



**HAL**  
open science

# Interactions hôte-parasite dans le modèle *Biomphalaria pfeifferi*-*Schistosoma mansoni* du Dhofar (Oman) : génétique des populations de l'hôte, traits d'histoire de vie et conséquences sur la transmission du parasite

Rodrigue Mintsa Nguema

► **To cite this version:**

Rodrigue Mintsa Nguema. Interactions hôte-parasite dans le modèle *Biomphalaria pfeifferi*-*Schistosoma mansoni* du Dhofar (Oman) : génétique des populations de l'hôte, traits d'histoire de vie et conséquences sur la transmission du parasite. Sciences de l'environnement. Université de Perpignan; Université des Sciences de la Santé de Libreville (Gabon), 2010. Français. NNT : . tel-00939427

**HAL Id: tel-00939427**

**<https://theses.hal.science/tel-00939427>**

Submitted on 30 Jan 2014

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE PERPIGNAN VIA DOMITIA  
UNIVERSITE DES SCIENCES DE LA SANTE DE LIBREVILLE

**THESE EN CO-TUTELLE**

Présentée à l'Université de Perpignan pour obtenir le diplôme de DOCTORAT

*Ecole doctorale : Energie Environnement*

*Biologie – Ecologie – Evolution*

*SPECIALITE: Ecologie parasitaire et Génétique des populations*

*Laboratoire de Parasitologie Fonctionnelle et Evolutive*



**Interactions hôte-parasite dans le modèle *Biomphalaria pfeifferi*-*Schistosoma mansoni* du Dhofar (Oman): génétique des populations de l'hôte, traits d'histoire de vie et conséquences sur la transmission du parasite**

Par

MINTSA NGUEMA Rodrigue

Soutenue le 26 mars 2010 devant le jury composé de :

M. Marinus Lamers, Group Leader, Max-Planck-Institute, Freiburg  
M. Dominique Richard-Lenoble, Professeur, Université de Tours  
Mme Nathalie Charbonnel, CR1 INRA CBGP Montpellier  
M. André Théron, Directeur de recherche CNRS UPVD  
Mme Maryvonne Kombila, Professeur USS Libreville, Gabon  
M. Gabriel Mouahid, Maître de Conférences UM2/UPVD

Rapporteur  
Rapporteur  
Examineur  
Examineur  
Co-directeur  
Co-directeur



UNIVERSITE DE PERPIGNAN VIA DOMITIA  
UNIVERSITE DES SCIENCES DE LA SANTE DE LIBREVILLE

**THESE EN CO-TUTELLE**

Présentée à l'Université de Perpignan pour obtenir le diplôme de DOCTORAT

*Ecole doctorale : Energie Environnement*

*Biologie – Ecologie – Evolution*

*SPECIALITE: Ecologie parasitaire et Génétique des populations*

*Laboratoire de Parasitologie Fonctionnelle et Evolutive*

**Interactions hôte-parasite dans le modèle *Biomphalaria pfeifferi-Schistosoma mansoni* du  
Dhofar (Oman): génétique des populations de l'hôte, traits d'histoire de vie et  
conséquences sur la transmission du parasite**

Par

MINTSA NGUEMA Rodrigue

Soutenue le 26 mars 2010 devant le jury composé de :

M. Marinus Lamers, Group Leader, Max-Planck-Institute, Freiburg  
M. Dominique Richard-Lenoble, Professeur, Université de Tours  
Mme Nathalie Charbonnel, CR1 INRA CBGP Montpellier  
M. André Théron, Directeur de recherche CNRS UPVD  
Mme Maryvonne Kombila, Professeur USS Libreville, Gabon  
M. Gabriel Mouahid, Maître de Conférences UM2/UPVD

Rapporteur  
Rapporteur  
Examinateur  
Examinateur  
Co-directeur  
Co-directeur





## Avant-propos

Les recherches en écologie parasitaire sont d'une importance capitale depuis ces dernières années, en raison de leur importance médicale pour certaines et de la prise en considération par les écologues du rôle des parasites dans l'évolution et la régulation des populations hôtes.

Mon sujet de thèse était à l'origine centrée sur une problématique liée à l'écologie et l'épidémiologie des schistosomoses humaines au Gabon et en particulier l'espèce vésicale, *Schistosoma haematobium*, et l'espèce rectale, *Schistosoma guineensis*. Cette thèse se situait dans le cadre d'une co-tutelle franco-gabonaise avec deux co-directeurs, Mme Maryvonne Kombila, Professeur à l'Université des Sciences de la Santé à Libreville au Gabon et M. Gabriel Mouahid, Maître de conférences (UMR 5244 CNRS-UPVD). Les objectifs principaux visaient à connaître la situation épidémiologique actuelle et aussi l'écologie des interactions hôte-parasite. Les recherches englobaient à la fois des investigations de terrain (au Gabon) et expérimentales en laboratoire (Perpignan). Pour mener à bien ces recherches, il était indispensable d'extraire les deux espèces responsables de la bilharziose vésicale et rectale et de les maintenir en laboratoire. Le but était de monter des expériences de croisement au laboratoire pour mettre en évidence les mécanismes d'exclusion compétitive entre les deux espèces. Cependant, après un an de thèse (2 missions au Gabon), il n'a pas été possible d'extraire la souche responsable de la bilharziose rectale. Nous avons donc décidé, en commun accord avec mes deux co-directeurs de thèses respectifs, de réorienter mon sujet de thèse sur une problématique toujours liée à la schistosomose, mais dans la région du Dhofar (Oman). Ce sont donc ces travaux, que j'ai réalisés dans les deux dernières années de thèse que je présente dans ce manuscrit.

Cependant, les premiers résultats sur les caractérisations biologiques et moléculaires de certaines populations de schistosome dans la province de l'Estuaire confirment l'idée d'une disparition de la schistosomose rectale au profit de la schistosomose vésicale. Ces résultats ont pu être valorisés sous la forme d'une publication (Mintsa *et al.* in press, annexe 1). Je tiens à remercier l'ensemble du personnel, techniciens et chercheurs du Laboratoire de Parasitologie et Mycologie de l'Université des Sciences de la Santé de Libreville pour leur accueil et leur aide pendant les missions effectuées au sein du laboratoire. Merci à Krystina et à Lambert qui ont été pendant trois mois mes binômes de terrain au cours des missions de terrain au Gabon à la recherche des souches de parasite.



## Remerciements

Au moment de fermer les pages de cette thèse, j'ai le plaisir d'exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui de près ou de loin ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

Je tiens tout d'abord à remercier M. Gabriel Mouahid, Maître de Conférences (UMR 5244 CNRS-UPVD) et co-directeur de cette thèse. Le souvenir du premier jour où j'ai frappé à la porte de votre bureau est toujours gravé dans ma mémoire. Vous avez accepté de me prendre en stage pour mon Master 1 en 2004. J'ai accueilli cette nouvelle avec la plus grande joie et là fut le début d'une « interaction durable ». Depuis cette date, vous m'avez accepté, fait confiance, encadré et soutenu. Vous m'avez permis de travailler sur une problématique excitante, qui a abouti à ce travail. Merci pour votre aide, votre exigence et vos conseils avisés tout au long de ces années, tant sur la partie terrain au Gabon que sur la partie expérimentale à Perpignan.

Je tiens ensuite à remercier Pr. Maryvonne Kombila, ma co-directrice de thèse, pour avoir accepté de co-diriger cette thèse. Je garde un très beau souvenir de tous les séjours que j'ai effectués dans votre Laboratoire à Libreville. Un grand merci à vous, pour votre disponibilité, votre soutien et vos conseils. Vous avez pris toutes les mesures nécessaires pour que je puisse travailler dans les meilleures conditions pendant mes missions de terrain.

Je remercie très vivement l'ensemble des membres du jury qui ont accepté de juger ce travail : M. Dominique Richard-Lenoble, Professeur à l'Université de Tours, et M. Marinus Lamers, Group Leader au Max Planck Institute à Freiburg en Allemagne en tant que rapporteurs, malgré leurs nombreuses tâches, Mme Nathalie Charbonnel, Chargée de Recherche INRA à Montpellier en tant qu'examinatrice. Je remercie à double titre M. André Théron, Directeur de Recherche CNRS et Directeur du Laboratoire de Biologie et d'Ecologie Tropicale et Méditerranéenne (UMR 5244 CNRS-UPVD), pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je souhaite également remercier Mlle Hélène Moné, Chargée de Recherche CNRS (UMR 5244 CNRS-UPVD) et Mlle Juliette Languard, Maître de conférences (UMR

5244 CNRS-UPVD) pour leur aide permanente et instructive, aussi bien dans le domaine de l'écologie parasitaire que dans le domaine de la génétique des populations.

Mention spéciale à M. Richard Galinier, Ingénieur de Recherche CNRS (UMR 5244 CNRS-UPVD) pour m'avoir initié aux joies et aux mystères de la biologie moléculaire, tes nombreux conseils techniques, ta disponibilité, ta patience ont été déterminants. Je n'oublierai pas les concerts de «Mapouka» (la danse du ventilateur) sur ton ordinateur. Merci à M. Jean-François Allienne, Technicien CNRS (UMR 5244 CNRS-UPVD) pour les centaines de plaques passées au séquenceur pour les analyses microsattellites.

Je tiens à remercier tous mes enseignants en M1 et M2, ces deux années ont été très décisives dans mon projet actuel. Merci à M. Jérôme Boissier, Maître de Conférences (UMR 5244 CNRS-UPVD) qui m'avait orienté vers M. Gabriel Mouahid pour trouver mon stage de M1. Merci également à M. Guillaume Mitta, Professeur (UMR 5244 CNRS-UPVD) d'avoir retenue ma candidature en M2 recherche. Merci à vous deux pour les attestations fournies dans le dossier de rétablissement de ma bourse lorsque celle-ci avait failli malencontreusement être supprimée entre mon M1 et mon M2.

Un vrai grand merci à tout le personnel de l'équipe de Parasitologie Fonctionnelle et Evolutive de l'UMR 5244 CNRS-UPVD.

Je tiens également à témoigner ma reconnaissance à tous mes co-thésards encore présents ou partis et à l'esprit de groupe qui a régné entre les étudiants de l'équipe et votre bonne humeur. Une mention spéciale à Sophie et Nicolas avec qui je suis dans la même promotion depuis la licence 3, merci pour votre sympathie. Merci à M. Moudachirou Ibikounlé, Assistant-Professeur à l'Université Abomey-Calavi de Cotonou au Bénin pour ton soutien et ton amitié.

Merci à l'ensemble de la communauté gabonaise de Perpignan. Vous avez constitué mon premier repère et ma famille dans cet univers qui était inconnu pour moi. Merci aussi à toute la bande du «coin». Merci à vous tous et en particulier à mon frangin Seb pour toutes les soirées «Big-Party», apéro, barbec', pizzas, ... j'en passe et des meilleures.

Ce travail de thèse a bénéficié du soutien financier du gouvernement gabonais (bourse d'étude et de recherche), du CNRS, de l'Université de Perpignan Via Domitia,

de l'Agence Universitaire de la Francophonie (Contrat n° 2092 RR 614), du Ministère français des affaires étrangères, du Ministère de la santé publique d'Oman et de l'Université Sultan Qaboos de Muscat (Oman). En effet, cette thèse n'aurait pas pu se faire sans les collaborations que M. Gabriel Mouahid et Mlle Hélène Moné ont initiées et entretenues avec les partenaires omanais suivants que je remercie : Pr Mohamed Idris du Department of Microbiology & Immunology, College of Medicine & Health Sciences, Sultan Qaboos University, Muscat, Dr Mahmoud Shaban et M. Salim Al Yafee du Sultan Qaboos Hospital, Directorate General of Health Services, Dhofar Governorate, Salalah.



A mon père Nguema Alphonse et à ma mère Abessolo Valentine

A tous mes grands frères et soeurs: Dézou, Jean-Sylvain, Gogo, Ndendé, Appo,  
Chouchou, Big-Joss, Didier, Régina; mon petit frère Man.

Et à toute ma famille,  
A toutes les autres personnes qui m'ont soutenu et dont je n'ai pu mentionner  
les noms ici,  
Ce travail est aussi en partie le votre !

A mon défunt beau frère Paul Zué,  
Je sais que d'où tu es, tu seras fier de ce travail, merci pour tout.

*Prêt pour la suite ?*



# SOMMAIRE

<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>Première partie: Matériel, méthodes et analyses des données</b> .....	11
<b>Chapitre 1: Matériel et méthodes</b> .....	13
I. Matériel .....	15
II. Méthodes de parasitologie .....	15
A. Extraction des parasites .....	15
1. La population humaine .....	15
2. La population murine .....	16
B. Collecte et transport des mollusques .....	17
1. Collecte des mollusques .....	17
2. Examen parasitologique .....	17
3. Transport des mollusques .....	18
C. Maintien des cycles des parasites .....	18
1. Infestation des hôtes intermédiaires .....	18
2. Infestation des hôtes définitifs .....	19
D. Maintien des hôtes .....	19
1. Elevage des mollusques .....	19
2. Elevage des souris .....	20
E. Mesure des traits d’histoire de vie du mollusque .....	20
1. Croissance .....	20
2. Fécondité .....	21
3. Survie .....	22
F. Mesure des traits d’histoire de vie du parasite .....	22
1. Taux d’infestation .....	22
2. Période prépatente .....	22
3. Production cercarienne .....	23
III. Méthodes de Biologie moléculaire .....	23
A. Extraction d’ADN de mollusque .....	23
B. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) .....	23
C. Electrophorèse .....	25
D. Analyse microsatellite .....	25
E. Séquençage .....	28
<b>Chapitre 2: Analyse des données</b> .....	31
I. Analyse des données de traits d’histoire de vie .....	33
A. Test de Student .....	34
B. Analyse univariée de la variance .....	34
C. Test F d’égalité des variances .....	34
D. Analyse de variance (ANOVA) .....	34
E. Post-hoc test de Tukey .....	35
F. Test de Mann-Whitney .....	35
G. Test de Kruskal-Wallis .....	35
H. Post-hoc test de Dunn .....	36
I. Fisher’s Exact test .....	36

J.	Test du Khi-deux .....	36
K.	Test de Logrank .....	37
L.	Régression linéaire .....	37
M.	Test de comparaison des pentes .....	37
N.	Autocorrélation .....	38
O.	Analyse en Composantes Principales (ACP) .....	38
II.	Les analyses génétiques .....	39
A.	Analyses de la diversité génétique .....	40
1.	Paramètres de la diversité génétique .....	40
2.	L'indice de fixation $F_{IS}$ .....	41
3.	Taux d'autofécondation .....	42
4.	Déséquilibre de liaison .....	43
5.	Effectif efficace .....	43
6.	Détection d'un goulot d'étranglement .....	44
B.	Analyse de la différenciation génétique .....	45
1.	L'indice de Fixation $F_{ST}$ .....	45
2.	Analyses des correspondances (ACP & AFC) .....	46
3.	Dendrogramme .....	46
4.	L'AMOVA (Analyse of MOlecular VAriance) .....	47
5.	Les distances génétiques .....	47
6.	Estimation du temps de divergence .....	48
7.	Taux de migration .....	48
8.	Isolement par la distance: le test de Mantel .....	48

<b>Deuxième partie: Génétique des populations de</b>	
<b><i>B. pfeifferi</i> du Dhofar en Oman</b> .....	51
<b>Introduction</b> .....	53
<b>Chapitre 1: Variabilité génétique des populations</b>	
<b>de <i>B. pfeifferi</i></b> .....	55
<b>Protocole expérimental</b> .....	57
I. Zone d'étude .....	57
A. Situation générale .....	57
B. Les sites étudiés .....	58
II. Echantillonnage .....	63
III. Choix des marqueurs microsatellites .....	63
<b>Sous-chapitre 1: Diversité génétique</b> .....	67
I. Résultats .....	69
A. Polymorphisme des loci .....	69
B. Déséquilibre de liaison .....	69
C. Fréquences alléliques .....	70
D. Paramètres de la diversité génétique .....	70
E. Déficit en hétérozygotes et taux d'autofécondation .....	75
F. Effectif efficace .....	75
G. Goulot d'étranglement .....	75
II. Discussion .....	76
<b>Sous-chapitre 2: Différenciation génétique</b> .....	81
I. Résultats .....	83

A.	Différenciation génétique spatiale .....	83
B.	Différenciation génétique temporelle .....	89
C.	Corrélation distance géographique/distance génétique .....	90
D.	Taux de migration entre les populations .....	91
II.	Discussion et conclusion .....	92
 <b>Chapitre 2: Structure génétique de l'albinisme .....</b>		<b>97</b>
<b>Introduction .....</b>		<b>99</b>
I.	Echantillonnage .....	100
II.	Résultats .....	100
A.	Polymorphisme des loci .....	100
B.	Déséquilibre de liaison .....	101
C.	Fréquences alléliques .....	101
D.	Paramètres de la diversité génétique .....	102
E.	Différenciation génétique .....	104
III.	Discussion et conclusion .....	106
 <b>Troisième partie: Interaction <i>B. pfeifferi</i>/<i>S. mansoni</i> .....</b>		<b>111</b>
<b>Introduction .....</b>		<b>113</b>
<b>Protocole expérimental .....</b>		<b>114</b>
<b>Chapitre 1: Impact de <i>S. mansoni</i> sur <i>B. pfeifferi</i> .....</b>		<b>117</b>
<b>Sous-chapitre 1: Impact de <i>S. mansoni</i> d'origine humaine sur</b>		
<b><i>B. pfeifferi</i> .....</b>		<b>119</b>
I.	Résultats .....	121
A.	Croissance .....	121
1.	Diamètre .....	121
2.	Accroissement du diamètre .....	122
3.	Masse corporelle .....	124
4.	Accroissement de la masse .....	125
5.	Relation diamètre / masse corporelle .....	125
B.	Fécondité .....	127
1.	Taux de mollusques pondueurs .....	127
2.	Nombre de pontes .....	128
3.	Nombre d'œufs .....	130
4.	Nombre d'œufs par ponte .....	131
C.	Survie .....	132
 <b>Sous-chapitre 2: Impact de <i>S. mansoni</i> d'origine murine sur</b>		
<b><i>B. pfeifferi</i> .....</b>		<b>135</b>
I.	Résultats .....	137
A.	Croissance .....	137
1.	Diamètre .....	137
2.	Accroissement du diamètre .....	138
3.	Masse corporelle .....	140
4.	Accroissement de la masse .....	141
5.	Relation diamètre / masse corporelle .....	141
B.	Fécondité .....	143
1.	Taux de mollusques pondueurs .....	143

2. Nombre de pontes .....	144
3. Nombre d'œufs .....	146
4. Nombre d'œufs par ponte .....	147
C. Survie .....	148
Synthèse et discussion du chapitre 1 .....	150

**Chapitre 2 : Impact de *S. mansoni*, origine humaine versus origine murine, dans l'interaction hôte-parasite .....** 157

**Introduction .....** 159

**Sous-chapitre 1: Impact de *S. mansoni*, origine humaine versus origine murine, dans l'interaction avec *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté .....** 161

I. Résultats : *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif .....

A. Croissance .....

1. Diamètre .....

B. Fécondité .....

1. Taux de mollusques pondeurs .....

2. Nombre de pontes .....

3. Nombre d'œufs .....

4. Nombre d'œufs par ponte .....

C. Survie .....

II. Résultats : *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté exposé-négatif .....

A. Croissance .....

1. Diamètre .....

B. Fécondité .....

1. Taux de mollusques pondeurs .....

2. Nombre de pontes .....

3. Nombre d'œufs .....

4. Nombre d'œufs par ponte .....

C. Survie .....

III. Résultats : *S. mansoni* .....

A. Taux d'infestation .....

B. Période prépatente .....

C. Emission cercarienne journalière .....

1. Dynamique .....

2. Production .....

D. Transmission .....

**Sous-chapitre 2: Impact de *S. mansoni*, origine humaine versus origine murine, dans l'interaction avec *B. pfeifferi* Siginitti Albinos .....** 173

I. Résultats : *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif .....

A. Croissance .....

1. Diamètre .....

B. Fécondité .....

1. Taux de mollusques pondeurs .....

2. Nombre de pontes .....

3. Nombre d'œufs .....

4. Nombre d'œufs par ponte .....

C. Survie .....

II.	Résultats : <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Albinos exposé-négatif .....	177
	A. Croissance .....	177
	1. Diamètre .....	177
	B. Fécondité .....	178
	1. Taux de mollusques pondeurs .....	178
	2. Nombre de pontes .....	178
	3. Nombre d'œufs .....	179
	4. Nombre d'œufs par ponte .....	179
	C. Survie .....	180
III.	Résultats : <i>S. mansoni</i> .....	180
	A. Taux d'infestation .....	180
	B. Période prépatente .....	180
	C. Emission cercarienne journalière .....	181
	1. Dynamique .....	181
	2. Production .....	181
	D. Transmission .....	182
<b>Sous-chapitre 3: Impact de <i>S. mansoni</i>, origine humaine versus origine murine, dans l'interaction avec <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté.....</b>		185
I.	Résultats : <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté positif .....	187
	A. Croissance .....	187
	1. Diamètre .....	187
	2. Masse corporelle .....	187
	3. Relation diamètre/masse corporelle .....	188
	B. Fécondité .....	189
	1. Taux de mollusques pondeurs .....	189
	2. Nombre de pontes .....	189
	3. Nombre d'œufs .....	189
	4. Nombre d'œufs par ponte .....	190
	C. Survie .....	190
II.	Résultats : <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté exposé-négatif .....	191
	A. Croissance .....	191
	1. Diamètre .....	191
	2. Masse corporelle .....	191
	3. Relation diamètre/masse corporelle .....	192
	B. Fécondité .....	193
	1. Taux de mollusques pondeurs .....	193
	2. Nombre de pontes .....	193
	3. Nombre d'œufs .....	193
	4. Nombre d'œufs par ponte .....	194
	C. Survie .....	194
III.	Résultats : <i>S. mansoni</i> .....	195
	A. Taux d'infestation .....	195
	B. Période prépatente .....	195
	C. Emission cercarienne journalière .....	195
	1. Dynamique .....	195
	2. Production .....	197
	D. Transmission .....	197

<b>Sous-chapitre 4: Impact de <i>S. mansoni</i>, origine humaine versus origine murine, dans l'interaction avec <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos</b> .....	199
I. Résultats : <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos positif .....	201
A. Croissance .....	201
1. Diamètre .....	201
2. Masse corporelle .....	201
3. Relation diamètre/masse corporelle .....	202
B. Fécondité .....	203
1. Taux de mollusques pondueurs .....	203
2. Nombre de pontes .....	203
3. Nombre d'œufs .....	203
4. Nombre d'œufs par ponte .....	204
C. Survie .....	204
II. Résultats : <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos exposé-négatif .....	205
A. Croissance .....	205
1. Diamètre .....	205
2. Masse corporelle .....	205
3. Relation diamètre/masse corporelle .....	206
B. Fécondité .....	207
1. Taux de mollusques pondueurs .....	207
2. Nombre de pontes .....	207
3. Nombre d'œufs .....	207
4. Nombre d'œufs par ponte .....	208
C. Survie .....	208
III. Résultats : <i>S. mansoni</i> .....	209
A. Taux d'infestation .....	209
B. Période prépatente .....	209
C. Emission cercarienne journalière .....	210
1. Dynamique .....	210
2. Production .....	210
D. Transmission .....	210
Synthèse et discussion du chapitre 2 .....	213

**Chapitre 3 : Impact de la catégorie du site de *B. pfeifferi*, naturel versus aménagé, dans l'interaction hôte-parasite** .....

Introduction..... 219

**Sous-chapitre 1: Impact de la catégorie du site du mollusque, naturel versus aménagé, sur les traits d'histoire de vie de *B. pfeifferi* sain** .....

I. Résultats .....	223
A. Croissance .....	223
1. Diamètre .....	223
2. Relation diamètre/masse de la coquille .....	224
B. Fécondité .....	224
1. Taux de mollusques pondueurs .....	224
2. Nombre de pontes .....	225
3. Nombre d'œufs .....	225

4. Nombre d'œufs par ponte .....	226
5. Durée d'incubation, taux d'éclosion et âge à la maturité .....	226
C. Survie .....	227
<b>Sous-chapitre 2: Impact de la catégorie du site du mollusque, naturel versus aménagé, dans l'interaction <i>B. pfeifferi</i>/<i>S. mansoni</i> population humaine .....</b>	<b>229</b>
I. Résultats : <i>B. pfeifferi</i> positif .....	231
A. Croissance .....	231
1. Diamètre .....	231
B. Fécondité .....	232
1. Taux de mollusques pondus .....	232
2. Nombre de pontes .....	232
3. Nombre d'œufs .....	233
4. Nombre d'œufs par ponte .....	233
C. Survie .....	234
II. Résultats : <i>B. pfeifferi</i> exposé-négatif .....	234
A. Croissance .....	234
1. Diamètre .....	234
B. Fécondité .....	235
1. Taux de mollusques pondus .....	235
2. Nombre de pontes .....	235
3. Nombre d'œufs .....	236
4. Nombre d'œufs par ponte .....	237
C. Survie .....	237
III. Résultats : <i>S. mansoni</i> .....	238
A. Taux d'infestation .....	238
B. Période prépatente .....	238
C. Emission cercarienne journalière .....	239
1. Dynamique .....	239
2. Production .....	241
D. Transmission .....	241
<b>Sous-chapitre 3: Impact de la catégorie du site du mollusque, naturel versus aménagé, dans l'interaction <i>B. pfeifferi</i>/<i>S. mansoni</i> population murine .....</b>	<b>245</b>
I. Résultats : <i>B. pfeifferi</i> positif .....	247
A. Croissance .....	247
1. Diamètre .....	247
2. Masse corporelle .....	248
3. Relation diamètre/masse corporelle .....	248
B. Fécondité .....	249
C. Survie .....	249
II. Résultats : <i>B. pfeifferi</i> exposé-négatif .....	250
A. Croissance .....	250
1. Diamètre .....	250
2. Masse corporelle .....	251
3. Relation diamètre/masse corporelle .....	252
B. Fécondité .....	253
1. Taux de mollusques pondus .....	253

2. Nombre de pontes .....	253
3. Nombre d'œufs .....	254
4. Nombre d'œufs par ponte .....	255
C. Survie .....	255
III. Résultats : <i>S. mansoni</i> .....	255
A. Taux d'infestation .....	255
B. Période prépatente .....	256
C. Emission cercarienne journalière .....	257
1. Dynamique .....	257
2. Production .....	258
D. Transmission .....	259
Synthèse et discussion du chapitre 3 .....	261

## **Chapitre 4: Impact du morphe de *B. pfeifferi*, pigmenté versus albinos, dans l'interaction hôte-parasite** .....

Introduction .....

### **Sous-chapitre 1: Impact du morphe de *B. pfeifferi*, pigmenté versus albinos, sur les traits d'histoire de vie des mollusques sains** .....

I. Résultats .....	269
A. Croissance .....	269
1. Diamètre .....	269
2. Masse corporelle .....	270
3. Relation diamètre/masse corporelle .....	270
4. Relation diamètre/masse de la coquille .....	270
B. Fécondité .....	271
1. Taux de mollusques pondus .....	271
2. Nombre de pontes .....	272
3. Nombre d'œufs .....	272
4. Nombre d'œufs par ponte .....	273
5. Durée d'incubation, taux d'éclosion et âge à la maturité .....	273
C. Survie .....	274

### **Sous-chapitre 2: Impact du morphe de *B. pfeifferi*, pigmenté versus albinos, dans l'interaction *B. pfeifferi*/*S. mansoni* origine humaine** .....

I. Résultats : <i>B. pfeifferi</i> positif .....	277
A. Croissance .....	277
1. Diamètre .....	277
2. Masse corporelle .....	278
3. Relation diamètre/masse corporelle .....	278
B. Fécondité .....	278
1. Taux de mollusques pondus .....	278
2. Nombre de pontes .....	279
3. Nombre d'œufs .....	279
4. Nombre d'œufs par ponte .....	280
C. Survie .....	280
II. Résultats : <i>B. pfeifferi</i> exposé-négatif .....	281
A. Croissance .....	281
1. Diamètre .....	281

2. Masse corporelle .....	282
3. Relation diamètre/masse corporelle .....	283
B. Fécondité .....	283
1. Taux de mollusques pondeurs .....	283
2. Nombre de pontes .....	283
3. Nombre d'œufs .....	284
4. Nombre d'œufs par ponte .....	285
C. Survie .....	285
III. Résultats : <i>S. mansoni</i> .....	286
A. Taux d'infestation .....	286
B. Période prépatente .....	286
C. Emission cercarienne journalière .....	287
1. Dynamique .....	287
2. Production .....	289
D. Transmission .....	289
<b>Sous-chapitre 3: Impact du morphe de <i>B. pfeifferi</i>, pigmenté versus albinos, dans l'interaction <i>B. pfeifferi</i>/<i>S. mansoni</i> origine murine .....</b>	<b>293</b>
I. Résultats : <i>B. pfeifferi</i> positif .....	295
A. Croissance .....	295
1. Diamètre .....	295
2. Masse corporelle .....	296
3. Relation diamètre/masse corporelle .....	296
B. Fécondité .....	297
1. Taux de mollusques pondeurs .....	297
2. Nombre de pontes et d'œufs .....	297
C. Survie .....	297
II. Résultats : <i>B. pfeifferi</i> exposé négatif .....	298
A. Croissance .....	298
1. Diamètre .....	298
2. Masse corporelle .....	299
3. Relation diamètre/masse corporelle .....	300
B. Fécondité .....	300
1. Taux de mollusques pondeurs .....	300
2. Nombre de pontes .....	301
3. Nombre d'œufs .....	302
4. Nombre d'œufs par ponte .....	302
C. Survie .....	303
III. Résultats : <i>S. mansoni</i> .....	303
A. Taux d'infestation .....	303
B. Période prépatente .....	304
C. Emission cercarienne journalière .....	304
1. Dynamique .....	304
2. Production .....	306
D. Transmission .....	307
Synthèse et discussion du chapitre 4 .....	309
Conclusion générale .....	313
Références .....	321

# INDEX DES FIGURES

(Exemples :

Figure II-1-1: Partie II, chapitre 1, figure 1

Figure II-1-2-4 : Partie II, chapitre 1, sous-chapitre 2, figure 4)

Figure 1: Cycle biologique de <i>S. mansoni</i> .....	5
Figure 2: Les cas de <i>S. mansoni</i> dans la région du Dhofar au Sultanat d'Oman sur la période de 1982 à 2001, d'après le Ministère de la Santé Publique du Sultanat d'Oman.....	7
Figure 3: Phylogénie de 4 espèces de schistosomes et des populations omanaise réalisée à partir du fragment de gène COX1.....	8
Figure I-1-1: Les trois étapes classiques d'une réaction PCR avec les températures ainsi que la durée nécessaire de chaque étape.....	24
Figure I-1-2: Gel d'agarose montrant un gradient de 8 températures d'hybridation pour le locus Bpf9 sur l'individu 5Sa5.....	25
Figure I-1-3: Fluorogramme d'un multiplex M1 de 5 microsatellites. ....	26
Figure I-1-4: Chromatogramme d'une portion de séquence microsatellite montrant la succession des bases A, C, T et G. ....	29
Figure II-1: Phylogénie et distribution géographique de <i>B. pfeifferi</i> (Dejong <i>et al.</i> 2003).....	53
Figure II-1-1: Carte des régions d'Oman.....	57
Figure II-1-2: Carte du Dhofar et situation géographique des 18 sites étudiés.....	60
Figure II-1-3: Un exemple de site naturel (Siginitti en haut) et de site aménagé (Tibraq en bas).....	62
Figure II-1-1-1: Pluviométrie et température maximales de l'air enregistrées entre juin 2000 et décembre 2007 dans la région du Dhofar par la station météorologique de Salalah.....	77
Figure II-1-2-1: Différenciation génétique de 18 populations de <i>B. pfeifferi</i> du Dhofar par analyse en composante principale basée sur les fréquences alléliques....	85
Figure II-1-2-2: Dendrogramme obtenu à partir des distances génétiques entre les 18 populations étudiées. ....	86
Figure II-1-2-3: Analyse hiérarchique de la variance moléculaire entre paires de massifs montagneux.....	88
Figure II-1-2-4: Patrons d'isolement par la distance inter et intra-massifs pour les populations du Dhofar, du massif Qamar et du massif Wustah.....	91
Figure II-2-1: <i>B. pfeifferi</i> pigmentés et albinos dans les conditions naturelles à Tibraq.	99
Figure II-2-2: ACP basée sur les fréquences alléliques des morphes pigmenté et albinos à Siginitti et à Tibraq.....	105
Figure III-1-1-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	122
Figure III-1-1-2: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	124
Figure III-1-1-3: Relation diamètre/masse corporelle de <i>B. pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	127
Figure III-1-1-4: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine.	129
Figure III-1-1-5: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> sain, positif, et exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine.	131
Figure III-1-1-6: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	133

Figure III-1-2-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	138
Figure III-1-2-2: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> sains, positif et exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	140
Figure III-1-2-3: Relation diamètre/masse corporelle de <i>B. pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	143
Figure III-1-2-4: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.	145
Figure III-1-2-5: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine...	147
Figure III-1-2-6: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	149
Figure III-2-1-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Pigmenté positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	163
Figure III-2-1-2: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Pigmenté positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	164
Figure III-2-1-3: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Pigmenté positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	164
Figure III-2-1-4: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Pigmenté positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	165
Figure III-2-1-5: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Pigmenté exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	166
Figure III-2-1-6: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Pigmenté exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	167
Figure III-2-1-7: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Pigmenté exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	167
Figure III-2-1-8: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Pigmenté exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	168
Figure III-2-1-9: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine sur <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Pigmenté.....	169
Figure III-2-1-10: Autocorrélogrammes de la production cercarienne de <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine sur <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Pigmenté.....	170
Figure III-2-2-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine...	175
Figure III-2-2-2: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	176
Figure III-2-2-3: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	176
Figure III-2-2-4: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.	177

Figure III-2-2-5: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	178
Figure III-2-2-6: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	179
Figure III-2-2-7: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	179
Figure III-2-2-8: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	180
Figure III-2-2-9: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine sur <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Albinos.....	181
Figure III-2-3-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	187
Figure III-2-3-2: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	188
Figure III-2-3-3: Relation diamètre/masse corporelle de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	188
Figure III-2-3-4: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	189
Figure III-2-3-5: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	190
Figure III-2-3-6: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	190
Figure III-2-3-7: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	191
Figure III-2-3-8: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	192
Figure III-2-3-9: Relation diamètre/masse corporelle de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	192
Figure III-2-3-10: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	193
Figure III-2-3-11: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	194
Figure III-2-3-12: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	194
Figure III-2-3-13: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine sur <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté.....	196
Figure III-2-3-14: Autocorrélogrammes de la production cercarienne de <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine sur <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté.....	196

Figure III-2-4-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.	201
Figure III-2-4-2: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	202
Figure III-2-4-3: Relation diamètre/masse corporelle de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	202
Figure III-2-4-4: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	203
Figure III-2-4-5: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	204
Figure III-2-4-6: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.	204
Figure III-2-4-7: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	205
Figure III-2-4-8: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	206
Figure III-2-4-9: Relation diamètre/masse corporelle de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	206
Figure III-2-4-10: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	207
Figure III-2-4-11: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	208
Figure III-2-4-12: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et population murine.....	209
Figure III-2-4-13: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine sur <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos.....	210
Figure III-3-1-1: Diamètre moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq sain.....	223
Figure III-3-1-2: Relation entre le diamètre et la masse de la coquille de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq sain.....	224
Figure III-3-1-3: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq sain.....	225
Figure III-3-1-4: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq sain.....	226
Figure III-3-1-5: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq sain.....	227
Figure III-3-2-1: Diamètre moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq positif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	231
Figure III-3-2-2: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq positif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	232
Figure III-3-2-3: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq positif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	233
Figure III-3-2-4: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq positif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	234

Figure III-3-2-5: Diamètre moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	235
Figure III-3-2-6: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	236
Figure III-3-2-7: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	237
Figure III-3-2-8: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	238
Figure III-3-2-9: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>S. mansoni</i> population humaine sur <i>B. pfeifferi</i> . ....	240
Figure III-3-2-10: Autocorrélogramme de la production cercarienne journalière moyenne de <i>S. mansoni</i> population humaine sur <i>B. pfeifferi</i> . ....	241
Figure III-3-3-1: Diamètre moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq positif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	247
Figure III-3-3-2: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq positif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	248
Figure III-3-3-3: Relation diamètre/masse corporelle de <i>B. pfeifferi</i> de Siginitti et de Tibraq positif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	249
Figure III-3-3-4: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq positif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	250
Figure III-3-3-5: Diamètre moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> de Siginitti et Tibraq exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	251
Figure III-3-3-6: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	252
Figure III-3-3-7: Relation diamètre/masse corporelle de <i>B. pfeifferi</i> de Siginitti et de Tibraq exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	252
Figure III-3-3-8: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	254
Figure III-3-2-9: Nombre d'œufs cumulés hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	254
Figure III-3-3-10: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	255
Figure III-3-3-11: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>S. mansoni</i> population murine sur <i>B. pfeifferi</i> . ....	257
Figure III-3-2-12: Autocorrélogramme de la production cercarienne journalière moyenne de <i>S. mansoni</i> population murine sur <i>B. pfeifferi</i> .....	258
Figure III-4-1-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> sain Pigmenté et Albinos.....	269
Figure III-4-1-2: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> sain Pigmenté et Albinos.....	270
Figure III-4-1-3: Relation diamètre/masse de la coquille de <i>B. pfeifferi</i> sain Pigmenté et Albinos.....	271
Figure III-4-1-4: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> sain Pigmenté et Albinos.....	272
Figure III-4-1-5: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> sain Pigmenté et Albinos.....	273
Figure III-4-1-6: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> sain Pigmenté et Albinos.....	274
Figure III-4-2-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	277
Figure III-4-2-2: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	278

Figure III-4-2-3: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population humaine.	279
Figure III-4-2-4: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	280
Figure III-4-2-5: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	281
Figure III-4-2-6: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	282
Figure III-4-2-7: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	282
Figure III-4-2-8: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	284
Figure III-4-2-9: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	285
Figure III-4-2-10: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine.....	286
Figure III-4-2-11: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>S. mansoni</i> population humaine sur <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos.....	288
Figure III-4-2-12: Autocorrélogrammes de la production cercarienne journalière moyenne de <i>S. mansoni</i> population humaine sur <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos.....	289
Figure III-4-3-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	295
Figure III-4-3-2: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	296
Figure III-4-3-3: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos positif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	298
Figure III-4-3-4: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	299
Figure III-4-3-5: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.	300
Figure III-4-3-6: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	301
Figure III-4-3-7: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.	302
Figure III-4-3-8: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	303
Figure III-4-3-9: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>S. mansoni</i> population murine sur <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos.	305
Figure III-4-3-10: Autocorrélogrammes de la production cercarienne journalière moyenne de <i>S. mansoni</i> population murine sur <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos.	306

# INDEX DES TABLEAUX

Tableau 1: Les caractéristiques (morphologie de l'œuf, hôtes intermédiaires et définitifs utilisés) des 22 espèces du genre <i>Schistosoma</i> (d'après Rollinson & Southgate 1987, réactualisé).....	4
Tableau I-2-1: Tests statistiques paramétriques et non-paramétriques ainsi que les logiciels utilisés pour chacun de ces tests.....	33
Tableau I-2-2: Paramètres d'analyse génétique des populations de <i>B. pfeifferi</i> et les différents logiciels qui ont été utilisés.....	40
Tableau II-1-1: Sites étudiés: nom du site, position GPS (longitude Est, latitude Nord), altitude et paramètres physico-chimiques de l'eau en mai 2007 (excepté Aayyun février 2006).....	61
Tableau II-1-2: Echantillonnage: nom et code des populations étudiées et nombre de <i>B. pfeifferi</i> analysés selon la date de prélèvement.....	63
Tableau II-1-3: Microsatellites testés.....	65
Tableau II-1-4: Microsatellites utilisés.....	66
Tableau II-1-1-1: Polymorphisme des 9 loci microsatellites analysés pour 18 populations de <i>B. pfeifferi</i> .....	69
Tableau II-1-1-2: Allèles diagnostics fixés ou non-fixés en fonction des massifs, des vallées et des sites.....	70
Tableau II-1-1-3: Paramètres de la diversité génétique chez les 18 populations de <i>B. pfeifferi</i> en 2005, 2006 et 2007 (mai et novembre) pour 9 loci microsatellites.....	71
Tableau II-1-1-4: Caractéristiques des sites en fonction du massif, de l'altitude, de la catégorie, du parasitisme larvaire et de l'albinisme de <i>B. pfeifferi</i> .....	72
Tableau II-1-1-5: Comparaison des paramètres de diversité génétique en fonction de la date d'échantillonnage.....	73
Tableau II-1-1-6: Comparaison des paramètres de diversité génétique en fonction du massif.....	73
Tableau II-1-1-7: Comparaison des paramètres de diversité génétique en fonction l'altitude du site.....	73
Tableau II-1-1-8: Comparaison des paramètres de diversité génétique en fonction de la catégorie du site.....	74
Tableau II-1-1-9: Comparaison des paramètres de diversité génétique en fonction de la présence de schistosomes.....	74
Tableau II-1-1-10: Comparaison des paramètres de diversité génétique en fonction de la présence de l'albinisme.....	74
Tableau II-1-1-11: Effectif efficace des populations de Wadi Derbat 4, de Siginitti et de Had Barm.....	75
Tableau II-1-1-12: Résultat du test de Wilcoxon pour l'équilibre démographique sous les modèles IAM (Infinite Allele Model), SMM (Stepwise Mutation Model) et TPM (Two-Phase Model).....	76
Tableau II-1-2-1: Différenciation génétique ( $F_{ST}$ ) de toutes les paires de populations, soit 153 paires.....	84
Tableau II-1-2-2: Analyse hiérarchique de la variance moléculaire (AMOVA) de la différenciation génétique spatiale globale de 17 populations de <i>B. pfeifferi</i> réparties dans 3 massifs montagneux du Dhofar.....	87
Tableau II-1-2-3: Analyse hiérarchique de la variance moléculaire (AMOVA) de la différenciation génétique spatiale des 18 populations du Dhofar et des populations du massif Wustah selon la catégorie du site.....	88

Tableau II-1-2-4: Valeurs de $F_{ST}$ de chaque population de <i>B. pfeifferi</i> par paire de date d'échantillonnage et pour l'ensemble des dates.....	89
Tableau II-1-2-5: Variance moléculaire hiérarchique (AMOVA) de la différenciation génétique temporelle.....	90
Tableau II-2-1: Population, morphe, date de prélèvement, code de l'échantillon et nombre de <i>B. pfeifferi</i> analysés.....	100
Tableau II-2-2: Polymorphisme global des 9 loci microsatellites pour les morphes pigmenté et albinos de Siginitti et de Tibraq.....	101
Tableau II-2-3: Paramètres de la diversité génétique chez les morphes pigmenté et albinos de Siginitti et de Tibraq.....	102
Tableau II-2-4: Valeurs de $F_{ST}$ entre les morphes pigmenté et albinos du même site pour chaque date d'échantillonnage et entre sites pour un même morphe à la même date.....	104
Tableau II-2-5: Valeurs de $F_{ST}$ pour la différenciation temporelle pour chaque morphe pigmenté et albinos.....	105
Tableau II-2-6: Valeurs des distances génétiques (Nei 1978) entre les morphes pigmenté et albinos du même site et pour chaque date d'échantillonnage et entre sites pour un même morphe à la même date.....	106
Tableau II-2-7: Estimation de la divergence, exprimée en nombre de générations entre le morphe pigmenté et albinos à Siginitti et à Tibraq.....	106
Tableau III-1: Diamètre moyen initial en millimètres ( $\pm$ Ecart-Standard) et nombre de <i>B. pfeifferi</i> utilisés dans les différentes combinaisons.....	115
Tableau III-2: Différents codes utilisés dans le manuscrit.....	115
Tableau III-1-1-1: Accroissement hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) du diamètre de <i>B. pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif à la population humaine de <i>S. mansoni</i> .....	123
Tableau III-1-1-2: Accroissement hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de la masse corporelle en grammes de <i>B. pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif à la population humaine de <i>S. mansoni</i> .....	126
Tableau III-1-2-1: Accroissement hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) du diamètre de <i>B. pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif à la population murine de <i>S. mansoni</i> .....	139
Tableau III-1-2-2: Accroissement hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de la masse corporelle en grammes de <i>B. pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif à la population murine de <i>S. mansoni</i> .....	142
Tableau III-1-2-3: Nombre d'œufs par ponte moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de <i>B. pfeifferi</i> sain et exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population murine.....	148
Tableau III-1-1a: Bilan des résultats du chapitre 1. Impact de la population humaine <i>S. mansoni</i> sur <i>Biomphalaria pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif.....	154
Tableau III-1-1b: Bilan des résultats du chapitre 1. Impact de la population murine <i>S. mansoni</i> sur <i>Biomphalaria pfeifferi</i> sain, positif et exposé-négatif.....	155
Tableau III-2-1-1: Taux d'infestation de <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine sur <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Pigmenté.....	168
Tableau III-2-1-2: Période prépatente de <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine sur <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Pigmenté.....	169
Tableau III-2-1-3: Nombre de cercaires émises par <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Pigmenté parasité par <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine.....	171
Tableau III-2-2-1: Taux d'infestation de <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine sur <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Albinos.....	180
Tableau III-2-2-2: Période prépatente de <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine sur <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Albinos.....	181

Tableau III-2-2-3: Nombre de cercaires émises par <i>B. pfeifferi</i> Siginitti Albinos parasité par <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine.....	183
Tableau III-2-3-1: Taux d'infestation de <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine sur <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté.....	195
Tableau III-2-3-2: Période prépatente de <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine sur <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté.....	195
Tableau III-2-3-3: Nombre de cercaires émises par <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Pigmenté parasité par <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine.....	198
Tableau III-2-4-1: Taux d'infestation de <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine sur <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos.....	209
Tableau III-2-4-2: Période prépatente de <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine sur <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos.....	209
Tableau III-2-4-3: Nombre de cercaires émises par <i>B. pfeifferi</i> Tibraq Albinos parasité par <i>S. mansoni</i> populations humaine et murine.....	212
Tableau III-2-1: Bilan des résultats du chapitre 2. Impact de la population de <i>S. mansoni</i> , humaine versus murine, sur <i>Biomphalaria pfeifferi</i> positif et exposé-négatif.....	216
Tableau III-3-2-1: Taux d'infestation de <i>S. mansoni</i> population humaine chez <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq.....	238
Tableau III-3-2-2: Période prépatente de <i>S. mansoni</i> de souche humaine sur des <i>B. pfeifferi</i> de Siginitti et Tibraq.....	239
Tableau III-3-2-3: Nombre de cercaires émises par <i>S. mansoni</i> population humaine sur <i>B. pfeifferi</i> Siginitti versus Tibraq.....	243
Tableau III-3-3-1: Taux d'infestation de <i>S. mansoni</i> population murine sur <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq.....	256
Tableau III-3-3-2: Période prépatente de <i>S. mansoni</i> population murine sur <i>B. pfeifferi</i> Siginitti et Tibraq.....	256
Tableau III-3-3-3: Nombre de cercaires émises par <i>S. mansoni</i> population murine sur <i>B. pfeifferi</i> Siginitti versus Tibraq.....	260
Tableau III-3-1: Bilan des résultats du chapitre 3. Impact de la catégorie du site Siginitti versus Tibraq sur <i>B. pfeifferi</i> , sain, positif et exposé-négatif à <i>S. mansoni</i> population humaine et murine.....	262
Tableau III-4-2-1: Taux d'infestation de <i>S. mansoni</i> population humaine sur <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos de Siginitti et de Tibraq.....	286
Tableau III-4-2-2: Période prépatente de <i>S. mansoni</i> population humaine sur <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos de Siginitti et de Tibraq.....	287
Tableau III-4-2-3: Nombre de cercaires de <i>S. mansoni</i> population humaine émises par <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté versus Albinos de Siginitti et de Tibraq.....	291
Tableau III-4-3-1: Taux d'infestation de <i>S. mansoni</i> population murine sur <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos de Siginitti et de Tibraq.....	304
Tableau III-4-3-2: Période prépatente de <i>S. mansoni</i> population murine sur <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos de Siginitti et de Tibraq.....	304
Tableau III-4-3-3: Nombre de cercaires de <i>S. mansoni</i> population murine émises par <i>B. pfeifferi</i> Pigmenté et Albinos de Siginitti et de Tibraq.....	308
Tableau III-4-1: Bilan des résultats du chapitre 4 sur l'impact du morphe de <i>B. pfeifferi</i> , pigmenté versus albinos, dans l'interaction hôte/parasite.....	311



# *INTRODUCTION GENERALE*



Les bilharzioses ou schistosomoses sont des maladies parasitaires causées par des trématodes digènes de la famille des Schistosomatidae. Cette famille est composée d'une centaine d'espèces (Combes 1995) dont certaines ont une importance médicale et vétérinaire. Toutes les espèces de cette famille sont parasites de vertébrés homéothermes (Oiseaux et Mammifères), à l'exception de *Griphobilharzia amoena* (Platt *et al.* 1991), parasite du crocodile australien (vertébré poïkilotherme). La centaine d'espèces est regroupée dans 14 genres parmi lesquels se situe le genre *Schistosoma*. A la fin du XX<sup>ème</sup> siècle, on dénombrait 19 espèces dans ce genre. Depuis, trois nouvelles espèces ont été décrites: *S. ovuncatum* au nord-ouest de la Thaïlande (Attwood *et al.* 2002a), *S. guineensis* en basse Guinée (Pagès *et al.* 2003) et *S. kisumuensis* dans le Lac Victoria au Kenya (Hanelt *et al.* 2009). Parmi les 22 espèces de *Schistosoma* décrites à ce jour, 8 espèces (36,36%) affectent environ 220 millions d'individus dans le monde (Steinmann *et al.* 2006). Les 22 espèces sont réparties en 4 groupes sur la base de la morphologie des œufs et en particulier la position de l'éperon, du genre du mollusque hôte intermédiaire et de la localisation géographique (Tableau 1): le groupe *haematobium* (9 espèces), le groupe *indicum* (4 espèces), le groupe *japonicum* (5 espèces) et le groupe *mansoni* (4 espèces).

Cependant, les analyses moléculaires ont permis de repositionner un certains nombre de taxa. Ainsi, les deux espèces *S. edwardiense* et *S. hippopotami* représentent actuellement un groupe à part entière et ne doivent plus être considérés dans le groupe *mansoni* (Morgan *et al.* 2003), *S. incognitum* sort du groupe *indicum* (Lockyer *et al.* 2003) et une espèce appartenant à un autre genre, *Orientobilharzia turkestanicum*, a finalement été positionnée au sein du genre *Schistosoma* (Lockyer *et al.* 2003).

Tableau 1: Les caractéristiques (morphologie de l'œuf, hôtes intermédiaires et définitifs utilisés) des 22 espèces du genre *Schistosoma* (d'après Rollinson & Southgate 1987, réactualisé). En gras, les espèces parasites de l'Homme.

Groupe	Espèce	Eperon de l'œuf	Genre du mollusque hôte intermédiaire	Hôte définitif
<i>haematobium</i>	<i>S. haematobium</i> <sup>1,3</sup>	Terminal	<i>Bulinus</i>	Homme
	<i>S. intercalatum</i> <sup>1</sup>			
	<i>S. guineensis</i> <sup>1</sup>			
	<i>S. mattheei</i> <sup>1</sup>			
	<i>S. curassoni</i> <sup>1</sup>			Ongulés
	<i>S. magrebowiei</i> <sup>1</sup>			
	<i>S. leiperi</i> <sup>1</sup>			
	<i>S. bovis</i> <sup>1,3</sup>			
<i>S. kisumuensis</i> <sup>1</sup>	Non connu	Rongeurs		
<i>indicum</i>	<i>S. incognitum</i> <sup>2</sup>	Absent	<i>Lymnaea et Radix</i>	Ongulés
	<i>S. indicum</i> <sup>2</sup>			
	<i>S. nasale</i> <sup>2</sup>			
	<i>S. spindale</i> <sup>2</sup>			
<i>japonicum</i>	<i>S. japonicum</i> <sup>2</sup>	Terminal	<i>Oncomelania</i>	Homme et autres mammifères
	<i>S. maleyensis</i> <sup>2</sup>			
	<i>S. mekongi</i> <sup>2</sup>		<i>Tricula</i>	Rongeurs
	<i>S. ovuncatum</i> <sup>2</sup>			
	<i>S. sinensium</i> <sup>2</sup>			
<i>mansoni</i>	<i>S. mansoni</i> <sup>1,3,4</sup>	Latéral	<i>Biomphalaria</i>	Homme, rongeurs
	<i>S. edwardiense</i> <sup>1</sup>			Hippopotame
	<i>S. hippopotami</i> <sup>1</sup>			Rongeurs
	<i>S. rodhaini</i> <sup>1</sup>			Rongeurs

<sup>1</sup>: Afrique, <sup>2</sup>: Asie, <sup>3</sup>: Moyen Orient, 4: Amérique du Sud.

Le cycle biologique de *Schistosoma mansoni* (Figure 1) est un cycle hétéroxène à deux hôtes obligatoires; l'hôte intermédiaire est un mollusque d'eau douce pulmoné, l'hôte définitif est un vertébré mammifère. Le cycle se déroule de la manière suivante: chez l'hôte intermédiaire, le parasite se multiplie de manière asexuée et produit en fin de développement des larves nageantes appelées cercaires. Les cercaires pénètrent de manière active à travers la peau et subissent un processus de développement qui aboutit à la formation des stades adultes mâle ou femelle. Les adultes s'accouplent dans les

veines mésentériques et les œufs sont évacués vers l'extérieur via les fèces. En tombant dans l'eau, les œufs libèrent des larves nageantes ciliées appelées miracidiums. Ces larves n'ont que quelques heures pour infester le mollusque hôte intermédiaire dans lequel elles pénètrent de manière active. Une fois à l'intérieur du mollusque, le miracidium se transforme en un sporocyste primaire puis en sporocystes secondaires produisant des cercaires.

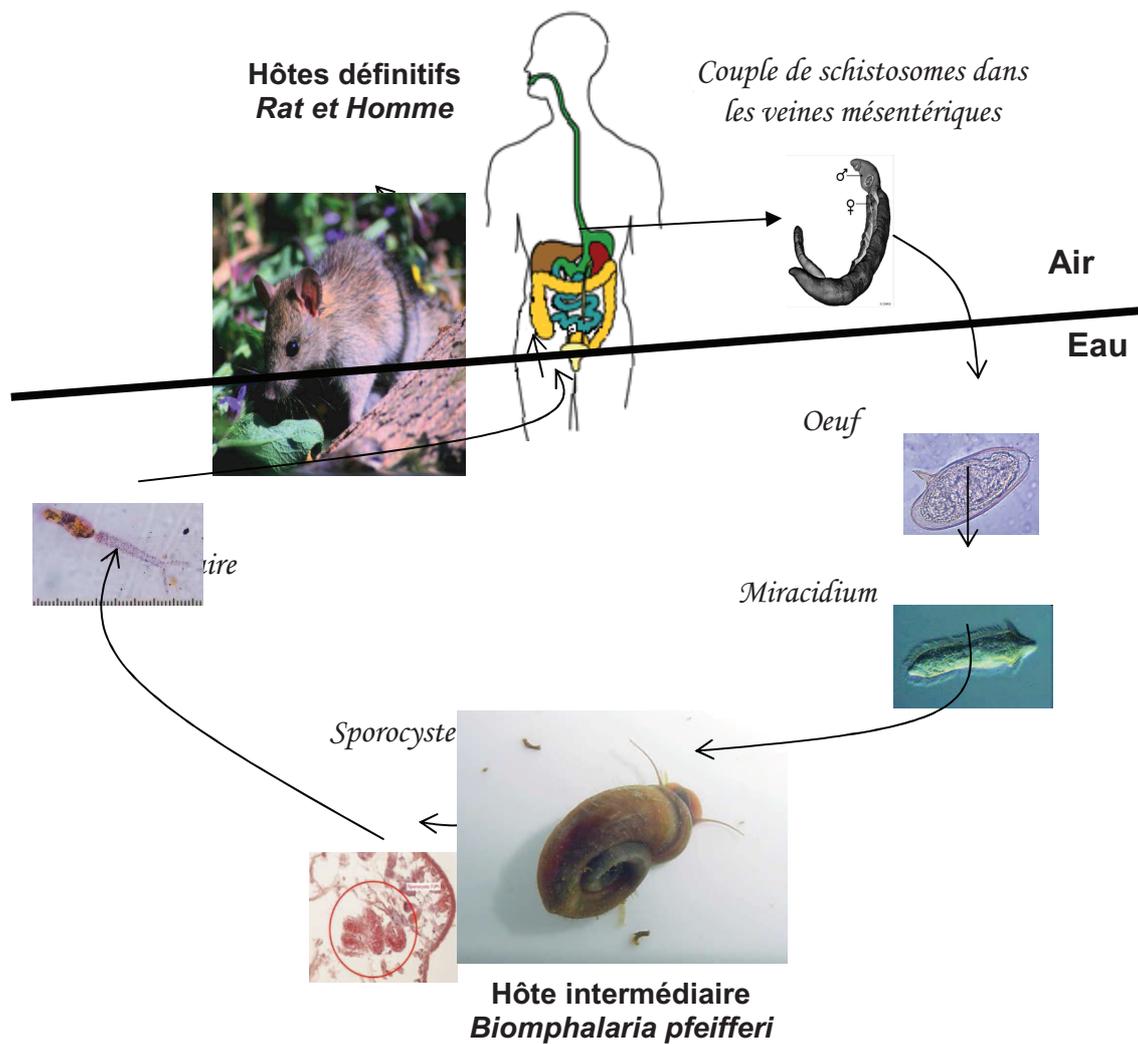


Figure 1: Cycle biologique de *S. mansoni*

Le genre *Schistosoma* aurait une origine asiatique et aurait été suivie d'une dispersion en Afrique puis en Inde (Snyder & Loker 2000; Attwood *et al.* 2002b; Lockyer *et al.* 2003) et cette origine asiatique a été confirmée selon les données les plus récentes (Webster *et al.* 2006). Selon cette hypothèse, un ancêtre schistosome se serait

donc dispersé en Afrique il y a environ 12 à 19 millions d'années, suite à une migration généralisée des mammifères depuis l'Asie. En Afrique, l'ancêtre aurait divergé et donné les espèces des groupes *mansoni* et *haematobium* ainsi que l'ancêtre des espèces du groupe *indicum* qui aurait postérieurement migré vers l'Inde probablement via les humains et leurs animaux. Enfin, l'espèce *S. mansoni* a été transférée très récemment en Amérique du Sud par les esclaves venus du continent africain (Després *et al.* 1993). Concernant les deux groupes de *Schistosoma* africains, ils seraient issus, par transferts latéraux, pour *mansoni*, d'un ancêtre schistosome ayant évolué chez des rongeurs et pour le groupe *haematobium* d'un ancêtre ayant évolué chez les ongulés (Combes 1990). Dans le groupe *S. mansoni-S. rodhaini*, la séparation entre les deux espèces se serait produite il y a 5 à 7 millions d'années avec l'émergence des hominidés (Després *et al.* 1992). Concernant plus particulièrement l'espèce *S. mansoni*, une étude de la diversité génétique des populations de *S. mansoni* d'Afrique, de la péninsule arabique, de Madagascar, d'Amérique du Sud et des Caraïbes, utilisant un marqueur mitochondrial (COI) a montré une très forte diversité génétique mais également une forte structuration géographique globale et régionale (Morgan *et al.* 2005). Ces auteurs ont également montré l'origine est-africaine de l'espèce il y a 300 000 à 430 000 ans. Une population du Dhofar était incluse dans ces analyses et s'est positionnée tout près de certaines des populations est-africaines, à la base du groupe des populations d'Afrique de l'Ouest, d'Amérique du Sud et des Caraïbes (Morgan *et al.* 2005). Cette position basale de la population omanaise rend essentielle l'étude de la diversité génétique des populations du Dhofar, Oman se situant entre l'Asie et l'Afrique.

Le Sultanat d'Oman héberge actuellement une seule espèce de schistosome, *S. mansoni*. Ce pays a un intérêt biogéographique particulier car il constitue la limite Est de la distribution actuelle de *S. mansoni* dans le monde. L'évolution des cas de schistosomose à *S. mansoni* chez l'Homme dans le Dhofar est présentée dans la figure 2. Les premiers cas ont été découverts dans une ferme près de Salalah, capitale du Dhofar, au Sud du sultanat, à la fin des années 70 (Shaban 1995). D'autres cas importés ont été détectés chez des travailleurs d'origine africaine où la schistosomose est largement répandue (Soudan et Egypte) (Arfaa 1982) puis de nouveaux cas autochtones ont été diagnostiqués (Githaiga 1983). Cette situation a été prise très au sérieux par les

autorités de la Santé et un programme intégré d'ampleur alliant molluscicides, traitement des populations et éducation à la santé a été mené au point qu'une campagne de diagnostic au début des années 1990 a montré que plus aucun œuf n'était détecté dans les selles des patients analysés (Idris *et al.* 1994). La maladie a alors été déclarée comme éradiquée (Scrimgeour *et al.* 1999). Cependant, une réémergence de la maladie s'est produite en fin d'année 1999 et au début de l'année 2000 où plusieurs nouveaux cas ont été détecté (Figure 2) dont un cas de neuroschistosomose chez un très jeune garçon de 8 ans, n'ayant jamais voyagé à l'extérieur du Dhofar (Scrimgeour *et al.* 2001; Koul *et al.* 2002). La réémergence de la schistosomose à *S. mansoni* au Sultanat d'Oman et en particulier dans la région du Dhofar au sud du pays a ensuite été confirmée; les prévalences étaient de 1 à 13% en utilisant la méthode du Kato-Katz et de 3 à 43% avec la sérologie ELISA (Idris *et al.* 2003).

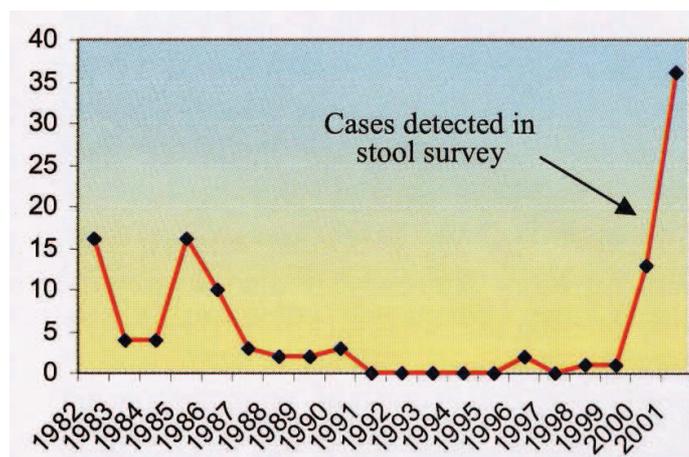


Figure 2: Les cas de *S. mansoni* dans la région du Dhofar au Sultanat d'Oman sur la période de 1982 à 2001, d'après le Ministère de la Santé Publique du Sultanat d'Oman.

Dès que le phénomène de réémergence de la schistosomose dans le Dhofar a été connu, une collaboration scientifique regroupant le Ministère de la Santé d'Oman, l'Université Sultan Qaboos de Muscat (Oman) et l'UMR 5244 CNRS-EPHE-UPVD de l'Université Via Domitia de Perpignan a été mise en place dans le but de clarifier la situation épidémiologique dans le pays et notamment dans la région du Dhofar et de rechercher les causes possibles de cette réémergence. Une première étude a été menée concernant la répartition exacte du mollusque vecteur *Biomphalaria pfeifferi* ainsi que les prévalences naturelles d'infestation du mollusque par *S. mansoni* (Moné *et al.* 2003). Les auteurs ont pu montrer que *B. pfeifferi* était présent sur l'ensemble du Dhofar,

notamment dans les trois principaux massifs, dans de nombreuses vallées et dans des sites soit naturels soit aménagés par l'Homme. Ces mêmes auteurs ont montré, pour la première fois, la présence de mollusques naturellement parasités, émetteurs de cercaires de *S. mansoni* avec des prévalences d'infestation chez le mollusque pouvant aller jusqu'à 8% (Moné *et al.* 2003). Par la suite, de nouveaux résultats surprenants ont été obtenus. Ainsi, l'analyse des profils d'émissions cercariennes de *S. mansoni* du Dhofar montre qu'il existe deux populations chronobiologiques différentes (Mouahid *et al.* 2006): une population dont le pic d'émission cercarienne se situe le jour et une autre dont le pic d'émission cercarienne est nocturne, pendant les premières heures de la nuit. Jusqu'à cette découverte, parmi toutes les espèces du genre *Schistosoma*, seule *S. rodhaini* possédait une émission cercarienne nocturne. Les résultats des analyses préliminaires de comparaison du fragment de gène COX1 entre quelques espèces de schistosomes, y compris *S. rodhaini*, et les deux populations chronobiologiques de schistosome d'Oman montrent que ces dernières sont toutes des populations de *S. mansoni*. (Figure 3) (Mouahid *et al.* 2006):

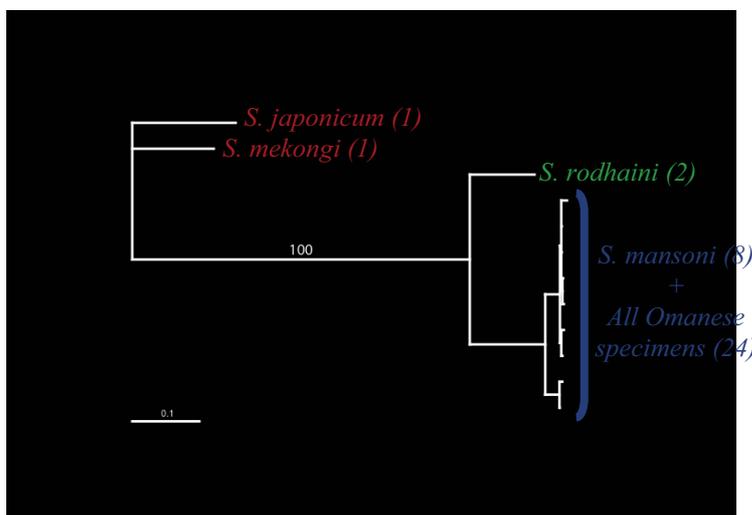


Figure 3: Phylogénie de 4 espèces de schistosomes et des populations omanaise réalisée à partir du fragment de gène COX1

Outre tous les aspects que nous venons d'évoquer plus haut, à savoir l'intérêt biogéographique des schistosomes en Oman, la réémergence de la schistosomose à *S. mansoni*, la découverte de deux populations chronobiologiques de *S. mansoni*, la zone d'étude est également caractérisée par la présence d'un polymorphisme de la pigmentation dans les populations de *B. pfeifferi*, mollusque hôte intermédiaire. En effet, à partir de 2001, un polymorphisme de couleur de *B. pfeifferi* avec, un morphe

pigmenté et un morphe albinos est révélé dans un même site, Siginiti puis en mai 2007, dans un autre site, Tibraq (Mouahid *et al.* in press, Annexe 2).

Cette thèse s'inscrit dans un contexte de santé publique dans le cadre scientifique de la réémergence des schistosomes à *S. mansoni* dans la région du Dhofar (Oman). La spécificité de la situation qui prévaut dans cette région, à savoir, la situation de réémergence elle-même, la présence du mollusque *B. pfeifferi* dans des sites naturels et aménagés, la présence de deux populations de *S. mansoni* dont les comportements de sortie des larves diffèrent et enfin la présence, dans certains sites, d'individus mollusques albinos en nombre important, nous ont donné autant d'objectifs afin de démêler l'impact de chacune de ces spécificités sur les risques de transmission de la schistosomose vers l'Homme. Les objectifs que nous nous sommes fixés dans cette thèse sont au nombre de deux: le premier objectif est d'analyser la diversité et la structuration génétique des différentes populations de *B. pfeifferi* dans l'ensemble du Dhofar, ainsi que les différences génétiques pouvant exister entre les deux morphes, pigmenté et albinos, du mollusque; le deuxième objectif est d'analyser expérimentalement les relations hôte-parasite pour certaines combinaisons choisies en fonction de la population (humaine versus murine) de *S. mansoni*, du site (naturel versus aménagé) et du morphe du mollusque (pigmenté versus albinos). Pour cela, les traits d'histoire de vie du mollusque et du parasite seront analysés afin de connaître la performance de l'interaction de la combinaison considérée. Les résultats seront analysés en termes de conséquences possibles sur les risques de transmission et d'expansion de la bilharziose dans le Dhofar.

La thèse est présentée en trois grandes parties:

Une **première partie** présente le matériel biologique, les méthodes de recherche utilisées ainsi que les analyses de données réalisées.

Une **deuxième partie** analyse la structure génétique des populations de *B. pfeifferi* du Dhofar (Oman).

Une **troisième partie** analyse les relations entre *S. mansoni* et *B. pfeifferi* et leurs conséquences sur la transmission du schistosome.



***PREMIERE PARTIE:***  
***MATERIEL, METHODES ET***  
***ANALYSE DES DONNEES***



***CHAPITRE 1:***  
***MATERIEL ET METHODES***



## **I. Matériel**

Le matériel biologique utilisé est composé de parasites (schistosomes) et d'hôtes invertébrés (mollusques) et vertébrés (rongeurs).

Les parasites qui ont fait l'objet de cette étude appartiennent à l'espèce *Schistosoma mansoni*. Ce sont des trématodes digènes appartenant à la famille des Schistosomatidae. Nous avons utilisé deux populations: une humaine et une murine provenant de la région du Dhofar au Sultanat d'Oman.

Les hôtes vertébrés rongeurs qui ont été utilisés comme hôtes définitifs expérimentaux sont des souris *Mus musculus*, souche Swiss OF1 (Iffa Credo, L'arbresle, France). Les mollusques hôtes intermédiaires utilisés sont des mollusques pulmonés d'eau douce appartenant à la famille des Planorbidae; il s'agit de *Biomphalaria pfeifferi*. Dix-huit populations différentes, échantillonnées à partir de 18 sites différents, ont été utilisées.

## **II. Méthodes de Parasitologie**

### ***A. Extraction des parasites***

La population humaine de *Schistosoma mansoni* a été extraite à partir d'écoliers atteints de la bilharziose dans le village de Sheer (17°11'45.14"N; 54°11'4.54"E; voir figure II-1-2). La population murine de *S. mansoni* a été extraite à partir de rats (*Rattus rattus*) naturellement infestés et capturés par piégeage et également à partir des mollusques hôtes intermédiaires (*Biomphalaria pfeifferi*) naturellement infestés dans le site de Tibraq (17° 5'58.11"N; 54°19'35.09"E).

### **1. La population humaine**

Les selles sont broyées et diluées dans une solution saline de 0,85% à l'aide d'un mixeur électrique. La solution est filtrée à travers une série de tamis à vide de maille décroissant (425, 180, 106 et 45 µm) afin de récupérer les œufs (stade du parasite contenu dans les selles) dans le dernier tamis. La filtration est facilitée par pulvérisation

de la solution saline au niveau de chaque tamis. Les œufs retenus dans le dernier tamis sont transvasés dans un cristalliseur avec de l'eau de source ou provenant d'un forage. Le cristalliseur est placé sous une lampe. Une demi-heure plus tard, les œufs éclosent et libèrent chacun un miracidium (stade libre et nageant du parasite). Les miracidiums sont pipetés à l'aide d'une pipette Pasteur et mis en contact avec les mollusques hôtes intermédiaires sains.

## **2. La population murine**

Elle a été extraite à partir du foie de rats naturellement parasités mais avant toute extraction, les rats ont été perfusés suivant la technique de Duvall et Dewitt (1967) pour collecter les schistosomes adultes qui vivent dans le système circulatoire mésentérique.

### **a) Perfusion et collecte des parasites adultes**

Les rongeurs sont euthanasiés par injection d'une dose létale de Pentobarbital, à raison de 0,1 ml pour 10 g de masse corporelle. Le rongeur est disposé sur le dos dans une cuve à perfusion. La dissection permet d'accéder à la veine porte et immédiatement après sa section, le liquide de perfusion est injecté dans le ventricule gauche grâce à une seringue. Le liquide de perfusion est une solution de 8,5 g de chlorure de sodium et de 7,5 g de citrate de sodium dilués dans un litre d'eau distillée. Le liquide de perfusion suit le trajet de la circulation sanguine et permet d'expulser les adultes dans un verre à pied prévu à cet effet. La perfusion est arrêtée lorsque le cœur, les poumons et le foie deviennent clairs. Le contenu du verre à pied est filtré afin de collecter les vers adultes. Le foie, les poumons, le cœur et les intestins sont récupérés et dilacérés sous la loupe binoculaire pour extraire les éventuels vers adultes qui n'ont pas été expulsés. La présence de couples de schistosomes ainsi que la présence de granulomes dans le foie indiquent que le foie peut être utilisé pour l'extraction de la population.

### **b) Infestation des mollusques**

Le foie est coupé en petits morceaux à l'aide d'une paire de ciseaux puis placé dans une passoire elle-même placée au sein d'un mortier contenant une solution saline à 0,85%. A l'aide d'un pilon, on procède au broyage manuel du foie. Le broyat est filtré à

travers une série de tamis à vide de maille décroissant (425, 180, 106 et 45  $\mu\text{m}$ ). La filtration est accélérée par pulvérisation de la solution saline au niveau de chaque tamis. Les œufs sont retenus dans le dernier tamis puis transvasés dans un cristalliseur en présence d'eau de source. Les œufs sont mis à éclore et les miracidiums sont mis en contact avec les mollusques comme précédemment décrit.

## ***B. Collecte et transport des mollusques***

### **1. Collecte des mollusques**

Les mollusques ont été prélevés dans les cours d'eau visités à l'aide d'une passoire en acier de 20 cm de diamètre et de 2 mm de vide de maille. La passoire est fixée à un manche à balai en bois de 1,5 m. L'échantillonnage se fait en plongeant la passoire dans l'eau et en secouant légèrement les végétaux submergés ou à la surface afin de détacher les mollusques qui tombent dans la passoire. Les mollusques sont ensuite placés dans des récipients munis d'un couvercle hermétique et transportés au laboratoire pour les tests parasitologiques.

### **2. Examen parasitologique**

Par groupes de 30 à 40 mollusques, on réalise le test de l'émission cercarienne. Lorsqu'il y a des cercaires, les mollusques sont ensuite séparés individuellement afin d'identifier les individus parasités. Le test d'émission cercarienne est suivi pendant 4 semaines, durée correspondant à la période prépatente des schistosomes. Pour les études de génétique des populations des mollusques, un groupe de mollusques sains de chaque population est soigneusement disséqué et stocké dans un tube hermétique contenant de l'alcool 95°. Le reste des mollusques sains est soigneusement conservé vivant pour élevage.

### **3. Transport des mollusques**

Les transports de courtes distances se font en voiture des sites au laboratoire. Les mollusques sont transportés dans des boîtes plastiques hermétiques contenant de l'eau de source et quelques végétaux aquatiques. L'ensemble des boîtes est transporté dans une glacière prévue pour cela. Pour les transports de grandes distances, les mollusques sont transportés dans des boîtes en plastique aérées grâce à de petits trous. Les mollusques sont disposés sur du papier absorbant préalablement humidifié avec de l'eau de source avec un petit papier portant les références de l'échantillon au crayon gris. Une boîte peut contenir jusqu'à 5 couches de mollusques placés en sandwich. Arrivés à destination, les mollusques sont immédiatement mis en aquarium contenant de l'eau de forage à une température constante de 24 à 25°C et nourris avec de la laitue fraîche.

#### ***C. Maintien des cycles des parasites***

Les cycles biologiques des populations humaine et murine de *S. mansoni* sont maintenus au laboratoire grâce aux deux hôtes obligatoires, le mollusque hôte intermédiaire *B. pfeifferi* (pigmenté ou albinos) du Dhofar, Sultanat d'Oman et le vertébré hôte définitif *Mus musculus* (souris), souche OF1 (Iffa Credo, L'arbresle, France).

#### **1. Infestation des hôtes intermédiaires**

Après éclosion des œufs, les miracidiums sont prélevés sous une loupe binoculaire à l'aide d'une pipette Pasteur à bout effilé et placés un par un dans les cellules d'une plaque multi-puits. Chaque miracidium est mis en contact avec un mollusque sain en présence d'eau de source à 24-25°C. La taille des mollusques à l'infestation est de l'ordre de 4 mm en moyenne. Les plaques multi-puits sont ensuite placées à l'obscurité dans une étuve à 24-25°C pendant 12 heures avant de les mettre en groupe dans un aquarium en présence de 2 litres d'eau de source ou de forage à 24-25°C et nourris *ad libitum* avec de la laitue fraîche. La période prépatente, durée du développement intramolluscal du parasite, est d'environ 28 jours. Au terme de cette durée, les

mollusques dits positifs émettent des cercaires, les stades larvaires nageants et infestants vis-à-vis des vertébrés hôtes définitifs.

## **2. Infestation des hôtes définitifs**

Tous les mollusques positifs sont placés dans un cristallisoir avec de l'eau de forage à 24-25°C afin d'avoir une grande diversité de cercaires. Ces dernières sont prélevées sous une loupe binoculaire à l'aide d'une pipette Pasteur à bout effilé et placées dans un cristallisoir. La dose d'infestation est de 120 cercaires par souris. Les souris sont endormies par injection intrapéritonéale d'une solution anesthésiante (2,5 ml de Rompun (20 mg/ml), 5 ml d'Imalgène (100 mg/ml) et 42,5 ml de NaCl) à raison de 0,1 ml pour 10 g de masse corporelle. Une bonne surface de l'abdomen de chaque souris est soigneusement rasée à l'aide d'une tondeuse électrique afin de permettre un contact direct entre le corps de l'animal et les cercaires. Après avoir légèrement humidifié la partie rasée avec de l'eau de forage, la souris est disposée sur le cristallisoir de manière à positionner la partie rasée de son abdomen en contact avec les cercaires. L'exposition se fait pendant une heure et ensuite on place les souris dans une cage en présence d'une lumière chauffante jusqu'au réveil.

### ***D. Maintien des hôtes***

#### **1. Elevage des mollusques**

Les mollusques sont maintenus en élevage au laboratoire dans un bâtiment nommé molluscarium. Ils vivent dans des aquariums en plastique contenant deux litres d'eau de forage. Les aquariums sont placés dans des cellules thermo et photorégulées (24-25°C dans l'eau et LD: 12h-12h). Les très jeunes mollusques sont nourris *ad libitum* avec *Nostoc muscorum*, une cyanobactérie, et les adultes avec de la salade fraîche. L'eau est renouvelée toutes les 3 à 4 semaines. Les pontes émises par les mollusques sur des pondoirs sont soigneusement prélevées et mises à éclore dans des boîtes de Pétri contenant l'algue *Nostoc*. Une fois toute l'algue consommée, les mollusques sont

nourris avec de la salade sèche émietlée pendant deux semaines avant de les transférer dans un aquarium avec 2 litres d'eau de forage et de la salade verte.

## **2. Elevage des souris**

Les souris, que l'on utilise comme hôtes définitifs, sont maintenues en élevage au laboratoire dans une salle nommée animalerie sous la responsabilité d'un technicien spécialisé. Il entretient un livret de comptabilité pour tous les rongeurs élevés à l'animalerie. Les souris parasitées sont maintenues par groupe de 4 à 5 souris par cage et nourries avec de la nourriture industrielle prévue pour cela. Régulièrement, les cages sont nettoyées pour mettre une nouvelle litière. En cas de mort, les cadavres sont mis hors de cage et placés dans un congélateur avant d'être incinérés par une entreprise spécialisée.

### ***E. Mesure des traits d'histoire de vie du mollusque***

#### **1. Croissance**

L'étude de la croissance des mollusques est réalisée en mesurant un certain nombre de paramètres tels que le diamètre de la coquille du mollusque, la masse corporelle et la masse de la coquille. Le diamètre de la coquille du mollusque est déterminé en mesurant la plus grande diagonale de la coquille à l'aide d'un pied-à-coulisse d'une précision de 0.05 mm. La masse corporelle des mollusques et la masse des coquilles sont mesurées à l'aide d'une balance avec une précision de 0,1 mg. Pour la mesure de la masse corporelle, le mollusque est préalablement déposé délicatement sur un papier absorbant pendant quelques secondes afin d'éliminer l'excès d'eau qu'il contient.

Nous avons également calculé les accroissements du diamètre et de la masse corporelle des mollusques, c'est-à-dire la différence entre le diamètre ou la masse entre deux semaines consécutives. Ces paramètres indiquent la croissance réelle du mollusque pendant la durée de l'expérience.

## 2. Fécondité

L'étude de la fécondité est réalisée en mesurant à intervalles de temps réguliers et pour chaque mollusque les paramètres suivants: le taux de mollusques pondueurs, le nombre de pontes, le nombre d'œufs, le nombre d'œufs par ponte, la durée d'incubation, le taux d'éclosion ainsi que l'âge à la maturité sexuelle. Le taux de mollusques pondueurs est le nombre de mollusques ayant pondu au minimum une ponte sur le nombre total de mollusques testés. Pour la mesure du nombre de pontes, du nombre d'œufs et du nombre d'œufs par ponte, les mollusques sont maintenus individuellement dans des verres en plastique transparent dans lesquels ils pondent directement sur les parois. Chaque semaine, les pontes ainsi que les œufs qu'elles contiennent sont comptés à l'œil nu à travers le verre puis retirés. Le nombre d'œufs par ponte est défini en faisant le rapport entre le nombre d'œufs sur le nombre de pontes. La durée d'incubation désigne le temps (en jours) qui sépare l'émission de la ponte de l'éclosion. Elle a été mesurée de la façon suivante: des mollusques adultes sont placés à pondre dans des aquariums de 2,25 l d'eau de forage à 24-25°C. Les pontes sont prélevées soigneusement, le nombre d'œufs ainsi que la date d'émission de la ponte sont identifiés. Les pontes sont placées dans des boîtes de Pétri avec 35 ml d'eau de forage à 24-25°C sous une photopériode équilibrée 12h-12h et suivies jusqu'à l'éclosion. La date de l'éclosion ainsi que le nombre de mollusques éclos sont progressivement enregistrés. Le taux d'éclosion désigne le rapport entre le nombre de mollusques éclos sur le nombre d'œufs mis à éclore. L'âge à la maturité sexuelle désigne la durée (en jours) entre la date au moment de l'éclosion des mollusques et la date de leur première ponte. Pour étudier ce paramètre, les œufs contenus dans les pontes sont directement placés dans une boîte de Pétri contenant une culture de *Nostoc muscorum* diluée avec 35 ml d'eau distillée à 24-25°C sous une photopériode équilibrée 12h-12h. La durée d'incubation étant connue, on maintient les très jeunes mollusques pendant deux semaines dans la culture de Nostoc avant de les transférer dans des aquariums avec 2,25 ml d'eau de forage à 24-25°C où ils seront nourris *ad libitum* avec de la salade fraîche sous une photopériode équilibrée 12h-12h. L'eau est renouvelée chaque semaine et les mollusques sont mesurés jusqu'au moment où ils font leurs premières pontes.

### **3. Survie**

La survie est étudiée en notant le nombre de morts chaque semaine. La mort d'un mollusque est validée, sous la loupe binoculaire, lorsqu'il ne manifeste plus aucun mouvement et que le cœur ne bat plus.

#### ***F. Mesure des traits d'histoire de vie du parasite***

##### **1. Taux d'infestation**

Le taux d'infestation désigne le rapport entre le nombre de mollusques émetteurs de cercaires sur le nombre de mollusques survivants au moment des tests. Nous avons choisi de présenter ce paramètre dans les traits d'histoire de vie du parasite mais il faut noter qu'il reflète en réalité la compatibilité hôte-parasite qui représente à la fois l'infectivité du parasite et la susceptibilité du mollusque.

##### **2. Période prépatente**

La période prépatente désigne la durée (en jours) qui sépare la date de l'exposition des mollusques aux miracidiums de la date du premier jour d'émission cercarienne. Les tests d'émission cercarienne sont réalisés à partir du 20<sup>ème</sup> jour post-exposition pendant deux semaines. Pour la population humaine de *S. mansoni*, le matin vers 9h 00, les mollusques sont placés individuellement dans des piluliers remplis à moitié avec l'eau de forage à 24-25°C et mis sous une source lumineuse. Ils sont ensuite examinés, sous une loupe binoculaire, à deux ou trois reprises durant l'après-midi. Pour la population murine de *S. mansoni*, les mollusques sont placés en obscurité à partir de 18h 00 et ils sont examinés sous une loupe binoculaire le lendemain matin vers 9h 00. Les mollusques émetteurs sont identifiés et répertoriés afin d'évaluer le taux d'infestation.

### **3. Production cercarienne**

Elle correspond à la quantification journalière des cercaires émises par un mollusque parasité. Chaque jour, le mollusque parasité est transféré dans un autre verre contenant le même volume d'eau de forage à la même température (24-25°C). L'échantillon d'eau recueilli est filtré sur un filtre Polyamide Nitrel (25 µm de vide de maille). Les cercaires retenues sur le filtre sont colorées avec une solution de Lugol puis comptées sous une loupe binoculaire (Théron, 1982).

## **III. Méthodes de Biologie moléculaire**

### ***A. Extraction d'ADN de mollusque***

L'extraction se fait selon le protocole décrit par Langand (1997). La région céphalopédieuse de chaque mollusque est prélevée puis broyée manuellement avec le tampon A (1% SDS; 50 mM Tris HCl pH 8; 25 mM NaCl). Après 30 mn dans un bain marie à 65°C, l'ensemble est ensuite mélangé avec 400 µl de tampon B (3M Acétate de potassium, pH 7,2) et placé immédiatement dans la glace pendant 45 min. Le mélange est ensuite centrifugé pendant 10 min à 10 000 tpm à 6°C. Le surnageant est délicatement prélevé à la pipette et est mélangé avec deux volumes d'alcool 95°. Après une nuit à -20°C, le mélange est centrifugé pendant 30 min à 3 000 tpm à 4°C. Le surnageant est jeté et le culot est lavé deux fois à l'alcool 70°. Après le deuxième lavage, le culot est séché et repris dans du Tampon d'Extraction (TE) 1X (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8). L'ADN extrait est dosé au spectrophotomètre et conservé à -20°C en plaque multipuits 96.

### ***B. Réaction de polymérisation en chaine (PCR)***

La PCR est l'une des techniques de biologie moléculaire la plus utilisée depuis les 20 dernières années. C'est une technique d'amplification *in vitro* qui permet de multiplier ou de copier une séquence d'ADN à partir d'une très faible quantité d'acide nucléique. Le principe consiste à réaliser une succession de réactions de réplication

d'une matrice d'ADN double brin. Chaque réaction se fait à partir de deux amorces oligonucléotidiques complémentaires des extrémités 3' de la séquence d'ADN double brin cible. Sous l'effet d'une ADN polymérase résistante aux températures élevées (la Taq polymérase), chaque amorce est allongée complémentirement au brin copié. Les produits de chaque cycle de synthèse constituent les matrices du cycle suivant et l'amplification est exponentielle au lieu d'être linéaire. La réaction PCR a été effectuée dans un volume final de 20  $\mu$ l comprenant 1  $\mu$ l d'ADN, 1 X de tampon, 0,4  $\mu$ M de chaque amorce et 200  $\mu$ M de chaque dNTP.

Une réaction PCR comprend trois phases fondamentales: une 1<sup>ère</sup> phase d'activation de l'enzyme Taq polymérase qui dure en général 5 min, une 2<sup>ème</sup> phase d'amplification proprement dite et une 3<sup>ème</sup> phase d'élongation finale qui dure 10 min (Figure I-1-1). La phase d'amplification comprend trois étapes distinctes: une étape de dénaturation de la matrice d'ADN double brin à 95°C pendant 30 secondes, une étape d'hybridation des amorces à une température spécifique pendant 30 secondes et enfin une étape de polymérisation à 72°C dont la durée dépend de la taille du fragment amplifié (20 pb par seconde).

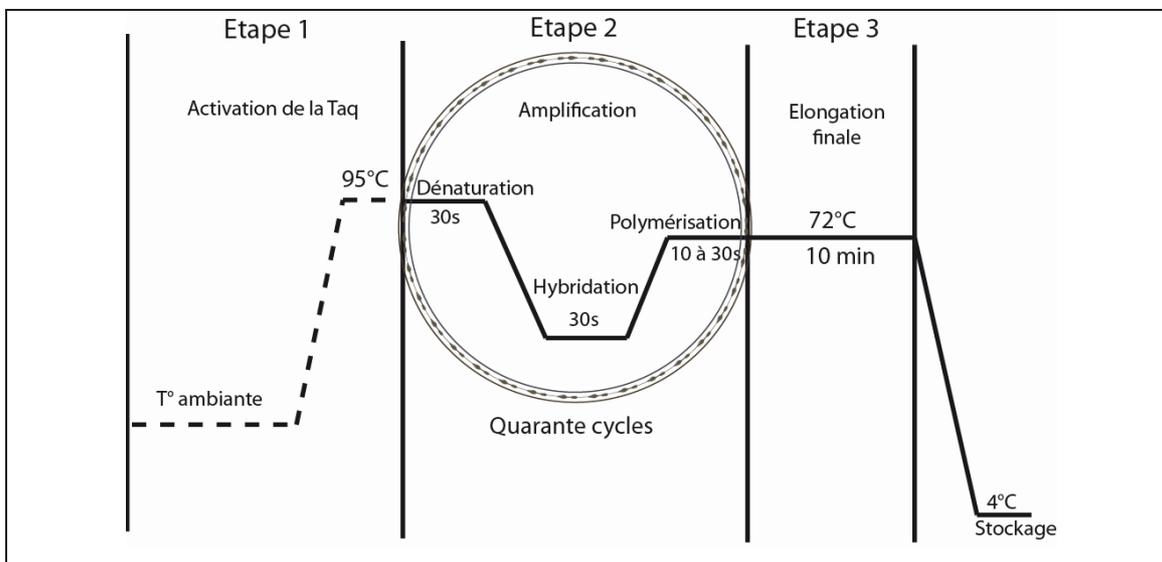


Figure I-1-1: Les trois étapes classiques d'une réaction PCR avec les températures ainsi que la durée nécessaire de chaque étape (s: seconde et min: minute).

Pour déterminer la meilleure température d'hybridation, une PCR-gradient est préalablement réalisée au cours de laquelle on définit un gradient de 8 températures d'hybridation (de 48 à 62°C) autour de celle indiquée dans la littérature. La température

d'hybridation idéale est celle qui permettra la meilleure amplification, celle qui présente la bande la plus intense après électrophorèse sur un gel d'agarose des produits PCR obtenus (Figure I-1-2).

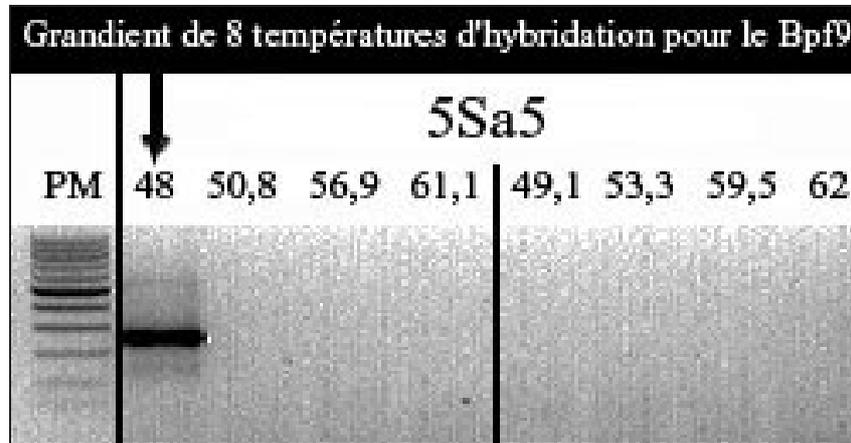


Figure I-1-2: Gel d'agarose montrant un gradient de 8 températures d'hybridation pour le locus Bpf9 sur l'individu 5Sa5 (5<sup>ème</sup> individu de Siginitti morphe albinos Mai 2005). L'amplification se produit à 48°C. PM est le poids moléculaire du marqueur de taille (multiple de 100pb).

### C. *Electrophorèse*

L'électrophorèse est une technique de routine en biologie moléculaire qui permet de séparer et de révéler les acides nucléiques sur une matrice d'agarose ou d'acrylamide en fonction de leur taille sous l'effet d'un champ électrique. Les molécules d'ADN étant chargées négativement, elles vont migrer de la borne négative vers la borne positive dans un champ électrique. Les molécules de petites tailles vont migrer plus rapidement et plus loin que les molécules de grandes tailles. La révélation se fait généralement à l'aide du Bromure d'Ethidium (BET) et d'un agent intercalant qui rend les acides nucléiques fluorescents sous les rayonnements ultraviolets. L'estimation de la taille des fragments est faite en comparant les bandes obtenues à celles du marqueur de taille (Figure I-1-2).

### D. *Analyse microsatellite*

La génétique des populations des mollusques *B. pfeifferi* a été menée en utilisant des marqueurs microsatellites. Le choix des marqueurs microsatellites utilisées dans

cette étude est présentée dans le protocole expérimental du chapitre 1, partie II. Les microsatellites sont des séquences répétées d'ADN génomique de 1 à 5 nucléotides dont le polymorphisme de taille (nombre de répétitions) peut être révélé par PCR en utilisant des amorces marquées avec un fluorochrome. Les microsatellites sont des marqueurs à hérédité biparentale, codominants, considérés comme neutres (non soumis à la sélection) et hypervariables avec des taux de mutation compris entre 0,00001 et 0,01 selon Jarne & Lagoda (1996). On les retrouve dans le noyau et dans les chloroplastes des Eucaryotes. Ils sont classés en trois familles: les purs (ex: GCGCGCGC), les composés (ex: GCGCGCATATAT) et les discontinus (ex: GCTTTGCTTTGC) (Jarne & Lagoda 1996).

Un marqueur moléculaire n'est informatif que s'il présente un polymorphisme dans les populations étudiées. Le polymorphisme, qui représente dans le cas des microsatellites la différence du nombre de répétitions en paires de base, a été considéré soit entre individus d'une même population soit entre populations.

Les produits PCR sont mélangés avec du SLS (Sample Loading Solution) et un marqueur de taille de 400 pb selon les proportions suivantes: 1 µl de produit PCR pour 40 µl de SLS et 0,275 µl de marqueur de taille. L'ensemble est génotypé sur un séquenceur automatique CEQ™ 8000 (Beckman Coulter) et analysé à l'aide de son Système d'analyse génétique v. 8.0 (Beckman Coulter) intégré. La présence d'un allèle est signalée par un pic indiquant sa taille (Figure I-1-3).

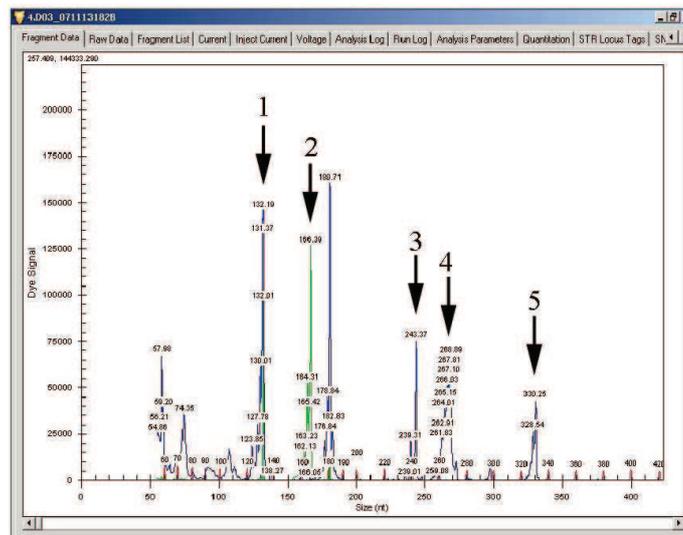


Figure I-1-3: Fluorogramme d'un multiplex M1 de 5 microsatellites. Chaque pic désigne un allèle d'un microsatellite donné: 1 (Bgμ16), 2 (μBg1), 3 (Bpf9), 4 (Bpf10), 5 (Bpf12). En abscisse, le marqueur de taille en pb et en ordonnée l'intensité du signal.

Nous avons fait appel à trois types d'analyse microsatellite:

L'analyse simplex: On amplifie par PCR chacun des loci microsatellites considérés selon le principe décrit plus haut. Chacun des produits PCR obtenu est additionné au mélange SLS/marqueur de taille pour être analysé au séquenceur comme indiqué plus haut.

L'analyse poolplex: On amplifie par PCR chacun des loci microsatellites considérés selon le principe décrit plus haut. Les produits PCR de plusieurs loci microsatellites dont les tailles sont assez éloignées pour ne pas être confondues sont mélangés dans des proportions équivalentes. On prélève 1 µl de ce mélange qui est ensuite mélangé avec du SLS et du marqueur de taille pour être analysé au séquenceur comme indiqué plus haut. On gagne financièrement et temporellement par rapport à l'analyse simplex car dans le poolplex on fait analyser au séquenceur plusieurs microsatellites simultanément.

L'analyse multiplex: Comme pour le poolplex, on fait analyser plusieurs microsatellites simultanément. La différence avec l'analyse poolplex est que le mélange des microsatellites choisis se fait avant l'amplification PCR. En fonction de la taille des microsatellites, nous avons défini 2 multiplex: un multiplex M1 de 5 microsatellites (µBg1; Bgµ16; Bpf9; Bpf10 et Bpf12) et un multiplex M2 de 4 microsatellites (Bpf4; Bpf8; u-2 et u-7). Les amorces de chaque multiplex sont mélangées dans un tampon selon les proportions indiquées dans le protocole fourni dans le Kit Qiagen Multiplex. La réaction PCR ici utilise des conditions spécifiques définies dans le Kit Qiagen Multiplex. Elle est réalisée dans un volume final de 10 µl qui comprend 1 µl d'ADN, 1 µl du mix d'amorce réalisé, 5 µl du master mix et 3 µl de H<sub>2</sub>O tous les deux fournis dans le Kit. La PCR inclut une étape d'activation de l'enzyme à 95° pendant 15 minutes, 40 cycles de l'étape d'amplification comprenant une étape de dénaturation de l'enzyme à 94°C pendant 30 secondes, une étape d'hybridation des amorces à 51°C pour le M1 et 63°C pour le M2 pendant 90 secondes et une étape d'élongation à 72°C pendant 1 minute; enfin une étape supplémentaire à 60°C qui dure 30 minutes pour parachever les élongations incomplètes. On obtient un produit PCR dans lequel plusieurs microsatellites ont été amplifiés. Le produit de cette PCR est ensuite analysé au séquenceur comme dans le cas d'une analyse simplex. L'analyse est de meilleure qualité car le kit Qiagen multiplex utilise une Taq de bien meilleure qualité que celle utilisée dans les deux méthodes précédentes. On arrive à s'affranchir beaucoup mieux

des problèmes liés aux stutters (bégaiement), de faux pics situés avant le pic principal de l'allèle et très récurrents dans les analyses microsatellites (Figure I-1-3). On gagne qualitativement, temporellement et financièrement par rapport aux deux méthodes précédentes. En effet, le coût par locus et par individu est de 0,90 € en poolplex et de 0,42 € en multiplex. C'est cette dernière méthode qui a été utilisée dans la majorité de nos analyses.

### *E. Le séquençage*

Le séquençage permet de déterminer la succession des bases au sein d'une séquence nucléotidique donnée. Afin de déterminer avec précision la taille des allèles, nous avons séquencé tous nos allèles microsatellites chez GATC Biotech. Les résultats ont été confrontés aux résultats de l'analyse génétique effectuée sur Beckman Coulter (version 8.0). Les microsatellites sont amplifiés individuellement par PCR et les produits PCR ainsi obtenus ont servi de matrice pour le séquençage. Ils ont été purifiés à l'aide d'un kit de purification (Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System) en suivant le protocole établi par le fournisseur. La réaction de polymérisation se fait grâce à une ADN polymérase (la séquénase) à partir des amorces oligonucléotidiques de la séquence à analyser, ainsi que grâce aux quatre désoxyribonucléotides (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) et grâce à une faible concentration des quatre 2'-3'didésoxyribonucléotides (ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP) marqués par des fluorochromes différents. Une fois incorporés à la nouvelle chaîne synthétisée, les didésoxyribonucléotides empêchent la poursuite de l'élongation. Il en résulte des fragments d'ADN de tailles variables, qui sont ensuite séparés par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide. Tous les fragments ainsi générés ont été analysés et alignés sur SEQUENCER version 4.5 afin de valider l'enchaînement nucléotidique (Figure I-1-4).

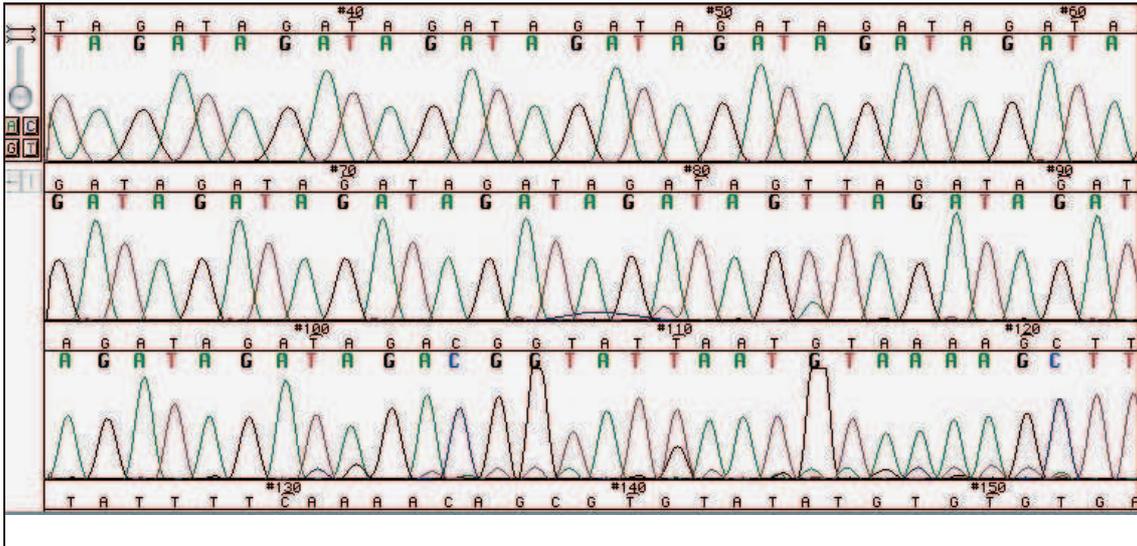


Figure I-1-4: Chromatogramme d'une portion de séquence microsatellite montrant la succession des bases A (vert), C (bleu), T(rouge) et G (noir).



*Chapitre 2:*

***ANALYSE DES DONNEES***



## I. Analyse des données de traits d’histoire de vie

Les analyses statistiques ont été entreprises grâce à des tests paramétriques et non-paramétriques effectués à l’aide de différents logiciels de statistique qui seront nommés pour chacun des tests utilisés. Un test statistique permet de trancher entre deux hypothèses: l’hypothèse nulle dite  $H_0$  (pas de différence statistiquement significative) et l’hypothèse alternative  $H_1$  (présence d’une différence statistiquement significative). Le niveau de signification statistique d’un résultat nous informe sur le degré de « véracité » du résultat représentant la population. Il permet de définir la condition de rejet de l’hypothèse  $H_0$ . Le plus souvent, les logiciels de statistique donnent directement le niveau réel de signification ou  $p$ -valeur. La règle de décision basée sur la  $p$ -valeur est la suivante:

- ✓ Si la  $p$ -valeur  $\leq 0,05$ , l’hypothèse  $H_0$  au seuil habituel  $\alpha$  de 0,05 est rejetée et l’hypothèse alternative  $H_1$  est retenue (présence d’une différence significative).
- ✓ Si la  $p$ -valeur  $> 0,05$ , l’hypothèse  $H_0$  est retenue et l’hypothèse alternative  $H_1$  est rejetée (pas de différence significative).

Les tests utilisés (Tableau I-2-1) sont brièvement décrits dans leur principe de base (sans faire appel à la  $p$ -valeur) et peuvent être consultés dans différents manuels de statistique (Broom 1979; Elliott 1983; Saporta 1990 et Zar 1996).

Tableau I-2-1: Tests statistiques paramétriques et non-paramétriques ainsi que les logiciels utilisés pour chacun de ces tests.

Test statistique utilisé	Statistique du test	Logiciel utilisé
Student	$t$	
Analyse univariée de la variance	$F$	
Test F d’analyse de la variance		
Mann-Whitney	$U$	StatView 5
Kruskal-Wallis	$H$	
Logrank	$X$	
Régression linéaire	$r$	
ANOVA	$F$	
Test post-hoc de Tukey	$Q$	
Fisher’s Exact test	$P$	GraphPad InStat 3
Test post-hoc de Dunn		
Khi-deux	$\chi^2$	
Test de comparaison des pentes	$T$	GraphPad Prism 4
Autocorrélation	$Période$	SPSS 10.05
ACP		R 2.4

### ***A. Test de Student***

Le test de Student permet de comparer les moyennes de deux échantillons gaussiens. En effet, seules les distributions suivant une loi normale peuvent faire l'objet de ce test. Le test de Student est relativement robuste et toute distorsion modérée avec la loi normale et avec l'hypothèse d'homogénéité des variances est acceptable.

### ***B. Analyse univariée de la variance***

L'analyse univariée de la variance est un test qui permet de vérifier si la variance d'un groupe de données est significativement différente de zéro. Ce test est utilisable pour un seul groupe de données. Le logiciel StatView permet de calculer directement la  $p$ -value pour laquelle l'hypothèse d'une variance nulle est rejetée ou acceptée.

### ***C. Test F d'égalité des variances***

Le test F d'égalité des variances permet de comparer les variances de deux échantillons. Le logiciel StatView permet de calculer directement la  $p$ -value pour laquelle l'hypothèse d'une variance nulle est rejetée ou acceptée.

### ***D. Analyse de variance (ANOVA)***

L'ANOVA a pour objectif de tester l'hypothèse nulle selon laquelle plusieurs échantillons sont issus d'une même population. Le type d'ANOVA utilisé est le type I ("effets fixes"): les traitements sont déterminés par l'expérimentateur. Seuls des échantillons suivant une loi normale peuvent faire l'objet d'une ANOVA. Pour vérifier que la distribution d'un échantillon suit une loi normale, il est possible d'utiliser, dans StatView, le test descriptif d'aplatissement et d'asymétrie. On considère que l'échantillon suit une loi normale à 95 % lorsque la valeur de son aplatissement est comprise entre -2 et +2. Le test ANOVA peut être perçu comme une extension du test de Student à plus de deux échantillons.

### ***E. Post-hoc test de Tukey***

Le post-hoc test de Tukey est un test qui se fait à la suite d'une ANOVA lorsque les différences observées ont été trouvées significatives. Il compare, comme un test de Student, les moyennes entre chaque paire d'échantillons parmi k échantillons testés avec l'ANOVA pour voir quelles sont les paires de groupes pour lesquelles les différences sont significatives. Le post-hoc test de Tukey calcule la statistique Q pour toutes les paires de moyennes et la ddl (degré de liberté qui est égal à k-1) :

$$Q = \frac{\bar{x}_i - \bar{x}_j}{E}$$

Où  $\bar{x}_i > \bar{x}_j$  avec  $\bar{x}_i$  et  $\bar{x}_j$  les moyennes des échantillons  $i$  et  $j$ ,  $E$  est l'erreur standard des données en question.

Si  $Q_{\text{calculée}} > Q_{\text{théorique}}$  au seuil significatif de 5%, on conclut à une différence significative entre les deux échantillons constituant la paire de données testées.

### ***F. Test de Mann-Whitney***

Le test de Mann-Whitney est un test non-paramétrique d'identité qui permet de comparer les moyennes de deux échantillons indépendants sous l'hypothèse nulle selon laquelle les deux échantillons appartiennent à la même population. Comme tous les tests non-paramétriques, il n'utilise pas les valeurs observées, mais leurs rangs une fois ces valeurs réunies en un seul échantillon pour calculer la statistique U.

### ***G. Test de Kruskal-Wallis***

Le test de Kruskal-Wallis est un test non-paramétrique qui permet de comparer les moyennes de plusieurs échantillons. Ce test se base sur l'utilisation des rangs des données en les rassemblant en un seul échantillon pour déterminer la statistique H. Le test de Kruskal-Wallis peut être perçu comme une extension du test de Mann-Whitney à plus de deux échantillons. Il est équivalent à l'ANOVA lorsque les conditions de normalité des données et l'homogénéité des variances entre groupes ne sont pas respectées.

## ***H. Post-hoc test de Dunn***

Le post-hoc test de Dunn est un test qui se fait à la suite du test de Kruskal-Wallis lorsque ce dernier est significatif. Il calcule la  $p$ -valeur pour chaque paire d'échantillons parmi les  $k$  échantillons testés ensemble avec le test de Kruskal-Wallis. Le post-hoc test de Dunn est un test de rang comme le Mann-Whitney. Il compare la différence de la somme des rangs observés à celle attendue sous l'hypothèse nulle selon laquelle les échantillons ont la même distribution.

## ***I. Fisher's Exact test***

Le Fisher's Exact test est utilisé dans l'analyse des tables de contingence (2 x 2) lorsque les conditions de réalisation du test du  $\chi^2$  ne sont pas réunies, à savoir, la petite taille des échantillons et la grande différence entre les valeurs des cellules de la table ( $>1000$  et  $<5$ ). Il est très utile pour les données binaires: pigmentés/albinos, parasités/sains, morts/vivants, traités/non-traités, etc. Le test a pour objectif de vérifier si la différence entre les données observées et les données attendues est significative.

## ***J. Test du Khi-deux***

Le test du Khi-deux utilisé est le test d'indépendance des variables en faisant la comparaison de deux ou de plusieurs proportions sous l'hypothèse nulle selon laquelle elles sont identiques. La statistique  $\chi^2$  est calculée à partir des données observées et des données attendues ou théoriques:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^m \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Elle est ensuite comparée à la valeur de référence sur la table du  $\chi^2$  en fonction du ddl (nombre de lignes-1 x nombre de colonnes-1) et du seuil de significativité habituel de 0,05 pour déterminer si l'hypothèse nulle est maintenue ( $\chi^2$  calculé  $<$   $\chi^2$  de la table) ou rejetée ( $\chi^2$  calculé  $>$   $\chi^2$  de la table). Le test du Khi-deux peut être perçu comme une

extension du Fisher's Exact test appliqué à des matrices (n x n') avec des échantillons de grande taille.

### ***K. Test de Logrank***

Le test du Logrank (aussi appelé Mantel-Cox test) est un test non-paramétrique qui permet de comparer les distributions de survie de k échantillons. Il compare le nombre d'événements observés au nombre d'événements attendus sous l'hypothèse nulle d'égalité des fonctions de survie des individus au sein de chaque échantillon. La statistique du Logrank X suit la loi du  $\chi^2$  à k-1 ddl. Si la statistique X est supérieure à la valeur critique de la table du  $\chi^2$  à k-1 ddl et au seuil habituel de 0,05, l'hypothèse nulle d'égalité des survies est rejetée.

### ***L. Régression linéaire***

La régression linéaire est une approche modélisatrice qui décrit le lien linéaire entre deux variables x et y en donnant l'équation de la droite  $y = ax + b$  ('a' coefficient directeur de la droite ou pente). La droite passe au plus près des points et le coefficient de corrélation  $r$  ( $-1 \leq r \leq 1$ ) décrit l'intensité du lien linéaire (position des points sur la droite). Si  $r = 1$  ou  $r = -1$ , la corrélation est parfaite et tous les points se situent sur la droite avec y qui augmente lorsque x augmente pour le premier cas et y qui diminue lorsque x augmente pour le deuxième cas. Si  $r = 0$ , il n'y a pas de relation linéaire entre les deux variables. Une p-valeur détermine la significativité du r.

### ***M. Test de comparaison des pentes***

La comparaison des droites de régression deux à deux a été réalisée sur les pentes (a). La comparaison se fait par le test de Student et les deux statistiques 't' calculées suivent une loi de Student à  $(n_1 + n_2 - 4)$  ddl. Si la valeur de t est située dans l'intervalle de confiance donné par la table, on conclut qu'il n'y a pas de différence significative entre les pentes et/ou entre les ordonnées à l'origine des deux régressions.

Les comparaisons ci-dessus ne peuvent se faire que si les variances résiduelles des deux séries ne sont pas significativement différentes entre elles (donc homogènes). Le test de Snédécour permet cette vérification par le calcul du  $F = (\text{variance des résidus la plus forte})/(\text{variance des résidus la plus faible})$ . La statistique  $F$  est comparée à celle de la table de Fisher Snédécour au seuil habituel de 0,05. Si  $F_{\text{test}} < F_{\text{table}}$ , les variances sont homogènes.

## ***N. Autocorrélation***

L'autocorrélation est un outil mathématique, connu sous le nom de *modèle de Box-Jenkins*, qui permet de détecter des profils répétés (rythmes) lors de l'analyse d'une série temporelle (Broom 1979). C'est une corrélation établie entre une série temporelle  $X$  et la même série, appelée cette fois  $Y$ , après introduction d'un décalage de 1, 2, 3,  $n$  unités temporelles. Pour chaque décalage, on calcule le coefficient de corrélation compris entre -1 et +1. L'ensemble des valeurs de  $r$  permet d'établir un corrélogramme qui met en évidence les rythmes recherchés.

$$r = \frac{\sum(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sum(x - \bar{x})^2 \sum(y - \bar{y})^2}$$

L'autocorrélation est significative lorsque les coefficients d'autocorrélation sont périodiquement distribués, c'est-à-dire lorsque l'on peut retrouver des valeurs de coefficient d'autocorrélation positives ou négatives après un intervalle de temps identique (périodicité). L'analyse de l'autocorrélation se fait sur SPSS pour Windows dans l'onglet Graphe: Série chronologique. Le nombre de décalages idéal qui permet de retranscrire une information cohérente correspond au nombre de données (nombre de jours de production cercarienne) dont on veut vérifier la rythmicité. La méthode de l'Ecart-Standard utilisée est celle du modèle d'indépendance.

## ***O. Analyse en Composantes Principales (ACP)***

L'ACP est une procédure mathématique descriptive multidimensionnelle qui ne s'appuie pas sur un modèle probabiliste mais plutôt sur un modèle géométrique. A partir d'un ensemble de données consignées dans un tableau (matrice) où chaque colonne

représente une variable et les lignes les individus, l'ACP propose de décrire cette variabilité sous forme d'une représentation géométrique réduite seulement à 2 ou 3 dimensions (dites composantes principales). En effet, il y a autant d'axes que de variables (colonnes) ce qui rend la représentation géométrique impossible à visualiser. Le choix des principaux axes repose sur le principe de maximisation de la dispersion (ou inertie) des points. Ainsi, le premier axe apporte le plus possible de dispersion totale du nuage de points, le deuxième axe le plus possible de dispersion non prise en compte par le premier axe, et ainsi de suite. Le taux de dispersion de chaque axe s'exprime en pourcentage. Deux graphes peuvent être proposés: le graphe de projection des individus qui seront plus ou moins distants les uns des autres et le cercle des corrélations des variables où chaque variable est représentée par un point dans un cercle de rayon 1. Dans ce dernier cas, les variables bien représentées sont celles qui sont proches du cercle contrairement à celles qui sont proches de l'origine.

Une telle représentation est susceptible de révéler des corrélations, non évidentes à priori, entre certaines variables.

## **II. Les analyses génétiques**

Les analyses génétiques ont été réalisées à l'aide de différents logiciels. La transformation des formats de fichiers d'analyse s'est faite grâce au logiciel CREATE 1.0 (Coombs *et al.* 2007).

Tableau I-2-2: Paramètres d'analyse génétique des populations de *B. pfeifferi* et les différents logiciels qui ont été utilisés. v.: version.

Analyse	Paramètre utilisé	Logiciel utilisé
Diversité	✓ Diversité génétique	Formulation de Nei ( <i>GENETIX</i> v. 4.05.2.)
	✓ Déséquilibre de liaison	<i>Fstat</i> version 2.9.3.2. (Goudet 1995; 2001)
	✓ Comparaison des indices	
	✓ Indice de fixation $F_{IS}$	( <i>GENETIX</i> v. 4.05.2.)
	✓ Significativité du $F_{IS}$	
	✓ Taux d'autofécondation	Formulation de Crow & Kimura (1970)
	✓ Effectif efficace	MCLEEPS (Anderson <i>et al.</i> 2000)
✓ Goulot d'étranglement	BOTTLENECK (Cornuet & Luikart 1996)	
Différenciation	✓ Indice de fixation $F_{ST}$	GENETIX v. 4.05.2
	✓ Significativité du $F_{ST}$	
	✓ Analyse des correspondances	AFC: GENETIX v. 4.05.2 (Belkhir <i>et al.</i> 2004)
	✓ AMOVA	ACP: PCA-GEN. v. 1.2 (Goudet 1999)
	✓ Dendrogramme	Arlequin v. 3.1 (Excoffier <i>et al.</i> 2005)
	✓ Distances génétiques	Phylip v. 3.68
	✓ Temps de divergence	GENETIX v. 4.05.2
	✓ Taux de migration	Formulation de Nei (1976)
	✓ Taux de migration	BayeAss (Wilson & Rannala 2003)
	✓ Le test de Mantel	GENETIX v. 4.05.2

## A. Analyses de la diversité génétique

### 1. Paramètres de la diversité génétique

La diversité génétique ou polymorphisme des populations a été mesurée grâce aux paramètres suivants: les fréquences alléliques, le nombre de loci polymorphes, le nombre moyen d'allèles par locus, l'hétérozygotie observée  $H_o$  et l'hétérozygotie attendue  $H_e$ .

L'hétérozygotie observée ( $H_o$ ) est la moyenne des fréquences des hétérozygotes observées à chacun des loci étudiés.  $H_o = \frac{1}{N} \sum H_A$  (N: nombre de tous les loci étudiés;  $H_A$ : hétérozygotie au locus A).

L'hétérozygotie attendue ( $H_e$ ) est l'hétérozygotie théorique attendue par les prédictions de Hardy-Weinberg. Nous avons utilisé la formulation de Nei (1987) sans biais proposée dans le logiciel GENETIX 4.05.2 (Belkhir *et al.* 2004).

Formule avec biais d'échantillonnage

$$H_{eA} = \frac{N}{N-1} \left\{ 1 - \sum_{n=1}^k f_k^2 \right\}$$

Formule sans biais d'échantillonnage

$$H_{eA} = 1 - \sum_{n=1}^k f_k^2$$

$f_k$ : fréquence de l'allèle k au locus A; N: nombre d'individus échantillonnés; n: nombre d'allèles au locus étudié

La moyenne des fréquences des hétérozygotes attendues  $H_e$ , estimée pour tous les marqueurs microsatellites, est donnée par la formule:  $H_e = 1/N \sum H_{eA}$ . La comparaison des indices de diversité génétique a été réalisée à l'aide du logiciel Fstat version 2.9.3.2 (Goudet 1995; 2001) en utilisant le nombre maximum de permutations (15000).

## 2. L'indice de fixation $F_{IS}$

### a) Description

Le  $F_{IS}$ , appelé également coefficient de consanguinité, représente la probabilité pour que deux allèles d'un locus donné soient identiques par descendance (provenant d'un ancêtre commun aux parents). Il mesure le déficit en hétérozygotes par rapport à la valeur attendue sous l'hypothèse de Hardy-Weinberg (panmixie):

$$F_{IS} = \frac{H_e - H_o}{H_e} \qquad F_{IS} = 1 - \frac{H_o}{H_e}$$

$H_e$ : hétérozygotie attendue et  $H_o$ : hétérozygotie observée

Si l'hétérozygotie attendue est égale à la l'hétérozygotie observée, on aura  $F_{IS}=0$ , ce qui traduit une situation de l'équilibre de Hardy-Weinberg.

Si l'hétérozygotie observée est inférieure à l'hétérozygotie attendue, on aura  $F_{IS}>0$ , ce qui traduit un déficit en hétérozygotes. Ce dernier peut avoir 3 causes potentielles: (i) une reproduction entre individus apparentés, dont la forme extrême est l'autofécondation, ou une reproduction par certaines parthénogénèses, dans ce cas une majorité voire l'ensemble des loci sont affectés par le déficit en hétérozygotes, (ii) des allèles nuls; c'est ici un problème technique qui ne permet pas l'amplification de certains allèles augmentant alors la proportion d'individus considérés homozygotes et (iii) l'existence de groupes génétiquement différents au sein de la population échantillonnée et ne participant pas au même événement de reproduction; même si les groupes sont à l'équilibre de Hardy-Weinberg, l'hétérozygotie globale observée est inférieure à l'hétérozygotie attendue à l'échelle de la population (effet Wahlund). Dans ce cas, le déficit en hétérozygotes n'est visible qu'à un nombre limité de loci, (iv)...

Si l'hétérozygotie observée est supérieure à l'hétérozygotie attendue, on aura  $F_{IS}<0$ , ce qui traduit un excès en hétérozygotes.

L'estimation du  $F_{IS}$  a été réalisée à l'aide du logiciel GENETIX version 4.05.2 (Belkhir *et al.* 2004) selon la formulation de Weir & Cockerham (1984).

### **b) Test de significativité du $F_{IS}$**

Le test de significativité des paramètres  $F_{IS}$  a été mené grâce aux tests de ré-échantillonnage de type permutation proposés dans le logiciel GENETIX version 4.05.2 (Belkhir *et al.* 2004). Il consiste à effectuer, dans les conditions de l'hypothèse nulle (indépendance des loci et panmixie), des permutations des allèles entre individus d'une même population puis à comparer la nouvelle distribution simulée à la distribution réelle. On estime le pourcentage de valeurs supérieures, inférieures et égales à la valeur réelle observée sous l'hypothèse nulle. Aussi, si 95% des valeurs de  $F_{IS}$  obtenues par permutations sont strictement inférieures à la valeur observée alors l'hypothèse nulle est rejetée au seuil de 5% et notre valeur observée est considérée comme significativement différente de 0.

Ce type de procédure permet d'éviter les erreurs couramment rencontrées (Wigginton *et al.* 2005) en utilisant les analyses de *Khi-deux* proposées par Brown (1970) pour la significativité du  $F_{IS}$ .

## **3. Taux d'autofécondation**

L'autofécondation, par opposition à l'allofécondation, est un système de reproduction par lequel un individu hermaphrodite va se reproduire en utilisant exclusivement ses propres gamètes. La valeur moyenne des  $F_{IS}$  a été utilisée pour estimer le taux d'autofécondation ( $s$ ) à partir de la formule de Crow & Kimura (1970).

$$F_{IS} = \frac{s}{2 - s} \qquad s = \frac{2F_{IS}}{1 + F_{IS}}$$

Cette relation suppose que l'autofécondation est seule responsable des fréquences observées par rapport aux fréquences attendues de Hardy-Weinberg.

#### 4. Déséquilibre de liaison

Le déséquilibre de liaison traduit une association non aléatoire d'allèles appartenant à deux ou plusieurs loci. En effet, certaines combinaisons d'allèles (haplotypes) observées se produisent plus fréquemment que dans la situation des prédictions attendues de l'équilibre d'Hardy-Weinberg.

Pour deux loci 1 et 2 (locus 1 avec les allèles A et a aux fréquences  $p_A$  et  $p_a$ , locus 2 avec les allèles B et b aux fréquences  $p_B$  et  $p_b$ ), on aura 4 couples d'allèles possibles entre les deux loci, soit 4 coefficients de déséquilibre de liaison « d » (Cockerham & Weir 1977):

$$d = p_{AB} - p_A \times p_B$$

$p_{AB}$  est la fréquence de AB  
Cas impliquant les allèles A et B

Le déséquilibre de liaison D entre les deux loci est la moyenne pondérée des quatre « d ». La significativité a été testée en utilisant le logiciel Fstat (version 2.9.3.2 (Goudet 1995; 2001)) qui calcule les  $p$ -valeurs des paires de loci comparés. Les résultats des comparaisons ont été donnés en tenant compte du seuil de significativité de 0,05 et en tenant compte des corrections de Bonferroni (Rice 1989) qui ajuste le seuil de significativité en fonction du nombre total de paires de loci comparés (nombre de tests/seuil de significativité de 0,05).

#### 5. Effectif efficace

L'effectif efficace d'une population ( $N_e$ ) ou taille efficace (qui repose sur le nombre de reproducteurs et non sur la taille de la population) est l'effectif d'une population idéale (au sens de Wright-Fisher) pour laquelle la dérive génétique serait la même que dans la population analysée (mêmes fluctuations au hasard des fréquences alléliques à chaque génération). L'effectif efficace peut être estimé de différentes manières selon l'effet de la dérive génétique. Nous avons choisi la variance du changement des fréquences alléliques de différentes générations d'une même population en utilisant le logiciel MCLEEPS (Anderson *et al.* 2000).

$$N_e = \frac{p(t)[1 - p(t)]}{2V[p(t+1)|p(t)]}$$

Un locus à 2 allèles A et a, où la fréquence de l'allèle A est  $p(t)$  dans une population diploïde de taille  $N$ . Suivant le modèle de Wright-Fisher, la variance de la fréquence allélique  $V[p(t+1)]$  à la génération suivante est donnée par la variance binomiale.

Brièvement, le modèle estime, pour des données multiloci, la taille efficace pour laquelle les variations alléliques observées sont les plus probables. Cette méthode nécessite de connaître le temps de génération et le plan d'échantillonnage des individus. Nous avons testé une gamme de valeurs de l'effectif efficace comprise entre 5 et 500. En ce qui concerne le temps de génération, nos données de laboratoire nous ont permis de l'estimer à 3 mois chez *B. pfeifferi* d'Oman.

## 6. Détection d'un goulot d'étranglement

Les populations naturelles sont souvent soumises à des variations drastiques de leurs effectifs intervenant dans la reproduction; ces phénomènes sont appelés goulots d'étranglement démographiques (en anglais *Population Bottlenecks*).

Dans une population de taille constante, pour un locus neutre, le nombre d'allèles, ainsi que leur fréquence de distribution, dépendent de l'équilibre entre la dérive (taille efficace) et la mutation. Ainsi à l'équilibre, l'hétérozygotie est donnée par :

$$4N_e\mu / (4N_e\mu + 1)$$

$N_e$  représente la taille efficace et  $\mu$  le taux de mutation (Kimura 1968)

Dans une population ayant subi un goulot d'étranglement entraînant une réduction de la taille efficace, on s'attend à une réduction corrélative entre la diversité allélique et l'hétérozygotie. Cependant, Nei *et al.* (1975) montrent qu'au cours d'un effet fondateur, la diversité allélique diminue plus vite que l'hétérozygotie. Ainsi dans une population ayant subi un goulot d'étranglement, l'hétérozygotie attendue à partir des fréquences alléliques observées est transitoirement supérieure à celle attendue dans le cas d'un équilibre entre la dérive et la mutation pour le nombre d'allèles observés dans la population (Cornuet & Luikart 1996). Inversement, les populations en expansion sont caractérisées par un déficit en hétérozygotie par rapport aux attendus (Maruyama & Fuerst 1985).

Les traces d'un goulot d'étranglement démographique récent ont été vérifiées à l'aide du logiciel BOTTLENECK (Cornuet & Luikart 1996). Parmi les trois tests proposés dans le logiciel, nous avons utilisé le test de rang de Wilcoxon pour vérifier si un déficit ou un excès d'hétérozygotie significatif existe au seuil 5%. Ce test est

d'autant plus robuste que le nombre de loci polymorphes et le nombre d'individus est important.

Les modèles mutationnels choisis sont le modèle IAM (Infinite Allele Model) et le modèle SMM (Stepwise Mutation Model) qui sont les deux grands modèles de références. Le logiciel ne fonctionne qu'à partir de quatre loci polymorphes (Piry *et al.* 1999). En effet, la variabilité des microsatellites est liée à leur taux de mutation élevé. Le mécanisme provient d'erreurs de réplication des enzymes de type polymérase qui glissent sur ces zones, entraînant une augmentation ou une diminution du nombre de motifs.

## **B. Analyse de la différenciation génétique**

### **1. L'indice de Fixation $F_{ST}$**

#### **a) Description**

L'indice de fixation  $F_{ST}$  (Weir & Cockerham 1984) a été calculé à partir des fréquences alléliques obtenues sur les données microsatellites à l'aide du programme GENETIX version 4.05.2 (Belkhir *et al.* 2004). Le  $F_{ST}$  exprime la différenciation génétique des populations (degré d'isolement) à partir de la différence de leurs fréquences alléliques moyennes.

$$F_{ST} = 1 - \frac{H}{2PQ} = \frac{Var(p)}{QP} = \sum_1^n \frac{(p_i - p_{bar})^2}{n} \times \frac{1}{PQ}$$

*P* et *Q* sont les fréquences alléliques sur l'ensemble des populations et *p* est la fréquence allélique dans une population.

Si  $Var(p)=0$ ,  $F_{ST} =0$ , toutes les populations sont à l'équilibre et constituent en réalité une seule population.

Si  $Var(p) \neq 0$ , le  $F_{ST} > 0$ , les populations sont différenciées en raison de l'Effet Wahlund (le fait de mélanger deux populations différenciées), de la dérive ou de l'absence de flux de gène (migration).

#### **b) Test de significativité**

Nous avons testé la significativité des paramètres  $F_{ST}$  grâce aux tests de ré-échantillonnage de type permutation proposés dans le logiciel GENETIX version 4.05.2 (Belkhir *et al.* 2004). Le test consiste à effectuer, dans les conditions de l'hypothèse

nulle (panmixie: absence de différenciation), des permutations des individus entre les populations puis à comparer la nouvelle distribution simulée à la distribution réelle.

Comme pour le  $F_{IS}$ , on compare la valeur du  $F_{ST}$  obtenue sur les données réelles aux valeurs du  $F_{ST}$  obtenues après permutations. On estime le pourcentage de valeurs supérieures, inférieures et égales à la valeur observée sous l'hypothèse nulle. Aussi, si 95% des valeurs de  $F_{ST}$  obtenues par permutations sont strictement inférieures à la valeur observée, alors l'hypothèse nulle est rejetée au seuil de 5% et notre valeur observée est considérée comme significativement différente de 0.

## **2. Analyses des correspondances (ACP & AFC)**

Les analyses des correspondances permettent de visualiser graphiquement la différenciation génétique entre les populations. Elles décrivent la correspondance entre plusieurs variables qualitatives. Les individus sont vus comme un nuage de points dans un hyper-volume dont le nombre de dimensions correspond au nombre d'allèles sur les différents loci. L'algorithme cherche les directions (les axes factoriels) qui décrivent au mieux l'organisation des individus. Par convention, le premier axe sera celui qui décrit le mieux la position des individus, celui qui participe le plus à l'inertie totale. L'ACP peut être réalisé avec le logiciel PCA-GEN version 1.2 (Goudet 1999) et l'AFC avec le logiciel GENETIX version 4.05.2 (Belkhir *et al.* 2004).

## **3. Dendrogramme**

Le dendrogramme des relations entre les populations a été construit à l'aide du programme *Fitch* du logiciel Phylip version 3.68 (Felsenstein 2008) à partir des distances génétiques entre les populations. Nous avons utilisé la distance génétique de Nei (1978) qui est conseillée lorsque l'on a un modèle de mutation neutre comme dans le cas des microsatellites. La robustesse des branches est indiquée par les valeurs de bootstrap calculées avec les programmes *Fitch* et *Seqboot* du logiciel Phylip.

Les valeurs de bootstrap sont obtenues de la façon suivante: les données des fréquences alléliques sont permutées à l'aide de 100 permutations entre les populations dans le programme *Seqboot*. Le fichier généré sert de matrice pour construire les

distances génétiques à l'aide du programme *Gendist* du logiciel Phylip. Le fichier des distances issu de cette analyse sert de matrice pour construire un arbre intermédiaire avec le fichier *Fitch*. Le fichier de sortie issu de *Fitch* est utilisé pour générer l'arbre consensus à l'aide du programme *Consens*, sur lequel sont indiquées les valeurs de bootstrap.

#### **4. L'AMOVA (Analyse of MOlecular VAriance)**

L'AMOVA, acronyme anglais de l'analyse de la variance moléculaire, estime les indices de structure génétique en utilisant les fréquences alléliques. Plusieurs composantes sont impliquées dans la différenciation ou la variance globale des populations, à savoir: une différenciation entre les groupes de populations ( $F_{CT}$ ), une différenciation entre populations au sein des groupes ( $F_{SC}$ ) et une différenciation entre les populations ( $F_{ST}$ ). Les différences de fréquences alléliques entre populations sont traitées comme une matrice de distance euclidienne. La significativité des composantes de la variance associée aux différents niveaux de structure génétique est testée avec des procédures de permutation non paramétriques (Excoffier *et al.* 1992). Le type de permutation est différent pour chaque composante de la variance. Cette analyse a été réalisée à l'aide du logiciel Arlequin version 3.1 (Excoffier *et al.* 2005).

#### **5. Les distances génétiques**

Une distance génétique exprime le taux de divergence entre deux unités taxonomiques proches (espèces, populations, échantillons, individus). Les distances génétiques utilisées dans ce travail sont calculées à partir des fréquences alléliques et ont pour but, comme le  $F_{ST}$ , d'estimer la divergence génétique entre les populations. Il existe de nombreuses façons différentes de calculer les distances génétiques avec des estimateurs variés construits selon les différents modèles d'évolution et de différenciation entre unités taxonomiques. Nous avons utilisé la distance génétique standard  $D$  de Nei (1972) sans biais (Nei 1978) que l'on calcule à partir des fréquences alléliques. Elle définit au préalable l'identité normalisée  $I$  chez deux populations X et Y diploïdes et panmictiques avec une ségrégation des allèles  $i$  de fréquences  $x_i$  (pour la

population X) et  $y_i$  (pour la population Y) à chaque locus, sans sélection (mutations neutres et dérive).

$$I = \frac{\sum(x_i * y_i)}{\sqrt{\sum x_i^2 * \sum y_i^2}} \quad D = -\ln(I)$$

Distance génétique standard de Nei

## 6. Estimation du temps de divergence

Une approximation du temps de divergence entre les populations a été estimée à partir de l'équation de Nei (1976):

$$D=2vt$$

D: distance génétique de Nei (1972)  
t: temps de divergence (en générations)  
v: taux de mutation des marqueurs microsatellites

Aucune valeur précise du taux de mutation des loci microsatellites chez *B. pfeifferi* n'étant connue, nous avons considéré l'intervalle [0,00001-0,011] annoncé par Jarne & Lagoda (1996) pour un locus microsatellite.

## 7. Taux de migration

La structure spatiale de la diversité génétique des populations est influencée par les forces évolutives élémentaires dont la migration. Nous avons testé la présence d'éventuelles migrations des individus entre les échantillons en utilisant le logiciel BayeAss (Wilson & Rannala 2003). Brièvement, la méthode utilisée consiste à calculer les taux de migration ( $m=m_{lq}$ ) entre les populations où  $m_{lq}$  représente la fraction d'individus dans une population  $q$  qui soit issue d'une population  $l$ . Le paramètre  $m$  est estimé numériquement sous forme d'une distribution de probabilité par la méthode MCMC (Markov Chain Monte Carlo). Cette méthode ne requiert pas que les génotypes soient en équilibre d'Hardy-Weinberg.

## 8. Isolement par la distance: le test de Mantel

Le test de Mantel est un test non paramétrique qui permet de déterminer s'il existe une corrélation entre deux matrices de distance: une distance génétique et une distance

géographique. L'hypothèse nulle est l'indépendance des deux matrices. Le test calcule les valeurs du paramètre d'association  $Z$  (coefficient de Mantel) et du coefficient de corrélation de Pearson ( $r$ ) entre les deux matrices de distance. Les valeurs de  $Z$  et  $r$  obtenues sur les données réelles sont ensuite comparées à celles obtenues après permutation de l'ordre des populations dans l'une des deux matrices. On calcule la valeur  $p$  de la probabilité de rejeter ou accepter l'hypothèse nulle:  $p$  est égale au nombre de valeurs de  $Z$  obtenues après permutations supérieures ou égales à la valeur de  $Z$  réelle plus 1 divisé par le nombre de permutations plus 1. Ce test a été réalisé à l'aide du logiciel GENETIX version 4.05.2 (Belkhir *et al.* 2004). Un graphe de la relation entre les deux matrices peut être réalisée à partir de la relation linéaire qui existe entre le logarithme de  $F_{ST} / (1 - F_{ST})$  et le logarithme de la distance géographique (Rousset 1997).



***DEUXIEME PARTIE:***  
***GENETIQUE DES POPULATIONS DE B. PFEIFFERI***  
***DU DHOFAR EN OMAN***



## Introduction

*Biomphalaria pfeifferi* est un mollusque gastéropode d'eau douce à coquille de forme discoïde. Il a été décrit pour la première fois par Krauss en 1848 et appartient au phylum Mollusca, classe Gastropoda, ordre Pulmonata, sous-ordre Basommatophora, super-famille Lymnaeoidea et famille Planorbidae. Comme de nombreuses espèces de mollusques d'eau douce, *B. pfeifferi* est hermaphrodite. Il a pratiqué essentiellement l'autofécondation (Jelnes 1980; Charbonnel *et al.* 2002a).

Cette espèce est largement distribuée en Afrique, principalement dans la région tropicale, à Madagascar et au Sud-ouest de la péninsule arabique (Figure II-1). Des études phylogéographiques suggèrent une origine sud-américaine de toutes les espèces du genre *Biomphalaria*; un ancêtre de *B. glabrata* aurait colonisé l'Afrique pendant le Plio-Pleistocène (2,5 à 1,5 Ma) et aurait donné naissance aux différentes espèces africaines dont *B. pfeifferi* (Woodruff & Mulvey 1997; Campbell *et al.* 2000; Dejong *et al.* 2001). L'ancêtre commun le plus récent de *B. pfeifferi* est estimé avoir existé il y a 880 000 ans et l'expansion est-africaine de cette espèce aurait eu lieu il y a moins de 100 000 ans (Dejong *et al.* 2003). Dans la péninsule arabique, cette espèce était autrefois appelée *B. arabica* (Brown 1994) mais les travaux de Dejong *et al.* (2003) ont montré qu'il s'agissait de *B. pfeifferi* et que les populations de la péninsule arabique se situent dans le groupe des populations nord-est et est-africaines (Figure II-1). *B. pfeifferi* est présent en Arabie Saoudite (Arfaa 1976), au Yémen (Hazza *et al.* 1983) et au Sultanat d'Oman (Wright & Brown 1980; Brown & Gallagher 1985) où il est exclusivement présent dans la région du Dhofar dans différents types de cours d'eau et à différentes altitudes (Moné *et al.* 2003).

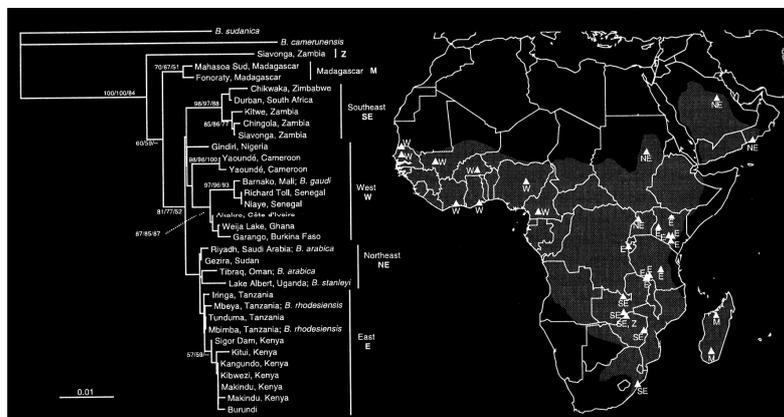


Figure II-1: Phylogénie et distribution géographique de *B. pfeifferi* (Dejong *et al.* 2003).

La zone du Dhofar est très particulière. Elle a un climat tropical sec avec une période de mousson qui dure de la mi-juin à la mi-septembre caractérisée par des pluies très fines et d'épais brouillards. En dehors de la mousson, la région subit des inondations ponctuelles, violentes et de courte durée. L'eau est présente avec des débits variables mais de manière permanente dans la majorité des sites hébergeant *B. pfeifferi*. Ces conditions climatiques et géographiques font du Dhofar une zone très différente des zones tropicales humides africaines ou malgaches caractérisées par de vastes zones hydriques et une pluviométrie importante et durable. Le Dhofar constitue la zone la plus orientale de la distribution de *B. pfeifferi*.

*B. pfeifferi* est une espèce qui a su s'adapter à différents types de milieux de son aire de répartition: cours d'eau (Brown 1994; Moné *et al.* 2003), barrages ou lacs (Brown 1994; Ibikounlé *et al.* 2009), canaux d'irrigation (Madsen *et al.* 1987; Ndifon & Ukoli 1989) et réservoirs (Brown 1994; Moné *et al.* 2003). Il supporte des vitesses de courant d'eau inférieures à 30 cm/s (Utzinger *et al.* 1997a et b).

Dans le Dhofar, les biotopes à *B. pfeifferi* sont à la fois variés (cours d'eau, canaux d'irrigation et réservoirs) mais particulièrement isolés les uns des autres. Cette caractéristique nous a conduit à émettre l'hypothèse que les populations de *B. pfeifferi* sont très structurées génétiquement. L'objectif de cette partie de la thèse est d'étudier la structure génétique spatiale et temporelle des populations de *B. pfeifferi* de la région du Dhofar en Oman ainsi que le cas particulier de l'albinisme rencontré dans les conditions naturelles. Nous analysons et discutons les paramètres qui peuvent influencer cette structure génétique.

Deux chapitres composent cette partie et le premier est lui-même composé de deux sous-chapitres:

- ✓ Le **chapitre 1** présente la variabilité génétique des populations de *B. pfeifferi*.
  - **Sous-chapitre 1**: diversité génétique
  - **Sous-chapitre 2**: différenciation génétique
- ✓ Le **chapitre 2** présente le cas particulier de la structure génétique de l'albinisme.

**CHAPITRE 1:**

***Variabilité génétique des populations***

***de B. pfeifferi***



## Protocole expérimental

### I. Zone d'étude

#### A. Situation générale

Le Sultanat d'Oman est situé à l'extrémité sud-ouest de la péninsule arabique. Il est limité sur sa façade orientale, et sur plus de 1700 kilomètres, par l'Océan Indien (Golfe d'Oman et mer d'Arabie), au nord-ouest par les Emirats Arabes Unis, à l'ouest par l'Arabie Saoudite et au sud-ouest par le Yémen et s'étend entre 16° 40' et 26° 20' de latitude Nord.

La région du Dhofar est une des 8 régions administratives qui constituent le pays (Figure II-1-1). Elle est située au sud du pays et possède une frontière avec le Yémen à l'ouest et avec l'Arabie Saoudite au Nord.

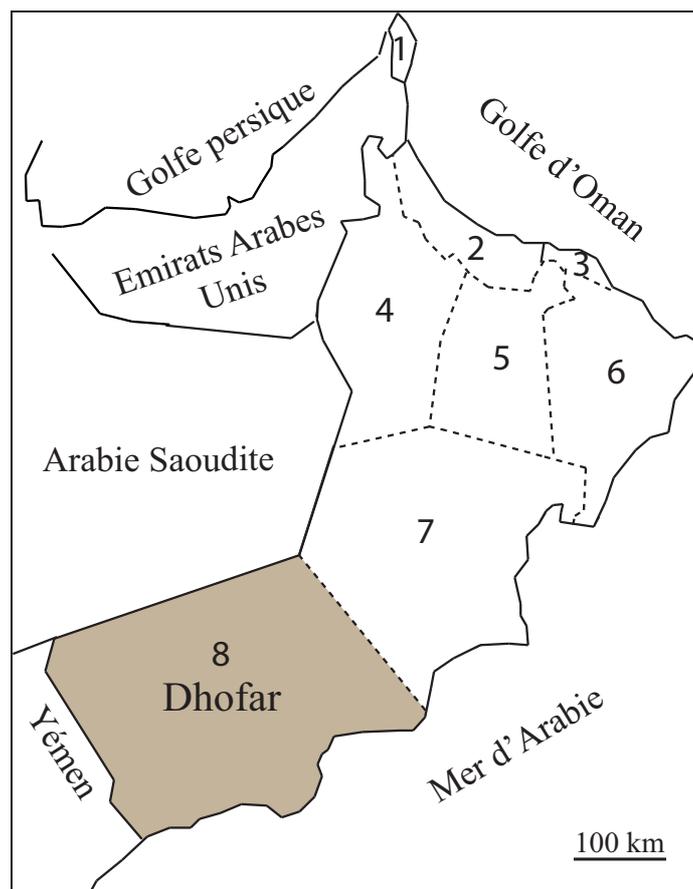


Figure II-1-1: Carte des régions d'Oman (1: Musandam; 2: Al Batinah; 3: Muscat; 4: Azzahirah; 5: Addakhiliyah; 6: Asharqiyah; 7: Al Wusta; 8: Dhofar.

Le Dhofar est caractérisé par une chaîne montagneuse étendue sur 180 kilomètres d'ouest en est, avec moins de 30 kilomètres de profondeur. Trois massifs forment une chaîne ininterrompue de faible altitude. D'ouest en est, on distingue les massifs Qamar, Wustah et Samhan (Figure II-1-2A). Les versants nord sont très arides et descendent vers de vastes plateaux désertiques, les versants sud font face à la mer et reçoivent les fines pluies de mousson de mi-juin à mi-septembre. Entre la chaîne montagneuse et la mer s'étend, autour de Salalah, capitale du Dhofar, une étroite plaine côtière d'environ 45 km de long et une dizaine de km de large, peuplée et fertile.

Le Dhofar possède un climat de type tropical sec. Ainsi de mi-juin à mi-septembre, la plaine est recouverte d'un brouillard épais qui se précipite sous de fines gouttelettes d'eau au contact de la végétation. Les différentes vallées de cette région forment des cours d'eau dans le versant sud se jetant en mer d'Arabie et des cours d'eau dans le versant nord se perdant dans le désert. Les différents éléments typographiques et climatiques de cette région favorisent la réalisation de niches diversifiées dans lesquelles la faune aquatique en général et les mollusques hôtes intermédiaires des schistosomes en particulier trouvent des conditions favorables à leur développement.

### ***B. Les sites étudiés***

Les sites étudiés dans cette thèse ont été choisis parmi plus d'une trentaine de sites visités depuis les années 2000. Le choix s'est porté sur les sites hébergeant *B. pfeifferi*, à fréquentation humaine que ce soit pour des activités récréatives, pastorales ou agricoles. Ils se répartissent de l'extrême ouest du massif Qamar à l'extrême est du massif Samhan. Dix-huit sites ont été étudiés (Figure II-1-2):

- ✓ 4 sites sont situés dans le massif Qamar versant sud (Sarfait, Kohood, Kharfut et Hotah),
- ✓ 1 site dans le massif Wustah versant nord (Aayyun),
- ✓ 11 sites dans le massif Wustah versant sud (Sheitt, Arazat, Ankhar, Tibraq, Birin, Wadi Derbat1, Wadi Derbat2, Wadi Derbat3, Wadi Derbat4, Siginiti et Hasheir),
- ✓ 2 sites dans le massif Samhan versant sud (Lagga Shalyun et Had Barm).

Les coordonnées GPS (longitude Est, latitude Nord) et l'altitude de chacun des sites étudiés ont été calculées à l'aide d'un appareil Garmin (Tableau II-1-1). Les

paramètres physico-chimiques de l'eau de chaque site ont été relevés en utilisant *Laboratoire Compact* de Merck (64271 Darmstadt, Germany) et sont également présentés dans le tableau II-1-1. Le logiciel Google Earth a permis de visionner les différents sites et les éventuels liens hydrographiques entre eux (Tableau II-1-1). Les sites qui ont fait l'objet de notre étude sont des sites permanents. Ils se répartissent en deux catégories principales (Tableau II-1-1):

- ✓ site naturel correspondant à un cours d'eau n'ayant subi aucun aménagement humain,
- ✓ site aménagé à usage récréatif, pastoral ou agricole en relation avec une source. L'aménagement se présente sous différentes formes: réservoir avec ou sans abreuvoir, canaux d'irrigation.

Pour illustrer chacune des deux catégories de sites, nous avons choisi le site de Siginitti comme site naturel et celui de Tibraq comme site aménagé (Figure II-1-3).

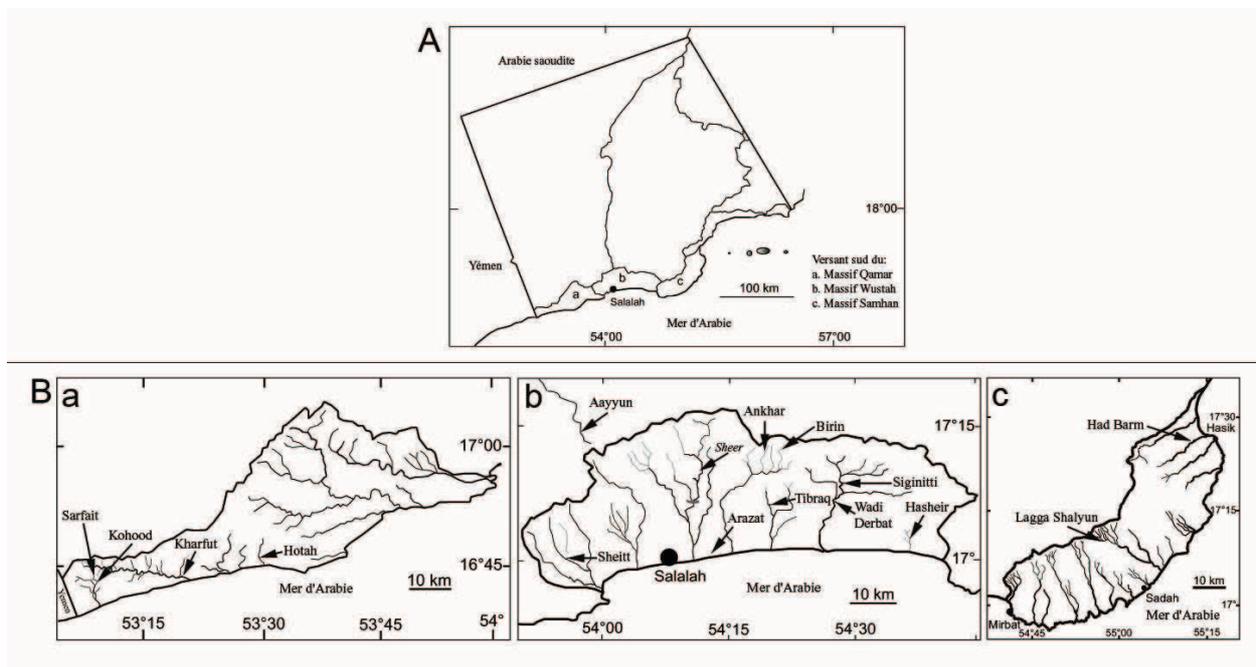


Figure II-1-2: Carte du Dhofar (A) et situation géographique des 18 sites étudiés (B). a: Massif Qamar; b: Massif Wustah (Wadi Derbat comprend 4 sites; en italiques, le village de *Sheer* où le parasite *Schistosoma mansoni* a été extrait chez des écoliers); c: Massif Samhan.

Tableau II-1-1: Sites étudiés: nom du site, position GPS (longitude Est, latitude Nord), altitude et paramètres physico-chimiques de l'eau en mai 2007 (excepté Aayyun février 2006). Les 11 sites naturels sont soulignés. Les sites Wadi Derbat sont énumérés d'amont en aval.

Nom du site	Longitude (Est)	Latitude (Nord)	Altitude (m)	T°C	O <sub>2</sub> mg/L	pH	Nitrite mg/L	Nitrate mg/L	Ammonium mg/L	Phosphate mg/L	Total Hardness mg/L
Sarfait <sup>α</sup>	53° 08' 13.99''	16° 41' 47.69''	636	27	9,1	8,00	0,025	10	0,00	0,00	570
<u>Kohood</u> <sup>α</sup>	53° 08' 14.83''	16° 42' 17.99''	818	30	6,6	7,50	0,050	10	0,00	0,00	350
<u>Kharfut</u>	53° 19' 41.43''	16° 44' 02.84''	41	31	13,2	7,50	0,000	10	0,50	0,00	380
<u>Hotah</u>	53° 30' 44.71''	16° 45' 50.37''	57	31	9,9	8,00	0,000	0	0,00	0,00	370
<u>Aayyun</u>	53° 53' 15.89''	17° 14' 49.56''	674	25	8,3	7,50	0,200	0	0,00	0,00	370
<u>Sheitt</u>	53° 49' 06.54''	17° 00' 01.47''	221	31	6,2	8,00	0,000	0	0,00	0,15	370
Arazat <sup>β</sup>	54° 12' 58.86''	17° 02' 14.09''	22	30	9,1	8,25	0,200	0	0,15	0,00	230
Ankhar <sup>β</sup>	54° 19' 27.68''	17° 13' 24.03''	770	28	9,4	8,50	0,500	25	0,20	0,10	350
Tibraq	54° 19' 35.09''	17° 05' 58.11''	101	29	16,3	8,00	0,025	10	0,00	0,00	280
Birin <sup>β</sup>	54° 19' 37.31''	17° 13' 35.94''	793	27	11,4	8,25	0,500	50	0,20	0,10	350
<u>Wadi Derbat1</u> <sup>γ</sup>	54° 27' 11.49''	17° 07' 15.67''	231	36	10,0	8,00	0,060	10	0,00	0,00	310
<u>Wadi Derbat2</u> <sup>γ</sup>	54° 27' 16.35''	17° 07' 06.34''	226								
<u>Wadi Derbat3</u> <sup>γ</sup>	54° 27' 21.10''	17° 06' 57.22''	201								
<u>Wadi Derbat4</u> <sup>γ</sup>	54° 27' 12.09''	17° 06' 12.57''	199								
<u>Siginitti</u> <sup>γ</sup>	54° 28' 08.99''	17° 08' 36.44''	334	29	10,3	7,50	0,500	10	0,00	0,10	370
Hasheir	54° 36' 29.17''	17° 03' 14.58''	286	31	9,7	8,00	0,000	0	0,00	0,00	350
Lagga Shalyun	54° 56' 29.12''	17° 11' 20.34''	467	29	7,6	8,50	0,000	0	0,50	0,10	265
<u>Had Barm</u>	55° 14' 36.42''	17° 26' 32.14''	33	26	6,5	7,50	0,000	0	0,00	0,00	520

<sup>α,β</sup> et <sup>γ</sup>: relie les sites appartenant à une même vallée. Les lignes horizontales séparent les massifs.



Figure II-1-3: Un exemple de site naturel (Siginitti en haut) et de site aménagé (Tibraç en bas).

## II. Echantillonnage

Dans cette étude, le nombre total de populations analysées est de 18 et le nombre total de mollusques analysés s'élève à 1070. Le nombre de *B. pfeifferi* étudiés en fonction des populations et des dates de prélèvement est présenté dans le tableau II-1-2. Pour les sites de Tibraq et de Siginitti, où l'albinisme existe en condition naturelle, nous avons tenu compte des proportions des deux morphes (Mouahid *et al.* Accepté; Annexe II-1-1) dans la constitution des échantillons pour chaque date de prélèvement. Sept populations ont été échantillonnées 3 fois (à l'exception de Siginitti échantillonnée 4 fois) sur une période de deux années.

Tableau II-1-2: Echantillonnage: nom et code des populations étudiées et nombre de *B. pfeifferi* analysés selon la date de prélèvement.

Population		Nombre de <i>B. pfeifferi</i> analysés			
Nom	Code	Sept.-05	Fév.-06	Mai-07	Nov.-07
Sarfait	Sar	-	-	30	-
Kohood	Koh	-	-	30	-
Kharfut	Kha	-	-	30	-
Hotah	Hot	-	-	30	-
Aayyun	Ayu	-	23	-	-
Sheitt	She	30	12	14	-
Arazat	Ara	-	30	24	-
Ankhar	Ank	-	-	29	-
Tibraq	Tib	30	30	32	-
Birin	Bir	-	-	30	-
Wadi Derbat1	WD1	-	-	60	-
Wadi Derbat2	WD2	-	-	14	-
Wadi Derbat3	WD3	-	-	28	-
Wadi Derbat4	WD4	36	30	30	-
Siginitti	Sig	61	59	73	36
Hasheir	Has	30	30	30	-
Lagga Shalyun	LS	36	30	32	-
Had Barm	HB	20	15	16	-

-: non échantillonné; les lignes horizontales limitent les trois massifs.

## III. Choix des marqueurs microsatellites

Parmi 25 microsatellites testés (13 isolés chez *B. pfeifferi* et 12 chez *Biomphalaria glabrata*), nous en avons retenu 9 qui ont présenté un polymorphisme (Tableau II-1-3 et Tableau II-1-4):

- ✓ 7 (Bpf4; Bpf8; Bpf9; Bpf10; Bpf12; u-2 et u-7) ont été mis en évidence sur *B. pfeifferi* par Charbonnel *et al.* (2000) et
- ✓ 2 (microsatBg01 et Bgmicrosat16 notés respectivement  $\mu$ Bg1 et Bg $\mu$ 16 dans la thèse) ont été mis en évidence sur *B. glabrata* par Jones *et al.* (2000).

Tableau II-1-3: Microsatellites testés: locus, motif répété, amplification, polymorphisme intra- et interpopulations et numéro d'accèsion GenBank.

Locus	Motif	Amplification	Polymorphisme Intrapopulation	Polymorphisme Interpopulations	N° Accession GenBank	
<i>B. pfeifferi</i> (Charbonnel <i>et al.</i> 2000)	Bpf1	(GA) <sub>14</sub>	+	non	non	AF189698
	Bpf2	(GA) <sub>10</sub> AA(GA) <sub>6</sub>	+	non	non	AF189699
	Bpf3	(AC) <sub>6</sub> (TA) <sub>9</sub>	+	non	non	AF189700
	Bpf4	(GA) <sub>8</sub> AA(GA) <sub>5</sub> AA(GA) <sub>6</sub>	+	oui	oui	AF189701
	Bpf5	(GC) <sub>9</sub> (AC) <sub>7</sub> ATAC(AT) <sub>3</sub>	*			AF189702
	Bpf6	(TA) <sub>n</sub> impurs	*			AF189703
	Bpf8	(TCTA) <sub>19</sub>	+	oui	oui	AF189704
	Bpf9	(TCTA) <sub>45</sub>	+	oui	oui	AF189705
	Bpf10	(GA) <sub>20</sub>	+	oui	oui	AF189706
	Bpf11	(AC) <sub>8</sub> (AT) <sub>19</sub>	+	non	non	AF189707
	Bpf12	(GA) <sub>n</sub> impurs	+	non	oui	AF189708
	u-2	(GA) <sub>16</sub>	+	non	oui	AY425953
u-7	(AG) <sub>22</sub>	+	non	oui	AY425954	
<i>B. glabrata</i> (Mavarez <i>et al.</i> 2000)	BgC6	(CA) <sub>4</sub> TT(CA) <sub>2</sub> CT(CA) <sub>5</sub> (TACA) <sub>2</sub>	+	non	non	AF216279
	BgC7	(AG) <sub>3</sub> G(AG) <sub>8</sub> GGGAGG(GA) <sub>5</sub>	?			AF216280
	BgE1	(CAT) <sub>5</sub> (CA) <sub>15</sub> (GACA) <sub>16</sub>	?			AF216275
	BgE2	(GATA) <sub>18</sub> TGGA(GATA) <sub>2</sub> TAG(GATA) <sub>5</sub>	?			AF216270
	BgE3	(GATA) <sub>25</sub>	?			AF216269
	BgE4	(GATA) <sub>13</sub>	?			AF216272
	BgE5	(GATA) <sub>34</sub>	?			AF216271
BgE6	(GATA) <sub>39</sub> N <sub>3</sub> (GATA) <sub>22</sub>	?			AF216273	
<i>B. glabrata</i> (Jones <i>et al.</i> 2000)	μBg1	(TC) <sub>20</sub>	+	oui	oui	AF157703
	μBg2	(CA) <sub>20</sub>	?			AF157704
	μBg8	(TG) <sub>7</sub> TT(TG) <sub>10</sub>	?			AF157698
	Bgμ16	(TC) <sub>24</sub> (TATC) <sub>6</sub>	+	oui	oui	AF157701

+ indique que l'amplification est correcte. \* indique que l'amplification ne s'est pas faite de façon reproductible. ? indique que l'amplification donne des bandes multiples.

Tableau II-1-4: Microsatellites utilisés: locus, répétition, amorces forward (F) et reverse (R) dans le sens 5'-3', température d'hybridation et numéro d'accèsion GenBank.

<b>Locus</b>	<b>Répétition</b>	<b>Amorces</b>	<b>T°C d'hybridation</b>	<b>N° d'accèsion (GenBank)</b>
Bpf4	(GA) <sub>8</sub> AA(GA) <sub>5</sub> AA(GA) <sub>6</sub>	*F: GAATTCAGTCCTTACAGCAGC R: CTTAAGCTGCGCTATCTGTGG	59	AF189701
Bpf8	(TCTA) <sub>19</sub>	*F: GGTTCCTATAGCATAACAGTGC R: GGCTTACAAAGAAACAGGCATAC	58	AF189704
Bpf9	(TCTA) <sub>45</sub>	*F: GTGAGGGAGAAGTACCTTGACAC R: GATCTAGTTAGAGAAGATAG	48	AF189705
Bpf10	(GA) <sub>20</sub>	*F: TGTCCAGCATGTCCAGTTC R: CAGAGATGATATTGCAGTCAGG	51	AF189706
Bpf12	(GA) <sub>9</sub> GGCA(GA) <sub>2</sub> (CA) <sub>5</sub> GA(CA) <sub>5</sub> GA(CA) <sub>4</sub> (GA) <sub>7</sub> CAGA(CA) <sub>11</sub> (GA) <sub>7</sub>	*F: GACACAAAGAAAGAGATAAGCA R: GTCGACCTCCCCTCTTC	51	AF189708
u-2	(GA) <sub>16</sub>	*F: TCAATTTGCAAAGTTCAAGAGC R: GTAATCCAAAGCAACCGACTG	61	AY425953
u-7	(AG) <sub>22</sub>	*F: TCATGACATCTAATGGGAGAAG R: GGGCTCAGAGAAATGAATGG	61	AY425954
microsatBg01 (μBg1)	(TC) <sub>20</sub>	*F: TTAATTCTACTGGACTCACATGG R: CTGCCAATGTTTACATGCTG	61	AF157703
Bgmicrosat16 (Bgμ16)	(TC) <sub>24</sub> (TATC) <sub>6</sub>	*F: CTGTTATTCAATTATTCATAGAGC R: GGGGATCTAACACATCAG	51	AF157701

\*Amorce marquée au fluorochrome (4-Phosphoramidite, Well-Red oligo<sup>TM</sup>, SIGMA-PROLIGO<sup>R</sup>).

***Sous-Chapitre 1:***  
***Diversité génétique***



## I. Résultats

### A. Polymorphisme des loci

Le polymorphisme des 9 loci microsatellites est présenté dans le tableau II-1-1-1. Le locus le plus polymorphe est Bpf9 avec 11 allèles et les moins polymorphes sont les loci Bpf4, u-2 et  $\mu$ Bg1 avec 2 allèles.

Tableau II-1-1-1: Polymorphisme des 9 loci microsatellites analysés pour 18 populations de *B. pfeifferi*. L'intervalle de taille indique la taille du plus petit et du plus grand allèle en paire de base.

Locus	Intervalle de taille	$N_{tot}$
Bpf4	317-329	2
Bpf8	193-225	9
Bpf9	238-286	11
Bpf10	249-273	8
Bpf12	307-334	4
u-2	140-148	2
u-7	222-246	4
$\mu$ Bg1	165-167	2
Bg $\mu$ 16	113-135	4

$N_{tot}$  désigne le nombre total d'allèles.

### B. Déséquilibre de liaison

Parmi l'ensemble des 9 loci, nous avons recherché d'éventuels déséquilibres de liaison entre allèles appartenant à deux loci. En effet, dans une population, certaines combinaisons d'allèles s'associent, de manière non aléatoire, plus fréquemment. Le déséquilibre de liaison a été réalisé sur les populations de *B. pfeifferi* de 2007 en y incluant celle d'Aayyun de 2006. Le calcul a pu se faire sur 52 paires de loci parmi les 648 paires possibles (un locus avec allèle fixé ne permet pas de faire les calculs). Les valeurs sont significatives pour 20 paires ( $p < 0,05$ ) et non significatives pour 32 paires ( $p > 0,05$ ). La vallée Wadi Derbat/Siginitti représente à elle seule 90% du déséquilibre de liaison. Une seule valeur significative a été observée à Tibraq (entre Bpf8-Bpf10 avec  $p = 0,00008$ ) et à Hotah (entre Bpf10-Bpf12 avec  $p = 0,0034$ ). Cependant, en tenant compte de la correction de Bonferroni (Rice, 1989), la  $p$ -valeur de référence ajustée devient 0,000077 ( $0,05/648$ ); dans cette situation, aucune population ne manifeste un déséquilibre de liaison.

### C. Fréquences alléliques

Les fréquences alléliques des 18 populations de *B. pfeifferi* étudiées sur les 9 loci microsatellites sont présentées en annexe II-1-1-1. L'analyse des fréquences alléliques est présentée dans le tableau II-1-1-2.

Tableau II-1-1-2: Allèles diagnostics fixés ou non-fixés en fonction des massifs, des vallées et des sites.

Allèle marqueur		Massif		Vallée		Site	
		Qamar	Samhan	Sar/Koh	Hot	LS	HD
Allèle (Locus)	Fixé	234(u-7)	148	197	193(Bpf8)	328	263
		121(Bgμ16)	(u-2)	(Bpf8)	307(Bpf12)	(Bpf12)	(Bpf10)
	Non-fixé	-	-	WD/Sig 209(Bpf8) 262(Bpf9)	Ayu 246 (u-7)	WD4 222 (u-7)	-

### D. Paramètres de la diversité génétique

Les paramètres de la diversité génétique, calculés pour les 18 populations de *B. pfeifferi*, sont présentés dans le tableau II-1-1-3 en 2005, 2006 et 2007 pour 9 loci microsatellites. Le nombre de loci polymorphes est compris entre 0 et 6 quelle que soit l'année. Parmi les 18 populations, 6 sont monomorphes (Sar, Kha, Ara, Ank, Has et LS) sur les 9 loci microsatellites. Le nombre moyen d'allèles par locus varie entre 1 et 2,67. L'hétérozygotie observée dans les populations est faible, les valeurs varient entre 0 et 0,07. L'hétérozygotie attendue est également faible, les valeurs sont comprises entre 0 et 0,313.

Tableau II-1-1-3: Paramètres de la diversité génétique chez les 18 populations de *B. pfeifferi* en 2005, 2006 et 2007 (mai et novembre) pour 9 loci microsatellites.

<b>2005</b>	<b>Population</b>	<b>N<sub>pol</sub></b>	<b>N<sub>all</sub></b>	<b>H<sub>o</sub></b>	<b>H<sub>e</sub></b>	<b>F<sub>IS</sub></b>	<b>s</b>
Massif Wustah	She	1	1,11	0,000 (0,000)	0,007 (0,022)	1,000	1,000
	Tib	2	1,22	0,000 (0,000)	0,040 (0,079)	1,000	1,000
	WD4	6	2,67	0,015 (0,020)	0,313 (0,287)	0,952	0,975
	Sig	4	1,67	0,009 (0,020)	0,170 (0,214)	0,947	0,973
	Has	2	1,22	0,000 (0,000)	0,014 (0,028)	1,000	1,000
	<i>Moyenne</i>	3 (2,00)	1,58 (0,65)	0,005 (0,005)	0,112 (0,111)	0,955 (0,035)	0,977 (0,018)
Massif Samhan	LS	0	1,00	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	—	—
	HB	2	1,22	0,006 (0,017)	0,034 (0,085)	0,843	0,915
	<i>Moyenne</i>	1 (1,41)	1,11 (0,16)	0,003 (0,004)	0,017 (0,024)	0,755 (0,385)	0,788 (0,397)
<b>2006</b>	<b>Population</b>	<b>N<sub>pol</sub></b>	<b>N<sub>all</sub></b>	<b>H<sub>o</sub></b>	<b>H<sub>e</sub></b>	<b>F<sub>IS</sub></b>	<b>s</b>
MWVN	Ayu	4	1,78	0,010 (0,030)	0,127 (0,208)	0,926	0,962
Massif Wustah	She	0	1,00	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	—	—
	Ara	0	1,00	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	—	—
	Tib	3	1,33	0,015 (0,044)	0,029 (0,046)	0,487	0,655
	WD4	5	2,44	0,033 (0,044)	0,212 (0,294)	0,845	0,916
	Sig	4	1,89	0,002 (0,006)	0,149 (0,206)	0,987	0,993
	Has	3	1,44	0,004 (0,011)	0,032 (0,051)	0,887	0,940
	<i>Moyenne</i>	2,50 (2,07)	1,52 (0,56)	0,009 (0,013)	0,072 (0,088)	0,908 (0,105)	0,949 (0,062)
Massif Samhan	LS	0	1,00	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	—	—
	HB	4	1,44	0,067 (0,200)	0,139 (0,192)	0,530	0,693
	<i>Moyenne</i>	2,00 (2,83)	1,22 (0,31)	0,033 (0,100)	0,070 (0,096)	0,788 (0,513)	0,709 (0,713)
<b>2007</b>	<b>Population</b>	<b>N<sub>pol</sub></b>	<b>N<sub>all</sub></b>	<b>H<sub>o</sub></b>	<b>H<sub>e</sub></b>	<b>F<sub>IS</sub></b>	<b>s</b>
Massif Qamar	Sar	0	1,00	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	—	—
	Koh	1	1,11	0,004 (0,011)	0,053 (0,160)	0,932	0,965
	Kha	0	1,00	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	—	—
	Hot	2	1,22	0,000 (0,000)	0,015 (0,029)	1,000	1,000
	<i>Moyenne</i>	0,75 (0,96)	1,08 (0,11)	0,001 (0,003)	0,017 (0,059)	0,977 (0,039)	0,988 (0,020)
Massif Wustah	She	0	1,00	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	—	—
	Ara	0	1,00	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	—	—
	Ank	0	1,00	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	—	—
	Tib	2	1,33	0,000 (0,000)	0,118 (0,239)	1,000	1,000
	Bir	1	1,11	0,000 (0,000)	0,014 (0,042)	1,000	1,000
	WD1	5	2,00	0,015 (0,023)	0,216 (0,280)	0,932	0,965
	WD2	4	1,67	0,032 (0,052)	0,195 (0,274)	0,842	0,914
	WD3	4	1,78	0,000 (0,000)	0,129 (0,195)	1,000	1,000
	WD4	6	1,88	0,011 (0,017)	0,260 (0,263)	0,957	0,978
	Sig	4	1,89	0,030 (0,036)	0,192 (0,237)	0,842	0,914
	Has	0	1,00	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	—	—
	<i>Moyenne</i>	2,36 (2,292)	1,424 (0,421)	0,008 (0,007)	0,104 (0,104)	0,906 (0,034)	0,951 (0,019)
Massif Samhan	LS	0	1,00	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	—	—
	HB	2	1,22	0,000 (0,000)	0,027 (0,053)	1,000	1,000
	<i>Moyenne</i>	1 (1,41)	1,11 (0,16)	0,000 (0,000)	0,014 (0,027)	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)
Massif Wustah	Sig (Nov. 2007)	4	1,67	0,000 (0,000)	0,181 (0,261)	1,000	1,000

*N<sub>pol</sub>*: nombre de loci polymorphes. *N<sub>all</sub>*: nombre moyen d'allèles par locus; *H<sub>o</sub>*: hétérozygotie observée; *H<sub>e</sub>*: hétérozygotie attendue; *F<sub>IS</sub>*: coefficient de consanguinité; *s*: taux d'autofécondation. L'écart-type est indiqué entre parenthèse. MWVN: Massif Wustah versant nord.

Nous avons comparé la diversité génétique des populations (hétérozygotie attendue (*He*) et richesse allélique (*Nall*)) en fonction de la date d'échantillonnage et en tenant compte des différentes caractéristiques des sites: appartenance à un des trois massifs, site aménagé ou naturel, présence ou pas de schistosome (données antérieures à 2005) et présence ou pas de l'albinisme chez *B. pfeifferi*. Le tableau II-1-1-4 présente l'ensemble de ces caractéristiques. Les comparaisons des données ont été réalisées à l'aide du logiciel Fstat v 2.9.3.2. (Goudet 1995; 2001) en utilisant le nombre maximum de permutations (15000).

Tableau II-1-1-4: Caractéristiques des sites en fonction du massif, de l'altitude (basse: <100 m; moyenne: 100 à 400 m; haute: >400 m), de la catégorie, du parasitisme larvaire et de l'albinisme de *B. pfeifferi*.

Nom du site	Massif	Altitude	Catégorie	Schistosome	Albinisme
Sarfait	Qamar	Haute	Aménagé	Absence	Absence
Kohood		Basse	Naturel		
Kharfut					
Hotah					
Aayyun	Wustah versant nord	Haute	Naturel	Absence	Absence
Sheitt	Wustah versant sud	Moyenne			
Arazat		Basse	Aménagé	Présence	
Ankhar		Haute		Absence	
Tibraq		Moyenne	Présence	Présence	
Birin		Haute	Absence		
Wadi Derbat1		Moyenne	Naturel	Présence	Absence
Wadi Derbat2				Absence	
Wadi Derbat3				Présence	Présence
Wadi Derbat4					
Siginitti		Samhan	Haute	Aménagé	Absence
Hasheir	Naturel				
Lagga Shalyun		Basse			
Had Barm					

La comparaison des paramètres de diversité génétique (test de permutation) en fonction du temps (2005, 2006 et 2007) a été menée pour 7 populations du Dhofar. Les résultats, présentés globalement puis en fonction de chaque massif, indiquent qu'il n'existe aucune différence significative aussi bien pour *He* que pour *Nall* ( $p > 0,05$ ) en fonction du temps (Tableau II-1-1-5).

Tableau II-1-1-5: Comparaison des paramètres de diversité génétique (hétérozygotie attendue (*He*) et richesse allélique (*Nall*)) en fonction de la date d'échantillonnage.

Paramètre	2005	2006	2007	<i>p</i> -value
Dhofar (7 populations)				
<i>He</i>	0,102	0,094	0,116	0,938
<i>Nall</i>	1,388	1,394	1,297	0,906
Massif Wustah (5 populations)				
<i>He</i>	0,128	0,107	0,144	0,857
<i>Nall</i>	1,507	1,464	1,374	0,908
Massif Samhan (2 populations)				
<i>He</i>	0,012	0,046	0,009	0,736
<i>Nall</i>	1,097	1,222	1,111	0,869

La comparaison des paramètres de diversité génétique entre les trois massifs a été réalisée pour l'année 2007 et est présentée dans le Tableau II-1-1-6. Le test de permutation indique qu'il n'existe aucune différence significative entre massifs, aussi bien pour *He* que pour *Nall* ( $p > 0,05$ ).

Tableau II-1-1-6: Comparaison des paramètres de diversité génétique (hétérozygotie attendue (*He*) et richesse allélique (*Nall*)) en fonction du massif.

Paramètre	Massif (nombre de populations)			<i>p</i> -value
	Qamar (4)	Wustah (11)	Samhan (2)	
<i>He</i>	0,017	0,121	0,009	0,245
<i>Nall</i>	1,068	1,389	1,110	0,426

La comparaison des paramètres de diversité génétique en fonction de l'altitude des sites a été réalisée pour l'année 2007 (en incluant les données du site Aayyun de 2006) est présentée dans le Tableau II-1-1-7. Le test de permutation indique une différence significative liée à l'altitude pour *He* ( $p < 0,05$ ) avec une diversité significativement supérieure pour les sites de moyenne altitude par rapport aux sites de basse ou de haute altitude. Le test de permutation indique par contre qu'aucune différence significative n'a été trouvée pour *Nall* en fonction de l'altitude ( $p > 0,05$ ).

Tableau II-1-1-7: Comparaison des paramètres de diversité génétique (hétérozygotie attendue (*He*) et richesse allélique (*Nall*)) en fonction l'altitude du site (basse (B): <100 m; moyenne (M): 100 à 400 m; haute (H): >400 m). Entre parenthèses, le nombre de populations.

Paramètre	B (4)	M (8)	H (6)	<i>p</i> -value	
				globale	deux à deux
<i>He</i>	0,009	0,162	0,029	0,014	B/M : 0,025 B/H : 0,534 M/H : 0,024
<i>Nall</i>	1,095	1,522	1,145	0,065	

La comparaison des paramètres de diversité génétique entre les sites aménagés et les sites naturels a été réalisée pour l'année 2007 et est présentée dans le Tableau II-1-1-8. Le test de permutation indique que les sites naturels ont une diversité génétique (*He* et *Nall*) significativement plus importante que les sites aménagés (Fstat;  $p < 0,05$ ).

Tableau II-1-1-8: Comparaison des paramètres de diversité génétique (hétérozygotie attendue (*He*) et richesse allélique (*Nall*)) en fonction de la catégorie du site. Entre parenthèses, le nombre de populations.

Paramètre	Site aménagé (7)	Site naturel (10)	<i>p</i> -value
<i>He</i>	0,021	0,136	0,033
<i>Nall</i>	1,062	1,433	0,027

La relation entre diversité génétique et parasitisme ne peut être réalisée dans cette étude car aucun site n'hébergeait des *B. pfeifferi* parasités par des stades larvaires de schistosomes entre 2005 et 2007. Cependant, nous avons effectué une comparaison des paramètres de diversité génétique (données de 2007, en incluant les données du site Aayyun de 2006) entre les sites où des *B. pfeifferi* ont été trouvés parasités antérieurement à 2005 (Moné *et al.* 2003) et les sites où le schistosome est absent. Le test indique (Tableau II-1-1-9) qu'il n'existe pas de différence significative entre les sites avec ou sans schistosome, aussi bien pour *He* que pour *Nall* ( $p > 0,05$ ).

Tableau II-1-1-9: Comparaison des paramètres de diversité génétique (hétérozygotie attendue (*He*) et richesse allélique (*Nall*)) en fonction de la présence de schistosomes. Entre parenthèses, le nombre de populations.

Paramètre	Schistosome présent (4)	Schistosome absent (14)	<i>p</i> -value
<i>He</i>	0,162	0,064	0,119
<i>Nall</i>	1,478	1,251	0,247

La comparaison des paramètres de diversité génétique entre les sites où existent des *B. pfeifferi* albinos et les sites où l'albinisme est absent a été réalisée pour l'année 2007 (en incluant les données du site Aayyun de 2006) et est présentée dans le Tableau II-1-1-10. Le test indique qu'il n'existe pas de différence significative entre les sites avec ou sans albinisme, aussi bien pour *He* que pour *Nall* ( $p > 0,05$ ).

Tableau II-1-1-10: Comparaison des paramètres de diversité génétique (hétérozygotie attendue (*He*) et richesse allélique (*Nall*)) en fonction de la présence de l'albinisme. Entre parenthèses, le nombre de populations.

Paramètre	Albinisme présent (2)	Albinisme absent (16)	<i>p</i> -value
<i>He</i>	0,171	0,074	0,246
<i>Nall</i>	1,543	1,271	0,353

### ***E. Déficit en hétérozygotes et taux d'autofécondation***

Le coefficient de consanguinité, définissant le déficit en hétérozygotes, est présenté dans le tableau II-1-1-3. Ce déficit en hétérozygotes est très élevé, les valeurs du  $F_{IS}$  varient entre 0,487 et 1, et n'est pas en adéquation avec les proportions génotypiques attendues sous l'équilibre de Hardy-Weinberg. Le test de permutation est significatif pour chacun de ces  $F_{IS}$  ( $p < 0,001$ ). Le déficit est visible sur tous les loci polymorphes, comme le montre la faible valeur de l'écart-type, indiquant que le déficit en hétérozygotes observé est dû à l'autofécondation et non à un effet Walhund, où le déficit en hétérozygotes n'aurait été supporté que par une partie des loci polymorphes.

Le taux d'autofécondation calculé est présenté dans le tableau II-1-1-3. Les valeurs sont élevées et varient entre 0,655 et 1.

### ***F. Effectif efficace***

Les effectifs efficaces ont été déterminés en utilisant la méthode d'Anderson et *al.* (2000). Ils sont calculés sur les populations qui ont été échantillonnées au cours des trois dates consécutives (2005, 2006 et 2007) et qui ont au moins 4 loci polymorphes (voir Tableau II-1-2 et Tableau II-1-1-3). Il s'agit de Wadi Derbat 4, de Siginitti et de Had Barm. Les effectifs efficaces sont très faibles (Tableau II-1-1-11), les valeurs vont de <14 à WD4 à 79 [29-436] à Siginitti.

Tableau II-1-1-11: Effectif efficace des populations de Wadi Derbat 4, de Siginitti et de Had Barm. L'intervalle de confiance est indiqué entre crochets. Le temps de génération est estimé à 3 mois.

<b>Population</b>	<b>Nombre de répliquas</b>	<b><i>Ne</i></b>
Wadi Derbat 4	100 000	<14
Siginitti		79 [29-436]
Had Barm	400 000	24 [10-76]

### ***G. Goulot d'étranglement***

La méthode du BOTTLENECK a été appliquée aux populations présentant au moins 4 loci polymorphes. Ainsi, 7 populations ont été analysées (Tableau II-1-1-12). Un goulot d'étranglement démographique a été détecté dans 3 populations en considérant le modèle IAM ( $p < 0,05$ ) et dans 1 population en considérant le modèle

TPM ( $p < 0,05$ ). Par contre, en considérant le modèle SMM, le signal d'un goulot d'étranglement démographique n'est détecté dans aucune population (Tableau II-1-1-12).

Tableau II-1-1-12: Résultat du test de Wilcoxon pour l'équilibre démographique sous les modèles IAM (Infinite Allele Model), SMM (Stepwise Mutation Model) et TPM (Two-Phase Model). Le signal Bottleneck est indiqué en caractère gras. Le test indique la probabilité ( $p$ -value) de rejeter l'hypothèse nulle d'un équilibre entre la dérive et la mutation.

Population	Date	Modèle		
		IAM	SMM	TPM
Aayyun	Fév. 2006	0,844 - NS	0,906 - NS	0,843 - NS
Wadi Derbat 1		<b>0,047 - Excès</b>	0,500 - NS	0,078 - NS
Wadi Derbat 2	Mai 2007	0,063 - NS	0,156 - NS	0,094 - NS
Wadi Derbat 3		0,844 - NS	0,938 - NS	0,938 - NS
Wadi Derbat 4	Sept.2005	<b>0,008 - Excès</b>	0,055 - NS	<b>0,023 - Excès</b>
	Fév. 2006	0,594 - NS	0,953 - NS	0,594 - NS
	Mai 2007	<b>0,039 - Excès</b>	0,078 - NS	<b>0,039 - Excès</b>
Siginitti	Sept.2005	<b>0,031 - Excès</b>	0,438 - NS	0,094 - NS
	Fév. 2006	0,563 - NS	0,969 - NS	0,906 - NS
	Mai 2007	<b>0,031 - Excès</b>	0,438 - NS	0,094 - NS
	Nov. 2007	0,094 - NS	0,844 - NS	0,094 - NS
Had Barm	Fév. 2006	0,156 - NS	0,438 - NS	0,438 - NS

## II. Discussion

Tous les paramètres analysés indiquent que la diversité génétique dans nos populations de *B. pfeifferi* est faible. En effet, les valeurs de l'hétérozygotie attendue ( $H_e$ ) dans nos populations sont comprises entre 0 et 0,313. Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles enregistrées (0 à 0,39) dans 30 populations malgaches de *B. pfeifferi* (Charbonnel *et al.* 2002a) pour 8 loci microsatellites. Par contre, elles sont inférieures aux valeurs obtenues chez les espèces suivantes: *Bulinus truncatus* du Niger (0,20 à 0,75) avec 4 loci microsatellites (Viard *et al.* 1996), *Bulinus forskalii* du Cameroun (0,12 à 0,71) avec 6 loci microsatellites (Gow *et al.* 2004) et *Biomphalaria glabrata* du Venezuela (0,01 à 0,81) avec 7 loci microsatellites (Mavarez *et al.* 2002a).

Un si faible niveau de diversité s'explique généralement par de faibles effectifs efficaces sous l'influence de goulots d'étranglements démographiques. Dans le Dhofar, les populations de *B. pfeifferi* sont irrégulièrement soumises à des événements de grandes crues occasionnées par des pluies ponctuelles (Figure II-1-1-1). L'une des conséquences est la réalisation de goulots d'étranglement dont nous avons détecté le

signal en septembre 2005 et en mai 2007 (Figure II-1-1-1). Ces goulots d'étranglements démographiques se sont traduits par des effectifs efficaces faibles (<14 à 79) et, par conséquent, par une baisse de la diversité génétique. Ces résultats traduisent une dérive génétique importante au sein de nos populations.

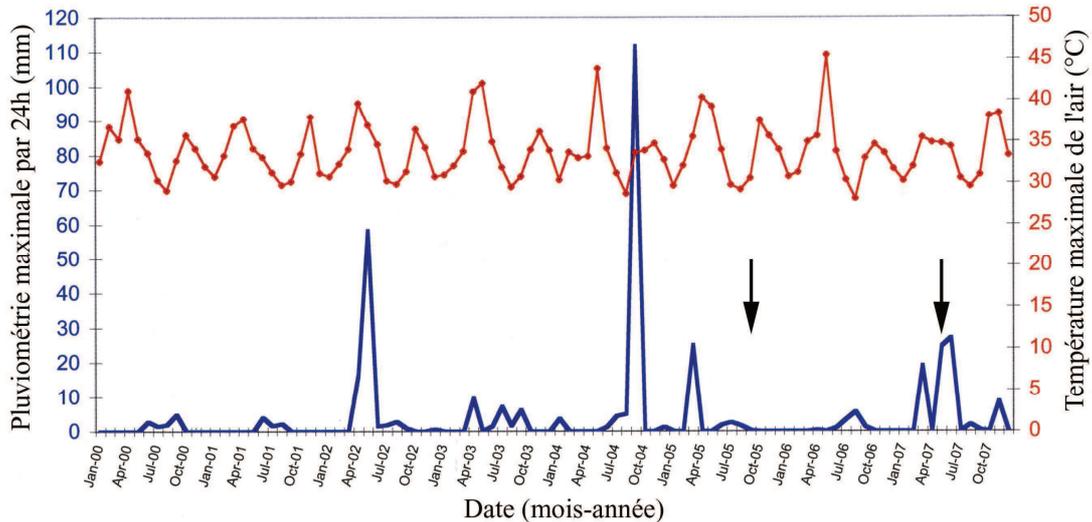


Figure II-1-1-1: Pluviométrie (bleue) et température maximales de l'air (rouge) enregistrées entre juin 2000 et décembre 2007 dans la région du Dhofar par la station météorologique de Salalah. Les valeurs supérieures à 20 mm/24h sont considérées comme des indices de crues. Les flèches indiquent les dates où un goulot d'étranglement démographique a été observé (septembre 2005 et mai 2007).

Nos résultats montrent que la diversité génétique ( $H_e$  et  $N_{all}$ ) des 7 populations de *B. pfeifferi* du Dhofar (échantillonnées 3 fois sur deux ans), basée sur l'étude des microsattellites, ne varie pas de manière significative (test de permutation Fstat) au cours du temps. Nos résultats sont concordants avec les résultats obtenus chez des populations malgaches de *B. pfeifferi* (Charbonnel *et al.* 2002b) et avec ceux obtenus chez 12 populations de *Bulinus truncatus* du Niger échantillonnées 3 fois sur 1 an et pour lesquelles les variations temporelles sont interprétées comme étant stables (Viard *et al.* 1997a). Par contre, ils diffèrent de ceux obtenus chez 9 populations de *B. pfeifferi* du Zimbabwe échantillonnées 4 fois sur 2 ans et utilisant des marqueurs RAPD qui montrent une variabilité temporelle très prononcée, particulièrement après une crue (Webster *et al.* 2001b).

Concernant les comparaisons entre les 3 massifs, nos résultats montrent que la diversité génétique ( $H_e$  et  $N_{all}$ ) des 17 populations de *B. pfeifferi* du Dhofar collectées en 2007, ne varie pas de manière significative. Ce résultat est appuyé par la comparaison

des paramètres de l'eau (voir Tableau II-1-1) qui ne révèle aucune différence significative entre massifs (Kruskal-Wallis;  $p > 0,05$ ).

Concernant les comparaisons en fonction de l'altitude, nos résultats montrent que la diversité génétique est significativement plus élevée dans les sites de moyenne altitude. La comparaison des paramètres de l'eau (voir Tableau II-1-1) ne révèle, par contre, aucune différence significative en relation avec l'altitude (Kruskal-Wallis;  $p > 0,05$ ). L'absence de gradient de diversité génétique des basses vers les hautes altitudes ou l'inverse ne permet pas d'expliquer ce résultat. Cependant, un suivi régulier et comparatif de la dynamique des populations de *B. pfeifferi* en basse, moyenne et haute altitudes pourrait permettre d'identifier les habitats qui offrent les conditions les plus optimales au développement des mollusques. En effet, une étude réalisée en République démocratique du Congo (Zaire) sur deux groupes de *B. pfeifferi* (plaine et montagne) ont montré des adaptations locales telle une fécondité plus élevée, une période de reproduction plus longue mais une durée de vie plus courte en plaine (Baluku & Loreau 1989).

La diversité génétique des *B. pfeifferi* entre les sites naturels et aménagés est significativement différente. L'échantillonnage de 2007 montre que les 11 populations des sites naturels ont une diversité génétique significativement plus élevée que celles des 7 sites aménagés. La différence n'est pas liée à la chimie de l'eau car la comparaison des paramètres de l'eau (voir Tableau II-1-1) entre sites naturels et aménagés ne révèle aucune différence significative (Kruskal-Wallis;  $p > 0,05$ ). Par contre, elle pourrait être liée à la diversité des niches écologiques (végétation, faune associée, profondeur, substrat, etc.) qu'offrirait les sites. Dans cette hypothèse, les sites naturels favoriseraient une meilleure diversité génétique. Il semble que l'action de l'Homme soit déterminante de manière directe ou indirecte dans l'appauvrissement génétique dans les sites aménagés. Il reste à déterminer comment cette action s'exerce sur les mollusques. Un travail comparatif entre sites aménagés et naturels, centré sur la dynamique des populations des mollusques, et des relevés d'indices de l'action de l'Homme sur les sites aménagés (perturbations physiques et chimiques) seraient susceptibles de donner des éléments de réponses à l'action directe. Quant à l'action indirecte de l'homme, la dynamique des populations pré- et post-crise dans les deux catégories de sites permettrait de tester l'hypothèse de la fragilité des sites aménagés

face aux évènements climatiques extrêmes responsables de la baisse des effectifs efficaces des populations. La recherche de nouveaux loci microsatellites polymorphes permettrait de calculer les effectifs efficaces et de rechercher des goulots d'étranglement dans les populations des sites aménagés pour lesquels nos données actuelles ne répondent pas aux exigences des calculs statistiques (nécessité d'au moins 4 loci polymorphes).

Dans le Dhofar, tous les sites étant permanents, la comparaison est délicate à faire avec les travaux centrés sur des habitats permanent et semi-permanents pour lesquels les auteurs ont obtenu des résultats contradictoires: la diversité génétique est plus élevée dans les sites semi-permanents chez *B. pfeifferi* du Zimbabwe (Webster *et al.* 2001a) et chez *B. truncatus* du Niger (Viard *et al.* 1996) et à l'opposé dans les sites permanents chez *B. pfeifferi* de Madagascar (Charbonnel *et al.* 2002a).

La diversité génétique des populations de *B. pfeifferi* entre les sites de transmission de parasites du genre *Schistosoma* (4 sites) et les sites où aucun mollusque n'a été trouvé parasité (14 sites) n'est pas significativement différente. Le Dhofar est une zone de très faible endémicité bilharzienne où les autorités sanitaires déploient de grands moyens pour l'éradication de la maladie et le diagnostic de tous les migrants venant de pays où la bilharziose est présente (Egypte, Soudan, etc.). Cette situation est très différente de celle de Madagascar (zone de forte endémicité bilharzienne) où une corrélation positive a été mise en évidence entre diversité génétique et populations infectées de *B. pfeifferi* (Charbonnel *et al.* 2002a).

La différence entre la diversité génétique des sites hébergeant des *B. pfeifferi* albinos et celles des sites contenant exclusivement des individus pigmentés n'est pas significative. Nous avons consacré le chapitre 2 de cette partie à l'étude de la structure génétique de l'albinisme.

Il existe un important déficit en hétérozygotes au sein des populations de *B. pfeifferi*. Les valeurs de  $F_{IS}$  sont très élevées et significatives (Tableau II-1-1-3). Les causes du déficit en hétérozygotes sont généralement l'autofécondation et l'effet Walhund. Dans notre cas, le déficit en hétérozygotes étant présent sur l'ensemble des loci polymorphes, il semble peu probable d'avoir un effet Walhund et l'autofécondation serait le facteur principal. Ce dernier est très élevé (Tableau II-1-1-3) et indique que *B. pfeifferi* pratique un régime de reproduction majoritairement autofécondant. Les

données du Dhofar ( $F_{IS}$ : 0,49 à 1 et  $s$ : 0,66 à 1) sont très proches de celles obtenues chez *B. pfeifferi* de Madagascar ( $F_{IS}$ : 0,73 à 1 et  $s$ : 0,84 à 1) (Charbonnel *et al.* 2002a), chez *B. truncatus* du Niger ( $F_{IS}$ : 0,74 à 0,97 et  $s$ : 0,85 à 0,98) (Viard *et al.* 1997a) et chez *Lymnaea truncatula* du Limousin (France) ( $F_{IS}$ : 0,64 à 1 et  $s$ : 0,75 à 0,90) (Meunier *et al.* 2004). Elles diffèrent de celles obtenues chez des espèces qui pratiquent essentiellement l'allofécondation comme *Biomphalaria glabrata* du Venezuela ( $F_{IS}$ : -0,20 à 0,2 et  $s$ : 0,00 à 0,33) (Mavarez *et al.* 2002a) et *Physa acuta* de Montpellier (France) ( $F_{IS}$ : 0,001 à 0,21 et  $s$ : 0,002 à 0,35) (Henry *et al.* 2005).

En conclusion, les résultats indiquent clairement que, outre les forts taux d'autofécondation observés, les populations de *B. pfeifferi* étudiées sont soumises à une forte dérive. Cette dérive est matérialisée par des événements de goulots d'étranglement démographique détectables dans certaines populations par la méthode du Bottleneck utilisée et illustrée par de faibles effectifs efficaces. Ceci expliquerait en grande partie les faibles niveaux de diversité génétique observés. Les résultats de cette analyse montrent que l'appartenance à un massif, les dates d'échantillonnages étudiées et le parasitisme n'ont aucune influence significative sur la diversité génétique. Par contre le type d'habitat peut avoir une influence significative sur la diversité génétique, les populations des sites naturels ont une diversité génétique plus élevée que les populations des sites aménagés.

***Sous-Chapitre 2:***  
***Différenciation génétique***



## I. Résultats

### A. Différenciation génétique spatiale

Une très forte différenciation génétique globale significative de *B. pfeifferi* du Dhofar ( $F_{ST} = 0,82$ ) est observée sur l'ensemble des populations étudiées (18 populations échantillonnées en mai 2007 en y incluant la population Aayyun (Ayu) échantillonnée en février 2006). Le test de permutation est significatif: sur 200 permutations réalisées, aucune valeur de  $F_{ST}$  n'est supérieure ou égale à la valeur réelle observée. Une forte différenciation globale est également observée dans chaque massif montagneux. Les tests de permutation indiquent que les différentes valeurs de  $F_{ST}$  sont toutes significatives. D'Ouest en Est, le  $F_{ST}$  global pour chacun des massifs montagneux est de 0,95 (massif Qamar), 0,63 (massif Wustah) et 0,98 (massif Samhan).

Toutes les paires de populations sont significativement différenciées (Tableau II-1-2-1) avec des valeurs de  $F_{ST}$  comprises entre 0,07 et 1. Les tests de permutation sont tous significatifs ( $p < 0,01$ ), à l'exception de la paire [Birin/Ankhar] où le  $F_{ST}$  n'est pas significatif ( $p > 0,05$ ). Il faut noter que même les populations qui ne sont pas complètement isolées (voir tableau II-1-1) comme celles de la vallée « Wadi Derbat/Siginitti » sont différenciées avec des valeurs de  $F_{ST}$  comprises entre 0,07 et 0,84.

Tableau II-1-2-1: Différenciation génétique ( $F_{ST}$ ) de toutes les paires de populations, soit 153 paires. L'analyse concerne 18 populations de *B. pfeifferi* du Dhofar échantillonnées en mai 2007 en y incluant la population Aayyun (Ayu) échantillonnée en février 2006. La première ligne et la première colonne indiquent les noms des populations. NS: non significatif. Les populations sont représentées par leur code (voir tableau II-1-2).

	Sar	Koh	Kha	Hot	Ayu	She	Ara	Ank	Tib	Bir	WD1	WD2	WD3	WD4	Sig	Has	LS	HB
Sar																		
Koh	0,36																	
Kha	1	0,91																
Hot	0,99	0,93	0,98															
Ayu	0,93	0,88	0,91	0,90														
She	1	0,95	1	0,98	0,72													
Ara	1	0,95	1	0,99	0,84	1												
Ank	1	0,96	1	0,99	0,82	1	1,00											
Tib	0,92	0,88	0,90	0,89	0,74	0,81	0,72	0,80										
Bir	0,99	0,95	0,99	0,98	0,79	0,97	0,96	NS	0,78									
WD1	0,82	0,78	0,79	0,78	0,36	0,48	0,59	0,60	0,59	0,58								
WD2	0,91	0,85	0,91	0,89	0,36	0,59	0,75	0,79	0,67	0,76	0,07							
WD3	0,91	0,87	0,92	0,91	0,71	0,79	0,84	0,85	0,72	0,83	0,40	0,50						
WD4	0,83	0,78	0,81	0,77	0,45	0,60	0,67	0,69	0,52	0,67	0,46	0,45	0,64					
Sig	0,83	0,80	0,81	0,78	0,47	0,54	0,65	0,67	0,52	0,66	0,24	0,27	0,48	0,41				
Has	1	0,96	1	0,99	0,80	1	1	1	0,85	0,97	0,51	0,72	0,84	0,70	0,58			
LS	1	0,97	1	0,99	0,92	1	1	1	0,87	0,99	0,79	0,91	0,90	0,82	0,78	1,00		
HB	0,99	0,95	0,99	0,98	0,84	0,97	0,98	0,98	0,82	0,96	0,68	0,80	0,84	0,73	0,72	0,98	0,98	

La représentation graphique de l'ACP (Analyse en Composante Principale) de l'ensemble des 18 populations échantillonnées est présentée dans la figure II-1-2-1. Elle montre une différenciation génétique spatiale des 18 populations étudiées. Les 2 premiers axes représentent 50,59% de l'inertie totale avec respectivement 35,35% et 15,24% d'inertie pour les axes 1 et 2. L'axe 1 (horizontal) marque assez nettement la différenciation des populations du massif Qamar par rapport aux autres populations. L'axe 2 (vertical) marque la différenciation entre les populations du massif Wustah (incluant la population de Had Barm (HB) du massif Samhan) et la population Lagga Shalyun du massif Samhan. La population Aayyun, située dans le massif Wustah versant nord, est génétiquement proche des populations du massif Wustah versant sud.

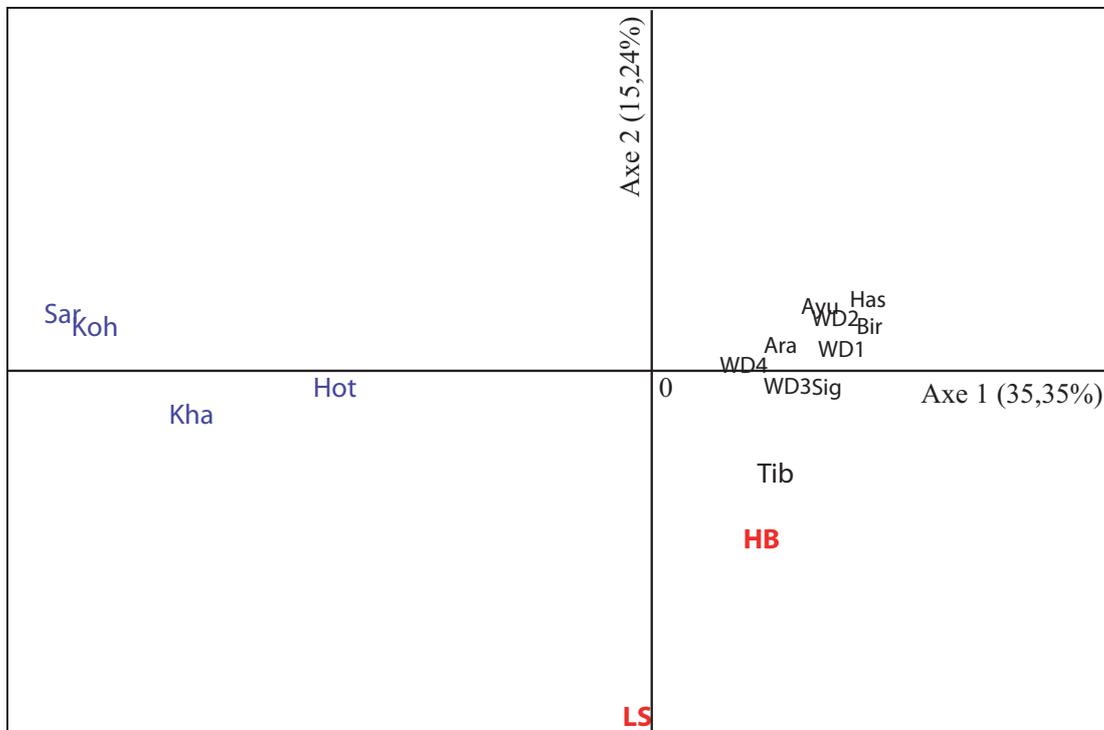


Figure II-1-2-1: Différenciation génétique de 18 populations de *B. pfeifferi* du Dhofar par analyse en composante principale basée sur les fréquences alléliques. Les couleurs symbolisent les 3 massifs montagneux (bleu: massif Qamar; noir: massif Wustah; rouge: massif Samhan). Les populations sont représentées par leur code (voir tableau II-1-2).

Le dendrogramme établi à partir des distances génétiques est présenté dans la figure II-1-2-2. Les valeurs de bootstrap (en pourcentages) sont faibles, à l'exception de celles du massif Qamar. A l'intérieur du massif Qamar, il y a des ramifications qui indiquent que les populations sont bien différenciées entre-elles, à l'exception de Sarfait et Kohood. Le dendrogramme indique qu'il existe une différenciation génétique entre les populations du massif Qamar et le reste de toutes les autres populations. La distinction entre les populations du massif Wustah (incluant la population de Had Barm du massif Samhan) et la population de Lagga Shalyun (voir ACP) n'est pas confirmée par cette analyse. Les clades formés respectivement par les populations du massif Wustah et du massif Samhan ne sont pas significatifs. Il est à noter que la proximité génétique entre les populations d'Ankhar et de Birin est confirmée par la valeur significative du bootstrap (67%).

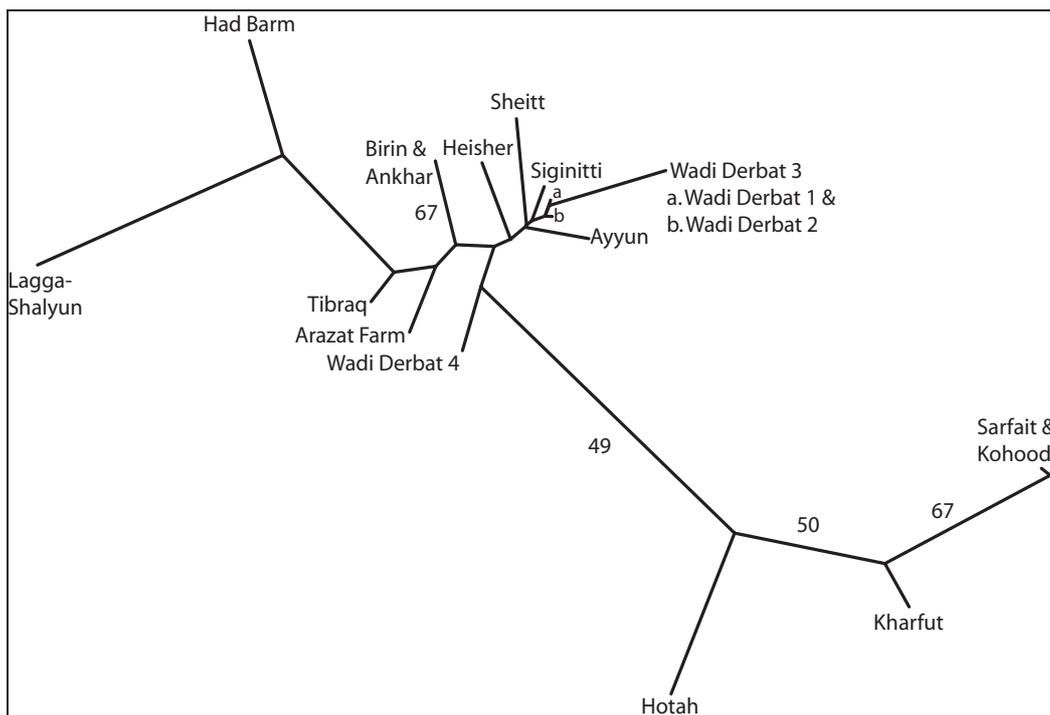


Figure II-1-2-2: Dendrogramme obtenu à partir des distances génétiques entre les 18 populations étudiées. Les chiffres indiquent les valeurs de bootstrap (nous avons indiqué uniquement les valeurs supérieures à 40%).

Le schéma général mis en évidence avec l'ACP et le dendrogramme se confirme avec les résultats de l'analyse de la variance moléculaire (AMOVA: réalisée sur 17

populations, Aayyun, versant nord, ayant été écarté pour cette analyse), avec une forte différenciation génétique significative ( $p < 0,05$ ) observée entre les massifs montagneux ( $F_{CT} = 0,50$ ) (Tableau II-1-2-2). La variance génétique totale observée est expliquée à 49,55% par une différenciation entre les massifs montagneux, à 37,29% par une différenciation intra-massifs et à 13,16% par une différenciation intrapopulations.

Tableau II-1-2-2: Analyse hiérarchique de la variance moléculaire (AMOVA) de la différenciation génétique spatiale globale de 17 populations de *B. pfeifferi* réparties dans 3 massifs montagneux du Dhofar.

Origine de la différenciation	Indice de fixation	Source de la variation	ddl	Somme des carrés	Variance	% de la variation	<i>p</i> -value
Trois massifs montagneux	$F_{CT} = 0,50$	Entre massifs	2	902,33	1,52	49,55	$< 0,05$
	$F_{SC} = 0,74$	Intra-massifs	14	995,06	1,14	37,29	$< 0,05$
	$F_{ST} = 0,87$	Intrapopulations	1047	421,73	0,40	13,16	$< 0,05$
		Total	1063	2319,12	3,06	100	

Cependant, l'analyse de la variance moléculaire de la différenciation génétique (1000 permutations) effectuée sur les massifs pris deux à deux (Figure II-1-2-3) nous montre deux résultats différents:

- ✓ une différenciation génétique significative ( $p < 0,05$ ) pour les deux paires de massifs [Qamar/Wustah] et [Wustah/Samhan],
- ✓ une différenciation génétique non significative ( $p > 0,05$ ) pour la paire [Qamar/Samhan] alors que les deux massifs sont les plus éloignés d'un point de vue géographique.

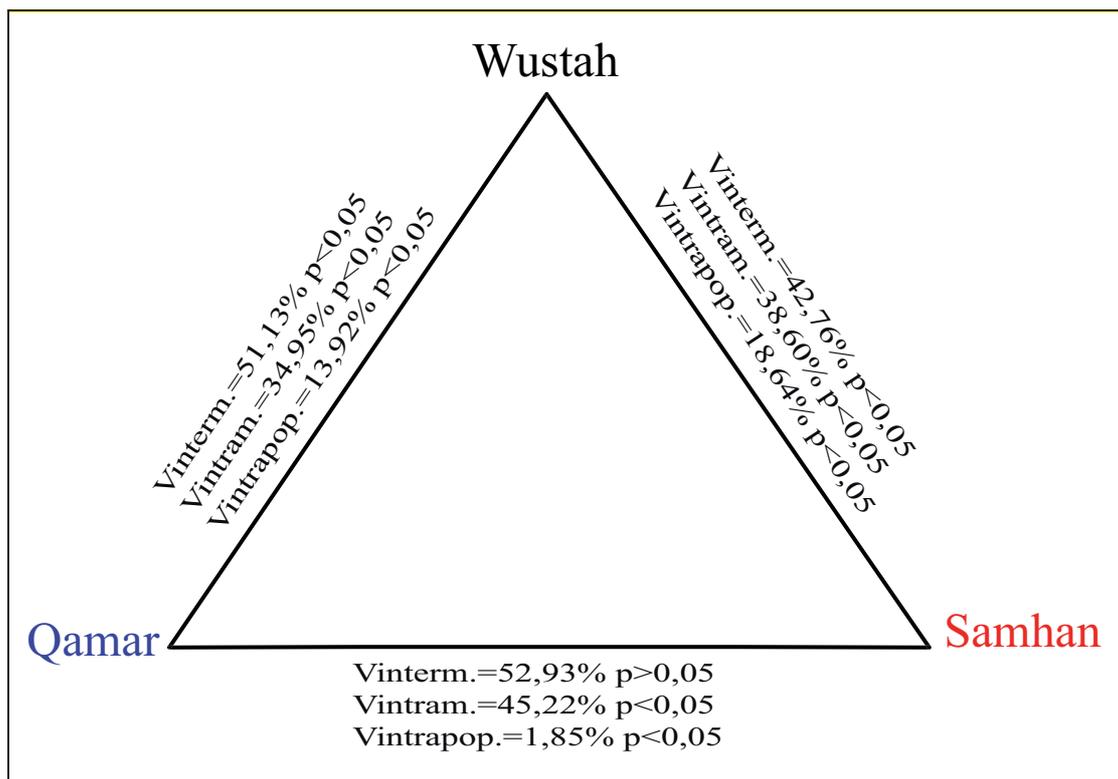


Figure II-1-2-3: Analyse hiérarchique de la variance moléculaire entre paires de massifs montagneux. Vinterm.: pourcentage de variation entre massifs; Vintram.: pourcentage de variation intra-massifs; Vintrapop.: pourcentage de variation intrapopulations.

Concernant le paramètre « catégorie du site » (aménagé versus naturel), il n'existe aucune différenciation génétique significative pour l'ensemble des 18 populations (Aayyun est incluse dans cette analyse). Cependant, en considérant uniquement les populations du massif Wustah, une différenciation génétique significative est repérée en fonction de la catégorie du site ( $F_{CT}=0,19$ : contribuant à 19,10% de la variance totale).

Tableau II-1-2-3: Analyse hiérarchique de la variance moléculaire (AMOVA) de la différenciation génétique spatiale des 18 populations du Dhofar et des populations du massif Wustah selon la catégorie du site (aménagé versus naturel).

Origine de la différenciation	Indice de fixation	Source de la variation	ddl	Somme des carrés	Variance	% de la variation	p-value
18 Populations du Dhofar	$F_{CT} = 0,03$	Entre catégories	1	168,52	0,08	3,32	0,17
	$F_{SC} = 0,82$	Intra-catégories	16	1786,82	1,84	79,09	< 0,05
	$F_{ST} = 0,82$	Intrapopulations	1092	447,47	0,41	17,60	< 0,05
		Total	1109	2402,81	2,33	100	
11 Populations du massif Wustah	$F_{CT} = 0,19$	Entre catégories	1	172,91	0,32	19,10	< 0,05
	$F_{SC} = 0,59$	Intra-catégories	9	461,43	0,80	47,72	< 0,05
	$F_{ST} = 0,67$	Intrapopulations	717	399,93	0,56	33,18	< 0,05
		Total	727	1034,28	1,68	100	

## B. Différenciation génétique temporelle

La différenciation génétique temporelle a été menée sur 7 populations de *B. pfeifferi* (Sheitt, Tibraq, Wadi Derbat 4, Siginitti, Hasheir, Lagga Shalyun et Had Barm) échantillonnées dans les massifs Wustah et Samhan 3 fois sur 2 ans. Les populations du massif Qamar ne sont pas concernées par cette analyse, elles n'ont été échantillonnées qu'une fois (en mai 2007). Trois groupes ont été constitués selon la date d'échantillonnage: le groupe de septembre 2005, de février 2006 et celui de mai 2007. La différenciation génétique temporelle a été analysée pour:

- ✓ les 7 populations des deux massifs Wustah et Samhan,
- ✓ les 5 populations du massif Wustah (Sheitt, Tibraq, Wadi Derbat 4, Siginitti et Hasheir),
- ✓ les 2 populations du massif Samhan (Lagga Shalyun et Had Barm).

Les valeurs de  $F_{ST}$  en fonction du temps sont présentées dans le Tableau II-1-2-4. Les tests de permutation montrent que la différenciation génétique pour les 3 dates d'échantillonnage (colonne global) n'est pas significative ou n'a pas pu être calculée (cas de Lagga Shalyun) pour quatre populations: Sheitt, Siginitti, Hasheir et Lagga Shalyun. Par contre, elle est significative pour les trois autres populations: Tibraq, Wadi Derbat 4 et Had Barm. La plus forte différenciation est observée chez la population de Tibraq ( $F_{ST}=0,45$ ) et la plus faible chez Had Barm ( $F_{ST}=0,15$ ).

La comparaison des paires de date montre que la différenciation génétique de WD4 est significative pour chacune des trois paires de dates testées alors qu'elle ne l'est que pour deux dates chez HB (entre septembre 2005 et février 2006 et entre février 2006 et mai 2007) et chez Tibraq (entre février 2006 et mai 2007 et entre septembre 2005 et mai 2007).

Tableau II-1-2-4: Valeurs de  $F_{ST}$  de chaque population de *B. pfeifferi* par paire de date d'échantillonnage et pour l'ensemble des dates (colonne global). Entre crochets, les intervalles de confiance. NS: non significatif. -: calcul impossible car monomorphisme.

Population	Sep.05–Fév.06	Fév.06–Mai.07	Sep.05–Mai.07	Global
Sheitt	NS	-	NS	NS
Tibraq	NS	0,53	0,46	0,45 [0,39- 0,49]
Wadi Derbat 4	0,16	0,40	0,09	0,22 [0,13 - 0,49]
Siginitti	NS	NS	NS	NS
Hasheir	NS	NS	NS	NS
Lagga Shalyun	-	-	-	-
Had Barm	0,15	0,21	NS	0,15 [0,05 - 0,33]

L'analyse de l'AMOVA (Tableau II-1-2-5) indique qu'il n'existe aucune différenciation génétique temporelle significative au niveau de l'ensemble des 7 populations testées (massifs Wustah et Samhan), au niveau des 5 populations du massif Wustah et également au niveau des 2 populations du massif Samhan. Les valeurs de  $F_{CT}$  ne sont pas significatives. Dans les trois cas, la structuration génétique observée est expliquée essentiellement par les variances intra-dates et intrapopulations.

Tableau II-1-2-5: Variance moléculaire hiérarchique (AMOVA) de la différenciation génétique temporelle (trois dates d'échantillonnage) de toutes les populations (massifs Wustah et Samhan), des populations du massif Wustah et des populations du massif Samhan.

Origine de la différenciation	Indice de fixation	Source de la variation	ddl	Somme des carrés	Variance	% de la variation	<i>p</i> -value
(7 populations) massifs Wustah et Samhan	$F_{CT} = -0,15$	Entre dates	2	10,83	-0,26	-14,68	1
	$F_{SC} = 0,77$	Intra-dates	18	1722,45	1,53	88,10	< 0,05
	$F_{ST} = 0,73$	Intrapopulations	1331	615,81	0,46	26,57	< 0,05
	Total		1351	2349,08	1,74	100	
(5 populations) massif Wustah	$F_{CT} = -0,16$	Entre dates	2	13,76	-0,21	-16,19	1
	$F_{SC} = 0,63$	Intra-dates	12	764,50	0,95	72,76	< 0,05
	$F_{ST} = 0,57$	Intrapopulations	1039	587,82	0,57	43,44	< 0,05
	Total		1053	1366,08	1,30	100	
(2 populations) massif Samhan	$F_{CT} = -1,09$	Entre dates	2	1,76	-1,08	-108,74	0,92
	$F_{SC} = 0,95$	Intra-dates	3	264,17	1,97	199,04	< 0,05
	$F_{ST} = 0,90$	Intrapopulations	292	27,99	0,10	9,70	< 0,05
	Total		297	293,93	0,99	100	

### C. Corrélation distance géographique/distance génétique

L'hypothèse d'un isolement génétique par la distance a été testée pour les 17 populations du Dhofar échantillonnées en mai 2007 et également pour les populations des massifs Qamar et Wustah. L'analyse n'a pas été réalisée pour le massif Samhan car il ne contient que deux populations. Le test de Mantel a été utilisé pour rechercher la significativité de la corrélation entre la matrice des distances génétiques et celle des distances géographiques. Les résultats de l'analyse sont présentés dans la figure II-1-2-4. La distance géographique entre deux populations est la distance à vol d'oiseau mesurée à partir de la carte satellite du Dhofar sur Google Earth. Les matrices de distances génétiques et géographiques ayant servi pour l'analyse de l'isolement par la distance sont présentées en annexe II-1-2-1.

Si l'on considère l'ensemble des populations échantillonnées dans les 3 massifs montagneux, le test de Mantel indique qu'il existe une relation linéaire positive significative entre la matrice de distances génétiques et la matrice de distances géographiques. Une relation linéaire positive significative entre la distance génétique et

la distance géographique est présente également dans le massif Qamar comme le montre le test de Mantel. Par contre, lorsque l'on considère les populations du massif Wustah, la corrélation entre distances génétiques et distances géographiques n'est plus significative ( $p > 0,05$ ).

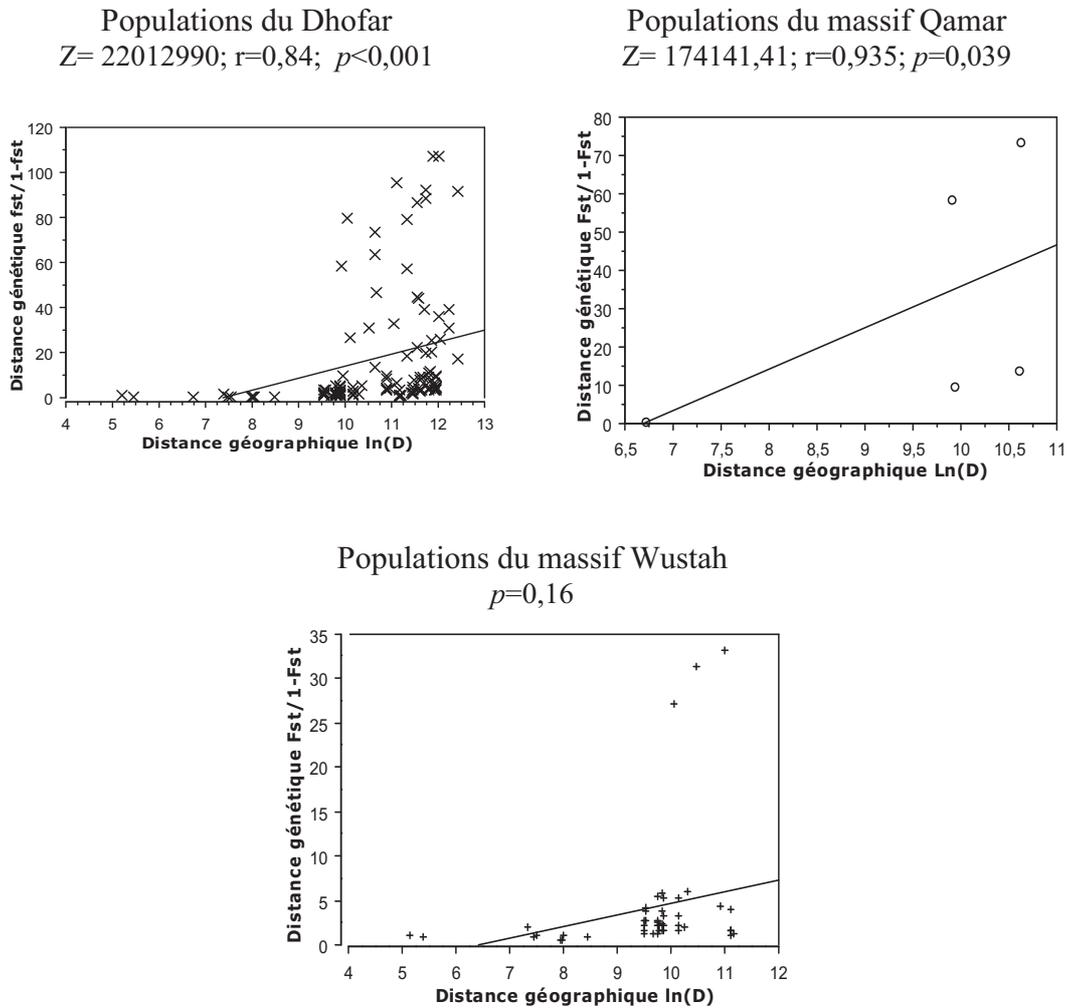


Figure II-1-2-4: Patrons d'isolement par la distance inter et intra-massifs pour les populations du Dhofar (17 populations), du massif Qamar (4 populations) et du massif Wustah (11 populations).

#### **D. Taux de migration entre les populations**

Les simulations réalisées à l'aide des données du Massif Wustah (11 populations, Mai-2007) indiquent que l'on peut considérer une migration significative à partir du taux de 1,67% d'une population vers une autre. Les résultats montrent que les taux de

migration sont toujours inférieurs à 1,67%, à l'exception de WD1 et WD2 où l'analyse indique un taux de migration de 23,17% des individus de WD1 vers WD2.

## II. Discussion et conclusion

Nos résultats indiquent que les populations de *B. pfeifferi* du Dhofar analysées de manière globale ou intermassifs ou interpopulations (aussi bien pour les plus éloignées (Sar-HB: 242 km) que pour les plus proches (WD1-WD2: 0,08 km) sont fortement différenciées génétiquement. Le  $F_{ST}$  global est de 0,82, les  $F_{ST}$  intramassifs sont de 0,95 (Qamar), 0,63 (Wustah) et 0,98 (Samhan) et les  $F_{ST}$  interpopulations (153 paires de comparaisons) sont compris entre 0,07 et 1 avec uniquement deux valeurs en dessous de 0,25 et une seule valeur non significative (entre les populations Bir et Ank).

Un tel niveau de différenciation a été mis en évidence chez quelques mollusques d'eau douce: *B. pfeifferi* de Madagascar avec un  $F_{ST}$  global de 0,80 et des  $F_{ST}$  interpopulations compris entre 0,12 et 1 dans une échelle géographique comprise entre quelques mètres et 700 km (Charbonnel *et al.* 2002a); *B. pfeifferi* du Kenya avec un  $F_{ST}$  global de 0,58 basé sur des marqueurs enzymatiques (Bandoni *et al.* 1990); *B. truncatus* du Niger avec un  $F_{ST}$  global de 0,38 (Viard *et al.* 1996); *B. forskalii* du Cameroun avec un  $F_{ST}$  global de 0,46 et des  $F_{ST}$  interloci compris entre 0,31 et 0,61 (Gow *et al.* 2004); *B. glabrata* d'Amérique du Sud et des Antilles avec un  $F_{ST}$  global de 0,59 et des  $F_{ST}$  interpopulations compris entre 0,07 et 1 (Mavarez *et al.* 2002b) et *B. glabrata* du Venezuela avec un  $F_{ST}$  global de 0,23 et des  $F_{ST}$  interpopulations compris entre 0,03 et 0,76 (Mavarez *et al.* 2002a). Ces valeurs de  $F_{ST}$  sont proches de ce que l'on peut rencontrer chez les plantes qui pratiquent préférentiellement l'autofécondation comme *Tacca chantrieri* avec un  $F_{ST}$  de 0,68 (Zhang *et al.* 2006). Ces résultats reflètent un isolement important des populations avec des flux de gènes limités voire absents. La population de Lagga Shalyun illustre parfaitement cet isolement des populations. En effet, cette population possède un allèle fixé sur le locus Bpf12, totalement absent dans les autres populations. Un flux de gènes limité entre populations laisse la place à la dérive comme principal moteur de structuration génétique. Ceci est soutenu par l'absence de migration. En effet, les nos analyses montrent que les taux de migration entre les différentes populations sont négligeables (inférieurs à la valeur limite de

1,67%) dans tous les cas, sauf un. Une telle absence de migration entre les populations peut expliquer les niveaux de différenciation génétique spatiale observée ici. Le seul cas de migration enregistré s'effectue de WDI vers WD2 à un taux exceptionnel de 23,17%. Ces deux populations, qui ne sont séparées que de 80 m, pourraient être connectées en cas de crue et la première est située en amont de la seconde. Cette hypothèse semble renforcée par le faible niveau de différenciation observée entre ces deux populations ( $F_{ST} = 0,07$ ) (Tableau II-1-2-1). L'absence de migration entre Siginitti et WD1 (2,88 km), entre WD2 et WD3 (180 m) et entre WD3 et WD4 (1,58 km) malgré leur appartenance à une même vallée montre l'existence d'un seuil de distance dans lequel peut s'inscrire la migration (cas de WD1-WD2).

Il est difficile d'expliquer l'absence de différenciation génétique entre les populations de Birin et Ankhar, alors qu'aucune migration n'est observée entre elles. Ces deux populations, distantes de 620 m à vol d'oiseau, n'ont aucune connexion géographique et les échanges entre elles sont faibles comme l'indique les taux de migration. Il est probable qu'une colonisation ou une migration exceptionnelle récente de l'un des deux sites se soit produite à partir de l'autre.

De plus, la nature des sites ne favorise pas la dispersion des mollusques comme cela se passe chez *B. glabrata* au Lac de Valencia au Venezuela (Mavarez *et al.* 2002a). En effet, dans le Dhofar, les sites sont de taille réduite, isolés, et les éléments qui favorisent la dispersion (plantes aquatiques flottantes) sont absents. Il s'ajoute à cela des événements climatiques extrêmes qui se produisent de manière aléatoire et diminuent la taille de l'effectif efficace des populations.

Les résultats de l'AMOVA montrent que la différenciation entre les massifs contribue plus à la variance totale que la différenciation au sein des massifs et/ou au sein des populations. Nous sommes en présence d'un isolement génétique par la distance dans lequel les flux géniques sont limités. Les résultats du test de Mantel montrent qu'il existe une corrélation positive significative entre les distances génétiques et les distances géographiques entre les paires de populations d'Ouest en Est. Toutefois, bien que le schéma général d'un isolement par la distance soit admis à l'échelle de la région, il n'en est pas de même à l'intérieur de chaque massif. Les résultats montrent que le test de Mantel est significatif dans le massif Qamar et pas dans le massif Wustah. L'absence d'un isolement par la distance dans le massif Wustah peut-être expliqué par

le fait que c'est le seul massif où l'on a à la fois des populations totalement isolées, situées dans des vallées différentes, et des populations potentiellement connectables, situées dans les mêmes vallées (exemple Sig, WD1, WD2, WD3 et WD4). En effet, une distance géographique courte à vol d'oiseau n'est pas un gage d'échange génétique entre deux populations de vallées différentes. Par contre, une distance géographique plus longue à vol d'oiseau serait favorable aux échanges génétiques entre deux populations d'une même vallée car les migrations seraient plus faciles.

Dans nos résultats, aucune différenciation génétique temporelle globale (trois dates d'échantillonnage sur deux ans) n'a été trouvée (voir AMOVA, tableau II-1-2-5). Ces résultats diffèrent de ceux de Webster *et al.* (2001b) qui indiquent qu'il existe une forte différenciation temporelle globale des populations zimbabwéennes de *B. pfeifferi*, échantillonnées 4 fois entre août 2005 et avril 2006: les populations étudiées n'étaient pas isolées et la différenciation temporelle était expliquée par les fortes migrations enregistrées. Cependant, en analysant la différenciation génétique entre les trois dates d'échantillonnage pour chacune de nos populations, nos résultats montrent qu'il existe une différenciation génétique significative pour la moitié des populations testées: Tib, WD4 et HB, avec des valeurs respectives de  $F_{ST}$  de 0,45, 0,22 et 0,15 (Tableau II-1-2-4). En absence de migration, une différenciation génétique temporelle d'une population peut être expliquée par la dérive, laquelle est importante dans nos populations. Ces résultats sont en accord avec ceux de Charbonnel *et al.* (2002b) sur des populations malgaches de *B. pfeifferi*, bien que non isolées (5 échantillonnages de novembre 1998 à octobre 2000). Ces auteurs indiquent qu'il existe une différenciation temporelle intrapopulations ( $F_{ST}$  entre 0,08 et 0,32) influencée par le type d'habitat; une plus forte différenciation temporelle était observée dans les habitats fermés que dans les habitats ouverts. Dans notre étude, la différenciation temporelle intrapopulations est rencontrée pour des populations isolées, non influencées par la migration mais plutôt influencées par la catégorie du site (aménagés ou naturels).

Nos résultats sont en relation avec la prédiction que de très hauts niveaux de différenciation entre populations sont liés aux forts taux d'autofécondation et aux goulots d'étranglement que subissent les populations, augmentant ainsi l'impact de la dérive sur la structure génétique. Des travaux menés sur la plante préférentiellement autogame, *Capsella rubella*, ont montré que le passage de l'allofécondation (*Capsella*

*grandiflora*) à l'autofécondation était récent (20000 ans) et associé à une brutale réduction de l'effectif efficace lié à un sévère goulot d'étranglement (Foxe *et al.* 2009). Ces auteurs ont émis l'hypothèse que l'autofécondation aurait pour origine l'émergence de nouveaux habitats après la dernière glaciation et l'expansion de l'agriculture. Leurs travaux suggèrent que la sélection naturelle pour l'assurance reproductive (Baker's Law, Stebbins 1957) pourrait être à l'origine des évolutions morphologiques majeures et de la spéciation sur une échelle de temps réduite.

La loi de Baker propose que pour des plantes qui se dispersent à longue distance l'auto-compatibilité permet d'établir une colonie reproductrice à partir d'une seule graine par rapport à l'auto-incompatibilité. Cette loi est souvent invoquée comme facteur responsable de l'évolution de l'autofécondation.



**CHAPITRE 2:**

***Albinisme: Diversité et  
différenciation génétique***



## Introduction

L'albinisme est une maladie génétique, généralement à transmission autosomique récessive, causée par un dysfonctionnement de la synthèse de la mélanine, pigment responsable de la coloration des téguments. L'albinisme est présent dans de nombreux groupes taxonomiques, mais les données sur les fréquences de ce phénotype dans les populations naturelles restent rares et limitées principalement aux amphibiens et mammifères. Les taux maximaux en populations naturelles ont été signalés chez la salamandre pourpre *Gyrinophylus porphyriticus* avec 2-3% d'albinisme total (Brandon & Rutherford 1967) et chez la rainette *Pseudacris triseriata* avec 7-12% d'albinisme total (Corn 1986). Chez les mammifères, les taux maximaux d'albinisme total ont été signalés pour une espèce de chauve-souris *Hipposideros diadema nicobarensis* (Chiroptera) avec 0,2% (Aul & Marimuthu 2006) et pour une population humaine africaine avec 0,02% (Hong *et al.* 2006).

Chez les mollusques d'eau douce, des cas isolés d'albinisme ont été reportés pour quelques espèces, en particulier *Physa heterostropha* (Dillon & Wethington 1992) et *Biomphalaria tenagophila* (Rosa *et al.* 2004). Dans la présente étude, nous avons observé un taux exceptionnellement élevé d'albinisme en population naturelle chez *B. pfeifferi* et qui peut atteindre près de 50% (Mouahid *et al.* Accepté; Annexe 2). Les mollusques albinos ont été rencontrés conjointement avec des mollusques pigmentés uniquement dans deux sites sur les 18 étudiés dans la région du Dhofar en Oman: Siginitti et Tibraq au sein du massif Wustah (Figure II-2-1).



Figure II-2-1: *B. pfeifferi* pigmentés et albinos dans les conditions naturelles à Tibraq.

L'objectif de ce chapitre est d'analyser comparativement, à l'aide de marqueurs microsatellites, la structure génétique spatiotemporelle des morphes pigmenté et albinos de *B. pfeifferi* de Siginitti et de Tibraq.

## I. Echantillonnage

Les *B. pfeifferi* pigmentés et albinos utilisés dans la présente étude sont issus de la population de Siginitti échantillonnée en septembre 2005, février 2006, mai et novembre 2007 et de la population de Tibraq échantillonnée en septembre 2005, février 2006 et mai 2007. Tous les mollusques utilisés sont issus directement des sites étudiés, ils ne sont pas nés au laboratoire. Le nombre de mollusques utilisés dans chaque échantillon est présenté dans le tableau II-2-1.

Tableau II-2-1: Population, morphe, date de prélèvement, code de l'échantillon et nombre de *B. pfeifferi* analysés (N).

Population	Morphe	Date	Code	N
Siginitti	Pigmenté	Sept.-2005	SigP Sept.-05	36
		Fév.-2006	SigP Fév.-06	30
		Mai-2007	SigP Mai-07	60
		Nov.-2007	SigP Nov.-07	30
	Albinos	Sept.-2005	SigA Sept.-05	35
		Fév.-2006	SigA Fév.-06	30
		Mai-2007	SigA Mai-07	36
		Nov.-2007	SigA Nov.-07	30
Tibraq	Pigmenté	Sept.-2005	TibP Sept.-05	30
		Fév.-2006	TibP Fév.-06	30
		Mai-2007	TibP Mai-07	30
	Albinos	Mai-2007	TibA Mai-07	30

## II. Résultats

### A. Polymorphisme des loci

Le polymorphisme des 9 loci microsatellites est présenté dans le tableau II-2-2. Le locus le plus polymorphe est Bpf8 avec 6 allèles et 5 loci (Bpf4, Bpf12, u-2, u-7 et  $\mu$ Bg1) sont monomorphes.

Tableau II-2-2: Polymorphisme global des 9 loci microsatellites pour les morphes pigmenté et albinos de Siginitti et de Tibraq. L'intervalle de taille indique la taille du plus petit et du plus grand allèle en paires de base.

<b>Locus</b>	<b>Intervalle de taille</b>	$N_{tot}$
Bpf4	317	1
Bpf8	201-221	6
Bpf9	258-270	4
Bpf10	261-269	4
Bpf12	334	1
u-2	140	1
u-7	244	1
$\mu$ Bg1	165	1
Bg $\mu$ 16	113-135	3

$N_{tot}$  désigne le nombre total d'allèles.

### **B. Déséquilibre de liaison**

Parmi l'ensemble des 9 loci, le déséquilibre de liaison n'a été estimé que pour les paires de loci ayant au minimum trois allèles chacun. Il s'agit des loci Bpf8, Bpf9, Bpf10 et Bg $\mu$ 16 (voir tableau II-2-2). Le déséquilibre de liaison a été testé sur les morphes pigmentés et albinos de *B. pfeifferi* de Siginitti et de Tibraq à chaque date d'échantillonnage. Le calcul a pu se faire sur 50 paires de loci parmi les 432 paires possibles (un locus avec allèle fixé ne permet pas de faire les calculs). Les valeurs sont significatives pour 16 paires ( $p < 0,05$ ) et non significatives pour 34 paires ( $p > 0,05$ ). Cependant, en tenant compte de la correction de Bonferroni (Rice, 1989) la  $p$ -value de référence ajustée devient 0,000116 ( $0,05/432$ ); dans cette situation, aucun échantillon ne manifeste un déséquilibre de liaison.

### **C. Fréquences alléliques**

Les fréquences alléliques des morphes pigmenté et albinos de *B. pfeifferi* Siginitti et Tibraq étudiées sur les 9 loci sont présentées en annexe II-2-1. L'analyse des fréquences alléliques ne montre aucun allèle fixé marqueur de l'albinisme. Si l'on compare les deux morphes au sein de Siginitti, les allèles non fixés 221 (Bpf8) et 270 (Bpf9) sont présents uniquement chez les pigmentés et l'allèle 261 (Bpf10) n'est présent que chez les albinos. Il faut signaler que ces allèles ont des fréquences faibles ( $< 0,2$ ). A Tibraq, trois allèles non fixés 265 et 269 (Bpf10) et 131 (Bg $\mu$ 16) sont présents

uniquement chez les pigmentés avec une forte fréquence pour l'allèle 265 et une faible fréquence ( $<0,2$ ) pour les deux autres.

#### D. Paramètres de la diversité génétique

Les indices de diversité génétique calculés pour les deux morphes pigmenté et albinos des sites de Siginitti et de Tibraq sont présentés dans le tableau II-2-3. Une faible variabilité génétique est observée dans les deux morphes. Le nombre de loci polymorphes à Siginitti est de 4 pour le morphe pigmenté et varie de 2 à 4 pour le morphe albinos. A Tibraq, il varie de 2 à 3 pour le morphe pigmenté et il est de zéro pour le morphe albinos. En effet, l'échantillon TibA Mai-07 est monomorphe sur l'ensemble des microsatellites. Le nombre d'allèles par locus et par échantillon à Siginitti varie entre 1,67 et 1,89 pour le morphe pigmenté et entre 1,33 et 1,67 pour le morphe albinos. A Tibraq, il varie entre 1,22 et 1,33 pour le morphe pigmenté et il est de 1 pour le morphe albinos. Le taux d'hétérozygotie observé à Siginitti varie entre 0 et 0,026 pour le morphe pigmenté et entre 0,004 et 0,025 pour le morphe albinos. A Tibraq, il varie entre 0 et 0,015 pour le morphe pigmenté et il est de 0 pour le morphe albinos. Le taux d'hétérozygotie attendu à Siginitti varie entre 0,152 et 0,191 pour le morphe pigmenté et entre 0,018 et 0,078 pour le morphe albinos. A Tibraq, il varie entre 0,028 et 0,12 pour le morphe pigmenté et il est de 0 pour le morphe albinos.

Tableau II-2-3: Paramètres de la diversité génétique chez les morphes pigmenté et albinos de Siginitti et de Tibraq.

Echantillon	<i>N<sub>pol</sub></i>	<i>N<sub>all</sub></i>	<i>H<sub>o</sub></i>	<i>H<sub>e</sub></i>	<i>F<sub>IS</sub></i>	<i>s</i>
SigP Sept.-05	4	1,67	0,009 (0,020)	0,178 (0,235)	0,949	0,974
SigP Fév.-06	4	1,78	0,000 (0,000)	0,152 (0,227)	1,000	1,000
SigP Mai-07	4	1,89	0,026 (0,033)	0,191 (0,265)	0,867	0,929
SigP Nov.-07	4	1,67	0,000 (0,000)	0,156 (0,260)	1,000	1,000
SigA Sept.-05	4	1,67	0,006 (0,019)	0,070 (0,122)	0,912	0,954
SigA Fév.-06	2	1,33	0,004 (0,011)	0,043 (0,092)	0,917	0,957
SigA Mai-07	4	1,56	0,025 (0,035)	0,078 (0,095)	0,691	0,817
SigA Nov.-07	3	1,33	0,004 (0,011)	0,018 (0,029)	0,800	0,889
TibP Sept.-05	2	1,22	0,000 (0,000)	0,040 (0,079)	1,000	1,000
TibP Fév.-06	3	1,33	0,015 (0,044)	0,028 (0,046)	0,487	0,655
TibP Mai-07	2	1,33	0,000 (0,000)	0,120 (0,242)	1,000	1,000
TibA Mai-07	0	1,00	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	-	-

*N<sub>pol</sub>*: nombre de loci polymorphes. *N<sub>all</sub>*: nombre moyen d'allèles par locus; *H<sub>o</sub>*: hétérozygotie observée; *H<sub>e</sub>*: hétérozygotie attendue; *F<sub>IS</sub>*: coefficient de consanguinité; *s*: taux d'autofécondation. L'écart-type est indiqué entre parenthèse. -: la population est monomorphe, le *F<sub>IS</sub>* ne peut pas être calculé.

Si l'on considère l'ensemble des 12 échantillons, la comparaison des niveaux moyens de *He* (Fstat 15 000 permutations) montre que ce paramètre est significativement plus grand chez le morphe pigmenté (0,137) que chez le morphe albinos (0,045) ( $p=0,0364$ ). Si l'on considère l'ensemble des échantillons (sauf TibP Sept.-05 et TibP Fév.-06), la comparaison des niveaux moyens de *He* (Fstat 15 000 permutations) montre que ce paramètre est significativement plus grand chez le morphe pigmenté (0,170) que chez le morphe albinos (0,045) ( $p=0,0075$ ). Cette différence est comparable à celle obtenue pour le seul site de Siginitti avec des valeurs de *He* respectives de 0,178 et de 0,056 pour le morphe pigmenté et le morphe albinos (Fstat 15 000 permutations;  $p=0,0044$ ).

Si l'on considère l'ensemble des 12 échantillons, la comparaison des niveaux moyens de *Nall* (Fstat 1000 permutations) montre que ce paramètre n'est significativement différent entre le morphe pigmenté (1,548) et le morphe albinos (1,370) ( $p>0,05$ ). Si l'on considère l'ensemble des échantillons (sauf TibP Sept.-05 et TibP Fév.-06), la comparaison des niveaux moyens de *Nall* (Fstat 15 000 permutations) montre que ce paramètre n'est pas significativement différent entre le morphe pigmenté (1,656) et le morphe albinos (1,370) (Fstat 15 000 permutations;  $p>0,05$ ). Par contre, la différence entre les deux morphes devient significative pour le seul site de Siginitti avec des valeurs de *Nall* respectives de 1,736 et de 1,462 pour le morphe pigmenté et le morphe albinos (Fstat 15 000 permutations;  $p=0,0235$ ).

Les valeurs du  $F_{IS}$  à Siginitti varient entre 0,867 et 1 pour le morphe pigmenté et entre 0,691 et 0,917 pour le morphe albinos. A Tibraq, elles varient entre 0,487 et 1 pour le morphe pigmenté (Tableau II-2-3). La comparaison des valeurs du  $F_{IS}$  pour l'ensemble des échantillons entre les morphes pigmenté (0,931) et albinos (0,818) montre que les différences ne sont pas significatives (Fstat 15 000 permutations;  $p>0,05$ ). La comparaison des valeurs du  $F_{IS}$  pour l'ensemble des échantillons (sauf TibP Sept.-05 et TibP Fév.-06) entre les morphes pigmenté (0,940) et albinos (0,818) montre que les différences sont significatives (Fstat 15 000 permutations;  $p=0,042$ ). La comparaison des valeurs du  $F_{IS}$  à Siginitti entre les morphes pigmenté (0,932) et albinos (0,817) montre que les différences ne sont pas significatives (Fstat 15 000 permutations;  $p>0,05$ ).

Le taux d'autofécondation «  $s$  » est très élevé. Il est compris entre 0,93 et 1 pour le morphe pigmenté et entre 0,82 et 0,96 pour le morphe albinos (Tableau II-2-3). La différence n'est pas significative (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

### ***E. Différenciation génétique***

La différenciation génétique  $F_{ST}$  a été estimée entre les deux morphes dans chaque site pour chaque date et entre sites pour un même morphe. Elle a été également estimée au niveau temporel pour un même site et pour un même morphe. Le morphe albinos de Tibraq n'a été découvert qu'une seule fois dans ce site et n'a donc pas fait l'objet de l'étude temporelle. La significativité de tous les  $F_{ST}$  a été testée à l'aide des tests de permutation des individus entre les morphes pour la différenciation inter-morphe et entre les dates pour la différenciation temporelle.

Une forte différenciation a été observée entre les deux morphes dans chacun des sites pour chaque date d'échantillonnage (Tableau II-2-4). Les tests de permutation sont tous significatifs (sur 200 permutations réalisées, aucune valeur de  $F_{ST}$  n'est supérieure ou égale à la valeur réelle observée) et confirment la forte différenciation des morphes. Il y a une tendance à l'augmentation de la différenciation génétique entre les deux morphes de Siginitti entre septembre 2005 et novembre 2007 mais elle n'est pas significative. Les valeurs de  $F_{ST}$  entre sites pour un même morphe sont significativement différenciées, aussi bien pour le morphe pigmenté que pour le morphe albinos (Tableau II-2-4).

Tableau II-2-4: Valeurs de  $F_{ST}$  entre les morphes pigmenté et albinos du même site pour chaque date d'échantillonnage (diagonale) et entre sites pour un même morphe à la même date (en grisé).

	SigP Sept.-05	SigP Fév.-06	SigP Mai-07	SigP Nov.-07	TibA Mai-07
SigA Sept.-05	0,365				
SigA Fév.-06		0,482			
SigA Mai-07			0,420		0,875
SigA Nov.-07				0,639	
TibP Mai-07			0,549		0,358

A Siginitti, au niveau temporel et pour les morphes pigmenté et albinos, 2/6 et 5/6  $F_{ST}$  sont non significatifs et les autres valeurs de  $F_{ST}$  sont significatives mais faibles (Tableau II-2-5). La valeur de  $F_{ST}$  globale est faible mais significative pour le morphe pigmenté et elle est non significative pour le morphe albinos. A Tibraq, au niveau

temporel et pour le morphe pigmenté, toutes les valeurs de  $F_{ST}$  sont élevées et significatives. Une forte différenciation globale significative est observée.

Tableau II-2-5: Valeurs de  $F_{ST}$  pour la différenciation temporelle pour chaque morphe pigmenté et albinos.

	Sept.-05/ Fév.-06	Mai-07/ Nov.-07	Fév.-06/ Mai-07	Sept.-05/ Mai-07	Fév.-06/ Nov.-07	Sept.-05/ Nov.-07	Global
SigP	NS	NS	0,045	0,050	0,077	0,107	0,042 [0,024-0,056]
SigA	NS	NS	NS	NS	NS	0,058	NS
TibP	0,693		0,508	0,568			0,424 [0,270-0,445]

SigP: Siginitti pigmenté; SigA: Siginitti albinos; TibP: Tibraq pigmenté. NS: non significatif. Entre crochets, intervalles de confiance.

L'ACP basée sur les fréquences alléliques des morphes pigmenté et albinos à Siginitti et à Tibraq (12 échantillons) est présentée dans la figure II-2-2. Les 2 premiers axes représentent 84,64% de l'inertie totale avec respectivement 55,62% et 29,02% d'inertie pour l'axe 1 et 2. L'axe 1 marque nettement la différenciation entre les échantillons de Siginitti et de Tibraq. L'axe 2 marque la différenciation entre les morphes pigmenté et albinos au sein de chaque site mais de façon plus marquée à Siginitti. Il marque également la différenciation, au sein du morphe pigmenté dans chaque site, entre les échantillons de 2005 et 2006 et ceux de 2007.

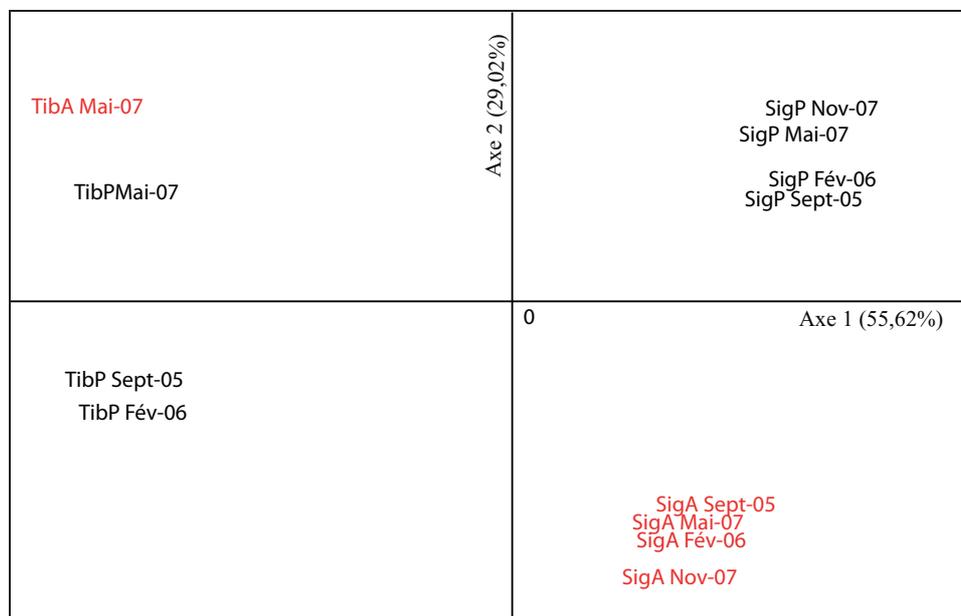


Figure II-2-2: ACP basée sur les fréquences alléliques des morphes pigmenté (en noir) et albinos (en rouge) à Siginitti (SigP et SigA) et à Tibraq (TibP et TibA). Les chiffres indiquent la date d'échantillonnage.

Les distances génétiques de Nei (1978) entre les morphes pigmenté et albinos du même site et pour chaque date d'échantillonnage sont présentées dans le tableau II-2-6. Il y a une tendance à l'augmentation de la distance génétique entre les deux morphes de Siginitti au cours du temps.

Tableau II-2-6: Valeurs des distances génétiques (Nei 1978) entre les morphes pigmenté et albinos du même site et pour chaque date d'échantillonnage (diagonale) et entre sites pour un même morphe à la même date (en grisé).

	SigP Sept.-05	SigP Fév.-06	SigP Mai-07	SigP Nov.-07	TibA Mai-07
SigA Sept.-05	0,089				
SigA Fév.-06		0,110			
SigA Mai-07			0,136		0,381
SigA Nov.-07				0,191	
TibP Mai-07			0,287		0,036

Le tableau II-2-7 présente le temps de divergence, exprimé en nombre de générations, entre les deux morphes selon l'année considérée. Quel que soit le site considéré, la divergence entre les deux morphes est récente et elle l'est 3,5 fois plus dans le site de Tibraq. A Siginitti, le temps de divergence entre les morphes s'accroît au fil du temps: entre Septembre 2005 et Novembre 2007 (soit 26 mois), la divergence a été multipliée par plus de 2.

Tableau II-2-7: Estimation de la divergence, exprimée en nombre de générations [minimum et maximum] (Nei 1976) selon le taux de mutation des loci microsatellites (Jarne & Lagoda 1996), entre le morphe pigmenté et albinos à Siginitti et à Tibraq.

Date d'échantillonnage	Siginitti	Tibraq
Septembre 2005	[9-9100]	
Février 2006	[11-11200]	
Mai 2007	[14-13800]	[4-3800]
Novembre 2007	[19-19300]	

### III. Discussion et conclusion

Cette étude est la première du genre qui traite de la structure génétique de *B. pfeifferi* chez deux morphes tégumentaires trouvés présents simultanément dans un même site dans les conditions naturelles.

Les analyses de la diversité génétique montrent que celle-ci est faible au sein des morphes aussi bien dans le site de Siginitti que dans le site de Tibraq, et quelle que soit la date d'échantillonnage. Les valeurs sont proches de celles obtenues par d'autres

auteurs sur des mollusques d'eau douce (Viard *et al.* 1997a; Webster *et al.* 2001b; Charbonnel *et al.* 2002a).

Les paramètres de la diversité génétique comme le *He* montrent que le morphe pigmenté présente une plus grande diversité que le morphe albinos. Cette différence s'observe sur les données globales et sur les données par site.

La faible diversité génétique des mollusques albinos comparée à celle des pigmentés pourrait avoir deux explications. La première est que l'albinisme est transmis de façon mendélienne par un allèle récessif, comme le montre les études de Newton (1954) sur *B. glabrata*. Tous les individus hétérozygotes seront de phénotype pigmenté et seront échantillonnés en tant qu'individus pigmentés. Cependant, la différence de diversité génétique entre les deux morphes ne pourrait être expliquée par la seule transmission mendélienne des caractères car l'autofécondation est très forte; les valeurs de «*s*» sont respectivement de  $0,94 \pm 0,048$  (morphe pigmenté) et de  $0,90 \pm 0,033$  (morphe albinos). La seconde explication concerne l'histoire de l'apparition du morphe albinos. Les données d'estimation de la divergence (Tableau II-2-7) indiquent que l'albinisme est très récent à Siginitti et il l'est encore plus à Tibraq. Selon les données des études de terrain (Mouahid *et al.* Accepté; Annexe 2), le morphe albinos a été échantillonné pour la première fois en Mai-2001 à Siginitti et en Mai-2007 à Tibraq. Le morphe albinos a une histoire récente comparée au morphe pigmenté et ceci expliquerait la faible diversité génétique de ce morphe.

Les analyses de la différenciation génétique montrent que les deux morphes sont significativement différenciés quelle que soit la date et quel que soit le site considéré (Tableau II-2-4). Dans le site de Siginitti, les valeurs de  $F_{ST}$  entre morphes sont comprises entre 0,365 (Sept.-05) et 0,639 (Nov.-07) et dans le site de Tibraq, elle est de 0,358 (Mai-07). Cependant, l'ACP montre une différenciation très accentuée des deux morphes dans le site de Siginitti (Figure II-2-2). Ces valeurs sont équivalentes à celles observées chez d'autres populations de *B. pfeifferi* du Dhofar (Partie II, chapitre 1) et de Madagascar (Charbonnel *et al.* 2002a). Il est remarquable de noter que deux morphes qui cohabitent dans un même site présentent un niveau de différenciation génétique comparable à celui de populations géographiquement éloignées. Le scénario le plus probable pour expliquer la différenciation de ces deux morphes en deux entités aussi différenciées que deux populations distinctes est le suivant: le morphe albinos serait issu

du morphe pigmenté récemment par mutation dans chacun des deux sites. En effet, les données d'échantillonnage montrent que le morphe albinos a été repéré après le morphe pigmenté: en mai 2001 et en mai 2007 pour la première fois dans le site de Siginitti et Tibraq, respectivement. Le manque de brassage génétique lié aux forts taux d'autofécondation agit comme une barrière qui maintient la différenciation et même l'accentuant en fonction du temps (Tableaux II-2-4, II-2-6 et II-2-7). Un scénario qui plaiderait en faveur d'une migration du morphe albinos vers le morphe pigmenté n'est pas recevable vu l'absence de migration enregistrée entre les populations du Massif Wustah.

Il n'existe aucune différenciation génétique temporelle significative du morphe albinos. Cela pourrait s'expliquer par la présence de nombreux allèles fixés dans ce morphe ne favorisant pas la différenciation temporelle (Annexe II-2-1). Par contre, il existe une différenciation génétique temporelle pour le morphe pigmenté, aussi bien à Siginitti qu'à Tibraq mais avec des valeurs plus élevées à Tibraq (Tableau II-2-5). La différenciation génétique temporelle peut être expliquée soit par la dérive soit par la migration. Dans le cas présent, elle est expliquée par la dérive, car on observe un changement de fréquences alléliques et non la présence de nouveaux allèles (Annexe II-2-1). La dérive est soutenue par les goulots d'étranglement identifiés en relation avec des crues exceptionnelles et par les très faibles valeurs d'effectifs efficaces (voir Partie II, chapitre 1).

Le maintien de l'albinisme dans nos populations naturelles de *B. pfeifferi* pourrait être expliqué à la suite d'une analyse comparative des traits d'histoire de vie entre les mollusques pigmentés et les mollusques albinos qui sera réalisée dans la troisième partie. On s'attend à deux cas de figure:

- ✓ Les individus albinos ont des traits de vie moins performants que ceux des mollusques pigmentés, leur maintien serait alors permis par l'effet de la dérive qui contrecarrerait la sélection naturelle.
- ✓ Les individus albinos ont des traits d'histoire de vie plus performants ou équivalents à ceux des individus pigmentés, ils se maintiendraient par sélection des allèles favorables, un effet auto-stop permettant la sélection de l'allèle de l'albinisme en même temps. Ce dernier cas de figure serait inattendu pour des individus albinos qui sont généralement associés à une faible valeur sélective car l'albinisme a des effets

délétères sur les individus: trouble de la vision et cancer de la peau chez les mammifères (Hong *et al.* 2006) ou sensibilité accrue aux UV chez les gastéropodes (Ruelas *et al.* 2006).



***TROISIEME PARTIE:***

***INTERACTION B. PFEIFFERI/S. MANSONI***



## Introduction

Les données de génétique des populations (Partie II) ont montré que les populations de *Biomphalaria pfeifferi* du Dhofar étaient structurées génétiquement au niveau des sites étudiés (18 sites isolés géographiquement avec un seul cas de migration entre sites à Wadi Derbat), au niveau des morphes de l'hôte intermédiaire (pigmenté ou albinos) et également au niveau de la catégorie d'habitat (naturel ou aménagé). Nous avons cherché à savoir si cette structuration génétique s'exprimait au niveau de l'interaction hôte-parasite et en particulier au niveau de la compatibilité *B. pfeifferi*/*S. mansoni* et comment elle se traduisait en termes de transmission vers l'hôte définitif. La compatibilité *B. pfeifferi*/*S. mansoni* a été analysée en s'appuyant sur un certain nombre de paramètres (traits d'histoire de vie). Les paramètres relatifs à l'hôte sont la fécondité, la croissance et la survie et ceux relatifs au parasite sont le taux d'infestation, la période prépatente et la production cercarienne.

Pour mener ce travail, nous avons fait une approche expérimentale en laboratoire en travaillant sur certaines combinaisons hôte-parasite représentatives de la situation dans le Dhofar en tenant compte de la catégorie des sites, du polymorphisme tégumentaire de l'hôte intermédiaire et de l'identité de l'hôte définitif de *S. mansoni* (homme ou rat). Dans le Dhofar, les combinaisons hôte-parasite possibles sont les suivantes: nous avons 20 souches de *B. pfeifferi* (y compris les deux souches albinos) et 2 populations de *S. mansoni*, soit 40 combinaisons. Notre choix, pragmatique, s'est porté sur 8 combinaisons représentatives. Pour chacune, nous avons évalué la transmission de *S. mansoni* de *B. pfeifferi* vers l'hôte définitif par la mesure du nombre de cercaires émises en tenant compte de 4 paramètres (1 relatif à l'hôte et 3 relatifs au parasite); la survie de l'hôte intermédiaire (plus longtemps un mollusque est parasité et plus longtemps le parasite pourra être transmis), le taux d'infestation (plus il est élevé, plus le nombre de mollusques qui participent à la transmission est élevé), la période prépatente (plus elle est courte, plutôt les mollusques participent à la transmission) et la production cercarienne.

Le but ultime de l'étude de l'interaction hôte-parasite est la compréhension du fonctionnement des foyers de transmission et la quantification des risques pour l'homme afin de travailler sur la prévention et les stratégies de contrôle.

Cette partie de la thèse fait l'objet de 4 chapitres dans lesquels nous étudions les traits d'histoire de vie des deux protagonistes engagés dans l'interaction hôte-parasite concernée. Les quatre chapitres seront précédés d'un protocole expérimental commun.

- ✓ Le **chapitre 1** traite de l'impact de *S. mansoni* sur *B. pfeifferi*.
- ✓ Le **chapitre 2** traite de l'impact de la population de *S. mansoni*, humaine versus murine, dans l'interaction hôte-parasite.
- ✓ Le **chapitre 3** traite de l'impact de la catégorie du site de *B. pfeifferi*, naturel versus aménagé, dans l'interaction hôte-parasite.
- ✓ Le **chapitre 4** traite de l'impact du morphe de *B. pfeifferi*, pigmenté versus albinos, dans l'interaction hôte-parasite.

## Protocole expérimental

L'interaction *B. pfeifferi*-*S. mansoni* a été étudiée en analysant différents paramètres (traits d'histoire de vie) chez le mollusque et chez le schistosome. Les paramètres qui ont été mesurés chez le mollusque sont la croissance (diamètre et masse corporelle), la fécondité et la survie. Ils ont été mesurés chaque semaine depuis l'exposition jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine post-exposition. Les paramètres qui ont été mesurés chez le parasite sont le taux d'infestation, la période prépatente et la production cercarienne. La période prépatente est mesurée à partir du 23<sup>ème</sup> jour post-infestation (JPE) jusqu'au 48<sup>ème</sup> JPE. La production cercarienne est mesurée depuis le 1<sup>er</sup> jour d'émission jusqu'au 91<sup>ème</sup> jour post-exposition. Six mollusques parmi les mollusques positifs de chaque morphe ont été utilisés pour mesurer la production cercarienne. Les différents paramètres ont été mesurés pour différentes combinaisons hôte-parasite intégrant deux populations de *S. mansoni* d'Oman, une d'origine humaine (extraite chez des collégiennes) et l'autre d'origine murine (extraite de *Rattus rattus*), deux populations de *B. pfeifferi* (Siginitti et Tibraq) constituées chacune d'un morphe pigmenté et d'un morphe albinos. Tous les mollusques utilisés dans cette étude appartiennent à la première génération de laboratoire. Le diamètre moyen des mollusques en début d'expérience ainsi que le nombre de mollusques utilisés sont présentés dans le tableau III-1. Il n'existe aucune différence significative dans ces diamètres moyens initiaux entre les mollusques sains et les mollusques exposés, entre

les mollusques exposés à la population humaine du parasite et ceux exposés à la population murine, entre les mollusques de Siginitti et les mollusques de Tibraq et entre les mollusques pigmentés et les mollusques albinos (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). Les mollusques exposés l'ont été individuellement à un seul miracidium. Vingt-quatre heures après l'exposition, les mollusques ont été placés individuellement dans un verre en plastique contenant 150 ml d'eau de forage et maintenus dans une salle thermorégulée où la température dans l'eau est de 24-25°C avec une photopériode équilibrée 12hr-12hr. L'eau a été renouvelée chaque semaine et les mollusques nourris *ad libitum* avec de la salade fraîche.

Tableau III-1: Diamètre moyen initial en millimètres ( $\pm$ Ecart-Standard) et nombre (entre parenthèses) de *B. pfeifferi* utilisés dans les différentes combinaisons.

Mollusque				
Population	Morphe	Sain	Exposé à <i>S. mansoni</i>	
			Population humaine	Population murine
Siginitti	Pigmenté	3,74 $\pm$ 0,22 (16)	4,26 $\pm$ 0,13 (32)	4,53 $\pm$ 0,17 (19)
	Albinos	4,06 $\pm$ 0,14 (16)	4,44 $\pm$ 0,11 (32)	4,28 $\pm$ 0,13 (33)
Tibraq	Pigmenté	3,52 $\pm$ 0,12 (20)	4,53 $\pm$ 0,17 (45)	4,30 $\pm$ 0,15 (31)
	Albinos	3,52 $\pm$ 0,12 (20)	4,05 $\pm$ 0,09 (35)	4,33 $\pm$ 0,15 (27)

Pour alléger la structure du texte, des codes ont été utilisés (Tableau III-2) en fonction de l'identité de l'hôte intermédiaire (population, morphe, sain, parasité ou exposé-négatif) et de l'identité du parasite (population).

Tableau III-2: Différents codes utilisés dans le manuscrit (+: mollusque positif (c'est-à-dire, parasité); -: mollusque exposé-négatif).

<i>Biomphalaria pfeifferi</i> (Bp)						
Population	Morphe	Sain (s)	<i>Schistosoma mansoni</i> (Sm)			
			Population humaine (H)		Population murine (M)	
Siginitti (S)	Pigmenté (P)	BpSPs	BpSP/SmH+	BpSP/SmH-	BpSP/SmM+	BpSP/SmM-
	Albinos (A)	BpSAs	BpSA/SmH+	BpSA/SmH-	BpSA/SmM+	BpSA/SmM-
Tibraq (T)	Pigmenté (P)	BpTPs	BpTP/SmH+	BpTP/SmH-	BpTP/SmM+	BpTP/SmM-
	Albinos (A)	BpTAs	BpTA/SmH+	BpTA/SmH-	BpTA/SmM+	BpTA/SmM-

Des expériences complémentaires ont été menées avec des mollusques sains uniquement afin de compléter les traits d'histoire de vie qui concernent le développement des mollusques: la durée d'incubation, le taux d'éclosion et l'âge et la taille à la maturité sexuelle. Pour ce faire, 10 mollusques pigmentés et 10 mollusques albinos de Siginitti et de Tibraq issus d'une génération d'élevage en laboratoire, ont été placés dans quatre aquariums respectifs de 2,25 L d'eau de forage et ont constitué les mollusques donneurs de pontes. Le diamètre moyen des mollusques pigmentés et

albinos utilisés a été respectivement de  $8,43\pm 0,19$  mm et  $8,29\pm 0,24$  mm pour Siginitti et de  $7,28\pm 0,16$  mm et  $7,52\pm 0,14$  mm pour Tibraq (les différences ne sont pas significatives entre morphes, Mann-Whitney;  $p>0,05$ ). Les mollusques ont été nourris *ad libitum* avec de la salade fraîche et maintenus à pondre dans une salle thermorégulée où la température dans l'eau est de 24-25°C avec une photopériode équilibrée 12h-12h.

Afin de déterminer et comparer la durée d'incubation et le taux d'éclosion des pontes, trois répliquas de 60 œufs nés à la même date ont été constitués chez le morphe pigmenté et chez le morphe albinos pour le site de Siginitti et deux répliquas de 50 œufs chacun, nés à la même date ont été constitués chez le morphe pigmenté et chez le morphe albinos pour le site de Tibraq. Les œufs ont été placés et suivis jusqu'à l'éclosion dans des boîtes de Pétri avec 35 mL d'eau de forage à 24-25°C sous une photopériode équilibrée 12h-12h.

Afin de déterminer et comparer l'âge et la taille à la maturité sexuelle, trois répliquas de 50 œufs nés à la même date ont été constitués chez le morphe pigmenté et chez le morphe albinos pour le site de Siginitti et deux répliquas de 50 œufs nés à la même date ont été constitués chez le morphe pigmenté et chez le morphe albinos pour le site de Tibraq. Les œufs ont été placés dans des boîtes de Pétri contenant de l'algue avec 35 mL d'eau distillée à 24-25°C, sous une photopériode équilibrée 12h-12h. Deux semaines après leur éclosion, les petits mollusques ont été transférés dans des aquariums de 2,25 L d'eau de forage à 24-25°C où ils ont été nourris *ad libitum* avec de la salade fraîche sous une photopériode équilibrée 12h-12h. L'eau a été renouvelée chaque semaine et les mollusques ont été mesurés jusqu'au moment où ils ont atteint leur maturité sexuelle.

Enfin, une dernière expérience a été réalisée et a concerné la relation entre le diamètre et la masse des coquilles vides issues de mollusques préalablement échantillonnés dans la nature. Pour cela, 71 coquilles de mollusques pigmentés et 50 coquilles de mollusques albinos ont été mesurées pour le site de Siginitti et 27 coquilles de mollusques pigmentés et 18 coquilles de mollusques albinos ont été mesurées pour le site de Tibraq.

## **CHAPITRE 1:**

### ***Impact de S. mansoni sur B. pfeifferi***

L'objectif de ce chapitre est d'analyser l'impact de *S. mansoni* sur les traits d'histoire de vie de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif. Sachant que nous disposons de deux populations de *S. mansoni* (SmH et SmM) et de 4 groupes de mollusques (BpSP, BpSA, BpTP et BpSA), 8 situations expérimentales ont été étudiées et sont présentées au sein de deux sous-chapitres:

- ✓ **Sous-chapitre 1:** impact de la population humaine de *S. mansoni* sur *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif,
- ✓ **Sous-chapitre 2:** impact de la population murine de *S. mansoni* sur *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif.



*Sous-Chapitre 1:*  
*Impact de S. mansoni d'origine humaine sur B. pfeifferi*



# I. Résultats

## A. Croissance

### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine est présenté dans la figure III-1-1-1.

Pour **BpSP**, le diamètre de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif augmente rapidement durant les trois premières semaines et lentement jusqu'à la fin de l'expérience. De la 3<sup>ème</sup> à la 4<sup>ème</sup> semaine et de la 8<sup>ème</sup> à la 13<sup>ème</sup> semaine, il existe des différences significatives entre BpSPs, BpSP/SmH+ et BpSP/SmH- (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ). Le diamètre des mollusques à la 13<sup>ème</sup> semaine est respectivement de 7,98±0,14 mm, 8,48±0,12 mm et 7,93±0,15 mm (H=8,30; N=9; N=16; N=10, respectivement;  $p=0,016$ ). Le post-hoc test de Dunn montre qu'il existe des différences significatives entre BpSP/SmH+ et BpSPs et entre BpSP/SmH+ et BpSP/SmH-.

Pour **BpSA**, le diamètre de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif augmente rapidement durant les trois premières semaines et lentement jusqu'à la fin de l'expérience. De la 2<sup>ème</sup> à la 13<sup>ème</sup> semaine, il existe des différences significatives entre BpSAs, BpSA/SmH+ et BpSA/SmH- (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ). Le diamètre des mollusques à la 13<sup>ème</sup> semaine est respectivement de 7,49±0,18 mm, 8,13±0,14 mm et 7,63±0,19 mm (H=6,95; N=7; N=9; N=11, respectivement;  $p=0,031$ ). Le post-hoc test de Dunn montre que les différences significatives existent uniquement entre BpSAs et BpSA/SmH+, ces derniers étant significativement plus gros.

Pour **BpTP**, le diamètre de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif augmente rapidement durant les trois premières semaines et lentement jusqu'à la fin de l'expérience. De la 3<sup>ème</sup> à la 13<sup>ème</sup> semaine, il existe des différences significatives entre BpTPs, BpTP/SmH+ et BpTP/SmH- (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ). Le diamètre des mollusques à la 13<sup>ème</sup> semaine est respectivement de 8,45±0,16 mm, 8,52±0,12 mm et 7,72±0,07 mm (H=24,50; N=10; N=17; N=19, respectivement;  $p < 0,001$ ). Le post-hoc test de Dunn montre que les différences significatives existent entre BpTP/SmH- et BpTPs et entre BpTP/SmH- et BpTP/SmH+.

Pour **BpTA**, le diamètre de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif augmente rapidement durant les trois premières semaines et lentement jusqu'à la fin de

l'expérience. Il existe des différences significatives entre BpTAs, BpTA/SmH+ et BpTA/SmH- (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ) pendant toute la durée de l'expérience. Le diamètre des mollusques à la 13<sup>ème</sup> semaine est respectivement de  $8,57 \pm 0,04$  mm,  $9,42 \pm 0,18$  mm et  $8,41 \pm 0,10$  mm ( $H=19,84$ ;  $N=18$ ;  $N=10$ ;  $N=17$ , respectivement;  $p < 0,0001$ ). Le post-hoc test de Dunn montre qu'il existe des différences significatives entre BpTA/SmH+ et BpTAs et entre BpTA/SmH+ et BpTA/SmH-.

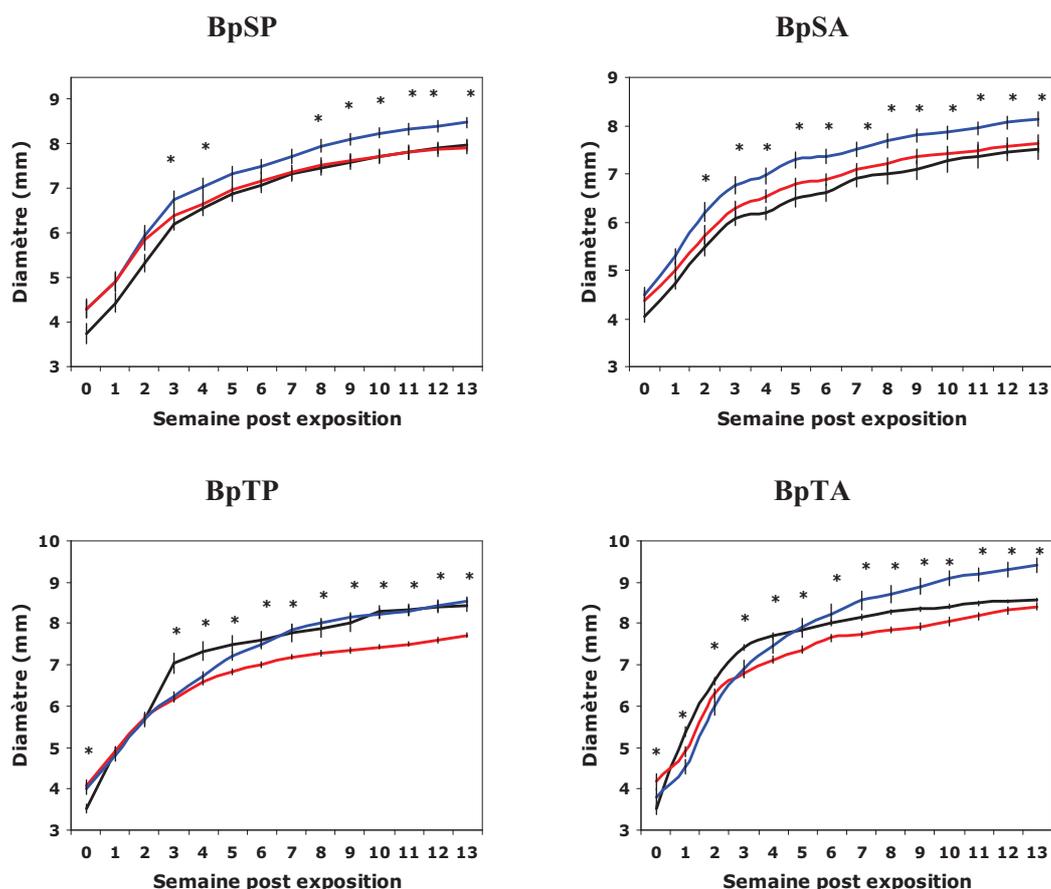


Figure III-1-1-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* sain (noir), positif (bleu) et exposé-négatif (rouge) à *S. mansoni* population humaine. BpSP: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté, BpSA: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos, BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté, BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos. \*: différence significative (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ).

## 2. Accroissement du diamètre

Pour l'ensemble des mollusques et quel que soit l'état du mollusque, les accroissements du diamètre sont maximaux entre la 1<sup>ère</sup> et la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition (Tableau III-1-1-1). Pour **BpSP** et **BpSA**, il n'existe pas de différence entre les sains, les positifs et les exposés-négatifs. Pour **BpTP** et **BpTA**, deux périodes sont à

considérer: de la 1<sup>ère</sup> à la 4<sup>ème</sup> semaine, BpTPs croissent plus rapidement que BpTP/SmH+ et que BpTP/SmH-. De la 5<sup>ème</sup> à la 7<sup>ème</sup> semaine, puis ponctuellement vers la fin de l'expérience, la tendance s'inverse et BpTP/SmH+ et, dans une moindre mesure, BpTP/SmH- croissent alors plus rapidement que BpTPs.

Tableau III-1-1-I: Accroissement hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) du diamètre ( $\Delta$ ) de *B. pfeifferi* sain, positif (SmH+) et exposé-négatif (SmH-). SPE: semaine post-exposition, BpSP: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté, BpSA: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos, BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté, BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos, N: nombre de mollusques survivants, NS: différence non significative (Kruskal-Wallis;  $p>0,05$ ), \$: différence significative entre sains et SmH+, ‡: différence significative entre SmH+ et SmH-, \*: différence significative entre sains et SmH-.

SPE	Etat	BpSP			BpSA			BpTP			BpTA		
		N	$\Delta$	<i>p</i>									
0	Sain	16			16			20			20		
	SmH+	18			14			20			12		
	SmH-	10			13			25			21		
1	Sain	11	0,73 $\pm$ 0,18		16	0,68 $\pm$ 0,12		20	1,38 $\pm$ 0,15	\$	20	1,87 $\pm$ 0,10	\$
	SmH+	18	0,61 $\pm$ 0,10	NS	14	0,78 $\pm$ 0,13	NS	20	0,79 $\pm$ 0,08	*	12	0,74 $\pm$ 0,11	*
	SmH-	10	0,62 $\pm$ 0,12		13	0,62 $\pm$ 0,12		25	0,82 $\pm$ 0,08		21	0,73 $\pm$ 0,09	
2	Sain	11	0,90 $\pm$ 0,15		16	0,74 $\pm$ 0,10		19	0,82 $\pm$ 0,13		20	1,22 $\pm$ 0,12	
	SmH+	18	1,03 $\pm$ 0,12	NS	14	0,92 $\pm$ 0,10	NS	20	0,87 $\pm$ 0,11	NS	12	1,46 $\pm$ 0,12	NS
	SmH-	10	0,95 $\pm$ 0,15		13	0,73 $\pm$ 0,12		25	0,80 $\pm$ 0,10		21	1,41 $\pm$ 0,12	
3	Sain	11	0,86 $\pm$ 0,14		16	0,61 $\pm$ 0,06		14	1,21 $\pm$ 0,16	\$	20	0,83 $\pm$ 0,10	
	SmH+	18	0,82 $\pm$ 0,10	NS	14	0,56 $\pm$ 0,07	NS	20	0,58 $\pm$ 0,09	*	12	0,91 $\pm$ 0,14	*
	SmH-	10	0,55 $\pm$ 0,09		13	0,55 $\pm$ 0,10		25	0,46 $\pm$ 0,05		21	0,48 $\pm$ 0,06	‡
4	Sain	11	0,35 $\pm$ 0,04		16	0,10 $\pm$ 0,02		13	0,16 $\pm$ 0,03	\$	20	0,26 $\pm$ 0,05	\$
	SmH+	18	0,29 $\pm$ 0,04	NS	14	0,20 $\pm$ 0,06	*	20	0,49 $\pm$ 0,06	*	12	0,56 $\pm$ 0,11	
	SmH-	10	0,28 $\pm$ 0,05		13	0,26 $\pm$ 0,05		25	0,44 $\pm$ 0,05		21	0,33 $\pm$ 0,05	
5	Sain	11	0,33 $\pm$ 0,05		12	0,24 $\pm$ 0,06		12	0,06 $\pm$ 0,01	\$	20	0,15 $\pm$ 0,03	\$
	SmH+	18	0,28 $\pm$ 0,05	NS	14	0,33 $\pm$ 0,05	NS	18	0,48 $\pm$ 0,06	*	12	0,43 $\pm$ 0,04	
	SmH-	10	0,32 $\pm$ 0,08		13	0,25 $\pm$ 0,04		25	0,23 $\pm$ 0,03	‡	21	0,25 $\pm$ 0,04	‡
6	Sain	11	0,19 $\pm$ 0,03		12	0,12 $\pm$ 0,03		12	0,05 $\pm$ 0,04	\$	19	0,17 $\pm$ 0,01	\$
	SmH+	18	0,16 $\pm$ 0,03	NS	13	0,11 $\pm$ 0,03	NS	17	0,33 $\pm$ 0,04		12	0,34 $\pm$ 0,05	*
	SmH-	10	0,19 $\pm$ 0,03		12	0,14 $\pm$ 0,03		24	0,18 $\pm$ 0,02	‡	21	0,29 $\pm$ 0,03	
7	Sain	11	0,25 $\pm$ 0,03		11	0,23 $\pm$ 0,05	\$	11	0,13 $\pm$ 0,04	\$	19	0,13 $\pm$ 0,02	\$
	SmH+	17	0,22 $\pm$ 0,04	NS	13	0,09 $\pm$ 0,03		17	0,34 $\pm$ 0,06		12	0,32 $\pm$ 0,05	
	SmH-	10	0,18 $\pm$ 0,03		10	0,21 $\pm$ 0,03	‡	22	0,19 $\pm$ 0,03		20	0,10 $\pm$ 0,01	‡
8	Sain	11	0,15 $\pm$ 0,03		11	0,07 $\pm$ 0,02		11	0,11 $\pm$ 0,04		18	0,14 $\pm$ 0,02	
	SmH+	17	0,23 $\pm$ 0,04	NS	13	0,12 $\pm$ 0,02	NS	17	0,16 $\pm$ 0,03	NS	12	0,15 $\pm$ 0,05	NS
	SmH-	10	0,16 $\pm$ 0,03		9	0,11 $\pm$ 0,04		22	0,09 $\pm$ 0,02		18	0,10 $\pm$ 0,02	
9	Sain	11	0,13 $\pm$ 0,02		11	0,08 $\pm$ 0,02		11	0,15 $\pm$ 0,03		18	0,08 $\pm$ 0,02	
	SmH+	17	0,16 $\pm$ 0,03	NS	11	0,11 $\pm$ 0,01	NS	17	0,14 $\pm$ 0,03	NS	11	0,08 $\pm$ 0,02	NS
	SmH-	10	0,12 $\pm$ 0,02		9	0,13 $\pm$ 0,03		21	0,08 $\pm$ 0,02		18	0,08 $\pm$ 0,02	
10	Sain	11	0,11 $\pm$ 0,03		10	0,13 $\pm$ 0,03		10	0,11 $\pm$ 0,03		18	0,04 $\pm$ 0,01	\$
	SmH+	17	0,14 $\pm$ 0,02	NS	11	0,06 $\pm$ 0,01	NS	17	0,09 $\pm$ 0,02	NS	11	0,20 $\pm$ 0,05	
	SmH-	10	0,10 $\pm$ 0,02		9	0,05 $\pm$ 0,02		21	0,08 $\pm$ 0,01		17	0,13 $\pm$ 0,02	*
11	Sain	11	0,10 $\pm$ 0,02		10	0,10 $\pm$ 0,02		10	0,05 $\pm$ 0,02		18	0,08 $\pm$ 0,02	
	SmH+	17	0,09 $\pm$ 0,02	NS	11	0,09 $\pm$ 0,02	NS	17	0,07 $\pm$ 0,02	NS	11	0,09 $\pm$ 0,02	NS
	SmH-	10	0,08 $\pm$ 0,02		9	0,07 $\pm$ 0,02		21	0,07 $\pm$ 0,02		17	0,12 $\pm$ 0,02	
12	Sain	9	0,04 $\pm$ 0,02		7	0,09 $\pm$ 0,02		10	0,08 $\pm$ 0,02		18	0,05 $\pm$ 0,01	\$
	SmH+	16	0,11 $\pm$ 0,02	NS	11	0,12 $\pm$ 0,03	NS	17	0,12 $\pm$ 0,03	NS	10	0,16 $\pm$ 0,03	*
	SmH-	10	0,06 $\pm$ 0,02		9	0,07 $\pm$ 0,01		20	0,09 $\pm$ 0,02		17	0,14 $\pm$ 0,02	
13	Sain	9	0,06 $\pm$ 0,01		7	0,05 $\pm$ 0,02		10	0,04 $\pm$ 0,02		18	0,03 $\pm$ 0,01	\$
	SmH+	16	0,09 $\pm$ 0,02	NS	11	0,07 $\pm$ 0,01	NS	17	0,10 $\pm$ 0,02	*	10	0,12 $\pm$ 0,03	
	SmH-	10	0,05 $\pm$ 0,01		9	0,07 $\pm$ 0,02		19	0,11 $\pm$ 0,01		17	0,10 $\pm$ 0,03	

### 3. Masse corporelle

La **masse corporelle hebdomadaire moyenne** n'a été mesurée que pour *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté et albinos. La masse corporelle des mollusques sains, positifs et exposés-négatifs à *S. mansoni* population humaine est présentée dans la figure III-1-1-2. Quel que soit l'état des mollusques, la masse corporelle évolue très rapidement pendant les trois premières semaines et ensuite progressivement jusqu'à la fin de l'expérience.

Pour **BpTP**, il existe des différences significatives entre BpTPs, BpTP/SmH+ et BpTP/SmH- de la 3<sup>ème</sup> à la 13<sup>ème</sup> semaine post-exposition (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, la masse corporelle est respectivement de  $0,1040 \pm 0,0050$  g,  $0,1042 \pm 0,0042$  g et  $0,0811 \pm 0,0022$  g ( $H=21,23$ ;  $N=10$ ;  $N=17$ ;  $N=19$ , respectivement;  $p < 0,0001$ ). Le post-hoc test de Dunn indique que les différences sont significatives entre BpTP/SmH- et BpTPs ( $p < 0,01$ ) et entre BpTP/SmH- et BpTP/SmH+.

Pour **BpTA**, il existe des différences significatives entre BpTAs, BpTA/SmH+ et BpTA/SmH- de la 3<sup>ème</sup> à la 13<sup>ème</sup> semaine post-exposition (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, la masse corporelle est respectivement de  $0,1040 \pm 0,0020$  g,  $0,1365 \pm 0,0073$  g et  $0,1006 \pm 0,0065$  g. Le post-hoc test de Dunn indique que les différences sont significatives entre BpTA/SmH+ et BpTAs et entre BpTA/SmH+ et BpTA/SmH-.

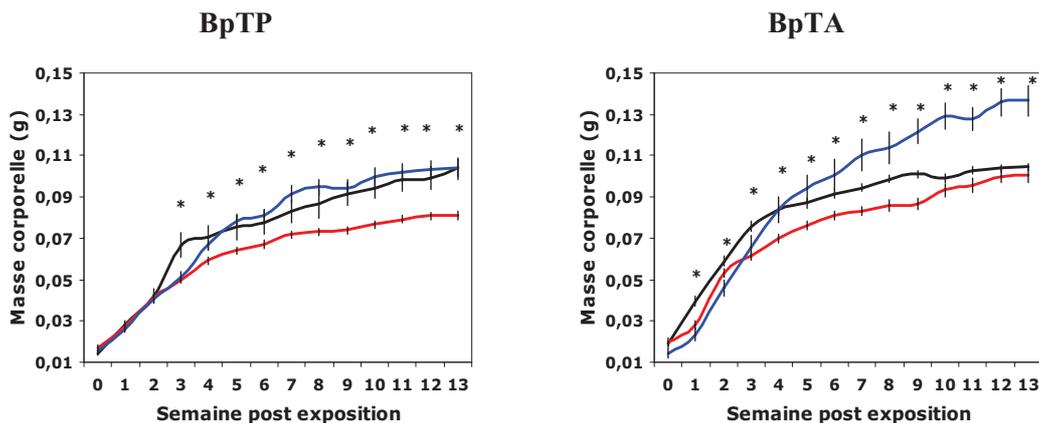


Figure III-1-1-2: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* sain (noir), positif (bleu) et exposé-négatif (rouge) à *S. mansoni* population humaine. BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté; BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos. \*: différence significative (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ).

#### 4. Accroissement de la masse

Pour **BpTP** et **BpTA** et quel que soit l'état du mollusque, les accroissements de la masse sont maximaux entre la 1<sup>ère</sup> et la 4<sup>ème</sup> semaine post-exposition. De la 1<sup>ère</sup> à la 3<sup>ème</sup> semaine, les mollusques sains ont globalement une masse significativement supérieure à celle des mollusques parasités et des exposés-négatifs. Aux semaines 4 et 5, la tendance s'inverse et les mollusques parasités ont une masse significativement supérieure aux mollusques sains (Tableau III-1-1-2).

#### 5. Relation diamètre/masse corporelle

La **relation diamètre/masse corporelle** de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif est présentée dans la figure III-1-1-3.

Pour **BpTP**, il existe une relation linéaire positive entre le diamètre et la masse corporelle pour BpTPs ( $r^2=0,97$ ), BpTP/SmH+ ( $r^2=0,99$ ) et BpTP/SmH- ( $r^2=0,99$ ). Le test de comparaison des pentes indique que les pentes sont significativement différentes entre les trois groupes ( $F=3,87$ ;  $ddl=36$ ;  $p=0,03$ ). La pente des BpTP/SmH+ est significativement plus grande que celle des BpTPs ( $F=5,03$ ;  $ddl=24$ ;  $p=0,03$ ) et des BpTP/SmH- ( $F=7,65$ ;  $ddl=24$ ;  $p=0,01$ ).

Pour **BpTA**, il existe une relation linéaire positive entre le diamètre et la masse corporelle pour BpTAs ( $r^2=0,98$ ), BpTA/SmH+ ( $r^2=0,98$ ) et BpTA/SmH- ( $r^2=0,99$ ). Le test de comparaison des pentes indique que les pentes sont significativement différentes entre les trois groupes ( $F=9,25$ ;  $ddl=36$ ;  $p=0,0006$ ). La pente des BpTA/SmH+ est significativement plus grande que celle des BpTAs ( $F=13,88$ ;  $ddl=24$ ;  $p=0,001$ ) et des BpTA/SmH- ( $F=5,67$ ;  $ddl=24$ ;  $p=0,027$ ).

Tableau III-1-1-2: Accroissement hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de la masse corporelle en grammes ( $\Delta$ ) de *B. pfeifferi* sain, positif (SmH+) et exposé-négatif (SmH-). SPE: semaine post-exposition, BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté, BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos, N: nombre de mollusques survivants, NS: différence non significative (Kruskal-Wallis;  $p>0,05$ ), \$: différence significative entre sains et SmH+, ‡: différence significative entre SmH+ et SmH-, \*: différence significative entre sains et SmH-.

SPE	Etat	BpTP			BpTA		
		N	$\Delta$	$p$	N	$\Delta$	$p$
0	Sain	20			20		
	SmH+	20			12		
	SmH-	25			21		
1	Sain	20	0,014 $\pm$ 0,002		20	0,020 $\pm$ 0,001	\$
	SmH+	20	0,010 $\pm$ 0,001	NS	12	0,009 $\pm$ 0,002	*
	SmH-	25	0,010 $\pm$ 0,001		21	0,008 $\pm$ 0,001	
2	Sain	19	0,014 $\pm$ 0,003		20	0,019 $\pm$ 0,002	
	SmH+	20	0,014 $\pm$ 0,002	NS	12	0,022 $\pm$ 0,002	NS
	SmH-	25	0,014 $\pm$ 0,002		21	0,025 $\pm$ 0,002	
3	Sain	14	0,022 $\pm$ 0,003	\$	20	0,017 $\pm$ 0,002	
	SmH+	20	0,010 $\pm$ 0,002	*	12	0,020 $\pm$ 0,004	*
	SmH-	25	0,008 $\pm$ 0,002		21	0,008 $\pm$ 0,001	‡
4	Sain	13	0,002 $\pm$ 0,001	\$	20	0,008 $\pm$ 0,002	\$
	SmH+	20	0,016 $\pm$ 0,001	*	12	0,018 $\pm$ 0,002	
	SmH-	25	0,009 $\pm$ 0,001	‡	21	0,008 $\pm$ 0,001	‡
5	Sain	12	0,002 $\pm$ 0,002	\$	20	0,004 $\pm$ 0,001	\$
	SmH+	18	0,012 $\pm$ 0,002		12	0,010 $\pm$ 0,002	
	SmH-	25	0,005 $\pm$ 0,001	‡	21	0,006 $\pm$ 0,001	
6	Sain	12	0,003 $\pm$ 0,001		19	0,004 $\pm$ 0,001	
	SmH+	17	0,004 $\pm$ 0,002	NS	12	0,007 $\pm$ 0,002	NS
	SmH-	24	0,003 $\pm$ 0,001		21	0,005 $\pm$ 0,001	
7	Sain	11	0,004 $\pm$ 0,002		19	0,003 $\pm$ 0,001	\$
	SmH+	17	0,011 $\pm$ 0,003	NS	12	0,009 $\pm$ 0,003	
	SmH-	22	0,004 $\pm$ 0,001		20	0,002 $\pm$ 0,001	‡
8	Sain	11	0,003 $\pm$ 0,002		18	0,004 $\pm$ 0,001	
	SmH+	17	0,003 $\pm$ 0,001	NS	12	0,004 $\pm$ 0,002	NS
	SmH-	22	0,001 $\pm$ 0,001		18	0,003 $\pm$ 0,001	
9	Sain	11	0,005 $\pm$ 0,002	\$	18	0,002 $\pm$ 0,001	
	SmH+	17	0,000 $\pm$ 0,001		11	0,003 $\pm$ 0,002	NS
	SmH-	21	0,001 $\pm$ 0,001		18	0,001 $\pm$ 0,001	
10	Sain	10	-0,001 $\pm$ 0,001	\$	18	-0,002 $\pm$ 0,001	\$
	SmH+	17	0,005 $\pm$ 0,001	*	11	0,008 $\pm$ 0,002	*
	SmH-	21	0,003 $\pm$ 0,001		17	0,005 $\pm$ 0,001	
11	Sain	10	0,004 $\pm$ 0,001		18	0,004 $\pm$ 0,001	\$
	SmH+	17	0,002 $\pm$ 0,001	NS	11	-0,002 $\pm$ 0,002	
	SmH-	21	0,003 $\pm$ 0,001		17	0,002 $\pm$ 0,001	
12	Sain	10	0,001 $\pm$ 0,002		18	0,001 $\pm$ 0,001	\$
	SmH+	17	0,002 $\pm$ 0,001	NS	10	0,008 $\pm$ 0,002	
	SmH-	20	0,002 $\pm$ 0,001		17	0,005 $\pm$ 0,001	‡
13	Sain	10	0,004 $\pm$ 0,001		18	0,001 $\pm$ 0,001	
	SmH+	17	0,001 $\pm$ 0,001	*	10	0,001 $\pm$ 0,002	NS
	SmH-	19	-0,001 $\pm$ 0,001		17	0,001 $\pm$ 0,001	

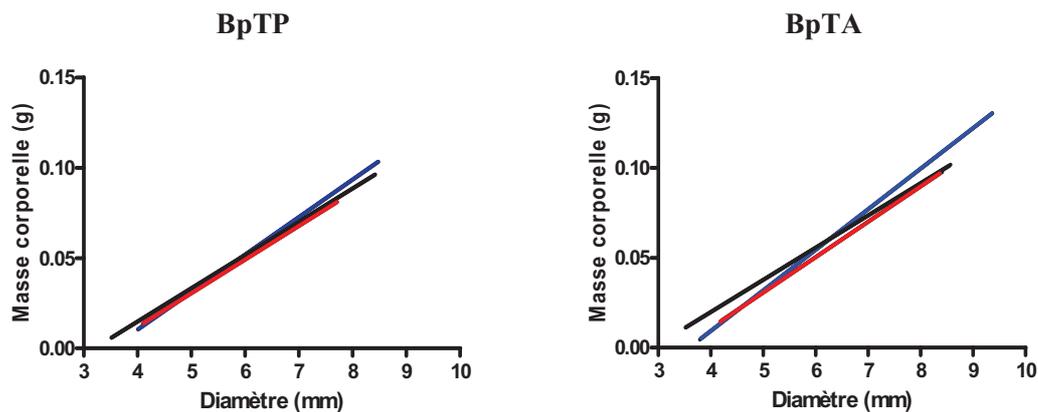


Figure III-1-1-3: Relation diamètre/masse corporelle de *B. pfeifferi* sain (noir), positif (bleu) et exposé-négatif (rouge) à *S. mansoni* population humaine. BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté; BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos.

## B. Fécondité

### 1. Taux de mollusques pondus

Pour **BpSP**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est respectivement de 90,91% (10/11), 27,78% (5/18) et 100% (10/10) chez BpSPs, BpSP/SmH+ et BpSP/SmH-. Il existe une différence significative entre ces taux ( $X^2=19,36$ ; ddl=2;  $p<0,0001$ ), BpSP/SmH+ ayant un taux significativement inférieur à ceux des BpSPs et des BpSP/SmH- (Fisher's exact test;  $p<0,05$ ).

Pour **BpSA**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est respectivement de 91,67% (11/12), 23,08% (3/13) et 100% (14/14) chez BpSAs, BpSA/SmH+ et BpSA/SmH-. Il existe une différence significative entre ces taux ( $X^2=23,08$ ; ddl=2;  $p<0,0001$ ), BpSA/SmH+ ayant un taux significativement inférieur à ceux des BpSAs et des BpSA/SmH- (Fisher's exact test;  $p<0,05$ ).

Pour **BpTP**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est respectivement de 92,86% (13/14), 50,00% (10/20) et 100% (24/24) chez BpTPs, BpTP/SmH+ et BpTP/SmH-. Il existe une différence significative entre ces taux ( $X^2=19,42$ ; ddl=2;  $p<0,0001$ ), BpTP/SmH+ ayant un taux

significativement inférieur à ceux des BpTPs et des BpTP/SmH- (Fisher's exact test;  $p < 0,05$ ).

Pour **BpTA**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est respectivement de 100% (20/20), 41,67% (5/12) et 100% (21/21) chez BpTAs, BpTA/SmH+ et BpTA/SmH-. Il existe une différence significative entre ces taux ( $\chi^2=27,56$ ; ddl=2;  $p < 0,0001$ ), BpTA/SmH+ ayant un taux significativement inférieur à ceux des BpTAs et des BpTA/SmH- (Fisher's exact test;  $p < 0,05$ ).

## 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine est présenté dans la figure III-1-1-4.

Pour **BpSP**, BpSP/SmH+ commencent à faire leurs premières pontes à la 1<sup>ère</sup> semaine post-exposition alors que BpSPs et BpSP/SmH- ne font leurs premières pontes qu'à partir de la 3<sup>ème</sup> semaine. Il existe une différence significative dans le nombre de pontes entre BpSPs, BpSP/SmH+ et BpSP/SmH- de la 3<sup>ème</sup> (H=6,85; N=11; N=18; N=10, respectivement;  $p=0,033$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=22,86; N=9; N=16; N=10, respectivement;  $p < 0,0001$ ) où le nombre de pontes est respectivement de  $18,11 \pm 3,24$ , de  $1,31 \pm 1,02$  et de  $23,40 \pm 2,40$ . Le post-hoc test de Dunn indique que les différences sont significatives entre BpSP/SmH+ et BpSP/SmH- et entre BpSP/SmH+ et BpSPs.

Pour **BpSA**, tous les mollusques commencent à faire leurs premières pontes à la 2<sup>ème</sup> semaine post-exposition. Il existe une différence significative dans le nombre de pontes entre BpSAs, BpSA/SmH+ et BpSA/SmH- de la 4<sup>ème</sup> (H=10,31; N=16; N=13; N=14, respectivement;  $p=0,006$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=17,36; N=7; N=9; N=14, respectivement;  $p=0,0002$ ) où le nombre de pontes est respectivement de  $18,86 \pm 2,02$ , de  $1,67 \pm 1,29$  et de  $19,64 \pm 2,36$ . Le post-hoc test de Dunn indique que les différences sont significatives entre BpSA/SmH+ et BpSA/SmH- et entre BpSA/SmH+ et BpSAs.

Pour **BpTP**, BpTPs et BpTP/SmH+ font leurs premières pontes à la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition alors que BpTP/SmH- commencent à faire leurs premières pontes à la 2<sup>ème</sup> semaine. Il existe une différence significative dans le nombre de pontes entre BpTPs, BpTP/SmH+ et BpTP/SmH- de la 3<sup>ème</sup> (H=8,77; N=16; N=20; N=25, respectivement;  $p=0,0123$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=27,33; N=10; N=17; N=19,

respectivement;  $p < 0,0001$ ) où le nombre de pontes est respectivement de  $15,50 \pm 1,12$ , de  $2,41 \pm 0,91$  et de  $20,37 \pm 1,19$ . Le post-hoc test de Dunn indique que les différences sont significatives entre BpTP/SmH+ et BpTPs et entre BpTP/SmH+ et BpTP/SmH-.

Pour **BpTA**, BpTAs et BpTA/SmH- commencent à faire leurs premières pontes à la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition alors que BpTA/SmH+ font leur première ponte à la 4<sup>ème</sup> semaine. Il existe une différence significative dans le nombre de pontes entre BpTAs, BpTA/SmH+ et BpTA/SmH- de la 3<sup>ème</sup> (H=14,03; N=20; N=12; N=21, respectivement;  $p=0,0009$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=15,97; N=18; N=10; N=17, respectivement;  $p=0,0003$ ) où le nombre de pontes est respectivement de  $18,83 \pm 1,19$ , de  $4,70 \pm 2,97$  et de  $22,12 \pm 2,10$ . Le post-hoc test de Dunn indique que les différences sont significatives entre BpTA/SmH+ et BpTAs et entre BpTA/SmH+ et BpTA/SmH-.

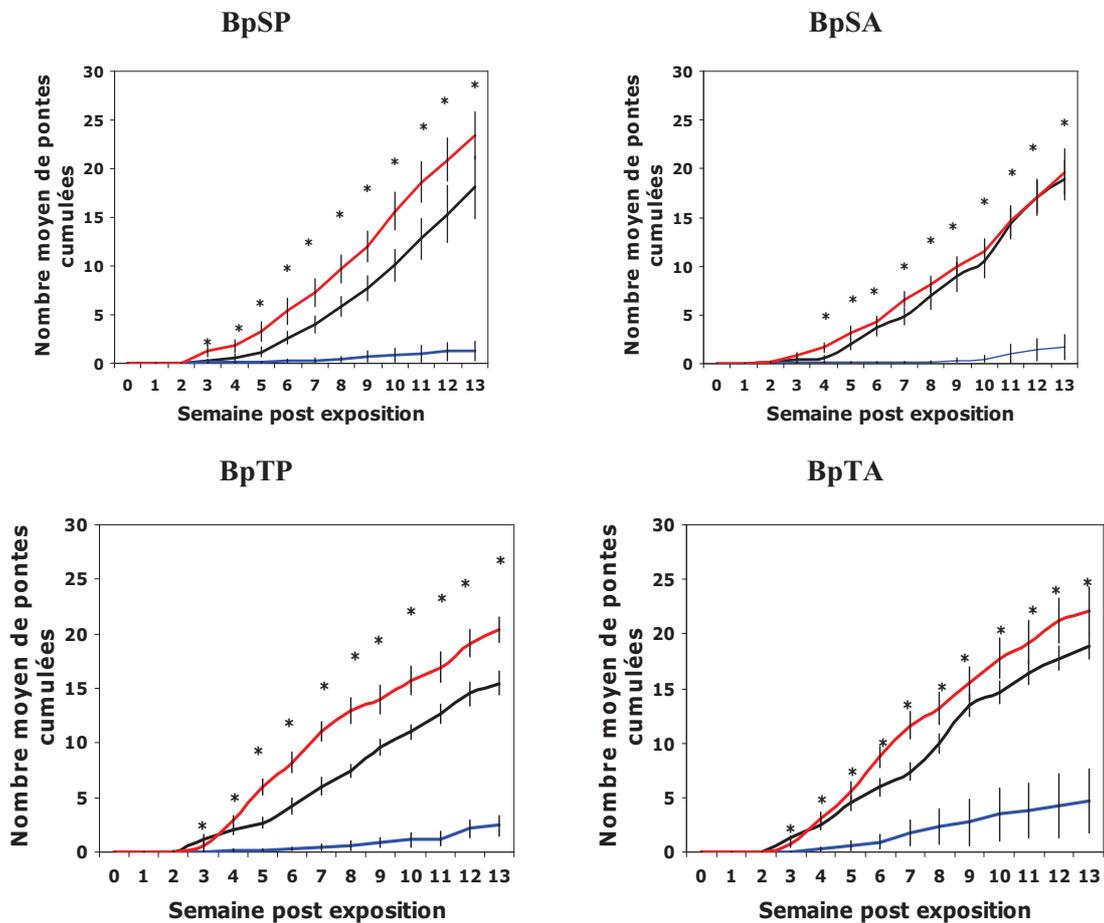


Figure III-1-1-4: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* sain (noir), positif (bleu) et exposé-négatif (rouge) à *S. mansoni* population humaine. BpSP: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté, BpSA: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos, BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté, BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos. \*: différence significative (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ).

### 3. Nombre d'œufs

Le **nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine est présenté dans la figure III-1-1-5.

Pour **BpSP**, BpSPs et BpSP/SmH- ne font leurs premiers œufs qu'à partir de la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition alors que BpSP/SmH+ commencent à faire leurs premiers œufs à la 1<sup>ère</sup> semaine. Il existe une différence significative dans le nombre d'œufs entre BpSPs, BpSP/SmH+ et BpSP/SmH- de la 3<sup>ème</sup> (H=7,13; N=11; N=18; N=10, respectivement;  $p=0,028$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=23,53; N=9; N=16; N=10, respectivement;  $p<0,0001$ ) où le nombre d'œufs est respectivement de  $145,00\pm 23,24$ , de  $7,44\pm 5,64$  et de  $188,50\pm 20,08$ . Le post-hoc test de Dunn indique que les différences sont significatives entre BpSP/SmH+ et BpSP/SmH- et entre BpSP/SmH+ et BpSPs.

Pour **BpSA**, tous les mollusques commencent à faire leurs premiers œufs à la 2<sup>ème</sup> semaine post-exposition. Il existe une différence significative dans le nombre d'œufs entre BpSAs, BpSA/SmH+ et BpSA/SmH- de la 4<sup>ème</sup> (H=11,13; N=16; N=13; N=14, respectivement;  $p=0,004$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=17,29; N=7; N=9; N=14, respectivement;  $p=0,0002$ ) où le nombre d'œufs est respectivement de  $139,57\pm 18,61$ , de  $8,88\pm 7,46$  et de  $138,14\pm 18,85$ . Le post-hoc test de Dunn indique que les différences sont significatives entre BpSA/SmH+ et BpSA/SmH- et entre BpSA/SmH+ et BpSAs.

Pour **BpTP**, BpTPs et BpTP/SmH+ font leurs premiers œufs à la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition alors que BpTP/SmH- commencent à faire leurs premiers œufs à la 2<sup>ème</sup> semaine. Il existe une différence significative dans le nombre d'œufs entre BpTPs, BpTP/SmH+ et BpTP/SmH- de la 3<sup>ème</sup> (H=9,24; N=16; N=20; N=25, respectivement;  $p=0,010$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=31,63; N=10; N=17; N=19, respectivement;  $p<0,0001$ ) où le nombre d'œufs est respectivement de  $159,80\pm 10,43$ , de  $9,88\pm 4,06$  et de  $149,16\pm 10,72$ . Le post-hoc test de Dunn indique que les différences sont significatives entre BpTP/SmH+ et BpTPs et entre BpTP/SmH+ et BpTP/SmH-.

Pour **BpTA**, BpTAs et BpTA/SmH- commencent à faire leurs premiers œufs à la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition alors que BpTA/SmH+ font leurs premiers œufs à la 4<sup>ème</sup> semaine. Il existe une différence significative dans le nombre d'œufs entre BpTAs, BpTA/SmH+ et BpTA/SmH- de la 3<sup>ème</sup> (H=6,95; N=20; N=12; N=21, respectivement;  $p=0,021$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=15,97; N=18; N=10; N=17, respectivement;  $p=0,0003$ ) où le nombre d'œufs est respectivement de  $197,67\pm 13,82$ , de  $35,90\pm 22,88$  et de

225,59±22,43. Le post-hoc test de Dunn indique que les différences sont significatives entre BpTA/SmH+ et BpTAs et entre BpTA/SmH+ et BpTA/SmH-.

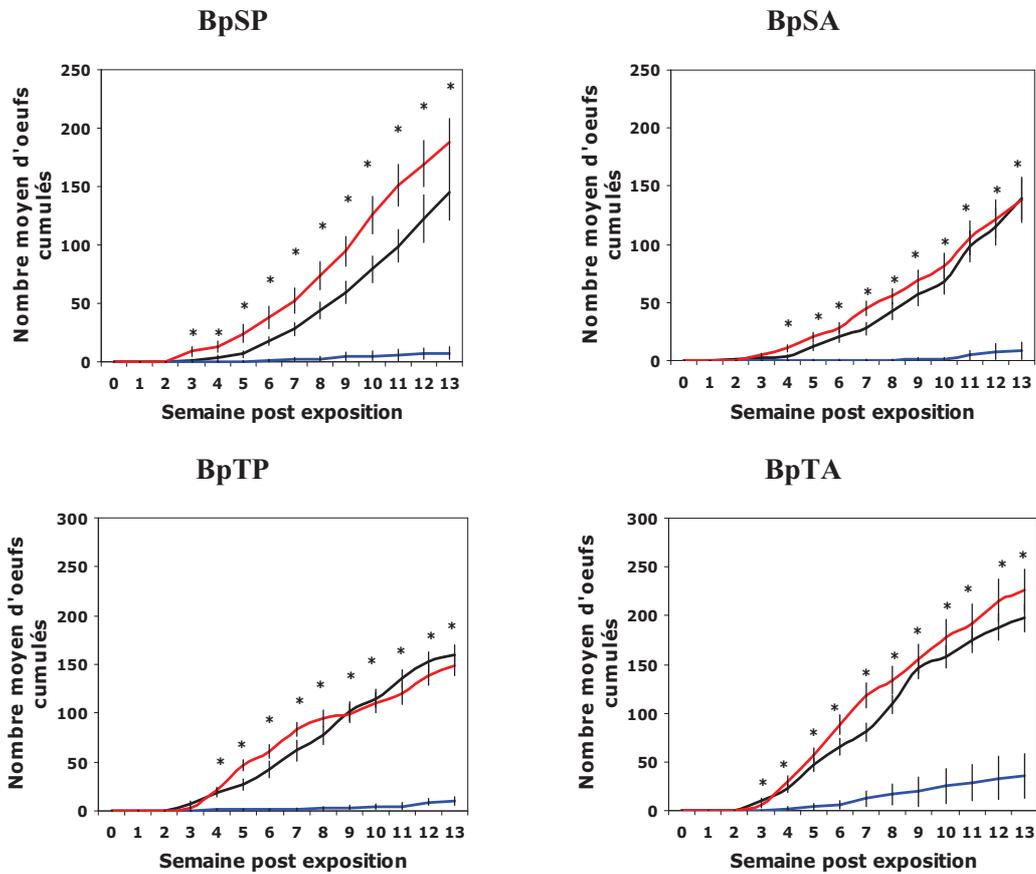


Figure III-1-1-5: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* sain (noir), positif (bleu), et exposé-négatif (rouge) à *S. mansoni* population humaine. BpSP: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté, BpSA: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos, BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté, BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos. \*: différence significative (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ).

#### 4. Nombre d'œufs par ponte

Pour **BpSP**, le nombre d'œufs par ponte moyen n'est pas significativement différent entre BpSPs ( $8,06 \pm 0,43$ ), BpSP/SmH+ ( $6,25 \pm 0,84$ ) et BpSP/SmH- ( $8,27 \pm 0,27$ ) (Kruskal-Wallis;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpSA**, le nombre d'œufs par ponte moyen n'est pas significativement différent entre BpSAs ( $6,11 \pm 0,77$ ), BpSA/SmH+ ( $4,39 \pm 0,86$ ) et BpSA/SmH- ( $6,83 \pm 0,50$ ) (Kruskal-Wallis;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpTP**, le nombre d'œufs par ponte moyen est significativement différent ( $H=16,32$ ;  $N=14$ ;  $N=10$ ;  $N=24$ , respectivement;  $p=0,0003$ ) entre BpTPs ( $9,1 \pm 0,70$ ),

BpTP/SmH+ (4,40±0,49) et BpTP/SmH- (7,38±0,56). Le post-hoc test de Dunn indique que les différences sont significatives entre BpTP/SmH+ et BpTPs et entre BpTP/SmH+ et BpTP/SmH-.

Pour **BpTA**, le nombre d'œufs par ponte moyen est significativement différent (H=31,65; N=20; N=10; N=24, respectivement;  $p<0,0001$ ) entre BpTAs (10,52±0,34), BpTA/SmH+ (6,84±0,92) et BpTA/SmH- (10,04±0,26). Le post-hoc test de Dunn indique que les différences sont significatives entre BpTA/SmH+ et BpTAs et entre BpTA/SmH+ et BpTA/SmH-.

### C. *Survie*

Les courbes de survie de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine sont présentées dans la figure III-1-1-6.

Pour **BpSP**, la survie est significativement différente entre BpSPs, BpSP/SmH+ et BpSP/SmH- ( $X^2=7,04$ ; ddl=2;  $p=0,028$ ). Les comparaisons deux à deux indiquent que la survie des BpSPs est significativement inférieure à celle des BpSP/SmH+ ( $X^2=4,79$ ; ddl=1;  $p=0,029$ ).

Pour **BpSA**, il n'existe aucune différence significative entre la survie des BpSAs, des BpSA/SmH+ et des BpSA/SmH- (Logrank test;  $p>0,05$ ).

Pour **BpTP**, la survie est significativement différente entre BpTPs, BpTP/SmH+ et BpTP/SmH- ( $X^2=8,59$ ; ddl=2;  $p=0,014$ ). Les comparaisons deux à deux indiquent que la survie des BpTPs est significativement inférieure à celle des BpTP/SmH+ ( $X^2=6,06$ ; ddl=1;  $p=0,014$ ) et à celle des BpTP/SmH- ( $X^2=4,59$ ; ddl=1;  $p=0,032$ ).

Pour **BpTA**, il n'existe aucune différence significative entre la survie des BpTAs, des BpTA/SmH+ et des BpTA/SmH- (Logrank test;  $p>0,05$ ).

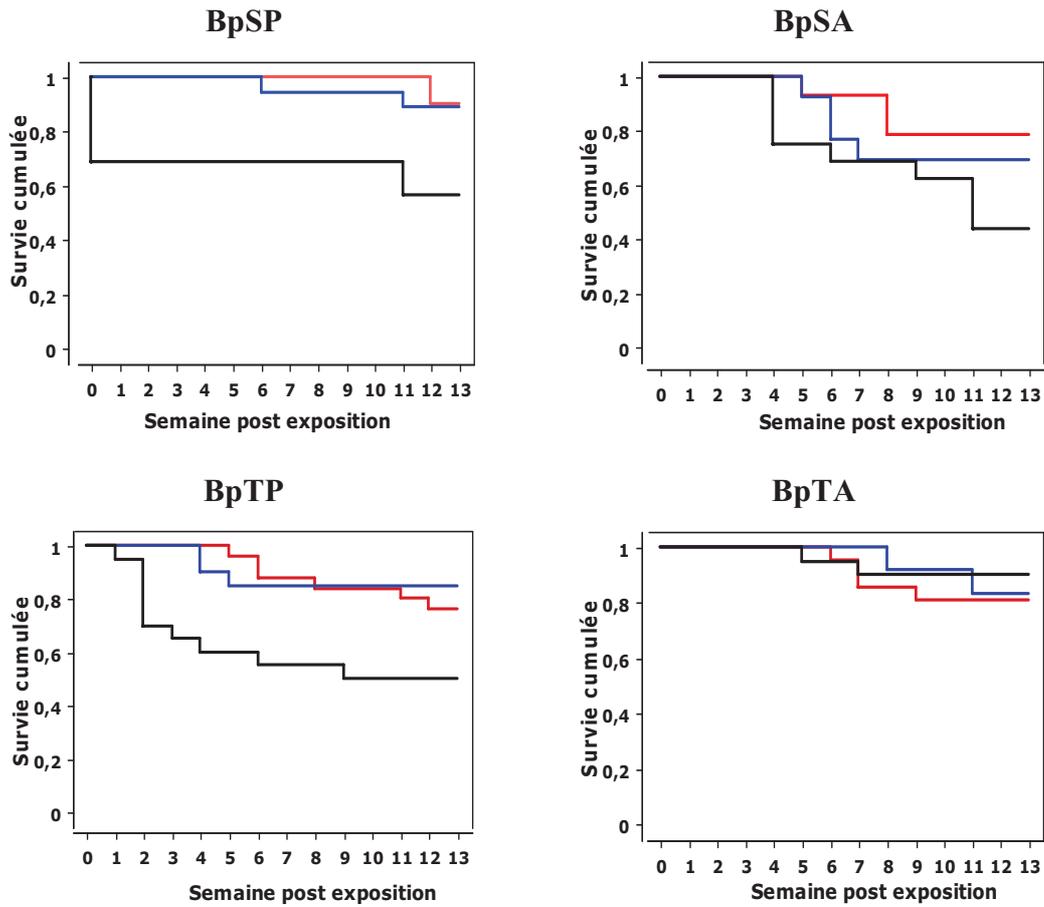


Figure III-1-1-6: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* sain (noir), positif (bleu) et exposé-négatif (rouge) à *S. mansoni* population humaine. BpSP: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté, BpSA: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos, BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté, BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos.



***Sous-Chapitre 2:***  
***Impact de S. mansoni d'origine murine sur B. pfeifferi***



# I. Résultats

## A. Croissance

### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif à *S. mansoni* population murine est présenté dans la figure III-1-2-1.

Pour **BpSP**, le diamètre de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif augmente rapidement durant les trois premières semaines et lentement jusqu'à la fin de l'expérience. De la 4<sup>ème</sup> à la 13<sup>ème</sup> semaine, il existe des différences significatives entre BpSPs, BpSP/SmM+ et BpSP/SmM- (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ). Le diamètre des mollusques à la 13<sup>ème</sup> semaine est respectivement de  $7,98 \pm 0,14$  mm, de  $8,49 \pm 0,16$  mm et de  $7,62 \pm 0,11$  mm (H=12,08; N=9; N=8; N=11, respectivement;  $p = 0,002$ ). Le post-hoc test de Dunn montre qu'il existe des différences significatives entre BpSP/SmM+ et BpSP/SmM-.

Pour **BpSA**, le diamètre de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif augmente rapidement durant les trois premières semaines, lentement pour BpSAs et BpSA/SmM- et considérablement pour BpSA/SmM+ jusqu'à la fin de l'expérience. De la 9<sup>ème</sup> à la 13<sup>ème</sup> semaine, il existe des différences significatives entre BpSAs, BpSA/SmM+ et BpSA/SmM- (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ). Le diamètre des mollusques à la 13<sup>ème</sup> semaine est respectivement de  $7,49 \pm 0,18$  mm, de  $8,34 \pm 0,15$  mm et de  $7,06 \pm 0,20$  mm (H=15,47; N=7; N=10; N=9, respectivement;  $p = 0,0004$ ). Le post-hoc test de Dunn montre qu'il existe des différences significatives entre BpSA/SmM+ et BpSAs et entre BpSA/SmM+ et BpSA/SmM.

Pour **BpTP**, le diamètre de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif augmente rapidement durant les trois premières semaines et lentement jusqu'à la fin de l'expérience. De la 2<sup>ème</sup> à la 13<sup>ème</sup> semaine, il existe des différences significatives entre BpTPs, BpTP/SmM+ et BpTP/SmM- (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ). Le diamètre des mollusques à la 13<sup>ème</sup> semaine est respectivement de  $8,45 \pm 0,16$  mm, de  $7,92 \pm 0,11$  mm et de  $7,73 \pm 0,29$  mm (H=7,07; N=10; N=7; N=4, respectivement;  $p = 0,029$ ). Le post-hoc test de Dunn montre qu'il n'existe aucune différence significative entre toutes les paires de comparaison (Dunn;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpTA**, le diamètre de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif augmente rapidement durant les trois premières semaines et lentement jusqu'à la fin de

l'expérience. Il existe des différences significatives entre BpTAs, BpTA/SmM+ et BpTA/SmM- (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ) pendant toute la durée de l'expérience. Le diamètre des mollusques à la 13<sup>ème</sup> semaine est respectivement de  $8,57 \pm 0,04$  mm, de  $9,11 \pm 0,25$  mm et de  $8,09 \pm 0,22$  mm ( $H=10,70$ ;  $N=18$ ;  $N=6$ ;  $N=7$ , respectivement;  $p=0,005$ ). Le post-hoc test de Dunn montre qu'il existe des différences significatives entre BpTA/SmM+ et BpTA/SmM-.

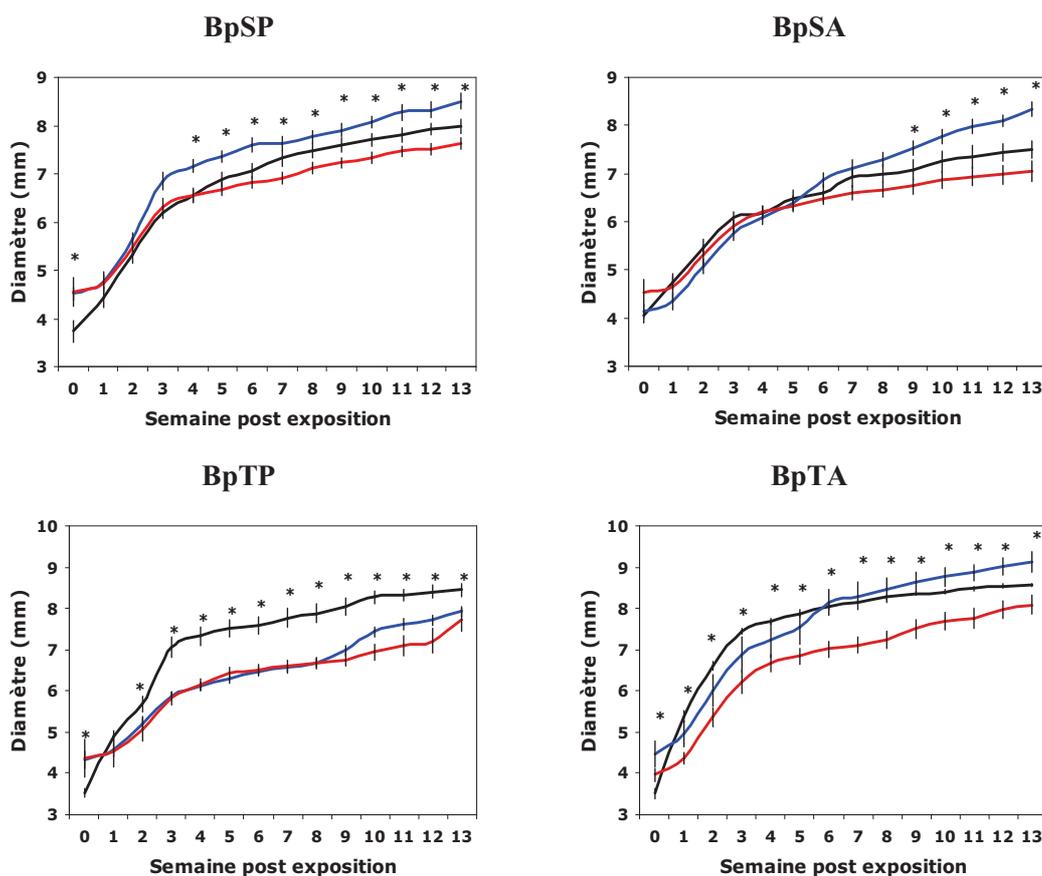


Figure III-1-2-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* sain (noir), positif (bleu) et exposé-négatif (rouge) à *S. mansoni* population murine. BpSP: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté, BpSA: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos, BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté, BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos. \*: différence significative (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ).

## 2. Accroissement du diamètre

Pour l'ensemble des mollusques et quel que soit l'état du mollusque, les accroissements du diamètre (Tableau III-1-2-1) sont maximaux durant les 4 premières semaines post-exposition. Les différences d'accroissement entre sains, positifs et

exposés-négatifs ne montrent pas de cinétique de croissance particulière au cours du temps.

Tableau III-1-2-1: Accroissement hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) du diamètre ( $\Delta$ ) de *B. pfeifferi* sain, positif (SmM+) et exposé-négatif (SmM-). SPE: semaine post-exposition, BpSP: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté, BpSA: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos, BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté, BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos, N: nombre de mollusques survivants, NS: différence non significative (Kruskal-Wallis;  $p>0,05$ ), \$: différence significative entre sains et SmM+, ‡: différence significative entre SmM+ et SmM-, \*: différence significative entre sains et SmM-.

SPE	Etat	BpSP			BpSA			BpTP			BpTA		
		N	$\Delta$	<i>p</i>									
0	Sain	16			16			20			20		
	SmM+	8			14			17			7		
	SmM-	11			9			8			11		
1	Sain	11	0,73 $\pm$ 0,18		16	0,68 $\pm$ 0,12	\$	20	1,38 $\pm$ 0,15	\$	20	1,87 $\pm$ 0,10	\$
	SmM+	8	0,24 $\pm$ 0,06	*	14	0,20 $\pm$ 0,08	*	17	0,24 $\pm$ 0,09	*	7	0,49 $\pm$ 0,12	*
	SmM-	11	0,18 $\pm$ 0,06		9	0,12 $\pm$ 0,05		8	0,19 $\pm$ 0,07		11	0,38 $\pm$ 0,11	
2	Sain	11	0,90 $\pm$ 0,15		16	0,74 $\pm$ 0,10		19	0,82 $\pm$ 0,13		20	1,22 $\pm$ 0,12	
	SmM+	8	0,90 $\pm$ 0,12	NS	14	0,73 $\pm$ 0,06	NS	17	0,62 $\pm$ 0,10	NS	7	1,04 $\pm$ 0,33	NS
	SmM-	11	0,75 $\pm$ 0,11		9	0,67 $\pm$ 0,13		8	0,53 $\pm$ 0,10		11	1,02 $\pm$ 0,23	
3	Sain	11	0,86 $\pm$ 0,14		16	0,61 $\pm$ 0,06		14	1,21 $\pm$ 0,16	\$	20	0,83 $\pm$ 0,10	
	SmM+	8	1,21 $\pm$ 0,23	NS	14	0,70 $\pm$ 0,07	NS	17	0,67 $\pm$ 0,07		7	0,88 $\pm$ 0,18	NS
	SmM-	11	0,84 $\pm$ 0,19		9	0,59 $\pm$ 0,16		8	0,74 $\pm$ 0,17		11	0,86 $\pm$ 0,14	
4	Sain	11	0,35 $\pm$ 0,04		16	0,10 $\pm$ 0,02	\$	13	0,16 $\pm$ 0,03		20	0,26 $\pm$ 0,05	
	SmM+	8	0,31 $\pm$ 0,11	NS	14	0,31 $\pm$ 0,05	*	17	0,25 $\pm$ 0,03	NS	7	0,36 $\pm$ 0,11	NS
	SmM-	11	0,23 $\pm$ 0,08		9	0,29 $\pm$ 0,08		8	0,33 $\pm$ 0,09		11	0,45 $\pm$ 0,09	
5	Sain	11	0,33 $\pm$ 0,05		12	0,24 $\pm$ 0,06		12	0,06 $\pm$ 0,01		20	0,15 $\pm$ 0,03	
	SmM+	8	0,19 $\pm$ 0,04	*	14	0,30 $\pm$ 0,04		17	0,17 $\pm$ 0,03	*	7	0,30 $\pm$ 0,09	NS
	SmM-	11	0,13 $\pm$ 0,03		9	0,13 $\pm$ 0,03	‡	8	0,29 $\pm$ 0,06		10	0,18 $\pm$ 0,08	
6	Sain	11	0,19 $\pm$ 0,03		12	0,12 $\pm$ 0,03	\$	12	0,05 $\pm$ 0,04		19	0,17 $\pm$ 0,01	\$
	SmM+	8	0,25 $\pm$ 0,06	NS	14	0,48 $\pm$ 0,08		17	0,19 $\pm$ 0,05	NS	6	0,33 $\pm$ 0,06	
	SmM-	11	0,14 $\pm$ 0,04		9	0,16 $\pm$ 0,03	‡	8	0,06 $\pm$ 0,02		10	0,18 $\pm$ 0,03	
7	Sain	11	0,25 $\pm$ 0,03	\$	11	0,23 $\pm$ 0,05		11	0,13 $\pm$ 0,04		19	0,13 $\pm$ 0,02	
	SmM+	8	0,03 $\pm$ 0,01		13	0,26 $\pm$ 0,03		16	0,11 $\pm$ 0,03	NS	6	0,17 $\pm$ 0,03	NS
	SmM-	11	0,08 $\pm$ 0,02	*	9	0,12 $\pm$ 0,03	‡	8	0,08 $\pm$ 0,02		9	0,11 $\pm$ 0,04	
8	Sain	11	0,15 $\pm$ 0,03		11	0,07 $\pm$ 0,02		11	0,11 $\pm$ 0,04		18	0,14 $\pm$ 0,02	
	SmM+	8	0,14 $\pm$ 0,04	NS	13	0,18 $\pm$ 0,05	NS	13	0,10 $\pm$ 0,03	NS	6	0,15 $\pm$ 0,03	NS
	SmM-	11	0,21 $\pm$ 0,05		9	0,07 $\pm$ 0,03		8	0,08 $\pm$ 0,02		9	0,14 $\pm$ 0,03	
9	Sain	11	0,13 $\pm$ 0,02		11	0,08 $\pm$ 0,02	\$	11	0,15 $\pm$ 0,03		18	0,08 $\pm$ 0,02	
	SmM+	8	0,14 $\pm$ 0,04	NS	13	0,25 $\pm$ 0,05		12	0,25 $\pm$ 0,07	NS	6	0,18 $\pm$ 0,09	NS
	SmM-	11	0,11 $\pm$ 0,03		9	0,07 $\pm$ 0,02	‡	8	0,09 $\pm$ 0,04		8	0,20 $\pm$ 0,06	
10	Sain	11	0,11 $\pm$ 0,03		10	0,13 $\pm$ 0,03		10	0,11 $\pm$ 0,03		18	0,04 $\pm$ 0,01	
	SmM+	8	0,18 $\pm$ 0,04	NS	12	0,16 $\pm$ 0,03	NS	9	0,27 $\pm$ 0,08	NS	6	0,13 $\pm$ 0,05	*
	SmM-	10	0,10 $\pm$ 0,02		9	0,12 $\pm$ 0,03		7	0,16 $\pm$ 0,08		8	0,19 $\pm$ 0,05	
11	Sain	11	0,10 $\pm$ 0,02		10	0,10 $\pm$ 0,02		10	0,05 $\pm$ 0,02		18	0,08 $\pm$ 0,02	
	SmM+	8	0,19 $\pm$ 0,07	NS	11	0,18 $\pm$ 0,03	NS	8	0,14 $\pm$ 0,03	NS	6	0,12 $\pm$ 0,04	NS
	SmM-	11	0,14 $\pm$ 0,02		9	0,08 $\pm$ 0,02		6	0,16 $\pm$ 0,06		7	0,08 $\pm$ 0,03	
12	Sain	9	0,04 $\pm$ 0,02		7	0,09 $\pm$ 0,02		10	0,08 $\pm$ 0,02		18	0,05 $\pm$ 0,01	
	SmM+	8	0,06 $\pm$ 0,02	NS	11	0,13 $\pm$ 0,04	NS	8	0,11 $\pm$ 0,02	NS	6	0,13 $\pm$ 0,05	*
	SmM-	11	0,05 $\pm$ 0,01		9	0,03 $\pm$ 0,02		6	0,13 $\pm$ 0,08		7	0,19 $\pm$ 0,04	
13	Sain	9	0,06 $\pm$ 0,01	\$	7	0,05 $\pm$ 0,02		10	0,04 $\pm$ 0,02		18	0,03 $\pm$ 0,01	
	SmM+	8	0,17 $\pm$ 0,03		10	0,19 $\pm$ 0,05	NS	7	0,13 $\pm$ 0,02	NS	6	0,10 $\pm$ 0,05	NS
	SmM-	11	0,11 $\pm$ 0,02		9	0,08 $\pm$ 0,02		4	0,13 $\pm$ 0,07		7	0,12 $\pm$ 0,05	

### 3. Masse corporelle

La **masse corporelle hebdomadaire moyenne** n'a été mesurée que pour *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté et albinos. La masse corporelle des mollusques sains, positifs et exposés-négatifs à *S. mansoni* population murine est présentée dans la figure III-1-2-2. Quel que soit l'état des mollusques, la masse corporelle évolue très rapidement pendant les trois premières semaines et ensuite progressivement jusqu'à la fin de l'expérience.

Pour **BpTP**, il existe des différences significatives entre BpTPs, BpTP/SmM+ et BpTP/SmM- de la 2<sup>ème</sup> (H=6,17; N=19; N=17; N=8, respectivement;  $p=0,046$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine post-exposition (Kruskal-Wallis;  $p<0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, la masse corporelle est respectivement de  $0,1040\pm 0,0050$  g, de  $0,0865\pm 0,0031$  g et de  $0,0879\pm 0,0160$  g (H=6,58; N=10; N=7; N=4, respectivement;  $p=0,037$ ). Le post-hoc test de Dunn n'indique aucune différence significative (Dunn;  $p>0,05$ ).

Pour **BpTA**, il existe des différences significatives entre BpTAs, BpTA/SmM+ et BpTA/SmM- de la 1<sup>ère</sup> (H=16,38; N=20; N=7; N=11, respectivement;  $p=0,0003$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine post-exposition. A la 13<sup>ème</sup> semaine, la masse corporelle est respectivement de  $0,1040\pm 0,0020$  g, de  $0,1258\pm 0,0074$  g et de  $0,0892\pm 0,0048$  g (H=17,51; N=18; N=6; N=7, respectivement;  $p=0,0002$ ). Le post-hoc test de Dunn indique que BpTA/SmM+ ont une masse corporelle plus importante que BpTAs et BpTA/SmM- et que BpTAs ont une masse corporelle significativement plus importante que BpTA/SmM-.

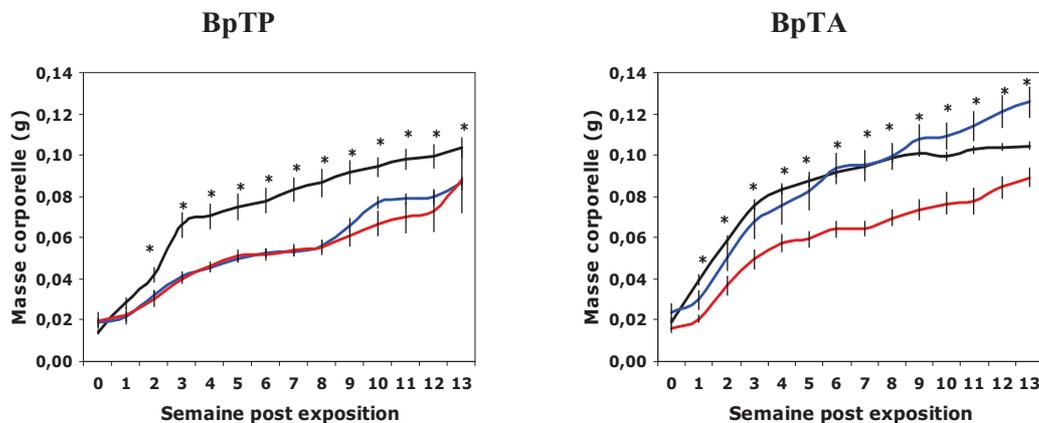


Figure III-1-2-2: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* sains (noir), positif (bleu) et exposé-négatif (rouge) à *S. mansoni* population murine. BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté; BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos. \*: différence significative (Kruskal-Wallis;  $p<0,05$ ).

#### 4. Accroissement de la masse

Pour **BpTP** et BpTA et quel que soit l'état du mollusque, les accroissements de la masse sont maximaux entre la 1<sup>ère</sup> et la 3<sup>ème</sup> semaine (Tableau III-1-2-2). A l'exception de la première semaine où les mollusques sains ont un accroissement de masse significativement supérieur aux mollusques parasités et exposés-négatifs, il n'existe pas de cinétique particulière des accroissements en fonction de l'état du mollusque.

#### 5. Relation diamètre/masse corporelle

La **relation diamètre/masse corporelle** de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif est présentée dans la figure III-1-2-3.

Pour **BpTP**, il existe une relation linéaire positive entre le diamètre et la masse corporelle pour BpTPs ( $r^2=0,97$ ), BpTP/SmM+ ( $r^2=0,98$ ) et BpTP/SmM- ( $r^2=0,96$ ). Le test de comparaison des pentes indique que les pentes ne sont pas significativement différentes entre elles ( $p>0,05$ ). Pour **BpTA**, il existe une relation linéaire positive entre le diamètre et la masse corporelle pour BpTAs ( $r^2=0,98$ ), BpTA/SmM+ ( $r^2=0,99$ ) et BpTA/SmM- ( $r^2=0,99$ ). Le test de comparaison des pentes indique que les pentes sont significativement différentes entre elles ( $F=9,43$ ;  $ddl=36$ ;  $p=0,0005$ ). La pente de BpTA/SmM+ est significativement plus grande que celle de BpTAs ( $F=9,19$ ;  $ddl=24$ ;  $p=0,006$ ) et que celle de BpTA/SmM- ( $F=15,74$ ;  $ddl=24$ ;  $p=0,0002$ ).

Tableau III-1-2-2: Accroissement hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de la masse corporelle en grammes ( $\Delta$ ) de *B. pfeifferi* sain, positif (SmM+) et exposé-négatif (SmM-). SPE: semaine post-exposition, BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté, BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos, N: nombre de mollusques survivants, NS: différence non significative (Kruskal-Wallis;  $p>0,05$ ), \$: différence significative entre sains et SmM+, ‡: différence significative entre SmM+ et SmM-, \*: différence significative entre sains et SmM-.

SPE	Etat	BpTP			BpTA		
		N	$\Delta$	$p$	N	$\Delta$	$p$
0	Sain	20			20		
	SmM+	17			7		
	SmM-	8			11		
1	Sain	20	0,014 $\pm$ 0,002	\$	20	0,020 $\pm$ 0,001	\$
	SmM+	17	0,003 $\pm$ 0,001	*	7	0,006 $\pm$ 0,001	*
	SmM-	8	0,002 $\pm$ 0,001		11	0,001 $\pm$ 0,001	
2	Sain	19	0,014 $\pm$ 0,003		20	0,019 $\pm$ 0,002	
	SmM+	17	0,010 $\pm$ 0,001	NS	7	0,021 $\pm$ 0,006	NS
	SmM-	8	0,008 $\pm$ 0,001		11	0,016 $\pm$ 0,004	
3	Sain	14	0,022 $\pm$ 0,003	\$	20	0,017 $\pm$ 0,002	
	SmM+	17	0,010 $\pm$ 0,001		7	0,017 $\pm$ 0,004	NS
	SmM-	8	0,010 $\pm$ 0,003		11	0,013 $\pm$ 0,003	
4	Sain	13	0,002 $\pm$ 0,001		20	0,008 $\pm$ 0,002	
	SmM+	17	0,004 $\pm$ 0,001	*	7	0,008 $\pm$ 0,004	NS
	SmM-	8	0,006 $\pm$ 0,001		11	0,008 $\pm$ 0,002	
5	Sain	12	0,002 $\pm$ 0,002		20	0,004 $\pm$ 0,001	
	SmM+	17	0,004 $\pm$ 0,001	NS	7	0,007 $\pm$ 0,002	NS
	SmM-	8	0,005 $\pm$ 0,002		10	0,004 $\pm$ 0,001	
6	Sain	12	0,003 $\pm$ 0,001		19	0,004 $\pm$ 0,001	
	SmM+	17	0,003 $\pm$ 0,001	NS	6	0,006 $\pm$ 0,003	NS
	SmM-	8	0,001 $\pm$ 0,001		10	0,005 $\pm$ 0,001	
7	Sain	11	0,004 $\pm$ 0,002		19	0,003 $\pm$ 0,001	
	SmM+	16	0,001 $\pm$ 0,001	NS	6	0,001 $\pm$ 0,001	NS
	SmM-	8	0,002 $\pm$ 0,001		9	0,000 $\pm$ 0,002	
8	Sain	11	0,003 $\pm$ 0,002		18	0,004 $\pm$ 0,001	
	SmM+	13	0,003 $\pm$ 0,001	NS	6	0,005 $\pm$ 0,002	NS
	SmM-	8	0,002 $\pm$ 0,001		9	0,005 $\pm$ 0,001	
9	Sain	11	0,005 $\pm$ 0,002		18	0,002 $\pm$ 0,001	
	SmM+	12	0,009 $\pm$ 0,002	NS	6	0,008 $\pm$ 0,005	NS
	SmM-	8	0,005 $\pm$ 0,002		8	0,004 $\pm$ 0,002	
10	Sain	10	0,001 $\pm$ 0,001	\$	18	0,002 $\pm$ 0,001	
	SmM+	9	0,005 $\pm$ 0,001		6	0,002 $\pm$ 0,002	*
	SmM-	7	0,004 $\pm$ 0,002		8	0,003 $\pm$ 0,000	
11	Sain	10	0,004 $\pm$ 0,001		18	0,004 $\pm$ 0,001	
	SmM+	8	0,002 $\pm$ 0,002	NS	6	0,005 $\pm$ 0,001	NS
	SmM-	6	0,004 $\pm$ 0,002		7	0,002 $\pm$ 0,001	
12	Sain	10	0,001 $\pm$ 0,002		18	0,001 $\pm$ 0,001	\$
	SmM+	8	0,001 $\pm$ 0,002	NS	6	0,007 $\pm$ 0,002	*
	SmM-	6	0,003 $\pm$ 0,003		7	0,001 $\pm$ 0,002	
13	Sain	10	0,004 $\pm$ 0,001		18	0,001 $\pm$ 0,001	
	SmM+	7	0,005 $\pm$ 0,001	NS	6	0,005 $\pm$ 0,001	*
	SmM-	4	0,005 $\pm$ 0,004		7	0,005 $\pm$ 0,002	

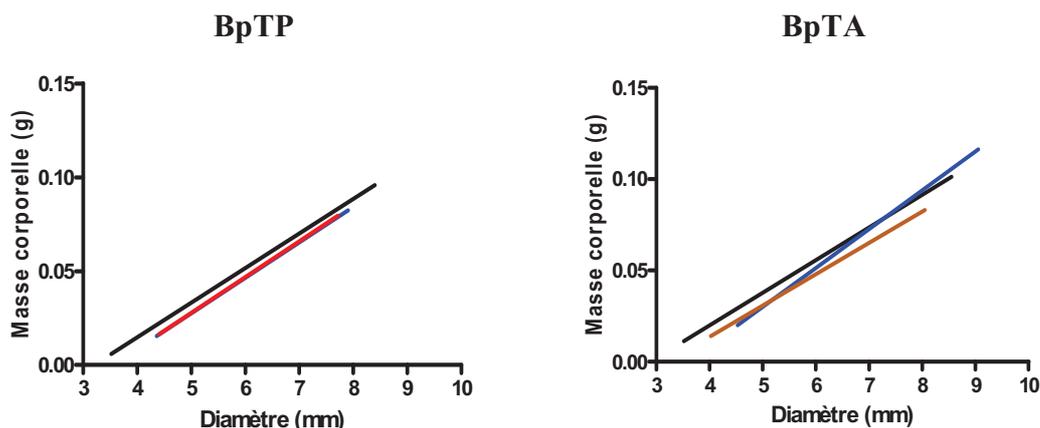


Figure III-1-2-3: Relation diamètre/masse corporelle de *B. pfeifferi* sain (noir), positif (bleu) et exposé-négatif (rouge) à *S. mansoni* population murine. BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté; BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos.

## B. Fécondité

### 1. Taux de mollusques pondeurs

Pour **BpSP**, le taux de mollusques ayant au moins émis une ponte pendant toute la durée de l'expérience est respectivement 90,91% (10/11), 12,50% (1/8) et 100% (11/11) chez BpSPs, BpSP/SmM+ et BpSP/SmM-. Il existe une différence significative entre ces taux ( $X^2=20,88$ ; ddl=2;  $p<0,0001$ ), BpSP/SmM+ ayant un taux significativement inférieur à ceux des BpSPs et des BpSP/SmM- (Fisher's exact test;  $p<0,05$ ).

Pour **BpSA**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est respectivement 91,67% (11/12), 0,00% (0/14) et 100% (9/9) chez BpSAs, BpSA/SmM+ et BpSA/SmM-. Il existe une différence significative entre ces taux ( $X^2=31,26$ ; ddl=2;  $p<0,0001$ ), BpSA/SmM+ ayant un taux significativement inférieur à ceux des BpSAs et des BpSA/SmM- (Fisher's exact test;  $p<0,05$ ).

Pour **BpTP**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est respectivement 92,86% (13/14), 0,00% (0/17) et 75,00% (6/8) chez BpTPs, BpTP/SmM+ et BpTP/SmM-. Il existe une différence significative entre ces taux ( $X^2=29,28$ ; ddl=2;  $p<0,0001$ ), les BpTP/SmM+ ayant un taux significativement inférieur à ceux des BpTPs et des BpTP/SmM- (Fisher's exact test;  $p<0,05$ ).

Pour **BpTA**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est respectivement 100% (20/20), 0,00% (0/7) et 100% (11/11)

chez BpTAs, BpTA/SmM+ et BpTA/SmM-. Il existe une différence significative entre ces taux ( $\chi^2=38$ ; ddl=2;  $p<0,0001$ ), BpTA/SmM+ ayant un taux significativement inférieur à ceux des BpTAs et des BpTA/SmM- (Fisher's exact test;  $p<0,05$ ).

## 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif à *S. mansoni* population murine est présenté dans la figure III-1-2-4.

Pour **BpSP**, BpSPs et BpSP/SmM- commencent à faire leurs premières pontes respectivement à la 3<sup>ème</sup> et 1<sup>ème</sup> semaine post-exposition alors qu'un seul BpSP/SmM+ a fait une seule ponte à la 6<sup>ème</sup> semaine. Il existe une différence significative dans le nombre de pontes entre BpSPs, BpSP/SmM+ et BpSP/SmM- de la 3<sup>ème</sup> (H=11,12; N=11; N=8; N=11, respectivement;  $p=0,004$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=15,22; N=9; N=8; N=11, respectivement;  $p<0,0005$ ) où le nombre de pontes est respectivement de  $18,11\pm 3,24$ , de  $0,13\pm 0,13$  et de  $16,82\pm 3,40$ . Le post-hoc test de Dunn indique des différences significatives entre BpSP/SmM+ et BpSP/SmM- et entre BpSP/SmM+ et BpSPs.

Pour **BpSA**, BpSAs et BpSA/SmM- commencent à faire leurs premières pontes respectivement à la 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition alors que BpSA/SmM+ ne font jamais de pontes. Il existe une différence significative dans le nombre de pontes entre BpSAs, BpSA/SmM+ et BpSA/SmM- de la 4<sup>ème</sup> (H=6,87; N=16; N=14; N=9, respectivement;  $p=0,032$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=20,25; N=7; N=10; N=9, respectivement;  $p<0,0001$ ) où le nombre de pontes est respectivement de  $18,86\pm 2,02$ , de  $0,00\pm 0,00$  et de  $19,33\pm 2,12$ . Le post-hoc test de Dunn indique des différences significatives entre BpSA/SmM+ et BpSA/SmM- et entre BpSA/SmM+ et BpSAs.

Pour **BpTP**, BpTPs et BpTP/SmM- font leurs premières pontes à la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition alors que BpTP/SmM+ ne font jamais de pontes. Il existe une différence significative dans le nombre de pontes entre BpTPs, BpTP/SmM+ et BpTP/SmM- de la 3<sup>ème</sup> (H=8,52; N=17; N=17; N=8, respectivement;  $p=0,014$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=12,80; N=10; N=7; N=5, respectivement;  $p=0,002$ ) où le nombre de pontes est respectivement de  $15,50\pm 1,12$ , de  $0,00\pm 0,00$  et de  $13,80\pm 5,41$ . Le post-hoc test de Dunn

indique des différences significatives entre BpTP/SmM+ et BpTPs et entre BpTP/SmM+ et BpTP/SmM-.

Pour **BpTA**, BpTAs et BpTA/SmM- commencent à faire leurs premières pontes respectivement à la 3<sup>ème</sup> et 2<sup>ème</sup> semaine post-exposition alors que BpTA/SmM+ ne font jamais de pontes. Il existe une différence significative dans le nombre de pontes entre BpTAs, BpTA/SmM+ et BpTA/SmM- de la 3<sup>ème</sup> (H=10,11; N=20; N=7; N=11, respectivement;  $p=0,006$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=14,92; N=18; N=6; N=7, respectivement;  $p=0,0006$ ) où le nombre de pontes est respectivement de  $18,83 \pm 1,19$ , de  $0,00 \pm 0,00$  et de  $24,43 \pm 4,49$ . Le post-hoc test de Dunn indique des différences significatives entre BpTA/SmM+ et BpTAs et entre BpTA/SmM+ et BpTA/SmM-.

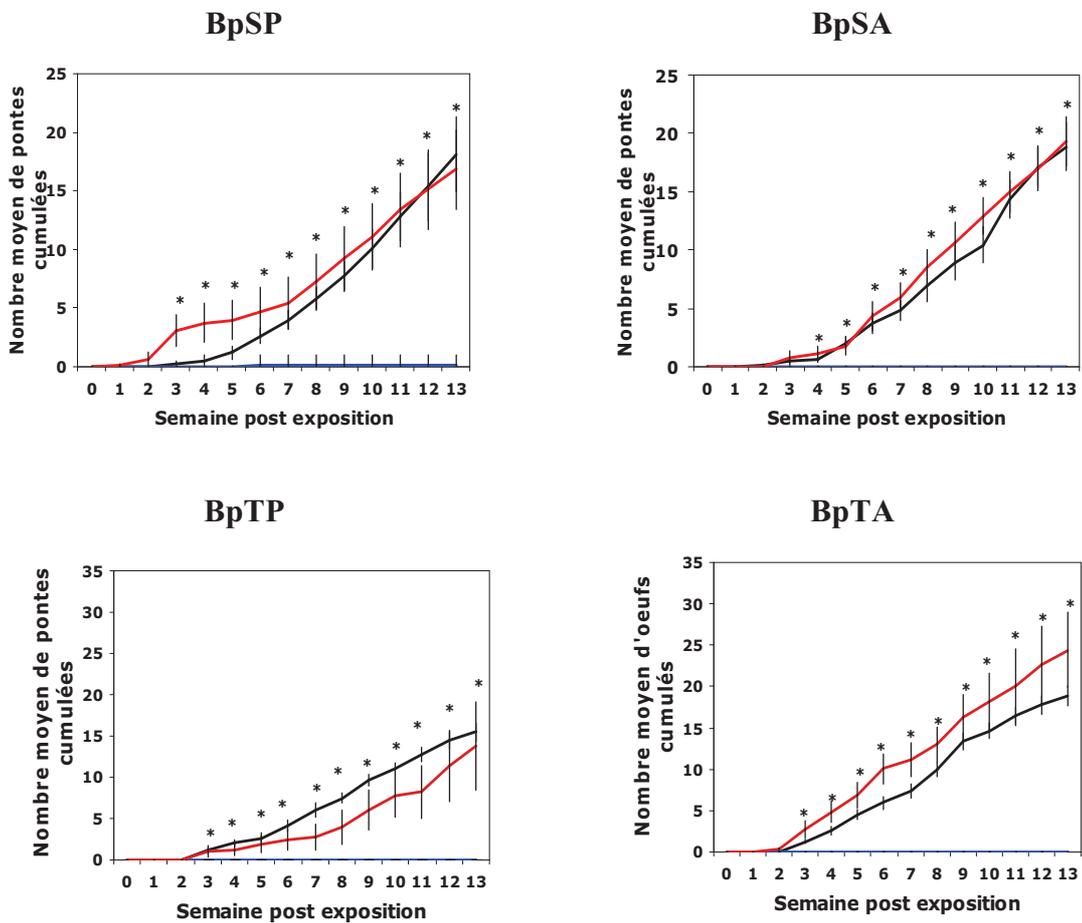


Figure III-1-2-4: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* sain (noir), positif (bleu) et exposé-négatif (rouge) à *S. mansoni* population murine. BpSP: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté, BpSA: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos, BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté, BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos. \*: différence significative (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ).

### 3. Nombre d'œufs

Le nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif à *S. mansoni* population murine est présenté dans la figure III-1-2-5.

Pour **BpSP**, BpSPs et BpSP/SmM- commencent à pondre respectivement à la 3<sup>ème</sup> et 1<sup>ème</sup> semaine post-exposition alors qu'un seul BpSP/SmM+ a fait une seule ponte de 6 œufs à la 6<sup>ème</sup> semaine. Il existe une différence significative dans le nombre d'œufs entre BpSPs, BpSP/SmM+ et BpSP/SmM- de la 3<sup>ème</sup> (H=10,20; N=11; N=8; N=11, respectivement;  $p=0,006$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=16,86; N=9; N=8; N=11, respectivement;  $p=0,0002$ ) où le nombre d'œufs est respectivement de  $145,00\pm 23,24$ , de  $0,75\pm 0,80$  et de  $97,36\pm 14,96$ . Le post-hoc test de Dunn indique des différences significatives entre BpSP/SmM+ et BpSP/SmM- et entre BpSP/SmM+ et BpSPs.

Pour **BpSA**, BpSAs et BpSA/SmM- commencent à pondre respectivement à la 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition alors que BpSA/SmM+ ne pondent jamais. Il existe une différence significative dans le nombre d'œufs entre BpSAs, BpSA/SmM+ et BpSA/SmM- de la 4<sup>ème</sup> (H=7,03; N=16; N=14; N=9, respectivement;  $p=0,030$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=19,46; N=7; N=10; N=9, respectivement;  $p<0,0001$ ) où le nombre d'œufs est respectivement de  $139,57\pm 18,61$ , de  $0,00\pm 0,00$  et de  $119,00\pm 11,52$ . Le post-hoc test de Dunn indique des différences significatives entre BpSA/SmM+ et BpSA/SmM- et entre BpSA/SmM+ et BpSAs.

Pour **BpTP**, BpTPs et BpTP/SmM- commencent à pondre à la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition alors que BpTP/SmM+ ne pondent jamais. Il existe une différence significative dans le nombre d'œufs entre BpTPs, BpTP/SmM+ et BpTP/SmM- de la 3<sup>ème</sup> (H=9,25; N=16; N=17; N=8, respectivement;  $p=0,010$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=16,61; N=10; N=7; N=5, respectivement;  $p=0,0002$ ) où le nombre d'œufs est respectivement de  $159,80\pm 10,43$ , de  $0,00\pm 0,00$  et de  $84,60\pm 26,58$ . Le post-hoc test de Dunn indique des différences significatives entre BpTPs et BpTP/SmM+.

Pour **BpTA**, BpTAs et BpTA/SmM- commencent à pondre respectivement à la 3<sup>ème</sup> et 2<sup>ème</sup> semaine post-exposition alors que BpTA/SmM+ ne pondent jamais. Il existe une différence significative dans le nombre d'œufs entre BpTAs, BpTA/SmM+ et BpTA/SmM- de la 3<sup>ème</sup> (H=9,40; N=20; N=7; N=11, respectivement;  $p=0,009$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (H=14,17; N=18; N=6; N=7, respectivement;  $p=0,0008$ ) où le nombre d'œufs est respectivement de  $197,67\pm 13,82$ , de  $0,00\pm 0,00$  et de  $206,29\pm 39,17$ . Le post-

hoc test de Dunn indique des différences significatives entre BpTA/SmM+ et BpTAs et entre BpTA/SmM+ et BpTA/SmM-.

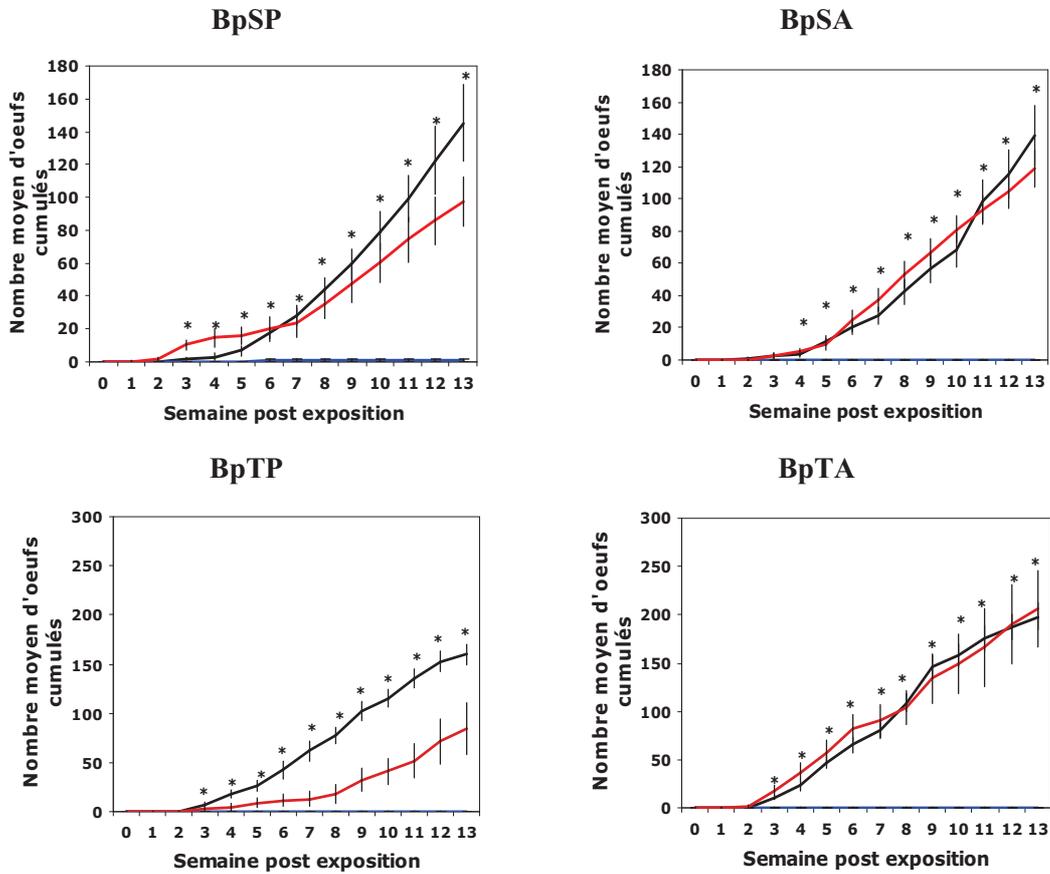


Figure III-1-2-5: Nombre d'œufs cumulés hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* sain (noir), positif (bleu) et exposé-négatif (rouge) à *S. mansoni* population murine. BpSP: *B. pfeifferi* Siginniti Pigmenté, BpSA: *B. pfeifferi* Siginniti Albinos, BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté, BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos. \*: différence significative (Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$ ).

#### 4. Nombre d'œufs par ponte

La fécondité des mollusques positifs durant toute la durée de l'expérience se réduit à une seule ponte de 6 œufs chez BpSP/SmM+. Le nombre d'œufs par ponte moyen chez les mollusques sains et exposés-négatifs est présenté dans le tableau III-1-2-3. Il n'existe aucune différence significative dans le nombre d'œufs par ponte entre BpSPs et BpSP/SmM- et entre BpSAs et BpSA/SmM- (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). Par contre, BpTPs font des pontes significativement plus grosses que BpTP/SmM- ( $U=17$ ;  $N=14$ ;  $N=6$ , respectivement;  $p=0,041$ ) et BpTAs font des pontes significativement plus grosses que BpTA/SmM- ( $U=23,5$ ;  $N=20$ ;  $N=11$ , respectivement;  $p=0,0004$ ).

Tableau III-1-2-3: Nombre d'œufs par ponte moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* sain et exposé-négatif à *S. mansoni* population murine. BpSP: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté, BpSA: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos, BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté, BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos.

Etat	BpSP	BpSA	BpTP	BpTA
Sain	8,06 $\pm$ 0,43	6,11 $\pm$ 0,77	9,1 $\pm$ 0,70	10,52 $\pm$ 0,34
Exposé-négatif	6,34 $\pm$ 0,75	6,38 $\pm$ 0,50	5,66 $\pm$ 1,33	8,32 $\pm$ 0,37

### C. *Survie*

Les courbes de survie de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif à *S. mansoni* population murine sont présentées dans la figure III-1-2-6.

Il n'existe aucune différence significative entre la survie des mollusques sains, positifs et exposés-négatifs (Logrank;  $p > 0,05$ ), excepté chez BpSA ( $X^2=6,43$ ; ddl=2;  $p=0,040$ ). Dans cette population, les comparaisons deux à deux indiquent que: (i) il existe une différence significative entre la survie des BpSAs et celle des BpSA/SmM- ( $X^2=4,94$ ; ddl=1;  $p=0,026$ ), (ii) il n'existe aucune différence significative entre la survie des BpSAs et celle des BpSA/SmM+ (Logrank;  $p > 0,05$ ), (iii) il n'existe aucune différence significative entre la survie des BpSA/SmM+ et des BpSA/SmM- (Logrank;  $p > 0,05$ ).

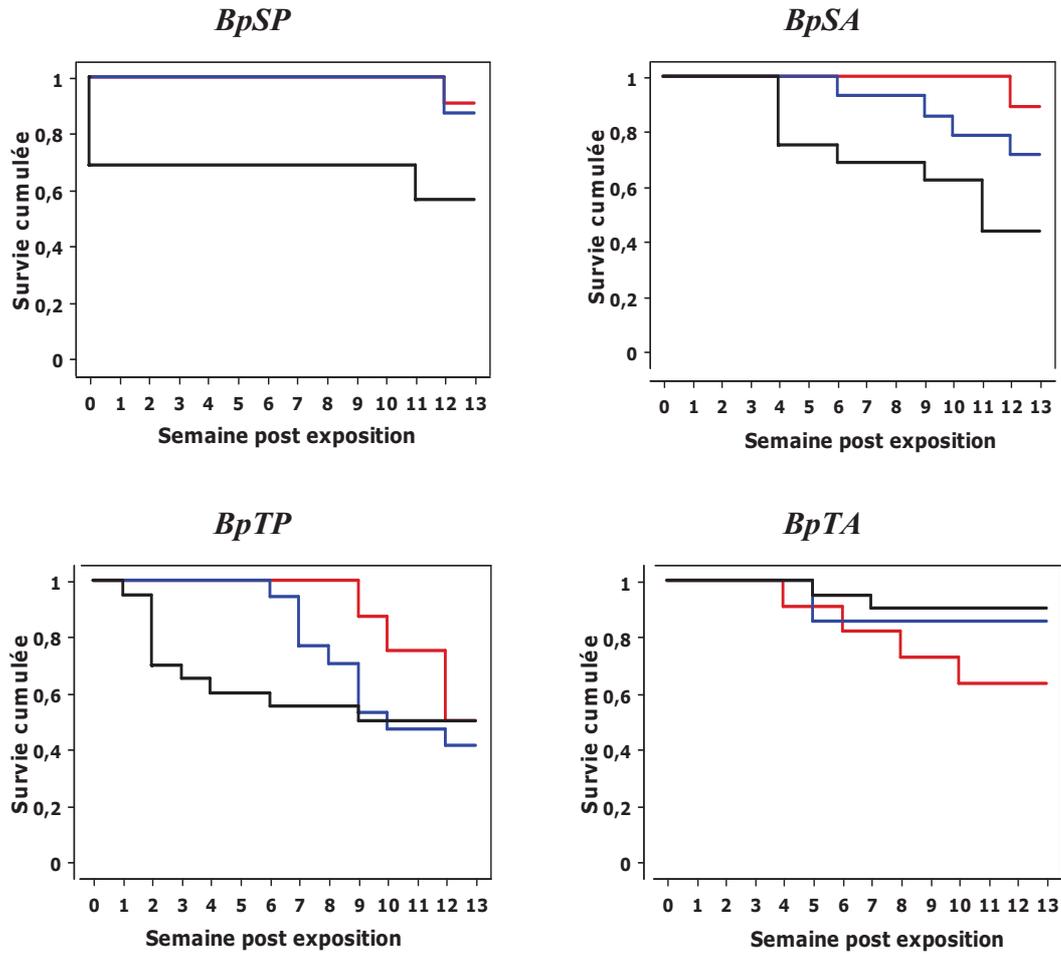


Figure III-1-2-6: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* sain (noir), positif (bleu) et exposé-négatif (rouge) à *S. mansoni* population murine. BpSP: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté, BpSA: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos, BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté, BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos.

## Synthèse et discussion du chapitre 1

Le bilan des analyses comparatives des traits d'histoire de vie de *B. pfeifferi* sain, positif et exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine et population murine est présenté dans les tableaux III-1-1a et III-1-1b. Il montre une influence du parasite sur les traits d'histoire de vie de *B. pfeifferi*.

En ce qui concerne la **croissance** des mollusques, nos résultats indiquent que, quelle que soit la population de *S. mansoni* (SmH et SmM) et quels que soient la population et le morphe du mollusque (BpSP, BpSA, BpTP et BpTA), les mollusques parasités ont une croissance significativement plus importante que celle des mollusques sains ou exposés-négatifs, aussi bien au niveau du diamètre de la coquille qu'au niveau de la masse corporelle. Ceci est également conforté par les résultats de la pente de la relation entre le diamètre et la masse corporelle qui montre, pour un même diamètre, que les mollusques parasités ont une masse corporelle plus importante que les mollusques sains ou exposés-négatifs. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus chez le couple *B. pfeifferi/S. mansoni* d'Afrique du Sud par Meuleman (1972) et du Soudan par Sulaiman & Ibrahim (1985). Il faut noter que l'augmentation de la taille des *B. pfeifferi* parasités ne peut être assimilée à un phénomène de gigantisme comme cela a pu être observé chez le système hôte-parasite, *Lymnaea stagnalis/Trichobilharzia ocellata* (Sluiter *et al.* 1980; Joose & Van Elk 1986) et qu'elle n'a pas été observée chez le système hôte-parasite, *Biomphalaria glabrata/S. mansoni*. En effet, chez *B. glabrata*, les mollusques parasités sont significativement moins gros que les mollusques sains, même si parfois une accélération initiale de la croissance est observée (Pan 1965; Sturrock & Sturrock 1970; Théron & Moné 1984; Théron *et al.* 1992a et b; Gérard *et al.* 1993).

L'accroissement du diamètre indique des résultats différents selon les populations étudiées. En effet, chez BpS il n'existe aucune différence significative entre les accroissements du diamètre des mollusques positifs et ceux des mollusques sains et exposés-négatifs. Par contre, chez BpT, l'accroissement du diamètre est significativement plus élevé chez les mollusques sains que chez les mollusques positifs et exposés-négatifs pendant les 4 premières semaines post-exposition puis la tendance s'inverse et ce sont les mollusques positifs et exposés-négatifs qui ont un accroissement

plus important. Les mêmes tendances sont reproduites, mais dans une moindre mesure, concernant les accroissements de la masse corporelle. Nos résultats sur les accroissements diffèrent des résultats de Meuleman (1972) qui signale une augmentation de la taille des *B. pfeifferi* positifs significativement supérieure à celle des mollusques sains entre le 7<sup>ème</sup> et le 18<sup>ème</sup> jour post-infestation. En ce qui nous concerne, il semblerait que le parasite, durant les quatre premières semaines post-exposition, puise dans les réserves énergétiques de son hôte. En effet, c'est durant cette période dite période prépatente que le parasite produit de nombreux sporocystes secondaires au sein desquels a lieu la cercariogenèse. Puis, lorsque l'émission cercarienne commence, les mollusques parasités grossissent significativement plus que les mollusques sains; cela correspond alors à une période où le parasite a moins besoin de l'énergie de son hôte.

En ce qui concerne la **fécondité** des mollusques, les résultats indiquent que *S. mansoni* diminue considérablement voire supprime (pour la population murine) toute activité de reproduction chez son mollusque hôte intermédiaire *B. pfeifferi*. En effet, pour la population humaine de *S. mansoni*, les résultats montrent que les mollusques positifs ont une activité de reproduction significativement inférieure à celle des mollusques sains et des mollusques exposés-négatifs. Tous les paramètres de la fécondité (nombre de mollusques pondueurs, nombre de pontes et d'œufs) sont significativement très faibles chez les mollusques parasités par rapport aux sains et aux exposés-négatifs quelle que soit la population de mollusques étudiée. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus avec la population murine de *S. mansoni* laquelle provoque une suppression totale de la ponte chez les mollusques parasités. Chez le couple *B. pfeifferi/S. mansoni* d'Afrique du Sud, Meuleman (1972) a montré une réduction de l'activité de reproduction entre le 7<sup>ème</sup> et le 10<sup>ème</sup> jour post-infestation suivie d'une suppression complète à partir du 14<sup>ème</sup> jour post-infestation. La forte baisse, voire la suppression de la fécondité chez le mollusque hôte, a également été démontré chez d'autres systèmes hôte-parasite tels que le couple *B. glabrata/S. mansoni* (Sturrock & Sturrock 1970; Looker & Etges 1979; Minchella & Loverde 1981), le couple *Bulinus globosus/Schistosoma haematobium* (Gracio 1988) ou le couple *L. stagnalis/T. ocellata* (McClelland & Bourns 1969). Nous n'avons pas observé de phénomène de fécondité compensatoire caractérisé par une augmentation de la fécondité des mollusques positifs

pendant les 3 premières semaines post-exposition comme cela a été démontré aussi bien chez des *B. glabrata* matures (11-13 mm) exposés à 10 miracidiums de *S. mansoni* de Porto Rico (Minchella & Loverde 1981) que chez des *B. glabrata* immatures exposés à 7 miracidiums de *S. mansoni* de Porto Rico (Thornhill *et al.* 1986).

L'absence de castration totale dans nos résultats par la population humaine de *S. mansoni* pourrait être liée au fait que nos mollusques ont été infestés par un seul miracidium. En effet, Makanga (1981) a montré, pour le couple ougandais *B. pfeifferi*/*S. mansoni*, que plus on augmente le nombre de miracidiums et plus la fécondité diminue, pour aboutir à une stérilité avec 4 miracidiums. Signalons que nos populations de *S. mansoni* ont un effet très puissant car avec un seul miracidium on obtient une fécondité beaucoup plus réduite que celle obtenue dans l'étude de Makanga (1981) pour la même dose miracidiale.

En ce qui concerne la **survie** des mollusques, nos résultats indiquent qu'elle n'est pas négativement influencée par le parasite comme on pourrait le penser, quelle que soit la population de parasite et la population de mollusque considérée. Les résultats indiquent que les mollusques positifs ont une survie équivalente à celle des mollusques sains et même meilleure dans quelques situations. Ces résultats sont similaires à ceux de Meuleman (1972) dont les travaux ne montrent aucune différence significative entre la survie des mollusques positifs et celle des mollusques sains. Il faut toutefois souligner que d'autres travaux sur le même modèle hôte-parasite ont signalé que les mollusques parasités avaient une survie inférieure à celle des mollusques sains et ce d'autant plus que le nombre de miracidiums était élevé (Makanga 198; De Kock 1992).

Il est important de signaler qu'il n'existe pas globalement de différence significative entre les mollusques sains et exposés-négatifs aussi bien au niveau de la **croissance**, de la **fécondité** et de la **survie**. Cependant, nous avons remarqué que, chez **BpT**, les individus exposés-négatifs se comportaient en début d'expérience comme les mollusques positifs au niveau du seul paramètre de la croissance. En effet, durant la période prépatente, l'accroissement de diamètre et de la masse corporelle des mollusques positifs et exposés-négatifs étaient inférieurs à ceux des mollusques sains. Cette concordance entre mollusques positifs et exposés-négatifs ne se retrouve plus dans les accroissements suivants où les mollusques exposés-négatifs suivent alors la

cinétique des mollusques sains et ne se produit pas pour le paramètre fécondité mais se retrouve dans le paramètre survie. Il existerait donc une stimulation initiale exercée par le parasite sur les mollusques qu'ils soient ou non effectivement parasités. Cette stimulation du parasite chez un hôte chez lequel il ne se développe finalement pas a été également rapportée chez le couple *B. glabrata*/*S. mansoni* (Thornhill *et al.* 1986) où croissance et reproduction, durant le mois post-exposition, étaient similaires entre les mollusques positifs et exposés-négatifs. Signalons que ces stimulations ponctuelles dues à la seule exposition au miracidium n'ont toutefois aucun véritable effet sur la globalité des traits d'histoire de vie des mollusques exposés-négatifs car pas assez puissantes en comparaison de l'énergie prise par le parasite sur son hôte positif durant son développement.

Tableau III-1-1a: Bilan des résultats du chapitre 1. Impact de la population humaine *S. mansoni* (SmH) sur *Biomphalaria pfeifferi* sain (Sain), positif (SmH+) et exposé-négatif (SmH-).

Trait d'histoire de vie	BpSP	BpSA	BpTP	BpTA
Diamètre coquille (D)	SmH+>(Sain = SmH-)	SmH > Sain = SmH-; SmH + = SmH -	(SmH+ = Sain)>SmH-	SmH+>(Sain = SmH-)
Croissance				
Masse corporelle (M)	nr	nr	(SmH+ = Sain)>SmH-	SmH+>(Sain = SmH-)
Relation DM	nr	nr	SmH+>(Sain = SmH-)	SmH+>(Sain = SmH-)
Fécondité				
Taux de mollusques pondeurs	SmH+<(Sain = SmH-)	SmH+<(Sain = SmH-)	SmH+<(Sain = SmH-)	SmH+<(Sain = SmH-)
Nombre de pontes	SmH+<(Sain = SmH-)	SmH+<(Sain = SmH-)	SmH+<(Sain = SmH-)	SmH+<(Sain = SmH-)
Nombre d'œufs	SmH+<(Sain = SmH-)	SmH+<(Sain = SmH-)	SmH+<(Sain = SmH-)	SmH+<(Sain = SmH-)
Nombre d'œufs par ponte	Sain=SmH+ = SmH-	Sain=SmH+ = SmH-	SmH+<(Sain = SmH-)	SmH+<(Sain = SmH-)
Survie	(SmH+ = SmH-)>Sain	Sain=SmH+ = SmH-	(SmH+ = SmH-)>Sain	Sain=SmH+ = SmH-

BpSP: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté; BpSA: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos; BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté; BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos; nr: Expérience non réalisée; =: Les traits d'histoire de vie ne sont pas significativement différents; SmH+>(Sain=SmH-): Les traits sont plus performants chez les positifs que chez les deux autres où ils sont équivalents; SmH+<(Sain=SmH-): Les traits sont moins performants chez les positifs que chez les deux autres où ils sont équivalents.

Tableau III-1-1b: Bilan des résultats du chapitre 1. Impact de la population murine *S. mansoni* (SmM) sur *Biomphalaria pfeifferi* sain (Sain), positif (SmM+) et exposé-négatif (SmM-).

Trait d'histoire de vie	BpSP	BpSA	BpTP	BpTA
Diamètre coquille (D)	SmM+>SmM- = Sain; SmM+ = Sain	SmM+>(Sain = SmM-)	Sain=SmM+ = SmM-	SmM+>SmM- = Sain; SmM+=Sain
Croissance				
Masse corporelle (M)	nr	nr	Sain = SmM+ = SmM-	SmM+>Sain>SmM-
Relation DM	nr	nr	Sain = SmM+ = SmM-	SmM+>(Sain = SmM-)
Taux de mollusques pondueurs	SmM+<(Sain = SmM-)	SmM+<(Sain = SmM-)	SmM+<(Sain = SmM-)	SmM+<(Sain = SmM-)
Fécondité				
Nombre de pontes	SmM+<(Sain = SmM-)	SmM+<(Sain = SmM-)	SmM+<(Sain = SmM-)	SmM+<(Sain = SmM-)
Nombre d'œufs	SmM+<(Sain = SmM-)	SmM+<(Sain=SmM-)	SmM+<Sain = SmM- SmM+ = SmM-	SmM+<(Sain = SmM-)
Survie	Sain = SmM+ = SmM	Sain<SmM- = SmM+; Sain = SmM+	Sain=SmM+ = SmM	Sain = SmM+ = SmM-

BpSP: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté; BpSA: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos; BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté; BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos; nr: Expérience non réalisée; =: Les traits d'histoire de vie ne sont pas significativement différents; SmM+>(Sain=SmM-): Les traits sont plus performants chez les positifs que chez les deux autres où ils sont équivalents; SmM+<(Sain=SmM-): Les traits sont moins performants chez les positifs que chez les deux autres où ils sont équivalents.



## **CHAPITRE 2:**

***Impact de S. mansoni, origine humaine versus origine murine  
dans l'interaction hôte-parasite***



## Introduction

Deux populations de *S. mansoni* ont été extraites dans le Dhofar en Oman: une population dite humaine, extraite à partir de jeunes collégiennes vivant dans le massif Wustah, localité de Sheer (Figure II-1-2) et où aucun site de transmission n'a été mis à jour et une population dite murine, extraite à partir de rongeurs (*Rattus rattus*) naturellement parasités dans le site de transmission de Tibraq (Figure II-1-2) où des mollusques naturellement parasités ont été également collectés. Les deux populations de *S. mansoni* se distinguent par le profil d'émission cercarienne horaire: la population humaine a une émission cercarienne diurne et la population murine a un profil d'émission nocturne (Mouahid *et al.* 2006). Une approche phylogénétique utilisant le Cox1 montre que la diversité génétique est plus importante chez la population murine: 3 haplotypes de SmH contre 1 haplotype de SmM (Mouahid *et al.* 2006).

L'objectif de ce chapitre est d'analyser de manière comparative, en conditions de laboratoire, les traits d'histoire de vie de l'hôte et du parasite associés dans l'interaction *B. pfeifferi/S. mansoni* entre la population humaine et la population murine. Sachant que nous disposons de deux populations de mollusques avec deux morphes pour chacune, nous analyserons l'influence de l'origine (humaine ou murine) de *S. mansoni* dans l'interaction avec les mollusques pigmentés de Siginitti, les mollusques albinos de Siginitti, les mollusques pigmentés de Tibraq et les mollusques albinos de Tibraq. Trois traits d'histoire de vie ont été analysés chez le mollusque (croissance, fécondité et survie) et trois traits chez le parasite (taux d'infestation, période prépatente et émission cercarienne).

Le chapitre fera l'objet de 4 sous-chapitres :

- ✓ **Sous-chapitre 1:** Impact de la population de *S. mansoni*, humaine versus murine, dans l'interaction avec *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté
- ✓ **Sous-chapitre 2:** Impact de la population de *S. mansoni*, humaine versus murine, dans l'interaction avec *B. pfeifferi* Siginitti Albinos
- ✓ **Sous-chapitre 3:** Impact de la population de *S. mansoni*, humaine versus murine, dans l'interaction avec *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté
- ✓ **Sous-chapitre 4:** Impact de la population de *S. mansoni*, humaine versus murine, dans l'interaction avec *B. pfeifferi* Tibraq Albinos



*Sous-Chapitre 1:*  
*Impact de S. mansoni, origine humaine versus origine murine,*  
*dans l'interaction avec B. pfeifferi Siginitti Pigmenté*



## I. Résultats: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif

### A. Croissance

#### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti pigmenté positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-1-1. Il augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmH+ et BpSP/SmM+ (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le diamètre des mollusques est respectivement de  $8,48\pm 0,12$  mm et de  $8,49\pm 0,16$  mm.

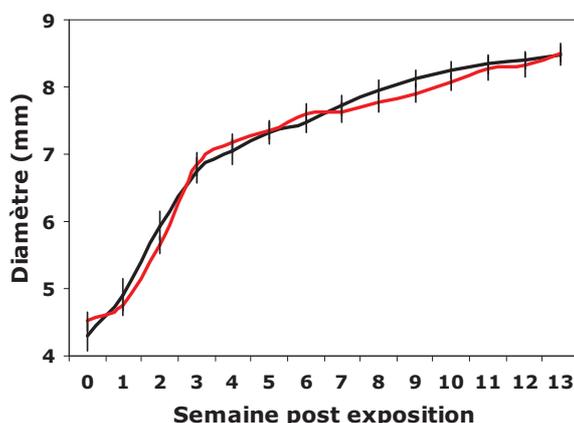


Figure III-2-1-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine (BpSP/SmH+) (noir) et population murine (BpSP/SmM+) (rouge).

### B. Fécondité

#### 1. Taux de mollusques pondueurs

Le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 27,78% (5/18) pour BpSP/SmH+ et de 12,50% (1/8) pour BpSP/SmM+ et la différence n'est pas significative (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

#### 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti pigmenté positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-1-2. Les premières pontes sont émises à la 1<sup>ère</sup> semaine post-exposition pour

BpSP/SmH+. L'activité de ponte est presque nulle chez BpSP/SmM+, seule une ponte de 6 œufs a été émise par ces derniers. A la fin de l'expérience, le nombre de pontes est de  $1,31 \pm 1,02$  pour BpSP/SmH+ et de  $0,13 \pm 0,13$  pour BpSP/SmM+ et la différence n'est pas significative (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

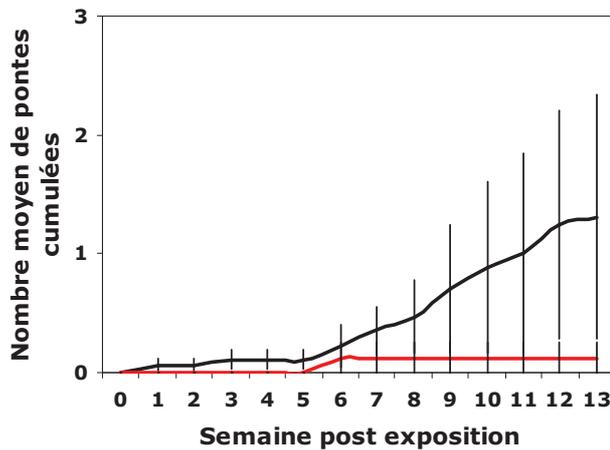


Figure III-2-1-2: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine BpSP/SmH+ (noir) et population murine (BpSP/SmM+) (rouge).

### 3. Nombre d'œufs

Le nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen de *B. pfeifferi* pigmenté positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-1-3. Les premiers œufs sont émis à la 1<sup>ère</sup> semaine post-exposition pour BpSP/SmH+ et à la 6<sup>ème</sup> pour BpSP/SmM+. A la fin de l'expérience, le nombre d'œufs est de  $7,44 \pm 5,64$  pour BpSP/SmH+ et de  $0,75 \pm 0,80$  pour BpSP/SmM+ et la différence n'est pas significative (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

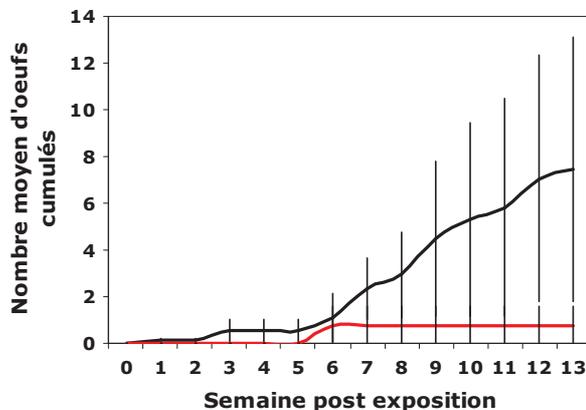


Figure III-2-1-3: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine (BpSP/SmH+) (noir) et population murine (BpSP/SmM+) (rouge).

#### 4. Nombre d'œufs par ponte

Le nombre d'œufs par ponte moyen n'est pas significativement différent (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ) entre BpSP/SmH+ ( $6,40\pm 2,06$ ) et BpSP/SmM+ (1 ponte de 6 œufs).

#### C. Survie

La figure III-2-1-4 présente les courbes de survie de BpSP/SmH+ et de BpSP/SmM+. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmH+ et BpSP/SmM+ (Logrank test;  $p>0,05$ ).

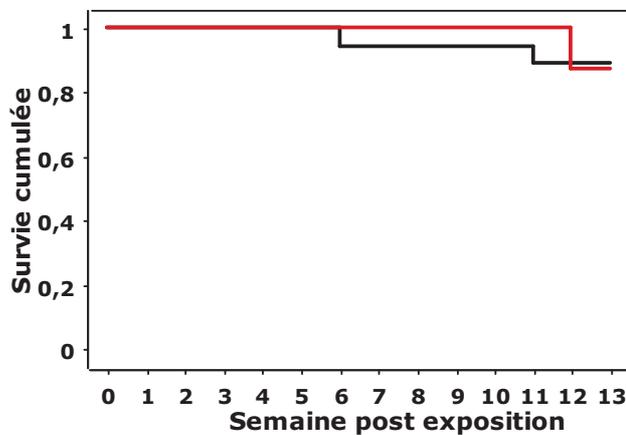


Figure III-2-1-4: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine (BpSP/SmH+) (noir) et population murine (BpSP/SmM+) (rouge).

## II. Résultats: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté exposé-négatif

### A. Croissance

#### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-1-5. Il augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmH- et BpSP/SmM- (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ), à l'exception des semaines 9, 10 et 12 où le diamètre de BpSP/SmH- est plus grand que celui de BpSP/SmM-. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le diamètre des mollusques est respectivement de  $7,93\pm 0,15$  mm et de  $7,62\pm 0,11$  mm.

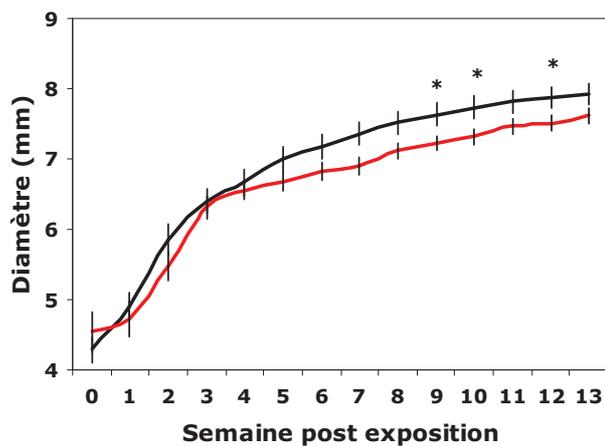


Figure III-2-1-5: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpSP/SmH-) (noir) et population murine (BpSP/SmM) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

## B. Fécondité

### 1. Taux de mollusques pondus

Le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 100% (10/10) pour BpSP/SmH- et de 100% (11/11) pour BpSP/SmM-.

### 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-1-6. Les premières pontes sont émises à la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition pour BpSP/SmH- et à la 1<sup>ère</sup> pour BpSP/SmM-. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmH- et BpSP/SmM- (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes est de  $23,40 \pm 2,40$  pour BpSP/SmH- et de  $16,82 \pm 3,40$  pour BpSP/SmM-.

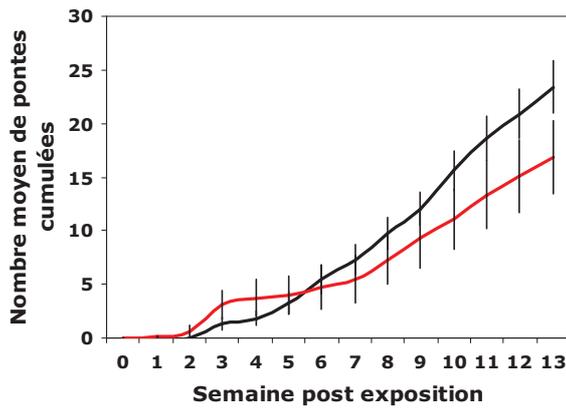


Figure III-2-1-6: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpSP/SmH-) (noir) et population murine (BpSP/SmM-) (rouge).

### 3. Nombre d'œufs

Le nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen de *B. pfeifferi* Siginitti pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-1-7. Les premiers œufs sont émis à la 3<sup>ème</sup> et à la 1<sup>ère</sup> semaine post-exposition respectivement pour BpSP/SmH- et BpSP/SmM-. Il existe une différence significative dans le nombre d'œufs entre BpSP/SmH- et BpSP/SmM- de la 7<sup>ème</sup> semaine à la fin de l'expérience. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs est respectivement de  $188,50 \pm 20,08$  et de  $97,36 \pm 14,96$  ( $U=8$ ;  $N=10$ ,  $N=11$ , respectivement;  $p=0,0009$ ).

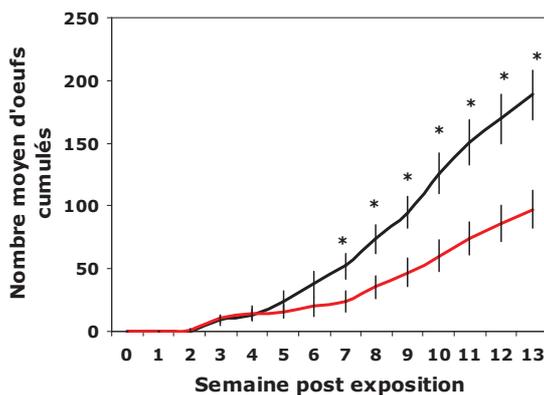


Figure III-2-1-7: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpSP/SmH-) (noir) et population murine (BpSP/SmM-) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

### 4. Nombre d'œufs par ponte

Le nombre d'œufs par ponte moyen n'est pas significativement différent entre BpSP/SmH- ( $8,08 \pm 0,33$ ) et BpSP/SmM- ( $6,34 \pm 0,75$ ) (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

### C. *Survie*

La figure III-2-1-8 présente les courbes de survie de *B. pfeifferi* Siginitti pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmH- et BpSP/SmM- (Logrank test;  $p > 0,05$ ).

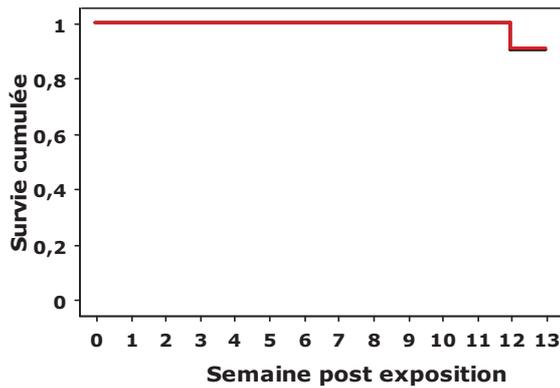


Figure III-2-1-8: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpSP/SmH-) (noir) et population murine (BpSP/SmM-) (rouge).

## III. Résultats: *S. mansoni*

### A. *Taux d'infestation*

Le taux d'infestation de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Siginitti pigmenté est présenté dans le tableau III-2-1-1. Il n'existe aucune différence significative entre les deux populations (Fisher's exact test;  $p > 0,05$ ).

Tableau III-2-1-1: Taux d'infestation de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté.

Population de <i>S. mansoni</i>	Nombre de mollusques			Taux d'infestation (%)
	exposés	survivants	positifs	
Humaine	32	28	18	64
Murine	19	19	8	42

### B. *Période prépatente*

La période prépatente de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Siginitti pigmenté est présentée dans le tableau III-2-1-2.

La période prépatente la plus courte est respectivement de 24 jours post-exposition (JPE) pour 39% des BpSP/SmH+, alors qu'elle est de 29 JPE pour 13% des BpSP/SmM+. La période prépatente moyenne chez BpSP/SmH+ ( $26,56 \pm 1,33$ ) est

significativement moins longue que chez BpSP/SmM+ ( $32,38 \pm 0,73$ ) ( $U=19$ ;  $N=18$ ;  $N=8$ , respectivement;  $p=0,0005$ ).

Tableau III-2-1-2: Période prépatente de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté.

Population de <i>S. mansoni</i>	Jour post-exposition													
	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	35	45	48	
Humaine	0	7	5	2	2	0	0	0	1	0	0	0	1	
Murine	0	0	0	0	0	0	1	0	0	5	2	0	0	

### C. Emission cercarienne journalière

#### 1. Dynamique

La dynamique de production cercarienne journalière moyenne de *S. mansoni* populations humaine et murine chez *B. pfeifferi* Siginitti pigmenté est présentée dans la figure III-2-1-9. Les histogrammes montrent des phases de fortes et de faibles productions cercariennes.

Les autocorrélogrammes sont présentés dans la figure III-2-1-10. Le test de l'autocorrélation indique une périodicité de 14 jours pour BpSP/SmH+ et de 15 à 20 jours pour BpSP/SmM+ entre deux phases de fortes ou de faibles productions cercariennes.

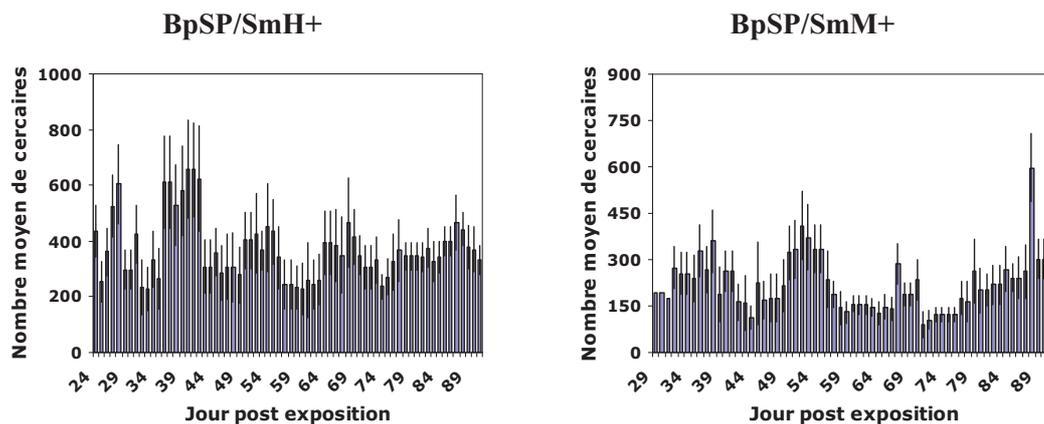


Figure III-2-1-9: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *S. mansoni* populations humaine (BpSP/SmH+) et murine (BpSP/SmM+) sur *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté.

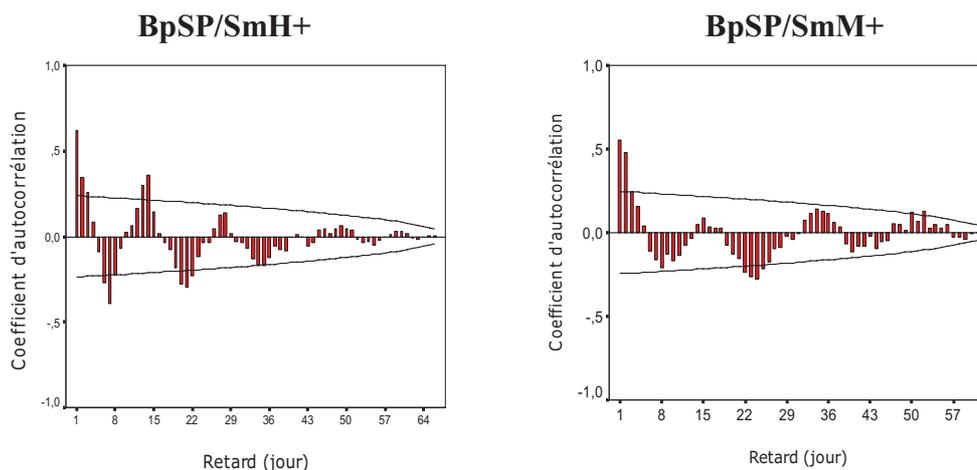


Figure III-2-1-10: Autocorrélogrammes de la production cercarienne de *S. mansoni* populations humaine (BpSP/SmH+) et murine (BpSP/SmM+) sur *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté.

## 2. Production

La **production cercarienne journalière moyenne** depuis les premières émissions cercariennes jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine est significativement plus importante chez BpSP/SmH+ ( $371,98 \pm 68,38$ ) que chez BpSP/SmM+ ( $220,96 \pm 35,25$ ) ( $U=3$ ;  $N=6$ ;  $N=6$ , respectivement;  $p=0,016$ ).

### D. Transmission

La prise en compte simultanée des données de taux d'infestation, de période prépatente, de production cercarienne et de survie des mollusques nous a permis d'évaluer l'impact de la population de *S. mansoni*, humaine versus murine, dans la transmission à partir de *B. pfeifferi* Siginitti pigmenté (Tableau III-2-1-3). Les résultats montrent une meilleure transmission de BpSP/SmH+ que de BpSP/SmM+. En effet, un BpSP transmet par semaine significativement plus de cercaires de SmH que de SmM ( $1514,2 \pm 2,1$  contre  $562,3 \pm 88,9$ ;  $U=100$ ;  $N=10$ ;  $P < 0,0001$ ), totalisant respectivement 15142 et 5624 cercaires par mollusque sur 13 semaines.

Tableau III-2-1-3: Nombre de cercaires émises par *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté parasité par *S. mansoni* populations humaine et murine pendant les 13 semaines d'étude. Le nombre total en gras est calculé en tenant compte de la production cercarienne (PC), du taux d'infestation (TI) et de la survie (S).

Couple		Semaine														
Hôte/Parasite	Paramètre	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Total
<b>BpSP/SmH+</b>	PC	0	0	0	0	2183	2071	4266	2150	2821	1715	2749	2139	2418	2783	25295
	TI	0	0	0	0	0,57	0,61	0,61	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	
	PCxTI	0	0	0	0	1244	1263	2602	1376	1805	1098	1759	1369	1548	1781	15846
	S	1	1	1	1	1	1	1	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,9	0,9	
	PCxTIxS	0	0	0	0	1244	1263	2602	1307	1715	1043	1671	1301	1393	1603	<b>15142</b>
<b>BpSP/SmM+</b>	PC	0	0	0	0	0	1117	1828	1229	2341	1068	1303	858	1536	2109	13389
	TI	0	0	0	0	0	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	
	PCxTI	0	0	0	0	0	469	768	516	983	449	547	360	645	886	5624
	S	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	PCxTIxS	0	0	0	0	0	469	768	516	983	449	547	360	645	886	<b>5624</b>

BpSP/SmH+: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine, BpSP/SmM+: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif à *S. mansoni* population murine.



*Sous-Chapitre 2:*

*Impact de S. mansoni, origine humaine versus origine murine,  
dans l'interaction avec B. pfeifferi Siginitti Albinos*



# I. Résultats: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif

## A. Croissance

### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti albinos positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-2-1. Il augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il existe des différences significatives entre BpSA/SmH+ et BpSA/SmM+ de la 1<sup>ère</sup> (U=22; N=13; N=14, respectivement;  $p=0,0008$ ) jusqu'à la 6<sup>ème</sup> semaine post-exposition (U=42; N=12; N=14, respectivement;  $p=0,031$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le diamètre des mollusques est respectivement de  $8,13\pm 0,14$  mm et de  $8,34\pm 0,15$  mm et la différence n'est pas significative (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

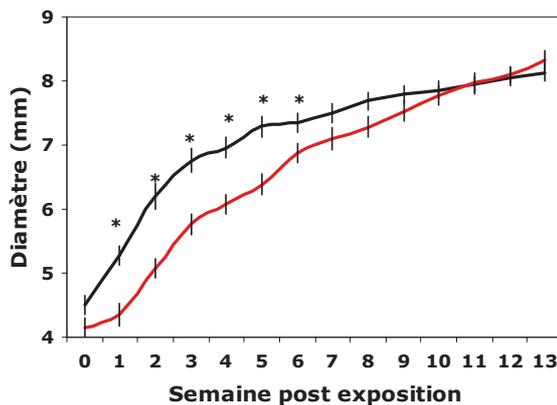


Figure III-2-2-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif à *S. mansoni* population humaine (BpSA/SmH+) (noir) et population murine (BpSA/SmM+) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p<0,05$ ).

## B. Fécondité

### 1. Taux de mollusques pondueurs

Le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 23,08% (3/13) pour BpSA/SmH+ et de 0,00% (0/14) pour BpSA/SmM+ et la différence n'est pas significative (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

### 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti albinos positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure

III-2-2-2. Les premières pontes sont émises à la 2<sup>ème</sup> semaine post-exposition pour BpSA/SmH+. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes est de  $1,67 \pm 1,29$  pour BpSA/SmH+ et nul chez BpSA/SmM+ et il n'existe aucune différence significative (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

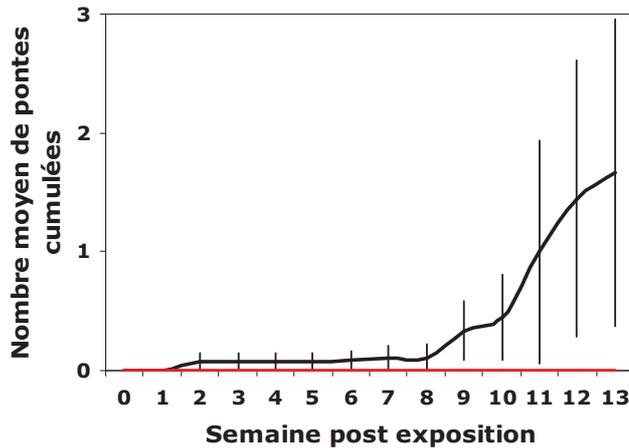


Figure III-2-2-2: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif à *S. mansoni* population humaine (BpSA/SmH+) (noir) et population murine (BpSA/SmM+) (rouge).

### 3. Nombre d'œufs

Le **nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti albinos positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-2-3. Les premiers œufs sont émis à la 2<sup>ème</sup> semaine post-exposition pour BpSA/SmH+. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs est de  $8,88 \pm 7,46$  pour BpSA/SmH+ et nul pour BpSA/SmM+ et la différence n'est pas significative (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

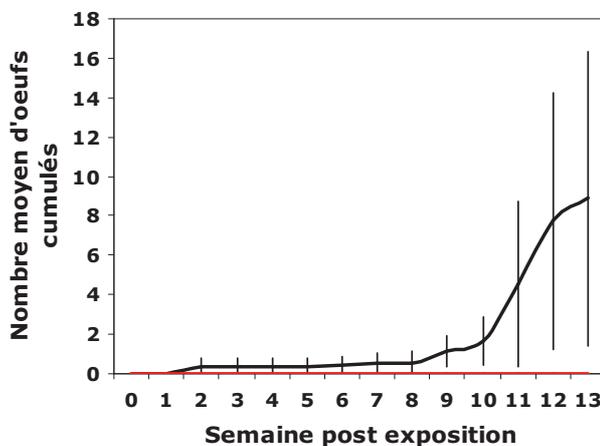


Figure III-2-2-3: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif à *S. mansoni* population humaine (BpSA/SmH+) (noir) et population murine (BpSA/SmM+) (rouge).

#### 4. Nombre d'œufs par ponte

Le nombre d'œufs par ponte moyen est de  $4,39 \pm 0,86$  chez BpSA/SmH+ et nul chez BpSA/SmM+.

#### C. Survie

La figure III-2-2-4 présente les courbes de survie de BpSA/SmH+ et de BpSA/SmM+. Il n'existe aucune différence significative entre BpSA/SmH+ et BpSA/SmM+ (Logrank test;  $p > 0,05$ ).

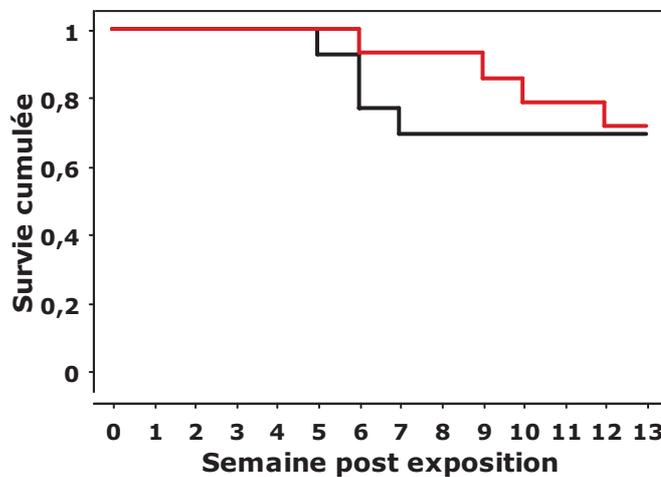


Figure III-2-2-4: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif à *S. mansoni* population humaine (BpSA/SmH+) (noir) et population murine (BpSA/SmM+) (rouge).

## II. Résultats: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos exposé-négatif

### A. Croissance

#### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti albinos exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-2-5. Il augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il existe une différence significative entre BpSA/SmH- et BpSA/SmM- de la 5<sup>ème</sup> (U=26; N=14; N=9, respectivement;  $p=0,020$ ) à la 12<sup>ème</sup> semaine post-exposition (U=21; N=11; N=9, respectivement;  $p=0,030$ ). Cependant, à la 13<sup>ème</sup> semaine, le diamètre est respectivement de  $7,63 \pm 0,19$  mm et de  $7,06 \pm 0,20$  mm pour

BpSA/SmH- et BpSA/SmM- et la différence n'est pas significative (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

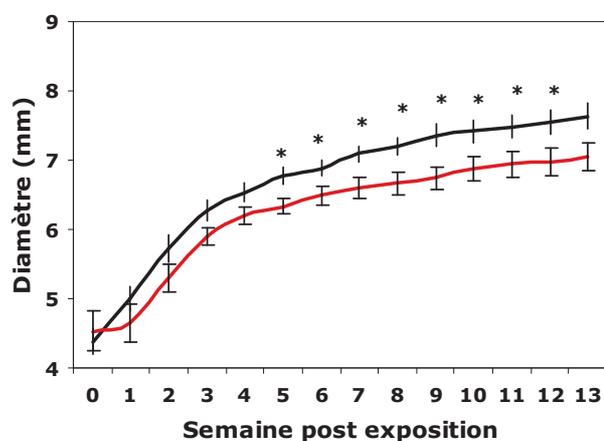


Figure III-2-2-5: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpSA/SmH-) (noir) et population murine (BpSA/SmM-) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p<0,05$ ).

## B. Fécondité

### 1. Taux de mollusques pondueurs

Le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 100% (14/14) pour BpSA/SmH- et de 100% (9/9) pour BpSA/SmM-

### 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti albinos exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-2-6. Les premières pontes sont émises à la 2<sup>ème</sup> semaine post-exposition pour BpSA/SmH- et à la 3<sup>ème</sup> semaine pour BpSA/SmM-. Il n'existe aucune différence significative dans le nombre de pontes entre BpSA/SmH- et BpSA/SmM- (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, il est respectivement de  $19,64\pm 2,36$  et de  $19,33\pm 2,12$ .

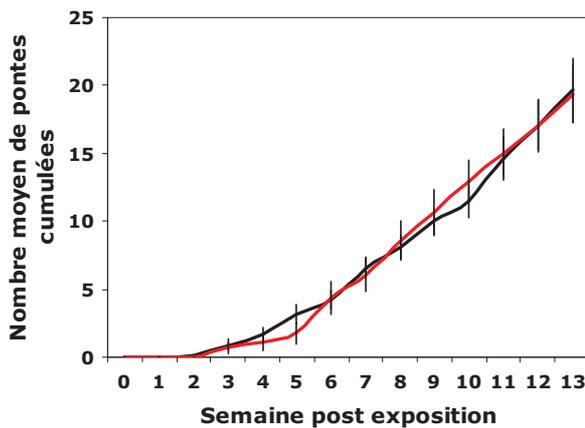


Figure III-2-2-6: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpSA/SmH-) (noir) et population murine (BpSA/SmM-) (rouge).

### 3. Nombre d'œufs

Le **nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti albinos exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-2-7. Les premiers œufs sont émis à la 2<sup>ème</sup> et à la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition respectivement pour BpSA/SmH- et BpSA/SmM-. Il n'existe aucune différence significative dans le nombre d'œufs entre BpSA/SmH- et BpSA/SmM- (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs est respectivement de  $138,14\pm 18,85$  et de  $119,00\pm 11,52$ .

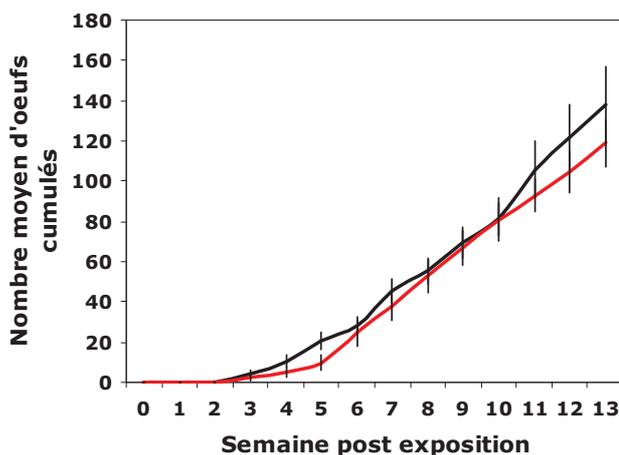


Figure III-2-2-7: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpSA/SmH-) (noir) et population murine (BpSA/SmM-) (rouge).

### 4. Nombre d'œufs par ponte

Le nombre d'œufs par ponte moyen n'est pas significativement différent entre BpSA/SmH- ( $6,83\pm 0,50$ ) et BpSA/SmM- ( $6,38\pm 0,50$ ) (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

### C. Survie

La figure III-2-2-8 présente les courbes de survie de *B. pfeifferi* Siginitti albinos exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine. Il n'existe aucune différence significative entre BpSA/SmH- et BpSA/SmM- (Logrank test;  $p>0,05$ ).

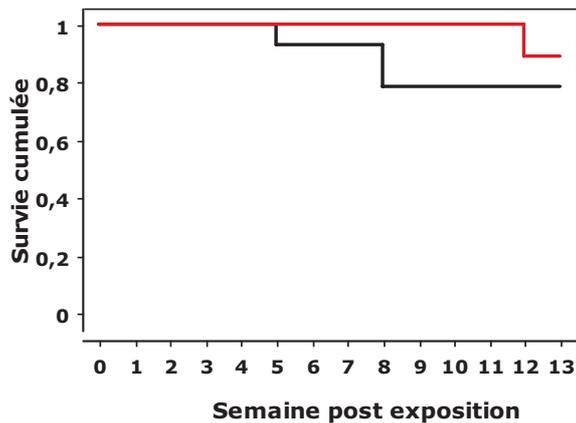


Figure III-2-2-8: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* Siginitti Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpSA/SmH-) (noir) et population murine (BpSA/SmM-) (rouge).

## III. Résultats: *S. mansoni*

### A. Taux d'infestation

Le taux d'infestation de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Siginitti albinos est présenté dans le tableau III-2-2-1. Il n'existe aucune différence significative entre les deux populations (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

Tableau III-2-2-1: Taux d'infestation de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Siginitti Albinos.

Population de <i>S. mansoni</i>	Nombre de mollusques			Taux d'infestation (%)
	exposés	survivants	positifs	
Humaine	32	27	13	48
Murine	33	23	14	61

### D.

### B. Période prépatente

La période prépatente de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Siginitti albinos est présentée dans le tableau III-2-2-2.

La période prépatente la plus courte est respectivement de 24 jours post-exposition (JPE) pour 54% des BpSA/SmH+, alors qu'elle est de 29 JPE pour 21% des

BpSA/SmM+. La période prépatente moyenne chez BpSA/SmH+ ( $26,69 \pm 1,85$ ) est significativement moins longue que chez BpSA/SmM+ ( $30,86 \pm 0,47$ ) ( $U=22$ ;  $N=13$ ;  $N=14$ , respectivement;  $p=0,0008$ ).

Tableau III-2-2-2: Période prépatente de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Siginitti Albinos.

Population de <i>S. mansoni</i>	Jour post-exposition												
	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	35	45	48
Humaine	0	7	4	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Murine	0	0	0	0	0	0	3	5	0	5	1	0	0

### C. Emission cercarienne journalière

#### 1. Dynamique

La **dynamique de production cercarienne journalière moyenne** de *S. mansoni* populations humaine et murine chez *B. pfeifferi* Siginitti albinos est présentée dans la figure III-2-2-9. Les histogrammes montrent des phases de fortes et de faibles productions cercariennes et le test de l'autocorrélation ne montre aucun rythme d'émission cercarienne.

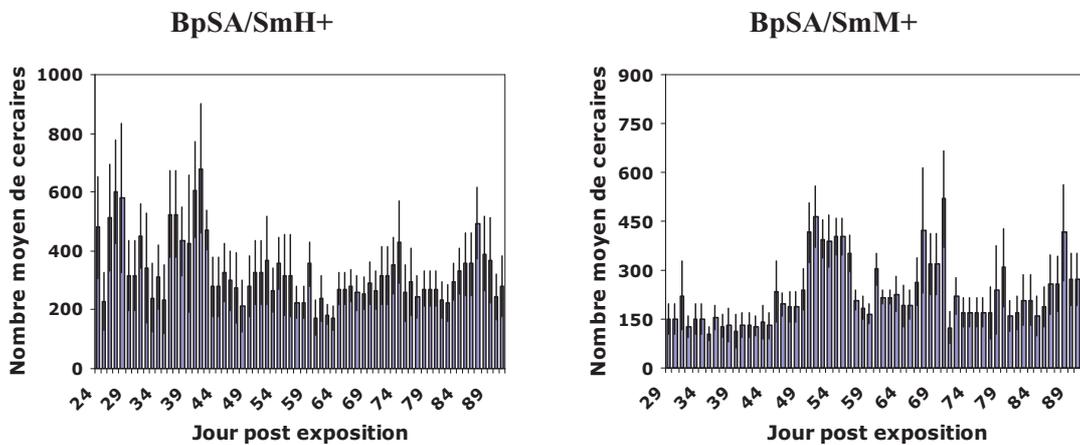


Figure III-2-2-9: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *S. mansoni* populations humaine (BpSA/SmH+) et murine (BpSA/SmM+) sur *B. pfeifferi* Siginitti Albinos.

#### 2. Production

La **production cercarienne journalière moyenne** depuis les premières émissions cercariennes jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine n'est pas significativement différente entre

BpSA/SmH+ (331,80±89,83) et BpSA/SmM+ (228,76±48,16) (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

#### ***D. Transmission***

La prise en compte simultanée des données de taux d'infestation, de période prépatente, de production cercarienne et de survie des mollusques nous a permis d'évaluer l'impact de la population de *S. mansoni*, humaine versus murine, dans la transmission à partir de *B. pfeifferi* Siginitti albinos (Tableau III-2-2-3). Les résultats indiquent qu'un BpSA transmet par semaine autant de cercaires de SmH que de SmM (826,5±87,2 contre 767,2±131,3; N=10; Mann-Whitney;  $p>0,05$ ), totalisant ainsi 8265 et 7672 cercaires par mollusque, sur 13 semaines.

Tableau III-2-2-3: Nombre de cercaires émises par *B. pfeifferi* Siginitti Albinos parasité par *S. mansoni* populations humaine et murine pendant les 13 semaines d'étude. Le nombre total en gras est calculé en tenant compte de la production cercarienne (PC), du taux d'infestation (TI) et de la survie (S).

Couple		Semaine														
Hôte/Parasite	Paramètre	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Total
<b>BpSA/SmH+</b>	PC	0	0	0	0	2403	2210	3671	1950	2276	1567	1890	2209	1898	2489	22562
	TI	0	0	0	0	0,41	0,44	0,44	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	
	PCxTI	0	0	0	0	985	972	1615	936	1093	752	907	1060	911	1195	10426
	S	1	1	1	1	1	1	0,92	0,77	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	
	PCxTIxS	0	0	0	0	985	972	1491	720	756	521	628	734	631	827	<b>8265</b>
<b>BpSA/SmM+</b>	PC	0	0	0	0	0	1059	913	1318	2822	1519	2227	1195	1452	1906	14412
	TI	0	0	0	0	0	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	
	PCxTI	0	0	0	0	0	646	557	804	1721	926	1359	729	886	1163	8791
	S	1	1	1	1	1	1	1	0,93	0,93	0,93	0,86	0,79	0,79	0,71	
	PCxTIxS	0	0	0	0	0	646	557	747	1598	860	1165	573	696	830	<b>7672</b>

BpSA/SmH+: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif à *S. mansoni* population humaine, BpSA/SmM+: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif à *S. mansoni* population murine.



*Sous-Chapitre 3:*

*Impact de S. mansoni, origine humaine versus origine murine,  
dans l'interaction avec B. pfeifferi Tibraq Pigmenté*



# I. Résultats: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif

## A. Croissance

### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-3-1. Il augmente rapidement durant les trois premières semaines puis lentement chez BpTP/SmH+ et très lentement chez BpTP/SmM+ jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. BpTP/SmH+ ont des diamètres significativement plus grands que BpTP/SmM+ de la 2<sup>ème</sup> (U=102; N=20; N=17, respectivement;  $p=0,04$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine post-exposition (U=15; N=17; N=7, respectivement;  $p=0,005$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le diamètre des mollusques est respectivement de  $8,52\pm 0,12$  mm et de  $7,92\pm 0,11$  mm.

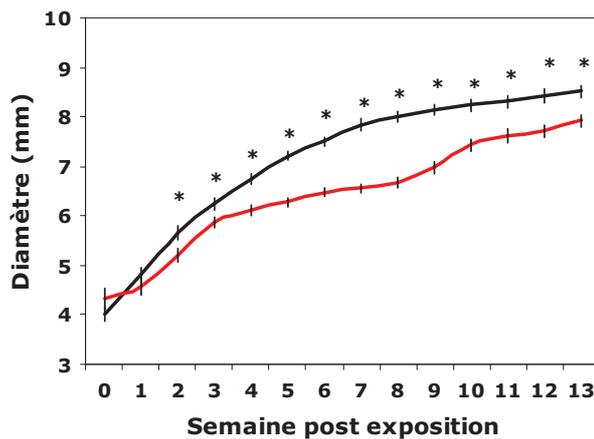


Figure III-2-3-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine (BpTP/SmH+) (noir) et population murine (BpTP/SmM+) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

### 2. Masse corporelle

La **masse corporelle hebdomadaire moyenne** de *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présentée dans la figure III-2-3-2. Elle augmente rapidement durant les cinq premières semaines chez BpTP/SmH+ et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Elle augmente lentement chez BpTP/SmM+ durant toute la durée de l'expérience. Il existe des différences significatives entre BpTP/SmH+ et BpTP/SmM+ depuis la 2<sup>ème</sup> (U=89,5; N=20; N=17, respectivement;  $p=0,01$ ) jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine post-exposition (U=18; N=17; N=7, respectivement;

$p=0,008$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, la masse corporelle est respectivement de  $0,1042\pm 0,0042$  g et de  $0,0865\pm 0,0031$  g.

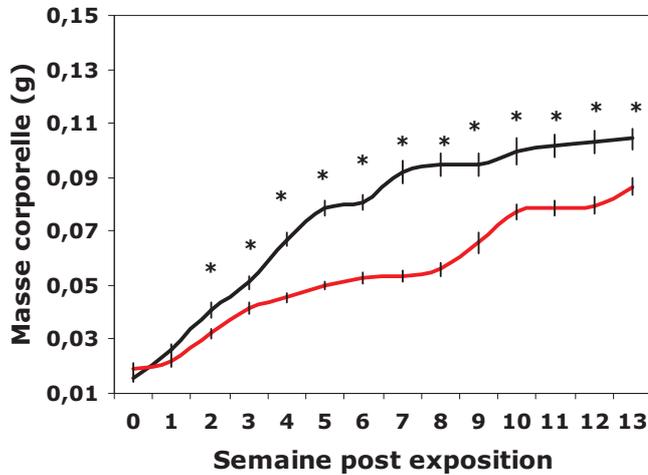


Figure III-2-3-2: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine (BpTP/SmH+) (noir) et population murine (BpTP/SmM+) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

### 3. Relation diamètre/masse corporelle

La **relation diamètre/masse corporelle** de *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présentée dans la figure III-2-3-3. Il existe une relation linéaire positive aussi bien pour BpTP/SmH+ ( $r^2=0,99$ ;  $p < 0,0001$ ) que pour BpTP/SmM+ ( $r^2=0,98$ ;  $p < 0,0001$ ). Le test de comparaison des pentes indique que les pentes ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

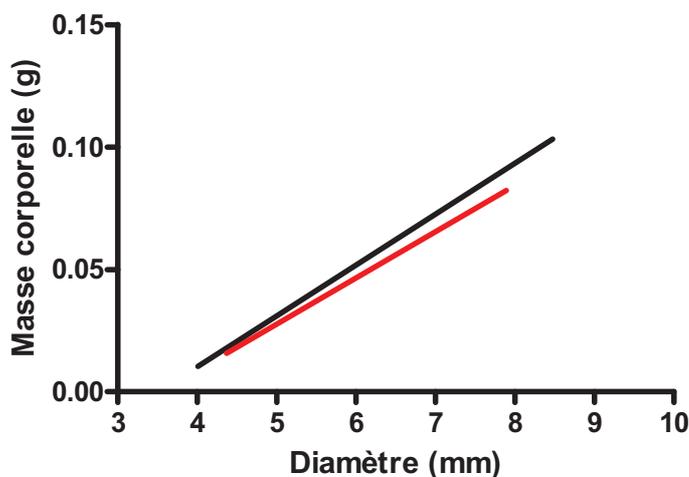


Figure III-2-3-3: Relation diamètre/masse corporelle de *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine (BpTP/SmH+) (noir) et population murine (BpTP/SmM+) (rouge).

## B. Fécondité

### 1. Taux de mollusques pondueurs

Le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 50,00% (10/20) pour BpTP/SmH+ et de 0,00% (0/17) pour BpTP/SmM+ et la différence est significative (Fisher's exact test;  $p=0,0006$ ).

### 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-3-4. Les premières pontes des BpTP/SmH+ sont émises à la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition alors que l'activité de ponte est nulle chez BpTP/SmM+. Aux 12<sup>ème</sup> et 13<sup>ème</sup> semaines, le nombre de pontes des BpTP/SmH+ est significativement supérieur à celui des BpTP/SmM+; à la 13<sup>ème</sup> semaine, il est de  $2,41\pm 0,91$  contre  $0,00\pm 0,00$ , respectivement (U=28; N=17; N=7, respectivement;  $p=0,04$ ).

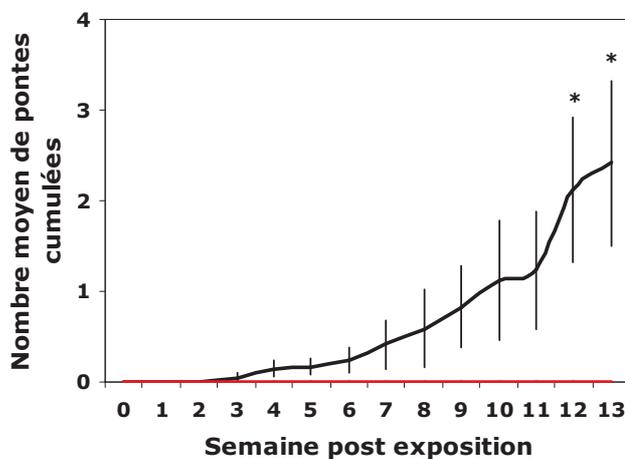


Figure III-2-3-4: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine (BpTP/SmH+) (noir) et population murine (BpTP/SmM+) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p<0,05$ ).

### 3. Nombre d'œufs

Le **nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-3-5. Les premiers œufs de BpTP/SmH+ sont émis à la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition et aux 12<sup>ème</sup> et 13<sup>ème</sup> semaines, le nombre d'œufs est significativement

supérieur à celui des BpTP/SmM+. A la 13<sup>ème</sup> semaine, il est de  $9,88 \pm 4,07$  contre  $0,00 \pm 0,00$ , respectivement (U=28; N=17; N=7, respectivement;  $p=0,04$ ).

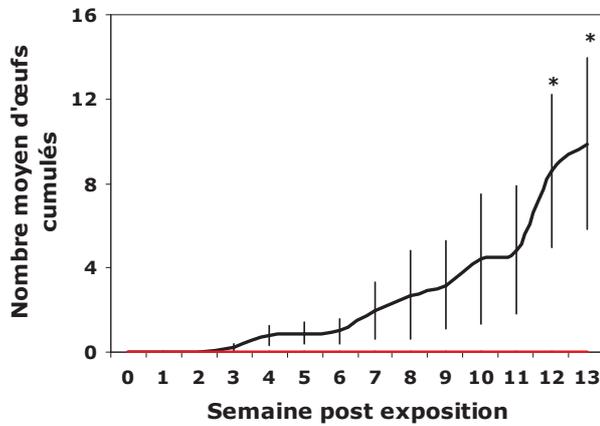


Figure III-2-3-5: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine (BpTP/SmH+) (noir) et population murine (BpTP/SmM+) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

#### 4. Nombre d'œufs par ponte

Le nombre d'œufs par ponte moyen est de  $4,40 \pm 0,49$  chez BpTP/SmH+ et nul chez BpTP/SmM+.

#### C. Survie

La figure III-2-3-6 présente les courbes de survie de BpTP/SmH+ et de BpTP/SmM+. La survie de BpTP/SmH+ est significativement supérieure à celle de BpTP/SmM+ ( $\chi^2=6,06$ ; ddl=1;  $p=0,014$ ).

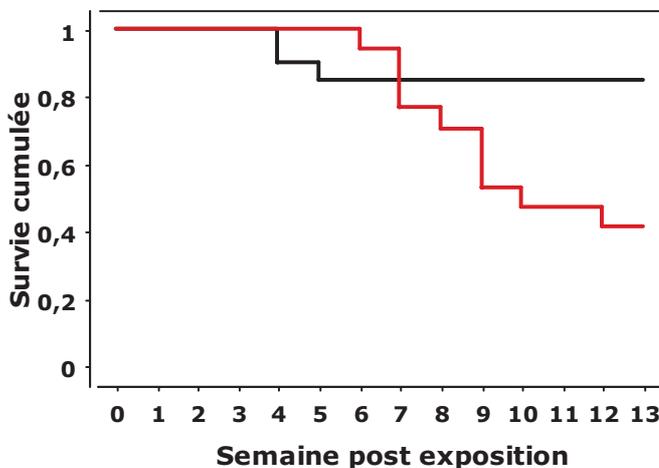


Figure III-2-3-6: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine (BpTP/SmH+) (noir) et population murine (BpTP/SmM+) (rouge).

## II. Résultats: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté exposé-négatif

### A. Croissance

#### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-3-7. Il augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il est significativement plus grand chez BpTP/SmH- que chez BpTP/SmM- depuis la 2<sup>ème</sup> (U=42; N=25; N=8, respectivement;  $p=0,015$ ) jusqu'à la 11<sup>ème</sup> semaine post-exposition (U=28; N=21; N=6, respectivement;  $p=0,041$ ). Cependant, à la 13<sup>ème</sup> semaine, le diamètre est respectivement de  $7,72\pm 0,07$  mm et de  $7,73\pm 0,29$  mm et il n'existe aucune différence significative (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

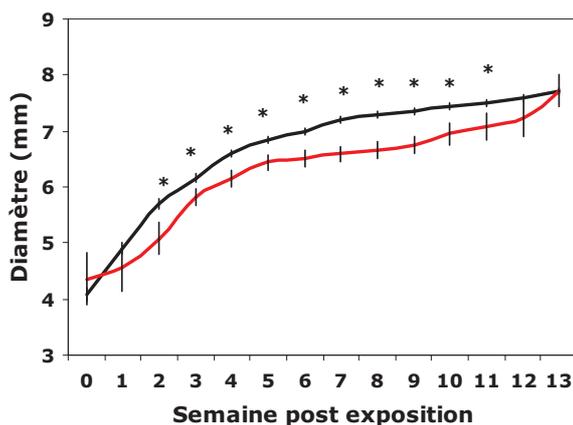


Figure III-2-3-7: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpTP/SmH-) (noir) et population murine (BpTP/SmM-) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p<0,05$ ).

#### 2. Masse corporelle

La **masse corporelle hebdomadaire moyenne** de *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présentée dans la figure III-2-3-8. Elle augmente rapidement durant les quatre premières semaines post-exposition et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Elle est significativement plus grande chez BpTP/SmH- que chez BpTP/SmM- depuis la 2<sup>ème</sup> (U=41; N=25; N=8, respectivement;  $p=0,013$ ) jusqu'à la 10<sup>ème</sup> semaine post-exposition (U=33,5; N=21; N=7, respectivement;  $p=0,034$ ). Cependant, à la 13<sup>ème</sup> semaine, la masse corporelle est

respectivement de  $0,0811 \pm 0,0022$  g et de  $0,0879 \pm 0,0160$  g et il n'existe aucune différence significative (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

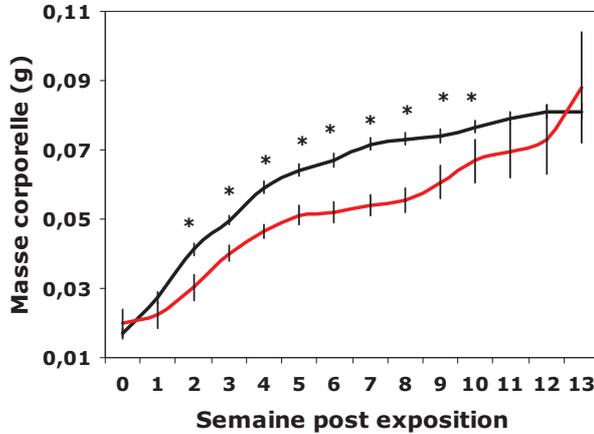


Figure III-2-3-8: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpTP/SmH-) (noir) et population murine (BpTP/SmM-) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

### 3. Relation diamètre/masse corporelle

La relation diamètre/masse corporelle de *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présentée dans la figure III-2-3-9. Il existe une relation linéaire positive aussi bien pour BpTP/SmH- ( $r^2=0,99$ ;  $p < 0,0001$ ) que pour BpTP/SmM- ( $r^2=0,96$ ;  $p < 0,0001$ ). Le test de comparaison des pentes indique que les pentes ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

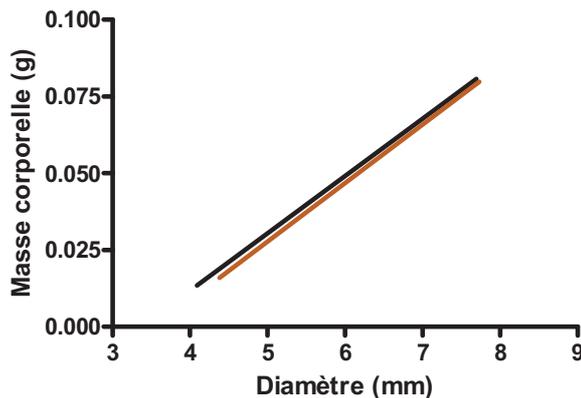


Figure III-2-3-9: Relation diamètre/masse corporelle de *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpTP/SmH-) (noir) et population murine (BpTP/SmM-) (rouge).

## B. Fécondité

### 1. Taux de mollusques pondueurs

Le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 100% (24/24) pour BpTP/SmH- et de 75,00% (6/8) pour BpTP/SmM- et la différence n'est pas significative (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

### 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-3-10. Les premières pontes sont émises à la 2<sup>ème</sup> semaine post-exposition pour BpTP/SmH- et à la 3<sup>ème</sup> semaine pour BpTP/SmM-. Le nombre de pontes est significativement plus élevé chez BpTP/SmH- que chez BpTP/SmM- depuis la 5<sup>ème</sup> jusqu'à la 11<sup>ème</sup> semaine post-exposition. Cependant, à la 13<sup>ème</sup> semaine, il est respectivement de  $20,37\pm 1,19$  et de  $13,80\pm 5,41$  et la différence n'est pas significative (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

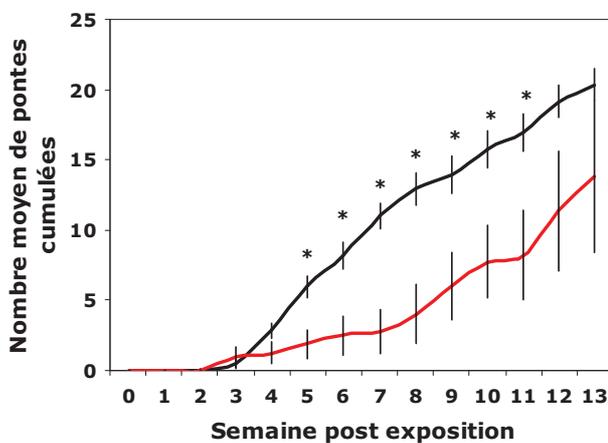


Figure III-2-3-10: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpTP/SmH-) (noir) et population murine (BpTP/SmM-) (rouge).

\*: différence significative (Mann-Whitney;  $p<0,05$ ).

### 3. Nombre d'œufs

Le **nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-3-11. Les premiers œufs sont émis à la 2<sup>ème</sup> et à la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition respectivement pour BpTP/SmH- et BpTP/SmM-. Le nombre d'œufs est

significativement plus grand chez BpTP/SmH- que chez BpTP/SmM- depuis la 4<sup>ème</sup> semaine jusqu'à la fin de l'expérience où le nombre d'œufs est respectivement de  $110,86 \pm 10,19$  et de  $84,60 \pm 26,58$  ( $U=14$ ;  $N=19$ ,  $N=5$ , respectivement;  $p=0,017$ ).

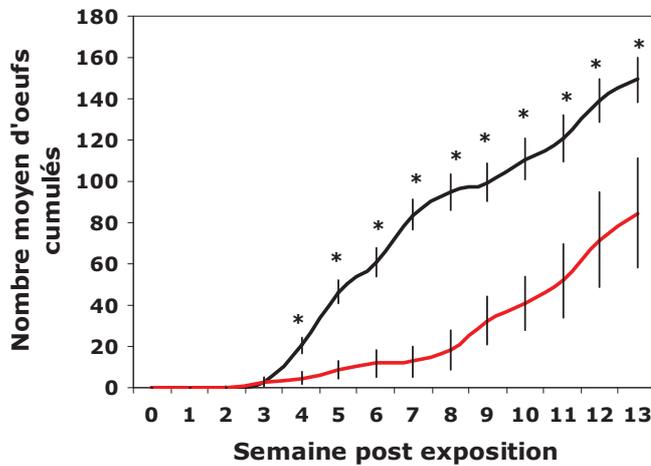


Figure III-2-3-11: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpTP/SmH-) (noir) et population murine (BpTP/SmM-) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

#### 4. Nombre d'œufs par ponte

Le nombre d'œufs par ponte moyen n'est pas significativement différent entre BpTP/SmH- ( $7,33 \pm 0,56$ ) et BpTP/SmM- ( $5,66 \pm 1,33$ ) (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

#### C. Survie

La figure III-2-3-12 présente les courbes de survie de *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine. Il n'existe aucune différence significative entre BpTP/SmH- et BpTP/SmM- (Logrank test;  $p > 0,05$ ).

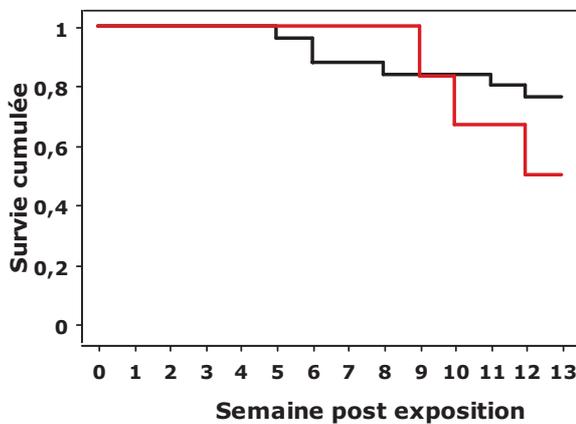


Figure III-2-3-12: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpTP/SmH-) (noir) et population murine (BpTP/SmM-) (rouge).

### III. Résultats: *S. mansoni*

#### A. Taux d'infestation

Le taux d'infestation de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté est présenté dans le tableau III-2-3-1. Il n'existe aucune différence significative entre les deux populations (Fisher's exact test;  $p > 0,05$ ).

Tableau III-2-3-1: Taux d'infestation de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté.

Population de <i>S. mansoni</i>	Nombre de mollusques			Taux d'infestation (%)
	exposés	survivants	positifs	
Humaine	45	45	20	44
Murine	31	25	17	68

#### B. Période prépatente

La période prépatente de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté est présentée dans le tableau III-2-3-2. La période prépatente la plus courte est respectivement de 26 jours post-exposition (JPE) pour 5% des BpTP/SmH+, alors qu'elle est de 28 JPE pour 6% des BpTP/SmM+. La période prépatente moyenne chez BpTP/SmH+ ( $28,30 \pm 0,26$ ) est significativement moins longue que chez BpTP/SmM+ ( $30,29 \pm 0,35$ ) ( $U=49,50$ ;  $N=20$ ;  $N=17$ , respectivement;  $p=0,0002$ ).

Tableau III-2-3-2: Période prépatente de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté.

Population de <i>S. mansoni</i>	Jour post-exposition												
	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	35	45	48
Humaine	0	0	0	1	4	6	6	3	0	0	0	0	0
Murine	0	0	0	0	0	1	5	5	0	6	0	0	0

#### C. Emission cercarienne journalière

##### 1. Dynamique

La dynamique de production cercarienne journalière moyenne de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté est présentée dans la

figure III-2-3-13. Les histogrammes montrent des phases de fortes et de faibles productions cercariennes.

Les autocorrélogrammes sont présentés dans la figure III-2-3-14 et le test de l'autocorrélation indique qu'il n'existe aucun rythme d'émission cercarienne chez BpTP/SmH+. Par contre, chez BpTP/SmM+, l'émission cercarienne se fait avec une périodicité de 20 jours entre deux phases de fortes ou de faibles productions cercariennes.

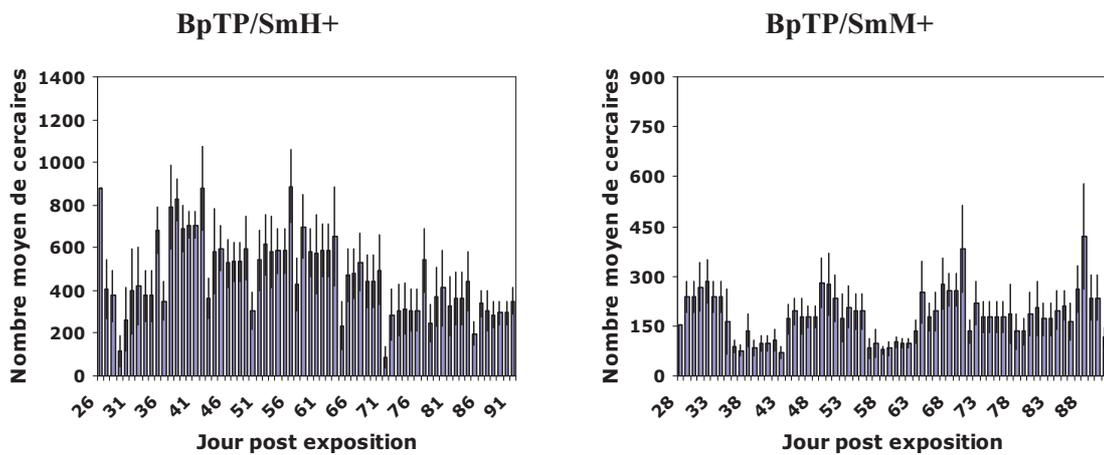


Figure III-2-3-13: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *S. mansoni* populations humaine (BpTP/SmH+) et murine (BpTP/SmM+) sur *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté.

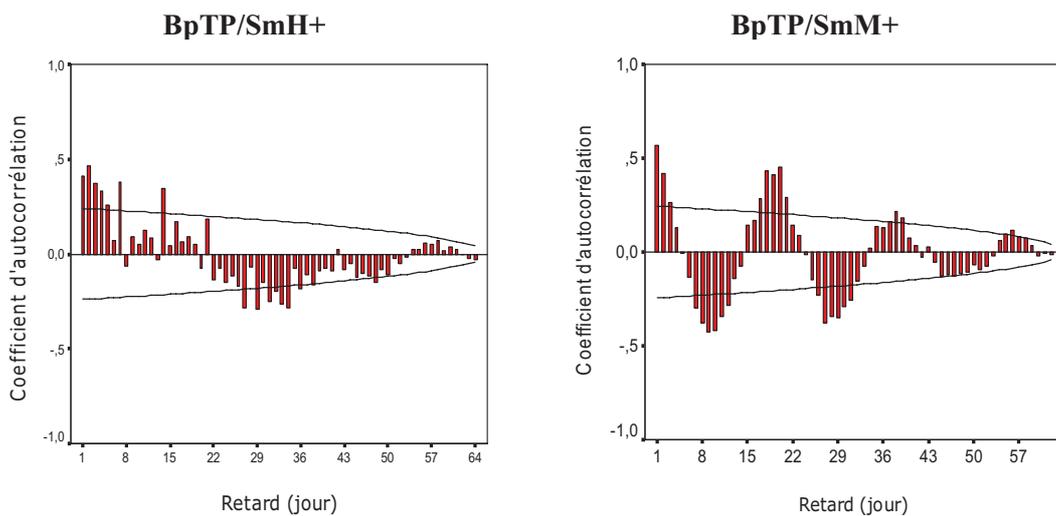


Figure III-2-3-14: Autocorrélogrammes de la production cercarienne de *S. mansoni* populations humaine (BpTP/SmH+) et murine (BpTP/SmM+) sur *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté.

## 2. Production

La **production cercarienne journalière moyenne** depuis les premières émissions cercariennes jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine post-exposition est significativement plus grande chez BpTP/SmH+ (464,04±73,51) que chez BpTP/SmM+ (183,11±16,29) ( $U=36$ ;  $N=6$ ;  $N=6$ ; respectivement;  $p=0,0039$ ).

### ***D. Transmission***

La prise en compte simultanée des données de taux d'infestation, de période prépatente, de production cercarienne et de survie des mollusques nous a permis d'évaluer l'impact de la population de *S. mansoni*, humaine versus murine, dans la transmission à partir de *B. pfeifferi* Tibraq pigmenté (Tableau III-2-3-3). Les résultats indiquent que le couple BpTP/SmH+ a une meilleure transmission que BpTP/SmM+. En effet, un BpTP transmet par semaine significativement plus de cercaires de SmH que de SmM (1123,5±150,8 contre 540,2±96,6;  $U=14$ ;  $N=10$ ;  $p=0,0052$ ), totalisant ainsi 11235 et 5401 cercaires par mollusque, respectivement, sur 13 semaines.

Tableau III-2-3-3: Nombre de cercaires émises par *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté parasité par *S. mansoni* populations humaine et murine pendant les 13 semaines d'étude. Le nombre total en gras est calculé en tenant compte de la production cercarienne (PC), du taux d'infestation (TI) et de la survie (S).

Couple		Semaine														Total
Hôte/Parasite	Paramètre	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
<b>BpTP/SmH+</b>	PC	0	0	0	0	860	2623	4946	3738	4095	4098	3101	2148	2518	2067	30193
	TI	0	0	0	0	0,24	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	
	PCxTI	0	0	0	0	206	1154	2176	1645	1802	1803	1364	945	1108	909	13113
	S	1	1	1	1	1	0,90	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	
	PCxTIxS	0	0	0	0	206	1039	1850	1398	1531	1533	1160	803	942	773	<b>11235</b>
<b>BpTP/SmM+</b>	PC	0	0	0	0	156	1670	688	1247	1361	690	1797	1250	1197	1639	11695
	TI	0	0	0	0	0,04	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	
	PCxTI	0	0	0	0	6	1136	468	848	925	469	1222	850	814	1115	7853
	S	1	1	1	1	1	1	1	0,94	0,76	0,71	0,53	0,47	0,47	0,47	
	PCxTIxS	0	0	0	0	6	1136	468	798	708	331	647	400	383	525	<b>5401</b>

BpTP/SmH+: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine, BpTP/SmM+: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population murine.

*Sous-Chapitre 4:*

*Impact de S. mansoni, origine humaine versus origine murine,  
dans l'interaction avec B. pfeifferi Tibraq Albinos*



# I. Résultats: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif

## A. Croissance

### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Tibraq albinos positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-4-1. Il augmente rapidement durant les trois premières semaines et lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il n'existe aucune différence significative entre le diamètre de BpTA/SmH+ et celui de BpTA/SmM+ (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ), excepté à la semaine zéro où BpTA/SmH+ ont un diamètre significativement plus petit que BpTA/SmM+ ( $U=15,5$ ;  $N=12$ ;  $N=7$ , respectivement;  $p=0,025$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le diamètre des mollusques est respectivement de  $9,42\pm 0,18$  mm et de  $9,11\pm 0,25$  mm.

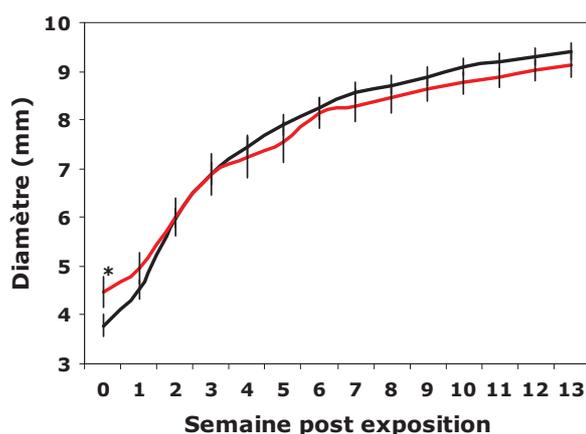


Figure III-2-4-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population humaine (BpTA/SmH+) (noir) et population murine (BpTA/SmM+) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p<0,05$ ).

### 2. Masse corporelle

La **masse corporelle hebdomadaire moyenne** de *B. pfeifferi* Tibraq albinos positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présentée dans la figure III-2-4-2. Elle augmente rapidement durant les quatre premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il n'existe aucune différence significative entre BpTA/SmH+ et BpTA/SmM+ (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ), à l'exception de la semaine zéro où BpTA/SmH+ ont une masse corporelle significativement plus petite que BpTA/SmM+

(U=14; N=12; N=7, respectivement;  $p=0,02$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, la masse corporelle est respectivement de  $0,1365 \pm 0,0073$  g et de  $0,1258 \pm 0,0074$  g.

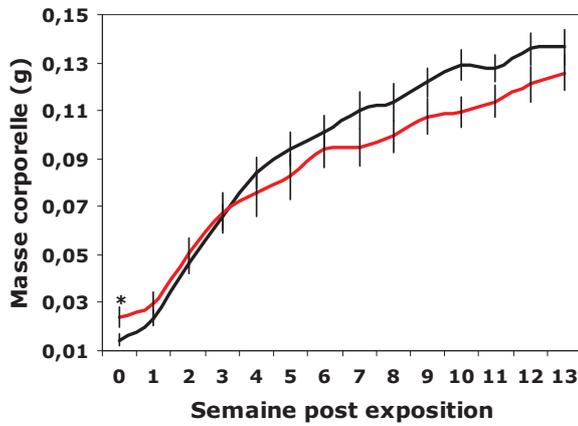


Figure III-2-4-2: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population humaine (BpTA/SmH+) (noir) et population murine (BpTA/SmM+) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

### 3. Relation diamètre/masse corporelle

La **relation diamètre/masse corporelle** de *B. pfeifferi* Tibraq albinos positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présentée dans la figure III-2-4-3. Il existe une relation linéaire positive pour BpTA/SmH+ ( $r^2=0,98$ ;  $p < 0,0001$ ) et pour BpTA/SmM+ ( $r^2=0,99$ ;  $p < 0,0001$ ). Le test de comparaison des pentes indique que les pentes ne sont pas significativement différentes entre BpTA/SmH+ et BpTA/SmM+ ( $p > 0,05$ ).

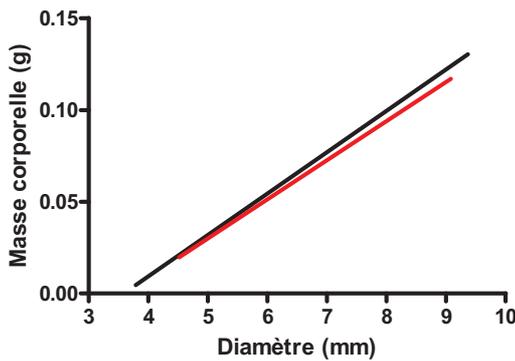


Figure III-2-4-3: Relation diamètre/masse corporelle de *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population humaine (BpTA/SmH+) (noir) et population murine (BpTA/SmM+) (rouge).

## B. Fécondité

### 1. Taux de mollusques pondueurs

Le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 41,67% (5/12) pour BpTA/SmH+ et de 0,00% (0/7) pour BpTA/SmM+ et la différence n'est pas significative (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

### 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Tibraq albinos positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-4-4. Les premières pontes de BpTA/SmH+ sont émises à la 4<sup>ème</sup> semaine post-exposition alors que l'activité de ponte est nulle chez BpTA/SmM+. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes est de  $4,70\pm 2,97$  pour BpTA/SmH+ et de  $0,00\pm 0,00$  pour BpTA/SmM+ et il n'existe aucune différence significative (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

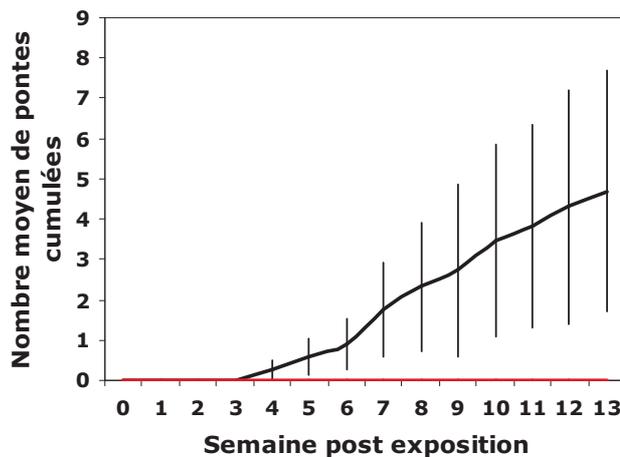


Figure III-2-4-4: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population humaine (BpTA/SmH+) (noir) et population murine (BpTA/SmM+) (rouge).

### 3. Nombre d'œufs

Le **nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Tibraq albinos positif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-4-5. Les premiers œufs de BpTA/SmH+ sont émis à la 4<sup>ème</sup> semaine post-exposition. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs est de  $35,90\pm 22,88$  pour BpTA/SmH+ et de  $0,00\pm 0,00$  pour BpTA/SmM+ et il n'existe aucune différence significative (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

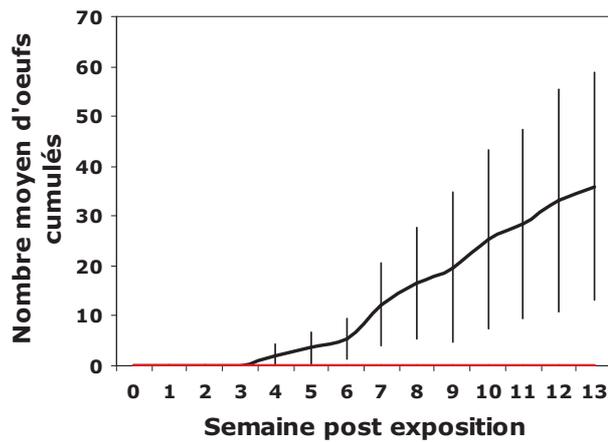


Figure III-2-4-5: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population humaine (BpTA/SmH+) (noir) et population murine (BpTA/SmM+) (rouge).

#### 4. Nombre d'œufs par ponte

Le nombre d'œufs par ponte moyen est de  $6,84 \pm 0,92$  chez BpTA/SmH+ et nul chez BpTA/SmM+.

#### C. Survie

La figure III-2-4-6 présente les courbes de survie de BpTA/SmH+ et de BpTA/SmM+ et les différences ne sont pas significatives (Logrank;  $p > 0,05$ ).

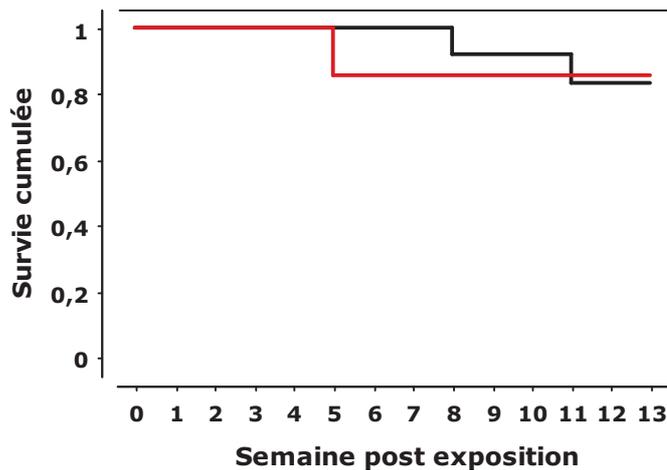


Figure III-2-4-6: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population humaine (BpTA/SmH+) (noir) et population murine (BpTA/SmM+) (rouge).

## II. Résultats: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos exposé-négatif

### A. Croissance

#### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Tibraq albinos exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-4-7. Il augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il est significativement plus grand chez BpTA/SmH- que chez BpTA/SmM- de la 1<sup>ère</sup> (U=58; N=21; N=11, respectivement;  $p=0,023$ ) à la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition et de la 5<sup>ème</sup> à la 8<sup>ème</sup> semaine post-exposition (U=33; N=18; N=9, respectivement;  $p=0,014$ ). Cependant, à la 13<sup>ème</sup> semaine, le diamètre est respectivement de  $8,41\pm 0,10$  mm et de  $8,09\pm 0,22$  mm et il n'existe aucune différence significative (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

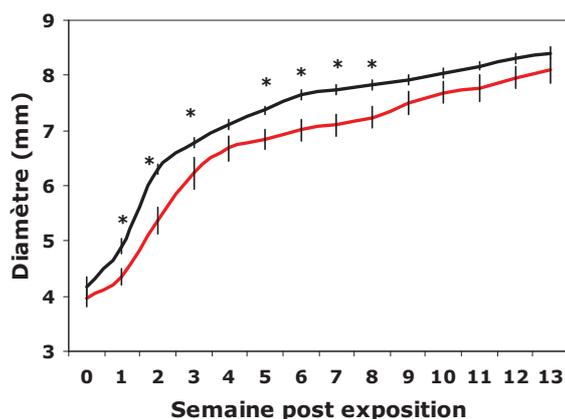


Figure III-2-4-7: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpTA/SmH-) (noir) et population murine (BpTA/SmM-) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p<0,05$ ).

#### 2. Masse corporelle

La **masse corporelle hebdomadaire moyenne** de *B. pfeifferi* Tibraq albinos exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présentée dans la figure III-2-4-8. Elle augmente rapidement durant les deux et quatre premières semaines post-exposition respectivement pour BpTA/SmH- et BpTA/SmM- et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Elle est significativement plus grande chez BpTA/SmH- que chez BpTA/SmM- depuis la 1<sup>ère</sup> (U=53,5; N=21; N=11, respectivement;  $p=0,014$ ) jusqu'à la fin de l'expérience. A la 13<sup>ème</sup> semaine, la masse corporelle est respectivement de

0,1006±0,0037 g et de 0,0892±0,0048 g (U=27,5; N=17; N=7, respectivement;  $p=0,042$ ).

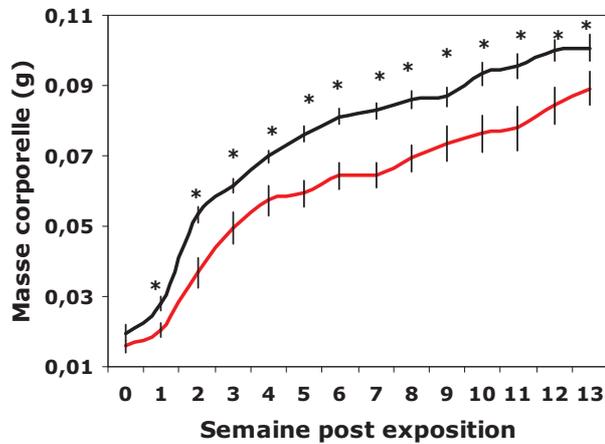


Figure III-2-4-8: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpTA/SmH-) (noir) et population murine (BpTA/SmM-) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

### 3. Relation diamètre/masse corporelle

La relation diamètre/masse corporelle de *B. pfeifferi* Tibraq albinos exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présentée dans la figure III-2-4-9. Il existe une relation linéaire positive aussi bien pour BpTA/SmH- ( $r^2=0,99$ ;  $p < 0,0001$ ) que pour BpTA/SmM- ( $r^2=0,99$ ;  $p < 0,0001$ ). Le test de comparaison des pentes indique que la pente est significativement plus importante chez BpTA/SmH- que chez BpTA/SmM- ( $F=8,66$ ;  $ddl=24$ ;  $p=0,007$ ).

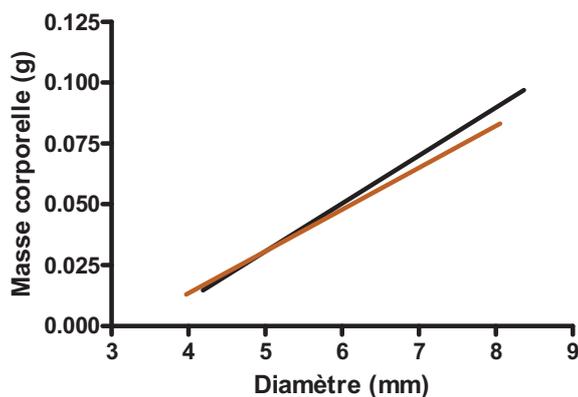


Figure III-2-4-9: Relation diamètre/masse corporelle de *B. pfeifferi* Tibraq Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpTA/SmH-) (noir) et population murine (BpTA/SmM-) (rouge).

## B. Fécondité

### 1. Taux de mollusques pondueurs

Le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 100% (24/24) pour BpTA/SmH- et de 100% (11/11) pour BpTA/SmM-.

### 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Tibraq albinos exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-4-10. Les premières pontes sont émises à la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition pour les BpTA/SmH- et à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpTA/SmM-. Il n'existe aucune différence significative entre BpTA/SmH- et BpTA/SmM- (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes est respectivement de  $22,12 \pm 2,10$  et de  $24,43 \pm 4,49$ .

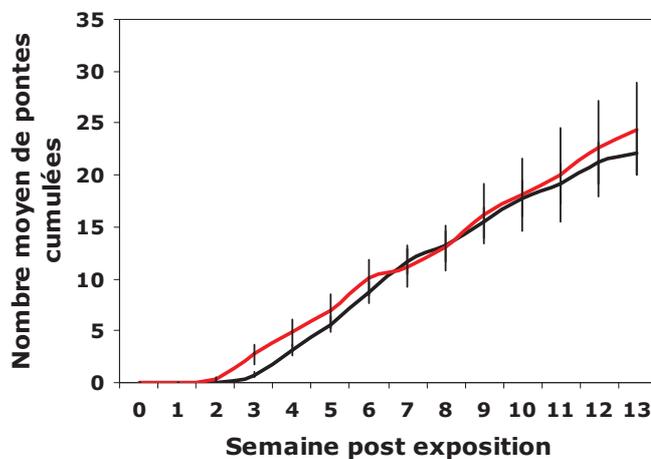


Figure III-2-4-10: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpTA/SmH-) (noir) et population murine (BpTA/SmM-) (rouge).

### 3. Nombre d'œufs

Le **nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Tibraq albinos exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine est présenté dans la figure III-2-4-11. Les premiers œufs sont émis à la 3<sup>ème</sup> et à la 2<sup>ème</sup> semaine post-exposition respectivement pour BpTA/SmH- et BpTA/SmM-. Il n'existe aucune différence

significative dans le nombre d'œufs entre BpTA/SmH- et BpTA/SmM- (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ), à l'exception de la 3<sup>ème</sup> semaine où BpTA/SmH- produisent significativement moins d'œufs que BpTA/SmM- ( $U=64$ ;  $N=21$ ;  $N=11$ , respectivement;  $p=0,041$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs est respectivement de  $225,59\pm 22,43$  et de  $206,29\pm 39,17$ .

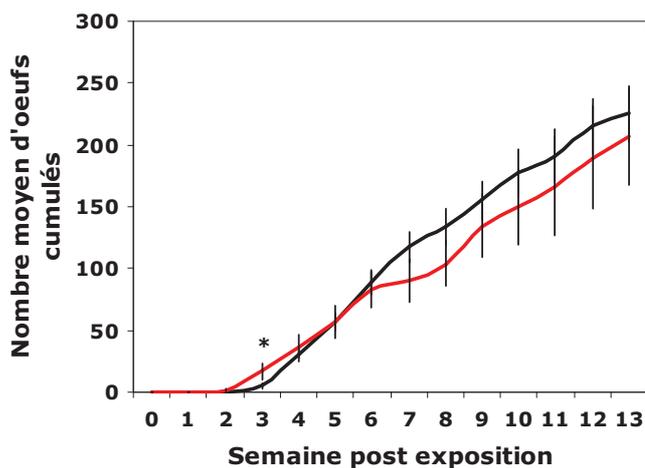


Figure III-2-4-11: Nombre d'œufs cumulés hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpTA/SmH-) (noir) et population murine (BpTA/SmM-) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p<0,05$ ).

#### 4. Nombre d'œufs par ponte

Le nombre d'œufs par ponte moyen est significativement plus élevé chez BpTA/SmH- ( $10,04\pm 0,26$ ) que chez BpTA/SmM- ( $8,32\pm 0,37$ ) ( $U=34$ ;  $N=21$ ;  $N=11$ , respectivement;  $p=0,001$ ).

#### C. Survie

La figure III-2-4-12 présente les courbes de survie de *B. pfeifferi* Tibraq albinos exposé-négatif à *S. mansoni* populations humaine et murine. Il n'existe aucune différence significative entre BpTA/SmH- et BpTA/SmM- (Logrank test;  $p>0,05$ ).

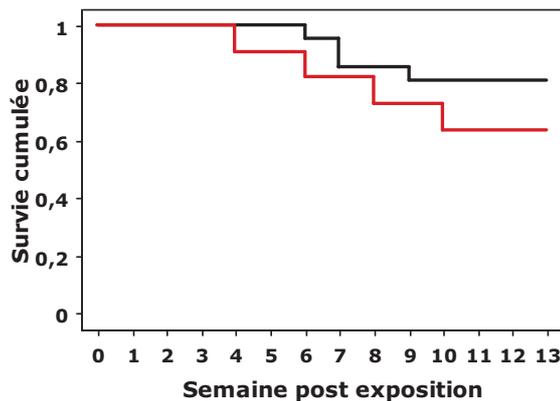


Figure III-2-4-12: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* Tibraq Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (BpTA/SmH-) (noir) et population murine (BpTA/ SmM-) (rouge).

### III. Résultats: *S. mansoni*

#### A. Taux d'infestation

Le taux d'infestation de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Tibraq albinos est présenté dans le tableau III-2-4-1. Il n'existe aucune différence significative entre les deux populations (Fisher's Exact test;  $p > 0,05$ ).

Tableau III-2-4-1: Taux d'infestation de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Tibraq Albinos.

Population de <i>S. mansoni</i>	Nombre de mollusques			Taux d'infestation (%)
	exposés	survivants	positifs	
Humaine	35	33	12	36
Murine	27	20	7	35

#### B. Période prépatente

La période prépatente de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Tibraq albinos est présentée dans le tableau III-2-4-2. La plus courte est de 26 jours post-exposition pour 8% des BpTA/SmH+ et 86% des BpTA/SmM+. La période prépatente moyenne chez BpTA/SmH+ ( $31,08 \pm 2,01$ ) est significativement plus longue que chez BpTA/SmM+ ( $26,14 \pm 0,15$ ) ( $U=5$ ;  $N=12$ ;  $N=7$ , respectivement;  $p=0,002$ ).

Tableau III-2-4-2: Période prépatente de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Tibraq Albinos.

Population de <i>S. mansoni</i>	Jour post-exposition													
	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	35	45	48	
Humaine	0	0	0	1	2	3	3	0	0	1	0	2	0	
Murine	0	0	0	6	1	0	0	0	0	6	0	0	0	

## C. Emission cercarienne journalière

### 1. Dynamique

La **dynamique de production cercarienne journalière moyenne** de *S. mansoni* populations humaine et murine sur *B. pfeifferi* Tibraq albinos est présentée dans la figure III-2-4-13. Les histogrammes montrent des phases de fortes et de faibles productions cercariennes. Les résultats de l'autocorrélation indiquent qu'il n'existe aucun rythme de production cercarienne ni pour BpTA/SmH+ ni pour BpTA/SmM+.

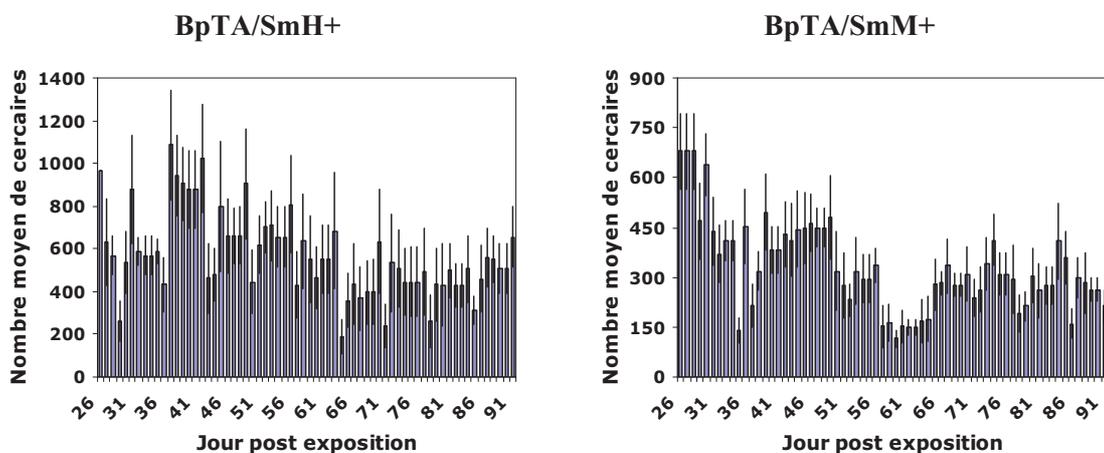


Figure III-2-4-13: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *S. mansoni* populations humaine (BpTA/SmH+) et murine (BpTA/SmM+) sur *B. pfeifferi* Tibraq Albinos.

### 2. Production

La **production cercarienne journalière moyenne** depuis les premières émissions cercariennes jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine post-exposition est significativement plus grande chez BpTA/SmH+ ( $566,19 \pm 104,05$ ) que chez BpTA/SmM+ ( $329,08 \pm 32,95$ ) ( $U=4$ ;  $N=6$ ;  $N=6$ , respectivement;  $p=0,025$ ).

## D. Transmission

La prise en compte simultanée des données de taux d'infestation, de période prépatente, de production cercarienne et de survie des mollusques nous a permis d'évaluer l'impact de la population de *S. mansoni*, humaine versus murine, dans la transmission à partir de *B. pfeifferi* Tibraq albinos (Tableau III-2-4-3). Les résultats

indiquent que le couple BpTA/SmH+ a une meilleure transmission que BpTA/SmM+. En effet, un BpTA transmet par semaine significativement plus de cercaires de SmH que de SmM ( $1172,4 \pm 152,1$  contre  $676,1 \pm 64,0$ ;  $U=14$ ;  $N=10$ ;  $p=0,0052$ ), totalisant ainsi 11724 et 6762 cercaires par mollusque, respectivement, sur 13 semaines.

Tableau III-2-4-3: Nombre de cercaires émises par *B. pfeifferi* Tibraq Albinos parasité par *S. mansoni* populations humaine et murine pendant les 13 semaines d'étude. Le nombre total en gras est calculé en tenant compte de la production cercarienne (PC), du taux d'infestation (TI) et de la survie (S).

Couple		Semaine														
Hôte/Parasite	Paramètre	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Total
BpTA/SmH+	PC	0	0	0	0	1045	3981	6146	4628	4593	3871	2780	3107	2979	3551	36679
	TI	0	0	0	0	0,18	0,3	0,3	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	
	PCxTI	0	0	0	0	188	1194	1844	1666	1653	1394	1001	1118	1073	1278	12409
	S	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,92	0,92	0,92	0,83	0,83	
	PCxTIxS	0	0	0	0	188	1194	1844	1666	1653	1278	917	1025	894	1065	<b>11724</b>
BpTA/SmM+	PC	0	0	0	0	2036	2880	2673	3149	2066	1050	1928	2165	1928	1844	21719
	TI	0	0	0	0	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	
	PCxTI	0	0	0	0	713	1008	936	1102	723	368	675	758	675	645	7602
	S	1	1	1	1	1	1	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	
	PCxTIxS	0	0	0	0	713	1008	802	945	620	315	578	649	578	553	<b>6762</b>

BpTA/SmH+: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population humaine, BpTA/SmM+: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population murine.

## Synthèse et discussion du chapitre 2

Les analyses comparatives indiquent qu'il existe une influence de l'identité de la population de *S. mansoni*, humaine (SmH) versus murine (SmM), dans l'interaction avec *B. pfeifferi*, au niveau des traits d'histoire de vie du mollusque et du parasite ainsi qu'au niveau de la transmission (Tableau III-2-1).

En ce qui concerne les traits d'histoire de vie **des mollusques**, nous avons proposé 4 « populations » de *B. pfeifferi* (BpSP, BpSA, BpTP et BpTA) aux deux populations humaine et murine de *S. mansoni* (SmH et SmM). Les résultats ne montrent aucune influence significative du parasite dans 3 cas sur 4. Dans un seul cas, celui de BpTP, on note des traits significativement plus performants en faveur de SmH. Notre interprétation se situe au niveau de l'adaptation locale sur le site de Tibraq. En effet, SmM est une population récente comparée à SmH ce qui se traduirait « naturellement » par une forme de virulence. Cependant, pourquoi cette virulence ne s'exprime-t-elle pas dans les autres cas (H=M, voir tableau III-2-1) ? Si l'on garde le même argument de l'adaptation locale, on peut émettre l'hypothèse qu'il existerait une souche murine plus ancienne à Siginitti générant des combinaisons compatibles avec les mollusques pigmenté et albinos. Cet argument n'est pas valable pour *B. pfeifferi* albinos de Tibraq.

En ce qui concerne les traits d'histoire de vie du **parasite**, il existe une influence de la population de *S. mansoni*. Les niveaux dépendent de la « population » de *B. pfeifferi* proposée et du trait de vie considéré.

Les **taux d'infestation** restent identiques quelle que soit la population de *S. mansoni* considérée. Pour une dose monomiracidiale, ces taux sont curieusement en-dessous des 87% obtenu chez le couple sympatrique *B. pfeifferi/S. mansoni* du Sénégal par Tchuem-Tchuenté *et al.* (1999) et plutôt proche des 56% obtenu chez le couple allopatrique *B. pfeifferi* Sénégal/*S. mansoni* Cameroun par Southgate *et al.* (2000).

La **période prépatente** (est, dans 3 cas sur 4, significativement plus courte chez SmH sauf chez BpTA où elle est plus courte chez SmM. Quelle que soit la combinaison hôte-parasite, la période prépatente varie de 26 à 31 jours avec des valeurs minimales élevées comparées à 22 jours du couple sympatrique *B. pfeifferi/S. mansoni* du Sénégal

(Tchuem-Tchuenté *et al.* 1999) et à 21 jours du couple allopatrique *B. pfeifferi* Sénégal/*S. mansoni* Cameroun (Southgate *et al.* 2000).

**L'émission cercarienne** se fait avec alternance de phases de hautes et de faibles productions dans toutes les combinaisons. Cependant, la détection d'un rythme d'émission n'est présent que dans 3 cas sur 8 et exclusivement sur des *B. pfeifferi* pigmentés (sur BpSP pour SmH et sur BpSP et BpTP pour SmM). Mouahid & Théron (1986) ont montré dans le modèle *Schistosoma bovis*, que le couple sympatrique *S.bovis/Planorbarius metidjensis* d'Espagne, présente une production cercarienne rythmée alors que le couple allopatrique *S. bovis* d'Espagne/*Bulinus truncatus* de Tunisie, ne présente aucun rythme. Ainsi, tous les mollusques albinos se comportent comme des hôtes allopatriques vis-à-vis de SmH et SmM. Les **productions cercariennes** sont significativement plus élevées chez SmH (332±90 à 566±104 cercaires/jour) que chez SmM (183±16 à 329±33 cercaires/jour) lorsque *B. pfeifferi* est pigmenté. Elles sont égales lorsque le mollusque est albinos (BpSA et BpTA). Les valeurs de production sont proches des 386 cercaires journalières émises par le couple allopatrique *B. pfeifferi* Sénégal/*S. mansoni* Cameroun (Southgate *et al.* 2000) mais inférieures aux 670 cercaires du couple sympatrique hautement compatible *B. pfeifferi/S. mansoni* Sénégal (Tchuem-Tchuenté *et al.* 1999).

En ce qui concerne la **transmission**, construite en combinant les traits de vie du parasite et de la survie des mollusques positifs, SmH se transmet significativement plus que SmM dans 3 cas sur 4: chez les mollusques pigmentés (BpSP et BpTP) et chez le mollusque albinos BpTA. Par contre, la transmission est similaire chez BpSA. Si l'on considère l'ensemble des éléments de notre argumentation, on peut annoncer que la population humaine de *S. mansoni* sur *B. pfeifferi* pigmenté constitue une association de type sympatrique très compatible. Comment alors expliquer cette différence de transmission à partir de mollusques dont les traits d'histoire de vie ne sont pas significativement différents ? Une hypothèse serait que la dynamique de développement des deux populations de *S. mansoni* au sein du mollusque soit différente (exploitation de l'environnement-hôte). D'après nos observations *in situ*, il semble que la population humaine utilise l'ensemble des tissus de l'hôte et la population murine seulement une partie de ces tissus. L'étude histologique du nombre de sporocystes et leur dispersion au

sein des tissus du mollusque permettrait de vérifier cette hypothèse. La part de chacune des deux populations de *S. mansoni* dans la transmission sur le terrain reste à déterminer. Théron *et al.* (1978) ont souligné le rôle prépondérant de l'Homme par rapport au Rat dans le fonctionnement d'un site de transmission de *S. mansoni* en Guadeloupe. La question reste posée pour le cas du Dhofar.

Tableau III-2-1: Bilan des résultats du chapitre 2. Impact de la population de *S. mansoni*, humaine (H) versus murine (M), sur *Biomphalaria pfeifferi* positif et exposé-négatif.

Acteur	Trait d'histoire de vie		Mollusque positif				Mollusque exposé-négatif				
			BpSP	BpSA	BpTP	BpTA	BpSP	BpSA	BpTP	BpTA	
Mollusque	Croissance	Diamètre coquille (D)	H=M	H=M	<b>H&gt;M</b>	H=M	H=M	H=M	H=M	H=M	
		Masse corporelle (M)	nr	nr	<b>H&gt;M</b>	H=M	-	-	H=M	H>M	
		Pente DM	nr	nr	<b>H=M</b>	H=M	-	-	H=M	H>M	
	Fécondité	Taux de mollusques pondueurs	H=M	H=M	<b>H&gt;M</b>	H=M	H=M	H=M	H=M	H=M	
		Nombre de pontes	H=M	H=M	<b>H&gt;M</b>	H=M	H=M	H=M	H=M	H=M	
		Nombre d'œufs	H=M	H=M	<b>H&gt;M</b>	H=M	H>M	H=M	H>M	H=M	
	Survie		H=M	H=M	<b>H&gt;M</b>	H=M	H=M	H=M	H=M	H=M	
	Parasite	Taux d'infestation		H=M	H=M	H=M	H=M				
		Période prépatente		H>M	H>M	H>M	H<M				
		Emission cercarienne	Rythme	H=oui	H=non	H=non	H=non				
M=oui				M=non	M=oui	M=non					
Production		H>M	H=M	H>M	H=M						
Transmission		<b>H&gt;M</b>	<b>H=M</b>	<b>H&gt;M</b>	<b>H&gt;M</b>						

BpSP: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté; BpSA: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos; BpTP: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté; BpTA: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos; nr indique que l'expérience n'a pas été réalisée; H=M indique que les traits d'histoire de vie ne sont pas significativement différents entre les deux populations; H>M indique que ces traits sont plus performants chez H; H<M indique que ces traits sont plus performants chez M. La transmission du parasite est par exemple meilleure plus le taux d'infestation de l'hôte ou la production cercarienne sont grands et plus la période prépatente du parasite chez son hôte est courte.

## **CHAPITRE 3:**

*Impact de la catégorie du site de*

**B. pfeifferi, naturel versus aménagé,**

*dans l'interaction hôte-parasite*



## INTRODUCTION

Parmi les 18 sites étudiés, nous avons choisi Siginitti comme site naturel et Tibraq comme site aménagé (Figure II-1-3). Les deux sites font partie du massif Wustah. Deux raisons majeures ont motivé ce choix: ce sont les deux seuls sites où ont été trouvés à la fois des mollusques naturellement infestés par *S. mansoni* et des mollusques albinos.

Le site de Siginitti est situé en dehors de toute agglomération, dans une vallée ouverte. C'est une rivière d'accès difficile où aucun aménagement n'a été opéré par l'Homme et qui est souvent fréquentée par les troupeaux de dromadaires conduits par leurs bergers se déplaçant en voiture tout terrain.

Le site de Tibraq est également situé en dehors de toute agglomération. Il est muni d'une source dont les abords ont été aménagés pour servir aux Hommes et aux troupeaux d'élevage. Il est situé dans une vallée très agréable attirant bon nombre de familles lors des weekends.

L'objectif de ce chapitre est d'analyser de manière comparative, en conditions de laboratoire, l'impact de la catégorie du site de l'hôte, naturel versus aménagé, dans l'interaction entre *B. pfeifferi* et *S. mansoni*. Le chapitre fait l'objet de trois sous-chapitres:

- ✓ **Sous-chapitre 1:** Impact de la catégorie du site de l'hôte, naturel versus aménagé, chez *B. pfeifferi* sain.
- ✓ **Sous-chapitre 2:** Impact de la catégorie du site de l'hôte, naturel versus aménagé, dans l'interaction avec *S. mansoni* population humaine.
- ✓ **Sous-chapitre 3:** Impact de la catégorie du site de l'hôte, naturel versus aménagé, dans l'interaction avec *S. mansoni* population murine.



*Sous-Chapitre 1:*  
*Impact de la catégorie du site du mollusque, naturel versus  
aménagé, sur les traits d'histoire de vie de B. pfeifferi sain*



# I. Résultats

## A. Croissance

### 1. Diamètre

Le **diamètre moyen** de *B. pfeifferi* sain, Siginitti (naturel) versus Tibraq (aménagé), est présenté dans la figure III-3-1-1.

Pour **BpPs**, le diamètre moyen augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il existe des différences significatives entre BpSPs et BpTPs aux semaines 1 (U=62,5; N=11; N=20, respectivement;  $p=0,049$ ), 3 (U=28,5; N=11; N=14, respectivement;  $p=0,008$ ), 4 (U=26; N=11; N=13, respectivement;  $p=0,008$ ), 5 (U=30; N=11; N=12, respectivement;  $p=0,027$ ), 10 (U=20,5; N=11; N=10, respectivement;  $p=0,015$ ), 11 (U=23; N=11; N=10, respectivement;  $p=0,024$ ) et 12 (U=21; N=9; N=10, respectivement;  $p=0,049$ ) où les BpSPs sont significativement moins grands que les BpTPs. Le diamètre moyen des mollusques à la fin de l'expérience est respectivement de  $7,98 \pm 0,14$  mm et de  $8,45 \pm 0,16$  mm (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpAs**, le diamètre moyen des mollusques augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Le diamètre des BpSAs est significativement moins grand que celui des BpTAs depuis la 1<sup>ère</sup> semaine jusqu'à la fin de l'expérience où il est respectivement de  $7,49 \pm 0,18$  mm et de  $8,57 \pm 0,04$  mm (U=2; N=7; N=18, respectivement;  $p=0,0002$ ).

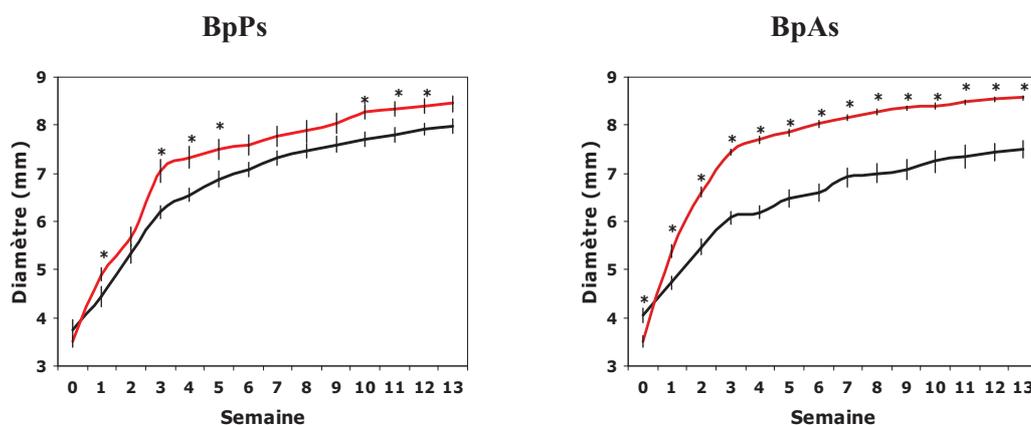


Figure III-3-1-1: Diamètre moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti (noir) et Tibraq (rouge). BpPs: *B. pfeifferi* Pigmenté sain; BpAs: *B. pfeifferi* Albinos sain. \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

## 2. Relation diamètre/masse de la coquille

Les résultats de la relation diamètre/masse de la coquille chez *B. pfeifferi* Siginitti et Tibraq sont présentés dans la figure III-3-1-2.

Pour **BpPs**, il existe une relation linéaire positive entre le diamètre et la masse de la coquille aussi bien pour BpSPs ( $r^2=0,80$ ;  $p<0,0001$ ) que pour BpTPs ( $r^2=0,81$ ;  $p<0,0001$ ). Le test de comparaison des pentes indique que cette relation n'est pas significativement différente entre BpSPs et BpTPs ( $p>0,05$ ).

Pour **BpAs**, il existe une relation linéaire positive entre le diamètre et la masse de la coquille aussi bien pour BpSAs ( $r^2=0,74$ ;  $p<0,0001$ ) que pour BpTAs ( $r^2=0,95$ ;  $p<0,0001$ ). Le test de comparaison des pentes indique que la pente est significativement plus importante chez BpSAs ( $F=4,07$ ;  $ddl=64$ ;  $p=0,048$ ) que chez BpTAs.

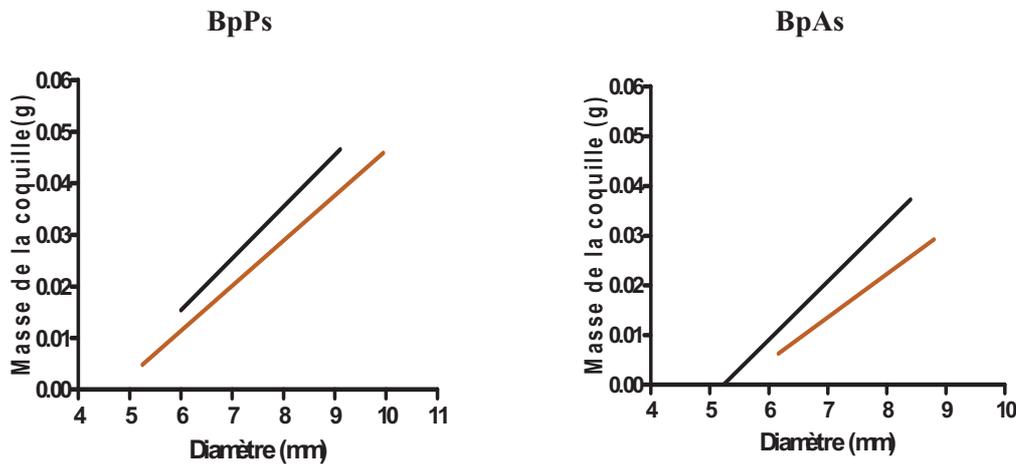


Figure III-3-1-2: Relation entre le diamètre et la masse de la coquille de *B. pfeifferi* Siginitti (noir) et Tibraq (rouge). BpPs: *B. pfeifferi* Pigmenté sain; BpAs: *B. pfeifferi* Albinos sain.

### B. Fécondité

#### 1. Taux de mollusques pondueurs

Pour **BpPs**, le taux de mollusques ayant au moins pondue une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 90,91% (10/11) pour BpSPs et de 92,86% (13/14) pour BpTPs et la différence n'est pas significative (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

Pour **BpAs**, le taux de mollusques ayant au moins pondue une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 91,67% (11/12) pour BpSAs et de 100% (20/20) pour BpTAs et la différence n'est pas significative (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

## 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginiti et Tibraq est présenté dans la figure III-3-1-3.

Pour **BpPs**, l'activité de ponte commence à la 3<sup>ème</sup> semaine aussi bien pour BpSPs que pour BpTPs. Il n'existe aucune différence significative entre BpSPs et BpTPs (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ), à l'exception de la 4<sup>ème</sup> semaine où le nombre moyen de pontes cumulé chez BpSPs est significativement moins élevé que chez BpTPs ( $U=31,5$ ;  $N=11$ ;  $N=13$ , respectivement;  $p=0,021$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes cumulé est respectivement de  $18,11\pm 3,24$  et de  $15,50\pm 1,12$  pontes.

Pour **BpAs**, l'activité de ponte commence à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpSPs et à la 3<sup>ème</sup> semaine pour BpTPs. A partir de la 3<sup>ème</sup> semaine jusqu'à la 5<sup>ème</sup> semaine et de la 8<sup>ème</sup> à la 10<sup>ème</sup> semaine, BpSPs font significativement moins de pontes que BpTPs (Mann-Whitney;  $p<0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre moyen de pontes cumulé est de  $18,86\pm 2,02$  et de  $18,83\pm 1,19$  pontes, respectivement (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

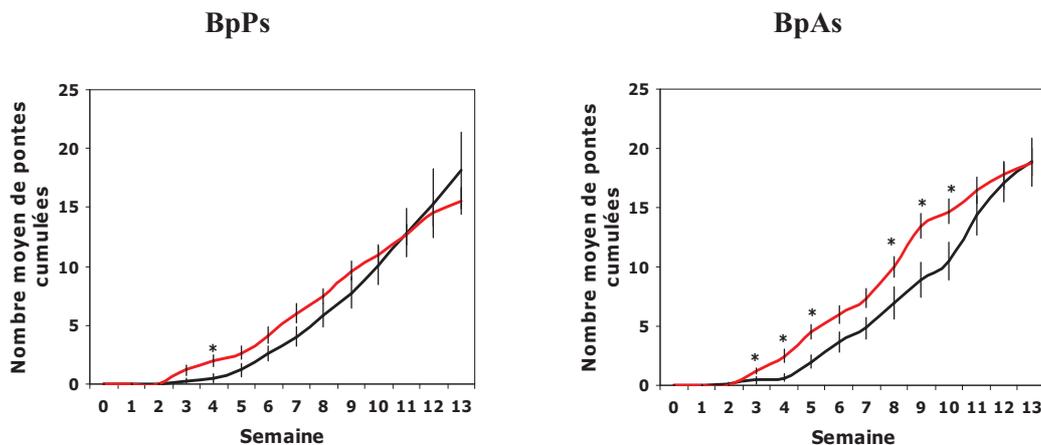


Figure III-3-1-3: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginiti (noir) et Tibraq (rouge). BpPs: *B. pfeifferi* Pigmenté; BpAs: *B. pfeifferi* Albinos. \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p<0,05$ ).

## 3. Nombre d'œufs

Le **nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginiti et Tibraq est présenté dans la figure III-3-1-4.

Pour **BpPs**, les premiers œufs sont pondus à la 3<sup>ème</sup> semaine aussi bien pour BpSPs que pour BpTPs. Le nombre d'œufs cumulé moyen chez BpSPs est

significativement moins élevé que chez BpTPs depuis la 4<sup>ème</sup> jusqu'à la 11<sup>ème</sup> semaine (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs cumulé moyen est de  $145,00 \pm 23,24$  et de  $159,80 \pm 10,43$  œufs, respectivement (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpAs**, les premiers œufs sont pondus à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpSAs et à la 3<sup>ème</sup> semaine pour BpTAs. Les BpSAs font significativement moins d'œufs que les BpTAs depuis la 3<sup>ème</sup> semaine jusqu'à la fin de l'expérience. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs cumulé moyen est de  $139,57 \pm 18,61$  et de  $197,67 \pm 13,82$  œufs, respectivement ( $U=10$ ;  $N=11$ ;  $N=18$ , respectivement;  $p < 0,0001$ ).

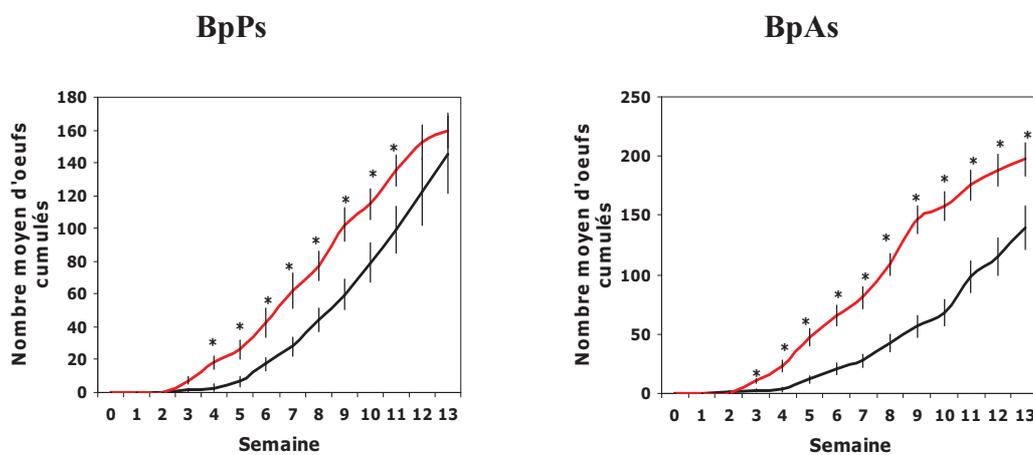


Figure III-3-1-4: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti (noir) et Tibraq (rouge): BpPs: *B. pfeifferi* Pigmenté sain; BpAs: *B. pfeifferi* Albinos sain. \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

#### 4. Nombre d'œufs par ponte

Pour **BpPs**, le nombre d'œufs par ponte moyen n'est pas significativement différent (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ) entre BpSPs ( $8,06 \pm 0,43$ ) et BpTPs ( $9,10 \pm 0,70$ ).

Pour **BpAs**, le nombre d'œufs par ponte moyen est significativement inférieur chez BpSAs ( $6,11 \pm 0,77$ ) que chez BpTAs ( $10,52 \pm 0,34$ ) ( $U=18,5$ ;  $N=11$ ;  $N=20$ , respectivement;  $p=0,0002$ ).

#### 5. Durée d'incubation, taux d'éclosion et âge à la maturité

Pour **BpPs**, la durée d'incubation moyenne sur l'ensemble des trois répliquas est de  $8,46 \pm 0,43$  et de  $8,00 \pm 0,32$  jours chez BpSPs et chez BpTPs, respectivement et les

taux d'éclosion moyens sont de  $92,30\% \pm 0,80$  et de  $94,00\% \pm 5,66$ , respectivement. Il n'existe aucune différence significative ni sur la durée d'incubation ni sur les taux d'éclosion entre BpSPs et BpTPs (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). L'âge à la maturité est atteint au bout de six semaines chez BpSPs et au bout de 4 semaines chez BpTPs.

Pour **BpAs**, la durée d'incubation moyenne sur l'ensemble des trois répliquas est de  $8,67 \pm 0,13$  et de  $8,32 \pm 0,01$  jours chez BpSAs et chez BpTAs, respectivement et les taux d'éclosion moyens sont de  $90,10\% \pm 2,90$  et de  $97,33\% \pm 0,94$ , respectivement. Il n'existe aucune différence significative ni sur la durée d'incubation ni sur les taux d'éclosion entre BpSAs et BpTAs (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). L'âge à la maturité est atteint au bout de six semaines chez BpSAs et au bout de 4 semaines chez BpTAs.

### C. *Survie*

La figure III-3-1-5 présente les courbes de survie de *B. pfeifferi* Siginitti et Tibraq.

Pour **BpPs**, il n'existe aucune différence significative entre BpSPs et BpTPs (Logrank test;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpAs**, la survie des BpSAs est significativement inférieure à celle des BpTAs ( $X^2=8,69$ ; ddl=1;  $p=0,003$ ).

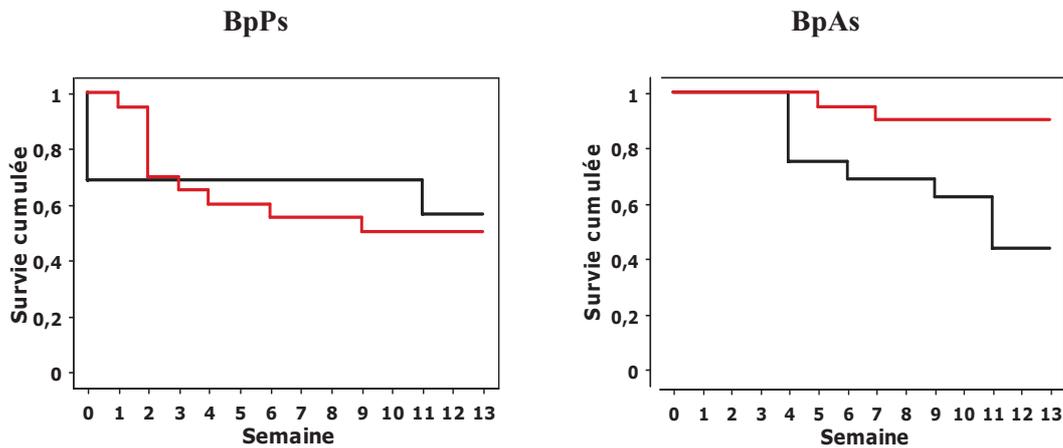


Figure III-3-1-5: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* Siginitti (noir) et Tibraq (rouge). BpPs: *B. pfeifferi* Pigmenté sain; BpAs: *B. pfeifferi* Albinos sain.



*Sous-Chapitre 2:*  
*Impact de la catégorie du site du mollusque,*  
*naturel versus aménagé, dans l'interaction*  
**B. pfeifferi/S. mansoni** *population humaine*



# I. Résultats : *B. pfeifferi* positif

## A. Croissance

### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi*, Siginitti (naturel) versus Tibraq (aménagé), positif à *S. mansoni* population humaine est présenté dans la figure III-3-2-1.

Pour **BpP**, le diamètre moyen augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmH+ et BpTP/SmH+, à l'exception des semaines 3 (U=91,5; N=18; N=20, respectivement;  $p=0,01$ ) et 4 (U=109,5; N=18; N=20, respectivement;  $p=0,04$ ) où BpSP/SmH+ sont significativement plus grands que BpTP/SmH+. Le diamètre des mollusques à la fin de l'expérience est respectivement de  $8,48 \pm 0,12$  mm et de  $8,52 \pm 0,12$  mm (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpA**, le diamètre moyen augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Le diamètre des BpSA/SmH+ est significativement moins grand que celui des BpTA/SmH+ depuis la 4<sup>ème</sup> semaine jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine post-exposition. Le diamètre moyen des mollusques à la fin de l'expérience est respectivement de  $8,13 \pm 0,14$  mm et de  $9,42 \pm 0,18$  mm (U=1; N=9; N=10, respectivement;  $p=0,0003$ ).

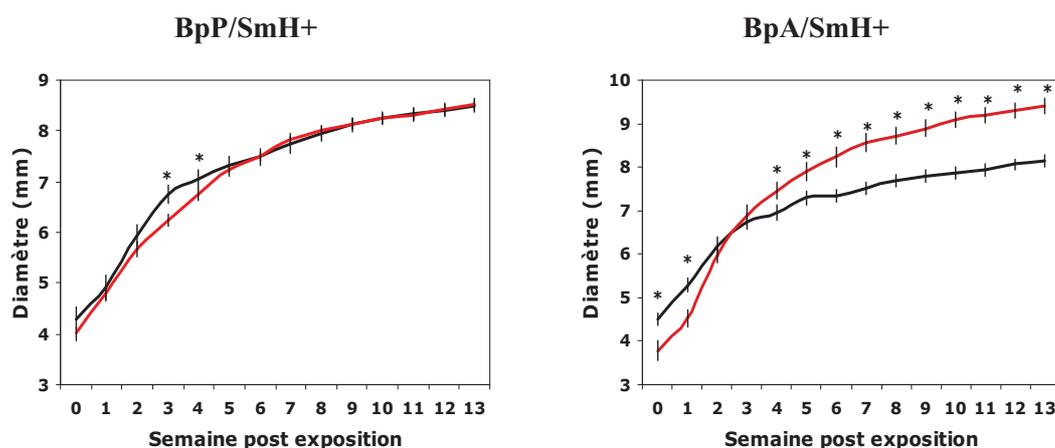


Figure III-3-2-1: Diamètre moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti (noir) et Tibraq (rouge). BpP/SmH+: *B. pfeifferi* Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine; BpA/SmH+: *B. pfeifferi* Albinos positif à *S. mansoni* population humaine. \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

## B. Fécondité

### 1. Taux de mollusques pondueurs

Pour **BpP**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 27,78% (5/18) pour BpSP/SmH+ et de 50,00% (10/20) pour BpTP/SmH+ et la différence n'est pas significative (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

Pour **BpA**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 23,08% (3/13) pour BpSA/SmH+ et de 41,67% (5/12) pour BpTA/SmH+ et la différence n'est pas significative (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

### 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti et Tibraq est présenté dans la figure III-3-2-2.

Pour **BpP**, l'activité de ponte commence à la 1<sup>ère</sup> semaine post-exposition pour BpSP/SmH+ et à la 3<sup>ème</sup> pour BpTP/SmH+. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmH+ et BpTP/SmH+ (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes cumulé moyen est de  $1,31\pm 1,02$  et de  $2,41\pm 0,91$ , respectivement.

Pour **BpA**, l'activité de ponte commence à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpSA/SmH+ et à la 4<sup>ème</sup> semaine pour BpTA/SmH+. Il n'existe aucune différence significative entre BpSA/SmH+ et BpTA/SmH+ (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes cumulé moyen est de  $1,67\pm 1,29$  et de  $4,70\pm 2,97$ , respectivement.

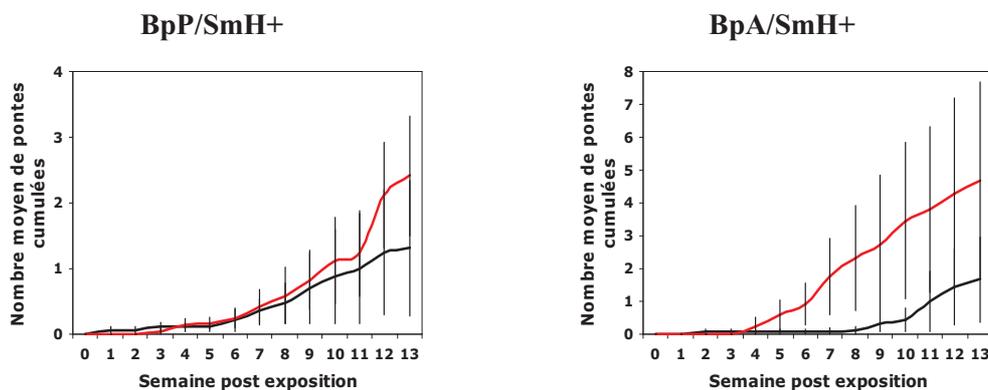


Figure III-3-2-2: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti (noir) et Tibraq (rouge). BpP/SmH+: *B. pfeifferi* Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine; BpA/SmH+: *B. pfeifferi* Albinos positif à *S. mansoni* population humaine.

### 3. Nombre d'œufs

Le **nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti et Tibraq est présenté dans la figure III-3-2-3.

Pour **BpP**, les premiers œufs sont pondus à la 1<sup>ère</sup> semaine post-exposition pour BpSP/SmH+ et à la 3<sup>ème</sup> pour BpTP/SmH+. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmH+ et BpTP/SmH+ (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs cumulé moyen est de  $7,44\pm 5,64$  et de  $9,88\pm 4,07$ , respectivement.

Pour **BpA**, les premiers œufs sont pondus à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpSA/SmH+ et à la 4<sup>ème</sup> semaine pour BpTA/SmH+. Il n'existe aucune différence significative entre BpSA/SmH+ et BpTA/SmH+ (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs cumulé moyen est de  $8,88\pm 7,46$  et de  $35,90\pm 22,88$ , respectivement.

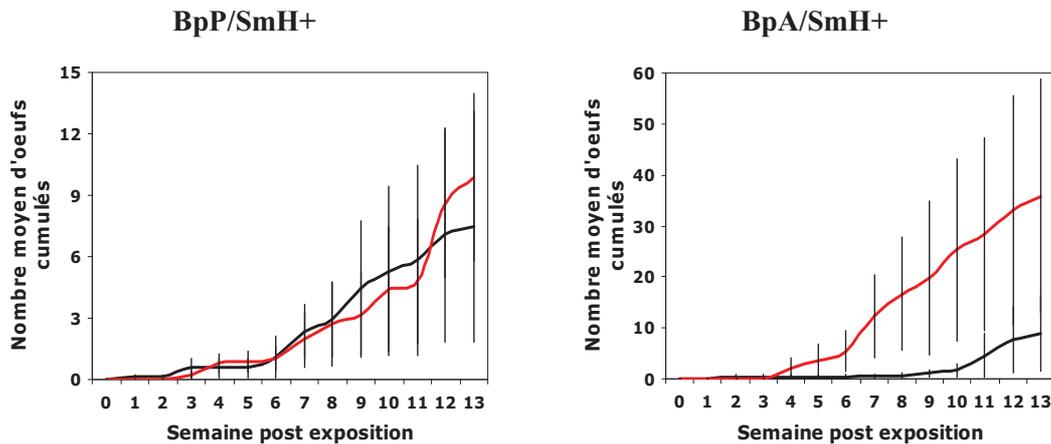


Figure III-3-2-3: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti (noir) et Tibraq (rouge). BpP/SmH+: *B. pfeifferi* Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine; BpA/SmH+: *B. pfeifferi* Albinos positif à *S. mansoni* population humaine.

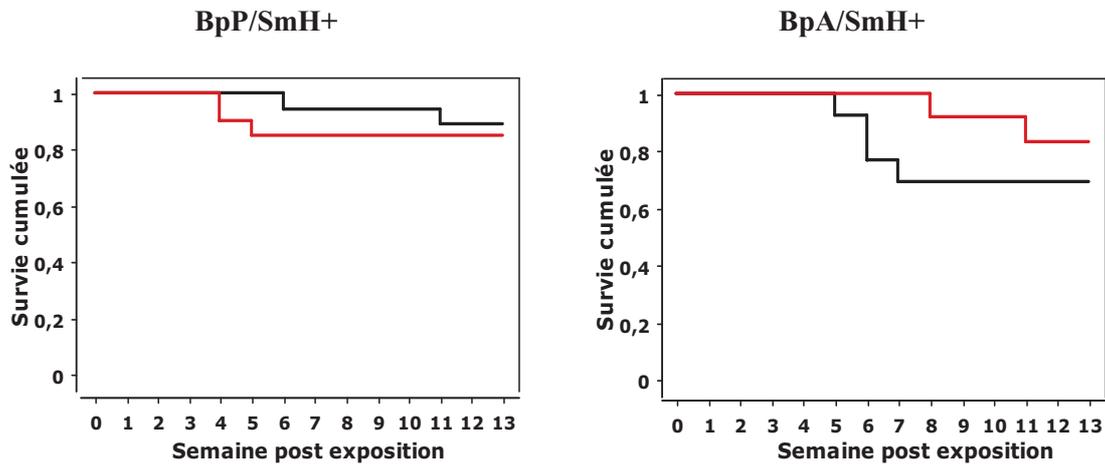
### 4. Nombre d'œufs par ponte

Pour **BpP**, le nombre d'œufs par ponte moyen n'est pas significativement différent (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ) entre BpSP/SmH+ ( $6,40\pm 2,06$ ) et BpTP/SmH+ ( $4,40\pm 0,49$ ).

Pour **BpA**, le nombre d'œufs par ponte moyen est significativement inférieur chez BpSA/SmH+ ( $4,39\pm 0,86$ ) par rapport à BpTA/SmH+ ( $6,84\pm 0,92$ ) ( $U=14,5$ ;  $N=3$ ;  $N=5$ , respectivement;  $p=0,037$ ).

### C. *Survie*

La figure III-3-2-4 présente les courbes de survie de *B. pfeifferi* Siginitti et Tibraq. Il n'existe aucune différence significative entre la survie de BpSP/SmH+ et de BpTP/SmH+ ni entre celle de BpSA/SmH+ et de BpTA/SmH+ (Logrank test;  $p > 0,05$ ).



## II. Résultats: *B. pfeifferi* exposé-négatif

### A. Croissance

#### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi*, Siginitti versus Tibraq, exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine est présenté dans la figure III-3-2-5.

Pour **BpP**, le diamètre moyen augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmH- et BpTP/SmH- (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). Le diamètre moyen des mollusques à la fin de l'expérience est respectivement de  $7,93 \pm 0,15$  mm et de  $7,72 \pm 0,07$  mm.

Pour **BpA**, le diamètre moyen augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Le diamètre des BpSA/SmH- est significativement moins grand que celui des BpTA/SmH- de la 2<sup>ème</sup> semaine à la fin de l'expérience (13<sup>ème</sup> semaine post-exposition). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le diamètre moyen

des mollusques est respectivement de  $7,63 \pm 0,19$  mm et de  $8,41 \pm 0,10$  mm ( $U=28$ ;  $N=11$ ;  $N=17$ , respectivement;  $p=0,002$ ).

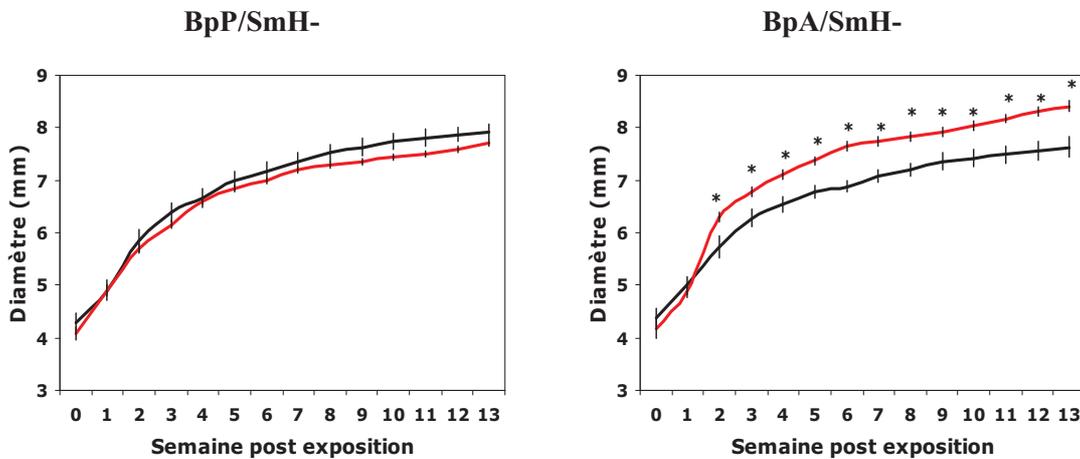


Figure III-3-2-5: Diamètre moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti (noir) et Tibraq (rouge) exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine. BpP/SmH-: *B. pfeifferi* Pigmenté; BpA/SmH-: *B. pfeifferi* Albinos. \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

## B. Fécondité

### 1. Taux de mollusques pondueurs

Pour **BpP**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 100% (10/10) pour BpSP/SmH- et de 100% (24/24) pour BpTP/SmH-. Pour **BpA**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 100% (14/14) pour BpSA/SmH- et de 100% (21/21) pour BpTA/SmH-.

### 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti versus Tibraq exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine est présenté dans la figure III-3-2-6.

Pour **BpP**, l'activité de ponte commence à la 3<sup>ème</sup> semaine post-exposition pour BpSP/SmH- et à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpTP/SmH-. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmH- et BpTP/SmH- (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ), à l'exception de la 7<sup>ème</sup> semaine où le nombre de pontes cumulé par BpSP/SmH- est significativement

moins élevé que celui des BpTP/SmH- (U=59; N=10; N=22, respectivement;  $p=0,038$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes cumulé moyen est respectivement de  $23,40 \pm 2,40$  et de  $20,37 \pm 1,19$ .

Pour **BpA**, l'activité de ponte commence à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpSA/SmH- et à la 3<sup>ème</sup> semaine pour BpTA/SmH-. De la 5<sup>ème</sup> à la 10<sup>ème</sup> semaine, les BpSA/SmH- font significativement moins de pontes que BpTA/SmH- et les différences ne sont pas significatives au cours des 3 dernières semaines de l'expérience (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes cumulé moyen est respectivement de  $18,86 \pm 2,02$  et de  $22,12 \pm 2,10$ .

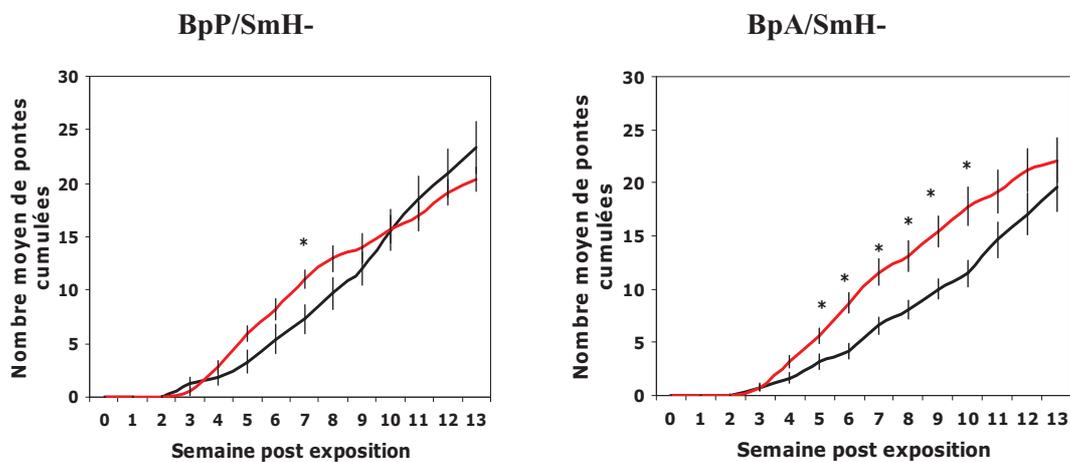


Figure III-3-2-6: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti (noir) et Tibraq (rouge). BpP/SmH-: *B. pfeifferi* Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine; BpA/SmH-: *B. pfeifferi* Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine. \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

### 3. Nombre d'œufs

Le **nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti versus Tibraq exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine est présenté dans la figure III-3-2-7.

Pour **BpP**, il n'existe aucune différence significative entre le nombre d'œufs de BpSP/SmH- et de BpTP/SmH- (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ), à l'exception des semaines 5 (U=67; N=10; N=25, respectivement;  $p=0,034$ ) et 7 (U=54; N=10; N=22, respectivement;  $p=0,023$ ) où le nombre d'œufs cumulé par BpSP/SmH- est significativement moins élevé que celui de BpTP/SmH-. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre

d'œufs cumulé est respectivement de  $188,50 \pm 20,08$  et de  $149,16 \pm 10,72$  (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpA**, BpSA/SmH- font significativement moins d'œufs que BpTA/SmH- dès la 4<sup>ème</sup> semaine. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs cumulé est respectivement de  $138,14 \pm 18,85$  et de  $225,59 \pm 22,43$  ( $U=52,5$ ;  $N=14$ ;  $N=17$ , respectivement;  $p=0,008$ ).

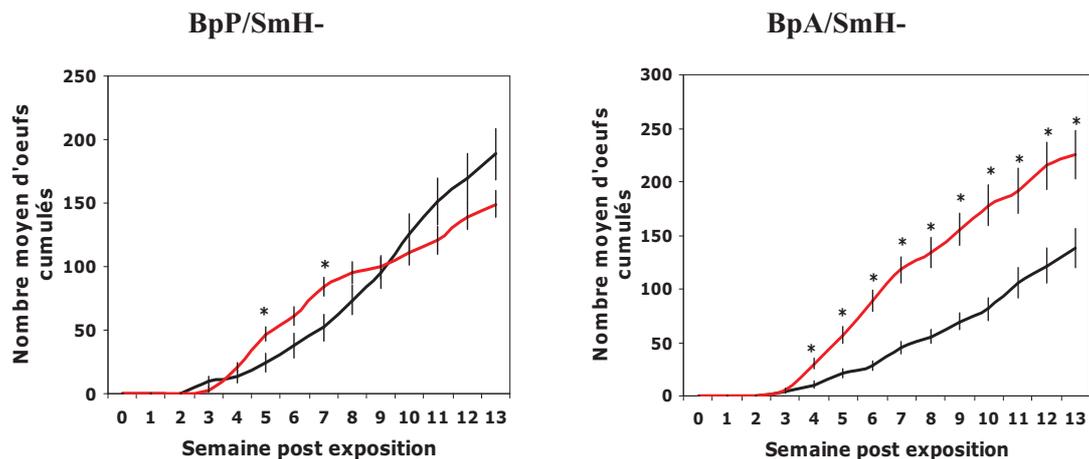


Figure III-3-2-7: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti (noir) et Tibraq (rouge). BpP/SmH-: *B. pfeifferi* Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine; BpA/SmH-: *B. pfeifferi* Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine. \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

#### 4. Nombre d'œufs par ponte

Pour **BpP**, le nombre d'œufs par ponte moyen n'est pas significativement différent (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ) entre BpSP/SmH- ( $8,08 \pm 0,33$ ) et BpTP/SmH- ( $7,38 \pm 0,56$ ).

Pour **BpA**, le nombre d'œufs par ponte moyen est significativement plus faible chez BpSA/SmH- ( $6,83 \pm 0,50$ ) que chez BpTA/SmH- ( $10,04 \pm 0,26$ ) ( $U=16,5$ ;  $N=14$ ;  $N=21$ , respectivement;  $p < 0,0001$ ).

#### C. Survie

Les courbes de survie de *B. pfeifferi* Siginitti et Tibraq exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine (Figure III-3-2-8) montrent qu'il n'existe aucune différence significative entre la survie de BpSP/SmH- et de BpTP/SmH- ni entre celles de BpSA/SmH- et de BpTA/SmH- (Logrank test;  $p > 0,05$ ).

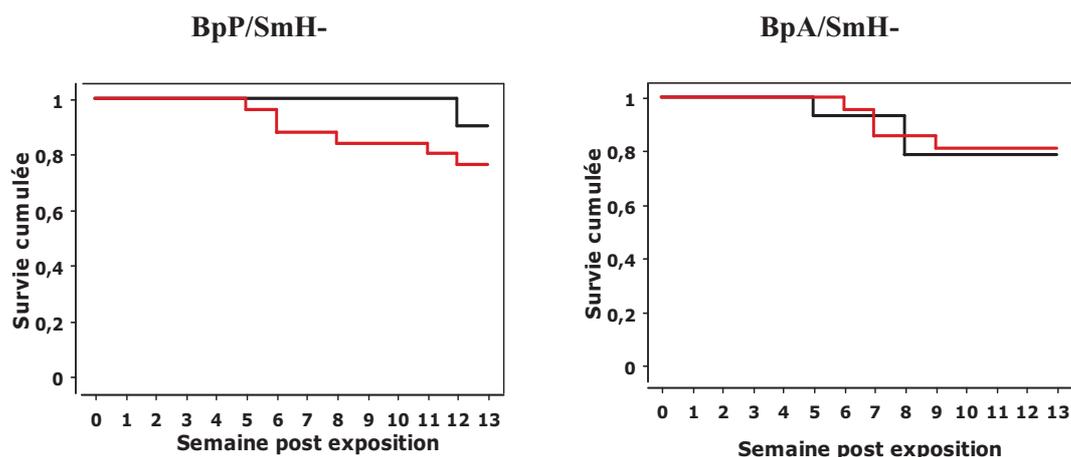


Figure III-3-2-8: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* Siginitti (noir) et Tibraq (rouge). BpP/SmH-: *B. pfeifferi* Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine; BpA/SmH-: *B. pfeifferi* Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine.

### III. Résultats: *S. mansoni*

#### A. Taux d'infestation

Le taux d'infestation de *S. mansoni* population humaine chez *B. pfeifferi* Siginitti versus Tibraq est présenté dans le tableau III-3-2-1. Pour **BpP**, le taux d'infestation de BpSP/SmH+ n'est pas significativement différent de celui de BpTP/SmH+ (Fisher's exact test;  $p > 0,05$ ). Pour **BpA**, le taux d'infestation de BpSA/SmH+ n'est pas significativement différent de celui de BpTA/SmH+ (Fisher's exact test;  $p > 0,05$ ).

Tableau III-3-2-1: Taux d'infestation de *S. mansoni* population humaine chez *B. pfeifferi* Siginitti et Tibraq.

Morphe	Population	Nombre de mollusques			Taux d'infestation (%)
		exposés	survivants	positifs	
Pigmenté	Siginitti	32	28	18	64
	Tibraq	45	45	20	44
Albinos	Siginitti	32	27	13	48
	Tibraq	35	33	12	36

#### B. Période prépatente

La période prépatente de *S. mansoni* population humaine chez *B. pfeifferi* Siginitti versus Tibraq est présentée dans le tableau III-3-2-2.

Pour **BpP**, la période prépatente la plus courte est de 24 jours post-exposition (JPE) pour 39% des BpSP/SmH+ et 26 JPE pour 5% des BpTP/SmH+. Elle est significativement plus courte chez BpSP/SmH+ ( $26,56 \pm 1,33$ ) que chez BpTP/SmH+ ( $28,30 \pm 0,26$ ) ( $U=47$ ;  $N=18$ ;  $N=20$ , respectivement;  $p=0,0001$ ).

Pour **BpA**, la période prépatente la plus courte est de 24 JPE pour 54% des mollusques positifs de Siginitti et 26 JPE pour 8% des mollusques positifs de Tibraq. La durée moyenne de la période prépatente est significativement plus courte chez les mollusques de Siginitti ( $26,69 \pm 1,85$ ) que chez les mollusques de Tibraq ( $31,08 \pm 2,01$ ), ( $U=21$ ;  $N_{\text{Sig}}=13$ ;  $N_{\text{Tib}}=12$ ;  $p=0,002$ ).

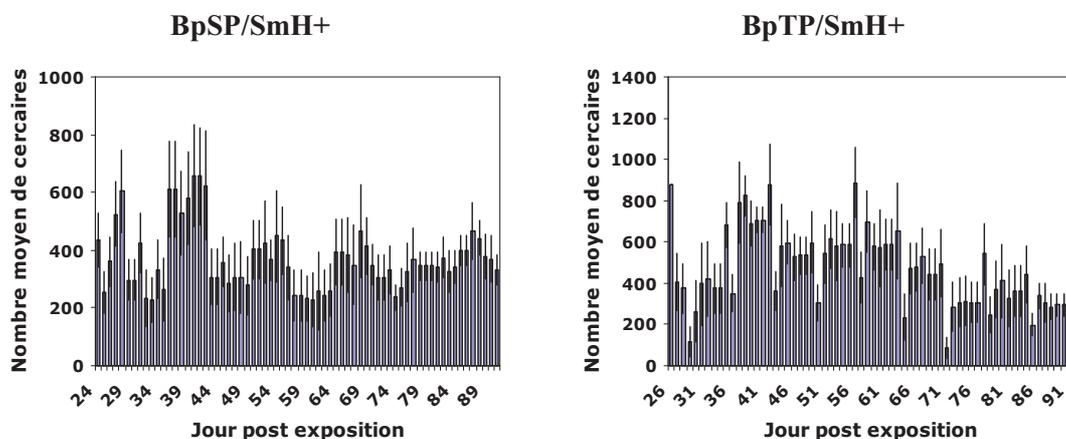
Tableau III-3-2-2: Période prépatente de *S. mansoni* de souche humaine sur des *B. pfeifferi* de Siginitti et Tibraq.

Morphe	Population	Jour post-exposition											
		23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	45	48
Pigmenté	Siginitti	0	7	5	2	2	0	0	0	1	0	0	1
	Tibraq	0	0	0	1	4	6	6	3	0	0	0	0
Albinos	Siginitti	0	7	4	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	Tibraq	0	0	0	1	2	3	3	0	0	1	2	0

### C. Emission cercarienne journalière

#### 1. Dynamique

La **dynamique de production cercarienne journalière moyenne** de *S. mansoni* population humaine sur *B. pfeifferi* Siginitti versus Tibraq pour les morphes pigmenté et albinos est présentée dans la figure III-3-2-9. Les histogrammes indiquent qu'il existe des phases de fortes et de faibles productions cercariennes.



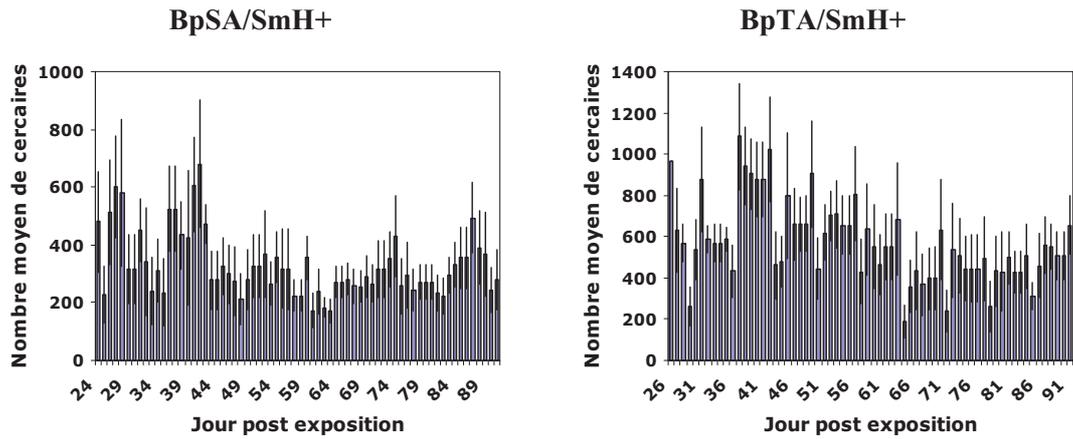
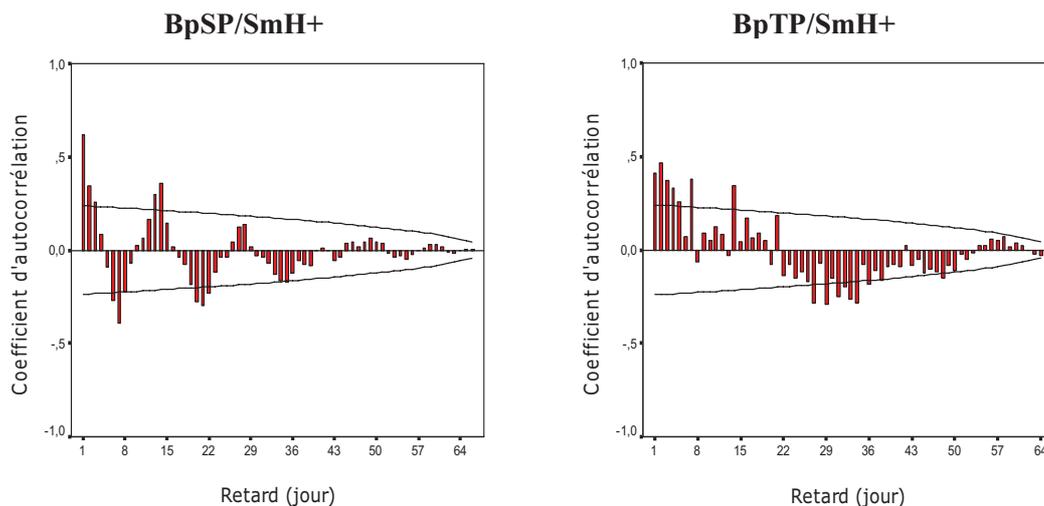


Figure III-3-2-9: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$  Ecart-Standard) de *S. mansoni* population humaine sur *B. pfeifferi*. BpSP/SmH+: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine; BpTP/SmH+: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine; BpSA/SmH+: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif à *S. mansoni* population humaine et BpTA/SmH+: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population humaine.

Les autocorrélogrammes sont présentés dans la figure III-3-2-10. Pour **BpP**, la production cercarienne de BpSP/SmH+ se fait selon un rythme avec une périodicité de 14 jours entre deux phases consécutives de fortes ou de faibles production cercarienne. Par contre, il n'existe aucun rythme de production cercarienne chez BpTP/SmH+. Pour **BpA**, l'autocorrélation n'indique aucun rythme de production cercarienne quelle que soit l'origine géographique de *B. pfeifferi*.



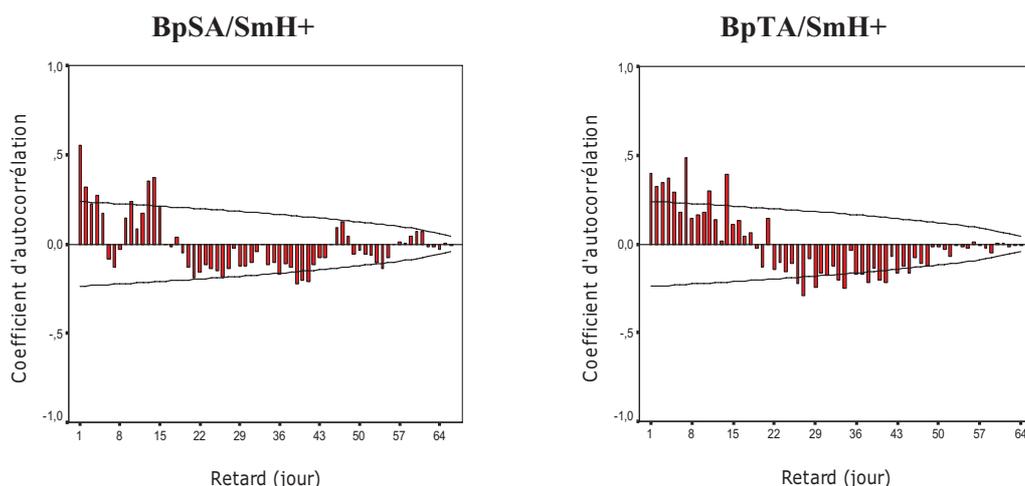


Figure III-3-2-10: Autocorrélogramme de la production cercarienne journalière moyenne de *S. mansoni* population humaine sur *B. pfeifferi*. BpSP/SmH+: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine; BpTP/SmH+: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine; BpSA/SmH+: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif à *S. mansoni* population humaine et BpTA/SmH+: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population humaine.

## 2. Production

Pour **BpP**, la **production cercarienne journalière moyenne** de BpSP/SmH+ ( $371,98 \pm 68,38$ ) n'est pas significativement différente de celle de BpTP/SmH+ ( $464,04 \pm 73,51$ ) (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). Pour **BpA**, la **production cercarienne journalière moyenne** de BpSA/SmH+ ( $331,80 \pm 89,83$ ) n'est pas significativement différente de celle de BpTA/SmH+ ( $566,19 \pm 104,05$ ) (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

### D. Transmission

La prise en compte simultanée des données de taux d'infestation, de période prépatente, de production cercarienne et de survie des mollusques nous a permis d'évaluer l'impact de la catégorie du site, Siginitti (naturel) versus Tibraq (aménagé), dans la **transmission** de *S. mansoni* population humaine (Tableau III-3-2-3).

Pour **BpP**, les résultats indiquent qu'un BpSP transmet par semaine autant de cercaires de SmH qu'un BpTP ( $1514,2 \pm 138,1$  contre  $1123,50 \pm 150,8$ ;  $N=10$ ; Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ), totalisant ainsi 15142 et 11235 cercaires par mollusque, sur 13 semaines, respectivement.

Pour **BpA**, les résultats indiquent qu'un BpSA transmet par semaine significativement moins de cercaires de SmH qu'un BpTA ( $826,5 \pm 87,2$  contre

1172,5±152,1; N=10; Mann-Whitney; U=20;  $p=0,023$ ), totalisant ainsi 8265 et 11725 cercaires par mollusque, sur 13 semaines.

Tableau III-3-2-3: Nombre de cercaires émises par *S. mansoni* population humaine sur *B. pfeifferi* Siginitti (naturel) versus Tibraq (aménagé) pendant 13 semaines. Le nombre total en gras est calculé en tenant compte de la production cercarienne hebdomadaire moyenne (PC), du taux d'infestation (TI) et de la survie (S).

Couple Hôte/Parasite	Paramètre	Semaine													Total		
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		13	
BpSP/SmH+ Site naturel	PC	0	0	0	0	2183	2071	4266	2150	2821	1715	2749	2139	2418	2783	25295	
	TI	0	0	0	0	0,57	0,61	0,61	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64		
	PCxTI	0	0	0	0	1244	1263	2602	1376	1805	1098	1759	1369	1548	1781		15846
	S	1	1	1	1	1	1	1	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,9	0,9		
	PCxTIxS	0	0	0	0	1244	1263	2602	1307	1715	1043	1671	1301	1393	1603		<b>15142</b>
BpTP/SmH+ Site aménagé	PC	0	0	0	0	860	2623	4946	3738	4095	4098	3101	2148	2518	2067	30193	
	TI	0	0	0	0	0,24	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44		
	PCxTI	0	0	0	0	206	1154	2176	1645	1802	1803	1364	945	1108	909		13113
	S	1	1	1	1	1	0,90	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85		
	PCxTIxS	0	0	0	0	206	1039	1850	1398	1531	1533	1160	803	942	773		<b>11235</b>
BpSA/SmH+ Site naturel	PC	0	0	0	0	2403	2210	3671	1950	2276	1567	1890	2209	1898	2489	22562	
	TI	0	0	0	0	0,41	0,44	0,44	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48		
	PCxTI	0	0	0	0	985	972	1615	936	1093	752	907	1060	911	1195		10426
	S	1	1	1	1	1	1	0,92	0,77	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69		
	PCxTIxS	0	0	0	0	985	972	1491	720	756	521	628	734	631	827		<b>8265</b>
BpTA/SmH+ Site aménagé	PC	0	0	0	0	1045	3981	6146	4628	4593	3871	2780	3107	2979	3551	36679	
	TI	0	0	0	0	0,18	0,3	0,3	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36		
	PCxTI	0	0	0	0	188	1194	1844	1666	1653	1394	1001	1118	1073	1278		12409
	S	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,92	0,92	0,92	0,83	0,83		
	PCxTIxS	0	0	0	0	188	1194	1844	1666	1653	1278	917	1025	894	1065		<b>11724</b>

BpSP/SmH+: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine, BpTP/SmH+: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine, BpSA/SmH+: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif à *S. mansoni* population humaine, BpTA/SmH+: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population humaine.



*Sous-Chapitre 3:*  
*Impact de la catégorie du site du mollusque,*  
*naturel versus aménagé, dans l'interaction*  
**B. pfeifferi/S. mansoni population murine**



# I. Résultats : *B. pfeifferi* positif

## A. Croissance

### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi*, Siginiti versus Tibraq, positif à *S. mansoni* population murine est présenté dans la figure III-3-3-1.

Pour **BpP**, le diamètre moyen augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Le diamètre des BpSP/SmM+ est significativement plus grand que celui des BpTP/SmM+ de la 2<sup>ème</sup> semaine (U=29; N=8; N=17, respectivement  $p=0,023$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (U=6; N=8; N=7, respectivement;  $p=0,011$ ). En fin d'expérience, le diamètre moyen des mollusques est respectivement de  $8,49\pm 0,16$  mm et de  $7,92\pm 0,11$  mm.

Pour **BpA**, le diamètre moyen augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Le diamètre des BpSA/SmM+ est significativement plus petit que celui des BpTA/SmM+ de la 2<sup>ème</sup> semaine (U=16; N=14; N=7, respectivement;  $p=0,014$ ) à la fin de l'expérience (U=10; N=10; N=6, respectivement;  $p=0,030$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le diamètre moyen est respectivement de  $8,34\pm 0,15$  mm et de  $9,11\pm 0,25$  mm.

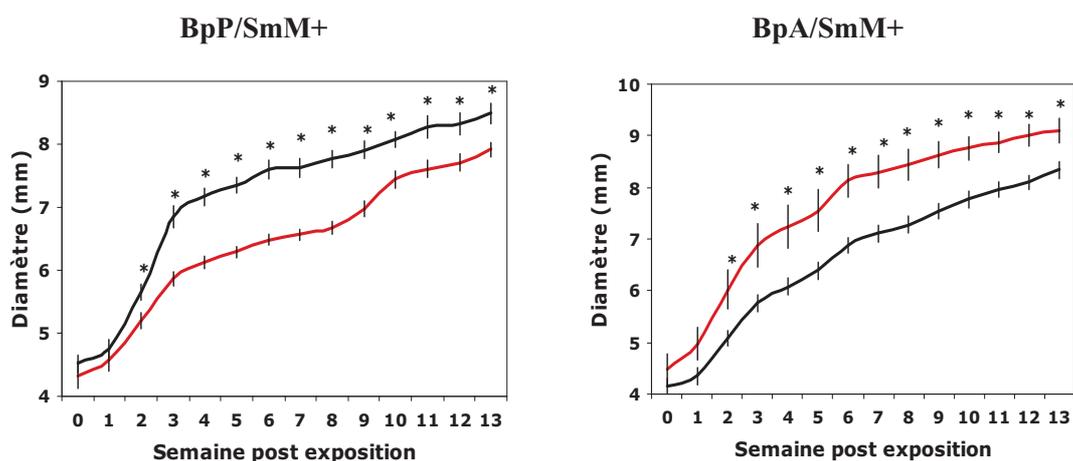


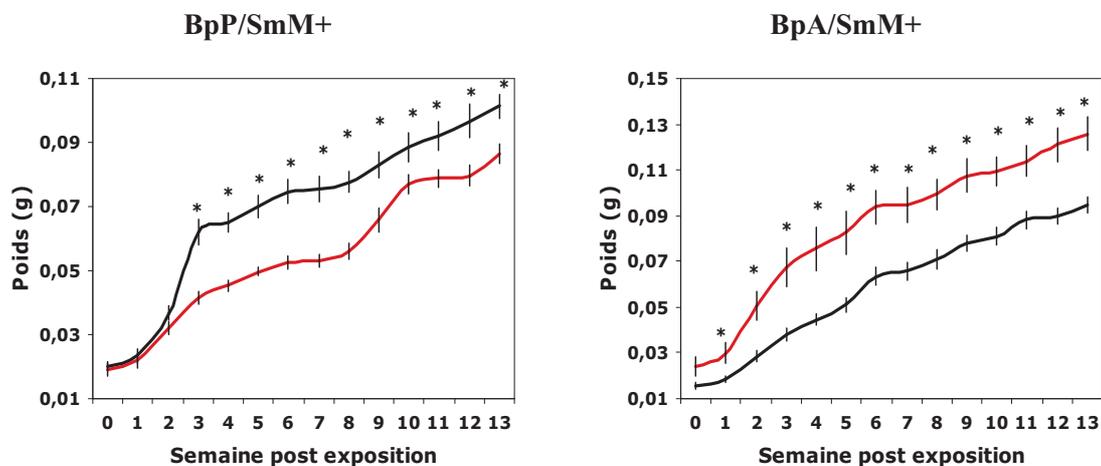
Figure III-3-3-1: Diamètre moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginiti (noir) et Tibraq (rouge). BpP/SmM+: *B. pfeifferi* Pigmenté positif à *S. mansoni* population murine; BpA/SmM+: *B. pfeifferi* Albinos positif à *S. mansoni* population murine. \*: différence significative ( $p < 0,05$ ).

## 2. Masse corporelle

La **masse corporelle hebdomadaire moyenne** de *B. pfeifferi* Siginiti versus Tibraq positif à *S. mansoni* population murine est présentée dans la figure III-3-3-2.

Pour **BpP**, la masse corporelle augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Elle est significativement plus grande chez BpSP/SmM+ que chez BpTP/SmM+ de la 3<sup>ème</sup> (U=9; N=8; N=17, respectivement;  $p=0,0006$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (U=6,5; N=8; N=7, respectivement;  $p=0,013$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, la masse des mollusques est respectivement de  $0,1014\pm 0,0037$  g et de  $0,0865\pm 0,0031$  g.

Pour **BpA**, la masse corporelle augmente rapidement durant les trois premières semaines et lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Elle est significativement plus petite chez BpSA/SmM+ que chez BpTA/SmM+ de la 1<sup>ère</sup> semaine (U=18,5; N=14; N=7, respectivement;  $p=0,023$ ) à la fin de l'expérience (U=1; N=10; N=6, respectivement;  $p=0,002$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, la masse des mollusques est respectivement de  $0,0946\pm 0,0037$  g et de  $0,1258\pm 0,0074$  g.



## 3. Relation diamètre/masse corporelle

La **relation diamètre/masse corporelle** de *B. pfeifferi* Siginiti versus Tibraq, positif à *S. mansoni* population murine est présentée dans la figure III-3-3-3.

Pour **BpP**, il existe une relation linéaire positive aussi bien pour BpSP/SmM+ ( $r^2=0,98$ ;  $p<0,0001$ ) que pour BpTP/SmM+ ( $r^2=0,98$ ;  $p<0,0001$ ). Le test de comparaison des pentes indique que les pentes ne sont pas significativement différentes ( $p>0,05$ ).

Pour **BpA**, il existe une relation linéaire positive aussi bien pour les BpSA/SmM+ ( $r^2=0,99$ ;  $p<0,0001$ ) que pour BpTA/SmM+ ( $r^2=0,99$ ;  $p<0,0001$ ). Le test de comparaison des pentes indique que les pentes ne sont pas significativement différentes ( $p>0,05$ ).

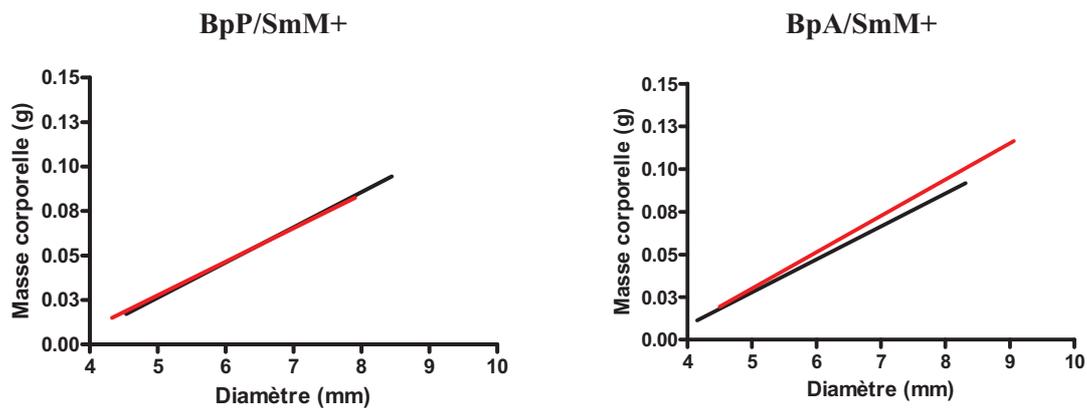


Figure III-3-3-3: Relation diamètre/masse corporelle de *B. pfeifferi* de Siginitti (noir) et de Tibraq (rouge). BpP/SmM+: *B. pfeifferi* Pigmenté positif à *S. mansoni* population murine; BpA/SmM+: *B. pfeifferi* Albinos positif à *S. mansoni* population murine.

## B. Fécondité

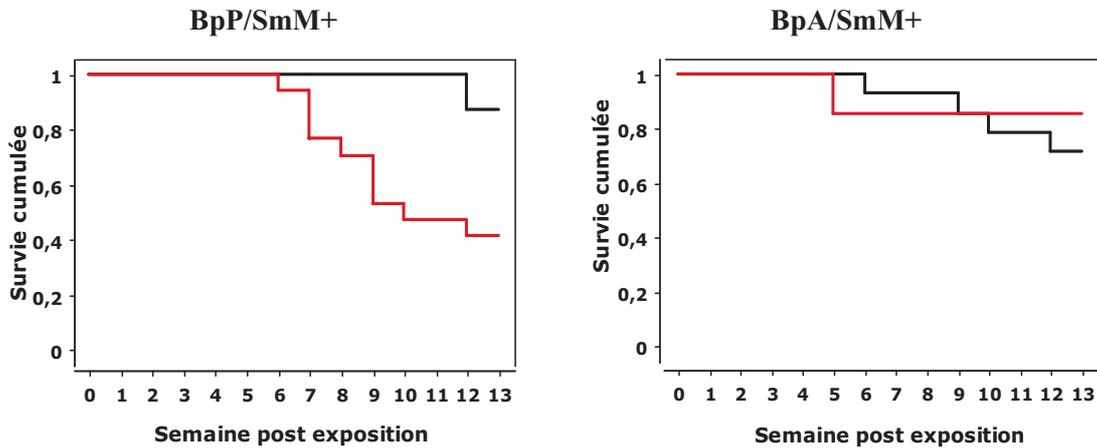
Quel que soit le morphe, pigmenté ou albinos, la fécondité des *B. pfeifferi* est quasiment nulle en présence de *S. mansoni* population murine aussi bien pour les *B. pfeifferi* de Siginitti que pour ceux de Tibraq. Pendant toute la durée de l'expérience, une seule ponte de 6 œufs a été émise à la 6<sup>ème</sup> semaine par un BpSP/SmM+. Aucune différence significative n'existe entre la fécondité (taux de mollusques pondueurs, pontes, œufs et œufs par ponte) des *B. pfeifferi* de Siginitti et ceux de Tibraq (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

## C. Survie

La figure III-3-3-4 présente les courbes de survie de *B. pfeifferi* Siginitti et Tibraq positif à *S. mansoni* population murine.

Pour **BpP**, BpSP/SmM+ ont une survie significativement meilleure que BpTP/SmM+ ( $\chi^2=4,69$ ; ddl=1;  $p=0,030$ ).

Pour **BpA**, il n'existe aucune différence significative entre la survie des BpSA/SmM+ et celle des BpTA/SmM+ (Logrank test;  $p>0,05$ ).



## II. Résultats: *B. pfeifferi* exposé-négatif

### A. Croissance

#### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi*, Siginitti versus Tibraq, exposé-négatif à *S. mansoni* population murine est présenté dans la figure III-3-3-5.

Pour **BpP**, le diamètre moyen augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmM- et BpTP/SmM- (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ). Le diamètre moyen des mollusques à la fin de l'expérience est respectivement de  $7,62\pm 0,11$  mm et de  $7,73\pm 0,29$  mm.

Pour **BpA**, le diamètre moyen augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Le diamètre moyen de BpSA/SmM- est significativement plus petit que celui des BpTA/SmM- sur les 4<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> semaines et de la 9<sup>ème</sup> à la fin de l'expérience. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le diamètre

moyen est respectivement de  $7,06 \pm 0,20$  mm et de  $8,09 \pm 0,22$  mm ( $U=5,5$ ;  $N=9$ ;  $N=7$ , respectivement;  $p=0,006$ ).

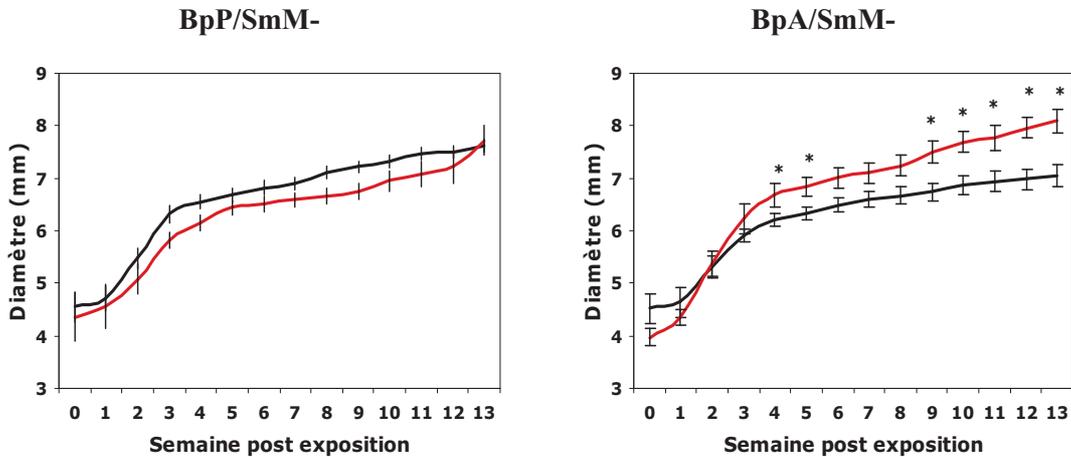


Figure III-3-3-5: Diamètre moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* de Siginitti (noir) et Tibraq (rouge). BpP/SmM-: *B. pfeifferi* Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population murine; BpA/SmM-: *B. pfeifferi* Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population murine. \*: différence significative ( $p < 0,05$ ).

## 2. Masse corporelle

La **masse corporelle hebdomadaire moyenne** de *B. pfeifferi* de Siginitti versus Tibraq exposé-négatif à *S. mansoni* population murine est présentée dans la figure III-3-3-6.

Pour **BpP**, la masse corporelle augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmM- et BpTP/SmM- (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). La masse corporelle à la fin de l'expérience est respectivement de  $0,0764 \pm 0,0042$  g et de  $0,0879 \pm 0,0160$  g.

Pour **BpA**, la masse corporelle augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. La masse corporelle de BpSA/SmM- est significativement plus petite que celle de BpTA/SmM- entre la 4<sup>ème</sup> et la 6<sup>ème</sup> semaine et de la 9<sup>ème</sup> à la fin de l'expérience. A la 13<sup>ème</sup> semaine, elle est respectivement de  $0,0946 \pm 0,0037$  g et de  $0,1258 \pm 0,0074$  g ( $U=5$ ;  $N=9$ ;  $N=7$ , respectivement;  $p=0,005$ ).

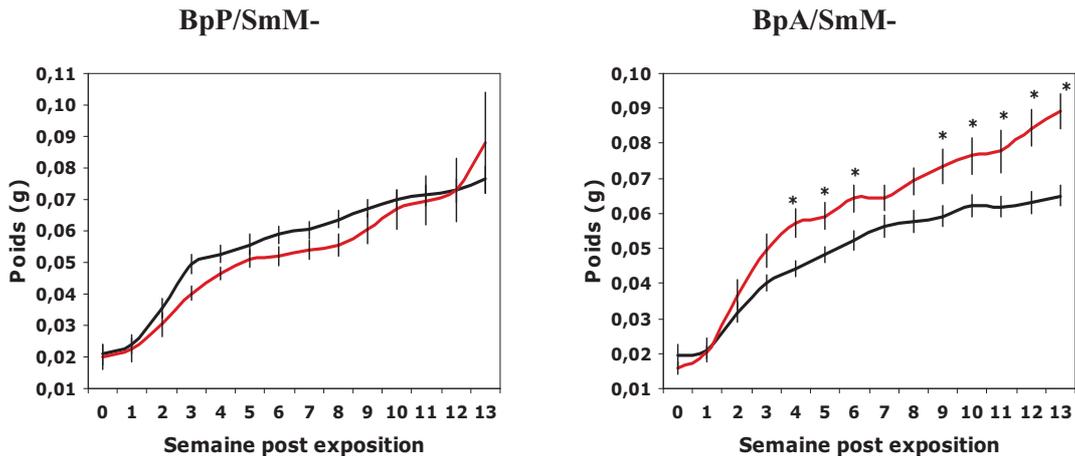


Figure III-3-3-6: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti (noir) et Tibraq (rouge). BpP/SmM-: *B. pfeifferi* Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population murine; BpA/SmM-: *B. pfeifferi* Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population murine. \*: différence significative ( $p < 0,05$ ).

### 3. Relation diamètre/masse corporelle

La relation diamètre/masse corporelle de *B. pfeifferi* Siginitti versus Tibraq, exposé-négatif à *S. mansoni* population murine est présentée dans la figure III-3-3-7.

Pour **BpP**, il existe une relation linéaire positive aussi bien pour BpSP/SmM- ( $r^2=0,99$ ;  $p < 0,0001$ ) que pour BpTP/SmM- ( $r^2=0,96$ ;  $p < 0,0001$ ). Le test de comparaison des pentes indique que les pentes ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

Pour **BpA**, il existe une relation linéaire positive aussi bien pour les BpSA/SmM- ( $r^2=0,99$ ;  $p < 0,0001$ ) que pour BpTA/SmM- ( $r^2=0,99$ ;  $p < 0,0001$ ). Le test de comparaison des pentes indique que les pentes ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

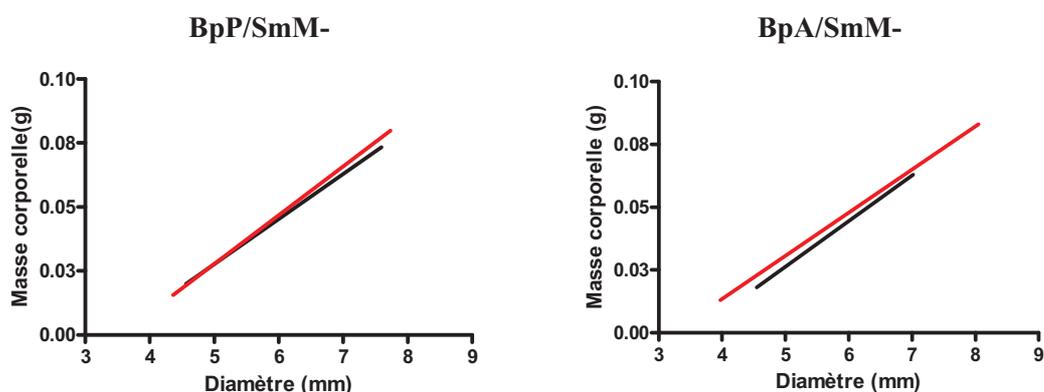


Figure III-3-3-7: Relation diamètre/masse corporelle de *B. pfeifferi* de Siginitti (noir) et de Tibraq (rouge). BpP/SmM-: *B. pfeifferi* Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population murine; BpA/SmM-: *B. pfeifferi* Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population murine.

## **B. Fécondité**

### **1. Taux de mollusques pondueurs**

Pour **BpP**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 100% (11/11) pour BpSP/SmM- et de 75,00% (6/8) pour BpTP/SmM- et la différence n'est pas significative (Fisher's exact test;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpA**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 100% (9/9) pour BpSA/SmM- et de 100% (11/11) pour BpTA/SmM-.

### **2. Nombre de pontes**

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti versus Tibraq exposé-négatif à *S. mansoni* population murine est présenté dans la figure III-3-3-8.

Pour **BpP**, l'activité de ponte commence à la 1<sup>ère</sup> semaine pour BpSP/SmM- et à la 3<sup>ème</sup> semaine pour BpTP/SmM-. Il n'existe aucune différence significative entre le nombre de pontes de BpSP/SmM- et celui de BpTP/SmM- (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes moyen cumulé est respectivement de  $16,82 \pm 3,40$  et de  $13,80 \pm 5,41$ .

Pour **BpA**, l'activité de ponte commence à la 3<sup>ème</sup> semaine pour BpSA/SmM- et à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpTA/SmM-. Le nombre de pontes de BpSA/SmM- est significativement plus petit que celui de BpTA/SmM- de la 4<sup>ème</sup> à la 7<sup>ème</sup> semaine puis à la 9<sup>ème</sup> semaine; les différences ne sont pas significatives au cours de 4 dernières semaines de l'expérience (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes moyen cumulé est respectivement de  $19,33 \pm 2,12$  et de  $24,43 \pm 4,49$ .

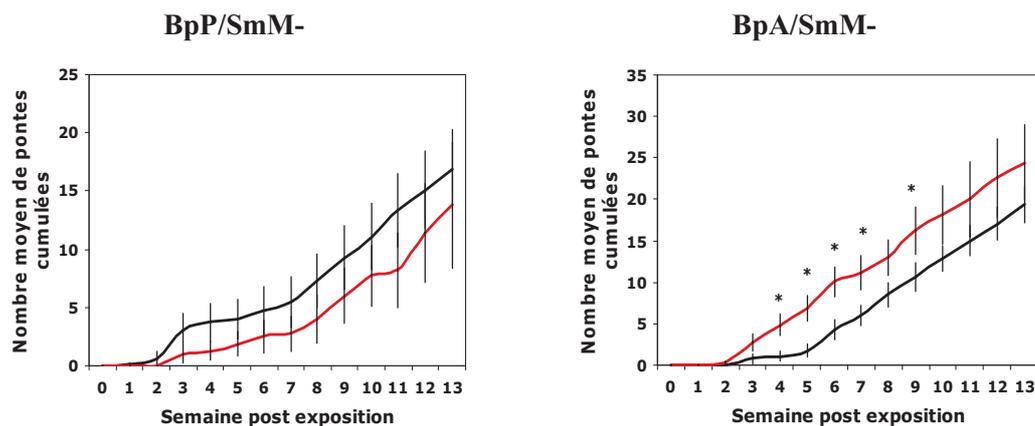


Figure III-3-3-8: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti (noir) et Tibraq (rouge). BpP/SmM-: *B. pfeifferi* Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population murine; BpA/SmM-: *B. pfeifferi* Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population murine. \*: différence significative ( $p < 0,05$ ).

### 3. Nombre d'œufs

Le **nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* Siginitti versus Tibraq exposé-négatif à *S. mansoni* population murine est présenté dans la figure III-3-3-9. Pour **BpP**, il n'existe aucune différence significative entre le nombre d'œufs de BpSP/SmM- et de BpTP/SmM- (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs cumulé est respectivement de  $97,36 \pm 14,96$  et de  $84,60 \pm 26,58$ . Pour **BpA**, BpSA/SmM- font significativement moins d'œufs que BpTA/SmM- dès la 3<sup>ème</sup> semaine. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs cumulé est respectivement de  $119,00 \pm 11,52$  et de  $206,29 \pm 30,17$  ( $U=10$ ;  $N=9$ ;  $N=7$ , respectivement;  $p=0,023$ ).

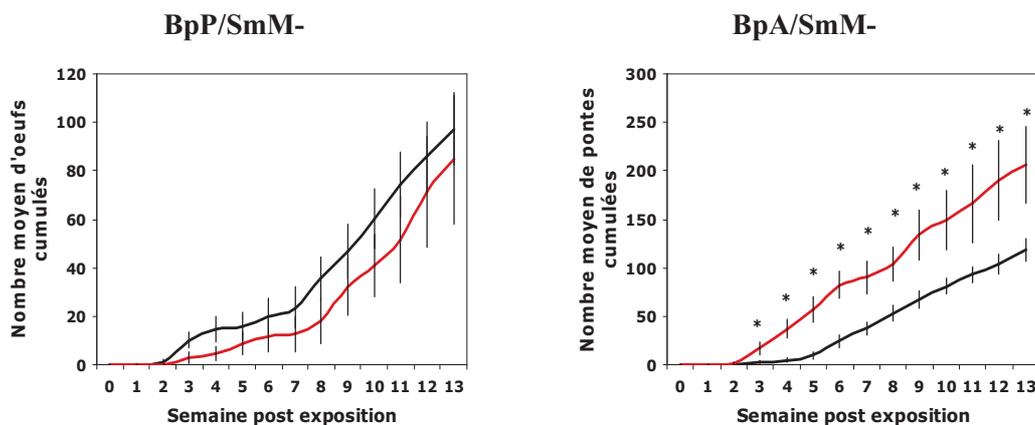


Figure III-3-2-9: Nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Siginitti (noir) et Tibraq (rouge). BpP/SmM-: *B. pfeifferi* Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population murine; BpA/SmM-: *B. pfeifferi* Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population murine. \*: différence significative ( $p < 0,05$ ).

#### 4. Nombre d'œufs par ponte

Pour **BpP**, le nombre d'œufs par ponte moyen n'est pas significativement différent entre BpSP/SmM- ( $6,34 \pm 0,75$ ) et BpTP/SmM- ( $5,66 \pm 1,33$ ) (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpA**, le nombre d'œufs par ponte moyen de BpSA/SmM- ( $6,38 \pm 0,50$ ) est significativement inférieur à celui de BpTA/SmM- ( $8,32 \pm 0,37$ ) ( $U=15$ ;  $N=9$ ;  $N=11$ , respectivement;  $p=0,009$ ).

#### C. Survie

La figure III-3-3-10 présente les courbes de survie *B. pfeifferi* Siginitti versus Tibraq exposé- négatif à *S. mansoni* population murine.

Il n'existe aucune différence significative entre la survie de BpSP/SmM- et de BpTP/SmM- ni entre celles de BpSA/SmM- et de BpTA/SmM- (Logrank test;  $p > 0,05$ ).

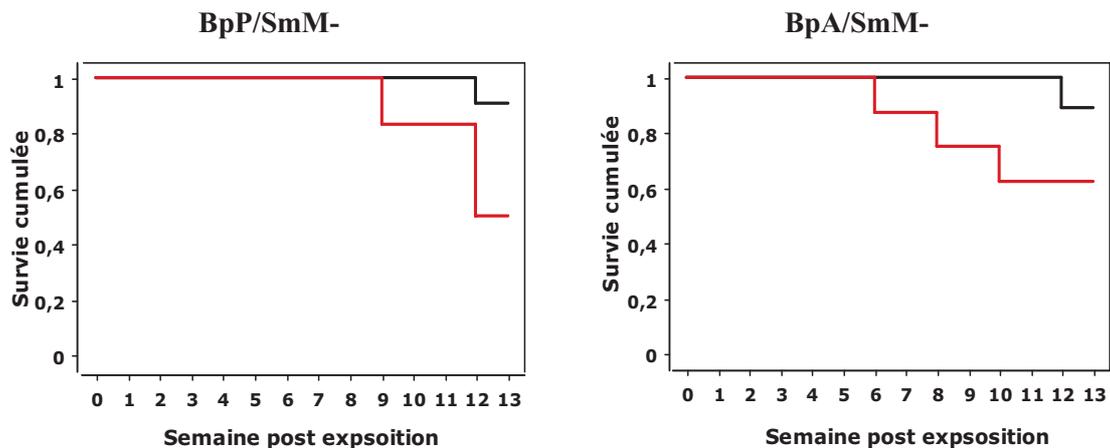


Figure III-3-3-10: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* Siginitti (noir) et Tibraq (rouge). BpP/SmM-: *B. pfeifferi* Pigmenté exposé-négatif à *S. mansoni* population murine; BpA/SmM-: *B. pfeifferi* Albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population murine.

### III. Résultats: *S. mansoni*

#### A. Taux d'infestation

Le taux d'infestation de *S. mansoni* population murine sur *B. pfeifferi* Siginitti et Tibraq est présenté dans le tableau III-3-3-1.

Pour **BpP**, le taux d'infestation de BpSP/SmM+ n'est pas significativement différent de celui de BpTP/SmM+ (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

Pour **BpA**, le taux d'infestation de BpSA/SmM+ n'est pas significativement différent de celui de BpTA/SmM+ (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

Tableau III-3-3-1: Taux d'infestation de *S. mansoni* population murine sur *B. pfeifferi* Siginitti et Tibraq.

Morphe	Population	Nombre de mollusques			Taux d'infestation (%)
		exposés	survivants	positifs	
Pigmenté	Siginitti	19	19	8	42
	Tibraq	31	25	17	68
Albinos	Siginitti	33	23	14	61
	Tibraq	27	20	7	35

E.

### B. Période prépatente

La période prépatente de *S. mansoni* population murine sur *B. pfeifferi* Siginitti versus Tibraq est présentée dans le tableau III-3-3-2.

Pour **BpP**, la période prépatente la plus courte est de 29 jours post-exposition (JPE) pour 13% des BpSP/SmM+ et de 28 JPE pour 6% des BpTP/SmM+. Elle est significativement plus longue chez BpSP/SmM+ ( $32,38\pm 0,73$ ) que chez BpTP/SmM+ ( $30,29\pm 0,35$ ) ( $U=28,5$ ;  $N=8$ ;  $N=17$ , respectivement;  $p=0,021$ ).

Pour **BpA**, la période prépatente la plus courte est de 29 JPE pour 21% des BpSA/SmM+ et de 26 JPE pour 86% des BpTA/SmM+. Elle est significativement plus longue chez BpSA/SmM+ ( $30,86\pm 0,47$ ) que chez BpTA/SmM+ ( $26,14\pm 0,15$ ) ( $U=98$ ;  $N=14$ ;  $N=7$ , respectivement;  $p=0,0003$ ).

Tableau III-3-3-2: Période prépatente de *S. mansoni* population murine sur *B. pfeifferi* Siginitti et Tibraq.

Morphe	Population	Jour post-exposition											
		23	24	25	26	27	28	29	30	32	35	45	48
Pigmenté	Siginitti	0	0	0	0	0	0	1	0	5	2	0	0
	Tibraq	0	0	0	0	0	1	5	5	6	0	0	0
Albinos	Siginitti	0	0	0	0	0	0	3	5	5	1	0	0
	Tibraq	0	0	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0

## C. Production cercarienne journalière

### 1. Dynamique

La dynamique de production cercarienne journalière moyenne de *S. mansoni* population murine sur *B. pfeifferi* Siginitti et Tibraq est présentée dans la figure III-3-3-11. Les histogrammes indiquent qu'il existe des phases de fortes et de faibles productions cercariennes.

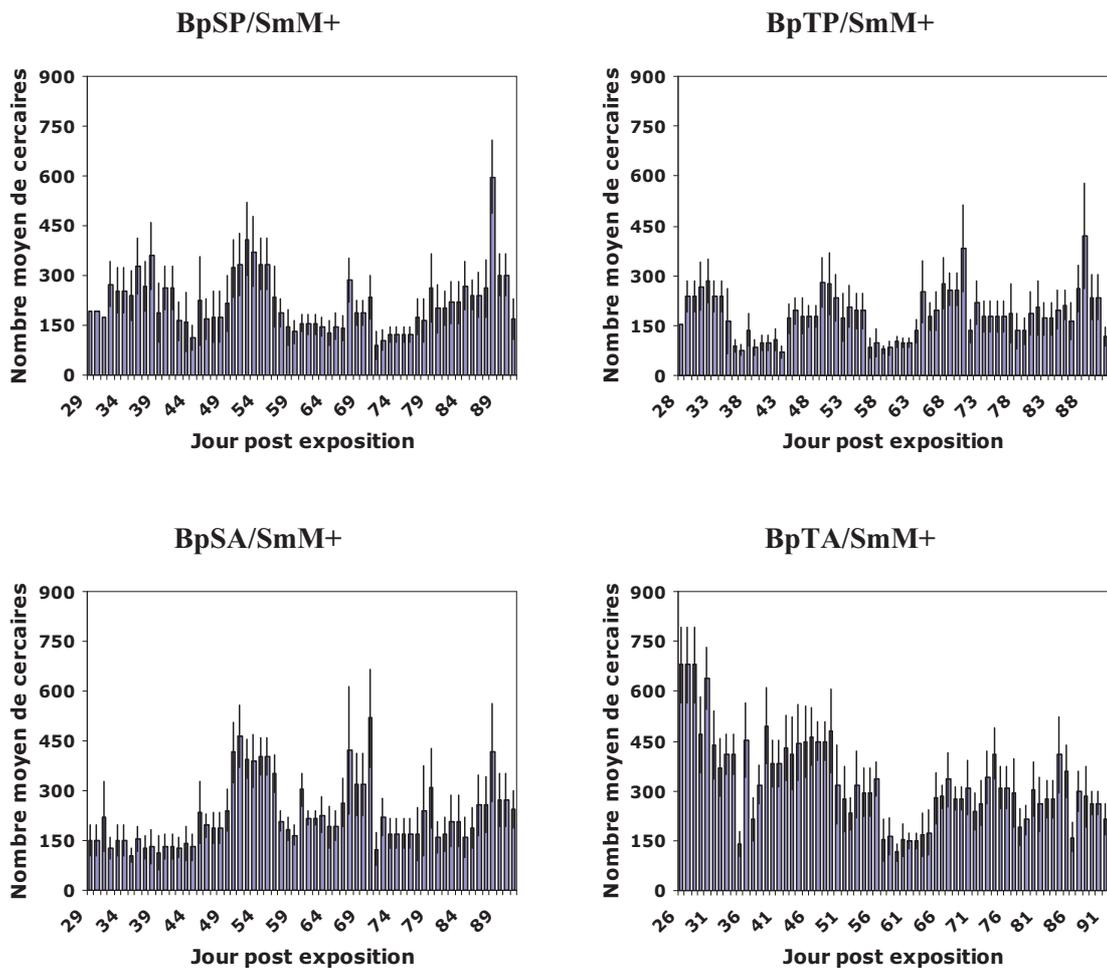


Figure III-3-3-11: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$  Ecart-Standard) de *S. mansoni* population murine sur *B. pfeifferi*. BpSP/SmM+: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif à *S. mansoni* population murine; BpTP/SmM+: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population murine; BpSA/SmM+: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif à *S. mansoni* population murine; BpTA/SmM+: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population murine.

Les autocorrélogrammes sont présentés dans la figure III-3-3-12. Pour **BpP**, la production cercarienne de BpSP/SmM+ et de BpTP/SmM+ se fait respectivement selon

une périodicité de 15 à 20 et de 20 jours entre deux phases consécutives de fortes ou de faibles productions cercariennes.

Pour **BpA**, l'autocorrélation n'indique aucun rythme de production cercarienne quelle que soit l'origine géographique de *B. pfeifferi*.

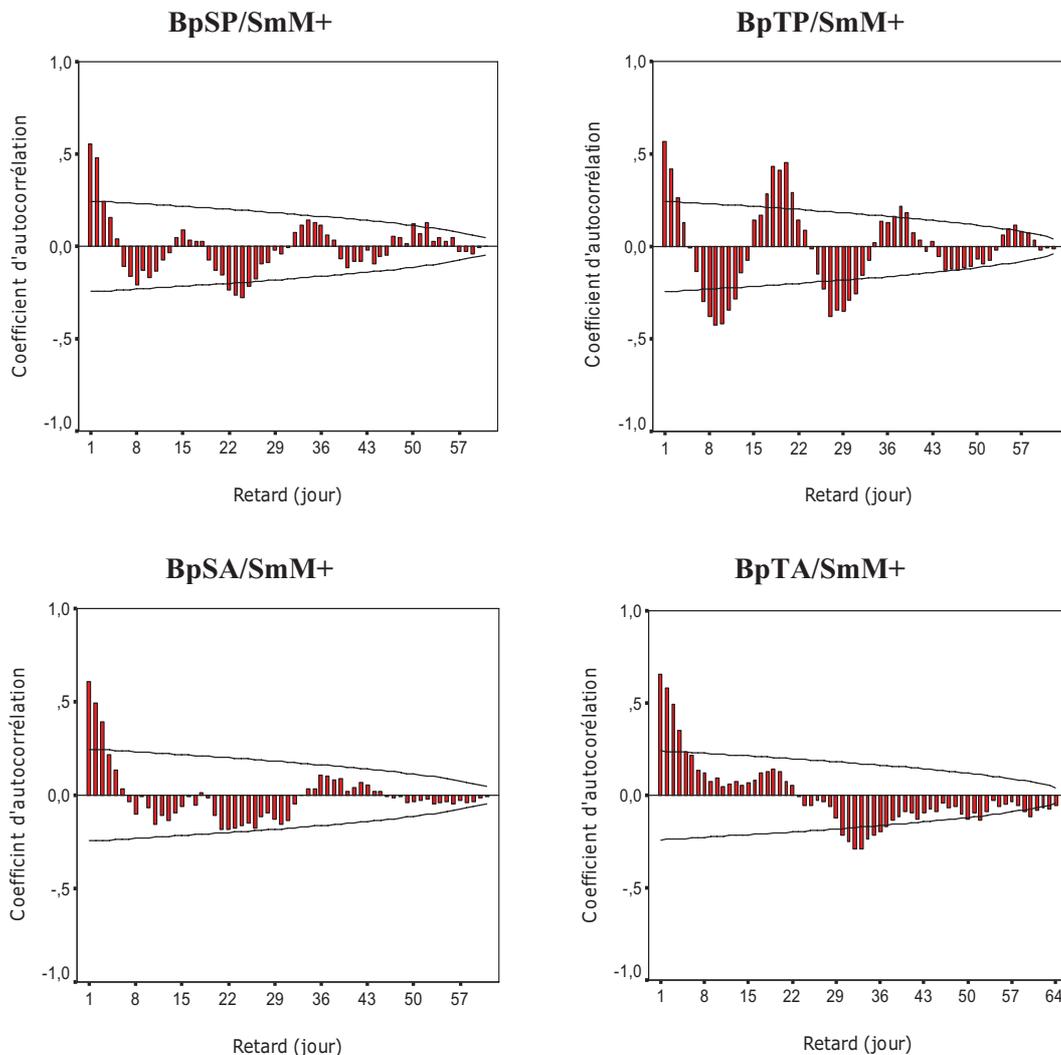


Figure III-3-2-12: Autocorrélogramme de la production cercarienne journalière moyenne de *S. mansoni* population murine sur *B. pfeifferi*. BpSP/SmM+: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif à *S. mansoni* population murine; BpTP/SmM+: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population murine; BpSA/SmM+: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif à *S. mansoni* population murine; BpTA/SmM+: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population murine.

## 2. Production

Pour **BpP**, la **production cercarienne journalière moyenne** de BpSP/SmM+ ( $220,96 \pm 35,25$ ) n'est pas significativement différente de celle de BpTP/SmM+ ( $183,11 \pm 11,29$ ) (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpA**, la **production cercarienne journalière moyenne** de BpSA/SmM+ (228,76±48,16) n'est pas significativement différente de celle de BpTA/SmM+ (329,08±32,95) (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

#### ***D. Transmission***

La prise en compte simultanée des données de taux d'infestation, de période prépatente, de production cercarienne et de survie des mollusques nous a permis d'évaluer l'impact de la catégorie du site de *B. pfeifferi*, Siginitti (naturel) versus Tibraq (aménagé), dans la **transmission** de *S. mansoni*, population murine (Tableau III-3-3-3).

Pour **BpP**, les résultats indiquent qu'un BpSP transmet par semaine autant de cercaires de SmM qu'un BpTP (562,3±88,9 contre 540,2±96,6; N=10; Mann-Whitney;  $p>0,05$ ), totalisant ainsi 5624 et 5401 cercaires par mollusque, sur 13 semaines, respectivement.

Pour **BpA**, les résultats indiquent qu'un BpSA transmet par semaine autant de cercaires de SmM qu'un BpTA (767,2±131,3 contre 676,1±64,0; N=10; Mann-Whitney;  $p>0,05$ ), totalisant ainsi 7672 et 6762 cercaires par mollusque, sur 13 semaines, respectivement.

Tableau III-3-3-3: Nombre de cercaires émises par *S. mansoni* population murine sur *B. pfeifferi* Siginitti (naturel) versus Tibraq (aménagé). Le nombre total en gras est calculé en tenant compte de la production cercarienne hebdomadaire moyenne (PC), du taux d'infestation (TI) et de la survie (S).

Couple Hôte/Parasite	Paramètre	Semaine													Total	
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		13
BpSP/SmM+ Site naturel	PC	0	0	0	0	0	1117	1828	1229	2341	1068	1303	858	1536	2109	13389
	TI	0	0	0	0	0	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
	PCxTI	0	0	0	0	0	469	768	516	983	449	547	360	645	886	5624
	S	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	PCxTIxS	0	0	0	0	0	469	768	516	983	449	547	360	645	886	<b>5624</b>
BpTP/SmM+ Site aménagé	PC	0	0	0	0	156	1670	688	1247	1361	690	1797	1250	1197	1639	11695
	TI	0	0	0	0	0,04	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68
	PCxTI	0	0	0	0	6	1136	468	848	925	469	1222	850	814	1115	7853
	S	1	1	1	1	1	1	1	0,94	0,76	0,71	0,53	0,47	0,47	0,47	0,47
	PCxTIxS	0	0	0	0	6	1136	468	798	708	331	647	400	383	525	<b>5401</b>
BpSA/SmM+ Site naturel	PC	0	0	0	0	0	1059	913	1318	2822	1519	2227	1195	1452	1906	14412
	TI	0	0	0	0	0	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61
	PCxTI	0	0	0	0	0	646	557	804	1721	926	1359	729	886	1163	8791
	S	1	1	1	1	1	1	1	0,93	0,93	0,93	0,86	0,79	0,79	0,71	0,71
	PCxTIxS	0	0	0	0	0	646	557	747	1598	860	1165	573	696	830	<b>7672</b>
BpTA/SmM+ Site aménagé	PC	0	0	0	0	2036	2880	2673	3149	2066	1050	1928	2165	1928	1844	21719
	TI	0	0	0	0	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
	PCxTI	0	0	0	0	713	1008	936	1102	723	368	675	758	675	645	7602
	S	1	1	1	1	1	1	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86
	PCxTIxS	0	0	0	0	713	1008	802	945	620	315	578	649	578	553	<b>6762</b>

BpSP/SmM+: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif à *S. mansoni* population murine, BpTP/SmM+: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population murine, BpSA/SmM+: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif à *S. mansoni* population murine, BpTA/SmM+: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population murine.

## Synthèse et discussion du chapitre 3

Nos résultats ont montré que la structure du site (naturel ou aménagé) n'a aucun impact sur les traits d'histoire de vie des mollusques pigmentés; par contre, les mollusques albinos, qu'ils soient sains, positifs ou exposés-négatifs à *S. mansoni* (populations humaine ou murine), ont des traits d'histoire de vie plus performants à Tibraq qu'à Siginitti (Tableau III-3-1). Cette différence de réaction liée à la structure du site s'explique difficilement car dans la partie II nous avons montré que les paramètres chimiques de l'eau étaient très semblables entre Siginitti et Tibraq (voir Tableau II-1-1). Pour ce qui est des traits d'histoire de vie du parasite et de façon plus large de la transmission, la structure du site n'a pas d'impact. Le fait que le site de Siginitti soit naturel et que celui de Tibraq soit aménagé, et le fait que le site de Siginitti soit constitué de mollusques dont la diversité est génétiquement supérieure à celle de Tibraq (voir Partie II, Chapitre 1) n'ont pas constitué une différence suffisante pour agir sur la transmission des parasites.

Tableau III-3-1: Bilan des résultats du chapitre 3. Impact de la catégorie du site Siginitti (naturel (N)) versus Tibraq (aménagé (A)) sur *B. pfeifferi*, sain, positif et exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine et murine.

Acteur	Trait d'histoire de vie	<i>S. mansoni</i> population humaine				<i>S. mansoni</i> population murine						
		sain		positif		exposé-négatif		positif		exposé-négatif		
		BpP	BpA	BpP	BpA	BpP	BpA	BpP	BpA	BpP	BpA	
Mollusque	Diamètre de la coquille	N=A	N<A	N=A	N<A	N=A	N<A	N>A	N<A	N=A	N<A	
	Croissance	Masse corporelle	nr	nr	nr	nr	nr	nr	N>A	N<A	N=A	N<A
		Diamètre/Masse corporelle	nr	nr	nr	nr	nr	nr	N=A	N=A	N=A	N=A
		Diamètre/Masse de la coquille	N=A	N>A	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr
	Fécondité	Taux de mollusques pondéurs	N=A	N=A	N=A	N=A	N=A	N=A	N=A=0		N=A	N=A
		Nombre de pontes	N=A	N=A	N=A	N=A	N=A	N=A	N=A=0		N=A	N=A
		Nombre d'œufs	N=A	N<A	N=A	N=A	N=A	N<A	N=A=0		N=A	N<A
	Durée d'incubation, Taux d'éclosion et Age à la maturité	N=A	N=A	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr	
Survie		N=A	N<A	N=A	N=A	N=A	N=A	N>A	N=A	N=A	N=A	
Parasite	Infektivité	Taux d'infestation		N=A	N=A			N=A	N=A			
		Période prépatente		N>A	N>A			N<A	N<A			
	Emission cercarienne	Rythme		N=oui	N=non	A=non	A=non	N=oui	N=non	A=oui	A=non	
		Production		N=A	N=A			N=A	N=A			
		Transmission		N=A	N<A			N=A	N=A			

BpP: *B. pfeifferi* Pigmenté; BpA: *B. pfeifferi* Albinos; nr: indique que l'expérience n'a pas été réalisée; N=A indique que les traits d'histoire de vie ne sont pas significativement différents entre les deux populations; N>A indique que ces traits sont plus performants chez N; N<A indique que ces traits sont plus performants chez A. La transmission du parasite est par exemple meilleure plus le taux d'infestation de l'hôte ou la production cercarienne sont grands et plus la période prépatente du parasite chez son hôte est courte.

**CHAPITRE 4:**

***Impact du morphe de B. pfeifferi,***

***pigmenté versus albinos,***

***dans l'interaction hôte-parasite***



## Introduction

L'albinisme est une maladie génétique à transmission autosomique récessive causée par un dysfonctionnement de la synthèse de la mélanine, pigment responsable de la coloration des téguments. C'est un défaut de la pigmentation qui peut atteindre les yeux, la peau, les cheveux, les phanères ou l'ensemble de ces organes. L'albinisme peut être partiel (oculaire par exemple) ou total lorsqu'il se manifeste sur l'ensemble des téguments.

L'albinisme est lié à des mutations de gènes impliqués dans la mélanogénèse au niveau des mélanocytes. Chez l'Homme, le mélanocyte est une cellule située dans la couche profonde de l'épiderme, dans les follicules pileux, l'iris et l'épithélium rétinien. Sa synthèse fait intervenir un certain nombre d'enzymes dont la plus importante est la tyrosinase. Il existe quatre types d'albinisme total (ou oculocutané) chez l'Homme, OCA1, OCA2, OCA3 et OCA4 (Passeron *et al.* 2005). Le type 1 (OCA1), un des deux plus fréquents avec l'OCA2, affecte le gène de la tyrosinase et confère le véritable phénotype albinos (Passeron *et al.* 2005).

Chez les organismes non aquatiques, la mélanine a pour rôle principal la protection contre les radiations solaires et en particulier contre les UV. Chez les animaux aquatiques, les chromatophores contribuent au camouflage ou signalent, par leurs transformations, l'émotion, le stress ou un changement dans l'environnement (température). C'est le cas des céphalopodes comme la seiche.

Généralement, les individus atteints d'albinisme ont une moindre valeur sélective. Chez les mammifères et particulièrement chez l'Homme, les albinos ont une grande sensibilité aux UV ce qui se caractérise par des cancers au niveau de la peau, des problèmes de vision comme la photophobie, une baisse de l'acuité visuelle ou des problèmes de perception cohérente des mouvements (Scheinfeld 2003; Hong *et al.*, 2006; Hupfeld & Hoffmann 2006). Dans certaines sociétés, leur nombre peut atteindre 0,1% comme au Zimbabwe et peuvent faire l'objet de discrimination (Hong *et al.* 2006). Chez le mollusque d'eau douce, *Biomphalaria glabrata*, on sait que la sensibilité aux UV est accrue chez les individus albinos (Ruelas *et al.* 2006).

Toutefois, dans de rares cas, l'albinisme n'est pas associé à une diminution de la valeur sélective. Par exemple, chez la rainette *Pseudacris triseriata*, les individus

albinos ne montrent aucune déficience dans leurs traits d'histoire de vie (survie, taux de développement et croissance des embryons) (Corn 1986).

Le présent chapitre est composé de trois sous-chapitres:

- ✓ Le **sous-chapitre 1** traite de l'impact du morphe de *B. pfeifferi*, pigmenté versus albinos, sur les traits d'histoire de vie des mollusques sains.
- ✓ Le **sous-chapitre 2** traite de l'impact du morphe de *B. pfeifferi*, pigmenté versus albinos, dans l'interaction *B. pfeifferi*/*S. mansoni* population humaine.
- ✓ Le **sous-chapitre 3** traite de l'impact du morphe de *B. pfeifferi*, pigmenté versus albinos, dans l'interaction *B. pfeifferi*/*S. mansoni* population murine.

*Sous-Chapitre 1:*  
*Impact du morphe de B. pfeifferi, pigmenté versus albinos,*  
*sur les traits d'histoire de vie*  
*des mollusques sains*



# I. Résultats

## A. Croissance

### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* sain, pigmenté versus albinos, est présenté dans la figure III-4-1-1.

Pour **BpSPs** et **BpSAs**, le diamètre des mollusques augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il n'y a aucune différence significative entre les deux morphes quelle que soit la semaine considérée (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ). Le diamètre des mollusques à la fin de l'expérience est respectivement de  $7,98\pm 0,14$  mm et de  $7,49\pm 0,18$  mm.

Pour **BpTPs** et **BpTAs**, le diamètre des mollusques augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il existe des différences significatives uniquement aux semaines 1 ( $U=116$ ;  $N=20$ ;  $N=20$ , respectivement;  $p=0,023$ ), 2 ( $U=60$ ;  $N=19$ ;  $N=20$ , respectivement;  $p=0,0003$ ), 3 ( $U=82,5$ ;  $N=14$ ;  $N=20$ , respectivement;  $p=0,044$ ) et 6 ( $U=65,5$ ;  $N=12$ ;  $N=19$ , respectivement;  $p=0,049$ ) où BpTPs sont significativement plus petits que BpTAs. Le diamètre des mollusques à la fin de l'expérience est respectivement de  $8,45\pm 0,16$  mm et de  $8,57\pm 0,04$  mm.

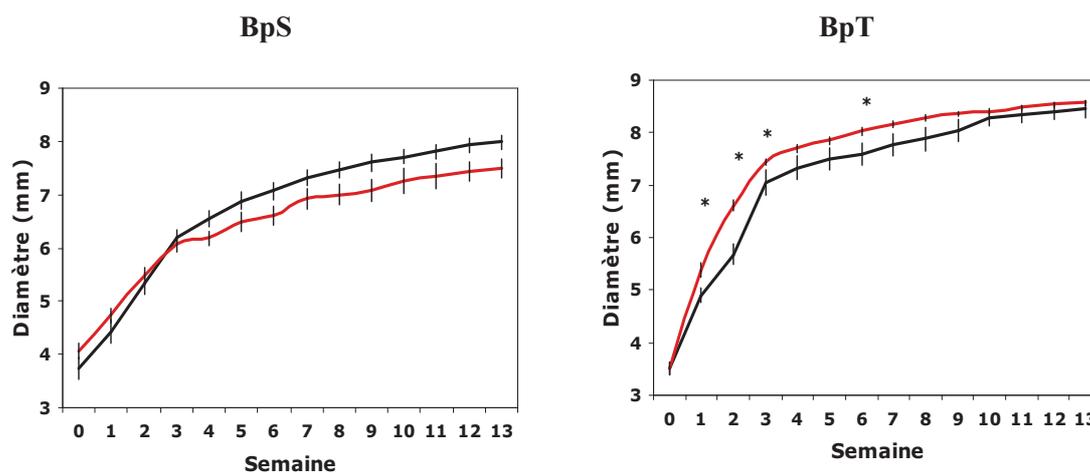


Figure III-4-1-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* sain Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS: *B. pfeifferi* Siginitti, BpT: *B. pfeifferi* Tibraq. \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p<0,05$ ).

## 2. Masse corporelle

La **masse corporelle hebdomadaire moyenne** de *B. pfeifferi* sain n'a été suivie que pour la population de Tibraq (BpTPs et BpTAs) (Figure III-4-1-2). Elle augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il existe des différences significatives de la semaine zéro (U=117,5; N=20; N=20, respectivement;  $p=0,026$ ) à la semaine 2 (U=65,5; N=19; N=20, respectivement;  $p=0,0005$ ) et de la semaine 4 (U=71,5; N=13; N=20;  $p=0,031$ ) à la semaine 6 (U=64; N=12; N=19, respectivement;  $p=0,043$ ) où BpTPs sont plus légers que BpTAs. A la 13<sup>ème</sup> semaine, la masse corporelle est respectivement de  $0,104\pm 0,005$  g et de  $0,104\pm 0,002$  g.

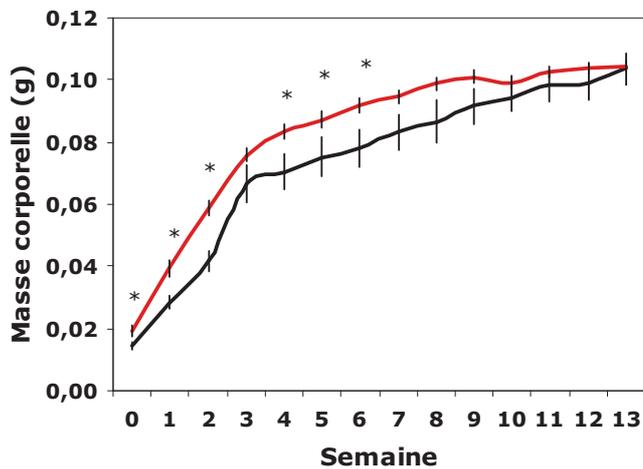


Figure III-4-1-2: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* sain Tibraq Pigmenté BpTPs (noir) et Albinos BpTAs (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p<0,05$ ).

## 3. Relation diamètre/masse corporelle

Il existe une relation linéaire positive entre le diamètre et la masse corporelle pour BpTPs et BpTAs. Le test de comparaison des pentes indique que les pentes ne sont pas significativement différentes entre BpTPs et BpTAs ( $p>0,05$ ).

## 4. Relation diamètre/masse de la coquille

La relation diamètre/masse de la coquille de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos est présentée dans la figure III-4-1-3.

Pour **BpS**, il existe une relation linéaire positive entre le diamètre et la masse aussi bien pour BpSPs ( $r^2=0,735$ ;  $p<0,0001$ ) que pour BpSAs ( $r^2=0,762$ ;  $p<0,0001$ ). Le test de comparaison des pentes indique que les pentes ne sont pas significativement différentes entre elles ( $p>0,05$ ).

Pour **BpT**, il existe une relation linéaire positive entre le diamètre et la masse aussi bien pour BpTPs ( $r^2=0,808$ ;  $p<0,0001$ ) que pour BpTAs ( $r^2=0,950$ ;  $p<0,0001$ ). Le test de comparaison des pentes indique que les pentes ne sont pas significativement différentes entre elles ( $p>0,05$ ).

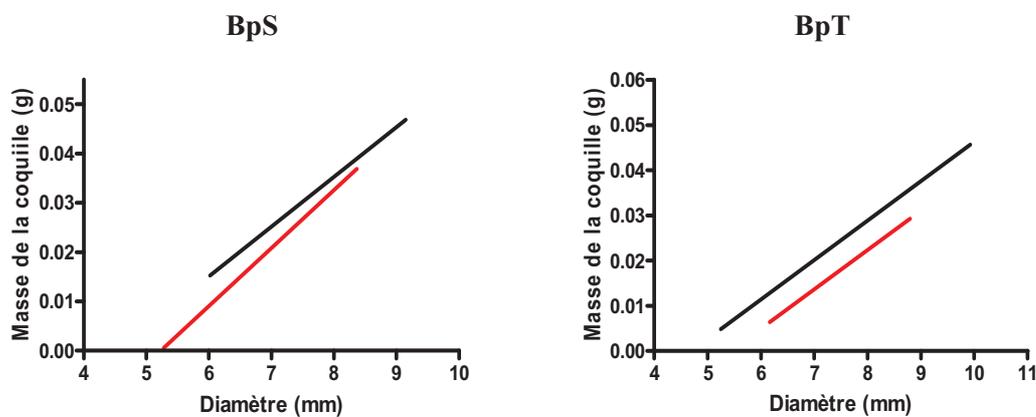


Figure III-4-1-3: Relation diamètre/masse de la coquille de *B. pfeifferi* sain Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS: *B. pfeifferi* Siginitti, BpT: *B. pfeifferi* Tibraq.

## B. Fécondité

### 1. Taux de mollusques pondus

Pour **BpS**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 90,91% (10/11) pour BpSPs et de 91,67% (11/12) pour BpSAs et la différence n'est pas significative (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

Pour **BpT**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 92,86% (13/14) pour BpTPs et de 100% (20/20) pour BpTAs et la différence n'est pas significative (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

## 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* sain pigmenté et albinos est présenté dans la figure III-4-1-4.

Pour **BpS**, l'activité de ponte commence à la 3<sup>ème</sup> semaine pour BpSPs et à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpSAs. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes est respectivement de  $18,11 \pm 3,24$  et de  $18,86 \pm 2,02$  et la différence n'est pas significative (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpT**, l'activité de ponte commence à la 3<sup>ème</sup> semaine pour les deux morphes. A partir de la 8<sup>ème</sup> semaine, les BpTPs font significativement moins de pontes que les BpTAs. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes est respectivement de  $15,5 \pm 1,12$  et de  $18,83 \pm 1,19$  (U=44; N=10; N=18, respectivement;  $p = 0,027$ ).

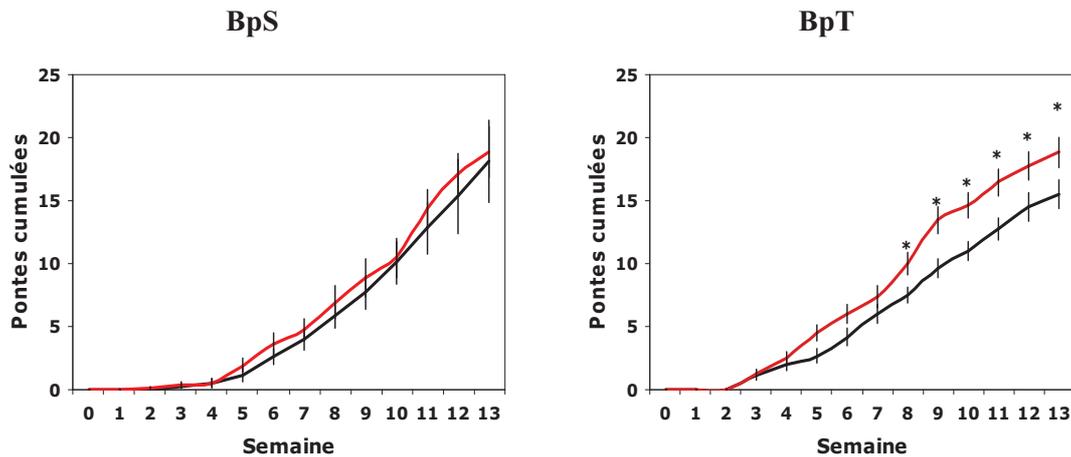


Figure III-4-1-4: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* sain Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS: *B. pfeifferi* Siginitti, BpT: *B. pfeifferi* Tibraq. \*: différence significative ( $p < 0,05$ ).

## 3. Nombre d'œufs

Le **nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* sain pigmenté et albinos est présenté dans la figure III-4-1-5.

Pour **BpS**, les premiers œufs sont pondus à la 3<sup>ème</sup> semaine pour BpSPs et à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpSAs. Le nombre d'œufs reste le même pendant toute la durée de l'expérimentation et aucune différence significative n'a été observée (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs est respectivement de  $145,00 \pm 23,24$  et de  $139,57 \pm 18,61$ .

Pour **BpT**, les premiers œufs sont pondus à la 3<sup>ème</sup> semaine pour les deux morphes. Le nombre d'œufs commence à se différencier entre les deux morphes à la 4<sup>ème</sup> semaine mais la différence ne devient significative entre qu'à partir de la 8<sup>ème</sup> semaine où BpTPs produisent moins d'œufs que BpTAs. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs est respectivement de  $159,8 \pm 10,43$  et de  $197,67 \pm 13,82$ , ( $U=48$ ;  $N=10$ ;  $N=18$ , respectivement;  $p=0,044$ ).

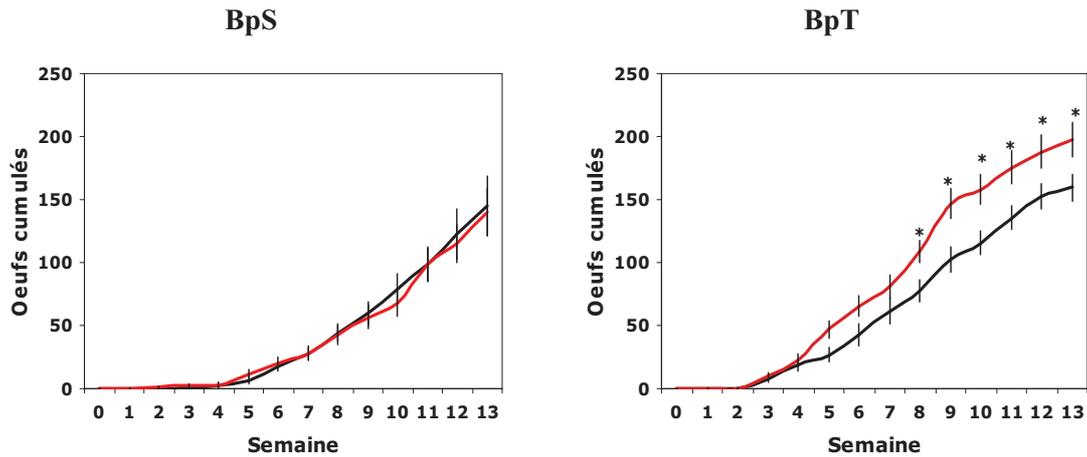


Figure III-4-1-5: Nombre d'œufs cumulés hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* sain Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS: *B. pfeifferi* Siginitti, BpT: *B. pfeifferi* Tibraq. \*: différence significative ( $p < 0,05$ ).

#### 4. Nombre d'œufs par ponte

Pour **BpS**, le nombre d'œufs par ponte moyen est significativement supérieur chez BpSPs ( $8,06 \pm 0,43$ ) par rapport à BpSAs ( $6,11 \pm 0,77$ ) ( $U=23$ ;  $N=10$ ;  $N=11$ , respectivement;  $p=0,024$ ). Pour **BpT**, le nombre d'œufs par ponte moyen n'est pas significativement différent (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ) entre BpTPs ( $9,1 \pm 0,70$ ) et BpTAs ( $10,52 \pm 0,34$ ).

#### 5. Durée d'incubation, taux d'éclosion et âge à la maturité

Pour **BpS**, la durée d'incubation moyenne sur l'ensemble des trois répliquas est de  $8,46 \pm 0,43$  jours et de  $8,67 \pm 0,13$  jours respectivement chez BpSPs et chez BpSAs. Les taux d'éclosion moyens sont respectivement de  $92,30\% \pm 0,80$  et de  $90,10\% \pm 2,90$ . Il n'existe aucune différence significative ni sur la durée d'incubation ni sur les taux

d'éclosion entre BpSPs et BpSAs (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ). De plus, l'âge à la maturité est atteint au bout de 6 semaines pour les deux morphes.

Pour **BpT**, la durée d'incubation moyenne sur l'ensemble des trois répliquas est de  $8,00\pm 0,32$  jours et de  $8,32\pm 0,01$  jours respectivement chez BpTPs et chez BpTAs. Les taux d'éclosion moyens sont de  $94,00\%\pm 5,66$  et de  $97,33\%\pm 0,94$ , respectivement. Il n'existe aucune différence significative ni sur la durée d'incubation ni sur les taux d'éclosion entre BpTPs et BpTAs (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ). De plus, l'âge à la maturité est atteint au bout de 4 semaines pour les deux morphes.

### C. *Survie*

La figure III-4-1-6 présente les courbes de survie de *B. pfeifferi* sain pigmenté et albinos. Pour **BpS**, il n'existe aucune différence significative entre BpSPs et BpSAs (Logrank test;  $p>0,05$ ). Pour **BpT**, la survie des BpTPs est significativement inférieure à celle des BpTAs ( $\chi^2=8,094$ ; ddl=1;  $p=0,004$ ).

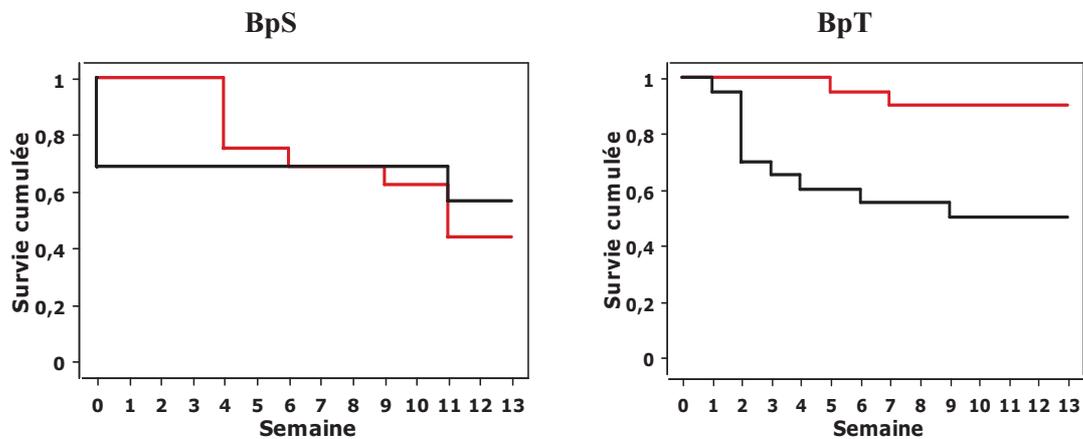


Figure III-4-1-6: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* sain pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS: *B. pfeifferi* Siginitti, BpT: *B. pfeifferi* Tibraq.

*Sous-Chapitre 2:*  
*Impact du morphe de B. pfeifferi, pigmenté versus albinos,*  
*dans l'interaction B. pfeifferi/S. mansoni*  
*origine humaine*



# I. Résultats: *B. pfeifferi* positif

## A. Croissance

### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos positif à *S. mansoni* population humaine est présenté dans la figure III-4-2-1.

Pour **BpS**, le diamètre des mollusques augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il n'y a aucune différence significative entre BpSP/SmH+ et BpSA/SmH+ quelle que soit la semaine considérée (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). Le diamètre des mollusques à la fin de l'expérience est respectivement de  $8,48 \pm 0,12$  mm et de  $8,13 \pm 0,14$  mm.

Pour **BpT**, le diamètre des mollusques augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Le diamètre des BpTP/SmH+ est significativement inférieur à celui des BpTA/SmH+ de la 3<sup>ème</sup> (U=41; N=20, N=12, respectivement;  $p=0,0021$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (U=17; N=17, N=10, respectivement;  $p=0,0006$ ). Le diamètre à la fin de l'expérience est respectivement de  $8,52 \pm 0,12$  mm et de  $9,42 \pm 0,18$  mm.

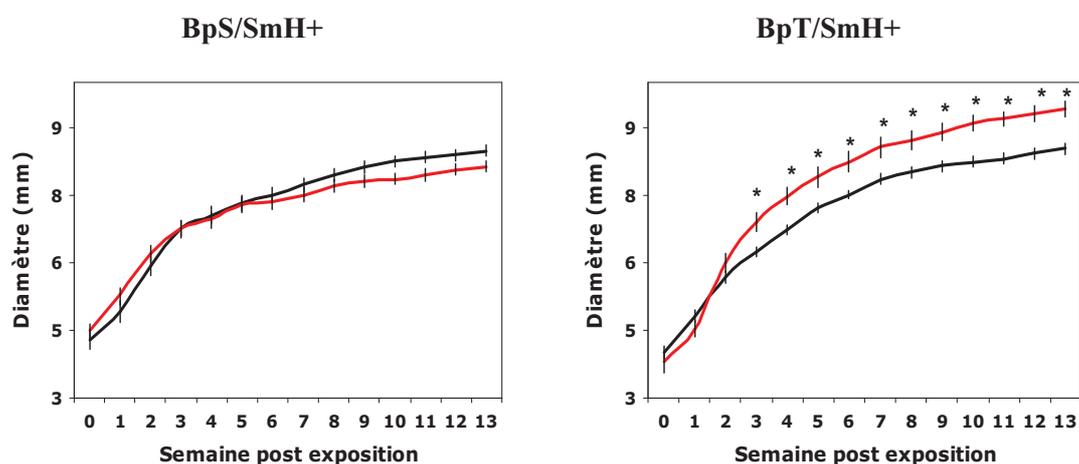


Figure III-4-2-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS/SmH+: *B. pfeifferi* Siginitti positif à *S. mansoni* population humaine, BpT/SmH+: *B. pfeifferi* Tibraq positif à *S. mansoni* population humaine. \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

## 2. Masse corporelle

La **masse corporelle hebdomadaire moyenne** de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos, positif à *S. mansoni* population humaine, n'a été suivie que pour **BpT** (Figure III-4-2-2). Elle est significativement inférieure chez BpTP/SmH+ par rapport à BpTA/SmH+ de la 3<sup>ème</sup> à la 13<sup>ème</sup> semaine. La masse corporelle à la fin de l'expérience est respectivement de  $0,1042 \pm 0,0042$  g et de  $0,1365 \pm 0,0073$  g (U=20; N=17, N=10, respectivement;  $p=0,001$ ).

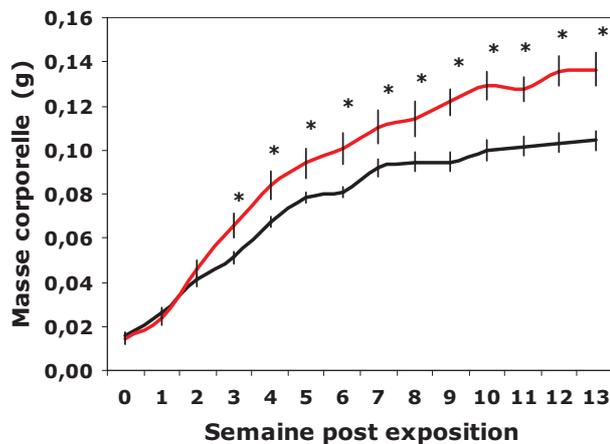


Figure III-4-2-2: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq positif à *S. mansoni* population humaine, Pigmenté (BpTP/SmH+) (noir) et Albinos (BpTA/SmH+) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

## 3. Relation diamètre/masse corporelle

Il existe une relation linéaire positive entre le diamètre et la masse corporelle pour BpTP/SmH+ et BpTA/SmH+. Le test de comparaison des pentes indique que les pentes ne sont pas significativement différentes entre BpTP/SmH+ et BpTA/SmH+ ( $p > 0,05$ ).

### B. Fécondité

#### 1. Taux de mollusques pondus

Pour **BpS**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 27,78% (5/18) pour BpSP/SmH+ et de 23,08% (3/13) pour BpSA/SmH+ et la différence n'est pas significative (Fisher's exact test;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpT**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 50,00% (10/20) pour BpTP/SmH+ et de 41,67% (5/12) pour BpTA/SmH+ et la différence n'est pas significative (Fisher's exact test;  $p > 0,05$ ).

## 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos positif à *S. mansoni* population humaine est présenté dans la figure III-4-2-3.

Pour **BpS**, les premières pontes sont émises à la 1<sup>ère</sup> semaine pour BpSP/SmH+ et à la 2<sup>ème</sup> pour BpSA/SmH+. Il n'existe aucune différence significative entre les deux morphes (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes est respectivement de  $1,31\pm 1,02$  et de  $1,67\pm 1,29$ .

Pour **BpT**, les premières pontes sont émises à la 3<sup>ème</sup> semaine pour BpTP/SmH+ et à la 4<sup>ème</sup> pour BpTA/SmH+. Il n'existe aucune différence significative entre les deux morphes (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes est respectivement de  $2,41\pm 0,91$  et de  $4,70\pm 2,97$ .

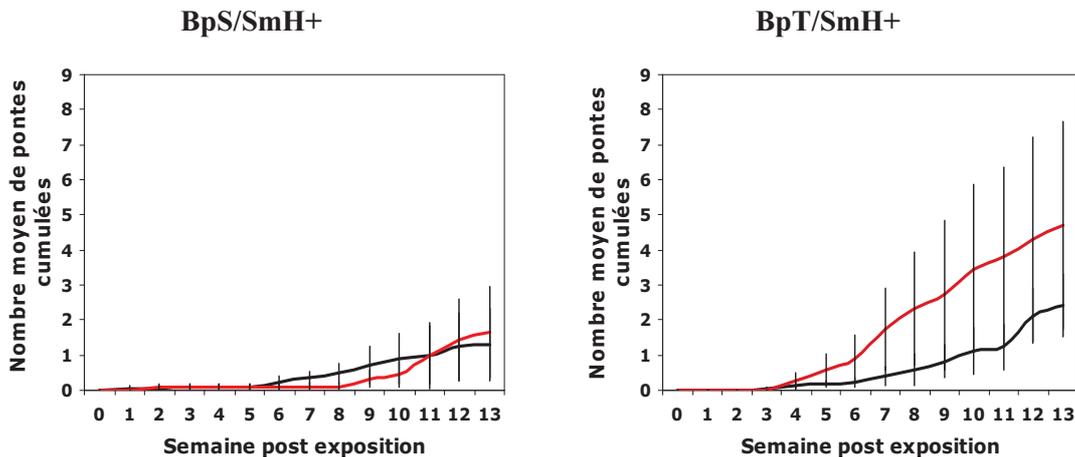


Figure III-4-2-3: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS/SmH+: *B. pfeifferi* Siginitti positif à *S. mansoni* population humaine, BpT/SmH+: *B. pfeifferi* Tibraq positif à *S. mansoni* population humaine.

## 3. Nombre d'œufs

Le **nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos positif à *S. mansoni* population humaine est présenté dans la figure III-4-2-4.

Pour **BpS**, les premiers œufs sont émis à la 1<sup>ère</sup> semaine pour BpSP/SmH+ et à la 2<sup>ème</sup> pour BpSA/SmH+. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs est de  $7,44\pm 5,67$  pour BpSP/SmH+ et de  $8,88\pm 7,46$  pour BpSA/SmH+ et la différence n'est pas significative (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

Pour **BpT**, les premiers œufs sont émis à la 3<sup>ème</sup> semaine pour BpTP/SmH+ et à la 4<sup>ème</sup> semaine pour BpTA/SmH+. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs est de 9,88±4,07 pour BpTP/SmH+ et de 35,90±22,88 pour BpTA/SmH+ et la différence n'est pas significative (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

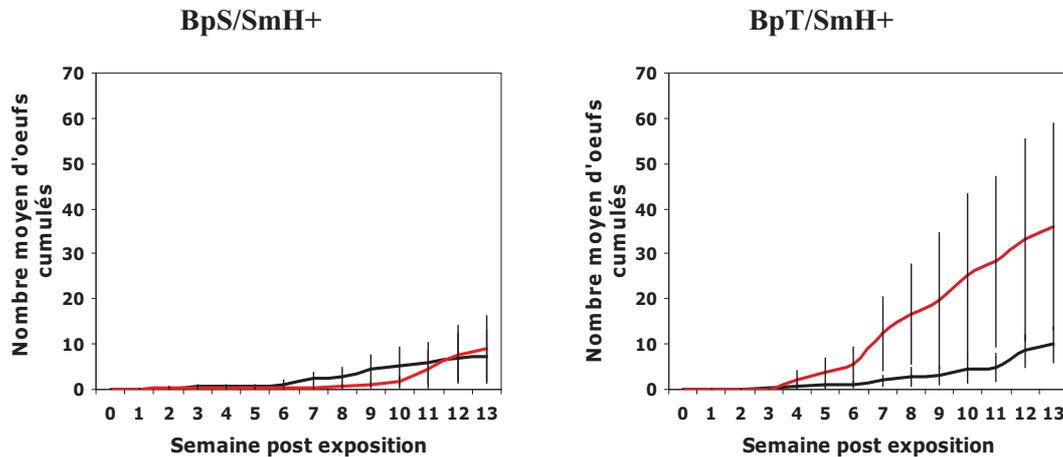


Figure III-4-2-4: Nombre d'œufs cumulés hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS/SmH+: *B. pfeifferi* Signitti positif à *S. mansoni* population humaine, BpT/SmH+: *B. pfeifferi* Tibraq positif à *S. mansoni* population humaine.

#### 4. Nombre d'œufs par ponte

Pour **BpS**, le nombre d'œufs par ponte moyen n'est pas significativement différent (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ) entre BpSP/SmH+ (6,4±2,06) et BpSA/SmH+ (4,39±0,86).

Pour **BpT**, le nombre d'œufs par ponte moyen des BpTP/SmH+ (4,4±0,49) est significativement inférieur à celui des BpTA/SmH+ (6,84±0,92) ( $U=4,50$ ;  $N=10$ ;  $N=5$ , respectivement;  $p=0,012$ ).

#### C. Survie

La figure III-4-2-5 présente les courbes de survie de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos positif à *S. mansoni* population humaine. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmH+ et BpSA/SmH+ ni entre BpTP/SmH+ et BpTA/SmH+ (Logrank test;  $p>0,05$ ).

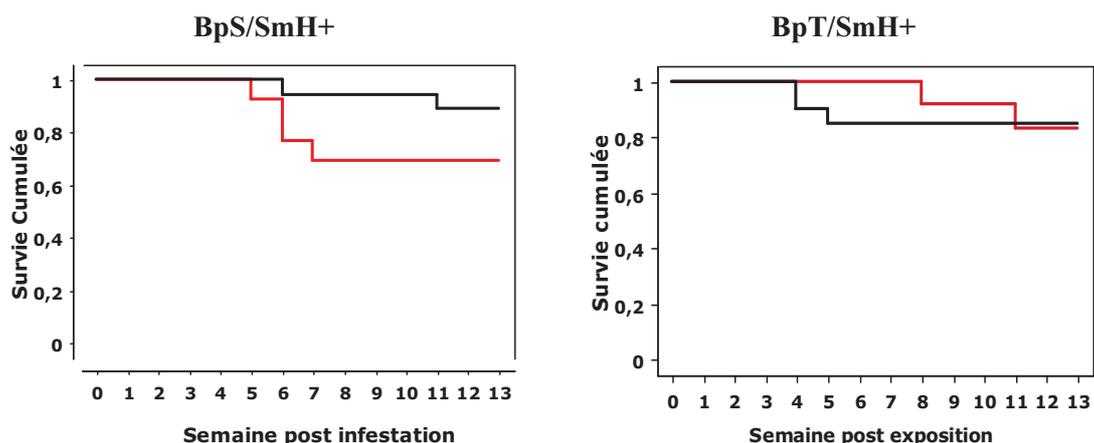


Figure III-4-2-5: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS/SmH+: *B. pfeifferi* Siginitti positif à *S. mansoni* population humaine, BpT/SmH+: *B. pfeifferi* Tibraq positif à *S. mansoni* population humaine.

## II. Résultats: *B. pfeifferi* exposé-négatif

### A. Croissance

#### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine est présenté dans la figure III-4-2-6.

Pour **BpS**, le diamètre des mollusques augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Il n'y a aucune différence significative entre BpSP/SmH- et BpSA/SmH- quelle que soit la semaine considérée (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ). A la fin de l'expérience, le diamètre est respectivement de  $7,93 \pm 0,15$  mm et de  $7,63 \pm 0,19$  mm.

Pour **BpT**, le diamètre des mollusques augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Le diamètre des BpTP/SmH- est significativement inférieur à celui des BpTA/SmH- de la 3<sup>ème</sup> (U=81,5; N=25, N=21, respectivement;  $p < 0,0001$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (U=30; N=19, N=17, respectivement;  $p < 0,0001$ ). A la fin de l'expérience, le diamètre est respectivement de  $7,72 \pm 0,07$  mm et de  $8,41 \pm 0,10$  mm.

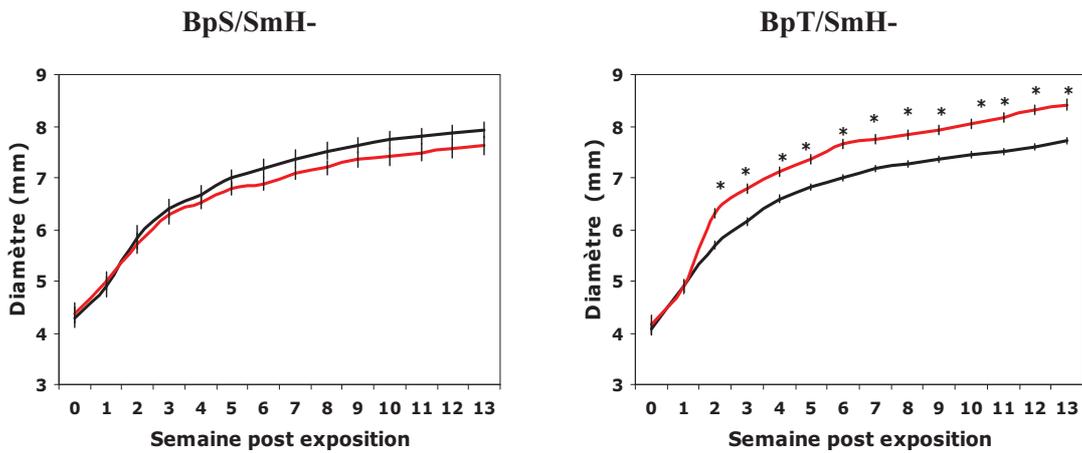


Figure III-4-2-6: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS/SmH-: *B. pfeifferi* Siginitti exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine, BpT/SmH-: *B. pfeifferi* Tibraq exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine. \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

## 2. Masse corporelle

La **masse corporelle hebdomadaire moyenne** de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine n'a été suivie que pour **BpT** (Figure III-4-2-7). La masse corporelle des BpTP/SmH- est significativement inférieure à celle des BpTA/SmH- de la 2<sup>ème</sup> à la 13<sup>ème</sup> semaine. A la fin de l'expérience, elle est respectivement de  $0,0811 \pm 0,0022$  g et de  $0,1006 \pm 0,0037$  g ( $U=46$ ;  $N=19$ ,  $N=17$ , respectivement;  $p=0,0003$ ).

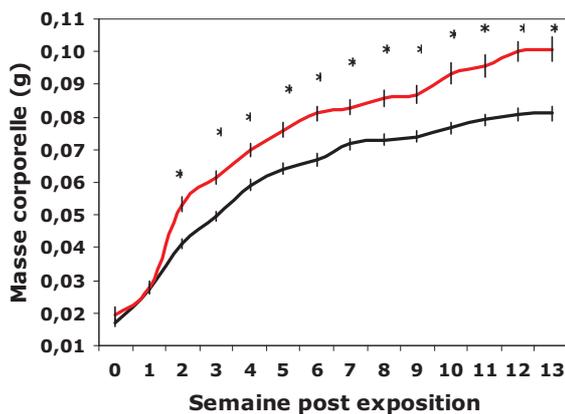


Figure III-4-2-7: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Tibraq exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine, Pigmenté (BpTP/SmH-) (noir) et Albinos (BpTA/SmH-) (rouge). \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

### 3. Relation diamètre/masse corporelle

Il existe une relation linéaire positive entre le diamètre et la masse corporelle pour BpTP/SmH- et BpTA/SmH-. Le test de comparaison des pentes indique qu'il n'existe aucune différence significative entre BpTP/SmH- et BpTA/SmH- ( $p>0,05$ ).

#### B. Fécondité

##### 1. Taux de mollusques pondueurs

Pour **BpS**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 100% (10/10) pour BpSP/SmH- et de 100% (14/14) pour BpSA/SmH-. Pour **BpT**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 100% (24/24) pour BpTP/SmH- et de 100% (21/21) pour BpTA/SmH-.

##### 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine est présenté dans la figure III-4-2-8.

Pour **BpS**, l'activité de ponte commence à la 3<sup>ème</sup> semaine aussi bien pour BpSP/SmH- que pour BpSA/SmH-. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes est respectivement de  $23,40 \pm 2,40$  et de  $19,64 \pm 2,36$  et il n'existe aucune différence significative (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

Pour **BpT**, l'activité de ponte commence à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpTP/SmH- et à la 3<sup>ème</sup> pour BpTA/SmH-. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes est respectivement de  $20,37 \pm 1,19$  et de  $22,12 \pm 2,10$  et il n'existe aucune différence significative (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

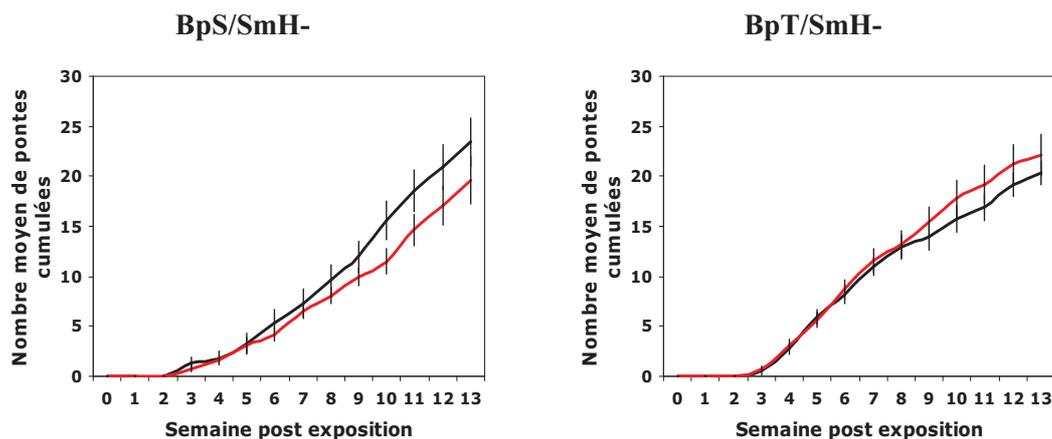


Figure III-4-2-8: Nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS/SmH-: *B. pfeifferi* Siginitti exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine, BpT/SmH-: *B. pfeifferi* Tibraq exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine.

### 3. Nombre d'œufs

Le **nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine est présenté dans la figure III-4-2-9.

Pour **BpS**, les premiers œufs sont émis à la 3<sup>ème</sup> semaine aussi bien pour BpSP/SmH- que pour BpSA/SmH-. Il n'existe aucune différence significative entre les deux morphes (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ), à l'exception des semaines 10 (U=30; N=10; N=14, respectivement;  $p = 0,019$ ) et 11 (U=35; N=10; N=14, respectivement;  $p = 0,040$ ) où BpSP/SmH- ont produit plus d'œufs que BpSA/SmH-. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs est respectivement de  $188,50 \pm 20,08$  et de  $138,14 \pm 18,85$  (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpT**, les premiers œufs sont émis à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpTP/SmH- et à la 3<sup>ème</sup> pour BpTA/SmH-. Le nombre d'œufs est significativement inférieur chez BpTP/SmH- par rapport à BpTA/SmH- de la 6<sup>ème</sup> à la 13<sup>ème</sup> semaine. A la fin de l'expérience, le nombre d'œufs est respectivement de  $149,16 \pm 10,72$  et de  $225,59 \pm 22,43$  (U=67; N=19; N=17, respectivement;  $p = 0,0027$ ).

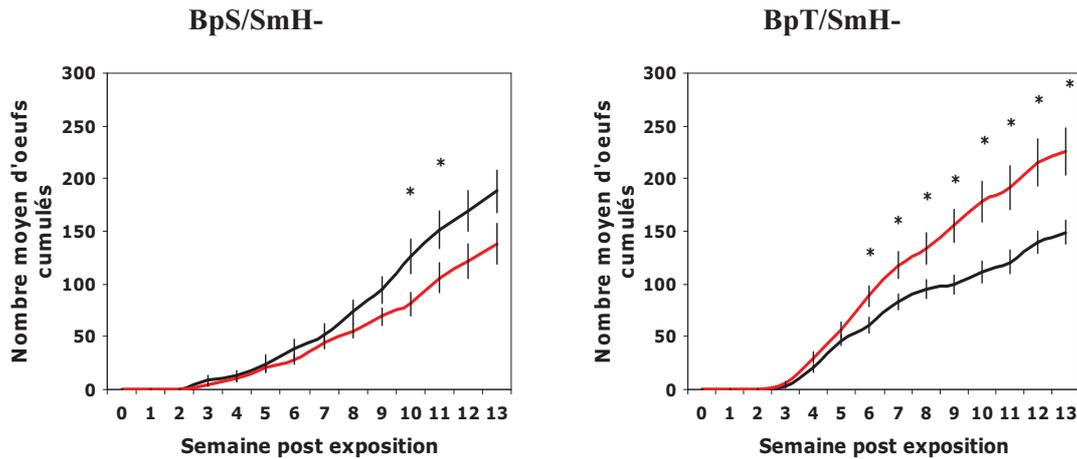


Figure III-4-2-9: Nombre d'œufs cumulés hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS/SmH-: *B. pfeifferi* Siginitti exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine, BpT/SmH-: *B. pfeifferi* Tibraq exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine. \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

#### 4. Nombre d'œufs par ponte

Pour **BpS**, le nombre d'œufs par ponte moyen n'est pas significativement différent (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ) entre BpSP/SmH- ( $8,08 \pm 0,33$ ) et BpSA/SmH- ( $6,83 \pm 0,50$ ). Pour **BpT**, le nombre d'œufs par ponte moyen est significativement inférieur chez BpTP/SmH- ( $7,38 \pm 0,56$ ) par rapport à BpTA/SmH- ( $10,04 \pm 0,26$ ) ( $U=65,5$ ;  $N=24$ ;  $N=21$ , respectivement;  $p < 0,0001$ ).

#### C. Survie

La figure III-4-2-10 présente les courbes de survie de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine. Pour **BpS**, il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmH- et BpSA/SmH- (Logrank test;  $p > 0,05$ ). Pour **BpT**, il n'existe aucune différence significative entre BpTP/SmH- et BpTA/SmH- (Logrank test;  $p > 0,05$ ).

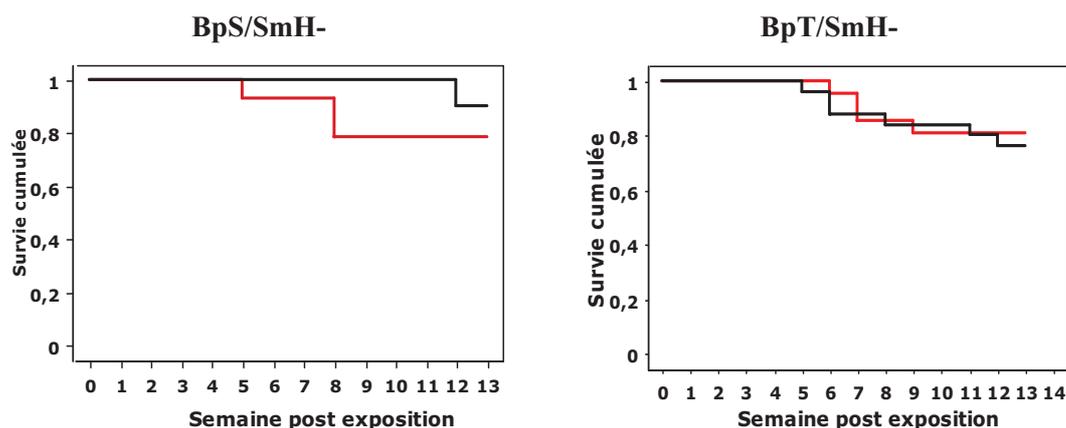


Figure III-4-2-10: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS/SmH-: *B. pfeifferi* Siginitti exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine, BpT/SmH-: *B. pfeifferi* Tibraq exposé-négatif à *S. mansoni* population humaine.

### III. Résultats: *S. mansoni*

#### A. Taux d'infestation

Le taux d'infestation de *S. mansoni* population humaine sur *B. pfeifferi* pigmenté et albinos de Siginitti et de Tibraq est présenté dans le tableau III-4-2-1. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmH+ et BpSA/SmH+ et entre BpTP/SmH+ et BpTA/SmH+ (Fisher's exact test;  $p > 0,05$ ).

Tableau III-4-2-1: Taux d'infestation de *S. mansoni* population humaine sur *B. pfeifferi* Pigmenté et Albinos de Siginitti et de Tibraq.

Population de <i>B. pfeifferi</i>	Morphe	Nombre de mollusques			Taux d'infestation (%)
		exposés	survivants	positifs	
Siginitti	Pigmenté	32	28	18	64
	Albinos	32	27	13	48
Tibraq	Pigmenté	45	45	20	44
	Albinos	35	33	12	36

#### B. Période prépatente

La période prépatente de *S. mansoni* population humaine sur *B. pfeifferi* pigmenté et albinos de Siginitti et de Tibraq est présentée dans le tableau III-4-2-2.

Pour **BpS**, la période prépatente la plus courte est de 24 jours post-exposition pour 39% des BpSP/SmH+ et 54% des BpSA/SmH+. La période prépatente moyenne n'est

pas significativement différente entre BpSP/SmH+ (26,56±1,33; N=18) et BpSA/SmH+ (26,69±1,85; N=13) (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

Pour **BpT**, la période prépatente la plus courte est de 26 jours post-exposition pour 5% des BpTP/SmH+ et 8% des BpTA/SmH+. La période prépatente moyenne n'est pas significativement différente entre BpTP/SmH+ (28,30±0,26; N=20) et BpTA/SmH+ (31,08±2,01; N=12) (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ).

Tableau III-4-2-2: Période prépatente de *S. mansoni* population humaine sur *B. pfeifferi* Pigmenté et Albinos de Siginitti et de Tibraq.

Population de <i>B. pfeifferi</i>	Morphe	Jour post-exposition											
		23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	45	48
Siginitti	Pigmenté	0	7	5	2	2	0	0	0	1	0	0	1
	Albinos	0	7	4	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Tibraq	Pigmenté	0	0	0	1	4	6	6	3	0	0	0	0
	Albinos	0	0	0	1	2	3	3	0	0	1	2	0

### C. *Emission cercarienne journalière*

#### 1. Dynamique

La **dynamique de production cercarienne journalière moyenne** de *S. mansoni* population humaine sur *B. pfeifferi* est présentée dans la figure III-4-2-11. Les histogrammes montrent des phases de fortes et de faibles productions cercariennes.

Les autocorrélogrammes sont présentés dans la figure III-4-2-12. Pour **BpS**, la production cercarienne de BpSP/SmH+ se fait selon un rythme avec une périodicité de 14 jours entre deux phases consécutives de forte ou de faible production cercarienne. Par contre, il n'existe aucun rythme de production cercarienne chez BpSA/SmH+. Pour **BpT**, il n'existe aucun rythme de production cercarienne journalière ni pour BpTP/SmH+ ni pour BpTA/SmH+.

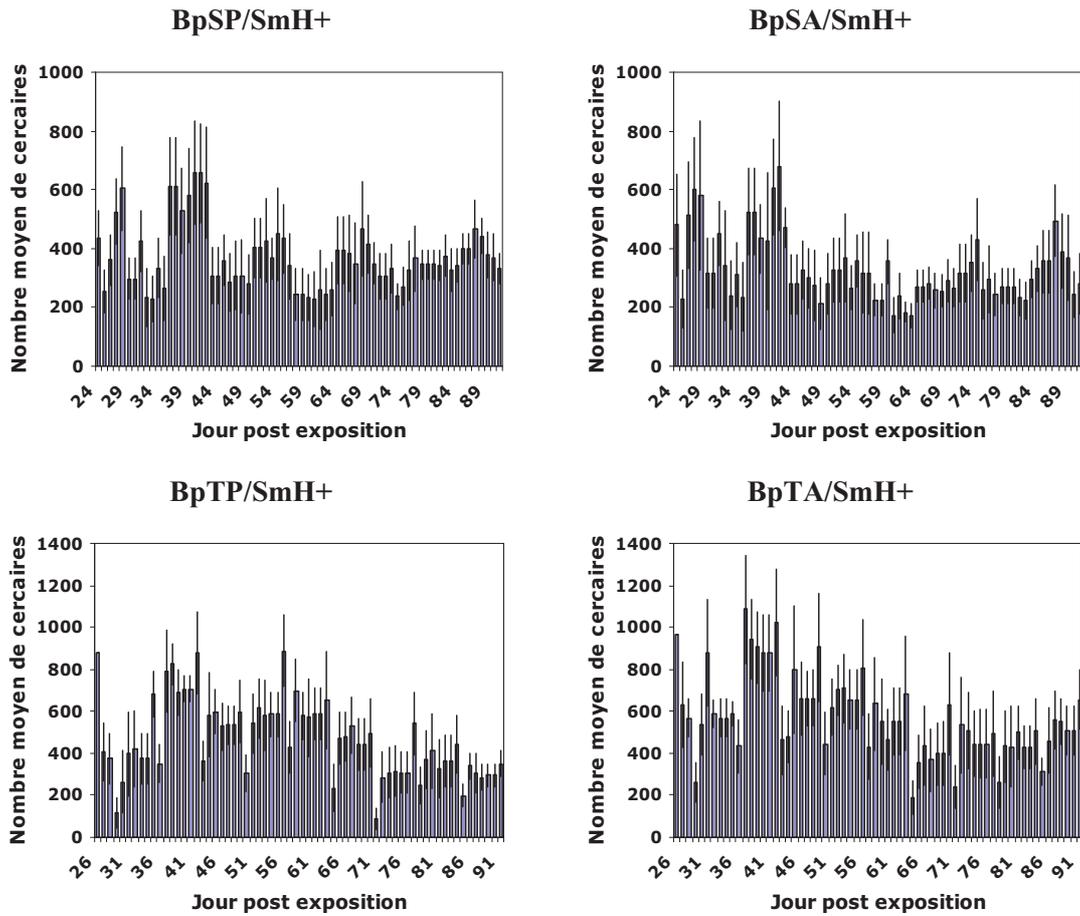
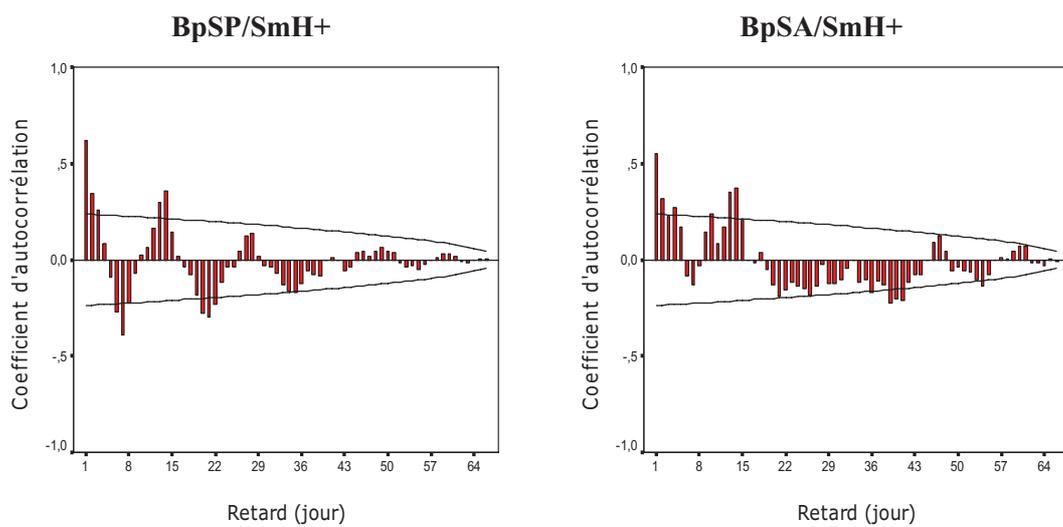


Figure III-4-2-11: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *S. mansoni* population humaine sur *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté (BpSP/SmH+), *B. pfeifferi* Siginitti Albinos (BpSA/SmH+), *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté (BpTP/SmH+) et *B. pfeifferi* Tibraq Albinos (BpTA/SmH+).



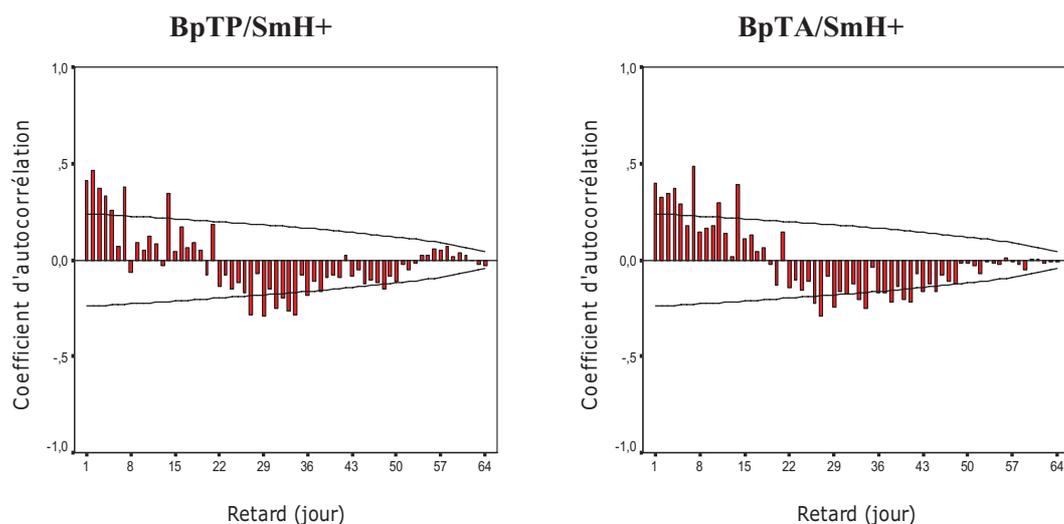


Figure III-4-2-12: Autocorrélogrammes de la production cercarienne journalière moyenne de *S. mansoni* population humaine sur *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté (BpSP/SmH+), *B. pfeifferi* Siginitti Albinos (BpSA/SmH+), *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté (BpTP/SmH+) et *B. pfeifferi* Tibraq Albinos (BpTA/SmH+).

## 2. Production

Pour **BpS**, la **production cercarienne journalière moyenne** depuis les premières émissions cercariennes jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine n'est pas significativement différente entre BpSP/SmH+ ( $371,98 \pm 68,38$ ) et BpSA/SmH+ ( $331,80 \pm 89,83$ ),

Pour **BpT**, la **production cercarienne journalière moyenne** depuis les premières émissions cercariennes jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine n'est pas significativement différente entre BpTP/SmH+ ( $464,04 \pm 73,51$ ) et BpTA/SmH+ ( $566,19 \pm 104,05$ ).

### D. Transmission

La prise en compte simultanée des données de taux d'infestation, de période prépatente, de production cercarienne et de survie des mollusques nous a permis d'évaluer l'impact du morphe, pigmenté versus albinos, de *B. pfeifferi* dans la **transmission** de *S. mansoni* population humaine (Tableau III-4-2-3).

Pour **BpS**, les résultats indiquent qu'un BpSP transmet par semaine significativement plus de cercaires de SmH qu'un BpSA ( $1514,2 \pm 138,1$  contre  $826,5 \pm 87,2$ ;  $N=10$ ;  $U=6$ ;  $P=0,0003$ ), totalisant ainsi 15142 et 8265 cercaires par mollusque, sur 13 semaines.

Pour **BpT**, les résultats indiquent qu'un BpTP transmet par semaine autant de cercaires de SmH qu'un BpTA ( $1123,5 \pm 150,8$  contre  $1172,4 \pm 152,1$ ;  $N=10$ ; Mann-Whitney  $P > 0,05$ ), totalisant ainsi 11235 et 11724 cercaires par mollusque, sur 13 semaines.

Tableau III-4-2-3: Nombre de cercaires de *S. mansoni* population humaine émises par *B. pfeifferi* Pigmenté versus Albinos de Siginitti et de Tibraq. Le nombre total en gras est calculé en tenant compte de la production cercarienne (PC), du taux d'infestation (TI) et de la survie (S).

Couple Hôte/Parasite	Paramètre	Semaine													Total	
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		13
BpSP/SmH+	PC	0	0	0	0	2183	2071	4266	2150	2821	1715	2749	2139	2418	2783	25295
	TI	0	0	0	0	0,57	0,61	0,61	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	
	PCxTI	0	0	0	0	1244	1263	2602	1376	1805	1098	1759	1369	1548	1781	15846
	S	1	1	1	1	1	1	1	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,9	0,9	
	PCxTIxS	0	0	0	0	1244	1263	2602	1307	1715	1043	1671	1301	1393	1603	<b>15142</b>
BpSA/SmH+	PC	0	0	0	0	2403	2210	3671	1950	2276	1567	1890	2209	1898	2489	22562
	TI	0	0	0	0	0,41	0,44	0,44	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	
	PCxTI	0	0	0	0	985	972	1615	936	1093	752	907	1060	911	1195	10426
	S	1	1	1	1	1	1	0,92	0,77	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69	
	PCxTIxS	0	0	0	0	985	972	1491	720	756	521	628	734	631	827	<b>8265</b>
BpTP/SmH+	PC	0	0	0	0	860	2623	4946	3738	4095	4098	3101	2148	2518	2067	30193
	TI	0	0	0	0	0,24	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	
	PCxTI	0	0	0	0	206	1154	2176	1645	1802	1803	1364	945	1108	909	13113
	S	1	1	1	1	1	0,90	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	0,85	
	PCxTIxS	0	0	0	0	206	1039	1850	1398	1531	1533	1160	803	942	773	<b>11235</b>
BpTA/SmH+	PC	0	0	0	0	1045	3981	6146	4628	4593	3871	2780	3107	2979	3551	36679
	TI	0	0	0	0	0,18	0,3	0,3	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	
	PCxTI	0	0	0	0	188	1194	1844	1666	1653	1394	1001	1118	1073	1278	12409
	S	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,92	0,92	0,92	0,83	0,83	
	PCxTIxS	0	0	0	0	188	1194	1844	1666	1653	1278	917	1025	894	1065	<b>11724</b>

BpSP/SmH+: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine, BpSA/SmH+: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif à *S. mansoni* population humaine, BpTP/SmH+: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population humaine, BpTA/SmH+: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population humaine.



*Sous-Chapitre 3:*  
*Impact du morphe de B. pfeifferi, pigmenté versus albinos,*  
*dans l'interaction B. pfeifferi/S. mansoni*  
*origine murine*



# I. Résultats: *B. pfeifferi* positif

## A. Croissance

### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos positif à *S. mansoni* population murine est présenté dans la figure III-4-3-1.

Pour **BpS**, le diamètre des mollusques augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Le diamètre de BpSP/SmM+ est significativement plus grand que celui de BpSA/SmM+ de la 2<sup>ème</sup> (U=22; N=8, N=14, respectivement;  $p=0,02$ ) à la 8<sup>ème</sup> semaine (U=24,5; N=8, N=13, respectivement;  $p=0,046$ ). A la fin de l'expérience, le diamètre des mollusques est respectivement de  $8,49\pm 0,16$  mm et de  $8,34\pm 0,15$  mm.

Pour **BpT**, le diamètre des mollusques augmente rapidement durant les trois premières semaines et lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Le diamètre de BpTP/SmM+ est significativement inférieur à la 2<sup>ème</sup> semaine et de la 6<sup>ème</sup> (U=7,5; N=16, N=7, respectivement;  $p=0,0012$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (U=41,5; N=7, N=6, respectivement;  $p=0,0034$ ) à celui de BpTA/SmM+. Le diamètre des mollusques à la fin de l'expérience est respectivement de  $7,92\pm 0,11$  mm et de  $9,11\pm 0,25$  mm.

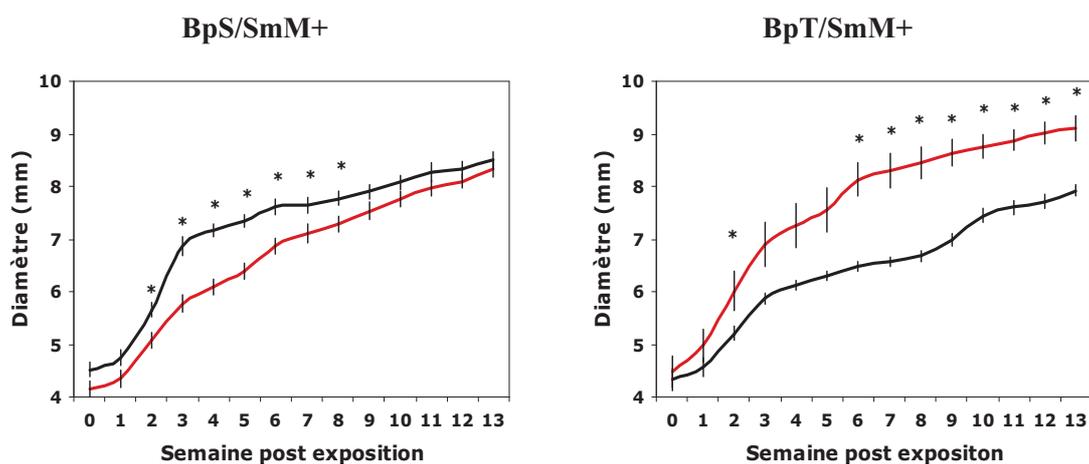


Figure III-4-3-1: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS/SmM+: *B. pfeifferi* Siginitti positif à *S. mansoni* population murine, BpT/SmM+: *B. pfeifferi* Tibraq positif à *S. mansoni* population murine. \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

## 2. Masse corporelle

La **masse corporelle hebdomadaire moyenne** de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos, positif à *S. mansoni* population murine, est présentée dans la figure III-4-3-2.

Pour **BpS**, la masse corporelle de BpSP/SmM+ est significativement supérieure à celle de BpSA/SmM+ au début de l'expérience ( $U=26$ ;  $N=8$ ,  $N=14$ , respectivement;  $p=0,04$ ) et entre la 2<sup>ème</sup> et la 4<sup>ème</sup> semaine. La masse corporelle à la fin de l'expérience est respectivement de  $0,1014\pm 0,0037$  g et de  $0,0946\pm 0,0037$ .

Pour **BpT**, la masse corporelle de BpTP/SmM+ est significativement inférieure à celle de BpTA/SmM+ de la 2<sup>ème</sup> à la 13<sup>ème</sup> semaine. A la fin de l'expérience, elle est respectivement de  $0,0865\pm 0,0031$  g et de  $0,1258\pm 0,0074$  g ( $U=42$ ;  $N=7$ ,  $N=6$ , respectivement;  $p=0,0027$ ).

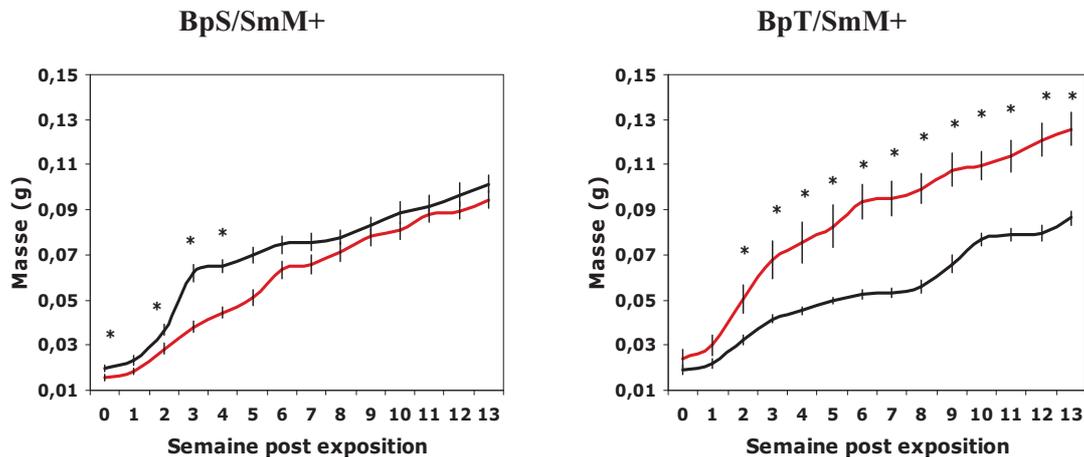


Figure III-4-3-2: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS/SmM+: *B. pfeifferi* Siginitti positif à *S. mansoni* population murine, BpT/SmM+: *B. pfeifferi* Tibraq positif à *S. mansoni* population murine. \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p<0,05$ ).

## 3. Relation diamètre/masse corporelle

Pour **BpS**, il existe une relation linéaire positive entre le diamètre et la masse corporelle pour BpSP/SmM+ et BpSA/SmM+. Le test de comparaison des pentes indique que les pentes ne sont pas significativement différentes entre BpSP/SmM+ et BpSA/SmM+ ( $p>0,05$ ).

Pour **BpT**, il existe une relation linéaire positive entre le diamètre et la masse corporelle pour BpTP/SmM+ et BpTA/SmM+. Le test de pente indique que BpTP/SmM+

ont une pente significativement moins importante que BpTA/SmM+ (F=4,70; ddl=24;  $p=0,040$ ).

## **B. Fécondité**

### **1. Taux de mollusques pondueurs**

Pour **BpS**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 12,50% (1/8) pour BpSP/SmM+ et de 0,00% (0/14) pour BpSA/SmM+ et la différence n'est pas significative (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

Pour **BpT**, le taux de mollusques ayant au moins pondu une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 0,00% (0/17) pour BpTP/SmM+ et de 0,00% (0/7) pour BpTA/SmM+.

### **2. Nombre de pontes et d'œufs**

Une seule ponte de 6 œufs a été émise à la 6<sup>ème</sup> semaine post-exposition par un BpSP/SmM+.

## **C. Survie**

La figure III-4-3-3 présente les courbes de survie de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos positif à *S. mansoni* population murine. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmM+ et BpSA/SmM+ ni entre BpTP/SmM+ et BpTA/SmM+ (Logrank test;  $p>0,05$ ).

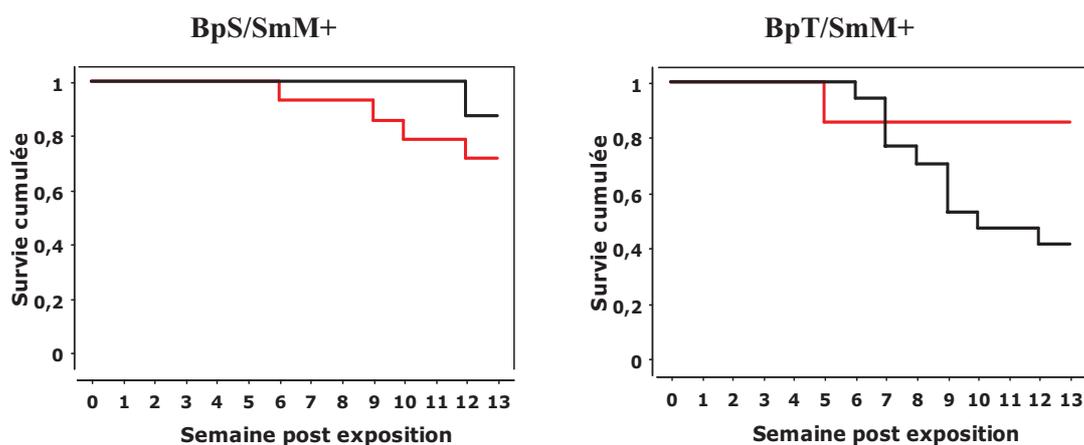


Figure III-4-3-3: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS/SmM+: *B. pfeifferi* Siginitti positif à *S. mansoni* population murine, BpT/SmM+: *B. pfeifferi* Tibraq positif à *S. mansoni* population murine.

## II. Résultats: *B. pfeifferi* exposé-négatif

### A. Croissance

#### 1. Diamètre

Le **diamètre hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population murine est présenté dans la figure III-4-3-4.

Pour **BpS**, le diamètre des mollusques augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Le diamètre de BpSP/SmM- est significativement supérieur à celui de BpSA/SmM- à la 3<sup>ème</sup> (U=23,5; N=11, N=9, respectivement;  $p=0,048$ ) et de la 8<sup>ème</sup> (U=22; N=11, N=9, respectivement;  $p=0,037$ ) à la 13<sup>ème</sup> semaine (U=19,5; N=11, N=9, respectivement;  $p=0,023$ ). Le diamètre des mollusques à la 13<sup>ème</sup> semaine est respectivement de  $7,62 \pm 0,11$  mm et de  $7,06 \pm 0,20$  mm.

Pour **BpT**, le diamètre des mollusques augmente rapidement durant les trois premières semaines et très lentement jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine. Le diamètre de BpTP/SmM- est significativement inférieur à celui des BpTA/SmM- sur les semaines 4, 6, 7, 9 et 10 (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ). A la fin de l'expérience, le diamètre est respectivement de  $7,73 \pm 0,29$  mm et de  $8,09 \pm 0,22$  mm.

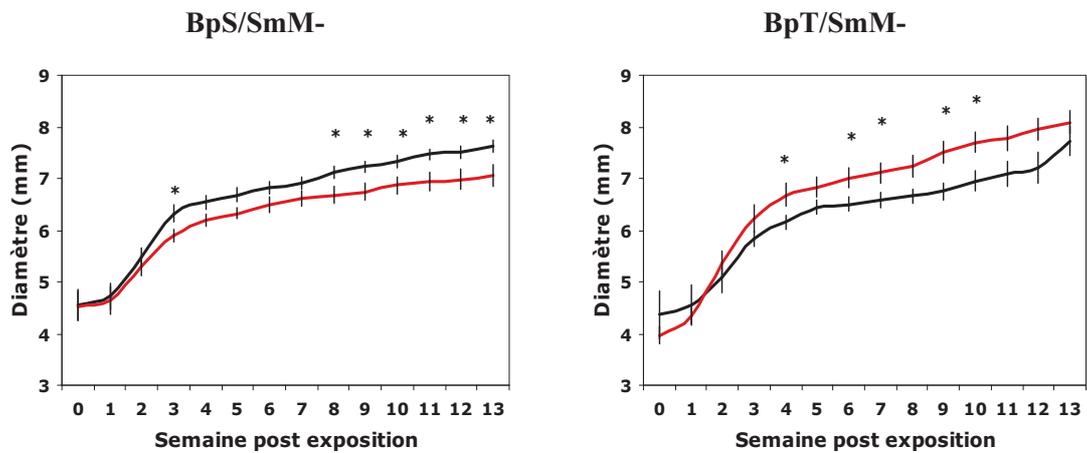


Figure III-4-3-4: Diamètre hebdomadaire moyen ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS/SmM-: *B. pfeifferi* Siginitti exposé-négatif à *S. mansoni* population murine, BpT/SmM-: *B. pfeifferi* Tibraq exposé-négatif à *S. mansoni* population murine. \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

## 2. Masse corporelle

La **masse corporelle hebdomadaire moyenne** de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population murine est présentée dans la figure III-4-3-5.

Pour **BpS**, la masse corporelle de BpSP/SmM- est significativement supérieure à celle de BpSA/SmM- sur les semaines 3, 4 et 13 (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ) ( $U=23$ ;  $N=11$ ,  $N=9$ , respectivement;  $p=0,044$ ). A la fin de l'expérience, elle est respectivement de  $0,0764 \pm 0,0042$  g et de  $0,0651 \pm 0,0030$  g.

Pour **BpT**, la masse corporelle de BpTP/SmM- est significativement inférieure et celle de BpTA/SmM- sur les semaines 7, 8 et 9 (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ). A la fin de l'expérience, elle est respectivement de  $0,0879 \pm 0,0060$  g et de  $0,0892 \pm 0,0048$  g (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

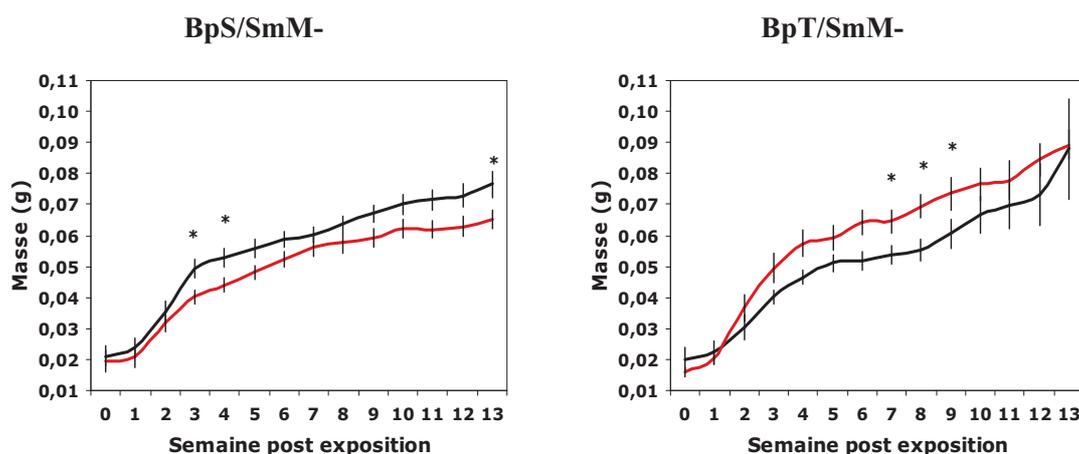


Figure III-4-3-5: Masse corporelle hebdomadaire moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *B. pfeifferi* Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS/SmM-: *B. pfeifferi* Siginitti exposé-négatif à *S. mansoni* population murine, BpT/SmM-: *B. pfeifferi* Tibraq exposé-négatif à *S. mansoni* population murine. \*: différence significative (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ).

### 3. Relation diamètre/masse corporelle

Pour **BpS**, il existe une relation linéaire positive entre le diamètre et la masse corporelle pour BpSP/SmM- et BpSA/SmM-. Le test de comparaison des pentes indique qu'il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmM- et BpSA/SmM- ( $p > 0,05$ ).

Pour **BpT**, il existe une relation linéaire positive entre le diamètre et la masse corporelle pour BpTP/SmM- et BpTA/SmM-. Le test de comparaison de pente indique qu'il n'existe aucune différence significative entre BpTP/SmM- et BpTA/SmM- ( $p > 0,05$ ).

## B. Fécondité

### 1. Taux de mollusques pondus

Pour **BpS**, le taux de mollusques ayant au moins pondus une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 100% (11/11) pour BpSP/SmM- et de 100% (9/9) pour BpSA/SmM-.

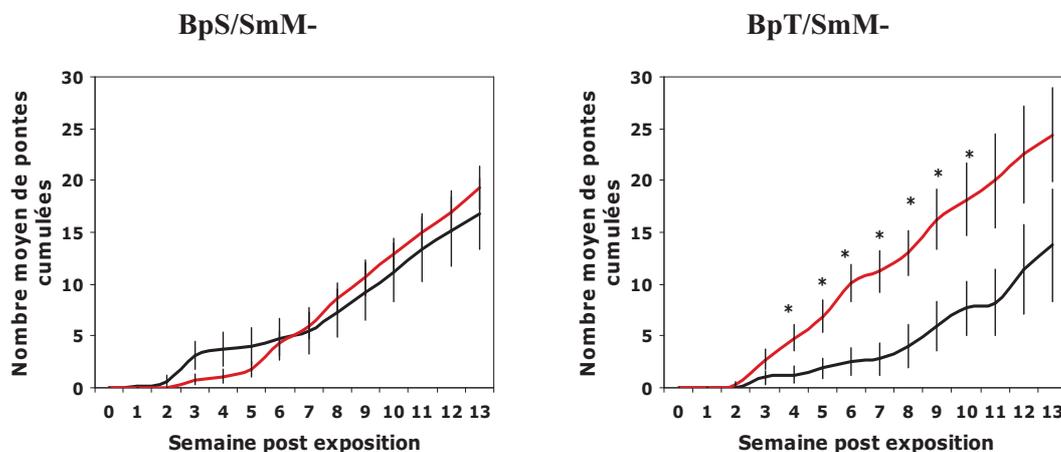
Pour **BpT**, le taux de mollusques ayant au moins pondus une ponte pendant toute la durée de l'expérience est de 75,00% (6/8) pour BpTP/SmM- et de 100% (11/11) pour BpTA/SmM- et la différence n'est pas significative (Fisher's exact test;  $p > 0,05$ ).

## 2. Nombre de pontes

Le **nombre de pontes cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population murine est présenté dans la figure III-4-3-6.

Pour **BpS**, l'activité de ponte commence à la 1<sup>ère</sup> semaine pour BpSP/SmM- et à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpSA/SmM-. A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre de pontes est respectivement de  $18,82 \pm 3,40$  et de  $19,33 \pm 2,12$  et il n'existe aucune différence significative (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpT**, l'activité de ponte commence à la 3<sup>ème</sup> semaine pour BpTP/SmM- et à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpTA/SmM-. Il existe des différences significatives (Mann-Whitney;  $p < 0,05$ ) de la 4<sup>ème</sup> à la 10<sup>ème</sup> semaine où BpTP/SmM- émettent moins de pontes que BpTA/SmM-. A la 13<sup>ème</sup> semaine, il n'existe cependant plus aucune différence significative entre les deux morphes (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ) et le nombre de pontes est respectivement de  $13,80 \pm 5,41$  et de  $24,43 \pm 4,49$ .

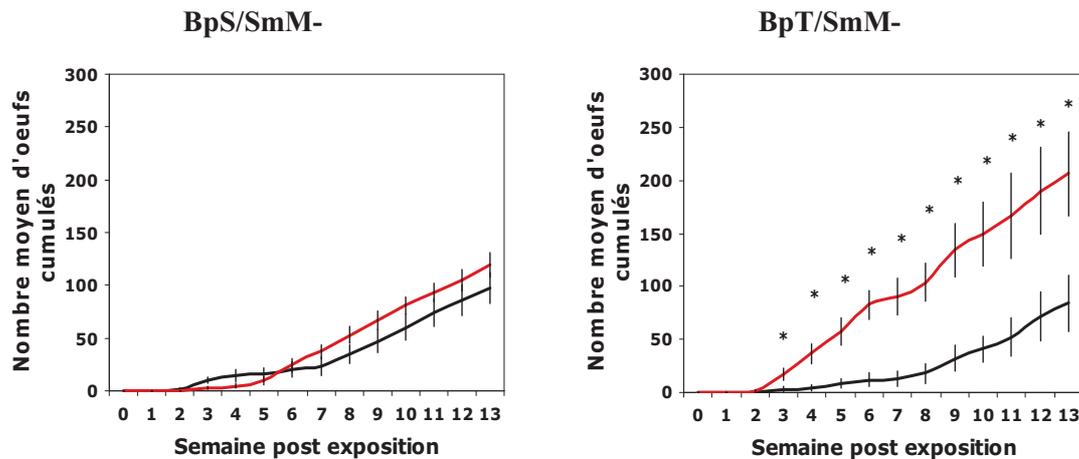


### 3. Nombre d'œufs

Le **nombre d'œufs cumulé hebdomadaire moyen** de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population murine est présenté dans la figure III-4-3-7.

Pour **BpS**, les premiers œufs sont émis à la 1<sup>ère</sup> semaine pour BpSP/SmM- et à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpSA/SmM-. Il n'existe aucune différence significative dans le nombre d'œufs entre les deux morphes (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs est respectivement de  $97,36\pm 14,96$  et de  $119,00\pm 11,52$ .

Pour **BpT**, les premiers œufs sont émis à la 3<sup>ème</sup> semaine pour BpTP/SmM- et à la 2<sup>ème</sup> semaine pour BpTA/SmM-. Le nombre d'œufs est significativement inférieur chez BpTP/SmM- par rapport à BpTA/SmM- de la 3<sup>ème</sup> semaine à la fin de l'expérience (Mann-Whitney;  $p<0,05$ ). A la 13<sup>ème</sup> semaine, le nombre d'œufs est respectivement de  $84,6\pm 26,58$  et de  $206,29\pm 39,17$  (U=4; N=5, N=7, respectivement;  $p=0,028$ ).



### 4. Nombre d'œufs par ponte

Pour **BpS**, le nombre d'œufs par ponte moyen n'est pas significativement différent (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ) entre BpSP/SmM- ( $6,34\pm 0,75$ ) et BpSA/SmM- ( $6,38\pm 0,50$ ).

Pour **BpT**, le nombre d'œufs par ponte moyen n'est pas significativement différent (Mann-Whitney;  $p>0,05$ ) entre BpTP/SmM- ( $5,66\pm 1,33$ ) et BpTA/SmM- ( $8,32\pm 0,37$ ).

### C. *Survie*

La figure III-4-3-8 présente les courbes de survie de *B. pfeifferi* pigmenté et albinos exposé-négatif à *S. mansoni* population murine. Pour **BpS**, il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmM- et BpSA/SmM- (Log-Rank;  $p>0,05$ ). Pour **BpT**, il n'existe aucune différence significative entre BpTP/SmM- et BpTA/SmM- (Logrank test;  $p>0,05$ ).

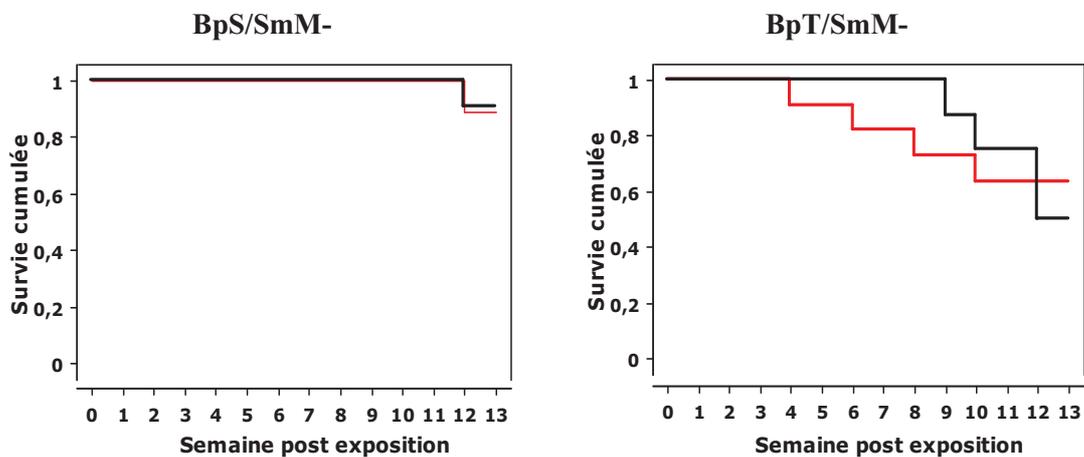


Figure III-4-3-8: Courbes de survie (construction de Kaplan-Meier) de *B. pfeifferi* Pigmenté (noir) et Albinos (rouge). BpS/SmM-: *B. pfeifferi* Siginitti exposé-négatif à *S. mansoni* population murine, BpT/SmM-: *B. pfeifferi* Tibraq exposé-négatif à *S. mansoni* population murine.

## III. Résultats: *S. mansoni*

### A. *Taux d'infestation*

Le taux d'infestation de *S. mansoni* population murine sur *B. pfeifferi* pigmenté et albinos de Siginitti et de Tibraq est présenté dans le tableau III-4-3-1. Il n'existe aucune différence significative entre BpSP/SmM+ et BpSA/SmM+ et entre BpTP/SmM+ et BpTA/SmM+ (Fisher's exact test;  $p>0,05$ ).

Tableau III-4-3-1: Taux d'infestation de *S. mansoni* population murine sur *B. pfeifferi* Pigmenté et Albinos de Siginitti et de Tibraq.

Population de <i>B. pfeifferi</i>	Morphe	Nombre de mollusques			Taux d'infestation (%)
		exposés	survivants	positifs	
Siginitti	Pigmenté	19	19	8	42
	Albinos	33	23	14	61
Tibraq	Pigmenté	31	25	17	68
	Albinos	27	20	7	35

## B. Période prépatente

La période prépatente de *S. mansoni* population murine sur *B. pfeifferi* pigmenté et albinos de Siginitti et de Tibraq est présentée dans le tableau III-4-3-2.

Pour **BpS**, la période prépatente la plus courte est de 29 jours post-exposition pour 13% des BpSP/SmM+ et 21% des BpSA/SmM+. La période prépatente moyenne n'est pas significativement différente entre BpSP/SmM+ ( $32,38 \pm 0,73$ ) et BpSA/SmM+ ( $30,86 \pm 0,47$ ) (Mann-Whitney;  $p > 0,05$ ).

Pour **BpT**, la période prépatente la plus courte est respectivement de 28 jours post-exposition (JPE) pour 6% des BpTP/SmM+ et de 26 JPE pour 86% des BpTA/SmM+. La période prépatente moyenne est significativement plus longue chez BpTP/SmM+ ( $30,29 \pm 0,35$ ) que chez BpTA/SmM+ ( $26,14 \pm 0,15$ ) ( $U=119$ ;  $N=17$ ,  $N=7$ , respectivement;  $p=0,0002$ ).

Tableau III-4-3-2: Période prépatente de *S. mansoni* population murine sur *B. pfeifferi* Pigmenté et Albinos de Siginitti et de Tibraq.

Population de <i>B. pfeifferi</i>	Morphe	Jour post-exposition											
		23	24	25	26	27	28	29	30	32	35	45	48
Siginitti	Pigmenté	0	0	0	0	0	0	1	0	5	2	0	0
	Albinos	0	0	0	0	0	0	3	5	5	1	0	0
Tibraq	Pigmenté	0	0	0	0	0	1	5	5	6	0	0	0
	Albinos	0	0	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0

## C. Emission cercarienne journalière

### 1. Dynamique

La dynamique de production cercarienne journalière moyenne de *S. mansoni* population murine sur *B. pfeifferi* est présentée dans la figure III-4-3-9. Les

histogrammes indiquent l'alternance de phases de fortes et de faibles productions cercariennes.

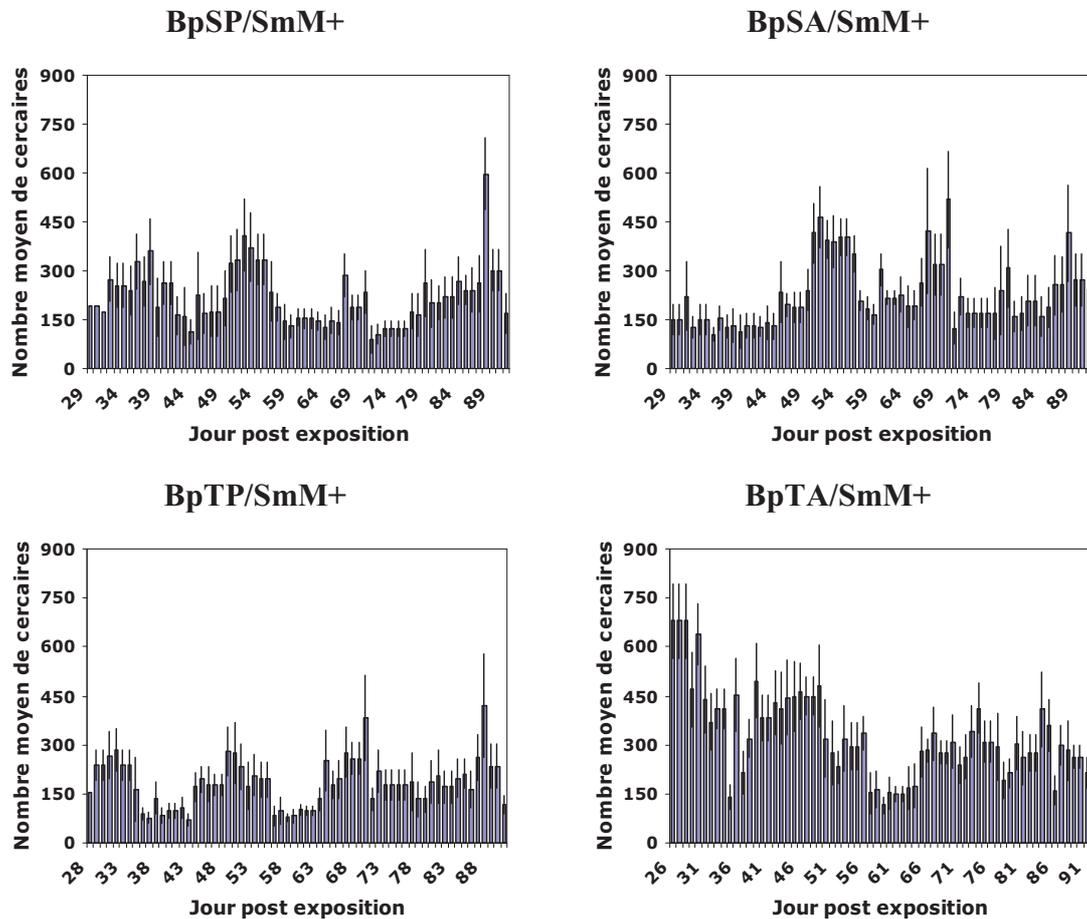


Figure III-4-3-9: Dynamique de production cercarienne journalière moyenne ( $\pm$ Ecart-Standard) de *S. mansoni* population murine sur *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté (BpSP/SmM+), *B. pfeifferi* Siginitti Albinos (BpSA/SmM+), *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté (BpTP/SmM+) et *B. pfeifferi* Tibraq Albinos (BpTA/SmM+).

Les autocorrélogrammes sont présentés dans la figure III-4-3-10. Pour **BpS**, la production cercarienne de BpSP/SmM+ se fait selon un rythme avec une périodicité de 15 à 20 jours entre deux phases consécutives de fortes ou de faibles productions cercariennes. Par contre, il n'existe aucun rythme de production cercarienne chez BpSA/SmM+. Pour **BpT**, la production cercarienne de BpTP/SmM+ se fait selon un rythme avec une périodicité de 20 jours entre deux phases de fortes ou de faibles productions cercariennes. Par contre, il n'existe aucun rythme de production cercarienne chez BpTA/SmM+.

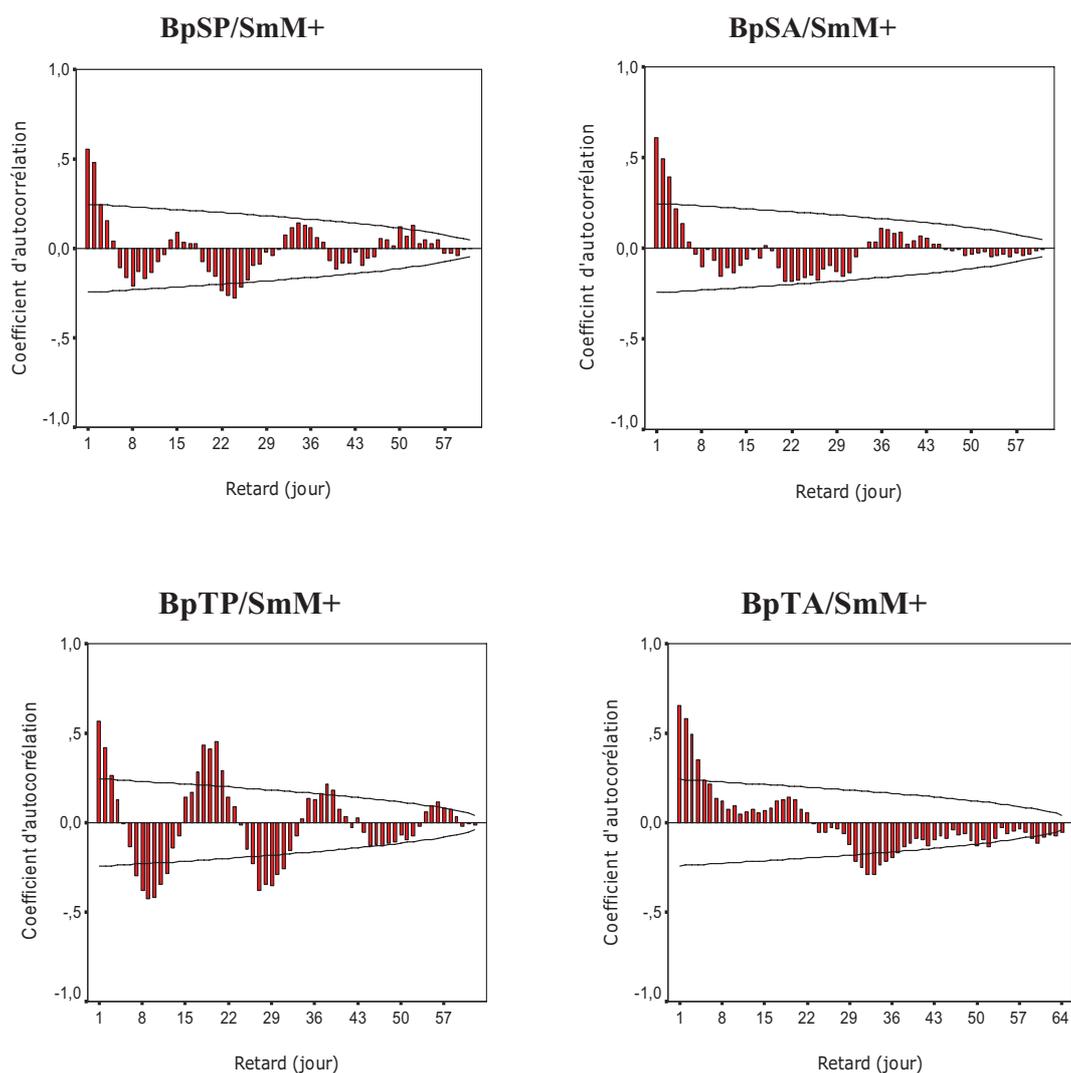


Figure III-4-3-10: Autocorrélogrammes de la production cercarienne journalière moyenne de *S. mansoni* population murine sur *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté (BpSP/SmM+), *B. pfeifferi* Siginitti Albinos (BpSA/SmM+), *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté (BpTP/SmM+) et *B. pfeifferi* Tibraq Albinos (BpTA/SmM+).

## 2. Production

Pour **BpS**, la **production cercarienne journalière moyenne** depuis les premières émissions cercariennes jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine n'est pas significativement différente entre BpSP/SmM+ (220,96±35,25) et BpSA/SmM+ (228,76±48,16).

Pour **BpT**, la **production cercarienne journalière moyenne** depuis les premières émissions cercariennes jusqu'à la 13<sup>ème</sup> semaine est significativement plus petite chez

BpTP/SmM+ (183,11±11,29) que chez BpTA/SmM+ (329,08±32,95) (U=1; N=6; N=6, respectivement; p=0,0065).

#### **D. Transmission**

La prise en compte simultanée des données de taux d'infestation, de période prépatente, de production cercarienne et de survie des mollusques nous a permis d'évaluer l'impact du morphe, pigmenté versus albinos, de *B. pfeifferi* dans la transmission de *S. mansoni* population murine (Tableau III-4-3-3). Pour **BpS**, les résultats indiquent qu'un BpSP transmet par semaine autant de cercaires de SmM qu'un BpSA (624,8±70,8 contre 852,4±111,7; N=9; Mann-Whitney  $P>0,05$ ), totalisant ainsi 5624 et 7672 cercaires par mollusque, sur 13 semaines. Pour **BpT**, les résultats indiquent qu'un BpTP transmet par semaine autant de cercaires de SmM qu'un BpTA (540,2±96,6 contre 676,1±64,0; N=10; Mann-Whitney  $P>0,05$ ), totalisant ainsi 5401 et 6762 cercaires par mollusque, sur 13 semaines.

Tableau III-4-3-3: Nombre de cercaires de *S. mansoni* population murine émises par *B. pfeifferi* Pigmenté et Albinos de Siginitti et de Tibraq. Le nombre total en gras est calculé en tenant compte de la production cercarienne (PC), du taux d'infestation (TI) et de la survie (S).

Couple Hôte/Parasite	Paramètre	Semaine													Total	
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		13
BpSP/SmM+	PC	0	0	0	0	0	1117	1828	1229	2341	1068	1303	858	1536	2109	13389
	TI	0	0	0	0	0	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	
	PCxTI	0	0	0	0	0	469	768	516	983	449	547	360	645	886	5624
	S	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	PCxTIxS	0	0	0	0	0	469	768	516	983	449	547	360	645	886	<b>5624</b>
BpSA/SmM+	PC	0	0	0	0	0	1059	913	1318	2822	1519	2227	1195	1452	1906	14412
	TI	0	0	0	0	0	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	
	PCxTI	0	0	0	0	0	646	557	804	1721	926	1359	729	886	1163	8791
	S	1	1	1	1	1	1	1	0,93	0,93	0,93	0,86	0,79	0,79	0,71	
	PCxTIxS	0	0	0	0	0	646	557	747	1598	860	1165	573	696	830	<b>7672</b>
BpTP/SmM+	PC	0	0	0	0	156	1670	688	1247	1361	690	1797	1250	1197	1639	11695
	TI	0	0	0	0	0,04	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	
	PCxTI	0	0	0	0	6	1136	468	848	925	469	1222	850	814	1115	7853
	S	1	1	1	1	1	1	1	0,94	0,76	0,71	0,53	0,47	0,47	0,47	
	PCxTIxS	0	0	0	0	6	1136	468	798	708	331	647	400	383	525	<b>5401</b>
BpTA/SmM+	PC	0	0	0	0	2036	2880	2673	3149	2066	1050	1928	2165	1928	1844	21719
	TI	0	0	0	0	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	
	PCxTI	0	0	0	0	713	1008	936	1102	723	368	675	758	675	645	7602
	S	1	1	1	1	1	1	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86	
	PCxTIxS	0	0	0	0	713	1008	802	945	620	315	578	649	578	553	<b>6762</b>

BpSP/SmM+: *B. pfeifferi* Siginitti Pigmenté positif à *S. mansoni* population murine, BpSA/SmM+: *B. pfeifferi* Siginitti Albinos positif à *S. mansoni* population murine, BpTP/SmM+: *B. pfeifferi* Tibraq Pigmenté positif à *S. mansoni* population murine, BpTA/SmM+: *B. pfeifferi* Tibraq Albinos positif à *S. mansoni* population murine.

## Synthèse et discussion du chapitre 4

Le bilan des résultats du chapitre 4 consacrés à l'étude de l'impact du morphe de *B. pfeifferi*, **pigmenté versus albinos**, dans l'interaction hôte/parasite, est présenté dans le tableau III-4-1.

Pour ce qui est des **traits d'histoire de vie des mollusques** sains, positifs et exposés-négatifs (croissance, fécondité et survie), l'albinisme n'est jamais associé à des traits désavantageux. Quel que soit l'état du mollusque (sain, positif ou exposé-négatif), les traits de vie des mollusques albinos sont soit semblables à ceux des mollusques pigmentés (35/36) pour la population de Siginitti soit semblables avec des cas d'albinos plus performants que les pigmentés (15/42) pour la population de Tibraq. Nous pouvons donc confirmer avoir montré, dans notre étude, que le morphe albinos de *B. pfeifferi* constitue un cas rare d'association positive entre albinisme et fitness. Nos résultats constituent ainsi le 2<sup>ème</sup> cas connu de valeur sélective similaire entre morphes pigmenté et albinos après celui de la rainette *Pseudacris triseriata* obtenu dans les conditions naturelles par Corn (1986). Le morphe albinos ne semble pas induire une faible valeur sélective chez *B. pfeifferi* contrairement à ce qui est connu chez d'autres espèces comme l'Homme. En effet, une étude épidémiologique de l'albinisme réalisée en Tanzanie a montré que 52% des albinos ont moins de 16 ans et que l'espérance de vie des albinos baisse à partir de l'âge de 20 ans (Lookingbill *et al.* 1995). Dans le milieu naturel, les deux morphes de *B. pfeifferi*, pigmentés et albinos, se rencontrent exactement dans les mêmes lieux, côte à côte, et sont donc soumis aux mêmes facteurs abiotiques. Un suivi temporel des traits d'histoire de vie permettrait de mesurer la valeur sélective du morphe albinos dans les conditions naturelles. Signalons qu'un travail récent sur une souche de laboratoire (Institut Oswald Cruz, Brésil) de *B. glabrata* a montré que le morphe albinos manifeste une meilleure survie comparé au morphe pigmenté Allegretti *et al.* (2009).

Pour ce qui est des **traits d'histoire de vie du parasite** (taux d'infestation, période prépatente et émission cercarienne), ils n'ont pas été influencés de la même façon par le morphe du mollusque ni dans les deux sites étudiés (Siginitti et Tibraq) ni pour les deux populations de *S. mansoni* (humaine et murine). Les traits de vie sont soit

semblables à ceux des mollusques pigmentés (6/6) pour la population de Siginitti soit semblables, avec deux cas d'albinos plus performants que les pigmentés (période prépatente plus courte et production cercarienne plus grande), pour la population de Tibraq. Un travail expérimental mené sur des souches de laboratoire de *B. glabrata* parasités par *S. mansoni* a montré que le morphe albinos manifeste un plus faible taux d'infestation et une forte réaction immunitaire comparé au morphe pigmenté (Allegretti *et al.* 2009). L'absence de rythme de production cercarienne chez BpSA/SmH+, BpSA/SmM+, BpTA/SmH+, et BpTA/SmM+ est interprétée en termes de performance du couple hôte/parasite. En effet, on émet l'hypothèse selon laquelle l'apparition récente de l'albinisme dans le Dhofar influence le métabolisme du mollusque lequel influence, à son tour, la dynamique du développement intramolluscal du parasite. Mouahid et Théron (1986) ont montré, dans le modèle *Schistosoma bovis* originaire d'Espagne, que le couple sympatrique, *S.bovis/Planorbarius metidjensis*, présente une production cercarienne rythmée alors que le couple allopatrique, *S. bovis* d'Espagne/*Bulinus truncatus* de Tunisie, ne présente aucun rythme. Dans nos résultats, le morphe albinos est perçu par le parasite comme un hôte allopatrique.

L'estimation de la **transmission** basée sur l'ensemble des traits d'histoire de vie du parasite et la survie de l'hôte parasite a montré qu'à Siginitti *S. mansoni* population humaine pouvait émettre deux fois plus de cercaires sur des mollusques pigmentés que sur des albinos. Ce résultat est à rapprocher de celui récemment obtenu chez *Biomphalaria glabrata* Brésil où le morphe albinos s'est révélé être moins susceptible à l'infestation par *S. mansoni* (Allegretti *et al.* 2009). Cependant, il est à noter que dans ce même site pour la population murine et dans le site de Tibraq pour les populations humaine et murine, la transmission se fait de la même manière à partir des mollusques pigmentés et albinos. Le rôle des mollusques albinos dans la transmission de la schistosomose dans les conditions naturelles est à suivre comparativement aux mollusques pigmentés.

Tableau III-4-1: Bilan des résultats du chapitre 4 sur l'impact du morphe de *B. pfeifferi*, pigmenté versus albinos, dans l'interaction hôte/parasite.

Acteur	Trait d'histoire de vie	<i>B. pfeifferi</i> Siginitti					<i>B. pfeifferi</i> Tibraq					
		SmH			SmM		SmH			SmM		
		Sain	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Sain	Positif	Négatif	Positif	Négatif	
Mollusque	Diamètre de la coquille (D)	P=A	P=A	P=A	P=A	P=A	P=A	P<A	P<A	P<A	P<A	P=A
	Masse corporelle (M)	nr	nr	nr	P=A	P=A	P=A	P<A	P<A	P<A	P<A	P=A
	Croissance	Relation DM	nr	nr	nr	P=A	P=A	P=A	P=A	P=A	P<A	P=A
		Relation D/Masse de la coquille	P=A	nr	nr	nr	nr	P=A	nr	nr	nr	nr
	Fécondité	Taux de mollusques pondueurs	P=A	P=A	P=A	P=A	P=A		P=A			P=A
		Nombre de pontes	P=A	P=A	P=A	P=A	P=A	P<A	P≈A≈0	P=A	P=A=0	P<A
	Fécondité	Nombre d'œufs	P=A	P=A	P=A	P=A	P=A	P<A		P<A		P<A
		Durée d'incubation, Taux d'éclosion et Age à la maturité	P=A	nr	nr	nr	nr	P=A	nr	nr	nr	nr
	Survie	P=A	P=A	P=A	P=A	P=A	P<A	P=A	P=A	P=A	P=A	
	Parasite	Taux d'infestation		P=A		P=A			P=A		P=A	
Période prépatente			P=A		P=A			P=A		P<A		
Emission cercarienne		Production		P=A		P=A			P=A		P<A	
		Rythme		P=oui		P=oui			P=non		P=oui	
Transmission				A=non		A=non			A=non		A=non	
				P>A		P=A			P=A		P=A	

SmH: *S. mansoni* population humaine; SmM: *S. mansoni* population murine; P: Morphe pigmenté; A: Morphe albinos; -: Expérience non réalisée; P=A: Traits d'histoire de vie non significativement différents entre les deux morphes; P>A: Traits plus performants chez P; P<A: Traits plus performants chez A. La performance du parasite est par exemple meilleure plus le taux d'infestation de l'hôte ou la production cercarienne sont grands et plus la période prépatente du parasite chez son hôte est courte.



## ***CONCLUSION GENERALE***



Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre du suivi de la **réémergence** récente de la schistosomose à *Schistosoma mansoni* dans le Dhofar en Oman. Il traite plus particulièrement de la génétique des populations du mollusque hôte intermédiaire *Biomphalaria pfeifferi* et des relations mollusque-schistosome et de leur impact sur la transmission de *S. mansoni* du mollusque au vertébré.

L'étude de la **structure génétique spatiotemporelle** de 18 populations de *B. pfeifferi* réparties dans trois massifs du Dhofar a été réalisée grâce aux marqueurs microsatellites. Les résultats apportent des connaissances sur la structure génétique des populations étudiées et sur les facteurs qui influencent celle-ci, au niveau intra et inter populations et aussi entre les morphes pigmenté et albinos découverts dans deux sites sur 18. Au niveau **intrapopulationnel**, un faible niveau de variabilité génétique a été trouvé. Cette faible variabilité génétique est notamment expliquée par une forte dérive génétique, matérialisée par des goulots d'étranglement génétiques avec des effectifs efficaces réduits et aussi par un très faible taux de migration des individus entre les sites. Cette faible diversité génétique est significativement plus importante dans les populations de mollusques des sites aménagés comparée à celles des sites naturels. Par contre, l'appartenance à un massif et la date d'échantillonnage n'ont aucune influence sur la variabilité génétique intrapopulationnelle. Au niveau **interpopulationnel**, une grande différenciation génétique a été trouvée entre les populations. Elle est observée à l'échelle de toute la région, aussi bien entre populations de différents massifs montagneux qu'entre populations d'un même massif. Cette forte différenciation est expliquée par un isolement génétique par la distance combinée à un flux de gènes très limité entre les populations. Il faut noter également qu'une différenciation génétique temporelle (trois dates d'échantillonnage sur deux ans) a été trouvée chez la moitié des sites étudiés. Nos résultats sur les hauts niveaux de différenciation entre populations sont liés aux forts taux d'autofécondation et aux goulots d'étranglement que subissent les populations lors de certaines crues, augmentant ainsi l'impact de la dérive sur la structure génétique. Les populations de mollusques analysées vivent en effet dans des sites isolés sans aucune communication et les migrations des mollusques sont difficiles, voire impossibles entre sites.

L'étude de la **génétique des populations de *B. pfeifferi* en relation avec l'albinisme**, rencontré dans les conditions naturelles, constitue la première étude du

genre. Les paramètres de la diversité génétique, comme le paramètre *He*, montrent que le morphe pigmenté présente une plus grande diversité que le morphe albinos. Cette différence s'observe sur les données globales et sur les données par site. Les données d'estimation de la divergence indiquent que l'albinisme est très récent à Siginitti et qu'il l'est encore plus à Tibraq. Selon les données des études de terrain (Mouahid *et al.* Accepté; Annexe 2), le morphe albinos a été échantillonné pour la première fois en Mai-2001 à Siginitti et en Mai-2007 à Tibraq. Le morphe albinos a donc une histoire récente comparée au morphe pigmenté et ceci expliquerait la faible diversité génétique de ce morphe. Les deux morphes pigmenté et albinos, qui cohabitent dans un même site, sont significativement différenciés au point que l'on puisse les considérer comme deux populations éloignées. Une explication se situe dans l'apparition récente de l'albinisme. Le morphe albinos serait issu du morphe pigmenté récemment par mutation dans chacun des deux sites. Les données d'échantillonnage montrent que le morphe albinos a été repéré après le morphe pigmenté. Le manque de brassage génétique lié aux forts taux d'autofécondation agit ainsi comme une barrière qui maintient la différenciation et même l'accentuant en fonction du temps.

L'ensemble des particularités génétiques de *B. pfeifferi* dans le Dhofar, additionné de la découverte d'une population de *S. mansoni* dont le profil d'émission est strictement nocturne, étaient à la base des questions posées sur les **interactions hôte-parasite et leurs conséquences sur la transmission au vertébré**. Pour répondre à ces questions, nous avons construit 8 combinaisons hôte-parasite en tenant compte de la catégorie du site (naturel *versus* aménagé), du morphe de *B. pfeifferi* (pigmenté *versus* albinos) et de la population de *S. mansoni* (humaine *versus* murine).

La première question était de connaître **l'impact de *S. mansoni* sur les traits d'histoire vie de *B. pfeifferi***. Les résultats montrent que dans toutes les combinaisons les mollusques parasités ont une croissance significativement plus importante que celle des mollusques sains et que leur activité de reproduction est considérablement réduite voire supprimée. La castration totale est exercée par la population murine de *S. mansoni*. Malgré cela, la survie des mollusques parasités n'est pas différente de celle des mollusques sains. **La population de *S. mansoni* (humaine *versus* murine)** a eu un impact fort sur les relations avec *B. pfeifferi*: alors que le taux d'infestation reste

inchangé, la population humaine de *S. mansoni* diffère significativement de la population murine avec une période prépatente plus courte, une production cercarienne et une transmission plus élevées. **L'analyse de la catégorie du site (naturel versus aménagé)** s'est soldée par une absence de différences significatives. La diversité génétique des sites naturels, plus élevée que celle des sites aménagés, ne s'est pas accompagnée par une différence au niveau de la transmission du parasite au vertébré. **L'analyse du morphe du mollusque (pigmenté versus albinos)** a donné des résultats surprenants puisque l'albinisme n'est jamais associé à des traits désavantageux. Les traits de vie des mollusques albinos sont soit semblables à ceux des mollusques pigmentés soit plus performants (croissance, fécondité et survie). Le morphe albinos ne semble pas induire une faible valeur sélective chez *B. pfeifferi*, contrairement à ce qui est connu chez d'autres espèces comme l'Homme. Quant aux traits de vie du parasite, le morphe du mollusque a peu d'influence dans la plupart des traits, à l'exception de *S. mansoni* population humaine qui transmet deux fois plus de cercaires sur des mollusques pigmentés que sur des albinos de Siginitti.

Au terme de cette thèse, les **perspectives** peuvent être déclinées selon trois axes principaux de recherche.

Le premier axe permettra la **recherche de nouveaux loci microsatellites polymorphes** afin de pouvoir tester l'hypothèse d'un excès d'hétérozygotie transitoire à l'équilibre dérive-mutation et afin d'analyser les effectifs efficaces associés dans l'ensemble des populations étudiées. Les résultats de nos analyses montrent, en effet, que sur les 9 loci microsatellites étudiés, seuls 6 loci présentent un polymorphisme intra population. De plus, un certain nombre de populations ont moins de 4 loci polymorphes. Ceci rend impossible l'exécution de certaines analyses, notamment la recherche d'un excès d'hétérozygotie ou le calcul des effectifs efficaces. L'idée consiste à définir de nouveaux marqueurs microsatellites qui présenteraient un polymorphisme dans les populations pour lesquelles moins de quatre loci polymorphes ont été étudiés. Nous fixons notre objectif à la découverte de 6 nouveaux marqueurs polymorphes, ce qui amènerait à 10 le total de loci polymorphes pour la majorité des populations étudiées.

Le deuxième axe envisagera de suivre la **dynamique spatio-temporelle des populations de *B. pfeifferi*** à intervalles de temps réguliers et dans des sites ciblés afin de combiner les résultats de ces suivis de la dynamique des populations aux résultats de génétique des populations. Notre travail a mis en évidence l'importance des goulots d'étranglement démographique dans la structure génétique neutre de certaines populations de *B. pfeifferi* testées. Les populations n'étant donc pas toujours en équilibre démographique, une analyse des processus de dynamique, en plus de la génétique des populations, peut permettre de mieux décrire les forces évolutives agissant sur les populations naturelles. Nous proposons un suivi à intervalles de temps réguliers des populations de *B. pfeifferi* du Dhofar permettant d'avoir une idée précise de la dynamique des populations de ces mollusques au cours d'une année complète et nous permettant de connaître les périodes de fortes et de faibles densités. Ce suivi devra se faire dans le maximum de sites possibles afin d'échantillonner dans les trois massifs du Dhofar et dans des sites naturels et aménagés de différentes altitudes. De plus, un suivi de cette dynamique devrait être réalisé à la fois pour les mollusques pigmentés et les mollusques albinos dans les deux sites où l'albinisme est présent, Siginitti et Tibraq.

Le troisième axe envisagera les conséquences de la très forte structuration des populations de mollusques hôte intermédiaires sur la **mise en place d'adaptations locales et sur la transmission et la possibilité d'expansion du schistosome**. En effet, même si nous avons travaillé sur des loci neutres et non sur des loci de susceptibilité et/ou résistance, à la lumière des précédentes études, on s'attend à ce que dans notre modèle où les populations de mollusques sont fortement différenciées génétiquement, il va exister un polymorphisme de compatibilité, avec des combinaisons plus compatibles et d'autres moins compatibles. Un tel modèle favorise une adaptation et une installation locale du parasite au niveau de certains sites (Kaltz et Shykoff 1998; Prugnolle *et al.* 2005). Nous avons montré dans cette thèse que les populations de *B. pfeifferi* du Dhofar sont fortement différenciées au niveau spatial et, pour certaines, également au niveau temporel. La conséquence de cette structuration sur la transmission du parasite a été analysée en combinant un certain nombre de traits d'histoire de vie de l'hôte mollusque et du schistosome, et nous avons déjà montré l'importance de certaines combinaisons hôte-parasite par rapport à d'autres sur la transmission du parasite. Quelques combinaisons ont été testées dans le cadre de cette thèse (huit sur quarante

combinaisons possibles). Elles indiquent que les taux d'infestations sont généralement équivalents entre les populations testées. Toutefois, en combinant tous les traits d'histoire de vie du parasite et du mollusque, les résultats de nos analyses indiquent que certains facteurs permettent une meilleure transmission que d'autres. Il semblerait que le parasite ne pourra se transmettre efficacement et durablement que localement, au niveau de certains sites où certains facteurs lui seront favorables. Il s'agira d'acquérir les données de traits d'histoire de vie sur l'ensemble des combinaisons afin d'identifier celles qui révéleront les adaptations les plus marquées et celles qui constitueront les combinaisons les plus à risque pour la santé humaine dans le Dhofar.



## REFERENCES

---

### A

---

- Allegretti S. M., Carvalho J. F., Magalhaes L. A. & Zanotti-Magalhaes E. M. (2009). Behaviour of albino and melanic variants of *Biomphalaria glabrata* Say, 1818 (Mollusca: Planorbidae) following infection by *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. *Brazilian Journal of Biology*, 69, 217-222.
- Anderson E. C., Williamson E. G. & Thompson E. A. (2000). Monte Carlo evaluation of the likelihood for  $N_e$  from temporally spaced samples. *Genetics*, 156, 2109-2118.
- Arfaa F. (1976). Studies on Schistosomiasis in Saudi Arabia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 25, 295-298.
- Arfaa F. (1982). Schistosomiasis Control in the Sultanate of Oman. (EM/SCHIS/81) WHO, Geneva.
- Attwood S. W., Panasonponkul C., Upatham E. S., Meng X. H. & Southgate V. R. (2002a). *Schistosoma ovuncatum* n. sp. (Digenea: Schistosomatidae) from northwest Thailand and the historical biogeography of Southeast Asian *Schistosoma* Weinland, 1858. *Systematic Parasitology*, 51, 1-19.
- Attwood S. W., Upatham E. S., Meng X. H., Qiu D. C. & Southgate V. R. (2002b). The phylogeography of Asian *Schistosoma* (Trematoda: Schistosomatidae). *Parasitology*, 125, 99-112.
- Aul B. & Marimuthu G. (2006). Sighting of an albino bat in a colony of cave-dwelling microchiropteran, *Hipposideros diadema nicobarensis* at the Nicobar Islands. *Current Science India*, 90, 912-914.

### B

---

- Baluku B. & Loreau M. (1989). Etude comparative de la dynamique des populations de *Biomphalaria pfeifferi* (Gastropoda, Planorbidae) dans deux cours d'eau du Zaïre oriental. *Journal of African Zoology*, 103, 311-325.
- Bandoni S.M., Mulvey M., Koech D. K. & Loker E. S. (1990). Genetic structure of Kenyan populations of *Biomphalaria pfeifferi* (Gastropoda: Planorbidae). *Journal of Molluscan Studies*, 56, 383-391.
- Brandon R. A. & Rutherford J. M. (1967). Albinos in a cavernicolous population of the salamander *Gyrinophilus porphyriticus* in West Virginia. *The American Midland Naturalist*, 78, 537-540.
- Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N. & Bonhomme F (1996-2004) GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5171, Université de Montpellier II, Montpellier (France).

- Broom D. M. (1979). Methods of detecting and analysing activity rhythms. *Biology of Behaviour*, 1, 3-18.
- Brown A. H. D. (1970). The estimation of Wright's fixation index from genotypic frequencies. *Genetica*, 41, 399-406.
- Brown D. S. (1994). *Freshwater Snails of Africa and their Medical Importance*. Second edition. Taylor & Francis, London.
- Brown D. S. & Gallagher M. D. (1985). Freshwater snails of Oman, South Eastern Arabia. *Hydrobiologia*, 127, 125-149.

---

## C

---

- Campbell G., Jones C. S., Lockyer A. E., Hughes S., Brown D., Noble L. R. & Rollinson D. (2000). Molecular evidence supports an African affinity of the Neotropical freshwater gastropod, *Biomphalaria glabrata*, Say 1818, an intermediate host for *Schistosoma mansoni*. *Proceedings of the Royal Society B*, 267, 2351-2358.
- Charbonnel N., Angers B., Razatavonjizay R., Brémond P. & Jarne P. (2000). Microsatellite variation in the freshwater snail *Biomphalaria pfeifferi*. *Molecular Ecology*, 9, 993-1011.
- Charbonnel N., Angers B., Rasatavonjizay R., Brémond P., Debain C. & Jarne P. (2002a). The influence of mating system, demography, parasites and colonization on the population structure of *Biomphalaria pfeifferi* in Madagascar. *Molecular Ecology*, 11, 2213-2228.
- Charbonnel N., Quesnoit M., Razatavonjizay R., Brémond P. & Jarne P. (2002b). A spatial and temporal approach to microevolutionary forces affecting population biology in the freshwater snail *Biomphalaria pfeifferi*. *The American Naturalist*, 160, 741-755.
- Cockerham C. C. & Weir B. S. (1977). Digenic descent measures for finite populations. *Genetical Research*, 30, 121-147.
- Combes C. (1990). Where do human schistosomes come from? An evolutionary approach. *Trends in Ecology and Evolution*, 5, 334-337.
- Combes C. (1995). *Interactions durables: Ecologie et Evolution du Parasitisme*. Collection Ecologie, MASSON, Paris. 524 p.
- Coombs J. A., Letcher, B. H., & Nislow, K. H. (2007). CREATE 1.0 – Software to create and convert codominant molecular data.  
<http://www.lsc.usgs.gov/CAFL/Ecology/Ecology/html>.
- Corn P. S. (1986). Genetic and developmental studies of albino chorus frogs. *Journal of Heredity*, 77, 164-168.
- Cornuet J. M. & Luikart G. (1996). Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, 144, 2001-2014.

Crow J. F. & Kimura M. (1970). An introduction to population genetics theory. Harper & Row, New York.

---

## D

---

Dejong R.J., Morgan J. A., Paraense W. L., Pointier J. P., Amarista M., Ayeh-Kumi P. F., Babiker A., Barbosa C. S., Brémond P., Canese P. A., de Souza C. P., Dominguez C., File S., Gutierrez A., Incani R. N., Kawano T., Kazibwe F., Kpikpi J., Lwambo N. J., Mimpfoundi R., Njiokou F., Poda N. J., Sene M., Velásquez L. E., Yong M., Adema C. M., Hofkin B. V., Mkoji G. M. & Loker E. S. (2001). Evolutionary relationships and biogeography of *Biomphalaria* (Gastropoda: Planorbidae) with implications regarding its role as host of the human blood fluke, *Schistosoma mansoni*. *Molecular Biology and Evolution*, 18, 2225-2239.

Dejong R.J., Morgan J. A. T., Wilson W. D., Al-Jaser M. H., Appleton C. C., Coulibaly G., D'andrea P. S., Doenhoff M. J., Haas W., Idris M. A., Magalhaes L. A., Moné H., Mouahid G., Mubila L., Pointier J.-P., Webster J. P., Zanotti-Magalhaes E. M., Paraense W. L., Mkoji G. M. & Loker E. S. (2003). Phylogeography of *Biomphalaria glabrata* and *B. pfeifferi*, important intermediate hosts of *Schistosoma mansoni* in the New and Old World tropics. *Molecular Ecology*, 12, 3041-3056.

De Kock K. N. (1992). The effect of exposure to selected numbers of *Schistosoma mansoni* miracidium on survival of cohorts of *Biomphalaria pfeifferi*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 86, 557-562.

Desprès L., Imbert-Establet D., Combes C. & Bonhomme F. (1992). Molecular evidence linking hominid evolution to recent radiation of schistosomes (Platyhelminthes: Trematoda). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1, 295-304.

Desprès L., Imbert-Establet D. & Monnerot M. (1993). Molecular characterization of mitochondrial DNA provides evidence for the recent introduction of *Schistosoma mansoni* into America. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 60, 221-230.

Dillon R. T. & Wethington A. R. (1992). The inheritance of albinism in a freshwater snail, *Physa heterostropha*. *Journal of Heredity*, 83, 208-210.

Duvall R. H. & Dewitt W. B. (1967). An improved perfusion technique for recovering adult schistosomes from laboratory animals. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 16, 483-486.

---

## E

---

Elliott J. M. (1983). Some methods for the statistical analysis of samples of benthic invertebrates. *Freshwater Biological Association. Scientific Publication N°25*, 159p.

Excoffier, L., Smouse P. E. & Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, 479-491.

Excoffier L., Laval G. & Schneider S. (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, 47-50.

---

## F

---

- Felsenstein J. (2008). PHYLIP (Phylogeny inference package), version 3.68. Department of Genetics, University of Washington, Seattle (WA).
- Foxe J. P., Slotte T., Stahl E. I., Neuffer B., Hurka H. & Wright S. I. (2009). Recent speciation associated with the evolution of selfing in *Capsella*. Proceedings of the National Academy of Science, 106, 5241-5245.

---

## G

---

- Gérard C., Moné H. & Théron A. (1993). *Schistosoma mansoni*-*Biomphalaria glabrata*: dynamics of the sporocyst population in relation to the miracidial dose and the host size. Canadian Journal of Zoology, 71, 1880-1885.
- Githaiga H. K. (1983). Schistosomiasis Prevention and Control in the Sultanate of Oman. (EM/SCHIS/85. EM/OMA/MPD/002/RB, January 1983) WHO, Geneva.
- Goudet J. (1995). FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate F-Statistics. Journal of Heredity, 86, 485-486. <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>
- Goudet J. (1999). PCA-GEN. Principal component analysis using gene frequency data. <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/pcagen.htm>
- Goudet J. (2001). FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. <http://www2.unil.ch/izea/softwares/fstat.html>
- Gow J. L., Noble L. R., Rollinson D., Mimpfoundi R. & Jones C. S. (2004). Breeding system and demography shape population genetic structure across ecological and climatic zones in the African freshwater snail, *Bulinus forskalii* (Gastropoda, Pulmonata), intermediate host for schistosomes. Molecular Ecology, 13, 3561-3573.
- Gracio M. A. A. (1988). A comparative laboratory study of *Bulinus (Physopsis) globosus* uninfected and infected with *Schistosoma haematobium*. Malacological review, 21, 123-127.

---

## H

---

- Hanelt B., Brant S. V., Steinauer M., Maina G. M., Kinuthia J. M., Agola L. E., Mwangi I. N., Mungai B. N., Mutuku M. W., Mkoji G. M. & Loker E. S. (2009). *Schistosoma kisumuensis n. sp.* (Digenea: Schistosomatidae) from murid rodents in the Lake Victoria Basin, Kenya and its phylogenetic position within the *S. haematobium* species group. Parasitology, 136, 987-1001.
- Hazza Y. A., Arfaa F. & Haggar M. (1983). Studies on schistosomiasis in Taiz Province, Yemen Arab Republic. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 32, 1023-1028.
- Henry P. I., Bousset L., Sourrouille P. & Jarne P. (2005). Partial selfing, ecological disturbance and reproductive assurance in an invasive freshwater snail. Heredity, 95, 428-436.
- Hong E. S., Zeeb H. & Repacholi M. H. (2006). Albinism in Africa as a public health issue. BMC Public Health, 6: 212.

---

## I

---

- Ibikounlé M., Mouahid G., Sakiti N. G., Massougbdji A. & Moné H. (2009). Freshwater snail diversity in Benin (West Africa) with a focus on human schistosomiasis. *Acta Tropica*, 111, 29-34.
- Idris M. A., Ruppel A., Numrich P., Eschlbeck A., Shaban M. A. A. & Diesfeld H. J. (1994). Schistosomiasis in the southern region of Oman: vector snails and serological identification of patients in several locations. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 97, 205-210.
- Idris M. A., Shaban M., Richter J., Moné H., Mouahid G. & Ruppel A. (2003). Emergence of infections with *Schistosoma mansoni* in the Dhofar Governorate, Oman. *Acta Tropica*, 88, 137-144.

---

## J

---

- Jarne P. & Lagoda P. J. L. (1996). Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Evolution and Ecology*, 11, 424-429.
- Jelnes J. E. (1980). Genetic and taxonomic studies on natural populations of *Bulinus* and *Biomphalaria*. *Haliotis*, 10, 70.
- Jones C., Locker A.E., Rollinson D., Piertney S. B. & Noble L. R. (2000). Isolation and characterization of microsatellite loci in the freshwater gasteropod, *Biomphalaria glabrata*, an intermediate host for *Schistosoma mansoni*. *Molecular Ecology*, 8, 2149-2151.
- Joose J. & Van Elk R. (1986). *Trichobilharzia ocellata*: Physiological characterisation of giant growth, glycogen depletion and absence of reproductive activity in the intermediate snail host, *Lymnaea stagnalis*. *Experimental Parasitology*, 62, 1-13.

---

## K

---

- Kaltz O. & Shykoff J. A. (1998). Local adaptation in host-parasite systems. *Heredity*, 81, 61-370.
- Kimura M. (1968). Evolutionary rate at the molecular level. *Nature*, 217, 624-626.
- Koul R., Poovathoor A., Scrimgeour E. M., Idris M. A. & Kunju J. (2002). *Schistosoma mansoni* myeloradiculopathy in an 8-year-old Omani boy. *Journal of Tropical Paediatrics*, 48, 183-186.

---

## L

---

- Langand J (1997). Les mollusques face aux digènes. Structuration des populations, polymorphisme génétique intrapopulationnel de la résistance à *Schistosoma mansoni* et à *Echinostoma caproni* chez des mollusques du genre *Biomphalaria*. Thèse de Doctorat, Université de Perpignan, Perpignan, 148p.
- Lockyer A. E., Olson P. D., Ostergaard P., Rollinson D., Johnston D. A., Attwood S. A., Southgate V. R., Horak P., Snyder S. D., Le T. H., Agatsuma T., McManus D. P., Carmichael A. C., Naem S. & Littlewood D. T. J. (2003). The phylogeny of the

Schistosomatidae based on three genes with emphasis on the interrelationships of *Schistosoma* Weiland, 1858. *Parasitology*, 126, 203-224.

Looker D. L. & Etges F. J. (1979). Effect of *Schistosoma mansoni* infection on fecundity and perivitelline fluid composition in *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology*, 65, 880-885.

Lookingbill D.P., Lookingbill G. L., & Leppard B. (1995). Actinic damage and skin cancer in albinos in northern Tanzania: Findings in 164 patients enrolled in an outreach skin care program. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 32, 653-658.

---

## M

---

MacArthur R. H. & Wilson E. O. (1967). *The theory of Island Biogeography*. Princeton University Press, 203p.

McClelland G. & Bourns T. K. (1969). Effects of *Trichobilharzia ocellata* on growth, reproduction, and survival of *Lymnaea stagnalis*. *Experimental parasitology*, 24, 137-146.

Madsen H., Daffalla A. A., Karoum K. O. & Frandsen F. (1988). Distribution of freshwater snails in irrigation schemes in the Sudan. *Journal of Applied Ecology*, 25, 853-866.

Makanga B. (1981). The effect of varying the number of *Schistosoma mansoni* miracidium on the reproductive and survival of *Biomphalaria pfeifferi*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 37, 7-10.

Maruyama T. & Fuerst P. (1985). Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. II. Number of alleles in a small population that was formed by a recent bottleneck. *Genetics*, 111, 675-689.

Mavarez J., Amarista M., Pointier J. P. & Jarne P. (2000). Microsatellite variation in the freshwater schistosome-transmitting snail *Biomphalaria glabrata*. *Molecular Ecology*, 9, 993-1011.

Mavarez J., Amarista M., Pointier J. P. & Jarne P. (2002a). Fine-scale population structure and dispersal in *Biomphalaria glabrata*, the intermediate snail host of *Schistosoma mansoni* in Venezuela. *Molecular Ecology*, 11, 879-889.

Mavarez J., Pointier J. P., David P. Delay B. & Jarne P. (2002b). Genetic differentiation, dispersal and mating system in the schistosome-transmitting freshwater snail *Biomphalaria glabrata*. *Heredity*, 89, 258-265.

Meuleman E. A. (1972). Host-parasite interrelationships between the freshwater pulmonate *Biomphalaria pfeifferi* and the trematode *Schistosoma mansoni*. *Netherlands Journal of Zoology*, 22, 355-427.

Meunier C., Hurtrez-Bousses S., Durand P., Rondelaud D. & Renaud F. (2004). Small effective population sizes in a widespread selfing species, *Lymnaea truncatula* (Gastropoda: Pulmonata). *Molecular Ecology*, 13, 2535-2543.

- Minchella D. J. & Loverde P. T. (1981). A cost of increased reproductive effort in the snail *Biomphalaria glabrata*. *American Naturalist*, 118, 876–881.
- Moné H., Mouahid G., Shaban M. A., Al Jabri A. A., Boissier J., Ruppel A. & Idris M. A. (2003). Ecology and molecular studies on emerging *schistosomiasis mansoni* in Dhofar Governorate, Sultanate of Oman. *Tropical Medicine & International Health*, 8, 269-276.
- Morgan J. A. T., DeJong R. J., Kazibwe F., Mkoji G. M. & Loker E. S. (2003). A newly-identified lineage of *Schistosoma*. *International Journal for Parasitology*, 33, 977.
- Morgan A.T., DeJong R.J., Ansa E.D.O., Barbosa C.S., Brémond P., Cesari I.M., Charbonnel N., Correa L.R., Coulibaly G., D’Andrea P.S., Pereira de Souza C., Doenhoff M.J., File S., Idris M.A., Incani R.N., Jarne P., Karanja D.M.S., Kazibwe F., Kpikpi J., Lwambo N.J.S., Magalhaes L.A., Makundi A., Moné H., Mouahid G., Muchemi G.M., Mungai B.N., Séné M., Southgate V., Théron A., Yousif F., Zanotti-Magalhaes E.M., Mkoji G.M. & Loker E.S. (2005). Origin and diversification of the human parasite *Schistosoma mansoni*. *Molecular Ecology*, 14, 3889-3902.
- Mouahid A. & Théron A. (1986). *Schistosoma bovis*: Patterns of cercarial emergence from snails of the genera *Bulinus* and *Planorbarius*. *Experimental Parasitology*, 62, 389-393.
- Mouahid G., Idris M. A., Verneau O., Tisseyre P., Shaban M. A., Al Yafee S. & Moné H. (2006). Evidence of strictly nocturnal cercarial emissions in *Schistosoma mansoni*. 11<sup>th</sup> International Congress of Parasitology (ICOPA XI) Glasgow, UK (06 to 11 August).
- Mouahid G., Mintsa Nguema R., Idris M. A., Shaban M. A., Al Yafee S., Languard J., Verdoit-Jarraya M., Galinier R. & Moné H. (in press; 2010). High phenotypic frequencies of complete albinism in wild populations of *Biomphalaria pfeifferi* (Gastropoda: Pulmonata). *Malacologia*.

---

## N

---

- Ndifon G. T. & Ukoli F. M. A. (1989). Ecology of freshwater snails in south-western Nigeria. I: Distribution and habitat preferences. *Hydrobiologia*, 171, 231-253.
- Nei M. (1972). Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, 106, 283-292.
- Nei M. (1976). Mathematical model of speciation and genetic distance. *In: Population Genetics and Ecology* (eds Karlin S. & Nevo E.), 723-765 p. Academic Press, New York.
- Nei M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89, 583-590.
- Nei M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.

Nei M., Maruyama T. & Chakraborty R. (1975). The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, 29, 1-10.

Newton W. L. (1954). Albinism in *Australorbis glabratus*. Proceedings of the Helminthological Society of Washington, 21, 72-74.

---

**P**

---

Pagès J. R., Jourdane J., Southgate V. R. & Tchuem Tchuente L. A. (2003). Reconnaissance de deux espèces jumelles au sein du taxon *S. intercalatum* (Fisher, 1934), agent de la schistosomose humaine rectale. Description de *S. guineensis* n. sp. Taxonomie, écologie et évolution des métazoaires parasites. Combes C. & Jourdane J. (édition), collection études, Presses Universitaires de Perpignan, 2, 139-146.

Pan C. T. (1965). Studies on the host-parasite relationship between *Schistosoma mansoni* and the snail *Australorbis glabratus*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 14, 931-976.

Platt T. R., Blair D., Purdie J. & Meville L. (1991). *Griphobilharzia amoena* n. gen., n. sp. (Digenea: Schistosomatidae), a parasite of the freshwater crocodile *Crocodylus johnstoni* (Reptillia: Crocodylia) from Australia, with the erection of the new subfamily, Griphobilharziinae. *Journal of Parasitology*, 77, 65-68.

Piry S., Luikart G. & Cornuet J. M. (1999). Bottleneck: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity*, 90, 502-503.

Prugnolle F., Théron A., Pointier J. P., Jabbour-Zahab R., Jarne P., Durand P. & De Meeus T. (2005). Dispersal in a parasitic worm and its hosts: consequence for local adaptation. *Evolution*, 59, 296-303.

---

**R**

---

Rice W. R. (1989). Analysing tables of statistical tests. *Evolution*, 43, 223-225.

Rollinson D. & Southgate V. R. (1987). The genus *Schistosoma*: a taxonomic appraisal. In *The biology of Schistosomes. From genes to latrines*. Eds. Rollinson D. & Simpson A. J. G. Academic Press. Londres. 472p.

Rosa F. M., Caldeira R. L., Carvalho O. dos S., Godard A. L. B. & Coelho P. M. Z. (2004). Dominant character of the molecular marker of a *Biomphalaria tenagophila* strain (Mollusca: Planorbidae) resistant to *Schistosoma mansoni*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99, 85-87.

Rousset F. (1997). Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics*, 145, 1219-1228.

Ruelas D.S., Karentz D. & Sullivan J. T. (2006). Lethal and sub-lethal effects of UVB on juvenile *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata). *Journal of Invertebrate Pathology*, 93, 192-200.

---

**S**

---

Saporta G. (1990). *Probabilités, Analyse des Données et Statistiques*. Technip, Paris.

- Scrimgeour E. M., Koul R., Sallam J. & Idris M. A. (2001). Resurgence of schistosomiasis mansonii in Oman. *Tropical Doctor*, 31, 185-186.
- Scrimgeour E. M., Mehta F. R. & Suleiman A. M. (1999). Infectious and tropical diseases in Oman: a review. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 6, 920-925.
- Shaban M. A. (1995). Role of organizational cooperation in schistosomiasis eradication in Dhofar governorate. *Oman Medical Journal*, 12, 17-19.
- Sluiters J. F., Brussard-Wust C. M. & Meuleman E. A. (1980). The relationship between miracidial dose, production of cercariae and reproductive activity of the host in the combination *Trichobilharzia ocellata* and *Lymnaea stagnalis*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 63, 13-26.
- Snyder S. D. & Loker E. S. (2000). Evolutionary relationships among the Schistosomatidae (Platyhelminthes: Digenea) and an Asian origin for *Schistosoma*. *Journal of Parasitology*, 86, 283-288.
- Southgate V. R., Tchuem Tchuente L. A., Théron A., Jourdan J., Moncrieff C. B. & Gryseels B. (2000). Compatibility of *Schistosoma mansoni* Cameroon and *Biomphalaria pfeifferi* Senegal. *Parasitology*, 121, 501-505.
- Stebbins G. L. (1957). Self-fertilization and population variability in the higher plants. *The American Naturalist*, 91, 337-354.
- Steinmann P., Keiser J., Tanner M. & Utzinger J. (2006). Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. *The Lancet Infectious Diseases*, 6, 411-425.
- Sturrock B. M. & Sturrock R. F. (1970). Laboratory studies of the host-parasite relationship of *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria glabrata* from St Lucia, West Indies. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 64, 357-363.
- Sulaiman S. M. & Ibrahim S. M. (1985). *Schistosoma mansoni* (Gezira) infection in *Biomphalaria pfeifferi* snail from Gezira and Jebel Marra. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 88, 91-93.

---

## T

---

- Tchuem Tchuente L.A., Southgate V.R., Théron A., Jourdan J., Ly A. & Gryseels B. (1999). Compatibility of *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria pfeifferi* in Northern Senegal. *Parasitology*, 118, 595-603.
- Théron A. (1982). Le compartiment cercaire dans le cycle de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. Ecologie de la transmission bilharzienne en Guadeloupe. Thèse de doctorat. Université de Perpignan, Perpignan, 506p.
- Théron A. & Moné H. (1984). Chronobiological aspects of the host-parasite relationships between *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni*: cercarial production and infectivity, and growth kinetics of the host. *Journal of Invertebrate Pathology*, 44, 209-213.

- Théron A., Moné H. & Gérard C. (1992a). Spatial and energy compromise between host and parasite : the *Biomphalaria glabrata*-*Schistosoma mansoni* system. *International Journal for Parasitology*, 22, 91-94.
- Théron A., Gérard C. & Moné H. (1992b). Early enhanced growth of the digestive gland of *Biomphalaria glabrata* infected with *Schistosoma mansoni*: side effect or parasite manipulation?. *Parasitology Research*, 78, 445-450.
- Théron A., Pointier J. P. & Combes C. (1978). Approche écologique du problème de l'Homme et du Rat dans le fonctionnement d'un site de transmission à *Schistosoma mansoni* en Guadeloupe. *Annales de Parasitologie*, 52, 223-234.
- Thornhill J.A., Jones J.T. & Kusel J.R. (1986). Increased oviposition and growth in immature *Biomphalaria glabrata* after exposure to *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 93, 443-450.

---

#### U

- Utzing J., Mayombana C., Mez K. & Tanner M. (1997a). Evaluation of chemical and physical-morphological factors as potential determinants of *Biomphalaria pfeifferi* (Krauss, 1848) distribution. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92, 323-328.
- Utzing J., Mayombana C., Smith T. & Tanner M. (1997b). Spatial microhabitat selection by *Biomphalaria pfeifferi* in a small perennial river in Tanzania. *Hydrobiologia*, 356, 53-60.

---

#### V

- Viard F., Brémond P., Labbo R., Justy F., Delay B. & Jarne P. (1996). Microsatellites and the genetics of highly selfing populations in the freshwater snail *Bulinus truncatus*. *Genetics*, 142, 1237-1247.

---

#### W

- Webster J.P., Davies C. M., Hoffman J. I., Ndamba J., Noble L. R. & Woolhouse M. E. (2001a). Population genetics of the schistosome intermediate host *Biomphalaria pfeifferi* in the Zimbabwean highveld: implications for co-evolutionary theory. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 95, 203-214.
- Webster J.P., Davies C. M., Ndamba J., Noble L. R., Jones C. S. & Woolhouse M. E. (2001b). Spatio-temporal genetic variability in the schistosome intermediate host *Biomphalaria pfeifferi*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 95, 515-527.
- Webster B. L., Southgate V. R. & Littlewood T. J. (2006). A revision of the interrelationships of *Schistosoma* including the recently described *Schistosoma guineensis*. *International Journal for Parasitology*, 36, 947-955.
- Weir B. S. & Cockerham C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38, 1358-1370.
- Wigginton J., Cutler D. & Abecasis G. (2005). A note on exact tests of Hardy-Weinberg equilibrium. *The American Journal of Human Genetics*, 76, 887-893.
- Wilson G. A. & Rannala B. (2003). Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics*, 163, 1177-1191.

Woodruff D. S. & Mulvey M. (1997). Neotropical schistosomiasis: African affinities of the host snail *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 60, 505-516.

Wright C. A. & Brown D. S. (1980). The freshwater Mollusca of Dhofar. *The Journal of Oman Studies*, Special Report N°2, 97-102.

---

**Z**

Zhang L., Li Q. J., Li H. T., Chen J. & Li D. Z. (2006). Genetic diversity and geographic differentiation in *Tacca chantrieri* (Taccaceae): an autonomous selfing plant with showy floral display. *Annals of Botany*, 98, 449-457.

Zar J.H. (1996). *Biostatistical analysis*. 3rd edn. Prentice-Hall International, London, 662p.

# Annexes



## ***ANNEXE 1***



## Morphometric and molecular characterizations of schistosome populations in Estuaire province Gabon

R. Mintsu Nguema<sup>1</sup>, K. Mengue Ngou Milama<sup>2</sup>, M. Kombila<sup>3</sup>,  
D. Richard-Lenoble<sup>2</sup>, P. Tisseyre<sup>1</sup>, M. Ibikounlé<sup>4</sup>, H. Moné<sup>1</sup> and  
G. Mouahid<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Biologie et d'Ecologie Tropicale et Méditerranéenne, UMR 5244 CNRS-EPHE-UPVD, Université de Perpignan, Perpignan, France: <sup>2</sup>Service de Parasitologie-Mycologie-Médecine Tropicale, Faculté de Médecine de Tours, CHRU Bretonneau, Tours, France: <sup>3</sup>Département de Parasitologie-Mycologie, Faculté de médecine, Université des Sciences de la Santé, Libreville, Gabon: <sup>4</sup>Département de Zoologie et Génétique, Laboratoire de Parasitologie et d'Ecologie parasitaire, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin

(Accepted 12 March 2009; First Published Online 22 July 2009)

### Abstract

The aim of this study was to test the hypothesis of the presence of hybrids between *Schistosoma guineensis* and *S. haematobium* in the Estuaire province (Western Gabon). Egg morphometry and single-stranded conformational polymorphism (SSCP) analysis on adult worms were used in order to characterize the schistosome populations of two sites. The morphology of the eggs showed three morphotypes: *S. haematobium*, *S. guineensis* and intermediate morphotypes, but the eggs of the morphotype *S. guineensis* were smaller compared to the values found in the literature. Furthermore, the SSCP analysis of the adult schistosomes showed that all the patterns corresponded to that of *S. haematobium* and gave evidence that hybrids were absent from our samples.

### Introduction

Schistosomiasis is a parasitic disease caused by digenean trematodes living in the vascular system of vertebrates. These worms are members of the family Schistosomatidae, and they are unusual since they are dioecious. Hybridization between closely related species is possible. The genus *Schistosoma* includes 21 species; one-third are responsible for human schistosomiasis, four of which exist in Africa: *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, *S. intercalatum* and *S. guineensis*. Both *S. mansoni* and *S. haematobium* have a large geographical distribution in Africa, whereas *S. intercalatum* is limited

to the Democratic Republic of the Congo and *S. guineensis* to the Lower Guinean Gulf (Cameroon, Equatorial Guinea, Saô Tomé and Gabon) (Brown *et al.*, 1984; Pagès *et al.*, 2003).

Two species of human schistosomes exist in Gabon: *S. guineensis* and *S. haematobium* (Gilles, 1971). The hypothesis of a hybridization zone between *S. guineensis* and *S. haematobium* has been suggested in two provinces of western Gabon, Moyen-Ogooué (Burchard & Kern, 1985) and Estuaire (Richard-Lenoble, 1993). The aim of this study was to validate, or not, the presence of hybrids between *S. guineensis* and *S. haematobium* in Estuaire province by using egg morphometry and a powerful molecular tool in identification of schistosomes (Kane *et al.*, 2002) and their hybrids (Webster *et al.*, 2005, 2007), the single-stranded conformational polymorphism (SSCP) analysis.

\*Fax: + 33 468 662 281  
E-mail: mouahid@univ-perp.fr

## Materials and methods

### *Malacological and parasitological surveys*

Malacological surveys were focused on the snail intermediate hosts of human schistosomiasis (*Bulinus* spp.). Two waterbodies of the Estuaire province were visited: Melen, situated in Libreville city (09°30'59.55" East; 00°23'46.22" North; 16 m altitude) and Ekouk (10°21'00.20" East; 00°04'48.64" South; 65 m altitude). Freshwater snails were collected for 1 h by one person using a stainless-steel strainer (18 cm wide, 8 cm deep, 20 cm handle, and < 1 mm wide holes) attached to a handle. Submerged and emergent vegetation, as well as floating plants, were screened. For each waterbody, collected snails were carefully stored in plastic boxes (70 mm high and 35 mm in diameter), and taken to the laboratory in Libreville, Gabon. The snails were kept in glass vials with 150 ml of well water, and exposed to daylight. The water was examined under a binocular microscope for cercarial emergence 24 h later, and then every 3 days for 40 days. The snails were fed *ad libitum* with dried lettuce.

The parasitological surveys were carried out in the same sites as the malacological surveys: Melen and Ekouk. Informed consent was obtained from families and the participation was voluntary. Each volunteer was given two pots (50 ml each), one for urine and one for stools. Samples were collected between 08.00 and 10.00 hours and taken to the laboratory for their examination. From each urine sample, an aliquot of 5 ml was centrifuged in a conical plastic tube for 3 min at 1500 rpm. Pellets were examined microscopically for schistosome egg presence. Stool samples were examined by the merthiolate-iodine-formaldehyde concentration (MIF-C) method. Prevalences (number of individuals infected by schistosomes divided by the total number of individuals examined) were calculated.

### *Egg morphometry*

Eggs were extracted from urine samples in Melen and Ekouk and from faeces in Ekouk. The positive urine samples of each site were filtered together through a 45 µm sieve in saline solution (NaCl 0.85%). The positive stool samples were filtered through a series of four sieves 425, 180, 106 and 45 µm pore size in saline solution (NaCl 0.85%). The eggs were collected on the 45 µm sieve and maintained in saline solution (NaCl 0.85%). All eggs were randomly sampled, and measured under the microscope. For each egg, we measured the total length (including the terminal spine) and the maximum width.

### *Adult worm recovery*

Miracidia were obtained only from eggs extracted from urine samples at Melen and at Ekouk. *Bulinus globosus* was used as the intermediate host since it is more compatible with *S. haematobium* compared to *B. forskalii* and since it is compatible with the hybrids of *S. haematobium* and *S. guineensis* (Southgate *et al.*, 1976; Mutani *et al.*, 1985).

For Melen, positive urine samples of nine patients were filtered together through a 45 µm sieve in saline solution (NaCl 0.85%). The eggs were collected on the 45 µm sieve and maintained in well water for miracidial hatching. Twelve positive *B. globosus* (exposed to five miracidia) were used to infect *Meriones unguiculatus* as definitive host.

For Ekouk, positive urine samples of 14 patients (four of them also had eggs in the faeces) were filtered together as explained above. Among the collected eggs, we preferentially selected the *S. guineensis*, and intermediate morphotypes (see fig. 1) in order to get potential hybrid specimens. Nine positive *B. globosus* (exposed to five miracidia) were used to infect *M. unguiculatus* as definitive host.

The rodents were anaesthetized with a solution of 2.5 ml of Rompun (20 mg/ml), 5 ml of Imalgène (100 mg/ml) and 42.5 ml NaCl by intraperitoneal injection of 0.1 ml/10 g of body weight. The abdomens were shaved and exposed to 300 cercariae per rodent. Five months post-exposure, the rodents were killed by lethal injection (0.5 ml) of Doléthal (Vétoquinol, France) and instantly perfused to collect adult worms. The perfusion was followed by supplementary examination to collect the worms trapped in the liver, in the superior and inferior mesenteric system, including rectum, and in the lungs. Worms were preserved in 95% alcohol for DNA analysis.

### *DNA extraction, ITS2 amplification*

DNA was extracted from 80 adult worms from Gabon: 30 males from Melen (18, 2 and 10 from the mesentery–liver, rectum and lungs, respectively) and 50 adult worms from Ekouk (11, 2 and 13 males from the mesentery–liver, rectum and lungs, respectively, and 11, 2 and 11 females from the mesentery–liver, rectum and lungs, respectively). One male adult worm of each of *S. haematobium* (Benin and Niger), *S. intercalatum*

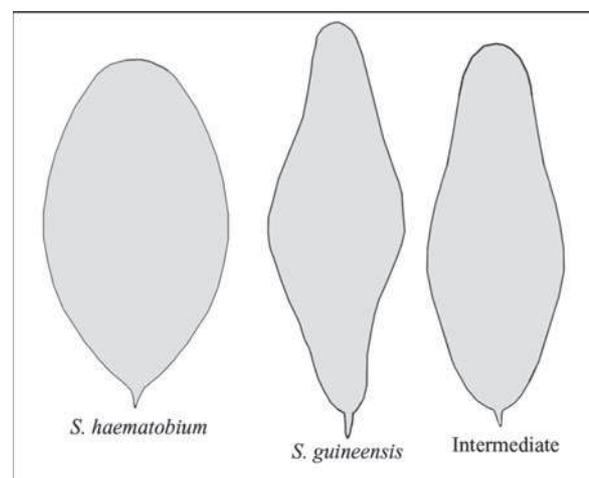


Fig. 1. *Schistosoma haematobium*, *S. guineensis* and intermediate morphotypes of schistosome eggs from human urine and faeces in Estuaire province, Gabon.

(Democratic Republic of the Congo) and *S. guineensis* (Cameroon) were also used for comparison. A manufacturer's protocol from the QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) was used.

Internal transcribed spacer-2 (ITS2) amplification was performed by polymerase chain reaction (PCR) using primers ITS2 single-stranded conformational polymorphism (SSCP) forward (5'-GCATATCAACGCGGG6-3') and ITS2 SSCP reverse (5'-ACAAACCGTAGACCGAACC-3'), according to Kane *et al.* (2002). The cycling conditions included an initial denaturing step at 94°C for 5 min and then 40 cycles at 94°C for 30 s (denaturing), 66°C for 30 s (annealing) and 72°C for 1 min (elongation). There was a final elongation period at 72°C for 10 min. Each PCR product was checked by agarose gel electrophoresis of 5 µl of each product (Webster *et al.*, 2007). PCR products were purified using a modified manufacturer's protocol from Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System kit (Promega, Madison, Wisconsin, USA).

#### Single-stranded conformation polymorphism ITS2 analysis

SSCP ITS2 analysis was carried out on the 80 adult worms on Bio-Rad PROTEAN® II xi Cell (Bio-Rad, Hercules, California, USA), adapting a protocol used elsewhere by Kane *et al.* (2002) with specific modifications and run conditions. Acrylamide 12% gel consisting of a mixture of: 21 ml of acrylamide/*bis*-acrylamide (37.5:1), 42 ml of 1× Tris-borate-EDTA (TBE) buffer; 470 µl of 10% ammonium persulphate (APS), 117 µl of tetramethylethylenediamine (TEMED) and 7 ml of miliQ H<sub>2</sub>O was used. The resultant solution was poured into the assembled gel plates and stored at 4°C for 1 h, as well as 2 litres of 1× TBE electrophoresis buffer. Sample preparation was as follows. Denaturing of PCR products was carried out by adding 10 µl of each PCR product to 22.5 µl of formamide and 2.5 µl NaOH (100 mM). This mixture was heated for 15 min in a thermocycler at 95°C and placed immediately on ice. The whole mixture of each sample added to 5 µl of charge buffer was loaded into the gel. Run conditions were as follows: system cooled 2 h before migration at 6°C, voltage 110 V and run time 17 h.

#### Statistical analyses

Yates's chi-square test was used to compare the percentages of eggs found in urine or faeces according to their morphotype. The Mann-Whitney, Kruskal-Wallis (KW) and Dunn's tests were used to compare egg sizes. All data were analysed using Microsoft Excel 2003 and GraphPad InStat, Version 3.05 (GraphPad Software, La Jolla, California, USA). Statistical significance was assessed at the  $P < 0.05$  level.

## Results

#### Malacological and parasitological surveys

Two species of *Bulinus* were found simultaneously in the two waterbodies, *B. globosus* and *B. forskalii*: 77 *B. globosus* and 15 *B. forskalii* in Melen and 21 *B. globosus*

Table 1. Percentages of eggs, and mean egg sizes ( $\pm$  standard error) of the *S. haematobium*, *S. guineensis*, and intermediate morphotypes extracted from human urine and faeces in Estuaire province, Gabon.

Morphotype	Melen			Urine			Faeces		
	% (N)	Parameter	% (N)	Ekouk % (N)	Parameter	Ekouk % (N)	Parameter		
<i>S. haematobium</i>	53.85 (14)	TL: 140.90 $\pm$ 3.81 MW: 70.14 $\pm$ 2.75 TL/MW ratio: 2.03 $\pm$ 0.07	54.63 (59)	140.43 $\pm$ 1.20 66.22 $\pm$ 0.99 TL/MW: ratio 2.14 $\pm$ 0.03	31.66 (19)	124.98 $\pm$ 2.19 53.88 $\pm$ 0.75 TL/MW: ratio 2.32 $\pm$ 0.02			
	7.69 (2)	TL: 152.71 $\pm$ 20.57 MW: 55.45 $\pm$ 1.29 TL/MW ratio: 2.80 $\pm$ 0.22	4.63 (5)	157.45 $\pm$ 5.49 MW: 53.09 $\pm$ 0.81 TL/MW: ratio 2.96 $\pm$ 0.08	13.33 (8)	143.18 $\pm$ 3.64 MW: 48.64 $\pm$ 1.26 TL/MW: ratio 2.95 $\pm$ 0.05			
	38.46 (10)	TL: 144.35 $\pm$ 4.21 MW: 56.45 $\pm$ 1.88 TL/MW ratio: 2.57 $\pm$ 0.06	40.74 (44)	159.13 $\pm$ 2.08 MW: 65.11 $\pm$ 1.57 TL/MW: ratio 2.48 $\pm$ 0.04	55.00 (33)	139.78 $\pm$ 1.28 MW: 52.73 $\pm$ 0.52 TL/MW: ratio 2.65 $\pm$ 0.01			

N, number of eggs; TL, total length; MW, maximum width.

and 30 *B. forskalii* in Ekouk. All the collected snails were negative for schistosome infection.

Three hundred and thirteen persons were examined. The analyses of the urine samples gave the following prevalences: 16.8% (38/226) in Melen and 26.4% (23/87) in Ekouk. No patient showed eggs exclusively in the faeces. However, few patients harboured eggs both in urine and faeces: 3.1% (7/226) in Melen and 8.1% (7/87) in Ekouk.

#### Egg morphometry

Whatever the studied site (Melen or Ekouk) and whatever the egg localization (urine or faeces), eggs exhibited three morphological types (fig. 1): (1) *S. haematobium* morphotype, predominantly oval and supplied with a well-visible terminal spine; (2) *S. guineensis* morphotype, predominantly spindle-shaped with two well-identified extremities, one of them supplied with a visible terminal spine and distinct shoulders; and (3) intermediate morphotype. The percentages of the different egg morphotypes and their mean egg sizes are presented in table 1 according to the studied sites and to the localization of the eggs (urine or faeces). The percentages of the eggs were significantly different between the three morphotypes in Melen (urine) and in Ekouk (urine and faeces) (Yates's chi-square test;  $\chi^2_{\text{Yates}} = 8.70$ ;  $\chi^2_{\text{Yates}} = 43.19$ ;  $\chi^2_{\text{Yates}} = 15.74$ , respectively;  $P < 0.05$ ): the percentages of eggs of *S. guineensis* morphotype were significantly smaller than the percentages of eggs of the two other morphotypes in Melen (urine) and in Ekouk (urine and faeces) (Yates's chi-square test;  $P < 0.05$ ). In the faeces, the percentage of eggs of *S. haematobium* morphotype decreased in favour of those of the two other morphotypes.

The statistical analyses on the mean egg sizes were made on the Ekouk data and showed that the total lengths of the eggs found in urine were significantly different between the morphotypes (KW = 48.77;  $P < 0.0001$ ): *S. haematobium* morphotype eggs were significantly smaller than *S. guineensis* and intermediate morphotypes (Dunn's test,  $P < 0.001$  and  $P < 0.05$ , respectively) but *S. guineensis* and intermediate morphotype eggs were not different (Dunn's test,  $P > 0.05$ ). Similarly, the total lengths of the eggs found in faeces were significantly different between the morphotypes (KW = 25.60;

$P < 0.0001$ ): *S. haematobium* morphotype eggs were significantly smaller than the two other morphotypes (Dunn's test,  $P < 0.001$ ) but *S. guineensis* and intermediate morphotype eggs were not different (Dunn's test,  $P > 0.05$ ). The eggs found in faeces were significantly smaller than those found in urine (U = 121,  $P < 0.0001$ ; U = 7,  $P = 0.05$ ; U = 144.5,  $P < 0.0001$  for *S. haematobium*, *S. guineensis* and intermediate morphotypes, respectively). The eggs found in faeces had significantly higher ratios than those found in urine (U = 291.5,  $P < 0.0009$ ; U = 388,  $P = 0.0005$  for *S. haematobium* and intermediate morphotypes, respectively) but these ratios were not significantly different for *S. guineensis* morphotype (Dunn's test,  $P > 0.05$ ).

#### Single-strand conformation polymorphism

SSCP ITS2 analyses on some adult male worms from Gabon are presented in fig. 2 in comparison with *S. haematobium* from Benin and Niger, *S. intercalatum* from the Democratic Republic of the Congo (Zaire) and *S. guineensis* from Cameroon. All the 80 individual worms (24 females and 56 males) gave the same pattern as that shown in fig. 2 (i.e. *S. haematobium*) whatever their localization in the circulatory system (mesentery, liver, lung or rectum).

#### Discussion

Egg morphology showed three morphotypes of eggs whatever their localization (urine or faeces): *S. haematobium*, *S. guineensis* and intermediate morphotypes. We could conclude that *S. haematobium* and *S. guineensis* coexist with their hybrids in our samples. Concerning the *S. haematobium* egg morphotype collected in urine, egg sizes were similar to those of *S. haematobium* (Loker, 1983). The egg sizes of the *S. guineensis* morphotype collected in the faeces were much lower than those of *S. guineensis* for eggs also collected in the faeces ( $143.18 \pm 3.64$  instead of  $172 \pm 17$  (Wright *et al.*, 1972)). Therefore, the egg size excludes the presence of *S. guineensis* in our samples but still maintains the possible presence of *S. haematobium*/*S. guineensis* hybrids, since the egg sizes of the intermediate morphotypes collected in urine (see egg lengths and length/width

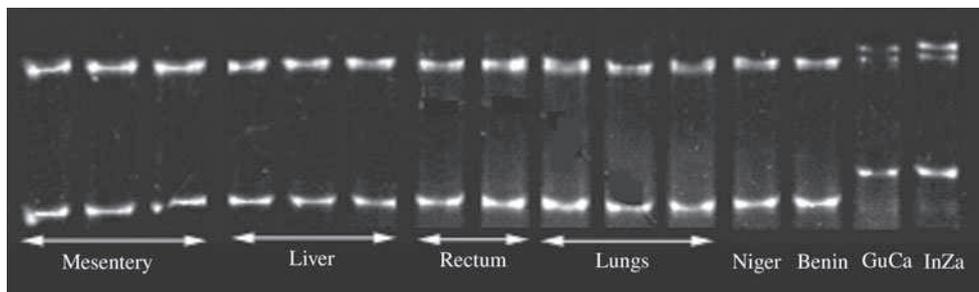


Fig. 2. Electronic image of the SSCP ITS2 profiles of 11 adult male worms from a Gabonese urine schistosome population (Melen, Estuaire province) according to their localization in *Meriones unguiculatus*. A comparison was performed with *S. haematobium* from Niger and Benin, *S. guineensis* from Cameroon (GuCa), and *S. intercalatum* from the Democratic Republic of the Congo (InZa).

ratios in table 1) are similar to those of the hybrid eggs suspected by Richard-Lenoble *et al.* (1993).

The SSCP results did not show any characteristic four-banded SSCP profiles which indicate hybridization between *S. haematobium* and *S. guineensis*. All the specimens (from Melen and Ekouk) were identical to *S. haematobium* from Benin and from Niger. No recombinants between *S. haematobium* and *S. guineensis* were present in Estuaire province in our samples, despite the fact that, for the last isolate, we preferentially selected eggs of *S. guineensis* or intermediate morphotypes. According to these results, we consider all these characteristics sufficient to conclude that the populations of schistosomes collected from urine in the studied areas belong to the *S. haematobium* species. These results are in line with those obtained in Cameroon by Webster *et al.* (2005), who showed that 10 years were sufficient enough to *S. haematobium* to replace *S. guineensis* in areas of Cameroon through introgressive hybridization. The hypothesis according to which hybrids existed in Gabon was certainly true in the late 1980s and early 1990s but was not validated by the results presented in this paper, almost 20 years later, when the epidemiological study detected only *S. haematobium*.

#### Acknowledgements

This work received financial support from CNRS, University of Perpignan and Agence Universitaire de la Francophonie (grant no. 2092 RR 614). We thank Minguéba V for his technical assistance. We are grateful to J.R. Pagès and A. Rognon for providing us with some specimens. We are grateful to Callixte Nkoure Mba and Lambert Ndong Obiang from l'Institut d'Hygiène Publique of Libreville for their assistance during the sampling period.

#### References

- Brown, D.S., Sarfati, C., Southgate, V.R., Ross, G.C. & Knowles, R.J.** (1984) Observations on *Schistosoma intercalatum* in South-East Gabon. *Zeitschrift für Parasitenkunde* **70**, 243–253.
- Burchard, G.D. & Kern, P.** (1985) Probable hybridization between *S. intercalatum* and *S. haematobium* in Western Gabon. *Tropical and Geographical Medicine* **37**, 119–123.
- Gilles, J.C.** (1971) Les bilharzioses au Gabon. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* **64**, 879–886.
- Kane, R.A., Bartley, J., Stothard, J.R., Vercruyse, J., Rollinson, D. & Southgate, V.R.** (2002) Application of single strand conformational polymorphism (SSCP) analysis with fluorescent primers for differentiation of *Schistosoma haematobium* group species. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **96**, 235–241.
- Loker, E.S.** (1983) A comparative study of the life-histories of mammalian schistosomes. *Parasitology* **87**, 343–369.
- Mutani, A., Christensen, N.Ø. & Frandsen, F.** (1985) A study of the biological characteristics of a hybrid line between male *Schistosoma haematobium* (Dar es Salaam, Tanzania) and female *S. intercalatum* (Edea, Cameroon). *Acta Tropica* **42**, 319–331.
- Pagès, J.R., Jourdane, J., Southgate, V.R. & Tchuem Tchuente, L.A.** (2003) Reconnaissance de deux espèces jumelles au sein du taxon *Schistosoma intercalatum* (Fisher, 1934), agent de la schistosomose humaine rectale. Description de *S. guineensis* n. sp. pp. 139–146 in Combes, C. & Jourdane, J. (Eds) *Taxonomie, écologie et évolution des métazoaires parasites* (2). Perpignan, Presses Universitaires.
- Richard-Lenoble, D., Kombila, M., Duong, T.H. & Gendrel, D.** (1993) Bilharziose à *Schistosoma intercalatum*, bilharziose récente et oubliée. *Revue du Praticien* **43**, 432–439.
- Southgate, V.R., Van Wijk, H.B. & Wright, C.A.** (1976) Schistosomiasis at Loum Cameroon: *S. haematobium*, *S. intercalatum* and their natural hybrid. *Zeitschrift für Parasitenkunde* **49**, 145–159.
- Webster, B.L., Tchuem Tchuente, L.A., Jourdane, J. & Southgate, V.R.** (2005) The interaction of *Schistosoma haematobium* and *S. guineensis* in Cameroon. *Journal of Helminthology* **79**, 193–197.
- Webster, B.L., Tchuem Tchuente, L.A. & Southgate, V.R.** (2007) A single-strand conformation polymorphism (SSCP) approach for investigating genetic interactions of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma guineensis* in Loum, Cameroon. *Parasitology Research* **100**, 739–745.
- Wright, C.A., Southgate, V.R. & Knowles, R.J.** (1972) What is *Schistosoma intercalatum* Fisher, 1934? *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **66**, 28–64.

## *ANNEXE 2*



Annexe 2: Mouahid G., Mintsu Nguema G., Idris M. A., Shaban M. A., Al Yafee S., Languard J., Verdoit-Jarraya M., Galinier R. & Moné H. (Accepté; 2010). High phenotypic frequencies of complete albinism in wild populations of *Biomphalaria pfeifferi* (Gastropoda: Pulmonata). *Malacologia*.

**De :** "George Davis" <georgedavis99@hotmail.com>  
**A :** "Gabriel Mouahid" <mouahid@univ-perp.fr>  
**Envoyé :** samedi 5 décembre 2009 18:52  
**Objet :** 1514- Malacologia- ms accepted- Mouahid- 6 Dec 09

**MALACOLOGIA**  
**THE INTERNATIONAL JOURNAL OF MALACOLOGY**  
**Impact Factor 2.12**

**WEB** <http://malacologia.fmnh.org>

**EMAIL:** [georgedavis99@hotmail.com](mailto:georgedavis99@hotmail.com)

**MALACOLOGIA VOLUMES 1-50 (1962 to 2008) are on-line!** The volumes are fully accessible on the Biodiversity Heritage Library site <http://www.biodiversitylibrary.org/bibliography/12920> and BioOne for subscribing institutions (Vols. 49 on)

**MS ACCEPTED**

Thanks for the revision well done.

DATE ACCEPTED: 6 Dec 09

FOR VOLUME: 53(1)

DATE FOR PUBLICATION: mid 2010

George M. Davis/Editor-in-Chief

George M. Davis  
Research Professor  
Department of Microbiology and Tropical Medicine  
George Washington University Medical Center  
745 Ross HALL, 2300 Eye St., N. W.  
Washington, D. C. 20037

---

Get gifts for them and cashback for you. [Try Bing now.](#)

--

Ce message a été vérifié par **MailScanner**  
pour des virus ou des polluriels et rien de  
suspect n'a été trouvé.  
CRI UPVD <http://www.univ-perp.fr>

## RESEARCH NOTE

### HIGH PHENOTYPIC FREQUENCIES OF COMPLETE ALBINISM IN WILD POPULATIONS OF *BIOMPHALARIA PFEIFFERI* (GASTROPODA: PULMONATA)

Gabriel Mouahid <sup>1</sup>, Rodrigue Mintsu Nguema <sup>1</sup>, Mohamed A. Idris <sup>2</sup>, Mahmoud  
A. Shaban <sup>3</sup>, Salem Al Yafee <sup>3</sup>, Juliette Langand <sup>1</sup>, Marion Verdoit-Jarraya <sup>1</sup>,  
Richard Galinier <sup>1</sup>, Hélène Moné <sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Laboratoire de Biologie et d'Ecologie Tropicale et Méditerranéenne, UMR  
5244 CNRS-EPHE-UPVD, Université Via Domitia de Perpignan, 52 avenue  
Paul Alduy, 66860 Perpignan, France*

<sup>2</sup> *Department of Microbiology & Immunology, College of Medicine & Health  
Sciences, Sultan Qaboos University, Muscat, Oman*

<sup>3</sup> *Sultan Qaboos Hospital, Directorate General of Health Services, Dhofar  
Governorate, Salalah, Oman*

Correspondance: G. Mouahid ; e-mail: [mouahid@univ-perp.fr](mailto:mouahid@univ-perp.fr)

Running title: COMPLETE ALBINISM IN *BIOMPHALARIA PFEIFFERI*

Key words: *Biomphalaria pfeifferi*, complete albinism, Dhofar (Oman),  
phenotypic frequency, wild populations

Complete albinism in wild animal populations is a rare condition. It is characterized by the lack of melanin in both the integument and eyes. Consequently there are few reports on this type of albinism. The phenotypic frequency ranges from 0.00007 to 0.0002 in humans (Africans) (Hong et al., 2006) and is 0.002 in the cave-dwelling bat, *Hipposideros diadema nicobarensis* (Aul & Marimuthu, 2006). In amphibians, frequency ranges from 0.02 to 0.03 in the cavern salamander *Gyrinophilus porphyriticus* (Brandon & Rutherford, 1967) and is the highest (0.12) in the chorus frog *Pseudacris triseriata* (Corn, 1986).

In wild populations of freshwater snails, complete albinism has been observed but its frequency has been recorded only rarely. Yusa (2004) collected 2000 snails of the species *Pomacea canaliculata* in lotus fields and adjacent canals in Kumamoto, Japan, and found that 28 (1.4%) were albino (yellow). The frequency (0.014) of this phenotype remained constant for 6 years in the area of collection. Madsen et al. (1983) reported the existence of “a few” albinos in *Helisoma duryi* during a malacological survey in Bamburi, Kenya. Dillon & Wethington (1992) found one *Biomphalaria obstructa* and two *Physa heterostropha* albino snails “among thousands of individuals” that were collected in South Carolina.

Researchers who have used albino strains of freshwater snails for genetic crossing experiments with melanic strains or for host-parasite compatibility studies have only reported the origin of the albino strain such as Richards (1962) for *Biomphalaria glabrata* from Venezuela, Boissier & Moné (2001) and Boissier et al. (2003) for *B. glabrata* from Brazil, Rosa et al. (2004) for *Biomphalaria tenagophila* from Brazil and Davis & Ruff (1973) for *Oncomelania hupensis* from Southern Taiwan. Most genetic studies using albino snails have been performed with albino individuals that originated as “spontaneous mutations” from laboratory maintained snail colonies. These animals were then isolated and established for experimental purposes. The well known albino strain of *B. glabrata* that originated in the laboratory of W. L. Newton (1954, 1955) has been used for numerous studies. This strain has been used widely for genetic analyses (Richards, 1969; 1973) and for genetic studies on

compatibility with *Schistosoma mansoni* (Richards & Merritt, 1972; Mulvey & Woodruff, 1985), the causative agent of human intestinal Bilharziasis. Other laboratory discovered albino snails include *Lymnaea peregra* (Boycott & Diver, 1927) and *Oncomelania formosana* (Moose & Suzuki, 1964).

The present paper is on the phenotypic frequencies of complete albinism in wild populations of *Biomphalaria pfeifferi* (Fig. 1), the intermediate host of *S. mansoni* in Africa and the Middle-East (Dejong et al., 2003). The relationship between the condition of albinism and several environmental factors related to water quality were tested.

This study was done in the Dhofar region in southwestern Oman near Yemen (Fig.2) where bilharziasis is reemerging (Idris et al., 2003; Moné et al., 2003). The area of study forms a wide band 250 km long and 30 km wide (7500 km<sup>2</sup>) along the Dhofar coast and includes 3 drainage basins that empty into the Arabian Sea (Fig. 2A). Fourteen sites harboring *B. pfeifferi* were surveyed for the snails nine times between November 2000 and November 2007 (Fig. 2B). These sites are situated in spring fed rivers and most of them are isolated from each other without any confluence in the valleys (Table 1). They were surveyed at least three times.

Snails were collected with a stainless steel strainer (18 cm in diameter, 8 cm deep, 20 cm handle and 1 mm pore size) attached to a wooden handle 140 cm long. The snails were transported to the laboratory in Salalah for identification using anatomical features (Ibikounlé et al., 2008). The frequencies of albinism were determined at the time of each survey. The GPS position (longitude and latitude) and altitude of each site were determined (Table 1). Water quality at these sites was defined once in May 2007 by 8 parameters: Temperature (°C), Oxygen (mg/L), pH, Nitrite (mg/L), Nitrate (mg/L), Ammonium (mg/L), Phosphate (mg/L) and Total Hardness (mg/L) using Compact Laboratory Merck KGaA (64271 Darmstadt, Germany). All the data are recorded in Table 1. A principal component analysis centred and standardized was performed using R version 2.4.0 software. The non-parametric Kruskal-Wallis test was performed on the environmental data using SPSS version 10.0.5 software.

The total number of *B. pfeifferi* snails collected in the study was 16,613. Albino snails were found in only two out of the 14 sites: in Siginitti, from May 2001 onwards, and in Tibraq only in May 2007 (Table 2). These two sites are isolated from each other (Fig. 2B). The principal component analysis showed that none of the environmental parameters was associated with the presence of albinism. The first and second axes explained only 24.8 and 20.6% of variance, respectively. There was no significant difference in the environmental parameters ( $P > 0.05$ ) between the two sites harbouring albino snails and the 12 other sites.

In both Siginitti and Tibraq, albino and melanic snails coexist and are exposed to the same environmental conditions such as velocity of water current, flooding events, temperature and photoperiod. In Siginitti, albinos were found in 2001 at a frequency of 0.079 and then increased to 0.412 in 2005 and to 0.491 in 2006 (Table 2). In 2007, the frequency increased slightly to 0.494 in May and then dropped significantly to 0.184 in November. In 2003 and 2004 surveys were not possible at Siginitti because a flood in May 2002 washed away the only accessible road to the study site. In Tibraq, albinos were found in May 2007 at the frequency of 0.075 but were no longer present 5 months later (Table 2). The frequency of the albino allele was inferred for each survey using the observed phenotypic frequencies (this paper) and the lowest known value of selfing rate for *B. pfeifferi*, 0.787 (Charbonnel et al., 2002). The calculated values of albino allelic frequencies are slightly higher than the observed frequencies presented (Table 2).

This is the first report of the presence of albinism in wild populations of *B. pfeifferi*. The observed phenotypic frequencies close to 0.50 are the highest ever recorded for wild populations of snails. Prior to this study, the highest frequency of 0.12 was found in the frog *P. triseriata* in which the survival rate of the embryos and growth of the juveniles was the same as the melanic phenotype (Corn, 1986).

We found that albino snails in the wild can be present at high frequencies ( $>0.40$ ) for extended periods of up to 20 months. With a generation time of 3 months, this represents about 6 reproductive cycles. In this study the condition

of albinism could not be correlated to water quality as defined by measurements of 8 parameters. In order to understand the causes of temporal variations in the phenotypic frequencies of albinism, the effects of genetic drift, migration and natural selection need to be evaluated.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

Funding for this work was provided by CNRS, University of Perpignan and Ministry of Foreign Affairs (France), Sultan Qaboos University and Ministry of Health (Oman). The French laboratory is a WHO Collaborating Center for Biological Control and Snail/Parasite relationships. This work benefited from constructive comments from E. R. Rivera.

## LITERATURE CITED

- AUL, B. & G. MARIMUTHU, 2006, Sighting of an albino bat in a colony of cave-dwelling microchiropteran, *Hipposideros diadema nicobarensis* at the Nicobar Islands. *Current Science India*, 90: 912-914.
- BOISSIER, J. & H. MONE, 2001, Male-female larval interactions in *Schistosoma mansoni*-infected *Biomphalaria glabrata*. *International Journal for Parasitology*, 31: 352-358.
- BOISSIER, J., E. R. RIVERA & H. MONE, 2003, Altered behavior of the snail *Biomphalaria glabrata* as a result of infection with *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology*, 89: 429-433.
- BOYCOTT, A. E. & C. DIVER, 1927, The origin of an albino mutation in *Limnaea peregra*. *Nature*, 119: 9.
- BRANDON, R.A. & J. M. RUTHERFORD, 1967, Albinos in a cavernicolous population of the salamander *Gyrinophilus porphyriticus* in West Virginia. *American Midland Naturalist*, 78: 537-540.
- CHARBONNEL, N., B. ANGERS, R. RASATAVONJIZAY, P. BREMOND, & P. JARNE, 2002, Evolutionary aspects of the metapopulation dynamics of *Biomphalaria pfeifferi*, the intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Evolutionary Biology*, 15: 248-261.
- CORN, P. S. 1986, Genetic and developmental studies of albino chorus frogs. *Journal of Heredity*, 77: 164-168.
- DAVIS, G. M. & M. D. RUFF, 1973, *Oncomelania hupensis* (Gastropoda: Hydrobiidae) hybridization, genetics and transmission of *Schistosoma japonicum*. *Malacological Review*, 6: 181-197.
- DEJONG, R.J., A. T. MORGAN, W. D. WILSON, M. H. AL-JASER, C. C. APPLETON, G. COULIBALY, P. S. D'ANDREA, M. J. DOENHOFF, W. HAAS, M. A. IDRIS, L. A. MAGALHAES, H. MONE, G. MOUAHID, L. MUBILA, J. P. POINTIER, J. P. WEBSTER, E. M. ZANOTTI-MAGALHAES, W. L. PARAENSE, G. M. MKOJI & E. S. LOKER, 2003, Phylogeography of *Biomphalaria glabrata* and *B. pfeifferi*, important intermediate hosts of *Schistosoma mansoni* in the new and Old World tropics. *Molecular Ecology*, 12: 3041-3056.

DILLON, R.T. & A. R. WETHINGTON, 1992, The inheritance of albinism in a freshwater snail, *Physa heterostropha*. *Journal of Heredity*, 83: 208-210.

HONG, E.S., H. ZEEB & M. H. REPACHOLI, 2006, Albinism in Africa as a public health issue. *BMC Public Health*, 6: 212.

IBIKOUNLE, M., A. MASSOUGBODJI, N. G. SAKITI, J. P. POINTIER & H. MONE, 2008, Anatomical characters for easy identification between *Biomphalaria pfeifferi*, *Helisoma duryi* and *Indoplanorbis exustus* during field surveys. *Journal of Cell and Animal Biology*, 2: 112-117.

IDRIS, M., M. A. SHABAN, J. RICHTER, H. MONÉ, G. MOUAHID, & A. RUPPEL, 2003, Emergence of infections with *Schistosoma mansoni* in the Dhofar Governorate, Oman. *Acta Tropica*, 88: 137-144.

MADSEN, H., F. W. THIONGO & J. H. OUMA, 1983, Egg laying and growth in *Helisoma duryi* (Wetherby) (Pulmonata: Planorbidae): effect of population density and mode of fertilization. *Hydrobiologia*, 106: 185-191.

MONÉ, H., G. MOUAHID, M. A. SHABAN, A. AL JABRI, J. BOISSIER, A. RUPPEL & M. A. IDRIS, 2003, Ecological and molecular studies on emerging schistosomiasis *mansoni* in Dhofar Governorate, Sultanate of Oman. *Tropical Medicine & International Health*, 8: 269-276.

MOOSE, J. W. & S. SUZUKI, 1964, Albinism in *Oncomelania formosana*. *Japanese Journal of Medical Science & Biology*, 17: 215.

MULVEY, M. & D. S. WOODRUFF, 1985, Genetics of *Biomphalaria glabrata*: linkage analysis of genes for pigmentation, enzymes, and resistance to *Schistosoma mansoni*. *Biochemical Genetics*, 22: 877-889.

NEWTON, W. L., 1954, Albinism in *Australorbis glabratus*. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 21: 72-74.

NEWTON, W. L., 1955, The establishment of a strain of *Australorbis glabratus* which combines albinism and high susceptibility to infection with *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology*, 41: 526-528.

RICHARDS, C. S., 1962, Genetic crossing of pigmented Caribbean strains with an albino Venezuelan strain of *Australorbis glabratus*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 11: 216-219.

- RICHARDS, C. S., 1969, Genetic studies on *Biomphalaria glabrata*: mantle pigmentation. *Malacologia*, 9: 339-348.
- RICHARDS, C. S., 1973, Genetics of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae). *Malacological Review*, 6: 199-202.
- RICHARDS, C. S. & J. W. MERRITT, 1972, Genetic factors in the susceptibility of juvenile *Biomphalaria glabrata* to *Schistosoma mansoni* infection. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 21: 425-434.
- ROSA, F.M., R. L. CALDEIRA, O. DOS S. CARVALHO, A. L. B. GODARD & P. M. Z. COELHO, 2004, Dominant character of the molecular marker of a *Biomphalaria tenagophila* strain (Mollusca: Planorbidae) resistant to *Schistosoma mansoni*. *Memorias of the Instituto Oswaldo Cruz*, 99: 85-87.
- YUSA, Y., 2004, Inheritance of colour polymorphism and the pattern of sperm competition in the apple snail *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *Journal of Molluscan Studies*, 70: 43-48.

Figure captions

FIG. 1. Albino and pigmented *Biomphalaria pfeifferi* feeding on a fig in natural conditions in Dhofar (Oman). Scale bar: 8 mm.

FIG. 2. Map of Dhofar Governorate showing a general view of the three drainage basins (a: Rakhyut basin; b: Salalah basin; c: Mirbat basin) including the surveyed sites (A) and the exact positions (arrows with numbers) of each of the 14 surveyed points in each of these three drainage basins (B). 1: Sarfait; 2: Kohood; 3: Kharfut; 4: Hotah; 5: Sheitt; 6: Sahalnout; 7: Arazat farm; 8: Birin; 9: Tibraq; 10: Wadi Derbat; 11: Siginitti; 12: Heisher; 13: Lagga-Shalyyun; 14: Had Barm.

TABLE 1: Name, longitude, latitude, altitude and eight water testing parameters of the surveyed sites harbouring *Biomphalaria pfeifferi* in Dhofar, Oman.

Name	Longitude (East)	Latitude (North)	Altitude (m)	T°C	O <sub>2</sub> mg/L	pH	Nitrite mg/L	Nitrate mg/L	Ammonium mg/L	Phosphate mg/L	Total Hardness mg/L
Sarfait <sup>£</sup>	53°08' 13.99"	16°41' 47.69"	636	27	9.1	8.00	0.025	10	0.00	0.00	570
Kohood <sup>£</sup>	53°08' 14.83"	16°42' 17.99"	818	30	6.6	7.50	0.050	10	0.00	0.00	350
Kharfut	53°19' 41.43"	16°44' 02.84"	41	31	13.2	7.50	0.000	10	0.50	0.00	380
Hotah	53°30' 44.71"	16°45' 50.37"	57	31	9.9	8.00	0.000	0	0.00	0.00	370
Sheitt	53°49' 06.54"	17°00' 01.47"	221	31	6.2	8.00	0.000	0	0.00	0.15	370
Sahalnout	54°10' 43.02"	17°08' 53.64"	200	32	8.4	7.50	0.000	10	0.00	0.00	315
Arazat farm <sup>§</sup>	54°12' 58.86"	17°02' 14.09"	22	30	9.1	8.25	0.200	0	0.15	0.00	230
Birin <sup>§</sup>	54°19' 37.31"	17°13' 35.94"	793	27	11.4	8.25	0.500	50	0.20	0.10	350
<b>Tibraq</b>	54°19' 35.09"	17°05' 58.11"	101	29	16.3	8.00	0.025	10	0.00	0.00	280
Wadi Derbat <sup>§</sup>	54°27' 12.09"	17°06' 12.57"	201	36	10.0	8.00	0.060	10	0.00	0.00	310
<b>Signitti<sup>§</sup></b>	54°28' 08.99"	17°08' 36.44"	334	29	10.3	7.50	0.500	10	0.00	0.10	370
Heisher	54°36' 29.17"	17°03' 14.58"	286	31	9.7	8.00	0.000	0	0.00	0.00	350
Lagga-Shalyun	54°56' 29.12"	17°11' 20.34"	467	29	7.6	8.50	0.000	0	0.50	0.10	265
Had Barm	55°14' 36.42"	17°26' 32.14"	33	26	6.5	7.50	0.000	0	0.00	0.00	520

<sup>£</sup>, <sup>§</sup> and <sup>§</sup> show the sites that are situated in the same valley. In bold, the two sites harbouring albino snails.

TABLE 2: Observed phenotypic (Obs. F) and expected (estimated) allelic (Exp. F) frequencies of complete albinism in *Biomphalaria pfeifferi* in Siginitti and Tibraq sites (Dhofar, Oman).

Month-Year	Siginitti			Tibraq		
	Obs. F	Exp. F	n	Obs. F	Exp. F	n
Novembre-2000	0.000	0.000	453	0.000	0.000	89
May-2001	0.079	0.114	229	0.000	0.000	664
February-2002	0.051	0.075	474	0.000	0.000	553
September 2002				0.000	0.000	150
December-2003/January-2004	Not accessible			0.000	0.000	667
September-2005	0.412	0.500	578	0.000	0.000	328
February-2006	0.491	0.577	407	0.000	0.000	51
May-2007	0.494	0.580	162	0.075	0.110	623
November-2007	0.184	0.250	620	0.000	0.000	272

n= number of snails collected.

***ANNEXE II-1-1-1***





## Annexe II-1-1-I: suite 1.

Locus	Allèle	Tibraq			Birin	Wadi Derbat					
		2005	2006	2007		2007	I-07	II-07	III-07	IV-05	IV-06
Bpf4	317	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	329	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bpf8	193	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	197	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	201	0.900	0.967	0.313	-	-	-	-	-	-	-
	205	0.100	0.033	0.688	-	-	-	-	-	0.033	-
	209	-	-	-	-	0.692	0.500	0.964	0.056	0.350	-
	213	-	-	-	-	-	0.107	-	-	-	-
	217	-	-	-	-	0.308	0.393	0.036	0.778	0.583	0.900
	221	-	-	-	0.933	-	-	-	0.167	0.033	0.100
	225	-	-	-	0.067	-	-	-	-	-	-
Bpf9	238	-	-	-	-	-	-	-	0.194	-	0.333
	242	-	-	-	-	-	-	-	0.194	-	0.300
	250	-	-	-	-	-	-	-	0.028	-	-
	254	-	-	-	-	0.127	-	-	0.042	-	-
	258	1.000	1.000	1.000	-	-	-	0.679	0.194	0.033	0.333
	262	-	-	-	-	-	-	0.036	0.056	0.200	-
	266	-	-	-	-	0.085	0.321	-	0.083	0.100	0.033
	270	-	-	-	1.000	0.195	0.214	0.036	0.056	0.350	-
	274	-	-	-	-	0.288	0.464	0.143	0.056	0.233	-
	278	-	-	-	-	0.288	-	0.107	-	0.083	-
286	-	-	-	-	0.017	-	-	0.097	-	-	
Bpf10	249	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	261	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	263	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	265	0.900	0.967	0.313	-	-	-	-	0.375	0.017	0.717
	267	-	-	0.500	-	-	-	-	-	-	-
	269	0.100	0.033	0.188	1.000	0.933	1.000	1.000	0.625	0.950	0.283
	271	-	-	-	-	-	-	-	-	0.033	-
	273	-	-	-	-	0.067	-	-	-	-	-
Bpf12	307	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	322	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	328	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	334	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
u-2	140	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	148	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
u-7	222	-	-	-	-	-	-	-	0.403	-	0.683
	234	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	244	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.597	1.000	0.317
	246	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bgu1	165	1.000	1.000	1.000	1.000	0.925	0.786	0.107	0.861	0.967	0.967
	167	-	-	-	-	0.075	0.214	0.893	0.139	0.033	0.033
Bgu16	113	1.000	0.933	1.000	1.000	-	-	-	0.278	0.067	0.550
	121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	131	-	0.067	-	-	0.633	0.929	0.250	0.722	0.733	0.450
	135	-	-	-	-	0.367	0.071	0.750	-	0.200	-

## Annexe II-1-1-1: suite 2.

Locus	Allèle	Siginitti				Hasheir			Lagga Shalyun			Had Barm		
		2005	2006	m07	n07	2005	2006	2007	2005	2006	2007	2005	2006	2007
Bpf4	317	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.850	0.733	1.000
	329	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.150	0.267	-
Bpf8	193	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	197	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	201	-	-	-	-	-	-	-	1.000	1.000	1.000	-	-	0.063
	205	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000	1.000	0.938
	209	0.787	0.780	0.685	0.444	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	213	-	-	0.007	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	217	0.213	0.203	0.253	0.389	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	221	-	0.017	0.055	0.167	0.967	0.967	1.000	-	-	-	-	-	-
	225	-	-	-	-	0.033	0.033	-	-	-	-	-	-	-
Bpf9	238	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	242	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	250	-	-	-	-	-	0.033	-	-	-	-	-	-	-
	254	-	-	-	-	0.967	0.933	1.000	-	-	-	-	-	-
	258	0.705	0.780	0.692	0.528	0.033	0.033	-	1.000	1.000	1.000	-	0.067	-
	262	0.057	0.051	0.130	0.389	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	266	0.172	0.153	0.130	0.083	-	-	-	-	-	-	-	-	0.063
	270	0.066	0.017	0.048	-	-	-	-	-	-	-	1.000	0.933	0.938
	274	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	278	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
286	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Bpf10	249	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	261	-	0.017	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	263	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.000	0.867	1.000
	265	0.393	0.449	0.486	0.194	-	-	-	-	-	-	-	0.133	-
	267	-	-	-	-	-	-	-	1.000	1.000	1.000	-	-	-
	269	0.607	0.534	0.514	0.806	1.000	1.000	1.000	-	-	-	-	-	-
	271	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
273	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Bpf12	307	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	322	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	328	-	-	-	-	-	-	-	1.000	1.000	1.000	-	-	-
	334	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	-	-	-	1.000	1.000	1.000
u-2	140	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	-	-	-	-	-	-
	148	-	-	-	-	-	-	-	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
u-7	222	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	234	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	244	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	246	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bgμ1	165	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	167	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bgμ16	113	-	-	-	-	-	0.050	-	-	-	-	0.025	-	-
	121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	131	0.861	0.949	0.842	0.944	1.000	0.950	1.000	-	-	-	-	0.367	-
	135	0.139	0.051	0.158	0.056	-	-	-	1.000	1.000	1.000	0.975	0.633	1.000



***ANNEXE II-1-2-1***



Annexe II-1-2-1: Matrice des distances génétiques standard de Nei (1972) (au-dessus de la diagonale) et des distances géographiques (en Km, au-dessous de la diagonale) entre les 17 populations de *B. pfeifferi* du Dhofar (voir tableau II-1-2 pour le nom entier des populations).

	Sar	Koh	Kha	Hot	She	Ara	Ank	Tib	Bir	WD1	WD2	WD3	WD4	Sig	Hei	LS	HB
Sar	0	0.017	0.405	0.795	1.504	1.099	1.504	1.442	1.497	1.307	1.163	1.067	1.326	1.335	1.504	2.197	2.123
Koh	0,83	0	0.317	0.678	1.302	0.951	1.302	1.240	1.295	1.139	1.053	1.150	1.140	1.143	1.302	1.846	1.788
Kha	20,80	20,85	0	0.574	1.099	1.099	1.099	0.938	1.092	0.998	1.069	1.384	0.965	0.993	1.099	1.099	1.460
Hot	41,28	40,80	20,11	0	1.080	1.080	1.080	0.932	1.073	0.893	1.050	1.312	0.745	0.835	1.080	1.497	1.484
She	82,19	80,92	60,32	41,69	0	0.405	0.405	0.489	0.399	0.206	0.173	0.451	0.375	0.241	0.251	1.099	0.798
Ara	123,20	122,03	102,67	82,56	42,93	0	0.251	0.208	0.244	0.295	0.284	0.499	0.413	0.361	0.405	1.099	0.575
Ank	141,60	139,32	121,33	102,72	60,67	23,80	0	0.313	0	0.276	0.302	0.492	0.400	0.366	0.251	1.099	0.587
Tib	136,00	135,59	116,67	96,96	56,00	14,00	14,00	0	0.306	0.386	0.427	0.464	0.296	0.248	0.489	0.564	0.582
Bir	142,83	139,32	122,96	103,68	61,13	24,27	0,62	14,30	0	0.269	0.295	0.485	0.395	0.360	0.254	1.092	0.580
WD1	151,00	150,40	130,67	109,44	69,07	26,13	19,36	13,63	19,52	0	0.033	0.170	0.314	0.089	0.187	0.885	0.564
WD2	151,00	150,40	130,67	109,44	69,07	26,13	19,36	13,63	19,52	0,08	0	0.212	0.310	0.102	0.189	1.043	0.674
WD3	151,00	150,40	130,67	109,44	69,07	26,13	19,36	13,63	19,52	0,23	0,18	0	0.573	0.216	0.451	0.867	0.758
WD4	151,00	150,40	130,67	109,44	69,07	26,13	19,36	13,63	19,52	1,85	1,74	1,58	0	0.219	0.420	1.090	0.850
Sig	153,00	153,60	132,85	113,28	71,87	29,40	18,04	16,02	17,61	2,88	2,94	3,04	4,75	0	0.234	0.744	0.641
Hei	164,00	165,95	144,16	123,84	85,87	41,53	36,08	30,78	36,18	17,57	17,57	17,57	17,57	18,10	0	1.099	0.798
LS	203,00	204,90	183,73	163,20	122,73	79,80	65,28	66,74	65,04	52,46	52,46	52,46	52,46	52,20	38,52	0	0.562
HB	242,20	242,90	22,60	203,93	160,53	119,00	101,93	106,20	102,48	94,00	94,00	94,00	94,00	89,64	81,40	42,90	0



***ANNEXE II-2- 2***



Annexe II-2-2: Fréquences alléliques pour les 9 loci microsatellites chez les 12 échantillons de *B. pfeifferi* étudiés. -: fréquence nulle.

Locus	Allèle	Siginitti Pigmenté				Siginitti Albinos				Tibraç Pigmenté			Tibraç albinos
		Sept.-05	Fév.-06	Mai-07	Nov.-07	Sept.-05	Fév.-06	Mai-07	Nov.-07	Sept.-05	Fév.-06	Mai-07	Mai-07
Bpf4	317	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
	201	-	-	-	-	-	-	-	0.9000	0.9667	0.3333	-	-
	205	-	-	-	-	-	-	0.0333	0.1000	0.0333	0.6667	1.0000	-
	209	0.6667	0.6333	0.3333	0.3333	0.9714	0.9333	0.9306	0.9667	-	-	-	-
	213	-	-	0.0083	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	221	-	0.0333	0.1000	0.2000	-	-	-	-	-	-	-	-
Bpf9	258	0.5556	0.5667	0.4750	0.4333	0.9143	1.0000	0.9028	0.9833	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
	262	0.0556	0.1000	0.2667	0.4667	0.0714	-	0.0139	0.0167	-	-	-	-
	266	0.2778	0.3000	0.1333	0.1000	0.0143	-	0.0833	-	-	-	-	-
	270	0.1111	0.0333	0.1250	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bpf10	261	-	-	-	-	0.0286	0.0333	-	-	-	-	-	-
	265	0.1111	0.0667	0.1167	0.0333	0.7714	0.8500	0.8750	0.9667	0.9000	0.9667	0.3333	-
	267	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4667	1.0000
	269	0.8889	0.9333	0.8833	0.9667	0.2000	0.1167	0.1250	0.0333	0.1000	0.0333	0.2000	-
Bpf12	334	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
u-2	140	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
u-7	244	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
μBg1	165	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
Bgu16	113	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0000	0.9333	1.0000	1.0000
	131	0.7639	0.9000	0.8333	0.9333	0.9714	1.0000	0.9028	1.0000	-	0.0667	-	-
	135	0.2361	0.1000	0.1667	0.0667	0.0286	-	0.0972	-	-	-	-	-



## **Interactions hôte-parasite dans le modèle *Biomphalaria pfeifferi*-*Schistosoma mansoni* du Dhofar (Oman): génétique des populations de l'hôte, traits d'histoire de vie et conséquences sur la transmission du parasite**

**Résumé:** Cette thèse a été réalisée dans le contexte de la réémergence de la schistosomose à *Schistosoma mansoni* (plathelminthe trématode) dans le Dhofar en Oman. Le travail est centré sur les interactions hôte-parasite et sur leurs conséquences sur la transmission du schistosome. Une première partie est consacrée à l'étude spatio-temporelle de la structure génétique des populations de *Biomphalaria pfeifferi* (mollusque gastéropode d'eau douce). Elle a été réalisée à l'aide de neuf marqueurs microsatellites sur 18 populations de mollusques. Les populations de *B. pfeifferi* étudiées sont caractérisées par une très faible variabilité génétique intra populationnelle. Par contre, elles sont fortement différenciées génétiquement. Une différenciation temporelle a également été enregistrée dans certaines populations. Une seconde partie est consacrée à l'étude des traits d'histoire de vie et des relations hôte-parasite. Elle a été réalisée à l'aide de huit combinaisons hôte-parasite qui diffèrent soit par la population de parasite (origine humaine ou origine murine), soit par la catégorie du site (naturel ou aménagé), soit par le morphe du mollusque (pigmenté ou albinos). Les traits d'histoire de vie suivants ont été analysés : croissance, fécondité et survie de *B. pfeifferi* et taux d'infestation, période prépatente et production cercarienne de *S. mansoni*. Les résultats montrent que la population de *S. mansoni* et le morphe de *B. pfeifferi* jouent un rôle majeur dans la transmission de la schistosomose dans le Dhofar. Les résultats sont discutés en termes de compatibilité hôte-parasite.

**Mots-clés:** *Biomphalaria pfeifferi*, Dhofar (Oman), génétique des populations, interactions hôte-parasite, réémergence, *Schistosoma mansoni*, schistosomose, traits d'histoire de vie, transmission

## **Host-parasite interactions in the *Biomphalaria pfeifferi*-*Schistosoma mansoni* model in Dhofar (Oman): population genetics of the host, life-history traits and consequence on parasite transmission**

**Abstract:** This thesis has been conducted in the context of the reemergence of schistosomiasis caused by *Schistosoma mansoni* (flatworm trematode) in Dhofar (Oman). The work focuses on the host-parasite interactions and their implications on schistosome transmission. The first part is devoted to a spatiotemporal study of the population genetics of *Biomphalaria pfeifferi* (freshwater gastropod snail). Nine microsatellite markers were used for characterization of 18 populations of *B. pfeifferi*. The results showed that intrapopulations genetic variability was very low. However, the populations were highly differentiated. Temporal differentiation was also recorded in some populations. A second part concerns to the study of the life-history traits and host-parasite relationships. It was conducted using eight host-parasite combinations that differ either by the parasite population (human versus murine), by the waterbody category (natural versus man-made) or by the morph of the snail (pigmented versus albino). The following life-history traits were analyzed: growth, fecundity and survival of *B. pfeifferi* and rate of infection, prepatent period and cercarial production of *S. mansoni*. The results show that both the origin of *S. mansoni* and the pigmentation of *B. pfeifferi* play a major role in transmission of schistosomiasis in Dhofar. The results are discussed in terms of host-parasite compatibility.

**Keywords:** *Biomphalaria pfeifferi*, Dhofar (Oman), host-parasite interactions, life-history traits, population genetics, reemergence, *Schistosoma mansoni*, schistosomiasis, transmission