyen d'albumine uniquement dans la région de Boumerdes (p= 0.051).

Des taux qui oscillent entre des valeurs minimales de 363.26 ± 42.93 µmol / l et maximales de 806,75 ± 75,04 µmol / l respectivement dans les fermes G et F. Bien que les niveaux d'anticorps anti-f2 soient positifs (≥ 30%) dans la wilaya de Boumerdes, aucune différence significative n'a été rapportée alors que quelques particularités ont été révélées dans les fermes G (79.75% ± 37.64, p= 0.002) et I (57.81% ± 32.77, p= 0.001) de la région de Reghaia. Le tableau 19 montre également de faibles niveaux d'anticorps signalés dans les fermes A (3.18 % ± 1.49), B (3.86% ± 1.41), E (7.43% ± 5.32), F (1.14 % ± 0.25), H (5.56 % ± 3.44) et M (3.06% ± 2.03). Parallèlement, les répercussions et les conséquences de l'infection bien que non significative dans les deux régions pour les protéines totales montrent quelques exemples positifs disséminés dans les ferme B (106,71 g/l ± 3,79, p = 0,049), H (76,00 g/l ± 7,31, p = 0,005) et I (97,77 g/l ± 4,97, p = 0,004). Malgré que les élevages des fermes A (107.56 ± 5.54 g/l) et B (106.71 ± 3.79 g/l) soient indemnes de distomatose hépatique et présentant des taux moyens relativement proches, seul le taux protéique des bovins de la ferme B affiche une significativité (p=0.049).ceci serait probablement due à l'analogie des âges. En effet, cette ferme renferme des bovins âgés de 36 (n=4) et 48 mois (n=8). La répartition moyenne des protéines assujettie à l'infection n'a pas véritablement apporté une prévalue à l'étude.

Compte tenu de leur rapport, certains indicateurs enzymatiques sont de potentiels marqueurs lésionnels de la fonction hépatique. Dès lors, nous nous sommes limités à l'analyse de quatre d'entre eux à savoir : La PAL, La γ GT, l'ASAT et l'ALAT.

La réponse hépatique à l'infestation parasitaire est aussi résumée dans le tableau ci-dessous (Tableau19) et montre que la valeur moyenne des 143 bovins est classée dans les limites physiologiques à quelques exceptions. Les résultats obtenus révèlent que seule la phosphatase alcaline est très voir hautement significative dans les régions de Reghaia (65.98 ± 6.54 UI/L, p= 0.001) et Boumerdes (72.92 UI/L ± 6.01, p<0.0001). Des valeurs maximales 123.89 ± 56.41 UI/L et minimales 42.82 ± 3.76 UI/L sont respectivement observées dans les fermes H et K. La fasciolose provoque également l'élévation de l'ASAT observée dans les fermes G (73,77 ± 28,62 UI / L) et K (67,84 ± 8,76 UI / L), ce qui suggère probablement une lésion hépatique au regard des valeurs individuelles. En outre, l'effet de l'âge sur l'expression de l'ASAT n'a pu être enregistré que dans la région de Boumerdes (26.54 UI/L ± 1.19, p=0.013) et dans la ferme I (30.15 ± 5.83 UI/L, p= 0.055) de la région de Reghaia.

Il semblerait au regard des données obtenues dans les élevages que les fermes présentent des significativités variables en fonction du facteur âge. La ferme A est significative pour les facteurs PAL (84.52 UI/L ±18.67, p=0.050) et ɣGT (9.61UI/L ±0.87, p=0.053), alors que la ferme D est statistiquement significative [(101.85 UI/L±12.80, p=0.015) (13.25 UI/L ±1.58, p=0.041), (6.63 UI/L ± 0.62, p=0.009) respectivement pour la PAL, la γ GT et ALAT.

Nous avons voulu explorer un autre aspect de l'infestation parasitaire à *Fasciola hepatica* en étudiant la réponse infection-sécrétion sur le profil sérique des variables étudiées en excluant toutes les variables qualitatives. Cette approche nous a donc permis de constater que seule la γGT est hautement significative p<0.0001 au niveau de la région de Boumerdes. A contrario, la réponse à l'infestation parasitaire se manifeste différemment avec une albumine et une ASAT respectivement très significative p=0.001, p=0.002 dans la région de Reghaia.

Les résultats s'expriment autrement dans les élevages, en effet la ferme « A » montre des taux de production d'albumine très significatifs p=0.004 en réponse aux taux d'IgG circulant.

Cette tendance se manifeste différemment pour les fermes « B » p=0.009 et « D » p=0.001 ou la γGT présente des valeurs relativement basses mais néanmoins très significatives.

Par opposition à la ferme I (protéines totales: p = 0,013, AST: p = 0,038, ALT: p = 0,046) Illustrant parfaitement le pouvoir infectieux de la distomatose hépatique, les fermes restantes(C, E, F, G, H, J, K, L et M) semblent être indemnes selon l'analyse statistique.

Tableau 19 : L'expression des paramètres sérologiques (X ± ESM) après l'infestation à *Fasciola hepatica* en fonction de l'âge dans les fermes et au sein des deux régions

		Paramètres sérologiques													
	Fermes	Anticorps anti-f2 (%)		Proteines totales (g/l)		Albumine(µmol/l)		PAL (UI/L)		γ GT (UI/L)		AST (UI/L)		ALT (UI/L)	
Boumerdes	A		3.18 ± 1.49 NS		107.56±5.54 NS		423.31±21.84 NS		84.52±18.67 P=0.050		9.61±0.87 P=0.053		23.95±2.15 NS		9.59±1.25 NS
	B		3.86 ±1.41 NS		106.71±3.79 P=0.049		408.65±18.61 NS		55.54±7.09 P=0.044		9.58±0.49 NS		25.83±2.01 NS		8.34±0.77 NS
	C		72.72±15.48		92.78±3.02		554.89±20.69		65.07±15.30		11.65±0.66		34.85±3.02		10.21±1.03
		NS	NS	NS	NS	P=0.051	NS	P<0.0001	NS	NS	NS	P=0.013	NS	NS	NS
	D	36.31±7.31	73.87±23.11 NS	96.02±2.10	92.73±5.20 NS	503.66±18.63	476.50±17.71 NS	72.92±6.01	101.85±12.80 P=0.015	10.93±0.45	13.25±1.58 P=0.041	26.54±1.19	23.20±2.37 NS	8.23±0.42	6.63±0.62 P=0.009
	E		7.43±5.32 NS		74.83±3.00 NS		367.43±26.34 NS		70.03±10.93 NS		10.33±0.65 NS		18.52±1.69 NS		5.60±0.93 NS
	F		1.14±0.25 NS		101.7±6.08 NS		806.75±75.04 NS		45.61±6.12 NS		9.00±0.76 NS		26.87±2.09 NS		7.65±0.87 NS
Reghaia	G		79.75±37.64 P=0.002		69.45±5.50 NS		363.26±42.93 NS		51.23±3.83 NS		12.51±2.20 NS		73.77±28.62 NS		7.65±0.87 NS
	H		5.56±3.44 NS		76.00±7.31 P=0.005		395.57±36.55 NS		123.89±56.41 NS		9.40±1.20 NS		28.52±2.54 NS		4.42±0.41 NS
	I		57.81±32.77 P=0.001		97.77±4.97 P=0.004		366.03±23.87 NS		96.74±33.25 NS		9.79±0.78 NS		30.15±5.83 P=0.055		11.35±0.89 NS
	J	NS	79.76±40.58 NS	NS	81.4±3.47 NS	NS	369.75±68.62 NS	P=0.001	71.39±11.24 NS	NS	10.32±0.82 NS	NS	41.32±9.80 NS	NS	10.07±3.31 NS
		24.74±6.41		81.86±2.33		593.98±31.24		65.98±6.54		11.99±0.59		38.53±3.37		9.3±0.69	
	K		28.43±12.83 NS		80.16±11.47 NS		389.77±24.82 NS		42.82±3.76 NS		16.24±2.64 NS		67.84±8.76 NS		14.91±2.21 NS
	L		12.66±9.58 NS		84.27±4.29 NS		695.89±29.21 NS		54.80±8.40 NS		13.97±0.99 NS		38.37±2.69 NS		8.71±1.18 NS
	M		3.06±2.03 NS		78.37±2.99 NS		796.18±55.71 NS		68.26±12.28 P=0.001		9.50±0.49 NS		22.53±2.89 NS		7.03±0.83 NS

IV - Le facteur sexe

Bien que les femelles soient en supériorité numérique (Femelle : 75 Vs Mâle : 12), il n'en demeure pas moins que les mâles de Boumerdes soient plus atteints (n=4, 33.33%) que les femelles (n=17, 22.67%) par opposition à la région de Reghaia ou seules les femelles (Femelles : 53 Vs Mâle : 3) sont parasités à un taux de 20.75%, (n=11). Du point de vu statistique, seul la région de Boumerdes montre des significativités pour les protéines totales p=0.022, la phosphatase alcaline p= 0.004 et ALAT p= 0.017 en fonction du facteur sexe ce qui illustre son rôle dans l'expression de certains paramètres.

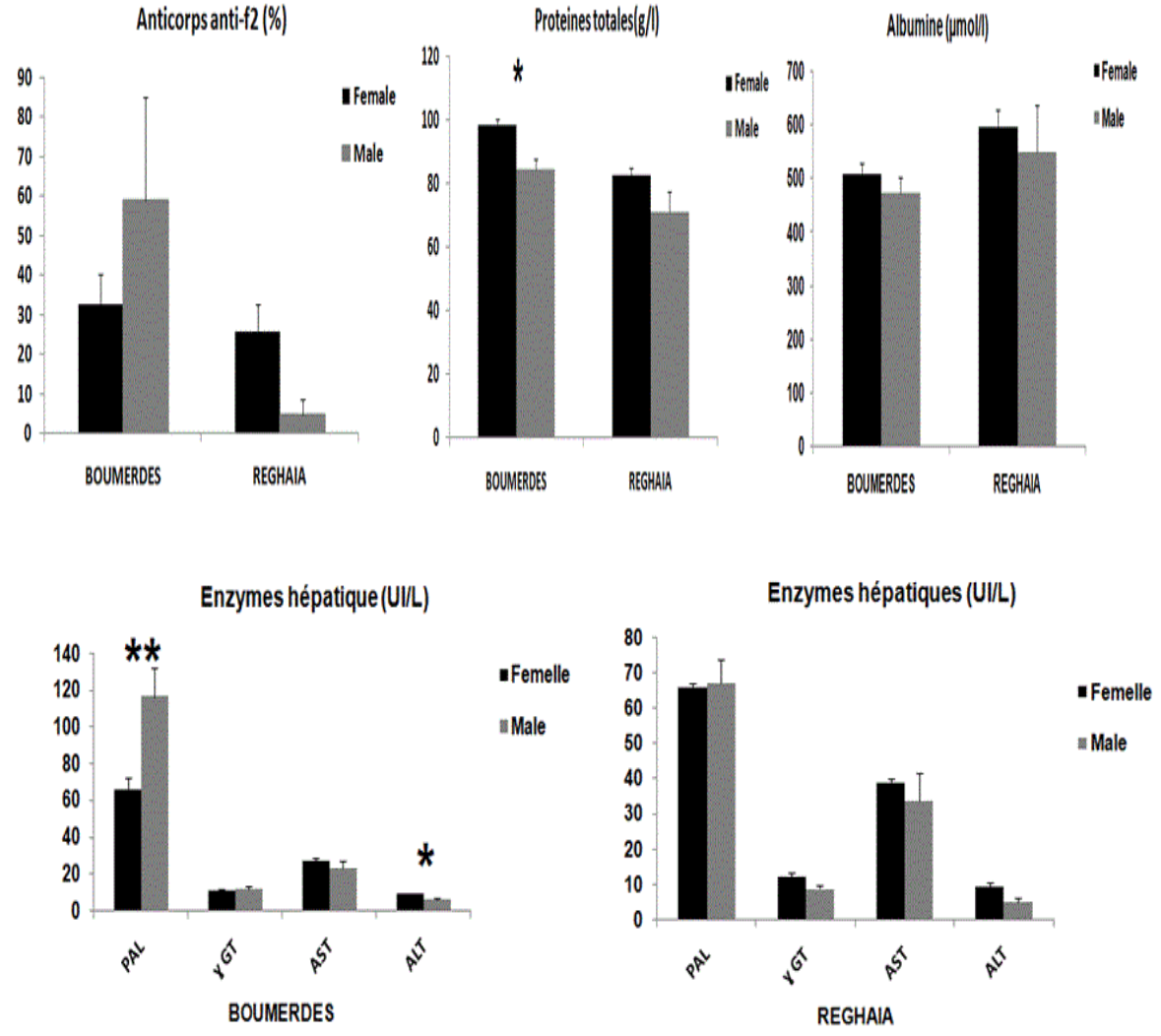


Figure 6: Evaluation des taux d'anticorps anti-f2 de *Fasciola hepatica*, des proteines totales, de l'albumine et des enzymes hépatiques en réponse à l'infection parasitaire en fonction du sexe dans les deux régions d'étude.

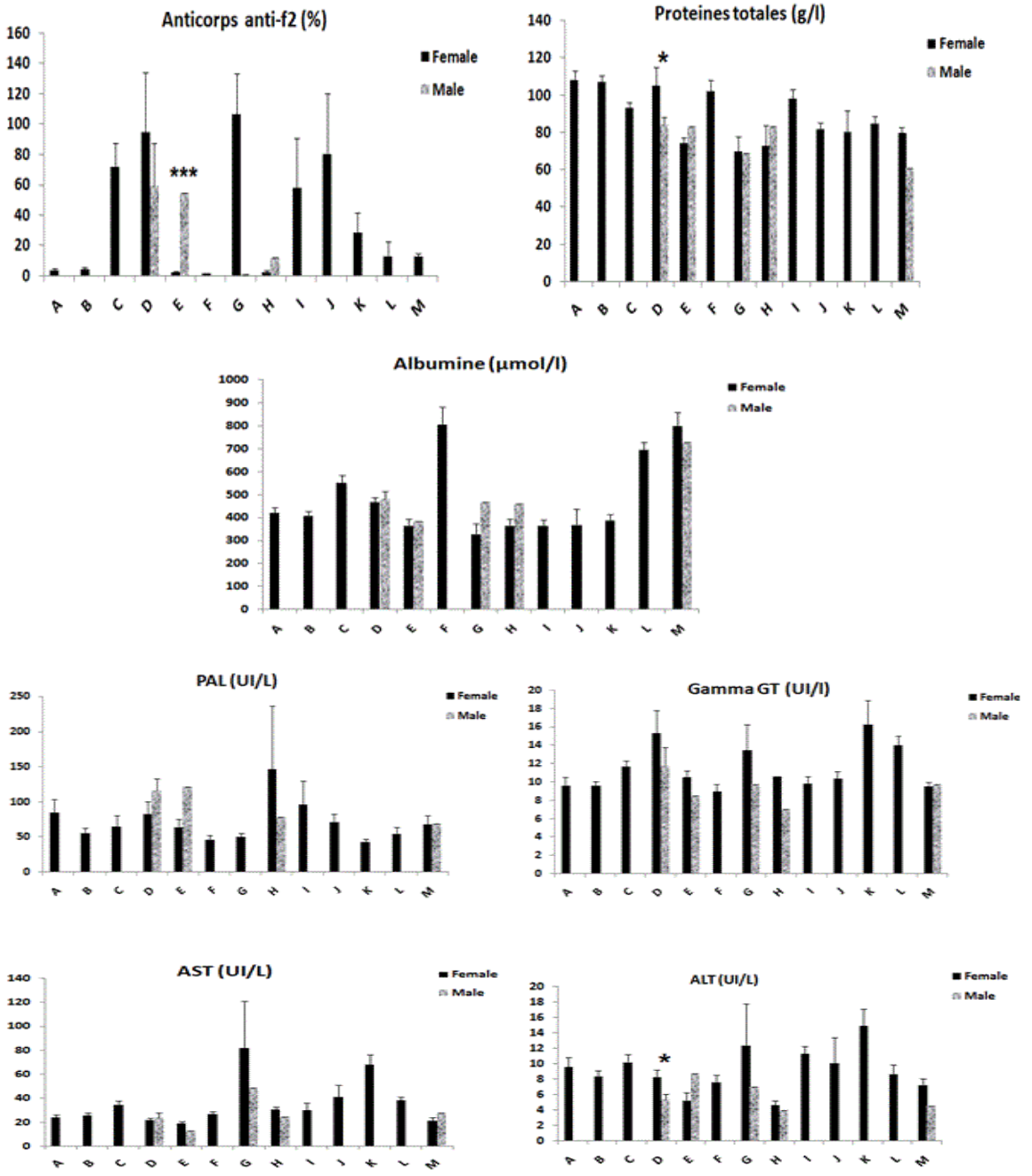


Figure 7: Evaluation des taux d'anticorps anti- f2, des protéines totales, de l'albumine et des enzymes hépatiques en fonction du sexe dans les 13 fermes sélectionnées (Aà M).

PAL: Phosphatase alcaline; **Gamma GT**: Gamma glutamyl transpeptidase; **AST**: aspartate aminotransférase; **ALT**: alanine aminotransférase

Les bovins mâles de la ferme « E » présentent un taux d'infestation de 100% avec une différence hautement significative $p<0.0001$ entre les mâles (54.79 % ± 0.00) et les femelles

(2.17 % ± 0.89) tel qu'il est démontré dans la figure 7. Nous notons également l'effet du facteur sexe sur le taux des protéines totales (Femelles : 104.54 ± 10.16 Vs Mâles : 84.14 ± 3.74, p=0.05) et de l'ALAT (Femelles : 8.27 ± 0.90 Vs Mâles : 5.44 ± 0.67, p=0.020).

V - Le facteur race

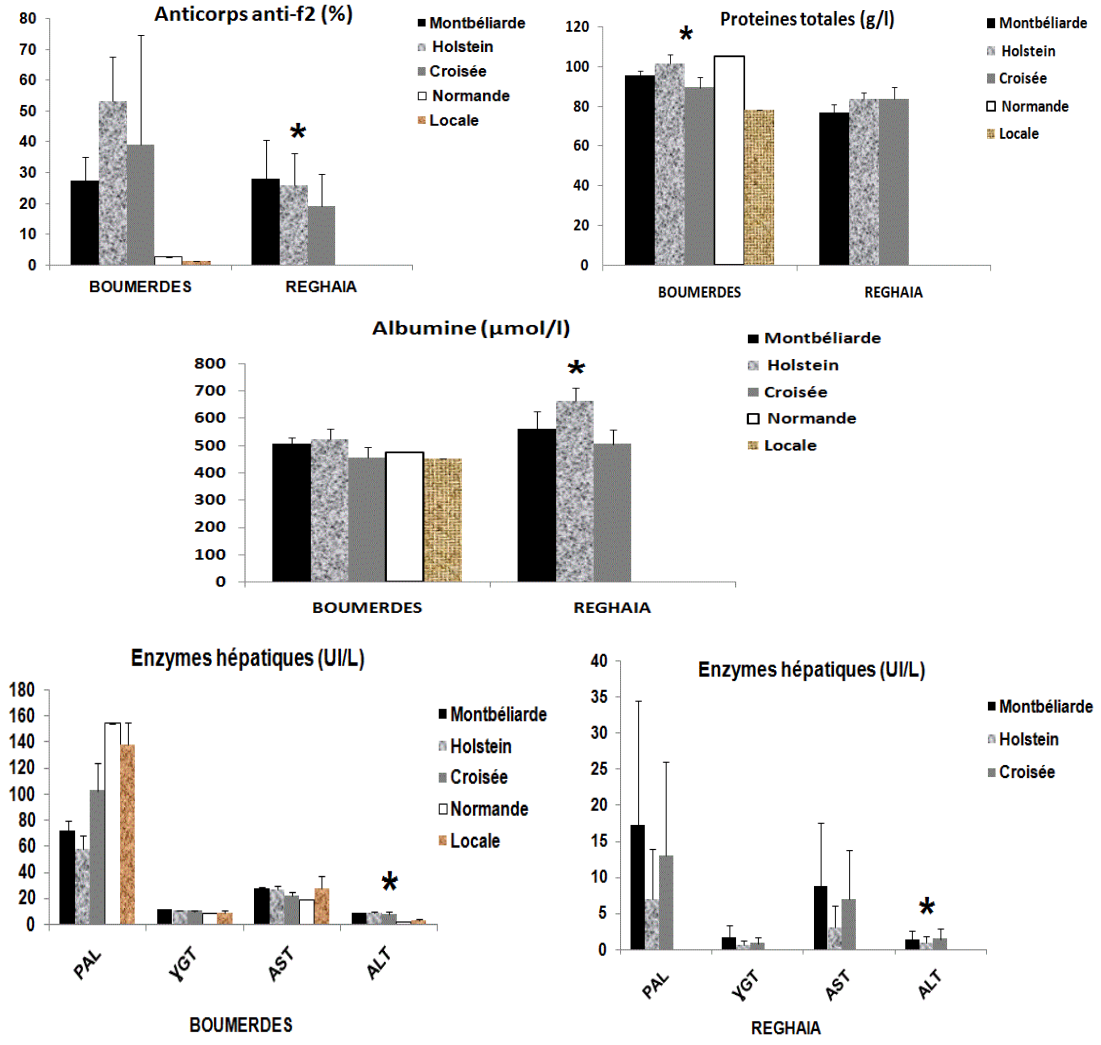


Figure 8: Evaluation des taux d'anticorps anti-f2 de *Fasciola hepatica*, des protéines totales, de l'albumine et des enzymes hépatiques en fonction du facteur race dans les deux régions d'étude.

Sur l'ensemble de l'échantillonnage analysé, 5 races ont été répertoriées : Montbéliarde **(Mo)** , Holstein **(Ho)** , Croisée **(Cr)** , Normande **(No)** et la Locale **(Lo)** . Compte tenu de la diversité des races bovines dans les élevages prospectés, il nous a paru évident d'analyser l'implication de ce facteur sur l'expression de la parasitose (taux IgG).

En effet, dans la région de Boumerdes nous notons une forte infestation des bovins Holsteins (47.37%) suivie des Montbéliards (18.64%) et des croisées (14.28%). Cette tendance s'inversera à Reghaia où l'atteinte des bovins Montbéliard (26.67%) dépasse celles des Holstein (19.23%) et des croisés (13.33%).

Statistiquement, les niveaux de protéines totales se révèleront significatifs (p=0.051) entre les différentes races de la région de Boumerdes alors que le pourcentage d'anticorps (p=0.021) et d'albumine (p=0.046) se manifestera uniquement chez quelques bovins de la région de Reghaia. Parallèlement, l'ALAT est le seul facteur s'exprimant conjointement dans les deux régions (Boumerdes Vs Reghaia) et présentant un intérêt statistiquement significatif (p=0.015 Vs p=0.056).

La figure 9 illustre les niveaux d'infestation (taux IgG) par ferme. En effet, nous remarquons une inégalité dans l'expression de la parasitose telle que décrite : C (**Mo** : 50% Vs **Ho** : 70%), D (**Mo** : 50 % Vs **Ho** : 50% Vs **C** : 20%), G (**Mo** : 33.33% Vs **Ho** : 100%), I (**Mo :** 33.33% Vs **Ho :**100%), J (**Ho :**100% Vs **Cr** :50%), K(**Mo** : 50% Vs **Cr** :33.33%), L (**Ho :** 14.28%) et M (**Ho :** 7.69%) mais qui ne reflète pas l'intégrité statistique à l'exception de la ferme E (p<0.0001) dont la prévalence touche 100% des bovins Holstein et une innocuité totale pour la race Montbéliarde. Nous notons également que sur les 13 fermes ; quatre (A, B, F et H) sont indemnes de distomatose hépatique et ce quelque soit la race.

Contrairement à l'albumine qui ne présente aucune différence significative dans l'ensemble des fermes étudiées, les protéines totales de la ferme C semblent répondre favorablement (p=0.020) en faveur des Montbéliardes (**Mo** : 88.67 g/l ± 3.90) et des Holstein (**Ho** : 97.72 g/l ± 4.41).

L'expression des enzymes hépatiques témoignent d'une disparité au sein des fermes pour le paramètre phosphatase alcaline ou nous enregistrons une différence statistique pour les fermes G (**Mo** : 55.04UI/L ± 0.54 Vs **Ho** : 39.78UI/L ± 0.00 ; p= 0.005) et M (**Mo** : 75.57 UI/L ± 41.35 Vs **Ho** : 66.57UI/L ± 12.88 ; p=0.021).

Parallèlement, nous observons une γ GT dans les nomes entre les trois races constituant la ferme L (**Mo :** 17.44UI/L ± 2.71, **Ho :** 14.06UI/L ± 1.37, **Cr :** 11.56UI/L ± 0.77 ; p=0.037). Au regard des profils repris dans la figure 9, l'ALAT et l'ASAT ne semblent pas être influencées par le facteur race.

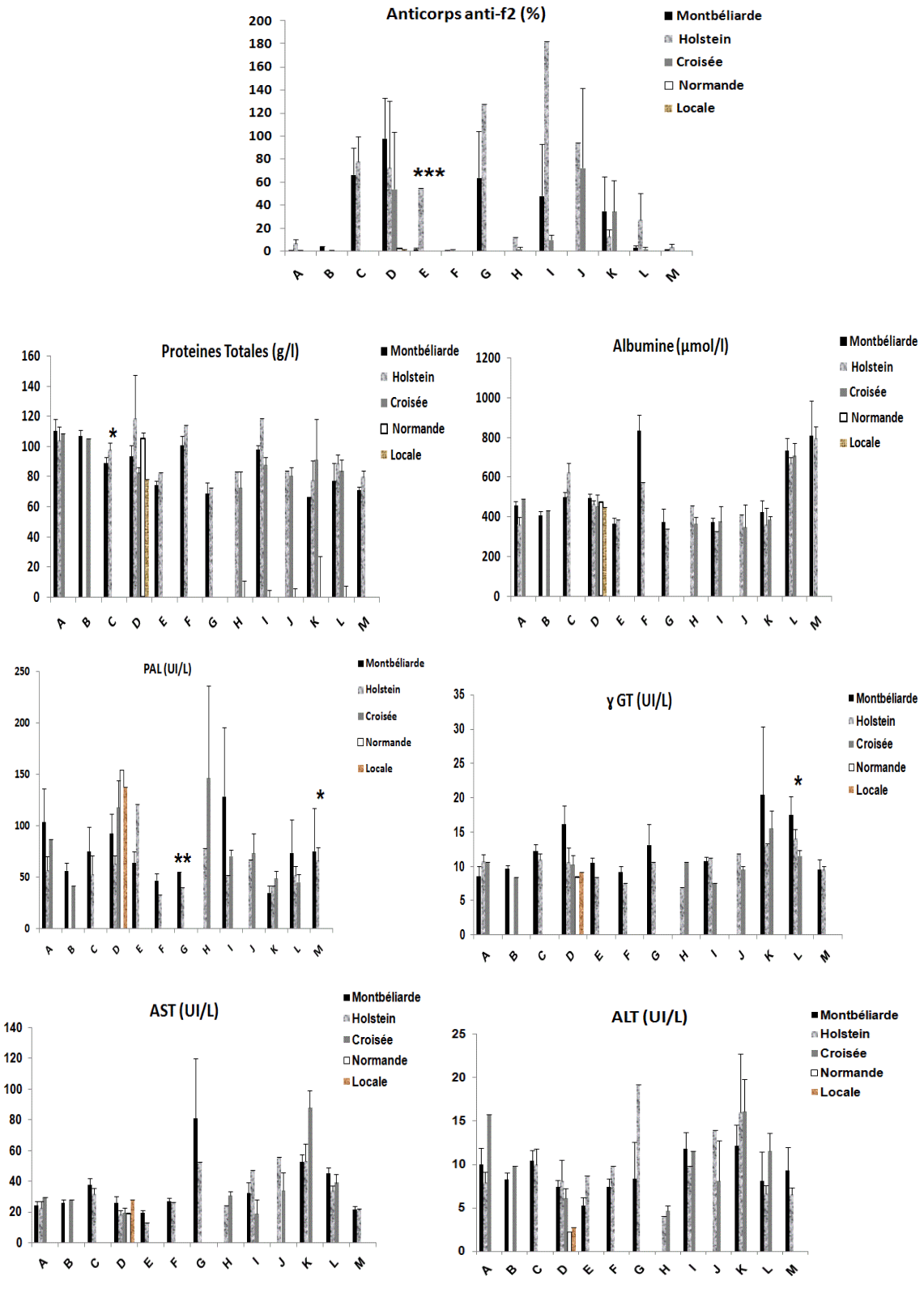


Figure 9: Evaluation des taux d'anticorps anti-f2, des proteines totales, de l'albumine et des enzymes hépatiques en fonction des races dans les 13 fermes sélectionnées (A à M).

VI - Les modifications macroscopiques

Le foie saisi à l'abattoir de Thénia montre des signes de distomatose hépatique qui se caractérisent par une augmentation du volume de l'organe avec modification de la couleur évoluant vers la pâleur. A la surface du foie nous constatons la présence de sillons blanchâtres formés probablement par le passage des douves.

A la coupe, nous notons la présence de douves de différentes tailles dans le parenchyme hépatique mais aussi un rétrécissement de la lumière des canaux biliaires et un épaississement de leurs parois avec présence de formation calcaire.

VII - Les altérations microscopiques

L'observation microscopique de la figure 10 montre une section de foie sain (a, b, c et d) avec des lobules hépatocytaires disposés radialement autour de la veine centrale (a) formant les travées de Remak séparés par des canaux sinusoïdaux et délimités par la capsule de Glisson (b). Aux angles de contact des lobules hépatiques sont localisés les espaces portaux (c et d) : la triade formée par la veine porte, le canalicule biliaire et l'artère hépatique.

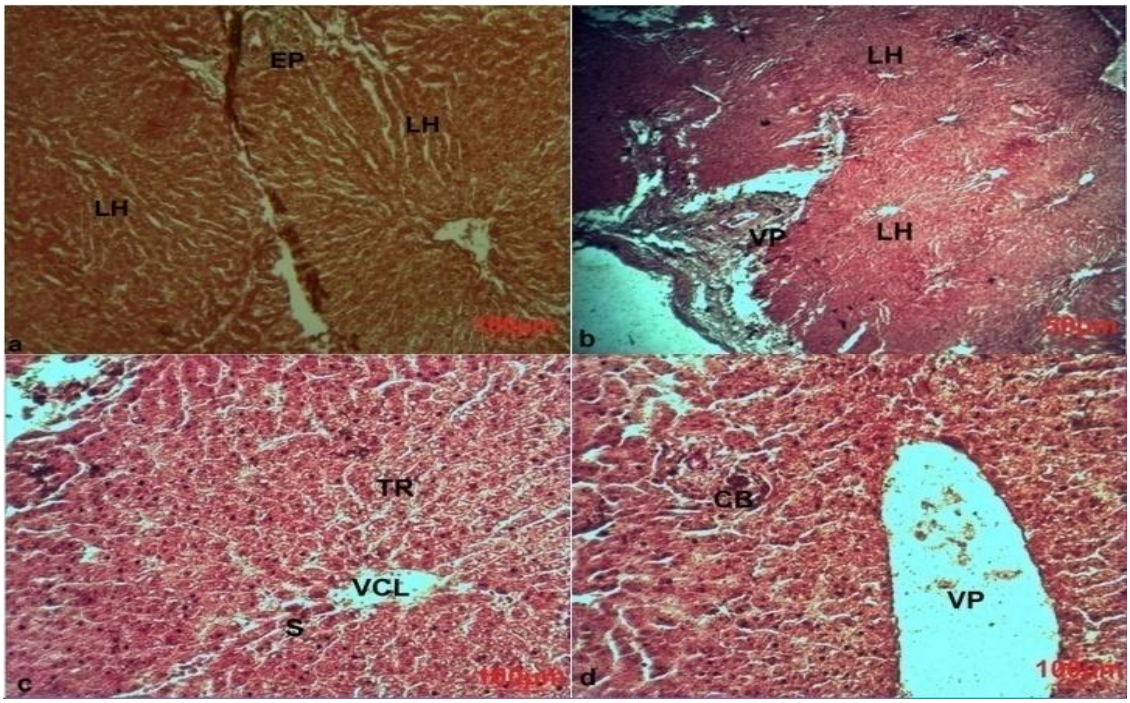


Figure 10: Coupe histologique montrant la juxtaposition de lobules hépatiques (a: Gr.X10 et X20) et la triade portale (b: Gr. X4 et Gr. X20) dans un foie bovin sain récupéré à l'abattoir et utilisé comme témoin négatif coloré au Trichrome de Masson.

La figure 11 illustre les changements architecturaux d'un foie parasité causé par la présence *de Fasciola hepatica*. Le processus pathologique montre la formation de trabécules fibreuses entre les lobules hépatiques définissant la fibrose annulaire et biliaire évoluant vers une sclérose (a). L'absence de la veine centro-lobulaire expliquerait la présence de lobules de régénération suite à une destruction partielle du parenchyme hépatique (b).

La fibrose péri portale décrite en (c) progresse vers la formation de ponts porto-portal séparant le parenchyme hépatique en nodules. Les hépatocytes piégés dans les cloisons du tissu conjonctif forment des cholangioles (d et e). L'aspect histologique de la figure 11f réfère et renvoie à un infiltrat de leucocytes portaux diffus indiquant une réponse au parasitisme.

Pris dans les canaux biliaires (figure 11g, h et i), la douve du foie apparait sous forme de débris. Le tissu cicatriciel observé autour des lobules hépatiques suggère une hépatite chronique.

La figure 11 montre la prolifération de l'épithélium glandulaire des voies biliaires qui forment un nouveau canal biliaire entouré d'un épais tissu conjonctif (a).

En effet, la fibrose portale à montré la présence d'une douve dans la lumière du canal biliaire entrainant sa destruction (b) avec infiltration massive de cellules inflammatoires (c, d et e) dans le tissu conjonctif fibreux entre les canaux biliaires nouvellement formés.

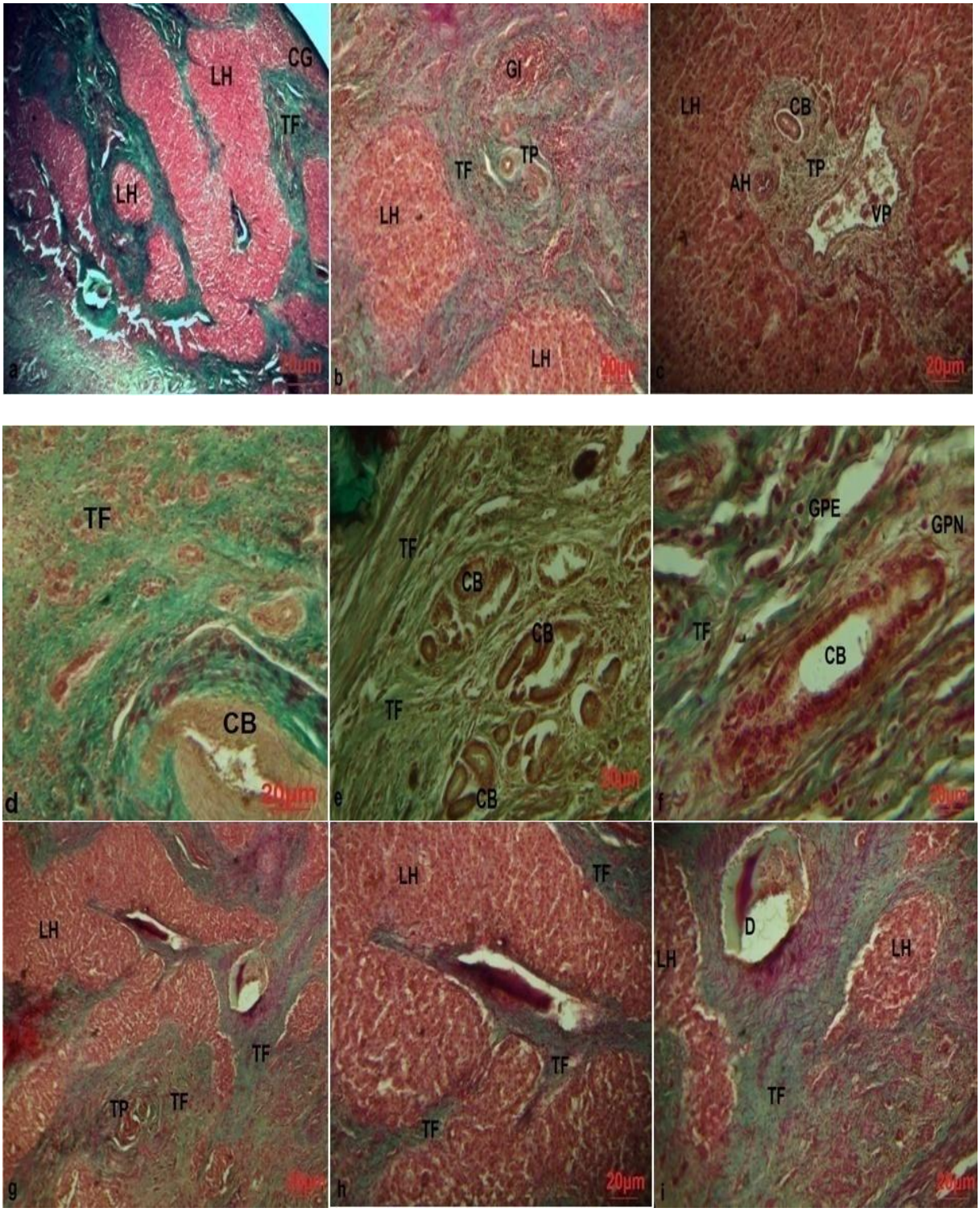


Figure 11: Coupes histologiques montrant une perturbation de l'intégrité du foie (**a**: Gr. X4, **b**:Gr.X10, **c**: Gr. X4, **d**:Gr. X10, **e**:Gr. X10, **f** : Gr.X40, **g**:Gr.X4, **h**:Gr.X10, **i:** Gr.X10) avec un leucocyte péri portal et lobulaire (Taibi A., 2017).

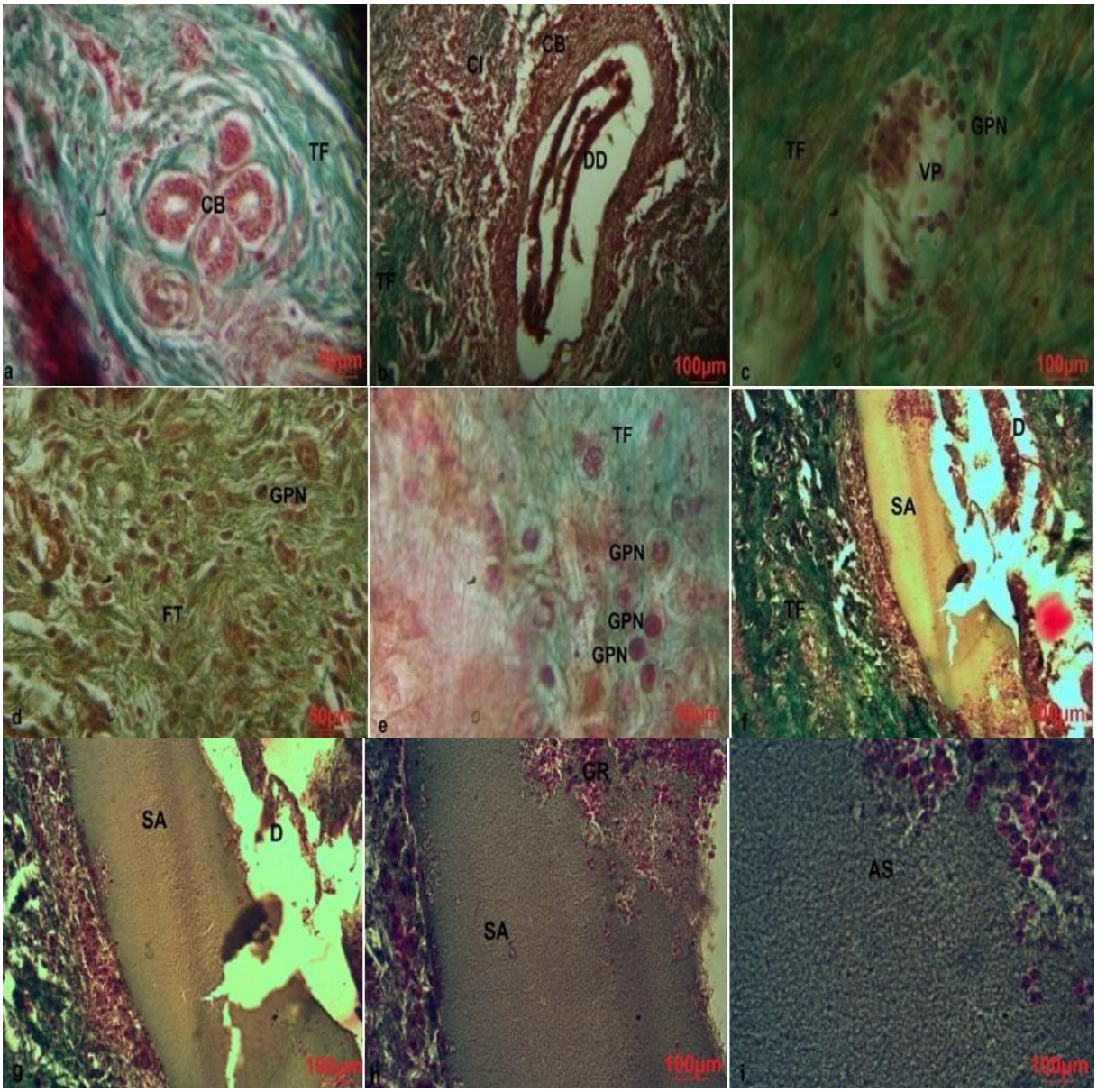


Figure 12: (**a:** Gr 40 x) Hyperplasie du canal biliaire entouré d'une épaisse couche de tissu conjonctif fibreux. (b: 10 x), (c, d, e: 40 x) Fibrose sévère de la voie biliaire avec douve immature encapsulée et dégénérescente avec suspicion d'une structure acellulaire suggérant *F.hepatica* calcifiée (**f**: 10 x, **g**: 20 x, **h**: 40 x, **i**: 100 x). (Taibi A.,2017)**.**

LH: lobule hépatique**, VCL**: veine centrolobulaire, **EP**: espace péri portal, **VP**: veine porte, **TR:** Travées de Remak, **S:** sinusoïdes, **CB:** canal biliaire**, TF:** tissu fibreux, **CG**: capsule de Glisson, **CI**: cellules inflammatoires , **GPE:** granulocytes polynucléaires éosinophiles, **GI:** granulome inflammatoire, **GPN:** granulocytes polynucléaires neutrophiles**, TP**: triade portale, **H:** hépatocyte, **AH** artère hépatique, **SA**: structure acellulaire, **De**: débris, **DD**: douve dégénérée du foie, **GR**: globule rouge.

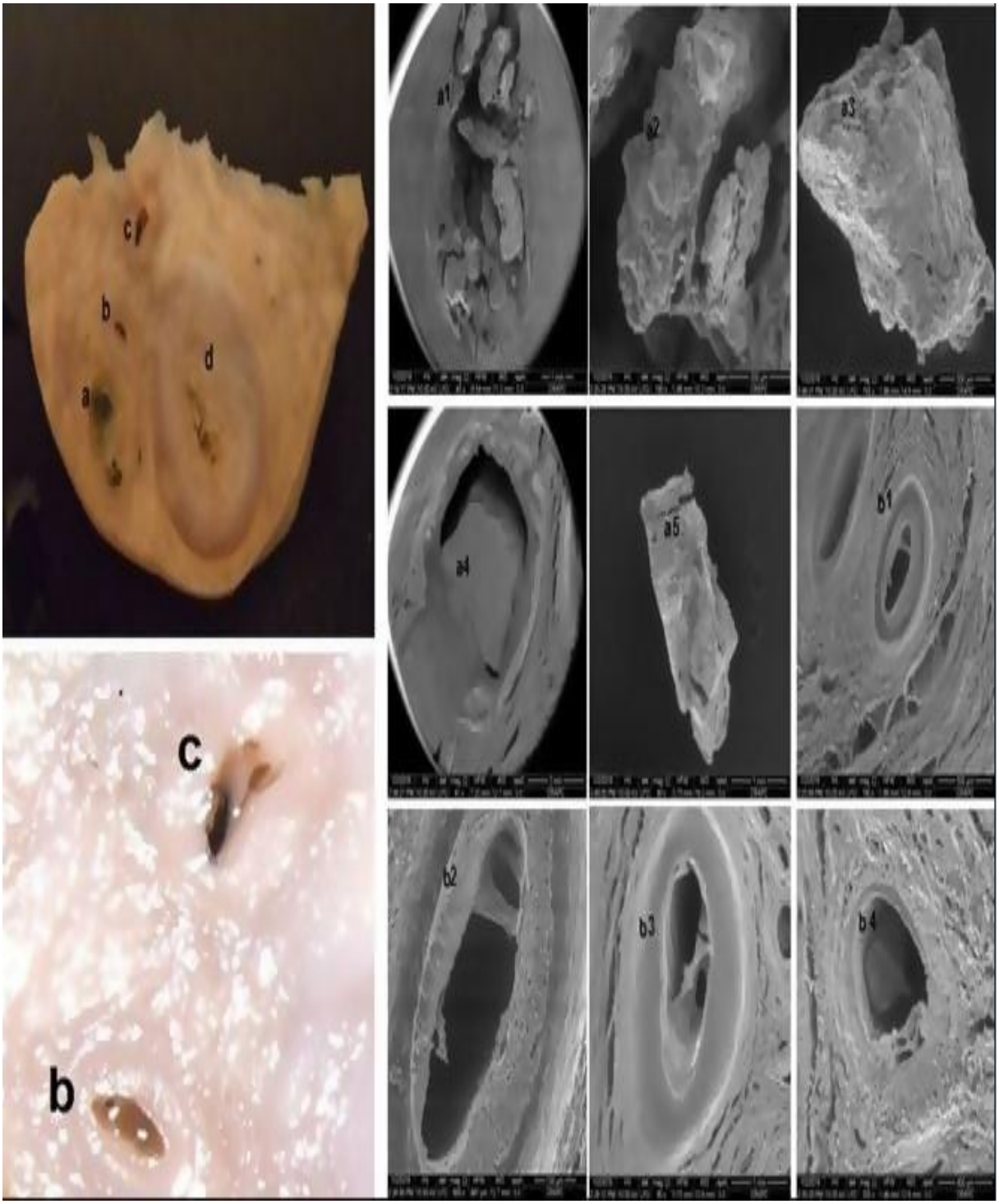


Figure 13: A gauche, image macroscopique montrant des débris de *F.hepatica* dans le canal biliaire (a, b, c et d) sur foie douvé et **A droite**, les détails des calcifications pathologiques (Gr 45x, 180x, 150x, 41x, 80x) observées au microscope éléctronique à balayage. (Figure 13a). Les longueurs des barres micrométriques représentent: **a1)** 1 mm, **a2)** 500 µm, **a3)** 500 µm, **a4)** 2 mm, **a5)** 1 mm, **b1)** 500 µm, **b2)** 100 µm, **b3)** 1 mm, **b4)** 400 µm respectivement (Taibi A., 2017).

Comme représenté sur les figures 13f, g, h et i, une forme acellulaire longitudinale jaunâtre observée à différents grossissements s'infiltre dans le parenchyme hépatique provoquant sa désorganisation. Au centre, des débris cellulaires entourant un matériau amorphe sont observés.

Les lésions macroscopiques observées sur la figure 13 (a, b, c et d) montrent un épaississement circonférentiel de la paroi des voies biliaires avec rétrécissement de la lumière suggérant une cholangiopathie inflammatoire.

Cette réaction ductulaire est considérée comme secondaire à la présence de la douve du foie.

L'image au microscope électronique à balayage (MEB) (a1) du canal biliaire du foie montre une structure dense contenant une formation calcaire confirmée par les images a2, a3, a4, a5.

En fait, le mode SEM permet de collecter des données structurelles et topologiques fines en même temps qu'un aperçu de l'intérieur de l'échantillon.

En plus des calcifications pathologiques (b1) précitées, des formations poreuses (b2, b3, b4) apparaissent au niveau des voies biliaires suggérant un remodelage de celles-ci.

DISCUSSION

Chapitre 5 : Discussion

L'épidémiologie de la fasciolose bovine et sa distribution géographique sont autant de facteurs susceptibles de nous renseigner sur l'état sanitaire des élevages, pour cela nous avons orienté notre étude sur une action prospective en amont afin de détecter cette zoonose très souvent découverte en abattoir.

Les zones de Boumerdes et de Reghaia sont situées dans des bioclimats subhumides avec une pluviométrie hivernale élevée, de fortes températures estivales et une hygrométrie dépassant souvent les 70%, ses données météorologiques sont souvent favorables au développement de parasitoses.

En effet, l'échantillonnage coprologique effectué sur 143 bovins a révélé une prévalence totale de *Fasciola hepatica* de l'ordre de 7.69% dans l'ensemble des élevages prospectés.

Cette prévalence hautement significative varie au niveau régional puisque l'on a observé un taux d'infestation de 6.90% pour Boumerdes et 8.93% pour Reghaia. Nos valeurs sont très basses par rapport à celles rapportées par Mrifag et *al*., (2012) au Maroc (32%) et Kayong et Edward., (2014) au Nigeria (37.89%), mais elles restent proches de celles enregistrées par Murthy et D'souza ., (2015) qui relèvent des taux d'infestations de l'ordre de 9.9 % lors d'une enquête réalisée à karnataka. Celles-ci demeurent toutefois plus importante (4.9%) que celles rapportées par Abunna et *al*., (2010) au niveau de l'abattoir municipal au sud de l'Ethiopie.

La prospection par ferme, nous a amené à enregistrer des taux d'infestation sérologique relativement élevées observées dans les fermes D (31.58%) près d'Oued Sebaou et G (50%) au niveau d'Oued les Aisset, ces taux s'expliquent par l'absence de traitement antiparasitaire. De plus la présence continuelle des bovins sur les zones de pâture près des Oueds en présence de gastéropodes sont autant de facteurs qui entretiennent le cycle de *Fasciola hepatica*.

Bien que l'examen coprologique ait montré ses propres limites, il reste néanmoins approprié

et adapté car la positivité de ce test confirme systématiquement les données sérologiques relatives à l'infection (présence d'anticorps anti-f2 dirigés contre *F. hepatica*) dans notre étude.

Il existe toutefois une grande variabilité dans la prévalence des infections naturelles à *Fasciola hepatica* chez les ruminants domestiques entre abattoirs et fermes. Les travaux réalisés par Salem et Touri., (2014) (3%), Terchi et *al*., (2014) (5.63%), Benazzoug et Kadi, (2016) (8.4%), Dali et *al*., (2017) (3.59%) au niveau des abattoirs d'El Harrach montrent des prévalences relativement basses. De même pour ce qui est des travaux réalisés dans l'Est Algérien, certains auteurs décrivent des prévalences de 4.40% à Sedrata et 1.66% à Draa ben khedda (Tizi ouzou) (Fermas et Chelabi., 2015), 1% à Sétif et 0.5% à Dellys (Badja et *al*., 2017). Quant à l'Ouest, la prévalence de la fasciolose au niveau de la tuerie de Boufarik a été estimée à 0.31% (Chekiri, 2015). Les valeurs rapportées sont très faibles et ne reflètent pas la réalité de l'infestation bovine. Deux hypothèses peuvent être émises : La première évoquant une superposition de plusieurs parasitoses lors de la saisie des foies. En effet, l'inspection de l'organe peut détourner l'attention du vétérinaire d'autres parasitoses pouvant biaiser le diagnostic à l'exemple de l'hydatidose. La seconde implique la distance entre le site d'abattage et la provenance des animaux d'où une sous estimation du taux réel.

Nombreuses sont les études réalisées sur la fasciolose bovine au niveau des abattoirs, mais a notre connaissance, peu de travaux ont été effectués au niveau des fermes.

En effet, les élevages montrent une répartition hétérogène de l'infection, telle que rapportée dans le sud ouest de la Tunisie (14.3%) (Hammami et *al* ., 2007). De même, la séroprévalence d'un certain nombre d'échantillons de sang chez les bovins révèle des moyennes allant de 6.3% à 35.5% en Algérie (Mekroud et *al* ., 2004).

Parallèlement, la plaine de la Mitidja avec ses différentes localités montre des taux d'infestation proches de 18.8% (Aissi et *al*., 2009). Les taux sérologiques obtenus à Boumerdes (24.13%) et à Reghaia (19.64%) sont concordants avec les travaux réalisés autour du bassin méditerranéen comme cités ci- dessus mais sont différents de ceux rapportés par Predescu et *al*., (2009) en Roumanie (63%), Salem et *al*., (2011) en France (75%), Barry et Keita, (2010) en Guinée Equatorial (44,1%), et Yildirim et *al*., (2007) en Turquie (65,2%).

Les données enregistrées par El-tahawy et *al*., (2017) dans la région du delta du Nil en Egypte montrent une séroprévalence de l'ordre de 9.77% lors de la recherche de la fasciolose bovine. Ces niveaux d'infestations seraient probablement dus à l'effectif de chaque région. L'incidence élevée de la fasciolose dans les différentes fermes : C(59,09%), D (36,84 %), E (10%), G (70%), I (33,34%), J (66,67%), K (28,56%), L (5,88%) et M (6,25%) serait en adéquation avec les variations des conditions agro-écologiques favorables à la disponibilité d'un habitat approprié à l'hôte intermédiaire.

La prévalence de la fasciolose dans les abattoirs et ces zones fluctuent considérablement entre des valeurs étrangement élevées et relativement faibles. Une hétérogénéité qui peut être associée à de nombreux facteurs, tels que les biotopes écologiques favorables, le climat, l'âge, l'éco-pédologie des sols ou l'absence de système de gestion du bétail (Boucheikhchoukh et *al*., 2012). Au-delà des données classiques et connues sur les infestations, d'autres approches ont été considérées comme l'étude des populations de lymneae et leur âge qui permettraient d'expliquer cette variabilité (Dreyfuss et *al*., 2008).

Contrairement aux études précédentes, nous pouvons confirmer que notre troupeau n'à bénéficié d'aucun traitement anthelminthique, ce qui est un excellant indicateur du niveau d'infestation. Malgré cela, nous constatons que la charge parasitaire reste changeante entre les régions et les fermes. Cela nous amène à examiner plus en aval d'autres facteurs de risque pouvant potentiellement enrichir l'équation.

I - Le facteur âge

Afin d'expliquer la variabilité intrinsèque liée à l'infection, nous avons intégré indépendamment l'âge, le sexe et la race comme variables explicatives. Il a été rapporté que l'âge était un facteur important de la prévalence à la fasciolose chez les ruminants. Nous constatons à notre niveau que l'âge n'a eu aucune influence sur la prévalence de l'infestation dans les deux régions étudiées (Tableau 16).

Cependant, ce facteur s'exprime de manière très significative dans les fermes « G » et « I », principalement chez les bovins âgés de 6 ans (Tableau17). Nos résultats sont en accord avec les travaux de (Maqbool et *al*., 2002) et (Sanchez-Andrade et *al*., 2002) qui rapportent des

incidences beaucoup plus élevées chez les animaux plus âgés par rapport aux jeunes bovins, ceci pourrait s'expliquer par l'abaissement de leur résistance liée probablement aux facteurs environnementaux.

Des résultats similaires ont également été rapportés par plusieurs chercheurs tels que (Yildirim et *al*., 2007) , (Talukder et *al*., 2010) , (Boucheikhchoukh et *al*., 2012), (Afshan et *al*., 2013) et (Girmay et *al*., 2015) qui considèrent que l'explication la plus plausible à l'origine d'une forte infection chez les animaux plus âgés seraient due à une exposition répétée de ces derniers aux différents stades parasitaires et/ ou à la présence des hôtes intermédiaires.

Nos résultats contredisent les travaux de Phiri et *al*., (2005), Mekroud et *al* ., (2004),. Nossair et Abdella., (2014), Nath et *al*., (2016) et Howlader et *al*., (2017) qui rapportent des infestations chez des animaux de moins de 2 ans. Un fait largement documenté par les auteurs suscités et justifié par le développement de leur immunité.

L'exploration de la distomatose hépatique chez les bovins des deux régions a fait l'objet d'une analyse multivariée, où nous avons pu démontrer que l'âge, le sexe, la race et la coprologie fournissaient une mine d'informations sur leur pertinence. Ainsi, un certain nombre de cas de figures ont été répertoriées (Tableau18). En fixant la variable explicative (âge), nous remarquons une disparité dans l'expression des variables qualitatives (race et sexe). En effet, la coprologie semble expliquer et valider le taux des IgG circulants. Parallèlement un rôle secondaire est attribué à l'âge de part son expression comme décrit dans les colonnes 1 et 5.Les différentes combinaisons proposées (colonnes 2, 3,4 et 5) apportent une valeur ajoutée à chaque paramètre. Toutefois, la colonne 1 demeure l'exemple le plus approprié relatif à notre étude puisqu'il se rapproche le plus de l'état *in vivo*. Nous ne pouvons pas étayer nos résultats par de la bibliographie car à notre connaissance, rien n'a été rapporté à ce sujet.

Les changements liés à l'âge enregistrés dans le Tableau19 bien que très peu décrites dans la bibliographie montrent différents profils. L'étude de l'influence de l'âge sur l'activité des enzymes hépatiques est controversée puisque nous notons en dehors de toute infection des niveaux statistiquement significatifs (Ferme A et B) pour la PAL et la γGT. Parallèlement, les

fermes H et F considérées également comme indemnes n'ont enregistré aucunes variations significatives, ce qui situe l'âge comme secondaire à l'infection et non déterminant du moins dans notre étude. L'analyse individuelle démontre une largesse dans l'expression des âges dans les dites fermes (Ferme A : 12-120 mois, Ferme B : 24-48 mois, Ferme C : 18-120 mois, Ferme D : 12-60 mois, Ferme M : 18-84 mois …etc) ce qui a probablement biaisé l'étude. En adéquation avec ce qui a déjà été dit Findeisen, (1972) quant à lui voie dans les valeurs de la γ GT une différence par catégories : jeunes vs adultes.

Nous constatons que les valeurs de l'ALAT sont relativement basses en dehors de toutes infestations mais aussi lors d'atteinte parasitaire et ce quelque soit l'âge des bovins. Afin de mieux gérer notre étude, nous avons fait le choix de prélever des animaux ayant vécu au minimum 12 mois dans les fermes pour confirmer l'infestation sur site et non pas l'attribuer à l'introduction des bovins au sein du troupeau. L'intervalle des âges étant exagérément dispersé, n'a pas permis de statuer sur son effet.

L'étude comparative des régions pour les paramètres protéiques (protéines totales et albumine) montrent une surexpression des protéines de manière claire et limpide dans la région de Boumerdes probablement due à la situation physiologique des femelles (lactation) ou alimentaire (apport calorique). Les taux protéiques quasi identiques dans les fermes A et B et la composition de l'effectif exclusivement femelle suggère indéniablement et certainement un effet de l'âge rapporté dans la ferme « B » au regard de la valeur p =0.049.

Ce constat est renforcé par le rapprochement des âges qui se situent entre 36 et 48 mois contrairement à la ferme « A » où un écart beaucoup plus important est décrit.

II - Le facteur sexe

Bien que les femelles soient en supériorité numérique, aucune différence significative entre les deux sexes n'a été rapportée dans notre étude (Tableau 15).

L'évaluation de la prévalence de la fasciolose chez les bovins en fonction du sexe a révélée des résultats quelques peu mitigés. En effet, les mâles de la région de Boumerdes présentent un taux d'infestation plus élevé que celui des femelles (Mâle : 33.33% Vs Femelles : 22.57%).Cette constatation est conforme à l'étude menée par Njoku-Tony, (2011) et Nossair et Abdella, (2014) montrant des taux d'infestation plus élevés chez les mâles abattus (10,8%) par rapport au femelles (7.4 %). Ullah et *al*., 2013 ont également observé que la prévalence

globale de la douve du foie chez les buffles était plus élevée (13.5%) comparé aux vaches (3.5%). Iboyi et *al*, (2017) ainsi que Fermas et chelabi, (2015), lors d'une étude faite dans deux abattoirs ont démontré que les mâles étaient plus atteints que les femelles cela pourrait s'expliquer par le nombre relativement faible de femelles abattues. Ces auteurs renvoient la probable infestation des mâles au système de gestion. En effet, la durée d'exposition des mâles et le retranchement des femelles à l'intérieur des fermes pendant la parturition et l'allaitement (Tsegaye et *al* ., 2012) serait probablement une des causes.

D'autres idées viennent contredire celles citées précédemment puisque Maqbool et *al* ., **(**2002) et Girmay et *al*., (2015) revendiquent l'indépendance du facteur sexe dans les taux d'infestation (Mâle : 21.12% Vs Femelle : 20.00%),quand bien même, ils fréquentent les mêmes parcelles à la recherche de nourriture et d'eau.

Nos résultats contredisent ceux de Maqbool et *al* ., **(**2002) et Girmay et *al*., (2015) puisque rien que dans la région de Reghaia une infestation exclusive des femelles a été notée (Mâles : 0% Vs Femelles : 20.75%). Toutefois, ils sont justifiés par les travaux de Avcioglu et *al*., (2014) qui rapportent des infestations plus importantes des bovins de sexe femelle de 6 ans d'âge et de race pure par rapport aux jeunes bovins croisés de sexe mâle. Salam et *al*., (2009) et Kuchai et *al*., (2011) rejoignent les travaux précédents en justifiant à chaque fois l'infestation des femelles. Nous citerons d'autres auteurs tels que Damwesh et Ardo, (2012) et Afshan., (2013) qui attestent comme dans notre expérimentation que le facteur sexe n'interfère pas dans l'expression de la fasciolose mais ils ont tout de même rapportés des prévalences élevées chez les femelles comparées aux mâles ce qui pourrait indiquer que la fasciolose ne serait pas une maladie directement influencée par le sexe des bovins.

Pour ce qui est du facteur sexe, nous rapportons une différence significative (Boumerdes) entre les deux régions pour les protéines ainsi que la PAL et l'ALAT. Une éventuelle atteinte primitive des fibres musculaires serait à l'origine de leur expression du fait de la non spécificité de ces paramètres au niveau hépatique. La présence en outre des mâles en nombre plus ou moins important dans la région de Boumerdes pourrait expliquer ce phénomène. En examinant de plus près les valeurs intrinsèques, nous identifions la ferme D comme étant à l'origine de cette divergence.

De plus, l'état physiologique et immunologique des femelles telles que la gestation et l'allaitement sont autant de facteurs qui rendent les femelles vulnérables aux parasitoses (Howlader, 2017).

L'analyse statistique effectuée sur les 13 fermes a révélé un taux d'infestation hautement significatif ($p<0.0001$) de l'ordre de 100% pour les mâles de la ferme « E ».
Nous supposons que ce taux est due probablement à l'effectif lui-même associé à une variabilité individuelle et non pas à l'effet du sexe.

III - Le facteur race

Sur la base de nos résultats, nous avons constaté que le degré d'infestation par *Fasciola hepatica* a montré une disparité par son expression au sein des deux régions.

Dans la localité de Boumerdes, nous avons noté une forte infestation des Holstein (47.37%) suivie par les Montbéliardes (18.64%) alors que ces taux ont eu tendance à s'inverser dans la région de Reghaia aux regards des niveaux d'infestations 26.67% Vs 19.23% des montbéliardes et des Holstein respectivement. Bien que les bovins issus de croisement semblent être parasités de manière quasi identique pour les deux régions, la race locale semble indemne de cette pathologie.

Les niveaux d'infestations obtenus par les Holstein et les Montbéliardes peuvent s'expliquer par leur fort potentiel génétique et laitier ce qui probablement les rendraient plus vulnérables. Concernant la race locale, notre effectif très réduit voir insignifiant n'a pas permis d'émettre une hypothèse concernant leur infestation.

Il ressort clairement de notre étude que l'incidence à *Fasciola hepatica* chez les races pures est plus importante que chez les races croisées et locales.

Nous avons également constaté que ce facteur s'exprimait différemment dans les deux régions, significatif pour la région de Reghaia, il rejoint les travaux de Iboyi et *al* ., (2017) mais il contredit nos résultats du moins pour la région de Boumerdes et ceux de Magaji et *al*., (2014) où nous avons relevé aucune influence de la race sur l'émergence de cette parasitose.

Toujours dans la même optique, Hoque et *al.*, en 1998 rapportent des mortalités élevées due à la fasciolose chez les veaux croisés comparés aux indigènes, ces recherches ont été complétées par ceux de Khatun et *al.*, (2015) menés dans le district de Chittagong au Bengladesh. Howlader et *al*., (2017) soutiennent la théorie selon laquelle les bovins croisés seraient plus atteints que les locaux (60 Vs 42.68%).

Parallèlement, d'autres études menées par Maidi et Marniche, (2017) ont avancé d'autres faits. En effet, les inspections sur site (abattoir d'Ain Bassam) ont montré de fortes infestations des races locales et croisées par rapport aux autres races. Il semblerait que les pratiques de gestion des élevages seraient dans une certaine mesure incriminées. Ainsi, les races croisées et pures sont plus exposées que les races locales probablement à cause de leur différence de productivité.

Il s'avère aussi que la fasciolose est plus fréquente chez les bovins croisés que chez les bovins de race pure selon (Avcioglu et *al*., 2014). Ce constat s'oppose aux idées reçues selon lesquelles les races locales et les croisées sont plus résistantes aux infections parasitaires que les races pures en raison de leur fort potentiel d'adaptation environnementale.

En s'appuyant sur notre étude, nous nous sommes rendu compte qu'en fonction du pays d'étude, les races bovines différées. En effet, Kato et *al*., 2005 rapportent une prévalence significativement plus élevée chez les bovins natifs japonais que chez les frisons ou les jersey vraisemblablement due au mode d'alimentation (base de paille de riz).

Aucune conclusion ne peut étayer et soutenir l'étude en faveur d'une race ou d'une autre car elles sont toutes susceptibles d'être des hôtes à Fasciola (Damwesh et Ardo., 2012).

Lors de notre étude, nous avons également exploré l'effet des différentes races sur l'expression des paramètres biochimiques, les résultats préliminaires nous amènent à établir un classement quant à la susceptibilité et l'hypersensibilité des Montbéliardes (Boumerdes – ferme C) et les Holstein (Reghaia). En effet, le potentiel laitier de ces dernières entretient les niveaux de protéines et d'albumines relativement élevés. L'albumine qui représente quantitativement plus de la moitié des protéines totales du plasma contribue physiologiquement au maintien de la pression oncotique du sang ainsi que sont rôle dans le

transport de molécules diverses (hormones, peptides...etc). Bien que l'ALAT soit statistiquement significative dans les deux régions, il est néanmoins difficile d'établir une quelconque relation avec la race. La non disponibilité de références bibliographiques étaye, soutient et maintient ces lacunes.

IV - Histologie

L'histopathologie et la détection sérologique des anticorps anti-f2 ainsi que la réponse hépatique à l'infection ont été étudiés de manière synchrone et superposée. Cette approche a permis de justifier la majorité des lésions hépatiques observées assujetties aux infestations distomiennes marquant leur chronicité.

Les lésions hépatiques macroscopiques de la fasciolose chez les bovins infectés montrent une augmentation du volume du foie avec un changement de couleur qui va jusqu'à un éclaircissement (pâleur) qui s'explique par le comportement hématophage de la douve. La présence de trabécules longitudinales à la surface du parenchyme lui donne un aspect répugnant. Une sensation de crissement est ressentie lors de l'inspection du foie avec la présence d'une structure calcaire. En outre, de nombreuses lésions canaliculaires se référant aux voies biliaires montrent des parois épaissies contenant des douves de différentes tailles.

Nos observations rappellent étrangement les examens pathologiques de l'infection de la douve du foie chez les chèvres noires du Bengale (Talukder et *al* ., 2010).

Microscopiquement, les lésions histologiques sont caractérisées par une fibrose autour des lobules hépatiques formant des jonctions entre les espaces portaux conduisant à la déstructuration du parenchyme hépatique. Il existe également une hyperplasie compensatrice des voies biliaires secondaires à l'infection par *Fasciola hepatica*, telle que décrite par Sajadi et Taki, (1997). La fibrose chronique est associée à une prolifération de l'épithélium glandulaire des voies biliaires, formant ainsi de nouveaux canaux biliaires entourés d'un épais tissu conjonctif. Des résultats similaires ont été rapportés par El-Hallawany et *al*., (2012).

Au niveau de l'espace portal et plus précisément autour du canal biliaire, une réaction inflammatoire avec présence d'éosinophiles et de neutrophiles a été observée suggérant une réponse immunitaire de l'hôte pendant la migration des douvules (Kishida et *al*., 2013 et Abraham et Jude, 2014).

Différents degrés de prolifération et de calcification ont également été observés dans la

lumière des canaux biliaires révélant une infection chronique. Nos résultats sont en accord avec deux études antérieures réalisées par Andriamanantena et *al*., (2005) et Trivilin et *al*., (2014).

Les activités enzymatiques hépatiques et les variables biochimiques dans le sérum bovin examiné montrent une infestation parasitaire liée à l'examen histopathologique. Bien que l'ALAT et l'ASAT ne soient pas spécifiques de la distomatose hépatique, ils peuvent être utilisés en association avec d'autres enzymes (PAL et γGT) pour suivre l'évolution de divers troubles hépatiques.

Les résultats sérologiques rapportés dans notre étude ont permis d'évaluer plus ou moins l'intégrité du parenchyme hépatique et d'en apprécier sa fonctionnalité. En effet, les taux relativement élevés des protéines totales (96,02 ± 2,10 g / l) dans la région de Boumerdes et de l'albumine (593,98 ± 31,24 µmol / l) dans la région de Reghaia peuvent expliquer une probable inflammation (Baldissera et *al*., 2015) (protéines de l'inflammation) observées dans l'espace portal. En outre, le Tableau 18 montre des moyennes de l'albumine en dessous des normes établies à l'exemple des fermes E, G, H, I, J et K indiquant une discrète insuffisance hépatique qui peut être réversible. Dans sa forme chronique, les douves adultes provoquent une cholangite par leurs seules présences en attirant des cellules inflammatoires, ce qui est cohérant avec l'histopathologie.

Comme précédemment décrit, la distomatose hépatobiliaire n'a pas complètement détruit le parenchyme hépatique vis-à-vis des quelques lobules hépatiques disséminés témoignant d'une régénération de ce dernier confirmée par l'absence de la veine centro-lobulaire. Nos résultats contredissent le travail de El-Hallawany et *al*., (2012), et Baldissera et *al*., (2015) qui situent les protéines en dessous des niveaux de référence indiquant une hypo protéinémie secondaire à une maladie hépatique avec déficit en synthèse protéique.

L'activité des enzymes hépatique sera déterminée en fonction de la pathogénèse de la maladie. Ainsi, pour valider la forme chronique et/ ou aigue, il a semblé intéressant d'observer la variation de la γGT et de la PAL qui sont des enzymes strictement canaliculaires. Les hypothétiques perturbations hépatiques attendues par l'analyse biochimique, placent la γGT dans les limites physiologiques (9.6-39 UI / L) de la même manière que la PAL (27-107 UI / L) (Lallemand, 2014) avec certaines exceptions individuelles en C3 (256.15 UI / L), D16 (179,85 UI / L) et E7 (121,53 UI / L) où l'on

rencontre des valeurs très élevées suggérant un dysfonctionnement biliaire (cholestase). Cette différence est due à une très grande variabilité intra individuelle telle que décrite par Ouedraogo, (1986). Ces cas isolés sont timidement dispersés dans tout le troupeau. Ces enzymes, très sensibles à l'infection par *Fasciola hepatica* en raison de leur localisation intra membranaire (membrane des voies biliaires), n'ont pas révélé d'atteinte canaliculaire comme décrites précédemment par Sawadogo et *al*., (1993) chez le zébu en Afrique de l'Ouest, bien que parfois hyperplasique au sein du parenchyme hépatique.

D'autre part, la présence d'artefacts assimilés à des débris cellulaires montrant la douve du foie piégée et détruite in situ consolide nos résultats même si nous avons basé notre étude sur un seul cas clinique (Montbéliard 18 mois) avéré positif (fortement infesté). Afin de clarifier les quelques points d'ombres, nous avons analysé les valeurs individuelles des animaux constituant les ferme de A à M et avons constaté que le titre des anticorps anti-f2 de *Fasciola hepatica* de la majorité des animaux sont fortement infectés et ne sont pas corrélés et/ou compatibles avec les niveaux de Gamma GT. Nous rapportons à titre d'exemple dans la ferme C6 (202,14% - 11,88 UI / L), D3 (282,26% - 29,69 UI / L), E7 (54,79% - 8,48 UI / L), G2 (127,77% -10,6 UI / L) , I1 (182,1% - 11,24 UI / L), J1 (141,37% - 9,97 UI / L), K7 (88,01% -16,69 UI / L), L15 (165,2% - 12,73 UI / L) et M2 (33,28% - 7 UI / L) à chaque fois un ou plusieurs cas confirmant notre hypothèse à savoir la non-spécificité de la γGT comme indicateur de lésion hépatique.

Bien que la mesure de l'activité enzymatique des transaminases chez les ruminants ne soit pas spécifique du foie, ils ont une concentration catalytique assez élevée dans cet organe. En conséquence, les niveaux moyens insignifiants d'ASAT et d'ALAT trouvés respectivement dans les régions de Boumerdes (26,54 ± 1,19 Vs 8,23 ± 0,42 UI / L) et de Reghaia (38,53 ± 3,37 Vs 9,30 ± 0,69 UI / L) indiqueraient probablement une installation de la fasciolose vers la chronicité, ce constat est contredit par les travaux de Braun et *al*., (1986) et Baldissera et *al*., (2015) qui rapportent une destruction cellulaire et une augmentation de la perméabilité membranaire aux enzymes (cytolyse) lors de la migration larvaire dans le parenchyme hépatique (Hodžić et *al*., 2013).

Bien que la plupart des animaux montrent des modifications histologiques et sériques associées à une atteinte hépatique, le foie demeure néanmoins capable de mener ces tâches métaboliques de synthèse et de détoxification.

CONCLUSION

ET

RECOMMANDATIONS

Conclusion et recommandations

La présente étude à contribué à une meilleure connaissance du statut épidémiologique de la fasciolose dans deux régions de l'ouest Algérois jusque là non explorées.

Sur la base des nombreux testes utilisés ; coprologique, sérologique, enzymatique et histologique nous avons pu établir la présence de la fasciolose bovine à *Fasciola hepatica* et donc de l'infectivité des fermes de Boumerdes et de Reghaia avec des prévalences relativement importantes de l'ordre de 24.13% et 19.64% respectivement.

Les quelques variables âge, sexe et race introduites dans notre modèle d'étude n'ont eu qu'un rôle secondaire dans l'expression de la pathologie.

Nous avons également relevé une bonne complémentarité entre l'analyse biochimique et l'histologie. En effet, l'évaluation de l'intérêt clinique des enzymes hépatiques a rapidement confirmé l'installation de la chronicité au cours de la pathologie et a écarté une insuffisance hépatique.

L'examen des enzymes hépatiques tels que la PAL, la γGT, l'ALAT et l'ASAT a permis de confirmer l'absence de cholestase et /ou de cytolyse.

En dépit des traitements antiparasitaires appliqués, la fasciolose à *Fasciola hepatica* semble prendre de l'ampleur au sein de nos élevages. La pierre angulaire reste donc la prévention.

Il parait évident que les conditions agro-écologiques et éco-pédologiques sont les principales sources de développement de la fasciolose et son entretien au sein des élevages, mais malheureusement nous n'avons aucune influence sur ces facteurs. Toutefois, nous pouvons agir autrement par la mise en place de certaines recommandations et ce à partir des constatations faires sur le terrain.

1. Tout d'abord, la nécessité et l'urgence de mettre en place un système de traçabilité chez les bovins qui permettrait de savoir avec certitude lors de l'abattage (sacrifice) l'origine de l'infestation.
2. Les vétérinaires des abattoirs devront tenir compte lors des saisies de possibles co-infestations.
3. Initier et sensibiliser les éleveurs à cette parasitose et à son mode de transmission.

A l'avenir, il serait intéressant de réaliser d'autres études prospectives au niveau régional et national qui nous permettraient d'établir une cartographie de cette zoonose.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1-Abraham, J.T., Jude, I.B., 2014. Fascioliasis in Cattle and Goat Slaughtered at Calabar Abattoirs. *Journal of Biology, Agriculture and healthcare*,4(18), 34-41.

2-Abunna, F., Asfaw, L., Megersa, B., Regassa, A., 2010. Bovine fasciolosis: Coprological, abattoir survey and its economic impact due to liver condemnation at Soddo municipal abattoir, Southern Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, 42(2), 289-292.

3-Achard, D.T., 2005. Exploration des affections hépatiques chez la vache laitière. Apport des examens complémentaires. Détermination des valeurs usuelles sanguines en ASAT, GDH, GT et bilirubine totale. Application au diagnostic de l'ehrlichiose bovine. *Thèse. ENVN*, p1-104

4-Acosta, D., Cancela, M., Piacenza, L., Roche, L., Carmona, C., and Tort, J.F., 2008. *Fasciola hepatica* leucine aminopeptidase, a promising candidate for vaccination against ruminant fasciolosis. *Moecular Biochemical Parasitology*, 158, 52-64.

5-Afshan, K., Qayyum, M., Rizvi, S.S.R., Mukhtar, M., Mushtaq, M., Miller, J.E. 2013. Serological and coprological comparison for rapid diagnosis of *Fasciola hepatica* infection in small ruminants from sub-tropical area of Pakistan. *Small Ruminant Research*,113(1),267–272. DOI: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2013.01.020

6-Agence nationale de sécurité alimentaire (Anses), alimentation, environnement, travail.2016. *Fasciola hepatica*. Biorisk.2-3p

7-Aissi, M., Harhoura, Kh., Gaid, S., Hamrioui, B. 2009. Etude préliminaire sur la prévalence de la fasciolose due à *Fasciola hepatica* dans quelques élevages bovins du nord centre algérien (la Mitidja). *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 102(3), 177-178. DOI: 10.3185/pathexo3251

8-Alcaino, H., 1985. Epizootiologia de la distomatosis bovina en Chile. *Parasitologia alDia*, 9, 22–26.

9-Almazan, C., Avila, G., Quiroz, H., Ibarra, F., Ochoa, P., 2001. Effect of parasite burden on the detection of *Fasciola hepatica* antigens in sera and feces of experimentally infected sheep. *Vet. Parasitol*, 97, 101-112.

10-Alves R., Van Rensburg L., Van Wyk J. 1988. Fasciola in horses in the republic of south Africa : a single natural case of *Fasciola hepatica* and the failure to infest ten horses either with *Fasciola hepatica* or *Fasciola gigantica*, Onderstepoort J.Vet .Res,55,157-163p

Références bibliographiques

11-Andrews, S.J., 1999. The life cycle of *Fasciola hepatica*. Edited by: Dalton JP. Fasciolosis *CABI Publishing*, Oxin, UK.

12-Andriamanantena, D., Rey, P., Perret, J.L., Klotz, F., 2005. Distomatoses. *EMC Maladies Infectieuses*,2,105–118. DOI: https://doi.org/10.1016/j.emcmi.2005.03.001

13-Arroussi , A., Djoudi , A. 2016. Contribution à l'étude de la fasciolose bovine au niveau de l'abattoir de Sétif. Projet de fin d'étude, ENSV.44P.

14-Avcioglu, H., Guven ., Balkaya, E., Kaynar, I.O., Hayirli, A., 2014. Evaluation of Coprological and Serological Techniques for Diagnosis of Bovine Fasciolosis. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 69 (4), 203-210.

15-Badja, H ., Bouchakour, A., Boukhatem A.Y., 2017. Etude rétrospective de la situation de la prévalence de la fasciolose bovine à *Fasciola hepatica* au niveau des abattoirs de Sétif et Dellys (2007- 2017). Thèse ENSV.p39.

16-Baldissera, M.D., Bottari, N.B., Mendes, R.E., Schwertz, C.I., Lucca, N.J., Dalenogare D, et *al*., 2015. Activity of cholinesterases, pyruvate kinase and adenosine deaminase in rats experimentally infected by *Fasciola hepatica*: Influences of these enzymes on inflammatory response and pathological findings. *Pathology - Research and Practice*,211(11),871– 876. DOI: https://doi.org/10.1016/j.prp.2015.09.006

17-Ballweber, L.R., 2001. The practical Veterinarian. Veterinary Parasitology, parasites of other organs. *Butterworth– Heinemann*. p 270-271.

18-Barry, A.M., Keita, S., 2010. Sondage sérologique de la fasciolose bovine en Guinée. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*,63,13–16. DOI:https://doi.org/10.19182/remvt.10103

19-Benazzoug, S., Kadi, F., 2016. La prévalence de la fasciolose bovine au niveau de trois abattoirs de la Mitidja, Koléa, Boufarik et El Harrach. Thèse USTHB. p34

20-Bendiaf, H., 2011. Contribution á l'Étude de la distomatose á *Fasciola hepatica* (Linnée, 1758): Aspects parasitologique et sérologique, thèse de Magister en médecine Vétérinaire. Université Mentouri de Constantine. p 11-13.

21-Bentounssi, B., 1999. Pathologies parasitaires des animaux domestiques. Fascicule 1. Maladie dues aux plathelminthes. P.4-19

22-Bosquet, G., Alzieu, JP., Chauvin, A., Camuset, P., Dorchies, P., Heskla, B., 2007. L'observatoire de la Grande Douve : Evaluation des mesures à mettre en place dans les élevages pour maitriser la Fasciolose et premiers résultats. Communication, *Bull.Acad.Vét. France*, Tome 160 (2), 101-105.

Références bibliographiques

23-Boucheikhchoukh, M., Righi, S., Sedraoui, S., Mekroud, A., Benakhla, A., 2012. Principales helminthoses des bovins : Enquête épidémiologique au niveau de deux abattoirs de la région d'El Tarf (Algérie), *Tropicultura*, 30(3),167-172.

24-Boudebza, A., 2015. Etude de la relation entre les paramètres sanguins et les performances de reproduction chez la brebis. *Thèse*. Université des frères Mentouri .p185.

25-Bourdoiseau, G., 1997. Identification et biologie. Les douves des ruminants. *Point Vét,* numéro spécial, 28, 15-18.

26-Bourée, P., Resende, P., 2006. Diagnostic des parasitoses hépatiques. *Revue Francophone des Laboratoires*, 385, 47-55. DOI : https://doi.org/10.1016/S1773-035X(6)80537-X

27-Braun , J.P., Bézille, P., Rico, A.G.,1986. Sémiologie biochimique du foie chez les ruminants. Reproduction Nutrition et Developpement,26 (1B), 227-243. DOI: https://doi.org/10.1051/rnd:19860206

28-Briskey, D.W., Scroggs, M.G. and Hurtig, F.S., 1994. A prevalence survey of liver flukes (distoma) in beef cows at slaughter in the western United States. *Agri Practice*, 15, 8–11.

29-Bundy, D.A.P., Arambulo III, P.V. and Grey, C.L., 1983. Fascioliasis in Jamaica: epidemiologic and economic aspects of a snail-borne parasitic zoonosis. *Bulletin of the Pan American Health Organization*, 17, 243–258.

30-Bussieras, J., Charmette, R., 1995. Parasitologie vétérinaire : Fascicule III : helminthologie des animaux domestiques, seconde édition. Ecole NationaleVétérinaire d'Alfort, 22-24 et 178-184.

31-Caron, Y., Lasri, S., Losson, B., 2007. *Fasciola hepatica*: An assessment on the vectorial capacity of *Radix labiata* and *R. balthica* commonly found in Belgium. *Vet Parasitol*, 149, 95-103.

32-Caron, Y., Righi, S., Lempereur, L., Saegerman, C., Losson, B., 2011. An optimized DNA extraction and multiplex PCR for the detection of Fasciola sp. In lymnaeid snails. *Vet. Parasitol*, 178, 93-99.

33-Celeb, A., Ultav, R., 1988. Losses from liver condemnations from fascioliasis over a year at Carsamba district abattoir. *Veteriner Hekimler Dernegi Dergisi* , 58, 79–81.

34-Chauvin, A., Mage, C., 1997. Conduite à tenir devant une suspicion de la fasciolose en élevage bovin. *Le Point Vétérinaire*, 29, 329-334.

Références bibliographiques

35-Chauvin, A., Mage, C., 1998. Conduite à tenir devant une suspicion de fasciolose en élevage bovin. Le *Point Vétérinaire*, 29 (191), 329-333.

36-Chauvin, A., 2000. Sérologie de la fasciolose: intérêt, utilisation pratique. *Société Française de Buiatrie*, 15,16 ,17 Novembre, 190-197.

37-Chauvin, A., 2006. Chasse à la limnée tronquée. La lettre de l'observatoire de la Grande Douve Bilan et Perspectives. Offert par NOVARTIS santé Animale, N° 3, 1-4.

38-Chekiri, A., 2015. Etude rétrospective de la fasciolose bovine au niveau de la tuerie de Boufarik. Thèse ENSV. p30

39-Colin C.A.2009. Dicrocoeliose et Fasciolose Bovines : Enquête épidémiologique en abattoir en région Bourgogne. Thèse d'état, E.N.V.N.38p (111p).

40-Cornick J.L.1988. Gastric squamous cell carcinoma and fascioliasis in llama, *Cornell Vet.*78 (3).235-241p

41-Dali, L., Yousfi , A., Bekeri, A., 2017. Contribution à une enquête sur trois zoonoses bovines majeures à l'abattoir d'El Harrach .Thèse ENSV. p44.

42-Damwesh, S.D., Ardo, M.B., 2012. Epidemiological studies of bovine fasciolosis in yola modern abattoir, adamawa state, Nigeria. *Vom Journal of Veterinary Science* , 9, 54 – 60.

43-Dar Y, 2004. Générations rédiennes de Fasciola gigantica (Digenea) et productivité cercarienne chez deux éspèces de Lymnaeidae (Mollusca).Thèse de Doctorat, Université de Limoges , Faculté de pharmacie.p37 (242p)

44-Dargie, J D., 1987. The impact on production and mechanisms of pathogenesis of trematode Infections in cattle and sheep. *Int J Parasitol* , 17, 453-463.

45-Deschiens R et Lamy L., 1957. Les aspects épidémiologiques et prophylactiques de la distomatose hépatique en France. Editeur Vigot Frères, *Bul.Acad.Vét.*Tome XXIX, 507-516.

46-Donnadieu, DJ., 2001. Traitement et prévalence de la Fasciolose à *Fasciola hepatica* en élevage bovin laitier : Essai d'un protocole utilisant le closantel et l'oxyclozanide. Thèse université de Toulouse. p 35.

47-Dovero, S., 2006. Principe et méthode de l'immunofluorescence appliqué aux coupes tissulaires. *Rev.Fr.Histotechnol*, 19, n°1. 33 - 44.

48-Doy, T.G., Hughes, D.L., 1984. Early migration of immature *Fasciola hepatica* and associated liver pathology in cattle. *Res. Vet. Sci.* 37, 219-222.

Références bibliographiques

49-Dreyfuss, G., Vignoles, P., Rondelaud, D., 2008. *Paramphistomum daubneyi*: The number of sporocysts developing in experimentally and naturally infected *Galba truncatula*. *Parasitology Research*,103(2),345–349. DOI: https://doi.org/10.1007/s00436-008-0978-4

50-Dumenigo, B.E., Espino, A.M., Finlay, C.M., Mezo, M., 1999. Kinetics of antibody-based antigen detection in serum and faeces of sheep experimentally infected with *Fasciola hepatica*. *Vet. Parasitol* , 86, 23-31.

51-El-Hallawany, H.A., Abdel-Aziz, M.Z., 2012. Clinico-histopathological Studies on the Correlation Between Some Parasitic Infestation on Liver and Ovarian Efficiency in Small Ruminants.*Journal of Reproduction & Infertility*, 3(3), 67–76. DOI: 10.5829/idosi.jri.2012.3.3.7110

52-El mohtarim R. 2016. L'intérêt diagnostique et thérapeutique de la Cholangiopancreatographie rétrograde Endoscopique dans la distomatose biliaire (a propos de 2 cas).Thèse 121.Université Mohammed V-Rabat. 128

53-El-Tahawy, A.S., Bazh, E.K., Khalafalla, R.E. 2017. Epidemiology of bovine fascioliasis in the Nile Delta region of Egypt: Its prevalence, evaluation of risk factors, and its economicsignificance.*VeterinaryWorld*,10(10),1241–1249 DOI: https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1241-1249

54-Encinas-García, R., Quiroz-Romero, H., Guerrero-Molina, C., Ochoa-Galvan, P.,1989. Frecuencia de fascioliasis hepática e impacto económico en bovines sacrificados en Ferreria, Mexico, D.F. *Veterinaria Mexico*, 20,423–426.

55-Euzeby, J., 1971 . Les fascioloses hépatobiliaires des ruminants domestiques. *Les cahiers de Médecine Vétérinaire*, 40 (6) , 249 - 256.

56-Euzeby J.1998. Parasites des viandes : Epidémiologie-physiologie- incidence zoonosique. Lavoisier *Ed Tec et Doc*. Paris .324-335p.

57-Euzeby, J., Bourdoiseau, G., Chauve, C.M., 2005. Dictionnaire de parasitologie médicale et vétérinaire. Lavoisier, *Ed TEC et DOC* et *Ed Médicales internationales*. p80-418.

58-Fairweather I., Threadgold,L.T., Hanna, R.E.B, 1999.Development of *Fasciola hepatica* in the mammalian host *In* Dalton J.P,Fasciolosis ,CABI Publishing ,p47-86.

59-Fermas, I., chelabi, A. 2015. Contribution à l'étude de la fasciolose bovine au niveau de l'abattoir de Sedrata et de Draa ben khedda. These. ENSV. p37.

60-Ferre, I., Ortega-Mora, L.M. ., Rojo-vasquez, F.A ., 1997. Serum and bile antibody responses (IgG and IgA) during subclinical *Fasciola hepatica* infection in sheep. *Vet. Parasitol*, 68, 261-267.

61-Findeisen, R., 1972. Untersuchungen über Aktivitat der gamma-glutamyl-transpeptidase in serum gesuuder und Krauker Rinder. Inaug. *Diss. Med. Veto Hannover***.**

62-Genicot, B., Mouligneau, F. and Lekeux, P., 1991. Economic and production consequences of liver fluke disease in double-muscled fattening cattle. *Journal of Veterinary Medicine*, Series B, 38, 203–208.

63-Girmay, T., Teshome, Z., Hailemikael, A., 2015. Prevalence and Economic Losses of Bovine Fasciolosis at Hawzien Abattoir, Tigray Region, Northern Ethiopia. *Journal of Veterinary Advances*, 5(5), 945-951. DOI: 10.5455/jva.20150409021806.

64-González-Lanza, C., Manga-González, Y., Del-Pozo-Carnero, P. and Hidalgo-Arguello, R.,1989. Dynamics of elimination of the eggs of *Fasciola hepatica* (Trematoda, Digenea) in the faeces of cattle in the Porma basin, Spain. *Veterinary Parasitology*, 34, 35–43.

65-Griffiths, H. J., 1978. A Handbook of Veterinary Parasitology, Domestic Animals of North America, Helminths: Trematodes, *University of Minnesota Press*. 132-133.

66-Guillaume,V., 2007. Fiche pratique de Parasitologie. 2ème partie : les helminthes. Les trématodes. *Ed De Boeck université*. p 111-115.

67-Hammami , H., Hame, N., Ayadi, A. 2007. Epidemiological studies on *Fasciola hepatica* in Gafsa oases (South West of Tunisia). *Parasite*, 14(3), 261–264. DOI: https://doi.org/10.1051/parasite/2007143261

68-Hansen, J., Perry, B ., 1995. Epidémiologie, diagnostic et prophylaxie des helminthiases des ruminants domestiques. FAO. p 31.

69-Hanna, R.E.B., Cromie, L., Taylor, S.M., Couper, A., 2006. The effect of a parenteral ivermectin/closantel injection on the growth and reproductive development of early immature *Fasciola hepatica* in cattle. *Veterinary Parasitology*, 142, 78–90.

70-Happich, F.A., Boray, J.C., 1969 . Quantitative diagnosis of chronic fasciolosis. 2. The estimation of daily total egg production of *Fasciola hepatica* and the number of adult flukes in sheep by faecal egg counts. *Australian Veterinary Journal* 45, 329–331.

71-Haridy F.M., Morsey G.H., Abdou N., Morsy T.2002. Zoonotic fascioliasis in donkeys:ELISA (Fges) and post mortem examination in the Zoo, Giza, Egypt, *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*,37,1101-1110p.

72-Hodžić, A., Zuko, A., Avdić, R., Alić, A., Omeragić, J., Jažić, A., 2013. Influence of *Fasciola hepatica* on serum biochemical parameters and vascular and biliary system of sheep liver. *Iran J Parasitol*,8(1), 92–8.

73-Hoque, M.M., Alam, M., Rahman,M.L., 1998. Helminth infection in cattle of Feni district of Bangladesh. *The Bangladesh Veterinarian*, 9, 105-106.

74-Houin, R., 2004. « La lutte contre la fasciolose » Epidémiologie et Santé Animle, 46 ,57-62.

75-Howlader, B.C., Rahman, Md.M., Alam, K.J., Moonmoon, M., Howlader, R., 2017. Study on Prevalence of Bovine Fascioliasis at Mirzaganj Upazilla of Patuakhali District in Bangladesh. *International Journal of Innovative Research,* 2(1), 09–12.

76-Hurtrez-Boussès S., Meunier C, Durand P, Renaud F.2001. Dynamics of host–parasite interactions: the example of population biology of the liver fluke (*Fasciola hepatica*), *Microbes and Infection*, 3, 841−849p

77-Iboyi, M.O., Agada, P. A., Imandeh, N. G., 2017. Study on the Prevalence of Fascioliasis on Cattle Slaughtered at Minna Modern Abattoir, Niger State, Nigeria. *Journal of Applied Life Sciences International,* 15(3), 1-6.

78-Kalbe, M., Haberl, B., Haas, W., 1997. Miracidial host-finding in *Fasciola hepatica* and Trichobilharzia ocellata is stimulated by species-specific glycoconjugates released from the host snails. *Parasitology Research*, 83, 806-812.

79-Kaplan, R.M., 1994. Liver flukes in cattle: control based on seasonal transmission dynamics. *Compendium of Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 16, 687–693.

80-Kaplan, R. M., Dame, J. B., Reddy, G. R., Courtney, C. H., 1995. A repetitive DNA probe for the sensitive detection of *Fasciola hepatica* infected snails. *International Journal for Parasitology*, 25, 601-610.

81-Kato, M., Murakami, Y., Shimizu, M., Yamamoto, H .,Yonemoto, Y., Ishii, K., Kira, S. 2005. Survey of cattle fascioliasis in Tsuyama Abattoir. *Environ. Health Prev. Med*, 10, 162-165.

82-Kaufmann, J., 1996. Parasitic infections of domestic animals. A diagnostic manual. Birkhäuser verlag,p 91-95.

83-Kayong, K. N ., Edward, I. 2014. Prevalence of fasciolopsis in cattle slaughtered at eke market abattoir, afikpo, ebonyi state, Nigeria. *Animal Research International*, 11(2), 1958 – 1963

84-Kendall, S.B., McCullough, F.S., 1951. The emergence of the cercariae of *Fasciola hepatica* from the snail *Lymnaea truncatula*. *Journal of Helminthology* , 25, 77-92.

85-Khanfouci, M.S., 2005. Contribution à l'étude de la fructification et de la régénération du cèdre de l'Atlas.*Thèse.* Université Hadj Lakhdar- Batna. 210 p.

86-Khatun, M.S., Assaduzzaman, M., Pallab, M.S., Chakraborty, P., 2015. Risk factors analysis of fascioliasis in two geo-climatic regions of Bangladesh. *International Journal of Scientific Research*, 4(11), 41-43.

87-Kishida, K., Ohkusu-Tsukada, K., Hori, M., Konnai ,M., Abiko, C., Suzuki, Y., et *al*., 2013. Investigation of the roles of fascioliasis and food allergy in intrahepatic eosinophilic proliferative pylephlebitis in Japanese Black cattle. *The Veterinary Journal*,196(2),160–166. DOI:https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.10.006

88-Knapp, S.E., Dunkel, A.M., Han, K., Zimmerman, L.A., 1992. Epizootiology of fascioliasis in Montana. *Veterinary Parasitology*, 42, 241–246.

89-Konopka, B., 1993. Occurrence of parasites in slaughter animals in Kielce region [central Poland] in 1987–1992. *Medycyna Weterynaryjna* ,49, 373–374.

90-Kouamo, J., Leye, A., Ouedraogo, G.A., Sawadogo, G.J., Benard, P., 2001. Influence des paramètres énergétiques, protéiques et minéraux sur la réussite de l'insémination artificielle bovine en élevage traditionnel dans la région de Thiès au Sénégal, *Revue Méd. Vét* ,**162**, 8-9, 425-431.

91-Kountouon, DA.B., 1992. Contribution a la connaissance des effets de la fasciolose, parasitose majeure du foie des ruminants, sur la biochimie sérique des bovins du Sénégal et du Burkina Faso, thèse. Université cheikh asta diop de dakar.N°12.p72.

92-Kuchai, J.A., Tak, H., Chishti, M.Z., Rasool, M., Dar, S.A., Ahmad, J., 2011. Impact of season, sex, age, and agro-ecology on the prevalence of fascioliasis in buffalos of Ladakh. *Online Journal of Animal and Feed Research*, 1(6), 263-266.

93-Lafon, M., 2008. Dépistage, Fasciolose bovine : Choisir la bonne méthode diagnostique. Animaux de rente, Science et Pratique. La dépêche vétérinaire. N° 974 du 2 février au 8 février. p1-2.

94-Lallemand, M., 2014. L'hématologie et la biochimie des bovins. In : (Eds David Francoz and Yvon Couture) Manuel de médecine des bovins. **MED'COM**, p.5-16

95-Le Bailly, M., 2005 . Evolution de la relation hôte/parasite dans les systèmes lacustres nord alpins au Néolithique (3900-2900 BC), et nouvelles données dans la détection des paléoantigènes de *Protozoa*. Thèse. Université de Reims Champagne-Ardenne, unité de formation et de recherche de pharmacie, école doctorale "science, technologie, santé. p 84-85.

96-Leclipteux, Th., Togerson, P.R., Doherty, M.L., Mc cole, D., Protz, M., Farnir, F., Losson, B., 1998. Use of excretory/secretory antigens in a competition test to follow the kinetics of infection by *Fasciola hepatica* in cattle. *Vet. Parasitol*, 77, 103-114.

97-Leguía, G., Alvarez, H., Naquira, F. and Beltran, M., 1989. Distomatosis hepática en el Peru. In: Anales del seminario nacional de zoonosis y enfermedades de transmision alimentaria, Ministerio de Salud, Lima, pp. p96–106.

98-Lim, J.H., Kim, S.Y., Park, C.M., 2007. Parasitic Diseases of the Biliary Tract, *Abdominal Imaging .Pictorial Essay , AJR*, 188, 1596-1603.

99-Linnaeus, C. 1758. Systema naturæ per regna tria naturæ, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. *Editio decima, reformata*. Holmiæ. (Salvius). Tomus I: 1-824.

100-Luz, E., Gazda, C.M., Yada, R.S., 1992. Animal fascioliasis in the state of Parana, Brazil: data analysis. *Arquivos de Biologia*e *Tecnologia* , 35, 777–780.

101-Magaji, A.A., Ibrahim, K., Salihu, M.D., Saulawa, M.A., Mohammed, A.A., Musawa, A.I. 2014. Prevalence of Fascioliasis in Cattle Slaughtered in Sokoto Metropolitan Abattoir, Sokoto. *Advances in Epidemiology*, 1-5. DOI : http://dx.doi.org/10.1155/2014/247258

102-Mage, C., 1989. Fréquence de *Fasciola hepatica*. Influence des périodes d'examens coproscopiques et de la conduite de pâturage selon la climatologie. *Revue Méd.vét*, 140(4), 297-301.

103-Mage, C., Chauvin, A., 1997. Gestion agronomique et thérapeutique de l'infestation des ruminants par *Fasciola hepatica* : choix d'un schéma de prévention. *Le Point Vétérinaire*. Numéro spécial, 28, 139-146.

104-Mage, C., 2008. Manuel pratique : Parasites des moutons : Prévention-Diagnostic-Traitement. Chapitre III : Les maladies parasitaires du foie, 2ème Edition, Ed *France Agricole .p 45.*

105-Maidi, S., Marniche, F., 2017. Contribution à l'étude de la prévalence et des facteurs de risques de la fasciolose chez les bovins à l'abattoir Rezzig d'Ain Bessam (Bouira). Thèse ENSV. p 74

106-Malone, J.B., Jr., 1986. Fascioliasis and cestodiasis in cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim.Pract*, 2, 261-275.

107-Maqbool, A., Hayat, C.S., Akhtar, T. ., Hashmi, H.A., 2002. Epidemiology of fasciolosis in buffaloes under different managemental conditions. *Veterinarski Arhiv*, 72, 221-228.

108-Massade, S., 2010. Parasitoses transmises par les viscères. Animaux : incidence chez l'homme. Thèse, Faculté de Pharmacie. p55.

109-Meissonnier, E., Mage, C., 2007. Les méthodes de détection de *Fasciola hepatica* dans les troupeaux bovins en France, *Bull.Acad.Vét*. France, 160(5), 395-406.

110-Messaoudene, S., 2012. Etude biochimique de souches locales *Fasciola hepatica* (Linné, 1758) parasite résponsable de la distomatose hépatobiliaire chez l'homme et les ruminants.Mémoire de magister, Université d'Oran. 114 p

111-Mekroud, A., Benakhla, A., Vignoles, P., Rondelaud, D., Dreyfuss, G., 2004. Preliminary studies on the prevalence of natural fasciolosis in cattle, sheep, and the host snail (*Galba truncatula*) in north-eastern Algeria. *Parasitology Research*, 92(6), 502-505. DOI : https://doi.org/10.1007/s00436-004-1072-1

112-Ménard A., L'Hostis M., Leray w., Marchandeau S., Pascal M., Roudot N., Michel V., Chauvin.2000. Inventory of wild rodents and lagomorphs as natural host of *Fasciola hepatica* on farm located in humid area in Loire Atlantique (France).*Parasite*, 7,77-82p

113-Meurant, C., 2004. Physiopathologie de la cétose de la vache laitière et analyse des profils épidémio-cliniques et biochimiques de cas spontanés. *Thèse ENVL*. p112

114-Millemann, Y., Beugnet, F., Guillot, J., 2008. Manuel Pratique. Maladies des bovins, Maladies parasitaires Générales, 4ème edition, *Ed France Agricole*, p119-122.

115-Miraton, A. M. J., 2008. Etude des endoparasites des Bovins au sein de trois marais communaux du marais Poitevin. *Thèse ENVT*. p 193

116-Mitchell, M., 1995. The distribution and epidemiology of liver fluke in New Zealand. Surveillance, 22, 22–26.

117-Mohamed, A.E, Al Karawi, M.A, Ghandour, Z., 1997.Parasitic disease of the liver and biliary tree. *The Saudi journal of gastroenterology*, 3, 22-8.

118-Moukrim, A., Rondelaud, D., 1991. Premières études épidémiologiques sur un foyer de distomatose animale à *Fasciola hepatica* dans la vallée de l'Oued Massa (Maroc). *Revue de Médécine Véterinaire* ,142, 839–843.

119-Mrifag, R., Belghyti, D., Kharrim, K.E.L., Laamri, M., Boukbal, M., 2012. Enquête sur la fasciolose bovine dans la commune de Khnichet (Maroc).*World Journal of Biological Research*, 5(1), 13–8.

120- Müller OF. 1774. Vermium terrestrium et fluviatilium. Historia, seu animalum infusoriorum, helinthicorum, et testaceorum, non marinorum, succincta historia. Voluminis Imi parsaltera: Hayniae et Lipsiae: (Heinek and Faber).

121-Murthy, K .C.M., D'Souza, P.E ., 2015. Prevalence of bovine fasciolosis based on faecal examination and abattoir survey in Karnataka. *Journal of Parasitic Diseases* , 39(2), 123-125.

122-Naphtalin, L., Child, V.J., Morley, D.H., smith, D.A.1969.Observation of the site of origine of serum GGT. *In Clin Chem Acta*, 297-299.

123-Nath, T.C., Islam, K.M., Ilyas, N., Chowdury, J.K ., Bhuiyan, J.U. 2016. Assessment of the prevalence of gastrointestinal parasitic infections of cattle in hilly areas of Bangladesh. *World Scientific News*, 59, 74-84.

124-Ndiaye, A.R., Ndiaye, B., Diagne Gueye, N.M., Klotz, F., 2013. Parasitoses hépatobiliaires (à l'exception de l'amibiase, de l'hydatidose, de la bilharziose et de la balantidiose), *EMC–Hépathologie*, 1-9. DOI : http://dx.doi.org/10.1016/S1155-1976(13)49327-0.

125-Neyra V., Chavarry E., Espinoza J.2002. Cysteine Proteinases Fas1 and Fas2 are diagnostic markers for *Fasciola hepatica* infection in alpacas (Lama pacos).*Veterinary parasitology*, 105(1).21-32p

126-Njoku-Tony, R.F., 2011. Bovine Fascioliasis Among Slaughtered Cattle In Selected Abattoirs In Imo State, Nigeria. *World Rural Observations*, 3(1), 59-63.

127-Nossair, M.A ., Abdella, D.E., 2014. Serological Detection of *Fasciola hepatica* Antibodies among Cattle and Human in Behera Province, West Delta, Egypt. *Alexandri Journal of Veterinary Sciences*, 40,16-23. DOI: 10.5455/ajvs.48309

128-Nozais J.P., Datry A., Danis M.1996. Fascioloses (distomatose à *Fasciola hepatica, F. gigantica*) In Traité de parasitologie médicale. *2ème Edition Pradel Paris*, 651-669 p

129-Ollerenshaw, C.B ., Smith, LP., 1969 . Meteorological factors and forecasts of helminthic disease. Adv In Parasitol (Ben Dwes Edit), Acad Press, Londres et New York, 7, 283-323.

130-Ouedraogo, G.A. 1986. Contribution a la connaissance des valeurs seriques des enzymes du Zebu gobra (PAL, TGP, TGO, GGT ET LDH).PhD Thesis, Ecole inter-etats des sciences et médecine vétérinaire, Dakar. N°16. p86.

131-Phiri, A.M., Phiri, I.K., Sikasunge, C.S., Monrad, J., 2005. Prevalence of fasciolosis in Zambian cattle observed at selected abattoirs with Emphasis on age sex and origin. *J. Vet. Med. B Infect.Dis. Vet. Public Health* , 52, 414-416.

132-Poglayen, G., Capelli, G., Martini, M., Zampiccoli, R., 1995 . Epidemiologia delle parassitosi dell'apparato digerente del bovino nella provincia autonoma di Trento. *Atti della Societa Italiana di Buiatria*, 27, 483–489.

133-Pourquier, Ph., Caquineau, L., Galaup, M., LE Moal, Y., Martain, L., Salingardes, F., Turmel R., 1995 . Evaluation de l'infestation naturelle de cheptels bovins par *Fasciola hepatica* d'après le titrage d'anticorps du sang ou du lait avec un réactif ELISA utilisant l'antigène spécifique f2*, Bull. Soc. Vét*. Prat. de France, juin-juillet, T. 79, n° 6-7,285-307.

134-Predescu, G., Gaina, M., Cozma, V., 2009. Serological screening profile with ELISA assay in chronic bovine fasciolosis in Bistrita-Nasaud area. *Scientia Parasitologica*,1–2,56–58

135-Rakotoarisoa, A.L., 2002. Contribution à la connaissance de l'épidémiologie de la fasciolose à *Fasciola gigantica* : Cas de la ferme laitière de Bevalala, Mémoire de fin d'étude, Université d'Antananarivo, Ecole supérieure des sciences agronomiques. p 10-13. (94p)

136-Ravoniarison Z.F.V. 2001.Etude comparative de quelques produits fasciolicides dans le Firaisana D'Ambatolahy- IHOROMBE. Thèse de fin d'étude. Université d'antananarivo.p20(92P)

137-Revillard, JP., 2001. Principes des techniques immunologiques d'application courante en analyse médicale. Immunologie, chapitre 31,4ème Edition, *Ed DeBoeck Université*. p 600.

138-Ribot, J.J et Razafindrakoto D., 1966. La distomatose des ruminants. Maladie du présent et de l'avenir à Madagascar. p165-166.

139-Rondelaud, D., Mage, C., 1988. Limnée tronquée et molluscicides .*Bull.GTV*, 6, 336-343.

140-Rondelaud, D., Hourdin, P., Vignoles, P., Dreyfuss, G., 2009. Peut- on détecter les habitats d'un mollusque : *Galba truncatula* (Gastéropodes , Lymnaeidae) à l'aide de plantes indicatrices sur les sols acides di Limousin ?, *Annales Scientifiques du Limousin*.20 :p1-14.

141-Ross, J.G., 1968. The life span of *Fasciola hepatica* in cattle. *Vet. Rec*. 82, 587-589.

142-Rousset, J.J., 1993. Cadre Technique. Chapitre 2 dans Corpo-parasitologie pratique. Intérêt et Méthodologie. Notion sur les parasites du tube digestif. *Ed ESTEM.* p 21.

143-Sabourin,E. 2018. Dynamique de la fasciolose dans un système fortement anthropisé : la Camargue.Microbiologie et Parasitologie. Université Montpellier, P28 (250p). Français.

144-Sajadi , S.M., Taki , B. O.A ., 1997. Quantitative histopathology of liver and portal lymphnode in chronic bovine Fascioliasis. *Indian Journal of Animl Sciences*,67(4), 270–274.

145-Saladin, K.S., 1979. Behavioural parasitology and perspectives on miracidial host-finding. *Z. Parasitenkd*, 60, 197-210.

146-Salam, M.M., Maqbool, A., Naureen, A.., Lateef, M. 2009. Comparison of different diagnostic techniques against *Fasciolosis* in Buffaloes. *Veterinary World*, 2(4),129-132.

147-Salaün, K., 2004. La fasciolose bovine en Mayenne : évaluation du risque d'infestation en troupeaux laitiers, Thèse de diplôme d'état de docteur vétérinaire Nantes. p 17

148-Salem, A., Chauvin, A., Braun, J.P., Jacquiet, P.H., Dorchies, P.H., 2011.Comparaison de six méthodes de dépistage de *Fasciola hepatica* chez les bovins naturellement infestés.*Revue de Medecine Vétérinaire*,162(1),18–24.

149-Salem, N., Touri Abd el Mouhsin, A., 2014. Etude de la prevalence de la fasciolose chez les bovins dans l'abattoir d'El Harrach. Thèse ENSV.p31

150-Sanchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., Suarez, J.L., Panadero, R., Pedreira J., Lopez, C., Díez-Baños P., Morrondo P., 2002. Influence of age and breed on natural bovine fasciolosis in an endemic area (Galicia, NW Spain). *Vet. Res. Commun*, 26, 361-370.

151-Sawadogo, G.J., D.A. K., Ouedraogo, G.A., Ilboudo, A.J., Benard, P., Braun, J.P., 1993. Influence de la Fasciolose naturelle sur les marqueurs hépatiques sériques chez le Zebu en Afrique de l'Ouest. *Revue de Medecine Vétérinaire*,10,787–789.

Références bibliographiques

152-Schmidt,G.D., Roberts, L.S., 2005. Foundations of Parasitology 7. McGraw-Hill, 2006

153-Shimalov V and Shimalov V.2000. Finding of *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 in wild animals in Belorussian Polesie, *Parasitology Reaserch*, 86,527p

154-Simmank, W., 1987. Der grosse Leberegel (*Fasciola hepatica*) aus fleischhygienischer Sicht. *Rundschau fur Fleischhygiene und Lebensmitteluberwachung*, 39, 5–6.

155-Smith, G., Grenfell, B.T., 1984. The influence of water temperature and pH on the survival of *Fasciola hepatica* miracidia. *Parasitology* , 88, 97-104.

156-Talukder, S., Bhuiyan, M., Hossain, M., Uddin, M., Paul, S., Howlader, M. 2010. Pathological Investigation of Liver Fluke Infection of Slaughtered Black Bengal Goat in a Selected Area of Bangladesh. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*,8(1),35–40.DOI: https://doi.org/10.3329/bjvm.v8i1.7717

157-Taylor, S.M., 1989. Control of fasciolosis in the British Isles. *Magyar Allartorvosok Lapja* , 44, p651–655.

158-Taylor, M.A., Coop, R.L., Wall, R.L., 2007. *Fasciola hepatica*, In: Publishing, B.(Ed.)Veterinary Parasitology. Blacwell Publishing Ltd, Oxford.

159-Tennant, B.C., Center, S.A., **2008**. Hepatic Function In Clinical Biochemistry of Domestic Animals, Sous la direction de Kaneko J.J., Harvey J.W., Bruss M.L. 6th Ed. Academic press. p395-406.

160-Terchi, N., Yousfi, A., Bensalem, A., 2014. Contribution à l'étude de la fasciolose bovine au niveau se l'abattoir d'El Harrach. Thèse ENSV. p35

161-Trivilin, O.L., de Sousa, D.R., Nunes, L de C., Rocha, N de S., Martins, I.V.F., 2014. Histopathology aspects and fibrosis evaluation of bovine naturally infected livers by *Fasciola hepatica*. Archives of Veterinary Science, 19(1),61–69. DOI: https://doi.org/10.5380/avs.v19i1.32506

162-Troncy, P.M., 1981. Helminthoses du bétail et des oiseaux de basse-cour en Afrique Tropical, Tome I. 265p.

163-Tsegaye, B., Abebaw, H., Girma, S., 2012. Study on coprological prevalence of bovine fasciolosis in and around Woreta , Northwestern Ethiopia. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*,4(7), 89–92p.DOI: https://doi.org/10.5897/JVMAH12.018

164-Ullah, A., Khan Khalid, Khan Muhammad Ismail, Khan Ahsan, Alam Aftab., 2013. Prevalence of *Fasciola hepatica* in domesticated cattle of Distt: Lower Dir, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan, *International Journal of Biosciences*, 3(12), 73-80. Doi: http://dx.doi.org/10.12692/ijb/3.12.73-80

165-Urbanyi J., 1993. Cadre technique, chapitre 2 dans coproparasitologie pratique, Intérêt et méthodologie. Notion sur les parasites du tube digestif.Edition ESTEM , p21.

166-Valero M., Panova M., Comes A., Fons R., Mas-Comas.2002. Patterns in size and shedding of *Fasciola hepatica* eggs by naturally and experimental infected murid rodents, *Journal of Parasitology* ,88(2),308-313p

167-Vareille-Morel, C., Dreyfuss, G., Rondelaud, D., 1999. The characteristics of habitats colonized by three species of Lymnaea in swampy meadows on acid soil: their interest for fasciolosis control. Ann. *Limnol.-Int. J. Limnol*., 35, 173-178.

168-Vareille-Morel, C., Dreyfuss , G., Rondelaud, D., 2007. Les habitats des Lymnaeidae sur sol acide. A propos de quelques observations dans la région Limousin sur une trentaine d'années. *MalaCo*, 4, 143-147.

169-Vaughan J.L., Charles J.A., Boray J.C.1997. *Fasciola hepatica* infection in farmed emus (*Dromaius novaehollandiae*), *Aust Vet J,* 75(11), 811-813p.

170-Vazquez A.A.P, 2015. Interaction hôte – parasite en contexte insulaire : relations entre *Fasciola hepatica* (Trematoda) et les mollusques *Galba cubensis* et *Pseudosuccinea columella* (Gastropoda) sur l'Île de Cuba. Thèse doctorat, Université de Monpellier.291p

171-Vuitton, D.A, Bresson-Hadni, S, Delabrousse, E, Mantion, G.A., 2004. Foie et maladies parasitaires, *Gastroenterol Clin Biol*, 28, 1122-1137.

172-Walton, C.L., 1918. Liver rot of sheep, and bionomics of Limnaea truncatula in the Aberystwyth area. *Parasitology* , 10, 232-266.

173-Wele, A., 1998. La Distomatose hépato-biliaire. A propos de deux cas importes, observés à DAKAR.Thèse, Université Cheikh anta Diop de DAKAR . Faculté de médecine, de pharmatie et d'odonto-stomatologie.N°25, 126p.

174-Ximenes, T., Rondelaud, D., Mage, C., Chermette, R., 1993. L'élimination de la limnée tronquée dans les pâturages ; contrôle biologique et lutte intégrée contre la fasciolose. *Point Vét*, 24, 615-621.

175-Yildirim, A., Ica, A., Duzlu, O., Inci, A., 2007. Prevalence and risk factors associated with *Fasciola hepatica* in cattle from Kayseri province, Turkey. *Revue de Medecine Vétérinaire.* 158(12), 613–617.

176-Zagare, G.M.L.,1992. Etdue epidemiologique de la fasciolse bovine au Burkina Faso.Thèse, n° 8. Université Cheikh Anta Diop de DAKAR 126p.(147p).

177-Zajac, A.M., Conboy, G.A., 2012. Veterinary Clinical Parasitology, Ruminants and camilids, 8th Edition. *Wiley- Blackwell.* p 110.

Site internet:

- Centre hépato biliaire Paul Brousse : **(Ciacio et Castaing., 2015)**
  www.centre-hepato-biliaire.org/maladies-foie.html
- Cartographie de la wilaya de boumerdes :

www.odej-boumerdes.dz/Boumerdes/site-geo.html

ANNEXES

Annexe1

Tableau 7: Constituants du kit IDEXX

Réactifs		Volumes
1	Plaque sensibilisée avec des antigènes f2 de *Fasciola hepatica*	**5**
2	Contrôle positif	**1 x 1.0 ml**
3	Contrôle négatif	**1 x 1.0 ml**
4a	Conjugué concentré (100 X)	**1x 0.75 ml**
4b	Tampon de dilution N°1	**1x 120 ml**
5	Tampon de dilution N° 2	**1x 120 ml**
A	Substrat TMB N° 13	**1x 60 ml**
B	Solution d'arrêt N° 3	**1x 60 ml**
C	Solution de lavage concentrée (20x)	**1x 100 ml**

- **Préparation des solutions**

  - **Solution de lavage (x20)**

Pour une microplaque de 96 puits, on procède à la dilution de la solution de lavage 20 fois concentrée au 1/20 selon la formule suivante :

V1 (solution mère concentrée) = V2 (solution fille) / d (Facteur de dilution).

300µl X 96 Puits X 8 Lavages = 230400µl= **230.4ml**.

Nous avons besoin d'un volume total de 230.4 ml

V1= 230.4/20 **V1 = 11.52 ml**

On prélève 11.52 ml de la solution de lavage 20 fois concentrée à laquelle on ajoute une quantité d'eau distillée 218.88ml afin d'obtenir un volume de 230.4 ml de solution de lavage diluée.

  - **Le conjugué concentré (X100)**

On procède de la même manière que pour la solution de lavage. On calcule la quantité indispensable soit 100µl x96 puits =9600 µl ou 9.6ml.

V1= 9600/100 **V1= 96 µl**

On prélève 96µl du conjugué concentré (X100) auquel on additionne 9504µl soit 9.50 ml de tampon de dilution N° 1.

Calcul

Contrôles : valeur moyenne de la densité optique du control positif

$CPX = (CP1_{+Ag} + CP2_{+Ag})/2$

$NEX_{CP} = [(CP1_{+Ag} - CP1_{+Ag}-)] + [(CP2_{+Ag} – CP2_{+Ag}-)] / 2$

$NE_{CN} = CN_{Ag+} - CN_{Ag}-$

La validité de la technique se base sur la moyenne de la densité optique du contrôle positif qui doit être supérieure ou égale à 0.350 et au rapport de la densité optique nette du contrôle positif sur la Do nette du contrôle négatif qui doit être supérieure ou égale à 3.50.

Echantillons

La valeur de densité optique nette (NE) de chaque échantillon correspond à la soustraction

De la valeur de densité optique mesurée dans le puits Ag +, de la valeur de densité optique du puits à Ag -.

$$\mathbf{NE = E_{Ag+}\ A(450) - E_{Ag-}\ A(450).}$$

$$\mathbf{E/P\ \% = 100\ x\ (NE\ /NE}\boldsymbol{X}_{\mathbf{CP}}\mathbf{).}$$

Concernant les sérums individuels, l'interprétation se fait tel qu'il est décrit dans le tableau ci- dessous.

Négatifs	**Faible positifs**	**Moyennement positifs**	**Hautement positifs**
E/P% ≤ 30%	30%<E/P%≤80%	30% < E/P%< 150%	E/P% ≥ 150%

Annexe 2

- **Proteines totales (SPINREACT)**

Tableau 8: Les réactifs intervenants dans le dosage des protéines totales.

Réactifs		
R Biuret	Tartrate de potassium de sodium	15mmol/L.
	Iodure de sodium	100mmol/L.
	Iodure de potassium	5mmol/L.
	Sulfate de cuivre(II)	5mmol/L.
	Hydroxyde de sodium	1000 mmol/L
T Protéines cal	Patron primaire d'albumine bovine	7g/dl

- **Albumine (BIOLABO)**

Tableau 10 : Les réactifs intervenants dans le dosage de l'albumine

Flacon R1	**Vert de bromocrésol**
Acide succinique	83 mmol/L
Vert de bromocrésol (BCG)	167 µmol/L
Hydroxide de sodium	50mmol/L
Polyoxyéthylène monolauryl éther	1.00 g/L
Conservateur	
Flacon R2	**Etalon**
Albumine bovine	50g/L (725µmol/L)

- **Phosphatase alcaline (PAL) (BIOLABO)**

Tableau 12 : Les réactifs intervenants dans le dosage de la PAL

Flacon R1	**Tampon**
Tampon DEA (Diéthanolamine) Ph10 (25°C)	1 mol/L
Chlorure de magnésium	0.5 mmol/L
Conservateur	
Flacon R2	**Substrat**
P-nitrophénylphosphate	10 mmol/L

- **Préparation des réactifs**

Utilisation d'un objet non coupant pour décapsuler le flacon R2 (substrat).Nous versons rapidement le contenu du flacon R2 dans le flacon R1 (tampon) et nous mélangeons doucement jusqu'à dissolution totale.

Un temps de deux minutes est nécessaire avant l'utilisation du réactif.

- **Gamma GT (Méthode GPNA Carboxylé)**

Tableau 13 : Les réactifs intervenants dans le dosage de la Gamma GT

Flacon R1	**Tampon**
Glycylglycine	100mmol/L
TRIS PH 8.25	95 mmol/L
Conservateur	
Flacon R2	**Substrat**
L-G-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide (GPNAcarboxylé)	80mmol/L

- **Préparation des réactifs**

Après avoir décapsulé le flacon R2, nous transvasons sans délai 10 ml du flacon R1dans le flacon du substrat R2. Nous mélangeons doucement jusqu'à dissolution complète du produit.

- **ALAT/TGP (BIOLABO)**

Tableau 14 : Les réactifs intervenants dans le dosage de L'ALT

Flacon R1	Réactif de travail
2- oxoglutarate	**15mmol/L**
L-Alanine	**500mmol/L**
LDH	**≥ 1600UI/L**
NADH	**≤ 0.18mmol/L**
Tampon Tris	**100mmol/L**
PH à 30°C	**7.50±0.1**

- **ASAT/TGO (BIOLABO)**

Tableau 15 : Les réactifs intervenant dans le dosage de l'ASAT

Flacon R1	Réactif de travail
EDTA	**5mmol/L**
2- oxoglutarate	**12mmol/L**
L-Aspartate	**200mmol/L**
MDH	**495 UI/L**
LDH	**820 UI/L**
NADH	**≤ 0.18mmol/L**
Tampon Tris	**80mmol/L**
PH à 30°C	**7.80±0.1**
Conservateur	

- **Préparation des réactifs**

Après décapsulation, nous ajoutons 30 ml d'eau distillée au contenu du flacon R1. Nous attendons par la suite 2 minutes après dissolution totale du produit.

Fiche de renseignements (*Fasciola hepatica*)

Nom du vétérinaire :
Wilaya d'élevage :
Région d'élevage :

Q1 : Nombre de bovins ? ☐

Q2 : Quel est le type d'élevage ? Laitier ☐ Viandeux ☐

Q3 : Quel est le type de stabulation ? Libre ☐ Entravée ☐

Q4 : Depuis combien de temps se trouvent- ils dans l'exploitation ?

< 6 mois ☐ > 6 mois ☐ > 1 an ☐

Q5 : Est-ce qu'ils pâturent ? Oui ☐ Non ☐

Q6 : Reçoivent ils de l'herbe fraichement récoltée Oui ☐ Non ☐

Q7 : Existe-t- il des zones à risque ? Oui ☐ Non ☐

Type : Ruisseau, oued, mare, étang d'eau, terrain marécageux ou autre servant d'abreuvoir.

Q8 : Avez-vous observé la présence de mollusques sur les zones de pâture ?

Oui ☐ Non ☐

Q9 : Avez -vous déjà diagnostiqué des cas de fasciolose (douve du foie/*Fasciola hepatica*) sur les bovins de réformes à l'abattoir ?

Q10 : Si, oui combien de cas de fasciolose avez-vous diagnostiqué au cours des 12 derniers mois ? ☐

Q11 : Dans le cas ou vous avez diagnostiqué des cas positifs à Fasciola hepatica chez les bovins, le nombre de cas vous semble il en :

Augmentation ☐ Stagnation ☐ Diminution ☐

Q12 : Ont-ils subi un traitement antiparasitaire Oui ☐ Non ☐

Si oui, à quant remonte le traitement ☐

Résumé

La distomatose hépatobiliaire bovine est une zoonose occasionnant de nombreux problèmes d'ordre sanitaires et socioéconomiques. Le plus souvent, il s'agit d'une découverte d'abattoir mais qui demeure très peu connue en Algérie. Pour cela 143 échantillons sanguins et coprologiques ont été prélevés et analysés sur 15 mâles et 128 femelles de race et d'âge différents provenant des régions de Boumerdes et de Reghaia.

Notre étude a révélé un niveau hétérogène dans l'expression des anticorps anti *Fasciola hepatica* en réponse à l'infection avec des prévalences de 24.13% pour Boumerdes et de 19.64% pour Reghaia.

En effet, sur les 13 fermes étudiées, quatre présentaient des critères de forte infestation C (13,64%), D (26,31%), I (16,67%) et L (5,88%) et quatre autres étaient indemnes de cette parasitose.

Afin d'expliquer la variabilité intrinsèque de l'infection, nous avons identifié, le sexe, la race et la coprologie comme des facteurs de risque potentiels qui se sont révélés avoir une action secondaire sur l'infestation.

Pour évaluer l'intégrité du parenchyme hépatique et d'en apprécier sa fonctionnalité, les activités enzymatiques hépatiques sont examinées et montrent des niveaux relativement faibles d'aminotransférase qui excluent la cytolyse. Bien que sensibles à l'infection par *Fasciola hepatica*, la γGT et la PAL sont incompatibles avec le taux d'infestation. En outre, les niveaux relativement élevés de protéines et d'albumine dans les zones étudiées éliminent l'insuffisance hépatique. Ensemble, les résultats nous dirigeraient vers une fasciolose chronique confirmée par l'histologie.

Mots-clés : Epidémiologie, prévalence, *Fasciola hepatica*, bovins, paramètres biochimiques, enzymes hépatiques, sérologie, ELISA, coprologie