

Etude du parasitisme par les helminthes des bovins d'arrière mangrove en Guadeloupe

II. Influence des conditions physico-chimiques sur le développement des stades libres des strongles gastro-intestinaux

par H. MAULEON, L. GRUNER

I.N.R.A. Station de pathologie aviaire et de parasitologie, Laboratoire d'Ecologie Parasitaire, Nouzilly, 37380 Monnaie.

RÉSUMÉ

Par des expériences *in situ* sur des prairies d'arrière mangrove et au laboratoire, il est montré que les œufs de strongles évoluent jusqu'au stade larve infestante dans les bouses, mais que la durée de vie de ces larves est affectée par la salinité du milieu. La pression osmotique a un rôle prépondérant dans ce phénomène.

En 1979 et 1980 (9), nous avons observé que le parasitisme des bovins pâturant en arrière mangrove était plus faible que celui des autres élevages de l'île. De même, peu de parasites étaient retrouvés sur ces prairies et plusieurs hypothèses étaient avancées pour expliquer ces phénomènes : inondations de l'arrière mangrove pendant la saison des pluies, conditions particulières d'utilisation de ces prairies (déplacements fréquents des animaux, emploi de décoctions de plantes ayant des vertus anthelminthiques), enfin conditions physico-chimiques particulières, ces milieux ayant souvent une salinité élevée.

C'est ce dernier point que nous avons retenu dans cette étude. En premier lieu, nous avons tenté de mieux cerner cette influence du milieu sur le développement des œufs en larves en effectuant, entre mai et juillet 1980, des

dépôts de fèces parasités en arrière mangrove et sur une prairie témoin. De façon comparative, l'évolution des parasites et de plusieurs facteurs environnants sont mesurés. L'étude détaillée de l'action de certains d'entre eux est par ailleurs menée au laboratoire.

I. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Etudes sur le terrain

La prairie d'arrière mangrove retenue est l'une de celles sur lesquelles nous avons étudié le parasitisme animal (9) située près du canal Perrin (transect III). La zone à *Bacopa monieri* a été choisie pour y placer les dépôts car cette espèce est caractéristique de l'association d'arrière mangrove ; le piétinement des animaux favorise son développement au détriment des autres espèces, aussi la surface qu'elle couvre augmente en même temps que l'utilisation de ces prairies par les bovins.

Ce travail a été réalisé à la Station I.N.R.A. de Zoologie de Guadeloupe avec l'aide financière de la D.G.R.S.T. dans le cadre de l'action concertée « Mangrove et zone côtière ».

La prairie témoin pâturée par des bovins dont nous avons suivi le parasitisme interne est couverte de *Wedelia trilobata* ; le sol, jamais inondé, a une salinité inférieure à 1 p. 1000. Elle est située dans le nord de la Basse-Terre près de la rivière à Goyave.

De mai à juillet 1980, chaque quinzaine sur chacune des 2 prairies étudiées, des matières fécales sont récupérées au moment de leur émission par les bovins présents, homogénéisées sur place et réparties en bouses de poids égal. 24 sont déposées en mangrove, 16 sur la prairie témoin, et chaque jour, à heure fixe, 3 bouses de la mangrove et 2 de la prairie témoin sont rapportées au laboratoire. Les mesures physico-chimiques sont faites sur une bouse de chaque site ; les autres sont utilisées pour le dénombrement des parasites. Le sol sous-jacent est également rapporté le dernier jour.

Six séries de dépôts et récupérations ont ainsi été effectuées au début de la saison des pluies.

● Dénombrement des parasites

La densité en œufs de strongles est estimée le 1^{er} jour par 5 coproscopies à la lame Mac Master, par flottaison dans le sulfate de magnésium ($d = 1,25$). Les bouses rapportées des prairies sont mises à incuber à 26 °C afin de permettre aux œufs et larves d'atteindre le 3^e stade.

Les larves sont extraites par Baermann le 7^e jour puis dénombrées et diagnostiquées. Les espèces présentes sont un mélange de Trichostrongles riche en *Oesophagostomum*,

Trichostrongylus et parfois *Haemonchus*, avec présence de quelques *Cooperia*, *Ostertagia* et *Mecistocirrus*.

● Mesures physico-chimiques

Sur les bouses rapportées à cet effet, la teneur en eau est mesurée par pesée avant et après séchage (15 h à 100 °C) de 20 à 50 g frais de matière fécale et de 50 g de terre le dernier jour. Cinquante grammes de matière ou de terre sont par ailleurs broyés dans un mortier, additionnés d'eau distillée jusqu'à l'obtention d'un état pâteux permettant la mesure du pH. Après centrifugation, 15 min à 3 000 tours/min, le surnageant est placé dans l'ampoule d'un osmomètre pour mesure de la salinité.

● Mesures climatiques

En plus des données météorologiques des postes les plus proches situés respectivement à 5 et 1 km des sites étudiés (poste du Raizet pour la mangrove, du Centre I.N.R.A. de Duclos pour la prairie témoin), la température du sol à - 10 cm, de l'air à 50 cm et de la bouse, est prise au moyen de thermomètres à mercure au moment des dépôts et des prélèvements.

La comparaison entre les températures et les pluies, relevées dans les postes météorologiques, révèle qu'il fait significativement plus chaud de 1,9 °C au Raizet mais qu'il pleut plus (3,3 mm) à Duclos, ceci sur l'ensemble de la période comprise entre le 15 mai et le 25 juillet.

TABL. N°I-Comparaison de températures entre la matière fécale et l'air sous abri à 50cm du sol

	Matière fécale			Air	
	T° > 35°C	30°C < T° < 35°C	T° < 30°C	T° < 30°C	T° ≥ 30°C
1er jour	0	7,3 h	16,7 h	19 h	5 h
2e jour	5,7 h	3,5 h	14,9 h	18 h	6 h
3e jour	0	8 h	16 h	24 h	0
4e jour	5 h	5,2 h	13,8 h	20 h	4 h
5e jour	6,2 h	4,8 h	13 h	20 h	4 h
6e jour	1,7 h	9,8 h	12,5 h	24 h	0
Total	18,6 h	38,6 h	86,8 h	127 h	19 h
	57,2 h				19 h

Les relevés ponctuels montrent des maximums à 50 cm du sol plus élevés en mangrove (35 à 39 °C pour 27 à 30 °C dans la prairie témoin). Les températures du sol sont par contre équivalentes et varient peu entre 22 et 24 °C. Les pluies abondent plus à Duclos, surtout dans la série du 21 au 25 juillet.

Un enregistrement continu au moyen de sondes thermométriques a été réalisé pendant 6 journées consécutives à un dépôt de bouse, de façon comparative, dans les matières fécales et à 50 cm du sol sous abri (tabl. 1). La température de l'air oscille entre 30 et 35 °C tandis que, dans la bouse, les amplitudes atteignent 14 °C entre le jour et la nuit ; des températures supérieures à 35 °C étant enregistrées pendant plusieurs heures consécutives. Aucune corrélation significative n'a pu être établie entre les températures de l'air et des fèces.

La teneur en eau des 2 prairies (fig. 1) n'est pas la même, celle de la mangrove étant toujours plus élevée, avec présence d'inondations en juillet.

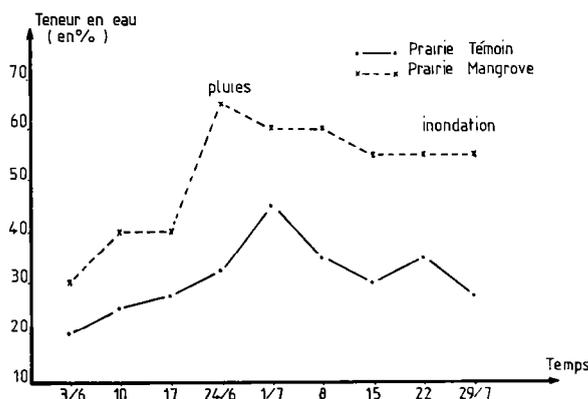


Figure 1. — Evolution de la teneur en eau du sol d'arrière mangrove et de la prairie témoin pendant la période d'étude en 1980.

2. Etudes au laboratoire

● Toxicité des jus de bouse et du sol

Les surnageants issus de la centrifugation de sol et de bouse provenant de la mangrove et de la prairie témoin sont utilisés dans des essais de toxicité vis-à-vis des larves infestantes de strongles. Ces larves sont disposées individuellement dans des cupules en présence des solutions à expérimenter et observées régulièrement afin de noter leur mortalité. Les essais sont conduits à 28 °C.

● Survie des larves en solution à salinité et pH variables

Le dispositif est le même que précédemment. Les larves de 3^e stade sont isolées dans des bacs à cupules en présence de la solution à expérimenter.

Les solutions salées sont faites à partir de cristaux purs dissous soit dans de l'eau du robinet (contenant 0,05 g Ca⁺⁺/l, 0,04 g Mg⁺⁺/l, 0,01 g/l Na⁺), soit dans de l'eau déminéralisée. Les concentrations des différents sels sont calculées afin d'avoir une pression osmotique comparable ; le sel de référence étant le NaCl : 1 milliosmole = 0,031 g de NaCl/l.

Les essais sont tous conduits à la température constante de 30 °C. Le tableau II les résume.

Pour le pH, deux milieux tampons sont utilisés : le tampon Mac Ilwaine allant de pH 4 à pH 8 et le tampon Black et Lubs allant de pH 8 à pH 10. Les essais sont conduits comme précédemment.

TABL. N° II—Etude de la survie des larves infestantes de différents genres de strongles de bovins dans des solutions salées

	Eau déminéralisée		Eau du robinet		
	28	14	35	28	14
p.o. en g/l NaCl	900	450	1125	900	450
p.o. en m. osm.	Os-Oe-Ha-Ne		Os	Os	-
NaCl	-	Os-Oe	Os	Os	Os
CaCl ₂	-	Os-Oe	Os	Os	Os
MgCl ₂	-	-	Os	-	-
KCl	-	-	Os	-	-

(60 larves par essai ; p.o. = pression osmotique ; Os = *Ostertagia* ; Oe = *Oesophagostomum* ; Ha = *Haemonchus* ; Ne = *Nematodirus*).

II. RÉSULTATS

1. Evolution des parasites en mangrove et sur la prairie témoin

Les nombres de larves de strongles issus des bouses ayant séjourné en mangrove ou sur la prairie témoin de 1 à 5 jours suivis d'un complément à 26 °C jusqu'à 7 jours, sont exprimés en larves pour 100 œufs déposés (tabl. III et IV).

Il apparaît que le taux d'évolution des œufs en larves varie de 2,7 à 27,8 selon les bouses, mais une analyse de variance à 3 facteurs (site, durée et époque du dépôt) ne révèle aucune variation significative due à ces facteurs ou à leurs interactions.

Ainsi les 6 séries de dépôts effectués entre mai et juillet donnent des résultats variables mais équivalents, les maximums étant observés en juin. De même, la durée de séjour sur le sol ne semble guère intervenir malgré des taux d'évolution plus faibles le 1^{er} jour. Cela signifierait que les conditions de culture en laboratoire s'avéreraient défavorables par rapport à celles du terrain.

Entre les deux sites mangrove et prairie témoin, les taux d'évolution des œufs en larves sont similaires. Les facteurs physico-chimiques (fig. 2) des bouses évoluent également de façon similaire entre les 2 sites: le pH augmente de 7 à l'émission à 8 au 5^e jour, la teneur en eau diminue de 85 à 70 p. 100 en moyenne, de fortes pluviométries ayant minimisé cette déshydratation dans certaines

séries. Enfin, le taux de salinité passe de 4 p. 1000 (g NaCl/l) lors de l'émission des matières à un peu moins de 2 sur la prairie témoin, 2,8 en mangrove.

2. Action des facteurs physico-chimiques sur la viabilité des larves de strongles

Le fait que les œufs évoluent en larves de la même façon en arrière mangrove et sur la prairie témoin a orienté l'étude de l'action des facteurs physico-chimiques vers celle de leurs effets vis-à-vis des larves infestantes, en considérant en premier lieu l'environnement immédiat de ces larves issues d'œufs dans les bouses.

• Toxicité des jus de bouse et du sol

Le TL 50 (temps léthal pour 50 p. 100 de la population) est déterminé graphiquement.

La viabilité des larves dans le jus extrait des bouses d'arrière mangrove ou de la prairie témoin est identique, résultat qui confirme ceux déjà obtenus précédemment. Par contre, une nette différence existe quant aux solutions issues du sol des 2 sites, et à une plus faible valeur de la TL 50 correspond une plus forte pression osmotique.

• Survie des larves en solution à salinité variable

Une première comparaison de la sensibilité de 4 espèces est faite dans une solution à 28 g/l de NaCl. Les temps léthaux obtenus sont respectivement de 9,6 jours pour *Oesophagos-*

TABL. N°III-Nombre moyen de larves récupérées sur l'ensemble des 6 séries de dépôts de bouses en fonction de la durée de séjour en mangrove et sur la prairie témoin (larves pour 100 œufs)

Durée de séjour (jours)	J1	J2	J3	J4	J5
Mangrove	3,3	10,6	15,5	18,5	13,9
Prairie témoin	6,3	6,4	11,7	15,4	7,5

TABL. N°IV-Nombre moyen de larves récupérées sur l'ensemble des dépôts de bouses en fonction des dates de séjour sur les prairies témoin et d'arrière mangrove (larves pour 100 œufs)

Dates de séjour	12 au 16 mai	19 au 23 mai	2 au 6 juin	16 au 20 juin	30 juin au 4 juillet	21 au 25 juillet
Mangrove	2,7	9,3	11,3	27,8	4,5	5,5
Prairie témoin	4,7	12,9	20,0	19,0	5,2	8,9

TABL. N°v-Mortalité des larves de strongles en présence de solutions extraites de bouses et de sol provenant d'arrière mangrove et de la prairie témoin

Solution	Matière fécale		Terre	
	Témoin	Mangrove	Témoin	Mangrove
TL 50 (en j)	9,2	9,5	11,7	7,5
Pression osmotique (en milliosmoles)	45	50	30	130

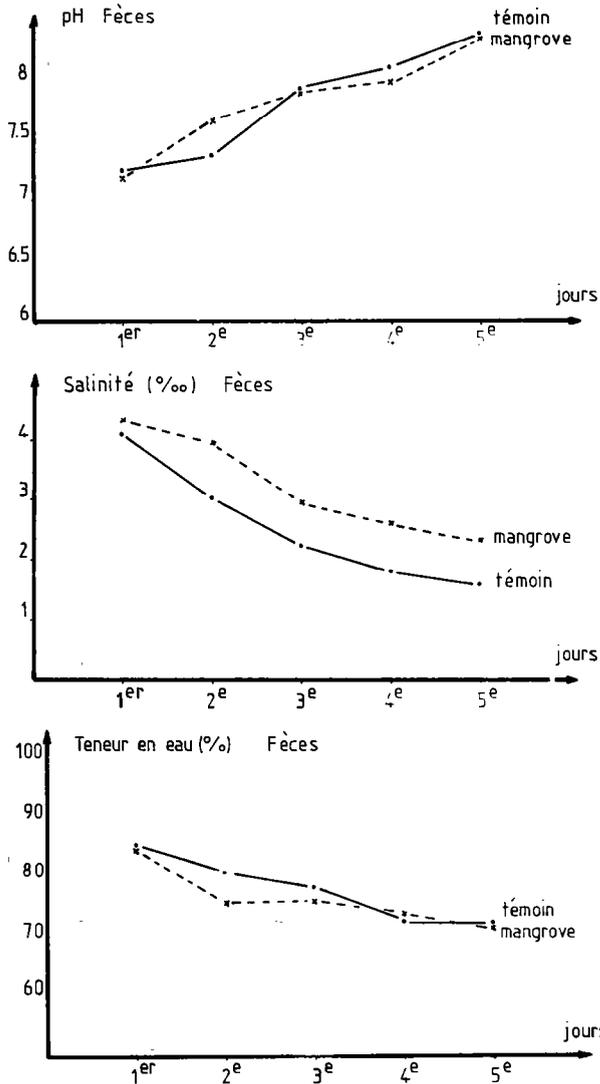


Figure 2. — Evolution de la teneur en eau, du pH et de la salinité des bouses déposées en arrière mangrove et sur la prairie témoin.

tomum sp., 5,7 pour *Haemonchus* sp., 4,7 pour *Nematodirus* sp. et 4,5 pour *Ostertagia* sp.

Ainsi *Oesophagostomum* s'avère 2 fois plus

résistant qu'*Ostertagia* à une solution de 28 p. 1000 de NaCl (soit 900 milliosmoles).

Une comparaison a été effectuée entre ces 2 espèces dans des solutions de chlorures de magnésium et de calcium faites dans de l'eau déminéralisée, la pression osmotique étant de 450 m.osm. (fig. 3). Si les courbes de mortalité sont similaires dans le $MgCl_2$, *Oesophagostomum* paraît plus sensible à l'ion Ca^{++} qu'*Ostertagia*.

Pour mieux déterminer l'action des différents cations, les courbes de mortalité de larves d'*Ostertagia* ont été établies dans des solutions de salinité et de nature variée (fig. 4). Aux différentes pressions osmotiques étudiées, le cation Ca^{++} est le plus toxique, Mg^{++} en étant d'autant plus proche que la pression osmotique est élevée. Les ions monovalents Na^+ et K^+ sont moins actifs.

● *Survie des larves d'Oesophagostomum en solution à pH variable*

Les mortalités les plus élevées observées (fig. 5) sont aux valeurs extrêmes des pH, 4 et 10, les résultats étant équivalents de pH 5 à pH 9, sauf pour une solution de pH 8 dont la pression osmotique dépassait 400 milliosmoles.

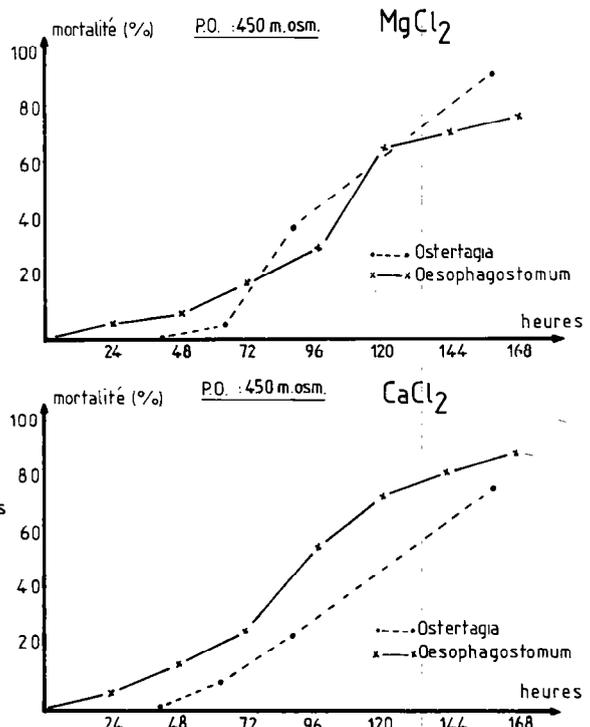


Figure 3. — Mortalité des larves infestantes d'*Ostertagia* et d'*Oesophagostomum* dans des solutions de chlorures de magnésium et de calcium à même pression osmotique.

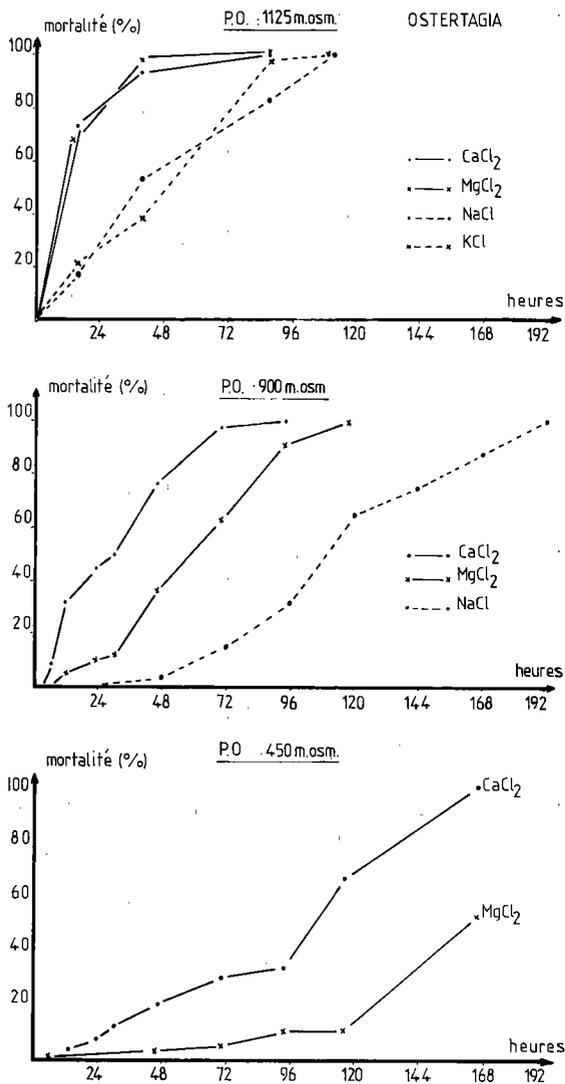


Figure 4. — Mortalité des larves infestantes d'*Ostertagia* dans des solutions de chlorures à plusieurs niveaux de pression osmotique.

III. DISCUSSION ET CONCLUSION

L'évolution des œufs de strongles gastro-intestinaux dans les bouses est similaire, qu'elles soient déposées en arrière mangrove ou sur la prairie témoin. L'effet du dépôt est certes temporisé par le séjour complémentaire en conditions contrôlées ; d'autre part, les bouses sont récupérées au plus tard 4 jours après leur dépôt, car au-delà une proportion non négligeable de larves quitte les fèces pour migrer sur l'herbe et le sol (5), aussi a-t-on une mesure moins précise de leur nombre et par conséquent du pourcentage d'œufs ayant évolué jusqu'à ce stade.

L'observation des conditions ambiantes entourant les parasites dans les matières fécales amène plusieurs remarques :

— la température plus élevée de près de 2°C en mangrove aurait pu entraîner une vitesse d'évolution plus grande qui n'est pas apparue dans nos dénombrements de larves. Les températures sont trop proches, et la vitesse d'évolution varie peu pour des températures comprises entre 25 et 32°C d'après CIORDIA et BIZZELL (3). Cependant, AHLUWALIA et CHARLESTON (2) ont établi une corrélation entre températures et vitesse d'évolution jusqu'à 37°C pour *Copeiria curticei*. Par contre, les températures supérieures à 35°C auraient pu induire une certaine mortalité tant à l'éclosion que chez les 2 premiers stades larvaires. Tant pour *Oesophagostomum columbianum* (1) que pour *Haemonchus contortus* (12), des larves peuvent atteindre le 3^e stade à 37°C mais en proportion plus faible qu'à des températures inférieures, aucune larve jeune n'évoluant à la température constante de 40°C. La survie des larves de 3^e stade est également réduite (11) ;

— les matières fécales lors de leur émission ont des pH, teneur en eau et taux de salinité identiques dans les deux sites étudiés. L'évolution de ces facteurs se fait de façon similaire, seule la salinité diminuant plus lentement en mangrove, mais les taux restent faibles.

Ces expérimentations confirment les observations antérieures (9) et montrent que si les œufs de strongles peuvent évoluer normalement jusqu'au stade larve infestante, les conditions de milieu, particulières en mangrove sont un frein à leur survie. Le fait que l'eau extraite du sol de mangrove entraîne une mortalité plus élevée des larves que celle de la prairie témoin ou des bouses des 2 sites, le prouve clairement.

Les différences élevées du taux de salinité et par conséquent de pression osmotique nous ont amené à rechercher la sensibilité des diverses espèces aux cations présents dans le milieu.

D'après les analyses de MARTINET (8), le sodium domine dans la prairie d'arrière mangrove étudiée, puis à des taux plus faibles (inférieurs à 0,02 g) le calcium, le magnésium et le potassium.

Les larves d'*Oesophagostomum* résistent mieux que les autres à des pressions osmotiques élevées, ce qui peut expliquer la plus

Oesophagostomum

	pH	p.osm.	mortalité (%)											
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tampon A	pH 4	250	0	10	16	34	50	76	90	98	100			
	pH 5	295	0	6	14	24	34	50	72	80	92	98	100	
	pH 6	325	2	4	6	14	26	42	62	72	82	92	96	100
	pH 7	375	0	4	16	30	38	54	74	86	96	98	100	
	pH 8	415	40	72	86	100								
Tampon B	pH 8	145	0	0	4	6	24	36	60	76	84	94	98	100
	pH 9	160	0	2	8	20	42	56	72	88	94	94	100	
	pH 10	175	2	8	28	42	62	78	92	100				

Figure 5. — Mortalité des larves infestantes d'*Oesophagostomum* dans des solutions à pH variable (tampon A = Mac Ilwaine, tampon B = borate Black et Lubs).

grande abondance de ce genre sur la prairie d'arrière mangrove (9). Le cation Ca^{++} semble le plus toxique, puis par ordre décroissant le Mg^{++} , le Na^+ et le K^+ . Peu de références existent sur l'étude de la toxicité de solutions salées vis-à-vis des nématodes ; citons néanmoins le ralentissement de l'éclosion des œufs d'*Haemonchus contortus* en solution de NaCl à 0,5 mole (13), ou l'action toxique de sulphites vis-à-vis de nématodes phytoparasites (6).

En accord avec DICK et LELAND (4), GEVREY (7), PECHEUR (10), WANG (13), seuls les pH inférieurs à 4 ou supérieurs à 8

diminuent la viabilité des larves de strongles. Cependant, un pH généralement bien supporté peut devenir léthal s'il est associé à une pression osmotique élevée.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier tout particulièrement MM. J. BANDOUI et E. FONTAINE qui ont participé à la réalisation de ces travaux effectués à la Station de Zoologie du Centre I.N.R.A. de Guadeloupe.

SUMMARY

Nematode parasites of cattle in grove pastures in Guadeloupe (F.W.I.) II. Influence of physico-chemical conditions on the gastro-intestinal free-living stages development

The development of strongyle eggs to infective larvae were similar in parasited pats deposited on grove and control pastures in 6 comparative trials.

The survival of larvae was affected by ground salinity, and the importance of osmotic pressure was demonstrated in laboratory experiments. The sensitivity of *Oesophagostomum* and *Ostertagia* larvae to different salts was studied.

RESUMEN

**Estudio del parasitismo por los helmintos de los bovinos de manglar en Guadalupe
II. Influencia de las condiciones fisico-químicas sobre el desarrollo de los estados
libros de los estrongilos gastrointestinales**

Los huevos de estrongilos gastro-intestinales evolucionan de modo similar en las boñigas dejadas sobre los pastos salados del manglar y sobre un pasto testigo. En cambio, la salinidad del suelo influye en la supervivencia de las larvas.

Experiencias en el laboratorio confirman el papel preponderante de la presión osmótica. Se compara la sensibilidad de las larvas de *Oesophagostomum* spp. y de *Ostertagia* spp. frente a los cationes más frecuente encontrados en el manglar.

BIBLIOGRAPHIE

1. AGRAWAL (Y.). The effects of temperature on the survival and development of the free-living stages of *Oesophagostomum columbianum* Curtice, 1890 (Nematoda). *Trans. Am. Microsc. Soc.*, 1966, **85** (1) : 99-106.
2. AHLUWALIA (J. J.), CHARLESTON (W. A. G.). Studies on the development of the free-living stages of *Cooperia curticei*. *N.Z. vet. J.*, 1974, **22** : 191-195.
3. CIORDIA (H.), BIZZELL (W. E.). The effects of various constant temperatures on the development of the free-living stages of some nematode parasites of cattle. *J. Parasit.*, 1963, **49** : 60-63.
4. DICK (J. W.), LELAND (S. E.). The influence of pH on the *in vitro* development of *Cooperia punctata* (Ransom, 1907). *J. Parasit.*, 1973, **59** (5) : 770-775.
5. FABIYI (J. P.), COPEMAN (D. B.), HUTCHINSON (G. W.). Epidemiology of parasitic gastroenteritis in cattle : development, migration and survival of infective strongyle larvae on pasture in a north Queensland wet tropical area. 8th int. Conf. WAAVP, Sydney, 11-15 July 1977, abstr. 28.
6. FORTUNER (R.), JACQ (V. A.). *In vitro* study of toxicity of soluble sulphides to three nematodes parasitic on rice in Senegal. *Nematologica*, 1976, **22** : 343-351.
7. GEVREY (J.). Les formes libres des strongles digestifs des ovins. Morphologie, culture en laboratoire, écologie. Thèse sci. Lyon, 1971. 206 p.
8. MARTINET (J.). Eléments nutritifs et cations majeurs dans les eaux des transects (août 1978-juin 1979). Rapport final action DGRST « Mangrove et zone côtière », Guadeloupe (sous presse).
9. MAULEON (H.), GRUNER (L.). Etude du parasitisme par les helminthes des bovins d'arrière mangrove en Guadeloupe. I. Parasitisme animal et infestation des prairies. (Rapport final action DGRST « Mangrove et zone côtière », Guadeloupe). *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1982, **35** (2) : 105-114.
10. PECHEUR (M.). Etude de l'influence du pH et de l'action de la cyanamide calcique sur les œufs et les larves de *Trichostrongylus* et de *Strongyloides*. *Annls Méd. vét.*, 1962, **106** : 18-41.
11. PREMVATI, LAL (S. S.). Effect of high temperature on the infective larvae of *Oesophagostomum columbianum* (Curtice, 1890). *J. Parasit.*, 1961, **47** (6) : 943-946.
12. SILVERMAN (P. H.), CAMPBELL (J. A.). Studies on parasitic worms of sheep in Scotland. I. Embryonic and larval development of *Haemonchus contortus* at constant conditions. *Parasitology*, 1959, **49** : 23-28.
13. WANG (G.). Effects of microbes and gazes on the free-living stages of *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus contortus*. Thèse Univ. Illinois, Ph. D. Microbiology. 1968, 123 p.