

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

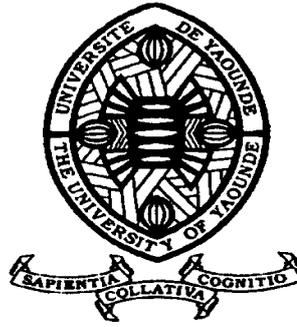
FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET

PHYSIOLOGIE ANIMALES

LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE

ET ECOLOGIE



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF ANIMAL

BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

PARASITOLOGY AND ECOLOGY

LABORATORY

**Biologie et compatibilité à *Schistosoma mansoni*
Sambon, 1909 de *Biomphalaria pfeifferi* (Krauss, 1848,
Planorbis) et *Biomphalaria camerunensis* (Boettger, 1941,
Australorbis) au Cameroun**

THESE

Présentée et soutenue en vue de l'obtention du Doctorat/Ph.D en
Biologie des Organismes Animaux

Par : KENGNE Alvine Christelle

Master ès-sciences

Sous la direction de
NJIOKOU FLOBERT
Professeur

Année Académique : 2019





DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES
DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

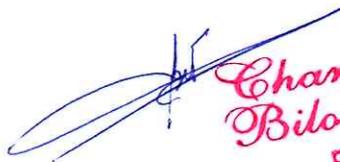
ATTESTATION DE CORRECTION

Nous soussignés, membres du jury de soutenance de la **Thèse de Doctorat/Ph.D** en Biologie des Organismes Animaux (Option Parasitologie et Ecologie) de madame **KENGNE Alvine Christelle**, matricule 07S792, soutenance autorisée par la correspondance N° 192499/UYI/VREPDTIC/DAAC/DEPE/SPD du Recteur de l'Université de Yaoundé I en date du 12 Novembre 2019, attestons que les corrections exigées à la candidate lors de cette évaluation faite le 18 Décembre 2019, ont réellement été effectuées et que le présent document peut être déposé sous sa forme actuelle.

En foi de quoi cette attestation lui est délivrée pour servir et valoir de ce que de droit.

Yaoundé, le

Président du Jury


**Charles Félix
Bilong Bilong**
Professeur

Examineur


A. FODENA

Chef de Département


**Charles Félix
Bilong Bilong**
Professeur

**LISTE PROTOCOLAIRE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DES
SCIENCES**

UNIVERSITE DE YAOUNDE I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNEE ACADEMIQUE **2018/2019**
(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION: 19 Février 2019

ADMINISTRATION

DOYEN: TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maitre de Conférences*

VICE-DOYEN / DPSAA: DONGO Etienne, *Professeur*

VICE-DOYEN / DSSE: AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DRC: ABOSSOLO Monique, *Maitre de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière: NDOYE FOE Marie C. F., *Maitre de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR:
MBAZE MEVA' A Luc Léonard, *Professeur*

1- DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (37)			
N°	NOMS ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
2	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
3	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
4	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
5	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
6	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
7	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
8	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
9	BIGOGA DIAGA Jude	Maître de Conférences	En poste
10	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
11	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
12	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
13	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
14	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
15	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
16	NGUEFACK Julianne	Maître de Conférences	En poste
17	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
18	AKINDEH MBUH NJI	Chargée de Cours	En poste
19	BEBOY EDZENGUELE Sara Nathalie	Chargée de Cours	En poste
20	DAKOLE DABOY Charles	Chargée de Cours	En poste
21	DJOKAM TAMO Rosine	Chargée de Cours	En poste

22	DJUIDJE NGOUNOU Marcelline	Chargée de Cours	En poste
24	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
25	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
26	EWANE Cécile Anne	Chargée de Cours	En poste
27	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
28	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
29	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
30	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
31	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
32	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
33	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Chargée de Cours	Inspecteur de Service MINESUP
34	PACHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
35	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
36	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargée de Cours	En poste
37	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste

2- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (44)			
1	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
2	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
4	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>VDoyen/FMSB/UYI</i>
5	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
6	KAMGANG René	Professeur	<i>C.S. MINRESI</i>
7	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
8	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
9	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
10	NOLA Moïse	Professeur	En poste
11	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
12	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>
13	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Maître de Conférences	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
14	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
15	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	En poste
20	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste
16	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
17	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
18	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
19	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
21	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
22	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste
23	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
24	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
25	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
26	BILANDA Danielle Claude	Chargée de Cours	En poste
27	DJIOGUE Séfirin	Chargée de Cours	En poste
28	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
29	GOUNOU KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
30	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
31	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Chargé de Cours	En poste

32	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
33	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
34	MOUNGANG LucianeMarlyse	Chargée de Cours	En poste
35	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
36	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
37	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
38	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
39	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
40	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
41	YEDE	Chargé de Cours	En poste
43	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste
44	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste

3- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES (BPV) (27)

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
4	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
5	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
6	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
7	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
8	DJOCGOUE Pierre François	Maître de Conférences	En poste
9	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/UDs
12	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste
13	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
14	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
15	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
16	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
17	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
18	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
19	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
20	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
22	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
23	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
24	NSOM ZAMO Annie Claude épouse PIAL	Chargée de Cours	<i>Expert national/UNESCO</i>
25	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
26	DJEUANI Astride Carole	Assistante	En poste
27	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistante	En poste

4- DEPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (32)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice Recteur Univ ,Bamenda</i>
2	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé deMiss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	CT MINRESI/Chef de Département
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS UD</i>

10	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
11	DJOUFAC WOUFMO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
12	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
13	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
14	KONG SAKEO	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
16	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	<i>Vice Chancellor/UB</i>
17	NJIOMOU C. épse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
18	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
19	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
20	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
23	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
24	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
24	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
25	MAKON Thomas Beaugard	Chargé de Cours	En poste
26	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
27	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
28	NDI NSAMI Julius	Chargé de Cours	En poste
29	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	Inspecteur de Service MINFEM
30	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
31	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
32	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste

5- DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (32)			
1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen / PSAA
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDS
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	En poste
4	NKENGFAK Augustin Ephreïm	Professeur	Chef de Département
5	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Directeur/UN</i>
6	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP</i>
7	WANDJI Jean	Professeur	En poste
8	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>DEPE/ Rectorat/UYI</i>
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	<i>Chef Service DPER</i>
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
11	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
15	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI
17	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
18	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
19	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
20	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
21	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
22	AMBASSA Pantaléon	Chargé de Cours	En poste
23	FOTSO WABO Ghislain	Chargé de Cours	En poste
24	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
25	MVOT AKAK CARINE	Chargé de Cours	En poste
26	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste

27	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	En poste
28	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Chargé de Cours	Chef Service/MINESUP
29	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
31	ZONDENDEGOUMBA Ernestine	Chargée de Cours	En poste
32	NGNINTEDO Dominique	Assistant	En poste

6- DEPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4	AMINOUE Halidou	Chargé de Cours	En poste
5	DJAM Xaviera YOUHEP KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
6	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
7	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
8	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
10	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
11	KAMGUEU Patrick Olivier	Chargé de Cours	En poste
12	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	C/D Enset. Ebolowa
14	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
15	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
16	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
17	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
18	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
19	EBELE Serge	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistante	En poste
23	MAKEMBE. S. Oswald	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

7- DEPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (28)

1	BITJONG NDOMBOL	Professeur	<i>En poste</i>
2	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
3	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	Chef de Département
4	EMVUDU WONO Yves S.	Maître de Conférences	<i>CD Info/ Chef division MINESUP</i>
5	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
6	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
7	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
8	AGHOUEKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
9	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
10	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
11	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
12	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
13	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
14	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste

15	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
16	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
17	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
18	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
20	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
21	NIMPA PEFOUNKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
22	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
23	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
24	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
25	TCHOUNDA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
26	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargée de Cours	En poste
27	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
28	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste

8- DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (13)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	DRV/IMPM
2	ETOA François Xavier	Professeur	Chef de Département/FS/UIYI Recteur Université de Douala
3	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
4	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
5	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
6	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
7	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
8	ASSAM ASSAM Jean Paul	Chargé de Cours	En poste
9	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
10	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
11	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste

9- DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (40)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
3	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
4	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
5	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	<i>Sous Directeur/ MINRESI</i>
6	NJOMO Donatien	Professeur	En poste
7	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
8	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen Univ/Bda
9	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
10	WOAFO Paul	Professeur	En poste
	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
14	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
12	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste
15	EKOBENA FOUA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Division. UN</i>
16	EYEBE FOUA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
17	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste

18	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
19	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
20	NANA ENGO Serge Guy	Maître de Conférences	Director/Students/Affairs. UB
21	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
22	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste
23	SAIDOU	Maître de Conférences	Sous Directeur/Minresi
24	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
25	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
26	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
27	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Sous Directeur/ MINESUP</i>
28	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
29	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
30	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
31	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Chargée de Cours	En poste
32	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
33	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste
34	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
35	MEL'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	<i>En poste</i>
36	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
37	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
38	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmelima
39	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste
40	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste

10- DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)

1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
4	MEDJO EKO Robert	Professeur	<i>Conseiller Technique/UYII</i>
5	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
6	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
8	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
9	GHOOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/UMa
10	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
11	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
12	NGOS III Simon	Maître de Conférences	DAAC/Uma
13	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
14	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	En poste
15	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
16	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
17	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
18	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>
23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste

26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
29	LAMILEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
34	MOUAFO Lucas	Chargé de Cours	En poste
35	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
37	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
38	NGUEUTCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	CEA/MINRESI
39	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
36	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
40	TCHAKOUNTE J. épse NOUMBEM	Chargée de Cours	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
41	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
42	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
43	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	5 (1)	12 (6)	19 (11)	1 (1)	37 (19)
BPA	12 (1)	10 (5)	20 (07)	2 (0)	44 (13)
BPV	5 (0)	10(2)	9 (04)	2(2)	26 (9)
CI	9(1)	9(2)	14 (3)	0 (0)	32 (6)
CO	7 (0)	14 (4)	10 (4)	1 (0)	32 (8)
IN	2 (0)	1 (0)	13 (0)	10 (3)	26 (3)
MAT	2 (0)	4 (1)	19 (1)	2 (0)	27 (2)
MIB	2 (0)	5 (2)	6 (1)	0 (0)	13 (3)
PHY	10 (0)	17(2)	11 (3)	1 (0)	39 (5)
ST	7 (1)	15 (1)	21 (5)	1 (0)	44 (7)
Total	61 (4)	97 (25)	142 (39)	20(6)	320 (75)

Soit un total de **320 (75)** dont :

- Professeurs **61 (4)**
- Maîtres de Conférences **97 (25)**
- Chargés de Cours **142 (39)**
- Assistants **20 (6)**

() = Nombre de Femmes

DEDICACE

A mes enfants, Yohanne, Raphaëlle, Nathan

A mon époux, Fokam Hypolitte

A ma mère, Djugue Denise

Qui ont enduré avec moi les multiples sacrifices de ce travail.

REMERCIEMENTS

Parvenue à la fin de cette thèse, je fais action de grâces au Seigneur Dieu, Maître des évènements, qui m'a accompagnée et affermie durant ce travail ; Il a mis sur mon chemin les personnes indiquées pour que ce travail soit concrétisé. Mes sincères remerciements vont ainsi à l'endroit :

- de mon directeur de thèse, le Professeur Njiokou Flobert qui a initié ce sujet et n'a ménagé aucun effort pour son aboutissement. Je lui témoigne tout mon respect pour ses qualités humaines notamment pour sa disponibilité et sa simplicité qui ont facilité nos discussions; son perfectionnisme qui pousse à améliorer la qualité du travail effectué ;
- du Professeur Moyou Somo Roger qui a guidé mes premiers pas dans la recherche, en dirigeant mes travaux de mémoire de Master ;
- au Professeur Antoine Berry pour ses encouragements ;
- au Docteur Nana Djeunga Hugues avec qui j'ai échangé tout au long de ce travail. Je lui témoigne toute ma gratitude pour son aide notamment dans l'analyse statistique et ses encouragements qui ont été précieux pour améliorer la qualité de ce travail ;
- au Docteur Teukeng Félicité pour son aide accordée lors de la récolte des mollusques et ses encouragements.

Ma gratitude va également :

- à l'endroit de mes enseignants des Départements de Biologie et Physiologie Animales des Universités de Dschang et de Yaoundé I, notamment les Professeurs Mimpfoundi Rémy, Fomena Abraham, Tchuem Tchuenté Louis Albert, Bilong Bilong Charles Felix, Tchuinkam Timoléon pour la formation qu'ils m'ont donnée ;
- à mes aînés dans la recherche, nous pensons notamment aux Docteurs Kamwa Ngassam et Njitchoang Guy Roger dont les conseils m'ont été d'un grand apport ;
- à mes camarades de laboratoire et de promotion, notamment Docteur Melachio Tanekou Trésor, Mme Labou Judith, Mme Tchami Carole, Mme Kame-Ngasse Irma, Dr Tsagmo Jean-Marc, M. Freitas Sougal, M. Feudjio Stève, Mme Fadilatou

Foule Bakari, Mme Noumedem Dongmo Calvine, M. Kenfack Christian avec qui j' passé des moments enrichissant tant scientifiquement qu'humainement ;

- à mon oncle Deffo Modeste qui n'a cessé de m'encourager tant matériellement que moralement. Je lui dis grandement merci ;
- à mes tantes Fossouo Martine et Kengne Anne dont l'attention et le soutien m'ont encouragés ;
- à mes frères et sœurs : Ghislain, Rostandine, Alvine, Gaëlle, Aretha, Goretti, Alida, Stéphanie, Boris ;
- à mes amis : Tambo Brice, Temateu Linda, Foualeng Audrey, Ali Samira, Mache Jacky, Tabonfack Arice qui m'ont soutenus dans les moments difficiles et fait grandir humainement ;
- à la grande famille ACE Cop' monde et tout particulièrement à Mme Mbia Ernestine ;
- à ma marraine, Mme Eloundou Cecile dont la présence et les encouragements m'ont soutenue ;
- à ma belle-famille, nous pensons notamment à M. et Mme Moyou et M. Nokam Pierre, Mme Fotso Brigitte dont la sagesse et les conseils m'ont inspirés ;
- à tous ceux ou celles dont les noms ne figurent pas ici et qui de près ou de loin m'ont encouragé et contribué à la réalisation de ce travail. Que le Seigneur qui a permis que cette étude se réalise, accorde sa bénédiction à tous et qu'Il soit lui-même éternellement glorifié.

SOMMAIRE

LISTE PROTOCOLAIRE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DES SCIENCES.....	i
DEDICACE.....	ix
ABREVIATIONS ET ACRONYMES.....	xv
LISTE DES FIGURES.....	xvi
LISTE DES TABLEAUX.....	xvii
RESUME.....	xviii
ABSTRACT.....	xx
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	5
I-1. Epidémiologie de la schistosomiase.....	6
I-1-1. Position systématique des schistosomes.....	6
I-1-2. Parasitologie.....	6
I-1-3. Cycle biologique.....	8
I-1-4. Répartition géographique de la schistosomiase intestinale due à <i>Schistosoma mansonii</i>	10
I-1-5. Diagnostic de la bilharziose intestinale.....	12
I-1-6. Lutte contre la Bilharziose.....	14
I.2 Généralités sur les <i>Biomphalaria</i>	18
I-2-1. Systématique de <i>Biomphalaria</i>	18
I-2-2. Biologie et écologie des <i>Biomphalaria</i>	19
I-3. Identification des deux espèces de mollusques.....	21
I-3-1. Identification morphologique.....	21
I-3-2. Identification moléculaire par la méthode de la PCR-RFLP.....	22
I-4. Système de reproduction des Basommatophores.....	24
I-4-1. Autofécondation.....	27
I-4-2. Allofécondation.....	27

I-4-3. Dépression d'autofécondation.....	28
I-4-4. Temps d'attente.....	28
I-4-5. Comportement copulatoire.....	29
I-5. Compatibilité entre <i>Biomphalaria</i> sp. et <i>Schistosoma mansoni</i>	30
I-5-1. Action du parasite sur la croissance et la reproduction du mollusque	31
CHAPITRE II : CADRE GEOGRAPHIQUE, MATERIEL ET METHODES.....	33
II-1. Cadre géographique.....	34
II-1-1. Choix des sites de l'étude	34
II-1-2. Sites de la région du Centre.....	36
II-1-3. Site de la région du Nord.....	37
II-1-4. Site de la région de l'Extrême-Nord	38
II-1-5. Site de la région du Sud.....	38
II-1-6. Site de la région de l'Ouest.....	39
II-2. Matériel et méthodes	39
II-2-1. Récolte et élevage des mollusques.....	39
II-2-2. Identification des mollusques récoltés	40
II-2-3. Etude du système de reproduction des <i>Biomphalaria</i>	44
II-2-4. Etude expérimentale de la susceptibilité à <i>Schistosoma mansoni</i> des populations de <i>Biomphalaria pfeifferi</i> et <i>Biomphalaria camerunensis</i>	48
II-2-5. Analyse des données	52
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	54
III-1. Résultats	55
III-1-1. Taxons de mollusques identifiés.....	55
III-1-2. Système de reproduction des <i>Biomphalaria</i>	59
III-1-3. Comportement copulatoire des <i>Biomphalaria</i>	64
III-1-4. Temps d'attente chez l'espèce <i>Biomphalaria camerunensis</i>	67
III-1-5. Paramètres de la susceptibilité des populations de <i>Biomphalaria pfeifferi</i> et <i>Biomphalaria camerunensis</i> vis-à-vis de <i>Schistosoma mansoni</i>	67

III-1-6. Effet du parasitisme de <i>Schistosoma mansoni</i> sur la croissance et la fécondité de <i>Biomphalaria pfeifferi</i>	73
III-2. Discussion.....	77
III-2-1. Identification des espèces de mollusques.....	77
III-2-2. Système de reproduction des <i>Biomphalaria</i>	78
III-2-3. Susceptibilité des populations de <i>Biomphalaria pfeifferi</i> et <i>Biomphalaria camerunensis</i> vis-à-vis de <i>Schistosoma mansoni</i>	84
III-2-4. Effet du parasitisme de <i>Schistosoma mansoni</i> sur la croissance et la fécondité de <i>Biomphalaria pfeifferi</i>	87
CONCLUSIONS, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES.....	89
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	92
ANNEXES	109

ABREVIATIONS ET ACRONYMES

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADNr : Acide désoxyribonucléique ribosomique

ARN: Acide ribonucléique

BET: Bromure d'ethidium

° C : degré Celsius

CAA : Antigène Anodique Circulant

CCA : Antigène Cathodique Circulant

dNTP : Désoxyribonucléotides tri-phosphate

ITS : Internal Transcribed Spacer (Espace transcrit Interne)

Max : Maximum

Min : Minimum

OMS : Organisation Mondiale de la santé

pb : paire de bases

PCR : Polymerase Chain Reaction (Réaction de polymérisation en chaîne)

Taq : *Thermus aquaticus*

TRI : Taux de réussite de l'infestation

trs/min : tours par minute

s : Ecart-type

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Couple de <i>Schistosoma mansoni</i> vu au microscope électronique à balayage.....	7
Figure 2: Cycle biologique de <i>Schistosoma mansoni</i> (original)	10
Figure 3 : Répartition géographique mondiale de la bilharziose intestinale à <i>Schistosoma mansoni</i> (OMS, 2012)	11
Figure 4 : Pontes embryonnées de <i>Biomphalaria</i> sp.....	20
Figure 5 : Région ITS de l'ADNr.....	23
Figure 6 : Différentes étapes de l'amplification d'un gène par PCR	24
Figure 7 : Morphologie générale de l'appareil reproducteur et du mouvement des gamètes chez les Basommatophores (d'après Jarne <i>et al.</i> , 2010)	26
Figure 8 : Carte de collecte des échantillons de <i>Biomphalaria</i> sp. et de <i>Schistosoma mansoni</i>	35
Figure 10 : Protocole expérimental de l'étude du temps d'attente.....	48
Figure 11 : Protocole d'obtention et d'éclosion des œufs de <i>Schistosoma mansoni</i>	51
Figure 12 : Coquilles de <i>Biomphalaria</i> sp., hôtes intermédiaires de <i>Schistosoma mansoni</i> au Cameroun	55
Figure 13 : Bandes révélées sur gel d'agarose caractérisant l'amplification de la séquence ITS2 chez <i>Biomphalaria</i>	56
Figure 14 : Séries de bandes révélées sur gel de polyacrylamide caractérisant différents individus du genre <i>Biomphalaria</i>	57
Figure 15 : Courbes de survie des différentes espèces de mollusques en fonction des types de fécondation pendant un mois.....	62
Figure 16 : Dynamique des pontes chez <i>Biomphalaria pfeifferi</i>	63
Figure 17 : Dynamique des pontes chez <i>Biomphalaria camerunensis</i>	64
Figure 18 : Stratification du taux d'éclosion en fonction du type de fécondation chez les deux espèces de <i>Biomphalaria</i>	64
Figure 19 : Différentes phases de la copulation chez les deux espèces de <i>Biomphalaria</i>	65
Figure 20 : Taux de réussite de l'infestation chez <i>Biomphalaria pfeifferi</i>	69
Figure 21 : Taux de réussite de l'infestation chez <i>Biomphalaria camerunensis</i>	69
Figure 22 : Moyennes des taux de réussite de l'infestation chez les deux espèces de mollusques	70
Figure 23 : Durée de la période prépatente chez les deux espèces de mollusques	71
Figure 24 : Production cercarienne chez les deux espèces de mollusques.	72
Figure 25 : Courbe du nombre moyen de cercaires de <i>Schistosoma mansoni</i> émises par heure par des individus de <i>Biomphalaria camerunensis</i>	73

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Couple d'amorces utilisé pour l'amplification du gène ITS2.....	42
Tableau II : Composition du mélange réactionnel pour l'amplification du gène ITS-2.....	42
Tableau III : Site de clivage de la séquence nucléotidique spécifique par l'endonucléase HpaII.....	43
Tableau IV : Différents profils obtenus et ribotypes correspondants	57
Tableau V : Différents ribotypes obtenus par population de mollusques	58
Tableau VI : Espèces de mollusques identifiées morphologiquement et par la PCR-RLFP.....	58
Tableau VII : Âge moyen à la maturité sexuelle relevé au bout de 8 mois de suivi chez les populations de mollusques.....	59
Tableau VIII : Paramètres de la fécondité et de la survie avant et après l'accouplement chez <i>Biomphalaria pfeifferi</i> d'Etokos et <i>Biomphalaria camerunensis</i> de Yana Messina	61
Tableau IX : Nombre moyen de copulations par population de mollusques	66
Tableau X : Temps d'attente chez les individus de l'espèce <i>Biomphalaria camerunensis</i>	67
Tableau XI : Résultats de l'infestation par <i>Schistosoma mansoni</i> des deux espèces de mollusques.	68
Tableau XII : Production cercarienne de <i>Biomphalaria pfeifferi</i> de Nkolbisson et <i>Biomphalaria camerunensis</i> de Petpenoun pendant les 5 jours de suivi.....	72
Tableau XIII : Taille des mollusques témoins (1) et des mollusques infestés (2) en fonction de leur âge	74
Tableau XIV : Gain de taille entre mollusques témoins (1) et mollusques infestés (1).....	74
Tableau XV : Effet du parasitisme sur la ponte d'oeufs chez <i>Biomphalaria pfeifferi</i>	76

RESUME

La schistosomiase est répandue sur le territoire camerounais mais malgré la réduction de la morbidité, sa transmission demeure hétérogène et dynamique. L'intégration et l'application de la lutte contre les hôtes intermédiaires dans les programmes de lutte seraient le moyen le plus efficace pour interrompre durablement la transmission des schistosomes. Un préalable à l'application de la lutte contre les mollusques hôtes intermédiaires serait d'améliorer les connaissances sur le mollusque hôte intermédiaire cible. Jusqu'à présent très peu d'études apportent des données sur la biologie et la compatibilité les mollusques appartenant au genre *Biomphalaria* Preston, 1910 au Cameroun et les schistosomes. Nous nous sommes donc proposés de mettre en évidence les caractéristiques intrinsèques de *Biomphalaria pfeifferi* (Krauss, 1848) et *Biomphalaria camerunensis* (Boettger, 1941) impliquées dans l'hétérogénéité et la persistance de la transmission de *Schistosoma mansoni*. Plus spécifiquement nous avons : i) identifié les espèces de *Biomphalaria* sur la base de la morphologie de leur coquille et d'une méthode de taxonomie moléculaire ; ii) mis en évidence les traits de vie (âge de maturité sexuelle, fertilité, taux d'éclosion des descendants et survie, comportement copulatoire) chez ces deux espèces ; iii) mis en évidence les systèmes de reproduction prépondérants chez ces deux espèces ; iv) évalué les taux de susceptibilité des populations de *B. pfeifferi* et *B. camerunensis* vis-à-vis de *S. mansoni* ; v) estimé la production cercarienne des mollusques infestés.

Les mollusques collectés ont été élevés dans un molluscarium situé à l'Université de Yaoundé I. L'analyse du système de reproduction a été réalisée suivant trois étapes désignées comme suit : i) pour chaque espèce un échantillon de jeunes mollusques (G1), vierges et matus sexuellement a été constitué et divisé en deux lots ; ii) dans le premier lot, les individus ont été maintenus isolés afin d'évaluer l'impact de l'autofécondation sur leurs traits de vie tandis que dans le second lot, les individus ont été appariés pendant quelques heures afin d'évaluer l'impact de l'accouplement ; iii) Dans chaque lot, les paramètres de la valeur sélective (fécondité des individus G1 et survie des descendants G2) ont été suivis pendant un mois. Le comportement copulatoire a été observé dans trois populations, une de *B. pfeifferi* et deux de *B. camerunensis*. La susceptibilité de trois populations de *B. pfeifferi* et de cinq de *B. camerunensis* à une souche de *S. mansoni* a été testée. La période prépatente, les taux de réussite de l'infestation et de survie, ainsi que la production cercarienne ont été

enregistrés et comparés entre les populations et les espèces de *Biomphalaria*. L'effet du parasitisme sur la croissance et la fécondité des individus infestés de *B. pfeifferi* a été évalué.

La maturité sexuelle (âge de dépôt de la première ponte) a été atteinte à 63,9 (s=3,0) et 103,7 (s=36,6) jours pour *B. pfeifferi* et *B. camerunensis* respectivement. Chez *B. pfeifferi*, la fécondité (nombre de pontes et d'œufs) des jeunes individus G1 et la survie de leurs descendants G2 à J0 et J8 ont été similaires en autofécondation et en allofécondation ; de plus une faible valeur de dépression d'autofécondation (0,063) a été observée. Chez *B. camerunensis*, la fécondité des individus croisés a été significativement plus élevée que celle des individus isolés. Le taux d'éclosion a été significativement plus élevé et le temps d'incubation plus court pour les œufs issus de l'allofécondation comparés aux œufs issus de l'autofécondation ; de plus une valeur élevée de la dépression d'autofécondation (0,71) a été observée. Les mollusques de chaque espèce copulent donc aisément dès qu'ils sont appariés et présentent un comportement copulatoire élaboré et stéréotypé. Les tests de compatibilité ont été réalisés sur un total de 827 mollusques dont 41,6% de *B. pfeifferi* et 58,4% de *B. camerunensis*. Les taux d'infection ont été assez hétérogènes : plus élevé chez *B. pfeifferi* (61,5%) comparé à *B. camerunensis* (7,8%) ($P < 0,0001$). Toutes les trois populations de *B. pfeifferi* ont été susceptibles à *S. mansoni*. Cependant, parmi les cinq populations infestées de *B. camerunensis*, 4 ont été susceptibles à *S. mansoni*, avec 21,9% comme taux d'infection le plus élevé. La période de prépatence a été en moyenne plus courte chez *B. pfeifferi* comparé à *B. camerunensis* ($P < 0,0001$) mais la production cercarienne a été significativement plus élevée chez *B. camerunensis* comparée à *B. pfeifferi* ($P < 0,001$). Le gain de taille a été significativement important chez les mollusques indemnes ($P = 0,01$) comparés aux mollusques infestés. De même, nous avons observé un effet négatif du parasitisme à *S. mansoni* sur la fécondité des individus infestés. La diversité biologique et le fort polymorphisme de susceptibilité présentés par ces *Biomphalaria* contribueraient à l'hétérogénéité de la transmission de *S. mansoni* au Cameroun. La sensibilité de quelques populations de *B. camerunensis* à *S. mansoni* devrait être prise en compte dans l'analyse des stratégies d'élimination de la schistosomiase intestinale au Cameroun.

Mots-clés : Schistosomiase, *Biomphalaria*, traits de vie, système de reproduction, susceptibilité, lutte anti vectorielle.

ABSTRACT

Schistosomiasis is largely distributed in Cameroon and schistosome's transmission is still heterogenous and highly dynamic despite the reduction of the disease's mortality. The integration and application of snail control in schistosomiasis control programs could be the most efficient way to interrupt schistosome transmission. Preliminary studies are needed for the correct implementation of this measure. Few data are available until now about the biology and the host-parasite compatibility of intermediate hosts belonging to the genus *Biomphalaria* Preston, 1910 in Cameroon. This thesis was then designed with the aim to highlight the intrinsic characteristic of *Biomphalaria pfeifferi* and *Biomphalaria camerunensis*, which are involved in the heterogeneity and the persistence of *Schistosoma mansoni* transmission in Cameroon. Five specific objectives were assigned to achieve this goal : i) to identify *Biomphalaria* species based on shell morphology and a DNA taxonomy methodology ; ii) to analyse life history traits such as age at first maturity, fecundity, hatching and survival rate, mating behaviour ; iii) to analyse the mating system in the two species ; iv) to evaluate the susceptibility rate of *B. pfeifferi* and *B. camerunensis* populations towards *S. mansoni*; v) to evaluate cercarial production of susceptible snails.

The snails collected were raised in a snail rearing room situated at the Faculty of Science of Yaoundé I University. Snails were fed ad libitum with dried lettuce. The mating system analysis was performed following a three-step experimental design as follows: (i) for each species, a sample of young snails (G1), virgin and sexually mature was constituted and divided into two groups; (ii) in the first group, individuals were maintained isolated for the evaluation of the impact of self-fertilization on life history traits while in the second group, individuals were paired for few hours for the evaluation of cross fertilization impact; (iii) in each group, fitness parameters (fecundity of G1 snails and survival of G2 offspring) were monitored during one month. Mating behaviour was observed in three populations, one of *B. pfeifferi* and two of *B. camerunensis*. The courtship behaviour, the number of copulations, as well as the sexual role assumed by individuals were recorded. The susceptibility of three *B. pfeifferi* and five *B. camerunensis* populations to a strain of *S. mansoni* was assessed. Juvenile snails

(G1) of each population were infected with *S. mansoni* miracidia, and prepatent period, infection and survival rates of infected snails, as well as cercarial production were recorded and compared between snail species and populations. The effect of parasitism on growth and fecundity of infected *B. pfeifferi* individuals was analysed.

The sexual maturity (age at first egg laying) was reached, on average, at 63.9 (SD: 3.0) and 103.7 (SD: 36.6) days for *B. pfeifferi* and *B. camerunensis*, respectively. In *B. pfeifferi*, the fecundity (number of egg capsules and eggs) of young G1 individuals and survival of G2 offspring on D0 and D8 were similar between selfing and outcrossing individuals, and a very low inbreeding depression (0.063) was observed. In *B. camerunensis*, the fecundity of outcrossed individuals was significantly higher than that of selfed individuals. The hatching rate was significantly higher and the incubation time significantly shorter for cross-fertilized eggs as compared with self-fertilized eggs, and a high inbreeding depression (0.71) was observed. Snails from both species easily copulated and individuals displayed elaborate stereotyped courtship behaviour. Compatibility tests were performed on 827 snails: 344 *B. pfeifferi* and 483 *B. camerunensis*. Infection rates were quite heterogeneous, higher in *B. pfeifferi* (61.5%) as compared to *B. camerunensis* (7.8%) (Chi-square test: $\chi^2 = 258.88$, $df = 1$, $P < 0.0001$). All the three *B. pfeifferi*-infected populations were susceptible to *S. mansoni*. However, among the five *B. camerunensis* populations tested, four were susceptible to *S. mansoni*, with 21.9% as the highest infection rate. The prepatent period was, on average, shorter in *B. pfeifferi* than in *B. camerunensis* ($P < 0.0001$), but the cercarial production was significantly higher in *B. camerunensis* as compared to *B. pfeifferi* ($P < 0.001$). The growth was significantly higher in healthy individuals compared to infected *B. pfeifferi* individuals ($P = 0.01$). It was also observed a negative effect of parasitism on the fecundity of infected individuals. The biology diversity and high susceptibility polymorphism shown by these *Biomphalaria* could contribute to the heterogeneity of *S. mansoni* transmission in Cameroon. The susceptibility of some *B. camerunensis* populations to *S. mansoni* should be taken into account when analyzing strategies of intestinal schistosomiasis elimination in Cameroon.

Key words : Schistosomiasis, *Biomphalaria*, traits of life, mating system, susceptibility, snail's control.

INTRODUCTION

La schistosomiase humaine est une maladie parasitaire causée par la présence des vers trematodes du genre *Schistosoma* Weiland, 1858 dans le système circulatoire ; elle est retrouvée dans 78 pays dans le monde et sévit particulièrement dans les communautés démunies, qui ont un accès limité à l'eau potable et dont les conditions d'hygiène environnementale sont mauvaises. On estime à environ 779 millions le nombre de personnes exposées (Colley *et al.*, 2014 ; Tchuem Tchuente *et al.*, 2017) et à près de 280 000 décès chaque année en Afrique (Savioli *et al.*, 2017). Les enfants d'âges scolaire et préscolaire sont les groupes les plus affectés, avec des prévalences et des intensités parasitaires les plus élevées causant des dommages importants sur leurs jeunes organes et compromettant ainsi leur développement (Odogwu *et al.*, 2006, Stothard *et al.*, 2013).

Le Cameroun est l'un des pays africains les plus affectés par les schistosomoses qui représentent un véritable problème de santé publique (PNLSHI, 2005). La schistosomiase ou Bilharziose touche toutes les dix régions du pays avec des distributions très variables dans le temps et une transmission dynamique. En outre, les trois formes de schistosomoses africaines sévissent au Cameroun ; il s'agit de la bilharziose urinaire due à *Schistosoma haematobium* (Bilharz, 1852) et transmise par *Bulinus truncatus* (Audouin, 1827, *Physa*), *Bulinus globosus* (Morelet, 1866, *Physa*), *Bulinus senegalensis* Muller, 1781 et *Bulinus camerunensis* Mandahl-Barth, 1957, de la bilharziose intestinale due à *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 et transmise par *Biomphalaria pfeifferi* (Krauss, 1848) et *Biomphalaria camerunensis* (Boettger, 1941), enfin de la bilharziose rectale causée par *Schistosoma guineensis* (Pages, 2003) et transmise par *Bulinus forskalii* (Ehrenberg, 1831). La lutte contre la schistosomiase est effective depuis trois décennies et a été basée essentiellement sur le contrôle de la morbidité de la maladie (Ratard *et al.*, 1990). Les résultats de cette lutte permettent de noter d'une part une baisse considérable des prévalences et des intensités parasitaires et, d'autre part, une constance dans la transmission des schistosomes et la découverte de nouveaux foyers (Tchuem Tchuente *et al.*, 2012 ; Tchuem Tchuente *et al.*, 2013). En effet dans les foyers méso et hyperendémiques, les réinfestations sont très rapides et les prévalences retournent rapidement autour de leur valeur initiale 6 à 12 mois après un traitement des malades. De plus, la migration de personnes parasitées vers des sites encore indemnes, où les conditions sanitaires sont inadéquates et où existent des hôtes intermédiaires susceptibles au parasite, favorise l'émergence de nouveaux foyers. Cette situation épidémiologique nécessite la mise en place de stratégies nouvelles pour atteindre l'élimination souhaitée d'ici 2025 (Rollison *et al.*, 2012). Ces stratégies intègreraient entre autres, la redéfinition de la stratégie de traitement

adoptée jusqu'ici, l'aménagement des infrastructures avec plus de disponibilité en eau potable et la lutte contre les mollusques hôtes intermédiaires.

La lutte contre les hôtes intermédiaires reste peu appliquée en Afrique pourtant le contrôle de leurs populations serait le moyen le plus efficace pour réduire à long terme la prévalence de la schistosomiase et atteindre son élimination (Sokolow *et al.*, 2016). Cette méthode serait indispensable dans les villages où la dépendance à l'eau douce est grande ; toutefois sa mise en place nécessite une connaissance précise de l'habitat, de la biologie et la capacité vectorielle de ces hôtes intermédiaires. Nous nous sommes donc intéressés à l'étude de deux espèces d'hôtes intermédiaires appartenant au genre *Biomphalaria* (Preston, 1910), à savoir *B. pfeifferi* et *B. camerunensis*. Très semblables morphologiquement, leur identification a été basée jusqu'ici essentiellement sur des critères morpho-anatomiques (Same-Ekobo, 1984, Mimpfoundi *et al.*, 1990) ; aussi leur biologie a été très peu étudiée comparée au modèle bulin (Mimpfoundi & Ndassa, 2005; Njiokou *et al.*, 2004, Djuikwo-Teukeng *et al.*, 2014). De plus, il existe peu de données sur le potentiel vecteur de l'espèce *Biomphalaria camerunensis* dont les populations s'étendent exclusivement dans la zone équatoriale et subéquatoriale. Or, les travaux de 2011 sur la cartographie des schistosomiasés de 2011 révèlent que la schistosomiase intestinale à *S. mansoni* est la forme de bilharziose la plus répandue dans la zone équatoriale (Tchuem-Tchuente *et al.*, 2012 et 2013) mais il n'y est pas fait mention de son hôte intermédiaire dans ces foyers étudiés.

Biomphalaria pfeifferi est considéré comme l'hôte intermédiaire principal de *S. mansoni* ; il est susceptible au parasite et a été retrouvé dans la plupart des foyers de transmission (Greer *et al.*, 1990). *Biomphalaria camerunensis* joue le rôle d'hôte intermédiaire secondaire ; il a été identifié dans quelques foyers de transmission de schistosomiase intestinale de la région du Centre (Ripert *et al.*, 1978 ; Same Ekobo, 1984) et est considéré jusqu'ici comme très peu sensible à *S. mansoni*. Les spécimens récoltés en République Démocratique du Congo, appartenant à la sous-espèce *Biomphalaria camerunensis manzadica* (Brown, 1994), ont été impliqués dans la création et l'entretien de foyers actifs de schistosomiase à *S. mansoni* dans plusieurs villes de ce pays (Colaert *et al.*, 1977). Selon Frandsen (1979), certaines populations de l'espèce *B. camerunensis* auraient vis-à-vis de *S. mansoni* une susceptibilité semblable à celles des populations de *B. pfeifferi*. Il était donc nécessaire d'initier une étude chez ces deux espèces pour clarifier leur identification et, partant, leur distribution géographique actuelle, les systèmes de reproduction qui contrôlent la transmission des gènes, et les niveaux de susceptibilité permettant d'estimer

leurs rôles respectifs dans la transmission de *S. mansoni* et le risque de développement de nouveaux foyers.

L'objectif général de cette thèse vise donc à mettre en évidence les caractéristiques intrinsèques de *B. pfeifferi* et *B. camerunensis*, impliquées dans l'hétérogénéité et la persistance de la transmission de *S. mansoni* au Cameroun. Plus spécifiquement il s'agit de :

-améliorer l'identification des espèces de *Biomphalaria* sur la base de la morphologie de leurs coquilles et d'une méthode de taxonomie moléculaire ;

-mettre en évidence la diversité des traits de vie (âge de maturité sexuelle, fertilité, taux d'éclosion des descendants et survie, comportement copulatoire des individus) et les systèmes de reproduction prépondérants chez ces deux espèces ;

-évaluer le taux de susceptibilité des populations de *B. pfeifferi* et *B. camerunensis* vis-à-vis de *S. mansoni* ainsi que le taux de production cercarienne des mollusques infestés.

Ce travail est ainsi subdivisé en trois chapîtres : la revue de littérature ; le cadre géographique et le matériel et méthodes ; les résultats et la discussion qu'entourent une introduction et une conclusion.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

I-1. Epidémiologie de la schistosomiase

La schistosomiase ou bilharziose est la deuxième endémie parasitaire mondiale responsable de plus de 280 000 décès chaque année dans les pays d'Afrique subsaharienne (OMS, 2016). Elle est causée par les schistosomes qui sont des vers plats non segmentés, à sexes séparés, hémato-phages, vivant au stade adulte dans le système circulatoire des mammifères et évoluant au stade larvaire chez un mollusque d'eau douce. La pauvreté ou le faible développement économique des pays atteints est la principale raison de l'endémicité de cette maladie. Une autre raison secondaire se trouve dans l'étonnante évolution et adaptabilité des schistosomes et de leurs hôtes intermédiaires qui soutiennent l'expansion de la maladie et favorisent l'émergence de nouveaux foyers comme celui identifié dans une zone tempérée, notamment en France, où la schistosomiase avait disparu il y a déjà 5 décennies (Calavas *et al.*, 2014 ; Berry *et al.*, 2014 ; Brunet *et al.*, 2015). De plus, les changements climatiques actuels favorisent l'évolution de espèces anthropophiles et l'apparition d'hybrides capables de se développer chez plusieurs hôtes vertébrés et de répandre l'expansion de la bilharziose (Webster *et al.*, 2006).

I-1-1. Position systématique des schistosomes

Ces vers plats appartiennent à l'embranchement des Plathelminthes, à la classe des Trématodes, à l'ordre des Digènes, à la famille des Schistosomatidae et au genre *Schistosoma* Weiland, 1858. La spéciation et la diversification des schistosomes ont engendré 23 espèces, dont huit sont douées d'affinité anthropophile : *S. haematobium* (Bilharz, 1852), *S. mansoni* Sambon, 1907, *S. guineensis* (Pages, 2003), *S. intercalatum* Fischer, 1934, *S. japonicum* (Katsurada, 1904), *S. mekongi* (Voge, Bruker & Bruce, 1978), *S. malayensis* et *S. mattheei* Veglia & le Roux, 1929 (Lawton, *et al.*, 2011). Les schistosomes retrouvés en Afrique, à savoir : *S. haematobium*, *S. mansoni*, *S. intercalatum* et *S. guineensis*, proviendraient d'Asie suite à la migration des vecteurs et des réservoirs définitifs (Webster *et al.*, 2006). Ils sont tous transmis par les mollusques hôtes intermédiaires du genre *Bulinus* sp., excepté *S. mansoni* qui est transmis par les espèces du genre *Biomphalaria*.

I-1-2. Parasitologie

Le schistosome passe par plusieurs stades de développement : adulte, œuf, miracidium, sporocyste, cercaire et schistosomule.

Le ver mâle mesure 6 à 20 mm de long suivant l'espèce. Il est cylindrique au niveau de son tiers antérieur qui porte 2 ventouses ; le reste du corps est aplati et les bords latéraux se replient ventralement pour délimiter le canal gynécophore où se loge la femelle qui mesure 7 à 20 mm de long ; elle est cylindrique, filiforme, plus longue que le ver mâle de la même espèce (Ross *et al.*, 2002 ; Gryseels *et al.*, 2006) (figure 1). La cuticule est couverte d'épines, de tubercules et/ou de soies et porte des protéines qui sont des antigènes candidats au vaccin contre la schistosomiase (Braschi et Wilson, 2006; Tran *et al.*, 2006). Le tégument de *S. mansoni* comprend 5 à 7 couches dont les plus superficielles sont en régénération constante. Cette structure du tégument permet à l'animal de muer constamment pour grandir et de se nourrir par osmotrophie. Il existe dans les deux sexes une ventouse orale située à l'extrémité antérieure du corps qui s'ouvre dans l'œsophage, et une ventouse ventrale, organe de fixation. La morphologie générale est donc nettement adaptée à la vie intravasculaire. Les organes génitaux mâles et femelles sont situés face à face et permettent une copulation fréquente du couple d'adultes.

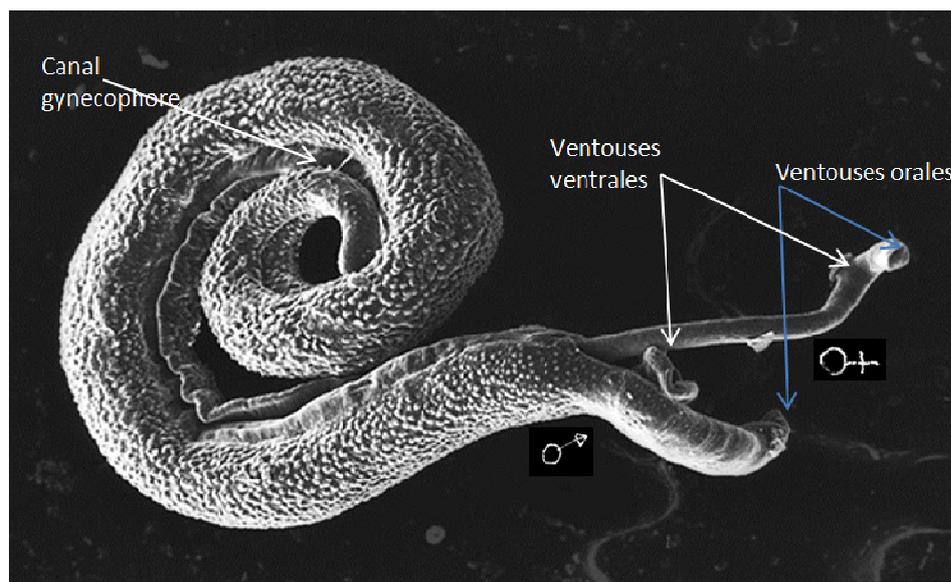


Figure 1: Couple de *Schistosoma mansoni* vu au microscope électronique à balayage (<http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/bilharzioses/site/html/1.html>, Visité le 18/07/2018).

Les œufs sont de teinte jaunâtre; ils ne possèdent pas d'opercule mais un éperon caractéristique dont les dimensions et la position varient selon l'espèce. Les œufs de *S. mansoni* portent sur l'une des faces latérales un éperon latéral proéminent. Ils sont pondus dans la sous-muqueuse intestinale et sont éliminés avec les matières fécales. La ponte comporte des variations journalières allant de 100 à 300 œufs par jour et par femelle pour

l'espèce *S. mansoni*; ces œufs éclosent dans l'eau douce si les conditions favorables sont réunies (25 à 30°C de température, ensoleillement présent, pH neutre) pour libérer un miracidium (Gentilini *et al.*, 1993).

Le miracidium est une larve ciliée, à cuticule mince, libérée de l'œuf; il est de forme allongée, ses cils sont insérés sur des plaques épidermiques bien délimitées, réparties en rangées. Il présente dans sa région antérieure deux glandes de pénétration (Dieng, 1999).

Le sporocyste provient du miracidium qui pénètre à l'intérieur du mollusque dans lequel il se transforme premièrement en sporocyste primaire (Sp1), généralement localisé dans les tissus du pied de l'hôte. Ces Sp1 produisent une deuxième génération de sporocystes, les sporocystes secondaires (Sp2), qui migrent vers la glande digestive du mollusque. Les Sp2 sont capables de produire non seulement des cercaires mais également des générations supplémentaires de sporocystes (Sire *et al.*, 1998). Ainsi, à partir d'un seul miracidium, on arrive à la production de plusieurs milliers de cercaires qui sortent activement du mollusque (Coustau, 2009).

La cercaire est une larve qui comprend essentiellement deux parties : le corps cercarien et l'appendice caudal terminé en forme de fourche. La cercaire a un corps recouvert d'un tégument épineux ; elle est de forme ovale et mesure de 250 à 450 µm de long pour 40 à 60 µm de large. La caractéristique majeure de ce stade est l'existence de glandes acétabulaires, situées en position antérieure, destinées à lyser les tissus de l'hôte (Dieng, 1999).

I-1-3. Cycle biologique

L'eau douce est indispensable au cycle du schistosome car elle est le point de contact entre l'hôte définitif qui est l'homme dans le cas présent et l'hôte intermédiaire qui est le mollusque (figure 2).

➤ Chez l'hôte définitif

L'infestation de l'homme s'effectue lors des bains, des travaux ménagers (lessive, vaisselle), champêtres ou aquacoles dans des eaux douces contaminées par les furcocercaires; celles-ci se fixent sur l'épiderme grâce à leur ventouse antérieure et la pénétration à travers la couche cornée fait intervenir une action mécanique et une action chimique. Cette pénétration est complète en 10 minutes environ. La furcocercaire se transforme en jeune schistosomule traverse la couche de Malpighi suivant un trajet oblique en lysant les cellules épidermiques; il

atteint le derme conjonctif et pénètre dans un petit vaisseau lymphatique ou dans une veinule. Le trajet du derme aux poumons se fait de façon passive, par transport lymphatique ou veineux. L'arrivée dans les poumons est effective 4 jours après la pénétration cutanée. De là, les schistosomules gagnent les veinules portes intrahépatiques par voie circulatoire mais il est possible que certains atteignent le foie par un trajet transtissulaire. La phase migratoire dure au total 10 à 21 jours (Gentilini *et al.*, 1993).

Seuls les schistosomules qui atteignent les veinules portes intrahépatiques peuvent poursuivre leur développement jusqu'à la différenciation et la maturité sexuelle en 3 semaines environ. Par contre ceux qui se perdent dans d'autres organes resteront à l'état immature. Les schistosomes s'accouplent et le couple se déplace à contre-courant vers les veines mésentériques inférieures où la femelle commence sa ponte. Les œufs pondus peuvent avoir trois destinées. Ceux qui réussissent leur migration peuvent traverser la muqueuse intestinale et tomber dans la lumière de l'intestin; ils seront éliminés avec les excréta et, après éclosion, les miracidiums libérés pourront infester un mollusque-hôte intermédiaire. Les œufs bloqués dans les tissus vont rester vivants pendant environ 25 jours et détermineront la formation d'un granulome bilharzien. Enfin d'autres œufs seront emportés passivement par le courant veineux et iront s'emboliser dans les veinules portes intrahépatiques, dans les poumons et dans d'autres organes et y induiront également la formation de granulomes. La migration des œufs de *S. mansoni* à travers les tissus des nourrissons et des jeunes enfants (<5ans), chez qui l'immunité n'est pas encore développée, est particulièrement néfaste pour leur survie et leur croissance (Stothard *et al.*, 2011). Chez l'adulte en zone tropicale, il existe une immunité acquise responsable d'une protection partielle qui réduit le niveau de réinfection par diminution de la fécondité parasitaire, sans détruire pour autant les vers adultes eux-mêmes.

- Chez l'hôte intermédiaire

Dans l'eau douce, les miracidiums libérés sont en mesure de détecter et de pénétrer le tégument d'un mollusque hôte intermédiaire. Dans le milieu naturel les prévalences sont faibles car généralement seulement 1% de la population de mollusques est parasitée (Theron & Coustau, 2005). Malgré ce faible pourcentage, chaque miracidium entame chez le mollusque une phase de reproduction asexuée à l'origine de plusieurs milliers de furcocercaires évacuées dans l'environnement (Ross *et al.*, 2002), compensant ainsi les pertes dues aux changements d'hôtes successifs. Ces furcocercaires s'échappent du mollusque aux heures chaudes de la journée, en général entre 10 h et 16 h en pays tropical, pour passer dans

l'eau avant de pénétrer chez l'hôte définitif. La durée totale du cycle chez le mollusque est d'un mois (Gentilini et *al.*, 1993).

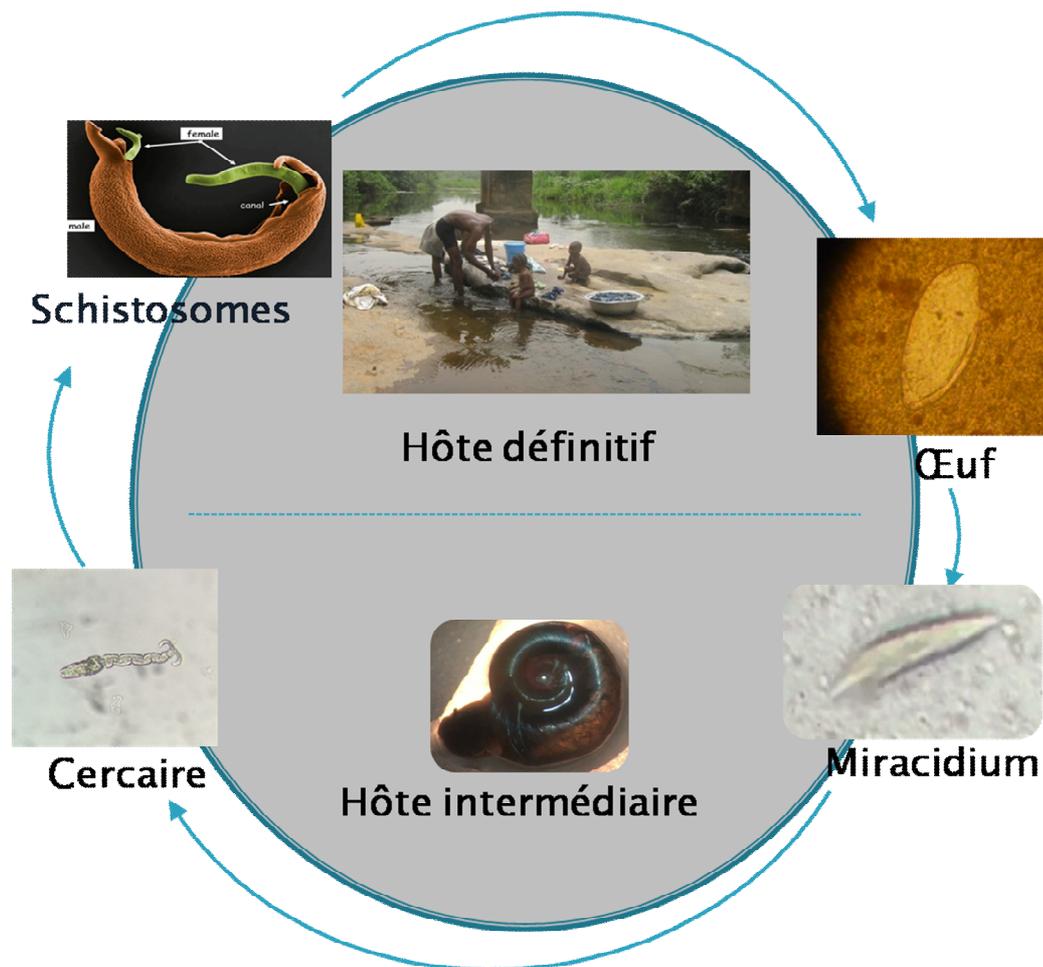


Figure 2: Cycle biologique de *Schistosoma mansoni* (original)

I-1-4. Répartition géographique de la schistosomiase intestinale due à *Schistosoma mansoni*

Schistosoma mansoni est responsable de la bilharziose la plus répandue dans le monde et est présente dans 53 pays. La distribution géographique de ce parasite est vaste et connue : l'Amérique latine, l'Afrique incluant Madagascar et le Moyen Orient sont touchés (figure 3). Ce parasite entraîne chaque année 130 000 décès et 54 millions de personnes en sont infestées (OMS, 2013). Il se transmet en général beaucoup plus dans les zones humides, tandis que *S. haematobium* se rencontre en général en zone de savane. Les réservoirs animaux de *S. mansoni*, tels que les rongeurs, les babouins, les insectivores (Standley et *al.*, 2012), les marsupiaux et les bovins sont responsables de la persistance de l'infection dans certains foyers (Mintsa-Nguema, 2010).

Au Cameroun, la schistosomiase intestinale à *S. mansoni* est connue depuis environ 80 années déjà (Azevedo J *et al.*, 1949 ; Deschiens *et al.*, 1968) et son incidence reste élevée. La prévalence de cette maladie parmi les individus d'âge inférieur ou égal à 20 ans se situe entre 20% et plus de 50% dans certaines localités (Schur *et al.*, 2011). La zone tropicale du pays est la plus touchée (Ratard *et al.*, 1990) avec une large distribution et de fortes prévalences (plus de 50%) dans la Région de l'Adamaoua, (Kamwa-Ngassam, 2012). Dans la partie sud du pays elle est la forme de schistosomiase la plus fréquente dans les régions du Centre, de l'Est et de l'Ouest (Tchuem Tchuente *et al.*, 2012) ; sa répartition demeure toutefois très focalisée avec des prévalences hétérogènes. Dans la région du Centre, le département du Mbam et Inoubou est la zone endémique la plus importante avec plusieurs foyers situés à Bafia (Brooker *et al.*, 2000), à Makénéne (Ratard *et al.*, 1990 ; Akufongwe *et al.*, 1995 ; Tchuem Tchuente *et al.*, 2001 ; Aloho-Bekong *et al.*, 2011), à Yoro (Moyou Somo *et al.*, 2003 ; Kengne, 2010 ; Essomba, 2014). Dans le département du Mfoundi, il existe encore quelques foyers urbains même si les prévalences ont considérablement baissé du fait de l'urbanisation et de l'assainissement du milieu (Mazeufou, 2010 ; Dongmo Noumedem, 2011). Dans la région du Littoral, les villages de Njombé et de Penja présentent des prévalences très élevées, supérieures à 50% (Kamwa-Ngassam, 2012).

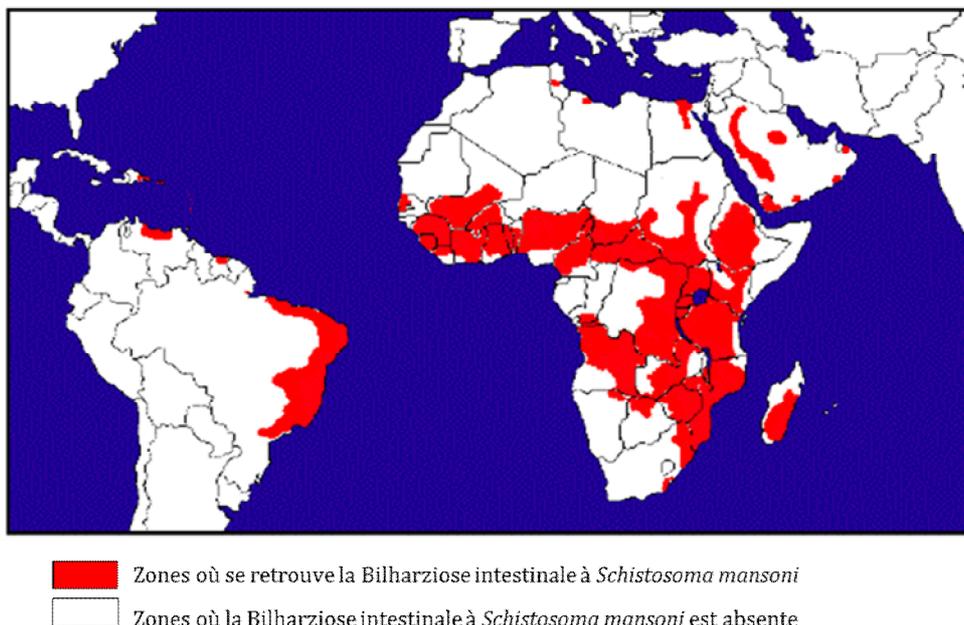


Figure 3 : Répartition géographique mondiale de la bilharziose intestinale à *Schistosoma mansoni* (OMS, 2012)

La bilharziose intestinale détermine des symptômes qui peuvent être superposés à ceux d'autres étiologies fréquentes en milieu tropical. Les personnes infestées n'apprécient

leur degré d'infection qu'après avoir été soignées, ne réalisant pas qu'elles sont malades avant le traitement ; elles hébergent donc plus longtemps le parasite qui peut conduire à leur mort.

La phase de contamination qui correspond à la pénétration des furcocercaires, passe souvent inaperçue et peut entraîner un tableau de "dermatite des nageurs" (érythème cutané allergique) survenant 15 à 30 minutes après le bain infestant. La phase d'invasion, contemporaine à la migration et à la maturation des schistosomules, peut être marquée par un malaise général (asthénie, fièvre, céphalées, anorexie/fièvre des safaris) accompagné de troubles d'ordre allergique. La phase d'état qui est purement intestinale se caractérise par des troubles du transit intestinal (diarrhée, dysenterie, constipations, nausées, vomissements...) et une hépato-splénomégalie. L'état général du patient est mauvais avec des palpitations, des vertiges, une dyspnée et un état dépressif ; tout ce qui diminue considérablement la capacité de travail ou d'apprentissage des malades. La période de chronicité peut durer des années (la longévité du vers est estimée à plus de 10 ans chez un malade), avec une alternance de poussées évolutives et de phases de stabilisation. Les complications peuvent être une hypertension artérielle responsable de varices oesophagiennes et il peut arriver que la mort survienne suite à la rupture de ces varices qui entraînent des hémorragies (King *et al.*, 2006). L'embolisation massive des œufs ou la migration ectopique de vers adultes peuvent être à l'origine de lésions rénales (Sobh *et al.*, 1987 ; Kengne, 2010), cardio-vasculaires, cutanées et neurologiques pouvant conduire à une paraplégie progressive du malade (Carod-artal, 2008).

I-1-5. Diagnostic de la bilharziose intestinale

Le développement et l'implémentation de mesures optimales de diagnostic sont nécessaires pour le contrôle de la bilharziose intestinale dans ce sens qu'ils permettent d'évaluer l'efficacité des interventions et la résurgence de la maladie (Rollison *et al.*, 2013). Un meilleur diagnostic optimiserait la surveillance et l'élimination de cette endémie.

- Diagnostic direct

Il s'agit de la mise en évidence des œufs du parasite qui apporte la preuve indiscutable de la parasitose. Elle est en principe toujours possible à la phase d'état de l'affection, lorsque le ver est arrivé à maturité soit environ huit semaines après l'infestation par les furcocercaires. La technique du frottis épais sous cellophane au moyen du gabarit de Kato-katz est la méthode recommandée la plus utilisée pour les études épidémiologiques de contrôle de la schistosomiase intestinale (à *S. mansoni*, *S. intercalatum* et *S. guineensis*) car elle est simple à mettre en œuvre et moins chère (Stothard *et al.*, 2013). Malgré sa grande spécificité, la

sensibilité d'une analyse de selle par le Kato-katz est limitée par la variation journalière du taux d'excrétion des œufs sous-estimant ainsi la prévalence réelle de l'infection. Dans un contexte de contrôle de l'infection où les intensités parasitaires sont faibles suite à la chimiothérapie de masse, l'examen de plusieurs échantillons de selles, collectés des jours différents, augmente la sensibilité du diagnostic des helminthiases (Tchuem Tchuente *et al.*, 2012). Par ailleurs, certaines méthodes de concentration des œufs permettent un diagnostic plus sensible. C'est le cas des techniques de concentration par centrifugation des œufs dans une solution de Percoll (Méthodologie d'Eberl) ou par flottaison à travers une solution de Zinc-sulfate (FLOTAC) qui ont prouvé leur efficacité pour le diagnostic de la schistosomiase à *S. mansoni* (Stothard *et al.*, 2011). La biopsie rectale, hépatique ou d'un autre organe permet de retrouver des œufs plus ou moins calcifiés mais elle reste un examen traumatisant.

Si la présence d'œufs dans un produit biologique confirme le diagnostic de bilharziose, leur absence n'exclut pas l'existence d'une bilharziose évolutive. D'une part, la ponte ne débute qu'après plusieurs semaines et, d'autre part, les œufs ne sont retrouvés que dans 60 à 70% des cas, ce qui peut s'expliquer soit par le blocage des œufs dans les tissus, soit par une infestation de type mono sexuée. Dans ce cas, la clinique, le contexte épidémiologique et surtout les diagnostics des antigènes produits par le schistosome ou des anticorps prennent toute leur valeur.

- **Diagnostic indirect**

Il est possible grâce à la détection des marqueurs biologiques (éosinophilie, présence d'anticorps, d'antigènes et d'ADN du parasite) et des pathologies typiques associées à la schistosomiase.

Les tests de détection des anticorps, commercialisés sous forme de Kit ELISA (Enzyme linked Immunosorbant Assay), sont utilisés pour détecter les anticorps de l'hôte (IgG et IgM) dirigés contre les antigènes des œufs ou des vers adultes. Ces tests ont montré une très grande sensibilité (environ 90%) comparés aux tests de détection directe du parasite (environ 50%), l'intensité de la réaction augmentant avec le niveau d'intensité parasitaire révélé par le Kato-Katz (Stothard *et al.*, 2011). Ils sont surtout utilisés en zone d'endémie pour l'étude des réactions immunitaires vis-à-vis du parasite. Leur inconvénient est qu'ils présentent une faible spécificité et ne permettent pas de déterminer entre les infections passées et actives ; en plus ils ne fournissent pas d'information précise sur l'intensité de l'infection (Stothard *et al.*, 2009).

Les tests de détection des antigènes semblent aujourd'hui mieux adaptés pour le contrôle efficace et l'élimination de la maladie (Colley *et al.*, 2014 ; Tchuem-Tchuente *et al.*,

2017). En effet, ils sont plus sensibles que les tests de détection directe (Stothard *et al.*, 2011 ; Shane *et al.*, 2011) car ils permettent de détecter les infections chez les malades chez qui le test de Kato-Katz s'est avéré négatif. Ils sont ainsi très utiles dans le suivi de la dynamique de la population de vers avant et après le traitement et la cartographie précise des zones d'endémie. Deux principaux antigènes peuvent être détectés dans le plasma sanguin ou dans les urines : l'antigène circulant anodique (CAA) et l'antigène circulant cathodique (CCA) nommés ainsi selon leur mobilité en électrophorèse. Ils proviendraient des glycoprotéines associées aux régurgitations de l'intestin du vers adulte dont la majeure partie est excrétée dans l'urine de l'hôte. Le test de l'antigène circulant de mobilité anodique a permis d'identifier la bilharziose la plus anciennement connue aujourd'hui chez une momie datée de 3200 av. J-C. Cette momie était celle d'un adolescent de l'époque prédynastique infesté par *S. haematobium* (Deelder, 1992). Il a été largement utilisé pour le diagnostic de *S. mansoni* en Afrique (Colley *et al.*, 2014). L'antigène cathodique circulant a permis de développer des tests de diagnostic rapides et faciles à exécuter, comme la cassette de test-urine CCA, pour les infections actives des infections dues à *S. mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum* et *S. mekongi*. La cassette de test-urine CCA, commercialisée depuis 2008, est recommandée pour la cartographie des zones infectées par *S. mansoni* parce que les plus hautes concentrations de CCA ont été obtenues dans les infections à *S. mansoni* (Colley *et al.*, 2014 ; Utzinger *et al.*, 2015). Ce test-urine CCA est plus rapide à mettre en œuvre car il se fait sur des échantillons d'urine, plus faciles à collecter que les échantillons de selles. De plus, il est plus sensible que plusieurs tests parasitologiques (Utzinger *et al.*, 2015) même dans les infections à faibles intensités parasitaires (Siqueira *et al.*, 2016). Il a présenté au Cameroun une sensibilité supérieure à 9 tests de Kato-katz (Tchuem Tchuente *et al.*, 2012) et serait un outil approprié pour passer du contrôle de la morbidité à l'élimination des schistosomiasés.

Le principal problème des tests d'anticorps et d'antigènes est leur coût élevé qui limite leur utilisation pour des enquêtes de masse dans les pays en voie de développement. C'est également le cas pour les approches moléculaires, spécifiques et très sensibles, qui permettent de détecter le parasite dans les excréta humains, le sérum ou le plasma (Ibironke *et al.*, 2011).

I-1-6. Lutte contre la Bilharziose

Plusieurs interventions peuvent être mises en œuvre au regard du cycle d'un schistosome pour interrompre sa transmission. Premièrement, les vers adultes peuvent être tués chez l'hôte (l'homme) à l'aide de la chimiothérapie. Deuxièmement l'hôte intermédiaire

peut être tué ou remplacé par la mise en place d'un contrôle biologique, chimique et environnemental. Troisièmement, la réinfestation des hommes et des mollusques peut être empêchée en améliorant l'éducation et la communication par les TIC sur la maladie, l'assainissement du milieu et l'approvisionnement en eau potable.

- **Chimiothérapie**

C'est la stratégie de choix adoptée par l'OMS (2006). Elle se fait à base d'une molécule efficace et bien tolérée, à savoir le Praziquantel (Biltricide® (Bayer)) (Fenwick *et al.* 2006). Ce médicament provoque une paralysie en contracture des schistosomes et une altération de leurs téguments ; le ver se détache alors de la paroi des veines et meurt (Ross *et al.*, 2002). La posologie généralement admise est de 40 mg/kg de poids corporel en une prise. Au Cameroun, il est distribué principalement à des enfants d'âge scolaire vivant dans les zones d'endémie où la prévalence moyenne par district est supérieure ou égale à 10% (PNLSHI, 2005).

Cette approche thérapeutique employée jusqu'ici dans les pays en voie de développement sous-estime le nombre de personnes ayant réellement besoin du traitement et laisse des poches de réservoir de parasites au sein de la population. D'une part les zones d'endémie devraient être redéfinies en fonction de la prévalence par école et non de la moyenne des prévalences par district (Tchuem Tchuente *et al.*, 2017) et, d'autre part, le traitement devrait prendre en compte d'autres groupes de la population notamment les enfants d'âge préscolaire, les jeunes non scolarisés et les adultes. En effet seulement 12,7% des 261 millions de personnes nécessitant une chimiothérapie en ont bénéficié (WHO, 2015). Les enfants d'âge préscolaire (<5ans) et les nourrissons (<1an) infestés parfois depuis l'âge de 6 mois et chez qui l'infection est particulièrement grave doivent attendre l'âge de la scolarité pour bénéficier du traitement (Stothard *et al.*, 2011). Ainsi, malgré l'amélioration de l'accessibilité du PZQ depuis 2012 suite à la mobilisation des différents acteurs engagés dans la lutte et surtout du fait de la création de l'Alliance Globale contre la Schistosomiase en abrégé GSA (Savioli *et al.*, 2017), il serait approprié d'encourager le développement d'un traitement à base de plantes naturelles présentes en Afrique pour ne plus dépendre de la donation extérieure de PZQ. C'est le cas de la Myrr qui est une résine oléagineuse provenant d'une plante (*Commniphora molmol*) et qui présenterait un taux de guérison de 91,7% obtenu chez les souris (Zaki Sheir *et al.*, 2001). Ceci dit, le traitement de la bilharziose qui ne prévient aucunement la réinfestation (King *et al.*, 2006) ne pourrait contribuer à son élimination que s'il est associé à d'autres mesures.

- **Le contrôle des hôtes intermédiaires**

Il serait le moyen le plus efficace pour réduire la prévalence de la schistosomiase. Il a été prouvé que l'application du contrôle des mollusques réduit de plus de 92% la prévalence des schistosomiasis contre seulement 37% pour les programmes de lutte qui ne l'appliquent pas (Rollison *et al.*, 2013 ; Sokolow *et al.*, 2016). Il est d'autant plus important sachant qu'une prévalence parasitaire très faible (1%) chez les mollusques suffit à maintenir l'endémicité de cette parasitose dans un foyer (Dreyfuss et Rondelaud, 2011). Ce contrôle s'effectue selon 3 modalités :

- la méthode chimique est basée sur l'utilisation des molluscicides synthétiques (Niclosamide, Sodium Pentachlorophenate, Frescon) ou naturels (Extraits éthanoliques des fruits de *Piper guineense* (Ukwandu *et al.*, 2011). Le molluscicide recommandée par l'OMS est le Niclosamide. C'est une molécule efficace contre les hôtes intermédiaires du trématode *Schistosoma sp.* et d'autres trématodes comme *Fasciola sp.* A faible concentration, il détruit en quelques heures non seulement le mollusque et ses œufs mais aussi tous les stades vivants du schistosome (œuf, miracidium, cercaire). En Chine, la mise au point d'une machine permettant simultanément l'épandage du Niclosamide et la destruction de la végétation maraîchère a permis de réduire les populations de mollusques sur de larges surfaces et ce en très peu de temps (Sun *et al.*, 2017). L'utilisation du Niclosamide est cependant mal perçue par les populations parce qu'il colore l'eau en jaune et est toxique pour les poissons et les amphibiens utiles pour l'alimentation. D'autres molluscicides ont prouvé également leur efficacité, c'est le cas du Frescon dont l'utilisation couplée à l'administration du Niridazole aux personnes infestées a permis de réduire les prévalences de la schistosomiase urinaire à Barombi Kotto et à Barombi Mbo de 64,2% et 76% respectivement à moins de 1% (Duke et Moore, 1976). Malgré leur efficacité, les molluscicides synthétiques devraient être utilisés de façon ponctuelle et précise à cause de leur toxicité pour l'environnement et de leur coût élevé (Dai *et al.*, 2008) ;
- la méthode écologique recommande la création des conditions défavorables à la survie des mollusques. La végétation étant l'un des principaux facteurs qui influence la survie des mollusques, toutes les mesures qui visent à réduire ou à détruire la source nutritive des mollusques (faucardage de la végétation, l'assèchement des marécages, le bétonnage des canaux d'irrigation, le dragage, la construction des systèmes de drainage...) porteraient du fruit (Dreyfuss et Rondelaud 2011). La température de

l'habitat des mollusques, qui joue également un grand rôle dans leur reproduction et leur survie pourrait être augmentée en couvrant le marais ou le lac par des plastics noirs (Zheng *et al.*, 2013). La mise en place de la méthode écologique nécessite une connaissance actualisée des sites d'endémie et la position géographique des habitats de mollusques. Ainsi, un système de surveillance basé sur le logiciel informatique « Google Earth » permettrait de visualiser précisément les sites à contrôler (Sun *et al.*, 2017). De même, la technique de la télédétection utilisant les images satellitaires qui permet de décrire de manière très lisible l'écosystème (canaux, rizières, petites rivières) et son évolution serait d'un grand apport dans l'étude de la répartition des schistosomes et des lieux potentiels de transmission (Cunin *et al.*, 2001) ;

- la méthode biologique consiste au déploiement de prédateurs des mollusques ou de compétiteurs pour la même niche écologique (Coelho *et al.*, 2008) ou encore à l'utilisation de microorganismes pathogènes. Les espèces compétitrices comme *Melanoïdes tuberculata* (Muller, 1774), *Marisa cornuarietis* (Linnaeus, 1758) ont prouvé leur efficacité dans la réduction ou l'éradication des populations de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) et *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) en Guadeloupe et en Martinique (Pointier et David, 2004). Le mollusque *Indoplanorbis exustus* (Deshayes, 1834), retrouvé en Afrique de l'ouest (Bony *et al.*, 2013) et au Cameroun (Campbell *et al.*, 2017), pourrait non seulement réduire les populations d'hôtes intermédiaires mais aussi empêcher la rencontre entre le schistosome et son hôte intermédiaire spécifique. En effet, il présente une grande capacité à se multiplier puis à s'adapter aux variations du milieu (Bony *et al.*, 2013) et les miracidiums de *S. haematobium* pénètrent ce mollusque sans s'y développer (Campbell *et al.*, 2017). De plus, il est de nos jours récolté dans les sites où jadis était récoltée l'espèce *B. pfeifferi* (Kengne-Fokam, observation personnelle ; Fadilatou, 2019). Des insectes aquatiques tels que la puce d'eau *Belostoma elongatum* (Latreille, 1817) ou encore des crevettes (Sokolow *et al.*, 2015) se sont révélés des prédateurs efficaces qui réduiraient de plus de 80% les populations de *Biomphalaria* sp.

La lutte contre les hôtes intermédiaires de mollusques reste très peu appliquée dans les pays en voie de développement. Or l'expérience donnée par les programmes où cette lutte a pris une part importante prouve l'efficacité de cette méthode (Utzinger *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2017). Cependant, l'identification correcte des hôtes intermédiaires, la cartographie actualisée de leur distribution, l'amélioration des connaissances sur la biologie de ces hôtes sont une nécessité pour développer des outils de lutte précis et efficaces contre ces derniers.

➤ Prévention

Elle consiste en l'assainissement du milieu, à l'accès à l'eau potable et à l'éducation sanitaire des populations exposées par l'utilisation des TIC. L'éducation sanitaire des populations exposées au risque de contamination est primordiale pour promouvoir de saines pratiques (déféquer et uriner dans des toilettes, porter des bottes dans l'eau). Cette sensibilisation aurait plus d'impact si elle est relayée par les membres éduqués ou respectés de la communauté cible. Cette approche a permis l'amélioration de l'utilisation des toilettes publiques de 0 à 80% auprès des bateliers et pêcheurs chinois (Sun *et al.*, 2017). L'identification des sources d'eaux infestées par un détecteur intelligent capable de reconnaître les cercaires de schistosomes, et la construction des toilettes publiques dans les zones où travaillent les bateliers, pêcheurs et agriculteurs sont des mesures préventives pouvant réduire la transmission du parasite. La mise en place de ces mesures va de paire avec le développement économique des pays elle est limitée en Afrique par le faible pouvoir économique des gouvernements et l'absence de collaboration intersectorielle.

I.2 Généralités sur les *Biomphalaria*

Biomphalaria pfeifferi (Krauss, 1848) et *B. camerunensis* (Boettger, 1941) sont les deux espèces responsables de la transmission de *S. mansoni* au Cameroun.

I-2-1. Systématique de *Biomphalaria*

Les mollusques du genre *Biomphalaria* appartiennent à l'embranchement des Mollusques (animaux à corps mou), qui sont des métazoaires triploblastiques (organismes constitués à partir de trois feuilletts embryonnaires), coelomates (mésoderme avec cavités coelomiques), hyponeuriens (le système nerveux central est en position ventrale par rapport au tube digestif). Ils appartiennent à la classe des Gastropoda, à la sous-classe des Pulmonata, à l'ordre des Basommathophora, à la superfamille des Planorbioidea, à la famille des Planorbidae et à la sous famille de Planorbinae. Le genre *Biomphalaria* Preston, 1910 regroupe l'ensemble des hôtes intermédiaires de *S. mansoni*. Il est représenté en Amérique par quelques 20 espèces dont 3 se sont révélées naturellement infectées par *S. mansoni*, il s'agit de : *Biomphalaria teanagophila*, *B. glabrata* et *B. straminea*. En Afrique ce genre comprend 12 espèces réparties en quatre groupes selon des caractères morfo-anatomiques et biochimiques (Brown, 1994).

- ✓ Le groupe Pfeifferi : Il comprend plusieurs formes et est le plus représenté en Afrique subsaharienne. La coquille adulte a un diamètre inférieur à 15mm avec au plus 5 tours

de spire qui sont convexes ou angulaires. Ce groupe comprend l'espèce *Biomphalaria pfeifferi* (Krauss, 1848).

- ✓ Le groupe Choanomphala : Il comprend peu de formes et présente une distribution restreinte à certains grands lacs tels que le Lac Victoria, Kyoga, Albert, Edward et Kivu. Ce sont les plus petits *Biomphalaria* dont les coquilles n'excèdent jamais 12mm de diamètre et sont constituées juste de 3,5 à 4,5 tours de spire triangulaire.
- ✓ Le groupe Alexandrina : Il comprend également peu de formes ayant une distribution restreinte et isolée. La coquille adulte est d'environ 15mm de diamètre et comprend 5 à 5,5 tours de spire arrondie ou triangulaire.
- ✓ Le groupe Sudanica : il regroupe les espèces rencontrées en Afrique de l'Ouest et de l'Est. Ce sont les plus grands *Biomphalaria*. La coquille peut atteindre 22mm et comprend de 5,5 à 6,5 tours de spire très serrée, de forme aplatis ou angulaires. Ce groupe contient l'espèce *Biomphalaria camerunensis* (Boettger, 1941).

I-2-2. Biologie et écologie des *Biomphalaria*

Les *Biomphalaria* sont des gastéropodes caractérisés par une coquille discoïde aplatie à enroulement senestre. Cet enroulement paraît dextre parce que la coquille est portée retournée par les mollusques de la sous-famille des Planorbinae. La morphologie de cette coquille et la structure du système pénien sont variables et utilisés en taxonomie (Soldatenko et Petrov, 2012). Ces mollusques vivent dans des habitats variés (petits cours d'eau, étangs, marais) et peuvent survivre en estivation pendant quelques mois lorsque l'habitat est asséché. Ils se nourrissent d'algues, de biofilms bactériens et de macrophytes en décomposition. L'espérance de vie est de 15 à 18 mois dans les conditions naturelles et peut atteindre 24 mois en laboratoire (Sullivan & Cheng, 1974). La maturité sexuelle est atteinte autour de 8 semaines et est en général marquée par le dépôt des premières pontes. La production d'œufs dépend de plusieurs facteurs externes dont la photopériode, la qualité et la quantité de nourriture, la qualité de l'eau, la température, la densité des mollusques. A la ponte, ces œufs sont contenus dans des capsules gélatineuses vaguement circulaires et de couleur jaunâtre (figure 4). Le nombre d'œufs à l'intérieur des capsules varie selon les espèces mais aussi selon la taille des individus dans une même espèce. Chez *Biomphalaria glabrata*, un individu peut pondre jusqu'à 14.000 œufs au cours de sa vie (Sullivan & Cheng, 1974). La ponte consiste en un ensemble d'actes stéréotypés pouvant durer deux à trois heures à partir de l'ovulation (Van Duivenboden, 1983, Soldatenko & Petrov, 2012). Le cycle d'activité annuel et celui de reproduction sont conditionnés par le climat. Dans les collections temporaires en

Afrique tropicale, trois générations de juvéniles sont observées dans les contrées à deux saisons des pluies (Brown, 1994) et plusieurs générations annuelles, de succession rapide, quand l'habitat se maintient de manière permanente (Dreyfuss et Rondelaud, 2011). Cette disponibilité des juvéniles dans le milieu garantit une transmission permanente du parasite car ceux-ci lui sont plus sensibles. Des symbiotes ont été retrouvés dans l'hémolymphe de *Biomphalaria glabrata* ; ils sont associés aux lignées de mollusques résistants à *S. mansoni*. Ils joueraient un rôle dans la résistance en phagocytant les sporocystes primaires du parasite (Hertel *et al.*, 2002).



Figure 4 : Pontes embryonnées de *Biomphalaria* sp.

(Kengne, 2014) Grossissement 1, 25X.

- ***Biomphalaria pfeifferi***

Biomphalaria pfeifferi est l'hôte principal de *S. mansoni* en Afrique ; il est retrouvé dans des habitats variés incluant les ruisseaux, les canaux d'irrigation, les réservoirs, les lacs, les digues et certaines collections d'eau temporaires. Cette espèce ne tolère pas des températures extrêmes et sa température optimum de vie avoisine 26°C. La destruction des forêts aurait favorisé l'extension de *B. pfeifferi* ; les sites ombragés se sont révélés si défavorables pour cette espèce qu'ils pourraient constituer un moyen potentiel de contrôle biologique (Loreau & Baluku, 1987). Une pollution modérée serait favorable à cette espèce et un milieu riche en algues bénéfique pour sa nutrition (Ndifon & Ukoli, 1989). La composition ionique de l'eau influence également le développement de ce mollusque ; un pH neutre serait favorable au bon développement de cette espèce (Mimpfoundi, 1992 ; Brown, 1994). D'un œuf à un autre œuf, il s'écoule environ deux mois (Mimpfoundi, 1992 ; Tian-bi *et al.*, 2008) ; les premières pontes des mollusques juvéniles renferment 3 à 5 œufs tandis que les pontes des adultes contiennent 4 à 32 œufs (Mimpfoundi, 1992).

- *Biomphalaria camerunensis*

Elle a été retrouvée, jusqu'en 2018, exclusivement dans la partie sud du Cameroun où elle a montré une nette préférence pour des collections d'eau permanentes (Greer *et al.*, 1990). Pour la première fois au Cameroun, une population de cette espèce a été récoltée dans la partie septentrionale (Fadilatou, 2019). En Afrique, cette espèce a été retrouvée principalement dans les pays d'Afrique Centrale et de l'Ouest (Brown, 1994). En RDC, elle a été retrouvée dans des collections d'eau stagnantes ou presque où *B. pfeifferi* était absent (Mandahl-Barth *et al.*, 1974). Au Cameroun, *B. pfeifferi* et *B. camerunensis* sont apparus symbiotiques ensemble dans trois sites (le ruisseau Ngalang, la source aménagée Njomo-Ambara, un étang de pisciculture à Nkolmessepe), tous situés dans la région du Centre et dans le Département de la Lekie (Same-Ekobo, 1984) mais les travaux ultérieurs n'ont signalé leur présence simultanément dans un site (Greer *et al.*, 1990). Contrairement à *B. pfeifferi*, *B. camerunensis* reste très peu étudiée jusqu'ici et est considérée comme un hôte secondaire de *S. mansoni* car il présenterait une faible compatibilité avec ce parasite (Greer *et al.*, 1990 ; Brown, 1994).

I-3. Identification des deux espèces de molluques

Au Cameroun, l'identification des Gastéropodes en général et du genre *Biomphalaria* en particulier a été faite principalement sur la base des études de morphologie, de morphométrie de la coquille et d'anatomie des parties molles (Same-Ekobo, 1984 ; Greer *et al.*, 1990).

I-3-1. Identification morphologique

Sur le plan morphologique, des différences au niveau de la forme du dernier tour de spire et du diamètre de la coquille adulte (Brown et Kristensen, 1993) ont été révélées entre *B. pfeifferi* et *B. camerunensis*. Ce dernier peut atteindre 22 millimètres chez *B. camerunensis* et n'excède jamais 17 millimètres chez *B. pfeifferi* (Brown, 1980). La forme du dernier tour de spire est aplatie chez *B. camerunensis* avec un développement harmonieux des tours de spire tandis que chez *B. pfeifferi* celle-ci est large et rebondie (Brown et Kristensen, 1993). Malgré ces différences chez l'adulte, il demeure difficile de distinguer un jeune *B. camerunensis* d'un jeune *B. pfeifferi* sur la base de la morphologie de la coquille. En plus certaines populations de *B. camerunensis* présentent des individus adultes semblables à ceux de *B. pfeifferi*, dont le diamètre de la coquille est inférieur à 15 mm. Il existerait une différence dans le rapport diamètre de l'ombilic sur diamètre de la coquille entre ces deux espèces ; cependant, les avis sont contradictoires concernant la stabilité de ces paramètres dans les différentes populations

étudiées (Same Ekobo, 1984 ; Brown, 1994 ; Peka Sangou, 2012 ; Nvogo-Ndongo, 2012). L'anatomie des deux espèces a révélé des différences au niveau des premières dents latérales de la radula, qui sont ornées de mésocônes triangulaires non pointus chez *B. pfeifferi* tandis que les mésocônes sont pointus (en forme de pointe de flèche) chez *B. camerunensis*. La présence de grandes variations intra/inter spécifiques dans les caractères morpho-anatomiques rend cette méthode insuffisante pour une identification correcte. Le polymorphisme des isoenzymes révélé par la technique d'électrophorèse sur gel d'amidon, a été utilisé secondairement pour différencier *B. pfeifferi* de *B. camerunensis* (Mimpfoundi, 1990) ; Cette méthode s'est révélée peu efficace pour distinguer ces deux espèces. D'autres Planorbidae du Cameroun sont également difficiles à distinguer morphologiquement particulièrement dans les zones où leurs habitats chevauchent comme c'est le cas de : *Bulinus forskalii* et *B. senegalensis* dans le Nord (Kamwa-Ngassam, 2014), *Bulinus forskalii* et *Bulinus camerunensis* dans le Sud-ouest. L'espèce *B. pfeifferi* a été confondue dans plusieurs travaux avec l'espèce *Helisoma duryi* (Wetherby, 1879) et est semblable à un Bulininae très invasif à coquille discoïde, *Indoplanorbis exustus* (Deshayes, 1834) (Pointier *et al.*, 2005, Campbell *et al.*, 2017).

I-3-2. Identification moléculaire par la méthode de la PCR-RFLP

Chaque espèce est caractérisée par un patrimoine génétique transmis de génération en génération et codé par son acide désoxyribonucleique (ADN). Il est ainsi plus incisif de rechercher les différences entre deux espèces proches au niveau de cet ADN, qu'elles se traduisent ou non par une modification physiologique (morphologie, anatomie) ou biochimique (isoenzyme). Ces différences proviennent des mutations aléatoires de l'ADN mais aussi de divers mécanismes évolutifs (sélection naturelle, dérive génétique, flux génétique) qui modifient la fréquence de certains traits héréditaires au sein de la population. Elles peuvent être décelées à l'aide de fragments d'ADN (marqueurs moléculaires) distribués régulièrement le long du génome, bien conservés dans le temps et possédant un polymorphisme permettant de différencier les espèces. Chez la majorité des eucaryotes, les gènes de l'ADN ribosomique (ADNr) se localisent sur différents chromosomes y compris sur les chromosomes X et Y (Long & Dawid, 1980) et se présentent en plusieurs copies dans le génome nucléaire (Cassidy *et al.*, 1984). L'ADNr est constitué d'une répétition en tandem de séquences d'ADN transcrites en ARN ribosomique, séparées par des régions intergéniques variables. L'espaceur intergénique transcrit (ITS) s'étend entre les régions des gènes de l'ARNr 18S et 28S ; il contient le gène 5,8S encadré par l'ITS1 et l'ITS2 (figure 5). Cette

région ITS est bien conservée au sein d'une espèce mais présente suffisamment de variabilité interspécifique pour l'identification correcte des espèces apparentées (Knight *et al.*, 1991 ; Webster *et al.*, 2006). La nature conservée des régions flanquantes de cette région ITS permettant de construire des amorces conservées explique leur popularité dans les analyses phylogénétiques entre espèces et populations étroitement apparentées (Hillis & Dixon, 1991).



Figure 5 : Région ITS de l'ADNr

La technique de la PCR-RFLP a été utilisée avec succès pour analyser le polymorphisme de la région ITS de l'ADNr des espèces de vers apparentées parasites et de *Biomphalaria* (Vidigal *et al.*, 2000; Dejong *et al.*, 2001, Vidigal *et al.*, 2002 ; Vidigal *et al.*, 2004). La région cible est amplifiée par PCR et le produit d'amplification est soumis à une digestion enzymatique grâce à une enzyme de restriction, ou l'endonucléase. Ces produits de digestion sont ensuite visualisés sur un gel d'agarose ou de polyacrylamide afin de déduire les génotypes correspondants. Le gel de polyacrylamide a un pouvoir de résolution plus grand que le gel d'agarose (capacité de différencier des séquences proches en paires de bases) et permet de différencier les individus homozygotes des individus hétérozygotes.

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) permet de sélectionner puis d'amplifier en une très grande quantité un fragment d'ADN cible. C'est une suite de cycles qui se répètent en boucle et ils comportent chacun trois paliers de température (figure 6). Chacun de ces paliers caractérise trois périodes distinctes au cours desquelles se déroulent la dénaturation de l'ADN extrait de la cellule, l'hybridation des amorces et la synthèse des nouveaux fragments d'ADN. A la fin de chaque cycle, la quantité d'ADN cible est en théorie doublée et les fragments synthétisés servent à leur tour de matrice pour une synthèse de nouveaux fragments.

L'enzyme de restriction est une protéine synthétisée par des bactéries pour se protéger des infections virales (bactériophages) ; elle coupe l'ADN viral à des endroits spécifiques (site de restriction). Aujourd'hui plusieurs centaines d'enzymes de restriction différentes sont disponibles dans le commerce et leur nom indique leur origine : *Sau3A* provient de *Staphylococcus aureus*, *EcoRI* provient de *Escherichia coli*, *KpnI* provient de *Klebsiella pneumoniae* et *HpaII* provient de *Haemophilus parainfluenzae*. Ce sont des ciseaux moléculaires qui permettent de couper l'ADN en des sites très précis. Ces sites sont pour la

plupart palindromiques, c'est-à-dire qu'ils sont composés de séquences nucléotidiques identiques sur les deux brins mais en orientation antiparallèle. Par exemple, l'enzyme HpaII coupe, dès qu'il la repère, la séquence CCGG sur une portion d'ADN. Si le gène A possède 2 fois la séquence CCGG, il donnera 3 fragments correspondant à un génotype dit de type 'A' et si le gène B en possède 4 il donnera 5 fragments correspondant à un génotype dit de type 'B'.

Le polymorphisme de longueur de fragments de restriction (RFLP) repose sur le principe que la distance entre deux sites de coupure de l'enzyme de restriction varie selon les individus (à cause de leur polymorphisme) et de ce fait, la longueur des fragments de restriction varie. C'est une technique facile à exécuter et qui permet de différencier les espèces et quelques fois des individus d'une même espèce. Les espèces *B. glabrata*, *B. taenagophila*, *B. straminea* ont ainsi été différenciées à partir de l'amplification et de la digestion de la région ITS2 par l'enzyme de restriction HpaII (Vidigal *et al.*, 2004). Cette région ITS2, bordée par le gène 5,8S et 28S de l'ADNr (figure 5), présente l'avantage de fournir un produit d'amplification plus court (séquence d'ADN de 460 pb) comparé au produit d'amplification de la région ITS entière (séquence de 1300 pb). Cette caractéristique permet une amplification plus aisée ne nécessitant pas l'utilisation d'un ADN de haute qualité et/ou très purifié.

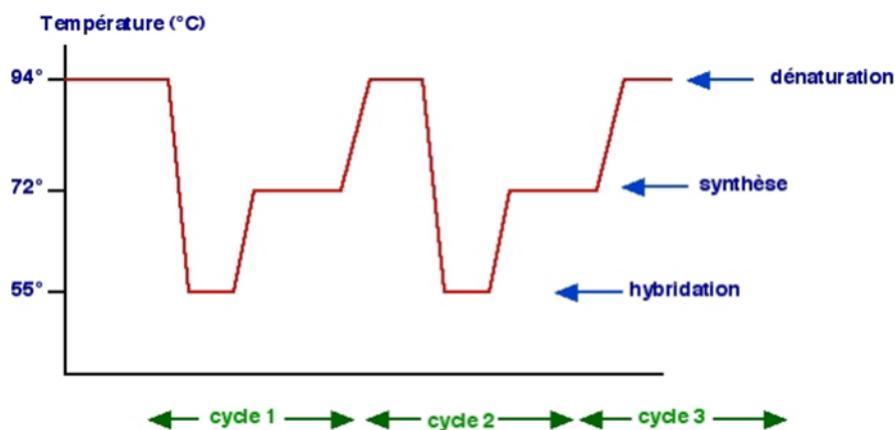


Figure 6 : Différentes étapes de l'amplification d'un gène par PCR

I-4. Système de reproduction des Basommatophores

Le système de reproduction est l'ensemble des processus par lesquels une espèce se perpétue, en suscitant la naissance de nouveaux organismes. L'observation des traits de vie exprimés par les individus d'une population (âge à la maturité sexuelle, fécondité, taux d'éclosion des pontes, survie, comportement copulatoire) permet de comprendre et de déduire le système de reproduction préférentiel adopté par l'espèce. L'intérêt de l'étude du système

de reproduction réside dans le fait que celui-ci influence la dynamique évolutive et les probabilités d'extinction des populations, la diversité et la structure génétique des populations. Une meilleure connaissance de ce système de reproduction permettrait ainsi de comprendre premièrement les dynamiques actuelle et future des populations d'hôtes intermédiaires, deuxièmement la façon dont les gènes (susceptibilité et résistance au parasite) sont transmis de génération en génération et troisièmement de proposer des stratégies efficaces de contrôle des populations. En effet, il a été démontré que les populations de *B. taenagophila* se reproduisent préférentiellement par fécondation croisée et que le phénotype résistant à l'infection à *S. mansoni* observé dans certaines populations était induit par la présence d'un allèle résistant. Ces informations ont permis d'introduire des individus résistants dans d'autres populations de *B. taenagophila* susceptibles et d'obtenir ainsi des descendants plus résistants à *S. mansoni* (Coelho *et al.*, 2008).

- **L'appareil reproducteur**

Il présente trois parties différentes de par leur origine ontogénique et leur fonctionnement (figure 7) ; c'est l'évolution indépendante de ces différentes parties, favorisant des variations dans les caractères sexuels primaires, qui fournit des explications structurelles et fonctionnelles de la diversité des systèmes de reproduction et des comportements copulatoires observés (Jarne *et al.*, 2010).

La partie hermaphrodite est constituée d'amas cellulaires regroupés en une zone spermatogénique et une zone vitellogénique, formant l'ovotestis, des vésicules séminales et du canal hermaphrodite après lequel se divisent les parties mâle et femelle comportant les glandes accessoires et les organes génitaux. Cette organisation rend possible chez le même individu deux modes de reproduction, l'autofécondation et l'allofécondation qui nécessite une copulation. L'autofécondation a lieu au niveau du carrefour de fécondation (Koene *et al.*, 2006) situé à la fin du canal hermaphrodite (figure 7). Lors de la copulation, les spermatozoïdes sont transportés à travers la partie mâle où ils sont associés aux sécrétions de la glande prostatique pour former le sperme (autosperme) qui sera déposé dans le vagin d'un partenaire sexuel. Chez ce partenaire sexuel, le sperme reçu (allosperme) traverse toute la partie femelle jusqu'au carrefour de fécondation et la partie non utilisée est détruite dans un organe gamétolytique situé à l'entrée du vagin : la bourse copulatoire. Le lieu de stockage de l'allosperme et même le processus par lequel celui-ci se montre plus compétitif que l'autosperme chez les espèces préférentiellement allofécondes restent à élucider (Jarne *et al.*, 1993 ; Jarne *et al.*, 2010). Après la fécondation, les œufs subissent une maturation et un

emballage dans des capsules gélatineuses par les glandes accessoires de la partie femelle. Chez les *Biomphalaria*, la longueur des canaux de l'appareil reproducteur est plus grande du fait de la forme aplatie de leur coquille et du nombre de tours de spire. Le complexe pénien est une partie qui présente d'énormes variations entre les espèces et certaines variations ont un lien fonctionnel avec le choix du type de reproduction (Soldatenko et Petrov, 2012).

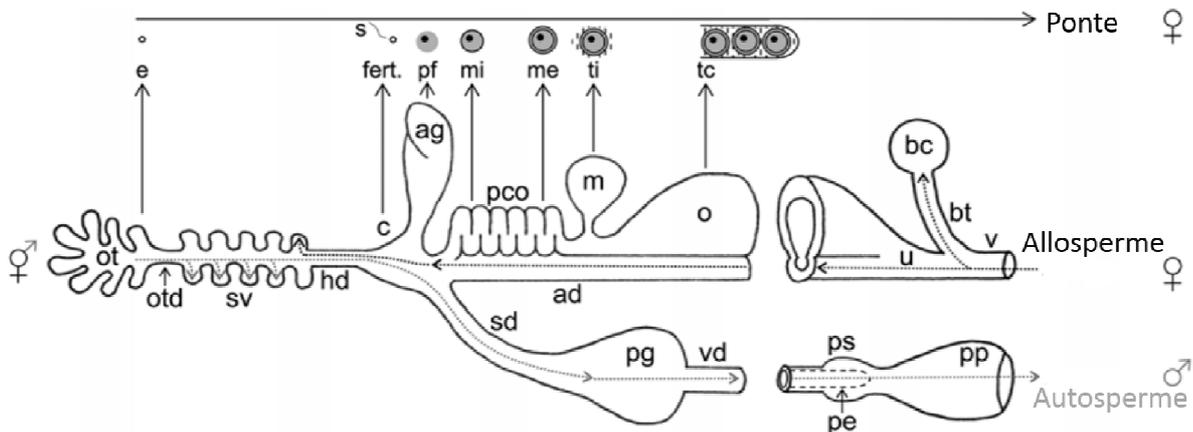


Figure 7 : Morphologie générale de l'appareil reproducteur et du mouvement des gamètes chez les Basommatophores (d'après Jarne *et al.*, 2010)

Légende : **Partie hermaphrodite :** ot. Ovotestis, otd. Canal de l'ovotestis, sv. Vésicules séminales, hd. Canal hermaphrodite, c. carrefour. **Partie femelle :** ag. Glande albumine, pco. Oviducte (Pars contorda), ad. Canal de l'allosperme, m. glande mucipare, o. glande de l'oothèque, u. utérus, bc. Spermathèque (Bourse copulatoire), bt. Canal de la bourse, v. vagin ; **Partie mâle :** sd. Canal de l'autosperme, pg. Glande prostatique, vd. Vas deferens, pe. Penis, ps. Fourreau du pénis, pp. Prepuccium ;

La ligne pointillée noire et ses flèches indiquent la voie qu'emprunte l'autosperme de sa fabrication jusqu'à son transfert à un autre partenaire. **La ligne pointillée grise et ses flèches** indiquent le parcours de l'allosperme dans la partie femelle.

La partie supérieure de la figure indique le parcours des œufs de leur production à leur encapsulation et les flèches indiquent dans quelle glande se fait la maturation des œufs ; e. oocyte, s. spermatozoïde, fert. Fécondation, pf. Fluide périvitellin, mi. Membrane interne, me. Membrane externe, ti. Tunique interne, tc. Tunique capsulaire.

I-4-1. Autofécondation

L'autofécondation est un système de reproduction dans lequel la fécondation implique les gamètes mâles et femelles provenant du même individu ; c'est un mode de reproduction qui intervient pour apporter à l'être vivant une garantie de se reproduire. Deux forces maintiennent l'autofécondation chez les êtres vivants :

- la force génétique qui veut que le patrimoine génétique soit transmis automatiquement et intégralement du parent aux descendants (assurance reproductive). Cette force favorise ainsi la purge des gènes délétères du génome de la population au profit de ceux les mieux adaptés à l'habitat des individus.
- la force écologique qui veut que lorsque la disponibilité en partenaires sexuels est limitée ou lorsque la densité de la population est faible, les individus adoptent l'autofécondation pour assurer leur reproduction. Ainsi, chez les mollusques d'eau douce, l'instabilité de l'habitat (bouchons d'étranglement répétés, sécheresse, pollution humaine) favorise la sélection de l'autofécondation comme mode de reproduction (Jarne *et al.*, 2010).

L'autofécondation confère aux individus la possibilité de coloniser un grand nombre d'habitats car un seul individu est capable de reconstituer toute une population. En plus de cette disponibilité de l'hôte, l'autofécondation sélectionnée chez les populations sensibles à un parasite garantit une compatibilité du parasite avec les générations successives de mollusques. Cependant, l'autofécondation présente des limites. En effet, les populations autofécondes courent le risque de présenter des descendants uniformes dont la valeur sélective est faible, entraînant ainsi une faible aptitude à survivre lorsque les conditions environnementales (Escobar *et al.*, 2011) changent (température de l'habitat, abondance des compétiteurs pour la même niche écologique, attaque des pathogènes).

I-4-2. Allofécondation

La reproduction ayant un coût comme toute fonction physiologique, la plupart des animaux multicellulaires adoptent un système de reproduction procurant à leur descendance une meilleure valeur sélective et par conséquent une meilleure survie : c'est le cas de l'allofécondation (Tsitrone, 2001). C'est un système de reproduction dans lequel la fécondation est réalisée à partir des gamètes mâles et femelles provenant de deux individus différents et qui offre une meilleure adaptabilité des descendants dans un environnement variable. L'accouplement est nécessaire pour permettre cette reproduction. En rendant possible le brassage génétique au cours de la méiose; l'allofécondation favorise la création de

nouvelles combinaisons génétiques mieux aptes à résister aux changements environnementaux. Elle accentue aussi la « sélection naturelle » causée par la difficulté de reproduction, ce qui élimine les moins aptes et favorise le croisement des meilleurs individus. Cependant l'allofécondation a un coût. Le partenaire doit souvent être recherché, ce qui peut être difficile ou dangereux, par exemple les mâles de la même espèce doivent souvent se battre entre eux pour conquérir les femelles. En cas d'accouplement, il y a un risque d'échange d'agents infectieux (bactéries, virus, champignons, divers parasites). La reproduction peut ainsi demander un surcroît de ressources en termes de recherche de partenaires sexuels et de mise en place des structures attractives (Charlesworth et Charlesworth, 1987), une baisse de vigilance vis-à-vis des prédateurs, parfois des blessures/infections ou la mort.

I-4-3. Dépression d'autofécondation

Le système de reproduction d'une population peut être déterminé par des méthodes directes comme l'observation des descendants issus de croisements au laboratoire (tests d'albinisme), les études cytologiques (Njiokou, 1992), ou par des méthodes indirectes comme l'étude de la structure génétique des populations (Mimpfoundi *et al.*, 1990, Njiokou, 1992, Charbonnel *et al.*, 2002) et l'évaluation de la dépression d'autofécondation (Jarne *et al.*, 1990). La dépression d'autofécondation est définie comme la réduction de la valeur sélective des descendants issus de l'autofécondation comparée aux descendants issus de l'allofécondation (Njiokou, 1992). Elle peut être due soit à l'expression homozygote d'allèles délétères, soit à la diminution des hétérozygotes qui présentent un avantage sélectif par rapport aux homozygotes. La théorie prévoit que lorsque la dépression d'autofécondation est faible ($0 < d < 0,5$), le système de reproduction adopté est l'autofécondation tandis que lorsqu'elle est élevée ($0,5 < d < 1$) le système de reproduction adopté est l'allofécondation (Jarne *et al.*, 1993 ; Njiokou *et al.* , 2000; Tsitrone, 2001)

I-4-4. Temps d'attente

Le temps d'attente découle d'une plasticité du comportement de reproduction qui permet de maximiser le succès reproducteur d'un individu. C'est ainsi que plusieurs animaux adoptent des systèmes de reproduction intermédiaires qui sont meilleurs que l'autofécondation pure ou l'allofécondation pure (Charlesworth Charlesworth, 1987). Ce comportement est une réponse à la présence ou à l'absence de partenaires dans un environnement constant. Plusieurs études ont montré chez les mollusques d'eau douce une

tendance à atteindre la maturité sexuelle plus tardivement en isolement qu'en présence de partenaires sexuels (Van duivenboden 1983 ; Jarne & Delay 1990). Cette stratégie adoptée en réponse à l'absence de partenaire sexuel est de l'autofécondation retardée. Elle consiste pour un mollusque à faire varier l'âge de première reproduction bien au-delà de l'âge de maturité physiologique (correspondant à l'âge où l'appareil reproducteur est physiologiquement fonctionnel) si les conditions du milieu sont jugées défavorables à la reproduction. Ce retard dans l'âge de première reproduction en absence de partenaires sexuels, particulièrement marqué chez les espèces préférentiellement allofécondes, est appelé temps d'attente (Tsitrone, 2001). Son évolution est facilitée par différentes formes de réallocations physiologiques (réallocation à la croissance, à la fécondité future, à la survie) associées avec le décalage de l'âge de première reproduction. En effet, les organismes vivants doivent faire des compromis (« *trade-off* ») lorsqu'ils allouent des ressources aux différentes fonctions vitales ; par exemple, les individus qui atteignent rapidement la maturité sexuelle seront des adultes de plus petite taille comparés à leurs congénères. Les femelles qui auront beaucoup de descendants lors de leur première portée auront moins de chance de survivre jusqu'à un deuxième événement de reproduction, et même si elles y arrivent, elles auront une seconde portée plus petite que d'autres femelles qui se seront « économisées » pendant la première reproduction (Tsitrone, 2001).

I-4-5. Comportement copulatoire

Le comportement copulatoire permet d'expliquer la stratégie reproductive du mollusque. En effet, il a été démontré que les espèces préférentiellement autofécondes copulent peu fréquemment comme *B. pfeifferi* tandis que les espèces préférentiellement allofécondes présentent une forte propension à copuler dès qu'un individu est mis en présence d'un partenaire sexuel. Le choix « genre » (choix de jouer le rôle mâle ou femelle) présente aussi un intérêt car il permet de prévoir l'évolution de l'hermaphrodisme chez les Planorbidae. Le comportement copulatoire des mollusques est un phénomène complexe, qui est difficile à étudier du fait de la petite taille de ces organismes et aussi parce qu'il induit le rapprochement des mollusques après une période d'isolement. Dès que les individus sont mis ensemble ils copulent spontanément car l'habilité à copuler ne dépend pas d'une expérience préalable (Vanduivenboden, 1983). L'étude des copulations chez ces mollusques a connu un regain d'intérêt ces dernières années avec la sophistication des techniques expérimentales (Boyle et Yoshimo, 2000 ; Vianey-Liaud et Dussart, 2002) ; toutefois la majorité des études se sont concentrées sur la reproduction d'espèces d'importance médicale comme

Biomphalaria glabrata, *Bulinus globosus* et *Lymnaea stagnalis* (Van duivenboden, 1983 ; Koene & Teer Maat, 2005, Facon, Ravigne *et al.*, 2008). En général, les copulations sont réciproques avec des inséminations unilatérales et exceptionnellement des inséminations bilatérales chez quelques espèces (Jordaens *et al.*, 2009, Soldatenko & Petrov, 2011; Lamy *et al.*, 2012). La taille de la coquille semble influencer le genre de rôle (mâle ou femelle) joué par le mollusque durant la copulation car il a été observé que les individus de petite taille jouent préférentiellement le rôle mâle (Norton, *et al.*, 2008).

I-5. Compatibilité entre *Biomphalaria* sp. et *Schistosoma mansoni*

La compatibilité est le résultat d'une interaction complexe des génotypes de l'hôte et de ceux du parasite où le succès/l'échec de l'infection du mollusque par le parasite dépendrait de l'accordance ou non de plusieurs gènes de l'hôte et du parasite et de leurs produits (Théron *et al.*, 2008). Elle dépend donc d'une part de l'infectivité du parasite et d'autre part de la susceptibilité de l'hôte. Les hôtes susceptibles aux larves du parasite leur apportent protection et nutrition lors de leur multiplication bien qu'ils subissent des dommages dans leur croissance et leur reproduction à cause du fait de ce développement parasitaire. La résistance d'un individu hôte à ces larves est liée à plusieurs facteurs biologiques et immunologiques. Chez les mollusques, la résistance aux schistosomes est le résultat dans un premier cas de la présence dans leur hémolymphe d'une grande quantité de cellules de défense (Larson *et al.*, 2014) ou de symbiotes (Hertel *et al.*, 2002) capables d'encapsuler et de détruire les sporocystes. Dans un second cas, l'incompatibilité entre les deux protagonistes serait le résultat d'une absence d'assortiment entre les récepteurs du système immunitaire de l'hôte et les antigènes du parasite (Mitta *et al.*, 2012).

Chez les espèces de *Biomphalaria*, il existerait un grand polymorphisme de la susceptibilité des individus à *S. mansoni* (Frandsen, 1979 ; Toledo & Fried, 2011). Chez *B. pfeifferi*, la plupart des populations étudiées, malgré leur grande diversité génétique, présentent des taux de réussite de l'infestation supérieurs à 10% lorsqu'elles sont confrontées à différentes souches de *S. mansoni* (Frandsen, 1979). Chez d'autres espèces telles que *B. alexandrina*, les populations sont susceptibles seulement aux souches locales de *S. mansoni*. Chez *B. glabrata*, des populations peuvent présenter des niveaux de susceptibilité différents et cette sensibilité à *S. mansoni* varie même à l'intérieur de la population (Mitta *et al.*, 2012). L'espèce *B. camerunensis* présente également des taux de susceptibilité très variable, de 0 à 70% (Bennique *et al.*, 1976) en fonction des populations exposées et des souches de *S. mansoni* utilisées ; ainsi *B. camerunensis* serait faiblement compatible avec *S. mansoni* (Greer

et al., 1990). Cependant, cette espèce a été incriminée dans l'entretien des foyers de bilharziose dans la région du Centre (Ripert *et al.*, 1978). De plus, certaines de ses populations, présentes en République Démocratique du Congo (RDC) se sont montrées très susceptibles à certaines souches de *S. mansoni*. En effet, des taux de réussite de l'infestation de 5%, 57% et 70% ont été respectivement obtenus chez trois populations de *B. camerunensis* des rivières Basoko, Makelele, et Lubudi de la ville de Kinshasa infestées avec une souche de *S. mansoni* présente dans cette ville. Par ailleurs, un taux de réussite de 29% a été obtenu en infestant avec cette même souche une population de *B. pfeifferi*, originaire du Cameroun (Bennike *et al.*, 1976). En 1979, Frandsen (1979) concluent après avoir infesté plusieurs populations de *B. camerunensis* avec plusieurs souches de *S. mansoni*, que cette espèce serait aussi sensible que *B. pfeifferi* à certaines souches de *S. mansoni*. La production cercarienne est un facteur important dans la dissémination du schistosome ; elle se fait selon un rythme déterminé par le parasite lui-même (Williams et Gilbertson, 1983) pour favoriser sa rencontre avec son hôte définitif. Deux rythmes d'émission cercarienne, l'un diurne et l'autre nocturne, ont été détectés chez les individus d'une population de *B. pfeifferi* du Dhofar confirmant ainsi la présence de deux variants de *S. mansoni* dans ce foyer, l'un adapté à l'homme et l'autre au rat (Mintsa Nguema, 2010).

La susceptibilité des *Biomphalaria* à *S. mansoni* serait plus facile à obtenir au cours des générations que la résistance. En effet, en infestant les descendants obtenus par autofécondation des populations de *B. glabrata* et de *B. tenagophila* sélectionnées pour leur susceptibilité et leur résistance à *S. mansoni*, Zuim *et al.* (2005) ont obtenu des taux de réussite de l'infestation (TRI) plus élevés comparés aux générations parentales. De plus certains facteurs environnementaux, principalement l'augmentation de la température, seraient responsables d'une inversion de la résistance vers la susceptibilité des *B. glabrata* (Ittipras et knight, 2012). Knight *et al.* (2015) le confirment en montrant qu'élever une souche de *B. glabrata* résistante à *S. mansoni* à une température non létale de 32°C la rend susceptible par la suite à ce parasite. Face au phénomène de réchauffement climatique mondial, il serait alors judicieux de mener des études pour réactualiser les niveaux de compatibilité des espèces de *Biomphalaria* vis-à-vis de *S. mansoni*.

I-5-1. Action du parasite sur la croissance et la reproduction du mollusque

Le parasitisme est une association entre deux êtres vivants, dans laquelle l'un des associés, le parasite, prive l'autre, l'hôte, de ses ressources nutritives (Toledo α Fried, 2011). Cette spoliation affecte inévitablement les traits de vie de l'hôte de manière diverse. Ainsi, les

mollusques hôtes intermédiaires peuvent subir une modification de leur temps de développement, de la taille adulte, de la fécondité, de la capacité de survivre.

-Action sur la reproduction

L'action directe du schistosome sur la reproduction du mollusque peut être mécanique, par destruction des gonades, ou chimique par émission de molécules toxiques agissant directement ou indirectement sur la fécondité de l'hôte (Hurd, 2001). Les conséquences de cette action sont fonction de l'âge du mollusque, du nombre de miracidia utilisés pour l'infestation, de l'espèce de parasite et de mollusque (Thornill *et al.*, 1986 ; Crews & Yoshimo, 1989). Dans le modèle *B. glabrata*/*S. mansoni* les mollusques réagissent différemment en fonction de l'état de leur maturité sexuelle au moment de l'infection. Lorsque l'infection touche des mollusques juvéniles, ceux-ci deviennent stériles mais la castration parasitaire n'est pas totale lorsque les individus sont infestés plus tard, à un âge proche de l'âge adulte (Thornhill *et al.*, 1986) ou à la maturité (Crews & Yoshino, 1989). Les spécimens de *B. pfeifferi* infestés présentent une forte baisse, voire une suppression de la fécondité après l'infestation (Mintsa-Nguema, 2010). Chez le genre *Bulinus*, *S. haematobium* inhibe la production des œufs sans qu'il n'y ait un arrêt total de la ponte (Djuikwo-Teukeng, 2004).

-Action sur la croissance

Parallèlement à une altération des fonctions de reproduction, on assiste généralement à une modification de la croissance du mollusque. Dans de nombreux modèles comme ceux de *B. pfeifferi*/*S. mansoni* (Mintsa-Nguema, 2010) ou *B. truncatus*/*S. haematobium* (Djuikwo-Teukeng, 2004), les mollusques infectés grandissent plus rapidement que les mollusques indemnes. Le gigantisme observé correspondrait essentiellement à une augmentation de la quantité d'hémolymphe, le poids sec de l'animal n'étant pas modifié (De Jong Brink, 1992). Certains travaux montrent plutôt un effet hostile à la croissance de l'hôte et ce ralentissement de croissance des mollusques serait associé à la production cercarienne (Théron & Moné, 1984). En effet, chez *B. glabrata*, les mollusques parasités sont significativement moins gros que les mollusques indemnes, même si parfois une accélération initiale de la croissance est observée (Théron *et al.* 1992). Aucun changement significatif de taille n'a été détecté entre les mollusques parasités par *S. haematobium* et aux indemnes de *B. truncatus* (Djuikwo-Teukeng, 2004) et chez certaines populations de *B. pfeifferi* (Mintsa-nguema, 2010).

CHAPITRE II : CADRE GEOGRAPHIQUE, MATERIEL ET METHODES

II-1. Cadre géographique

Cette étude a été menée au Cameroun, pays situé en Afrique Centrale. Il est limité au nord par le Lac Tchad, au nord-est par la République du Tchad au sud par les Républiques du Gabon, de la Guinée équatoriale et du Congo, à l'est par la République Centrafricaine et à l'ouest par la République Fédérale du Nigeria. Son allongement en latitude (1° 40'N et 13° 05'E) implique des variations climatiques importantes et des conséquences sur la végétation et la pédologie des sols (Letouzey, 1985). Cette diversité climatique et géographique fait du Cameroun « une Afrique en miniature » et favorise l'établissement et le développement d'une variété d'êtres vivants tant végétaux qu'animaux.

II-1-1. Choix des sites de l'étude

Biomphalaria pfeifferi et *Biomphalaria camerunensis* ont été recherchés dans les sites où il existe encore des foyers actifs de schistosomiase intestinale due à *S. mansoni* et/ou l'un de ces hôtes a été identifié par des travaux antérieurs (Same-Ekobo, 1984 ; Mimpfoundi, 1990 ; Djuikwo-Teukeng, 2004 ; Dongmo- Noumedem, 2010 ; Nvogo Ndongo, 2011 ; Peka-Sangou, 2012).

Pour obtenir des mollusques de l'espèce *B. pfeifferi*, 10 sites au total ont été prospectés. Ils sont situés dans les régions du Centre, du Nord dans le village de Gounougou et de l'Extrême-Nord dans le village d'Orodoukoundje. Dans la région du Centre, 5 sites ont été prospectés dans la ville de Yaoundé : la mare de l'Ex-Carrière de Ngoa-Ekellé, le lac municipal, le ruisseau d'Obobogo, les étangs d'Etokos, la rivière Afeme de Nkolbisson (quartier Ekorézok) et 3 sites dans la ville de Bokito : la rivière Assaga de Yorro-Centre, la rivière Gindiguedje du village Boungangolo et la rivière Bongando. Les mollusques ont été récoltés finalement dans 4 sites (Etokos, Nkolbisson, Gounougou et Ouroudoukoundje). Pour l'espèce *B. camerunensis*, 5 sites ont été prospectés dont 3 sont situés dans la région du Centre près de la ville d'Obala, un est situé dans la région du Sud dans la ville de Sangmelima et le dernier est situé dans la région de l'Ouest dans le village de Petponoun (figure 8). Les mollusques de cette espèce ont été récoltés dans les 5 sites prospectés.

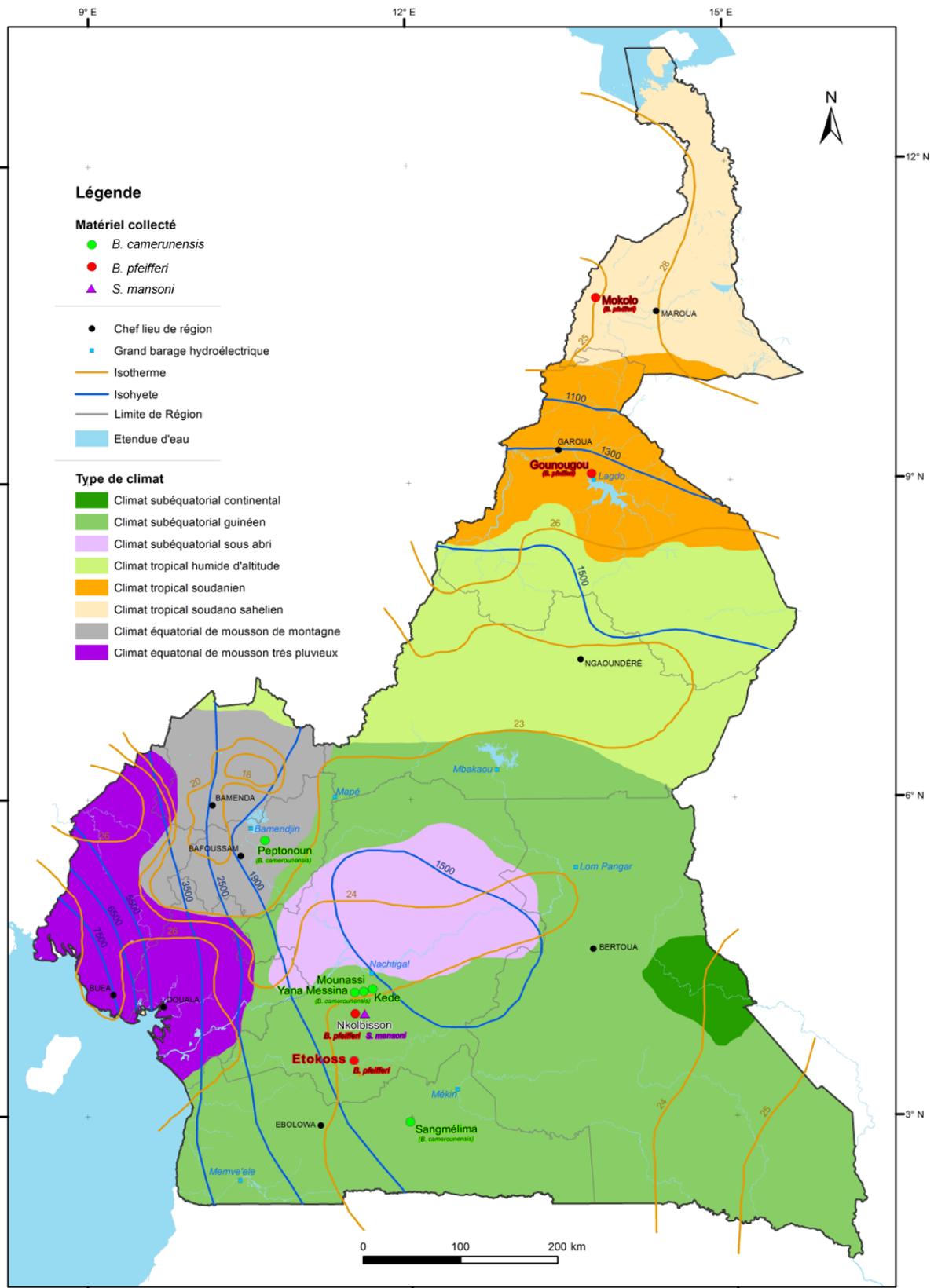


Figure 8 : Carte de collecte des échantillons de *Biomphalaria* sp. et de *Schistosoma mansoni*

II-1-2. Sites de la région du Centre

Le climat de la région du Centre est de type subéquatorial avec de nombreuses nuances et caractérisé par quatre saisons. On y distingue deux saisons de pluies : une petite qui s'étend de mars à juin et une grande qui s'étend de septembre à novembre ; elles sont séparées par deux saisons sèches : une grande qui s'étend de novembre à février et une petite qui s'étend de juillet à août. Cette région reçoit plus de 1000 mm de pluies par an et la température moyenne annuelle est d'environ 25°C (Suchel, 1987).

➤ Nkolbisson (Ekorézok) à Yaoundé

Le village Ekorezok (03° 53' 327''N, 011° 27' 412''E) est situé dans le département du Mfoundi, l'arrondissement de Yaoundé VII, dans le quartier Nkolbisson. Sa population est constituée en majorité d'autochtones « Beti » qui pratiquent essentiellement la culture du manioc, du maïs et des arachides. Cette population n'a pas de connexion au réseau d'adduction en eau potable et le forage présent chez le chef du village est non fonctionnel. Les points de ravitaillement en eau sont donc les puits et la rivière Afeme qui traverse le village. Dans cette rivière on retrouve les mollusques de l'espèce *B. pfeifferi* infectés par les cercaires de *S. mansoni*.

➤ Etokos à Yaoundé

Les étangs de pisciculture d'Etokos sont un site touristique (3°48'33.3" N et 11°23'06.0"E) dans le département du Mfoundi, arrondissement de Yaoundé VI. Les habitants du quartier Simbock pratiquent la pêche dans les cours d'eau environnants. Les mollusques de l'espèce *B. pfeifferi* ont été collectés en 2012 et 2013 dans de petites collections d'eau à l'entrée du site touristique. En 2015, nous n'y avons plus retrouvé les individus de cette espèce mais plutôt ceux d'un autre mollusque à coquille discoïde, très proche morphologiquement de *B. pfeifferi*, identifié comme *Indoplanorbis exustus*.

➤ Les sites de Minkama près d'Obala

Les mollusques de l'espèce *B. camerunensis* ont été récoltés dans trois collections d'eau du village Minkama. Il est situé sur la route nationale n° 1 entre les villes d'Obala et Bastchenga dans le département de la Lekie, arrondissement d'Obala. Les habitants de Minkama sont membres de la tribu « Eton » et pratiquent essentiellement l'agriculture (cacao, manioc, arachides). La Biouno est une rivière qui traverse tout le village d'est en ouest et se jette dans la Sanaga. Plusieurs petites collections d'eau se forment de cette rivière parmi

lesquelles la mare Mounassi située du côté Ouest de la nationale n°1 et les mares Kédé et Yana Messina situées du côté est.

- **La mare Mounassi**

Elle est une mare permanente située à une centaine de mètres des habitations dans les bas fonds d'une cacaoyère (4°12'14.1" N and 11°35'00.2" E). C'est dans cette mare que Ripert *et al.* (1978) avaient mis en évidence le rôle de *B. camerunensis* dans la transmission de la bilharziose intestinale à *S. mansoni*. Les planorbes de l'espèce *B. camerunensis* y sont abondants sous un tapis de feuilles mortes en décomposition.

- **La mare permanente Kédé**

C'est l'une des plus importantes mares du village de par sa proximité avec les habitations (04°12'6''N, 011°35'6''E). Les riverains utilisent l'eau de cette mare pour les travaux ménagers et y déversent également des déchets ménagers qui polluent l'eau.

- **Yana Messina**

C'est une mare située à une trentaine de mètres des habitations en contrebas des plantations (04° 2'1''N, 011° 35'3''E). Le niveau de l'eau fluctue grandement en fonction des saisons même si l'eau est toujours présente. Cette mare est fortement perturbée pendant les saisons sèches par les habitants qui l'aménagent pour avoir de l'eau propre afin de pouvoir arroser leurs cultures maraîchères.

II-1-3. Site de la région du Nord

Le climat de cette région est de type tropical soudanien à deux saisons : une longue saison sèche et une courte saison des pluies. Les précipitations se font beaucoup plus irrégulières (tornades violentes et brèves, effets de vents desséchants) et les températures sont élevées. La température annuelle moyenne est de 30°C avec un maximum pouvant atteindre 41°C. La végétation est de type savane arborée avec des forêts claires et sèches (Letouzey, 1987).

- **Gounougou**

C'est un village situé dans le département de la Benoué, arrondissement de Lagdo en amont du barrage (9°4'33" N, 13°42'25"E). La retenue de Lagdo prend sa source du fleuve Benoué à 70 km au nord-est de la ville de Garoua. Elle alimente de nombreux périmètres irrigués exploités pour la culture du riz et fournit ainsi de nombreux biotopes pour l'installation et le développement des mollusques hôtes intermédiaires de trématodes. La population est composée de plusieurs ethnies: les Bororos souvent éleveurs, les Haoussas

essentiellement commerçants, les immigrants (Laka, Toupouri, Massa, Matakam) pour la plupart agriculteurs. L'agriculture et l'élevage occupent 90 % de la population. La pêche a fortement augmenté avec la création du barrage hydroélectrique sur le lac de Lagdo. Les mollusques de l'espèce *B. pfeifferi* ont été collectés dans le canal principal de la retenue de Lagdo.

II-1-4. Site de la région de l'Extrême-Nord

Le climat de cette région est de type tropical soudano-sahélien avec deux saisons caractérisées par des précipitations limitées. Les températures sont élevées et la saison sèche dure 8 mois. Le réseau hydrographique est essentiellement constitué de points d'eau permanents (représentés par des barrages) et par des mares d'eau temporaires (« mayo ») qui disparaissent dès le début de la saison sèche.

➤ Mokolo

L'arrondissement de Mokolo est le chef-lieu du département du Mayo Tsanaga. La bilharziose intestinale y est endémique avec une prévalence de 9% (Brooker *et al.*, 2000). Les mollusques du genre *Biomphalaria* ont été collectés au niveau du barrage d'Ouro-Tada (10° 44' 0" N, 13° 46' 4" E).

II-1-5. Site de la région du Sud

Le climat de cette région est subéquatorial de type « guinéen » et caractérise la forêt du bassin du Congo. Ce climat guinéen chaud et humide comprend quatre saisons : deux saisons des pluies et deux saisons sèches. La grande saison sèche s'étend de décembre à mi-mars, elle est suivie de la petite saison des pluies qui dure quatre mois ; soit de mi-mars à juin. La petite saison sèche moins homogène va de juillet à août. La grande saison des pluies dure trois mois de septembre à novembre avec une température qui varie peu entre 25° à 35° C. La végétation typique du plateau sud-camerounais est la forêt dense humide (Letouzey, 1985) dégradée par des cacaoyères.

➤ Sangmelima

La ville de Sangmélima est située dans la région du Sud-Cameroun, département du Dja-et-Lobo, arrondissement de Sangmelima. Elle est bâtie dans une vaste plaine avec des altitudes moyennes assez uniformes comprises entre 640 m dans les bas fonds marécageux et 712 m dans le secteur administratif. La ville de Sangmélima est arrosée par deux rivières : l'Afamba et la Lobo, elles-mêmes alimentées par de nombreux petits ruisseaux. Les planorbes

de l'espèce *B. camerunensis* ont été collectés, sous le pont du quartier administratif, dans la rivière Afamba (02°56'24.6"N et 011°58'34.7"E).

II-1-6. Site de la région de l'Ouest

Dans cette région règne un climat équatorial de mousson de montagne avec deux saisons (Suchel, 1987) : une saison des pluies de huit mois (mars à octobre) et une saison sèche de quatre mois (novembre à février). Le relief crée de fortes variations pluviométriques et abaisse les températures qui oscillent entre 19°C et 22°C. La végétation caractéristique est de type savane arbustive.

➤ Petponoun

C'est un village situé dans les Hauts Plateaux Bamoun dans le département du Noun, arrondissement de Kouoptamo. Il est divisé en deux secteurs, est et ouest, séparés par une route ; les mollusques ont été collectés dans le secteur ouest, dans un ruisseau situé sous le pont du quartier Magba (5°37'59.12"N, 10°38'7.35"E) où les mollusques étaient très abondants.

II-2. Matériel et méthodes

II-2-1. Récolte et élevage des mollusques

Dès notre arrivée sur un site de récolte des mollusques, nous avons enfilé des bottes et des gants imperméables pour nous protéger d'une éventuelle infestation par les cercaires de trématodes contenues dans l'eau. Les mollusques ont été récoltés à l'aide d'une époussette à mailles fines et à long manche par peignage de la végétation aquatique ; les individus situés sur la vase ou fixés sur des supports flottants ont été ramassés directement à l'aide d'une pince soupe. Ils sont ensuite déposés dans des flacons étiquetés et contenant de l'eau du site. La recherche a été menée dans chaque site pendant une trentaine de minutes environ. A la fin de la récolte, les coordonnées GPS du site de récolte ont été enregistrées et les mollusques ramenés au laboratoire pour identification. Nous avons collecté des mollusques d'octobre 2012 à mai 2015 en fonction de l'étude à mener. Les récoltes de mollusques réalisées entre 2012 et 2013 ont servi à la mise au point des techniques devant être appliquées au cours de la thèse et pour l'étude de leur système de reproduction. Celles réalisées de 2014 à 2015 ont servi à l'identification moléculaire des populations et à l'étude de la compatibilité hôte-parasite.

➤ **Conditions d'élevage**

Cette étude a été réalisée à la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I. Les mollusques ont été élevés dans une salle dont la température ambiante a été fixée à est de 26°C +/- 1° et la photopériode maintenue à 12h de lumière/12h d'obscurité à l'aide d'un programmeur électronique. L'eau d'élevage qui provenait d'une source d'eau naturelle, a été changée tous les 2 jours. La conductivité cette eau utilisée au molluscarium a été d'environ 196 Siemens et son pH 6,96. Les mollusques récoltés ont été élevés ensemble dans des bacs en plastique de 1,5 l et nourris avec des feuilles sèches de laitues (*Lactuca sativa*). Ceux devant servir à développer une nouvelle génération ont été élevés individuellement dans des boîtes en plastique de 100ml contenant de l'eau de source. Chacune de ces boîtes était munie d'un morceau de polystyrène servant de pondoir. Plusieurs pontes ont été récoltées par boîte et mises à incuber dans d'autres boîtes.

➤ **Contrôle de l'infestation naturelle des mollusques**

Au laboratoire, les mollusques récoltés du terrain ont été placés individuellement dans des piluliers contenant de l'eau de source et exposés à une source lumineuse pour le contrôle de l'émission cercarienne : chaque pilulier a été porté à la loupe binoculaire pour la mise en évidence des cercaires de schistosomes.

II-2-2. Identification des mollusques récoltés

II-2-2-1. Identification morphologique

Les mollusques récoltés ont été identifiés morphologiquement au laboratoire selon les critères définis par Brown et Kristensen (1993) et Brown, (1994). Ils ont été différenciés en fonction de la forme et de la taille de la coquille adulte. Pour mesurer le diamètre de la coquille adulte, l'individu est séché sur du papier buvard et le diamètre de sa coquille est mesuré à l'aide d'un papier millimétré. La forme de cette coquille, notamment celle du dernier tour de spire, est observée à l'œil nu. Pour confirmer les identifications morphologiques, nous avons analysé chez les individus le polymorphisme d'une séquence d'ADN (ITS2) par la technique de la PCR-RLFP.

II-2-2-2. Identification moléculaire

La réalisation de la technique PCR-RFLP débute par l'extraction et l'amplification par PCR de l'ADN des mollusques. La présence de la séquence cible (ITS2) est confirmée sur un gel d'agarose. Cette séquence est ensuite découpée en fragments par une enzyme de

restriction, l'enzyme HpaII. Les fragments d'ADN ainsi obtenus, nommés fragments de restriction, sont ensuite séparés selon leur longueur par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide.

II-2-2-2-1. Extraction de l'ADN

L'ADN a été extrait à partir des cellules d'un morceau du pied du mollusque avec du tampon CTAB (bromure d'hexadécyltriméthylammonium) selon une méthode adaptée de Navajas *et al.*, (1998). Un morceau du pied du mollusque a été prélevé avec une pince et introduit dans un tube Eppendorf de 1,5 µL préalablement étiqueté. La solution de CTAB, qui est un détergent cationique permettant de fixer les groupements phosphates de l'ADN chargés négativement, a été préparée (5g de sel CTAB pour 100 mL d'eau distillée) et ajoutée à d'autres solutions préalablement préparées pour obtenir le Tampon CTAB ou 'mix CTAB' (Composition : CTAB 5% ; 1 M TRIS/pH 8 ; 0.5 M EDTA/pH 8 ; 5M NaCl, eau stérile, β₂ mercaptoethanol). Les solutions de Tris et d'EDTA sont des tampons qui créent un environnement physiologique pour l'ADN ; le NaCl permet de casser les membranes cellulaires pour libérer les acides nucléiques dans le tampon et le β₂ mercaptoethanol rompt les ponts disulfures de la molécule d'ADN. Le tampon a été ensuite préchauffé au bain marie à 60° C pendant 15min puis 600 µL de ce solvant ont été ajoutés dans chaque échantillon étiqueté. Le tissu a été broyé à l'aide d'un piston et le mélange a été incubé au bain-marie, à 60°C pendant 1heure et 30 minutes. 600 µL du solvant organique (mélange chloroforme et alcool isoamylique dans les proportions respectives 24:1) ont été ajoutés et le mélange a été homogénéisé et centrifugé à 8000 tours par minute pendant 15 minutes. Trois phases se distinguent: une phase aqueuse, une phase protéique et une phase organique. La phase aqueuse, qui est au-dessus et composée du complexe CTAB-acide nucléique d'environ 450µL, est prélevée et transvasée dans un nouveau tube Eppendorf de 1,5 µL étiqueté pareillement à l'ancien tube. L'isopropanol, solvant qui précipite les acides nucléiques au fond du tube, a été ajouté dans le nouveau tube à un volume égal à celui de la phase aqueuse prélevée puis le mélange a été homogénéisé et incubé à -20°C toute la nuit. Le lendemain, ce mélange a été centrifugé à 13000 tours par minute pendant 20 minutes pour permettre à l'ADN de se regrouper en un culot au fond du tube. Le liquide surnageant a été ensuite évacué et le culot d'ADN a été purifié avec 900µL d'éthanol à 70°. Après centrifugation, l'éthanol est évacué du tube et le culot d'ADN restant est séché à l'air libre puis suspendu dans 50 µL d'eau stérile. Ces tubes d'ADN sont ensuite conservés à -20°C jusqu'à utilisation.

II-2-2-2. Amplification du marqueur ITS2

Après l'extraction de l'ADN, l'étape suivante a été de préparer le milieu réactionnel pour réaliser la PCR (mix-PCR) sous une hotte en prenant soin d'éviter scrupuleusement toute contamination (tableau I). Le couple d'amorces utilisé s'hybride sur les extrémités conservées 5.8S et 28S des gènes ribosomiaux (Vidigal *et al.*, 2004).

Tableau I : Couple d'amorces utilisé pour l'amplification du gène ITS2

Amorces	Température d'hybridation [C°]	Séquences
ITS2F	67,8	5'-CGTCCGTCTGAGGGTCGGTTTGC-3'
ETTS1	53,7	5'-TGCTTAAGTTCAGCGGGT-3'

L'amplification a été réalisée dans un volume réactionnel final pour chaque tube PCR de 24, 5µL contenant les éléments cités dans le tableau II.

Tableau II : Composition du mélange réactionnel pour l'amplification du gène ITS-2

Composition du mix-PCR	Concentration de la solution mère	Volume (µL) de prise pour un échantillon
Eau stérile	1	16,4
Tampon TBE	10x	2,5
dNTPs	10 mM	0,5
ITS2F	10 µM/µL	1
ETTS1	10 µM/µL	1
Taq ADN polymérase	5U/µL	0,1
ADN	10ng/ µL	3

Après cette préparation du mélange réactionnel, les tubes ont été placés dans un thermocycleur et le programme d'amplification a été le suivant:

- * dénaturation initiale de l'ADN total : 95°C pendant 3 minutes et 30 secondes ;
 - * dénaturation à 95°C pendant 3 minutes et 30 secondes ;
 - * étape d'hybridation des amorces à 60°C pendant 30 secondes ;
 - * étape d'élongation à 72°C pendant 30 secondes ;
 - * extension finale à 72°C pendant 10 minutes.
- } 35 cycles

II-2-2-3. Electrophorèse sur gel d'agarose des amplifiats ITS-2

La séparation des acides nucléiques chargés négativement sous l'effet d'un champ électrique, en fonction de la taille des fragments sur un gel d'agarose a permis de vérifier la présence de la séquence ITS2 dans chaque échantillon amplifié.

Un gel d'agarose à 2% a été initialement préparé à partir de 1 g d'agarose et d'un tampon TBE 0,5X. Le Tampon TBE (base Tris/acide Borique/EDTA) possède des ions qui permettent la conduction du courant électrique. Cette solution « agarose+tampon » est chauffée au micro-onde pendant 2 à 3 min puis 10 µL de Bromure d'Ethidium (BET) y sont ajoutés. Le gel est ensuite coulé dans une plaque sur laquelle on a déposé un ou deux peignes de 13 puits chacun. Le gel refroidi est déposé dans une cuve d'électrophorèse. 2 µL de chaque amplifiat sont mélangés à 1,5 µL de bleu de charge (marqueur de front permettant de retenir l'ADN au fond du tube et de suivre sa migration) puis déposés dans chaque puits du gel avec une micropipette. La même opération est réalisée avec 1 µL de marqueur de poids moléculaire de 100Pb, qui permet d'apprécier la taille des fragments amplifiés ; la migration se fait sous un générateur réglé à 110V et à 50mA. Le gel est enfin photographié pour visualiser les fragments dans une chambre photographique à ultraviolets.

II-2-2-4. Digestion des produits d'amplification par l'enzyme de restriction

L'endonucléase utilisée dans cette étude est l'HpaII (Eurofins/Génomics). Le site de clivage de cette enzyme de restriction est présenté au tableau III.

Tableau III : Site de clivage de la séquence nucléotidique spécifique par l'endonucléase HpaII

Endonucléase	Site de clivage	Température d'activation [C°]
HpaII (<i>Haemophilus parainfluenzae</i>)	C [▼] CGG GGC [▲] C	37

Les produits d'amplification dits amplifiats, dont la présence a été confirmée sur gel d'agarose, ont été digérés dans un volume réactionnel de 26 µL. Ce volume contenait 1 µL d'enzyme HpaII, 5 µL de tampon, 18 µL d'eau stérile et 2µL d'amplifiat. Le mélange réactionnel a été incubé au bain-marie pendant 30 min à 37°C conformément aux instructions du fournisseur de cette enzyme (Eurofins/Génomics).

II-2-2-5. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide des fragments de restriction

Des plaques ont été initialement assemblées dans le système de coulage pour former un moule avant la préparation du gel de polyacrylamide à 8% et une petite quantité de gel d'agarose a été coulée au fond du moule pour éviter les fuites de tampon. Le gel de polyacrylamide est constitué : i) d'un mélange de 16mL d'acrylamide/bis-acrylamide 19 :1 (N, N'-méthylènebisacrylamide) concentré à 30%, ii) de 6mL de tampon TBE 10X, iii) de 525 µL d'APS 10%, vi) de 38 mL d'eau distillée et v) d'une solution de 140µL de TEMED (N,N,N',N'-Tetraméthyléthylènediamine) qui active la polymérisation du gel. Une fois préparé, le gel est immédiatement coulé entre les plaques et un peigne y est introduit soigneusement pour former des puits. Ce gel polymérise pendant 45 min à 1h à température ambiante et est transféré dans la cuve à électrophorèse contenant du tampon TBE 1X. Le reste de polyacrylamide non polymérisé est enlevé des puits du gel à l'aide d'une seringue contenant du bleu de charge puis une migration test est lancée pendant 30 minutes à 100V et 50mA pour vérifier si le courant circule dans le tampon. 2 µL de chaque amplifiat mélangé à 1,5 µL de bleu de charge sont ensuite déposés dans chaque puits ainsi que 1 µL de marqueur de poids moléculaire de 25pb. Ces échantillons sont enfin migrés à 35V et à 25mA pendant 18h et les bandes révélées sont photographiées. Le poids moléculaire des bandes et la concentration de l'extrait d'ADN sont estimés en comparant la distance de migration et la taille de ces bandes avec celle du marqueur.

II-2-3. Etude du système de reproduction des *Biomphalaria*

Il a été question de vérifier la prépondérance de l'autofécondation ou de l'allofécondation dans les populations des deux espèces de *Biomphalaria* par la méthode de la mesure de la dépression d'autofécondation (Jarne *et al.*, 1993).

Au molluscarium, 15 individus sauvages (G0) par population de chaque espèce (figure 9), sexuellement matures sont distribués individuellement dans des boîtes de 100mL munies chacune d'un pondeur. Pendant leur activité de ponte, deux pontes sont prélevées par parent et incubées séparément dans des boîtes de 100mL. Après éclosion, les juvéniles de la première génération (G1) ont été maintenus ensemble dans des boîtes d'élevage pendant environ trois semaines. Trois à quatre juvéniles (G1), âgés de 26 à 30 jours ont été choisis au hasard dans chaque boîte pour constituer un échantillon de 120 jeunes mollusques G1 par espèce. Ces individus ont été ensuite isolés et élevés individuellement jusqu'à la maturité sexuelle marquée par le dépôt de la première ponte d'autofécondation. Les premiers individus atteignant la maturité sexuelle ont été soumis à deux traitements (Ti) : l'autofécondation (T1)

et l'allofécondation (T2). Ainsi, 40 et 33 individus *B. pfeifferi* et *B. camerunensis* respectivement ont été maintenus isolés tout au long de l'expérience pour assurer la reproduction par autofécondation ; 40 (20 couples) et 36 (18 couples) individus *B. pfeifferi* et *B. camerunensis* respectivement ont été accouplés pendant trois jours successifs avant d'être isolés encore pour l'étude de la reproduction par allofécondation (T2). Après ces trois jours d'accouplement, 2 pontes ont été prélevées par individu dans chaque traitement et incubées pour évaluer la survie des descendants (G2).

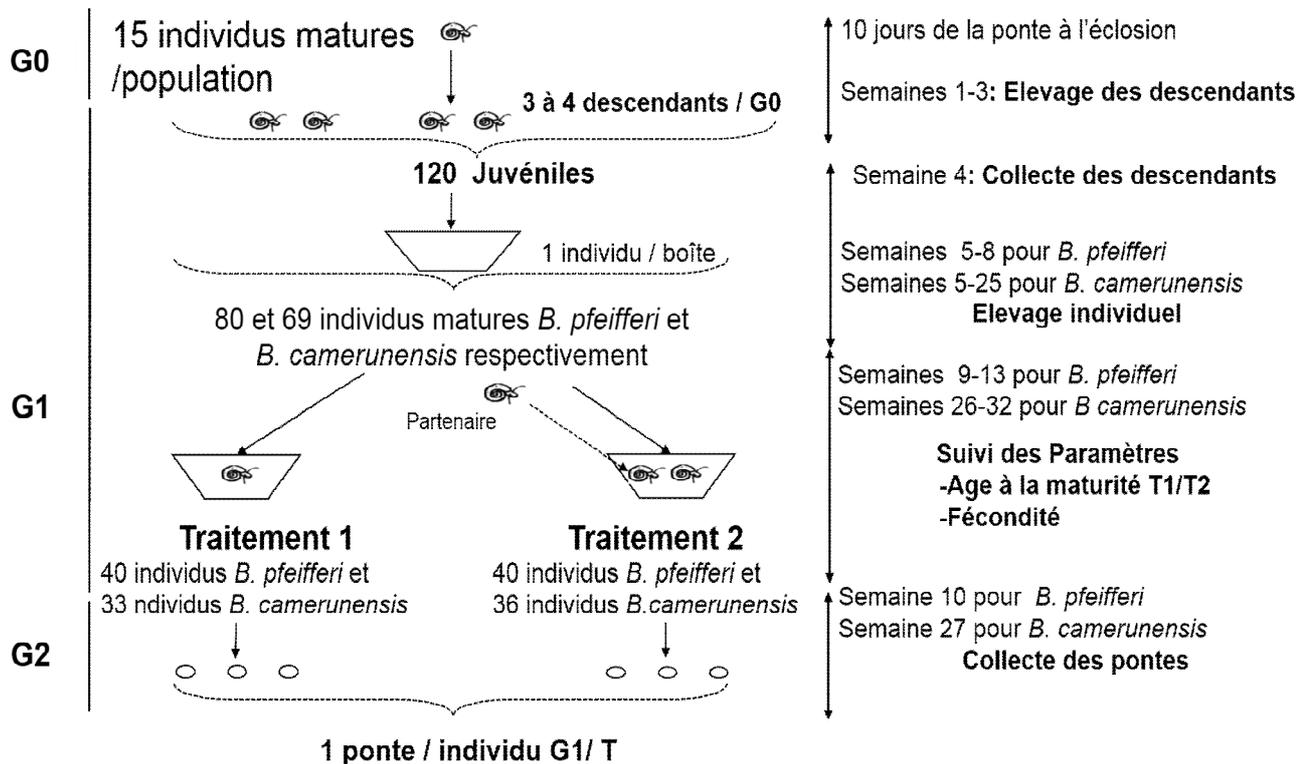


Figure 9 : Protocole expérimental de l'étude du système de reproduction

II-2-3-1. Evaluation des traits de vie et calcul de la dépression d'autofécondation

Dans ces deux groupes, autofécondants (T1) et allofécondants (T2), le nombre de pontes et celui des œufs par ponte, comptés à la loupe binoculaire, sont relevés pendant 30 jours chez les individus soumis à l'autofécondation et chez les individus ayant copulé comme femelle. De même, le nombre de jours d'incubation des œufs, le jour d'éclosion, le nombre d'embryons qui éclosent à J0 et la survie à J8, J14 et J30 jours ont été notés. La dépression d'autofécondation (**d**) a été obtenue à partir d'une méthode indirecte déjà employée chez

d'autres espèces de Basommatophores (Escobar *et al*, 2011) et de plantes (Goodwillie & Knight, 2006). Elle est calculée à partir de la formule ci-contre :

$$d = 1 - (W_{\text{auto}}/W_{\text{allo}})$$

où W_{auto} et W_{allo} désignent respectivement la valeur sélective en autofécondation et la valeur sélective en allofécondation.

$W = v * f$ où v désigne la viabilité ou survie des descendants G2 sur une période considérée
 f la fertilité en nombre d'œufs produits par les parents G1.

En théorie si :

$d < 0,5$ la population utilise l'autofécondation

$d > 0,5$ la population utilise l'allofécondation

(Jarne et Delay, 1991 ; Njiokou *et al*., 2000 ; Tsitrone, 2001)

II-2-3-2. Etude de l'activité copulatoire

Les données décrivant le comportement copulatoire des espèces de *Biomphalaria* au Cameroun sont inexistantes à notre connaissance. Le système de reproduction étant affecté par le comportement copulatoire (Jordaens *et al*, 2007), l'étude de ce dernier permettrait de mieux comprendre le système de reproduction adopté par une espèce.

Les individus sauvages (G0) utilisés pour cette étude appartiennent aux populations de Nkolbisson pour l'espèce *B. pfeifferi*, de Yana Messina et de Mounassi pour l'espèce *B. camerunensis*. Les descendants de la première génération de laboratoire (G1) obtenus comme précédemment décrit, ont été maintenus isolés jusqu'à l'atteinte de la maturité sexuelle. Cet isolement avait pour but d'augmenter l'empressement des individus à copuler dès qu'ils seraient mis en présence d'un partenaire sexuel. Ainsi, 15 paires d'individus vierges, appartenant à chacune des populations et ayant atteint leur maturité sexuelle ont été formées dans des boîtes de contenance 100mL et de 5cm de profondeur. Pour des besoins de photographie, certaines observations ont été faites dans des boîtes de Pétri où le comportement copulatoire demeure essentiellement le même que dans des boîtes de 100mL (Soldatenko et Petrov, 2012). L'un des individus de chaque paire constituée est préalablement marqué d'une tache blanche en utilisant l'encre d'un correcteur. Cette technique est appropriée et fiable car elle n'affecte pas les traits de vie des individus marqués comme précédemment démontré chez l'espèce *Physa acuta* (Henry et Jarne, 2007). L'activité copulatoire de ces individus est suivie de 8h à 17h puis ils sont séparés entre 17h et 8h du jour suivant. Ce protocole permet de noter toutes les copulations survenues durant ces 3 jours. Les individus suivis ne sont pas nourris pendant les heures d'accouplement. En tenant compte de la terminologie conventionnelle pour la qualification des rôles sexuels, si la reproduction est

reciproque unilatérale, l'individu inséminant son partenaire, c'est-à-dire donnant l'allosperme est considéré comme 'mâle' et l'individu recevant l'allosperme est considéré comme 'femelle'. Si la reproduction est réciproque bilatérale, l'individu qui initie l'accouplement et qui montre le plus actif comportement copulatoire est considéré comme 'partenaire actif' et l'autre comme 'partenaire passif' (Soldatenko et Petrov, 2012). La copulation est dite réussie lorsque l'individu 'mâle' insère son préputium dans le pore vaginal de l'individu 'femelle'. Le comportement copulatoire, le nombre de copulations et le rôle sexuel joué par chaque individu ont été notés.

II-2-3-3. Etude du temps d'attente

Nous avons eu du mal à obtenir des pontes chez les individus isolés de *B. camerunensis*, même après qu'ils aient atteint la maturité sexuelle indiquée par le dépôt des premières pontes. Chez les espèces préférentiellement allofécondes, la théorie prévoit qu'il existerait un temps d'attente avant de se reproduire chez les individus qui n'ont pas rencontré de partenaires sexuels. C'est dans le but de vérifier l'existence de ce temps d'attente et de le quantifier que nous avons initié cette étude. Elle a été menée dans la population de Mounassi de l'espèce *B. camerunensis*. Le protocole expérimental utilisé est basé sur celui défini par Tsitrone (2001) dans son travail sur *Physa acuta*, une espèce préférentiellement alloféconde.

A partir des pontes (2 pontes/individu) de 16 individus isolés de la première génération (G1), un échantillon d'environ 96 individus (6 individus/parent G1) de la deuxième génération (G2) a été constitué (figure 10). Ceux-ci ont été élevés par groupe de 3 par boîte pour minimiser les effets parasites de la densité. Après trois semaines, ils ont été isolés puis divisés en deux groupes dans lesquels sont appliqués deux traitements différents :

- traitement T1 : les individus sont isolés durant toute la vie reproductive, l'autofécondation est le seul mode de reproduction ;
- traitement T3 : les individus sont isolés pendant la majorité de la vie reproductive avec de fréquentes expositions de courte durée à un partenaire (3x3heures/semaine).

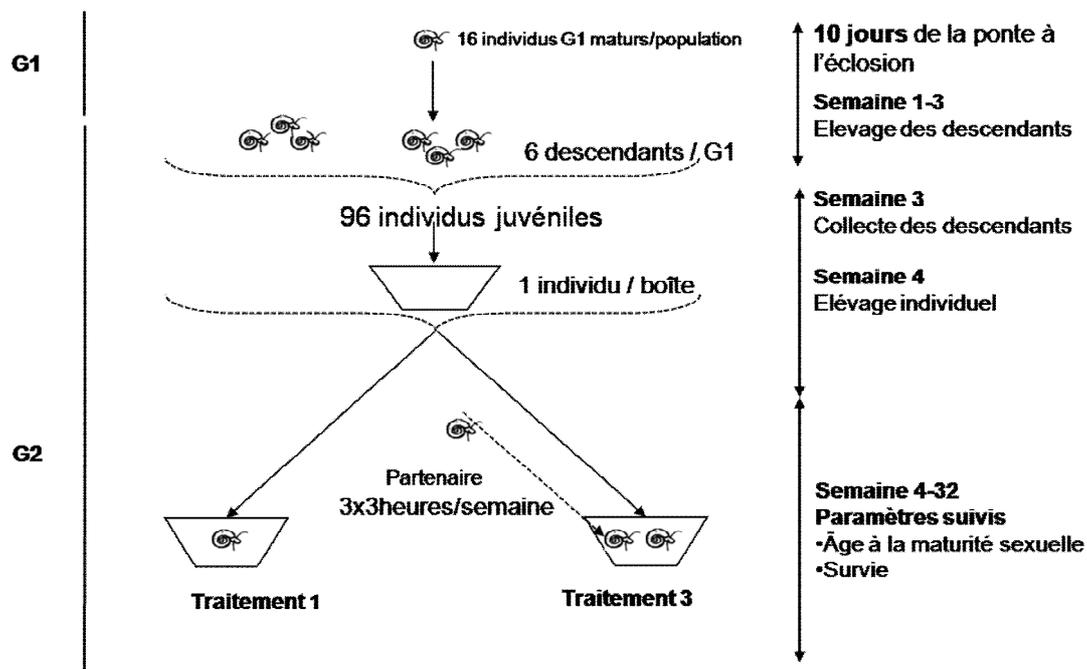


Figure 10 : Protocole expérimental de l'étude du temps d'attente

Ce protocole permet des copulations multiples et autorise donc une allofécondation tout en évitant des effets parasites de la densité. Les traits suivis individuellement sont l'âge de première reproduction et la survie. La comparaison entre T3 (allofécondants) et T1 (autofécondants) permet de tester l'existence d'un délai supplémentaire (t) avant de se reproduire. Ce délai a été calculé ici comme suit :

$$t = \text{âge moyen de début de ponte des individus isolés} - \text{âge moyen de début de ponte des individus accouplés}$$

(Tsitrone, 2001)

II-2-4. Etude expérimentale de la susceptibilité à *Schistosoma mansoni* des populations de *Biomphalaria pfeifferi* et *Biomphalaria camerunensis*

Cette étude a concerné cinq populations de *Biomphalaria camerunensis* (Mounassi, Kede, Yana messina, Sangmelima, Petponoun) et trois populations de *Biomphalaria pfeifferi* (Ekorezoz, Gounougou, Mokolo), qui ont été infestées avec une souche de *Schistosoma mansoni* originaire de la région du Centre (quartier Ekorezoz). Les œufs du trématode *S. mansoni* ont été obtenus auprès des habitants riverains et qui ont des contacts fréquents avec l'eau infectée de la rivière Afeme.

II-2-4-1. Collecte des mollusques et préparation pour l'infestation

Les mollusques ont été collectés dans huit sites par les techniques de ramassage direct sur la vase et de peignage de la végétation aquatique à l'aide d'une épuisette. Ceux de l'espèce *B. pfeifferi* ont été collectés dans trois sites nommés Ekorezok (un village situé dans le quartier Nkolbisson, de la ville de Yaoundé) (03°53'327''N, 11°27'412''E) dans la région du Centre, Gounougou (09°04'33''N, 13°42'25'' E) dans la région du Nord, et Mokolo (10°44'00''N, 13°46'04''E) dans celle de l'Extrême-nord. Les mollusques de l'espèce *B. camerunensis* ont été collectés dans cinq localités dont trois sont situées dans la région du Centre (Mounassi (04°12'14.1''N, 11°35'00.2''E), Kede (04°12'06''N, 11°35'06''E), et Yana Messina (04°12'1''N, 011°35'3''E), une dans le Sud (Sangmelima (02°56'24.6''N, 11°58'34.7''E), et une dans la région de l'Ouest (Petponoun (5°37'59.12''N, 10°38'7.35''E).

Au laboratoire, les individus sauvages ont été distribués individuellement dans des boîtes en plastique de 100 mL étiquetées, contenant de l'eau de source et un morceau de polystyrène. Au total, 15 parents sauvages, sexuellement matures, ont été isolés dans chaque population. Une à deux pontes ont été récoltées par individu et mises à éclore. Après éclosion, les descendants des 15 parents sauvages ont été élevés séparément jusqu'à l'âge d'un mois (Njiokou *et al.*, 2004). Ce protocole permet de contrôler le nombre de parents sauvages ayant contribué à la constitution de l'échantillon de descendants à exposer aux miracidiums.

II-2-4-2. Acquisition du parasite

II-2-4-2-1. Considérations éthiques

Le protocole de cette étude a été approuvé par le Comité National d'Ethique de la Recherche pour la Santé Humaine (CNERSH) du Cameroun. Une clairance éthique a été délivrée N°2016/02/716/CE/CNERSH/SP) et l'étude s'est déroulée en respectant les recommandations indiquées par le CNERSH. Les objectifs et le déroulement de cette étude ont été expliqués aux potentiels participants, et tous les volontaires ou les parents des volontaires ont donné leur consentement verbal. Les sujets chez qui les œufs de schistosomes ont été retrouvés ont reçu une dose de Praziquantel.

II-2-4-2-2. Sensibilisation

Elle s'est déroulée auprès des habitants du village Ekorezok, riverains de la rivière Afeme qui de par leurs activités entrent en contact avec l'eau infestée de la rivière. Les volontaires ont été réunis chez le chef du village et une boîte de collecte des selles leur a été remise. Les échantillons de selles collectés ont été ramenés immédiatement au laboratoire puis analysés par la technique de Kato-Katz (Montrésor *et al.*, 2004).

➤ **Examen de selles**

La technique de concentration de Kato Katz (Katz *et al.*, 1972 ; OMS, 1991) a été utilisée pour le diagnostic spécifique et quantitatif des œufs de schistosomes dans les selles. A l'aide d'un tamis à mailles fines et d'une spatule, une petite portion de selles a été tamisée pour la débarrasser de gros débris. La partie évidée d'un gabarit placé au centre d'une lame porte-objet a été remplie entièrement de cette matière fécale ; ensuite le gabarit a été ôté pour obtenir une briquette de selle. Celle-ci a été recouverte d'un petit rectangle de papier cellophane ayant séjourné au moins 24h dans une solution de vert de Malachite. La selle a été étalée par pression uniforme au moyen d'un tube à essai pour une meilleure observation au microscope photonique. La lecture des lames a été faite à l'objectif 10x puis à l'objectif 40x pour la confirmation de l'appartenance des œufs à une espèce de schistosome. Neuf échantillons présentant une charge parasitaire comprise entre 200 et 1700 œufs par gramme de selle (opg) ont été utilisés pour l'isolement des œufs du parasite.

➤ **Obtention des œufs et des miracidia**

Les œufs de *S. mansoni* et l'éclosion des miracidiums à partir de ces derniers demandent des lavages et sédimentations répétés des selles des individus infectés (Allison *et al.*, 1992). Ainsi, 20 g de matières fécales d'individus infectés sont broyés à l'aide d'une spatule dans 250 ml d'eau physiologique (0,9%). La solution est filtrée à travers une série de tamis de mailles décroissantes. Cette filtration est facilitée en pulvérisant une solution saline sur les mailles de chaque tamis. Le filtrat est ensuite sédimenté pendant 30 minutes à l'obscurité pour permettre une sédimentation puis le liquide surnageant est décanté en utilisant une seringue et/ou une pipette. Le culot obtenu est remis en suspension dans 250 ml d'eau physiologique ; la solution obtenue est déposée à nouveau à l'obscurité pendant 20 à 30 min puis décantée. Dans une boîte de Pétri contenant de l'eau de source, le culot obtenu est versé et la solution est placée sous une lampe. Une demi-heure plus tard, les œufs éclosent sous l'action de ce double choc osmotique et thermique et libèrent chacun un miracidium (figure 11). Les miracidiums sont pipetés à l'aide d'une micropipette et mis en contact avec les jeunes mollusques.

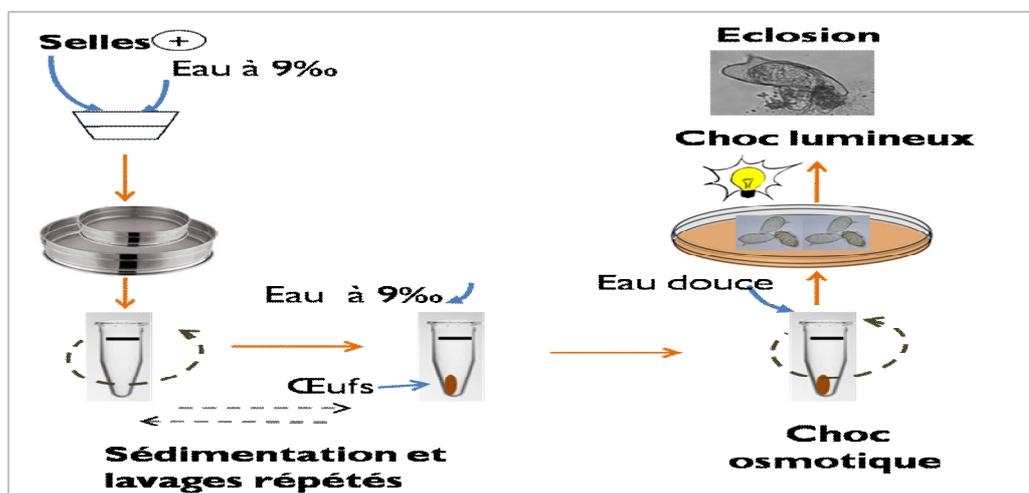


Figure 11 : Protocole d'obtention et d'éclosion des œufs de *Schistosoma mansoni*

II-2-4-3. Infestation des mollusques et évaluation des paramètres

Pour chaque population, 2 à 6 jeunes mollusques (2-4mm) provenant de chacun des 15 parents sauvages ont été mis individuellement dans des cupules d'une plaque multi-puits contenant de l'eau de source. Cinq miracidia ont ensuite été pipetés, sous la loupe binoculaire, à l'aide d'une micropipette et mis au contact de chaque jeune mollusque. Les cupules ont été recouvertes et le dispositif a été laissé à température ambiante (26 ± 1 °C) pendant 4 heures. Les descendants de chaque parent ont été remis ensemble dans leur boîte d'élevage. Entre le 20^e et le 60^e jour post-infestation, les mollusques ont été contrôlés quotidiennement pour l'émission cercarienne. Les paramètres suivants ont été notés :

- ✓ **la durée de la période prépatente** qui correspond à celle du développement larvaire, période comprise entre la mise en contact des mollusques avec les miracidiums et le jour de leur première émission de cercaires. La période de patence est celle qui va de la première émission de cercaires jusqu'à la mort du mollusque. Nous l'avons enregistrée ici jusqu'à la fin de l'expérience, c'est-à-dire jusqu'au 60^e jour post-exposition ;
- ✓ **le taux de réussite de l'infestation** qui correspond au rapport entre le nombre d'individus émettant des cercaires et celui des individus exposés survivants ;
- ✓ **le taux de survie post-infestation des mollusques** qui correspond à la différence entre le nombre de mollusques exposés et celui des mollusques décédés (Njiokou *et al.*, 2004).

II-2-4-3. Evaluation de la production cercarienne

La production cercarienne a été évaluée à partir du 40^e jour post infestation, date à laquelle la plupart des mollusques sensibles à l'infestation avaient émis des cercaires. Cette production cercarienne a été déterminée pendant 5 jours chez 16 mollusques appartenant à

l'espèce *B. pfeifferi* et 8 mollusques appartenant à l'espèce *B. camerunensis*. Ces individus ont été maintenus à température ambiante ($26\pm 1^\circ\text{C}$) pendant 24 h dans 20ml d'eau de source. Le décompte des cercaires a été réalisé sous la loupe binoculaire, dans une cupule quadrillée contenant 5ml d'eau de source additionnée à deux gouttes de lugol 2%.

II-2-4-4. Action du parasite sur la reproduction et la croissance de *Biomphalaria pfeifferi*

Nous avons étudié l'influence de l'infestation sur la croissance et la fécondité des individus de l'espèce *B. pfeifferi* de Nkolbisson. Pour ce faire, deux groupes d'environ 40 individus G1, âgés d'environ trois semaines et ayant une taille comprise entre 3 et 4 mm ont été constitués. Un des deux lots a été infesté comme décrit plus haut au paragraphe II-5-3., alors que l'autre a servi de témoin pour l'expérimentation (Njiokou *et al.*, 2004).

La taille des individus des deux lots est mesurée le premier jour afin de tester l'homogénéité des groupes. L'individu est séché sur du papier buvard et le diamètre de sa coquille est mesuré à l'aide d'un papier millimétré. Le gain de taille entre deux dates consécutives est la différence des mesures entre ces deux dates.

Après avoir noté l'âge du début de la ponte, leur nombre et celui des œufs produits est relevé tous les deux jours chez chaque individu des deux lots et ce pendant 3 mois. Le taux d'oviposition, défini comme le pourcentage de mollusques ayant pondu au moins une fois, est ainsi obtenu (Djuikwo-Teukeng, 2004).

II-2-4-5. Evaluation de la chronobiologie

Le rythme d'émission cercarienne a été déterminé chaque heure de 7h-19h sur 11 mollusques appartenant à l'espèce *B. camerunensis*. Le protocole utilisé s'est basé sur les méthodes combinées de Sene *et al.* (2002) et Ahmed-Aziz *et al.* (2006). Les mollusques ont été maintenus toute la journée sous une source lumineuse artificielle et placés dans des pots contenant 5 ml d'eau chauffée entre 34 et 35°C. Après chaque heure, les mollusques sont transférés dans de nouveaux pots et l'eau contenant les cercaires est récupérée. Le décompte de celle-ci des cercaires est réalisé sous la loupe binoculaire, dans une cupule quadrillée contenant de l'eau additionnée à deux gouttes de lugol 2%.

II-2-5. Analyse des données

Toutes les données ont été enregistrées dans une base de données Microsoft Excel et analysées à l'aide du logiciel *PASWStatistics* Version 18 (SPSS Inc., Chicago, IL USA et du programme en ligne Vassarstat (*Statistical computational web site*). Ce dernier a été particulièrement utile pour déterminer les intervalles de confiance à 95% pour les proportions

en utilisant la méthode de Wilson non corrigée pour la continuité. Les fluctuations d'échantillonnage ont été estimées en utilisant l'écart type (s). Le test de normalité de Kolmogorov Smirnov a été réalisé préalablement pour vérifier si la distribution des variables quantitatives obéissait à la loi de Gauss. Lorsque cette distribution a été normale, les tests paramétriques ont été utilisés, par contre lorsque la distribution n'est pas normale ce sont les tests non paramétriques qui sont utilisés. Ainsi le test paramétrique t de Student a permis de comparer deux variables indépendantes distribuées normalement. Les tests non paramétriques de Man Withney et de Kruskal Wallis ont été utilisés pour comparer deux et plus de deux variables indépendantes respectivement. Les variables qualitatives ont été analysées à l'aide du test de Chi-deux de Pearson dans le cas où 80% des effectifs théoriques étaient supérieurs à 5. La correction de continuité de Yates a été utilisée lorsque les effectifs théoriques étaient compris entre 3 et 5. Le seuil de signification a été fixé pour tous les tests à 5%.

➤ **Analyse de l'étude du système de reproduction**

Les moyennes des nombres de pontes, des nombres d'œufs par ponte ont été comparées en utilisant le test t de Student. Le nombre d'œufs éclos aussi bien que le temps d'incubation des œufs dans les deux traitements (groupes) ont été comparés par le test de Man Withney. Le taux d'éclosion (évalué à J0) et la survie des descendants G2 ont été comparés à l'aide du test de Chi-deux. Celui-ci a également été utilisé pour comparer les pourcentages de copulations entre les espèces et les populations. Le test de Man-Withney a été employé pour comparer les nombres moyens et les durées moyennes de copulation entre les populations ainsi que la différence entre les âges moyens des individus du traitement T1 et ceux du traitement T3.

➤ **Analyse de l'étude de la susceptibilité à *S. mansoni***

Les taux de réussite de l'infestation (TRI) ont été calculés puis comparés entre différentes populations de mollusques par le test de khi 2. Le test de Mann Whitney a permis de comparer les durées de la période de prépatence entre les espèces, ainsi que les productions cercariennes entre les différents jours de suivi chez les deux espèces. Le test de Kruskal Wallis a été utilisé pour comparer les durées de la période de prépatence entre les populations de mollusque. Les comparaisons de la taille entre les mollusques témoins et les mollusques infestés ainsi que le gain de taille entre les différents mois d'observation ont été faits à l'aide du test de Man-Withney. Ce même test a été utilisé pour comparer les âges moyens du début de ponte ainsi que les productions d'œufs chaque semaine dans les deux lots expérimentaux.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III-1. Résultats

III-1-1. Taxons de mollusques identifiés

III-1-1-1. Apport de la morphologie des coquilles

Les critères morphologiques basés sur la forme et la taille de la coquille du mollusque tels que décrits par Kristensen & Brown (1993) et Brown (1994) ont permis d'identifier trois espèces de gastéropodes : *Biomphalaria pfeifferi* (Krauss, 1848), *Biomphalaria camerunensis* (Boettger, 1941) et *Indoplanorbis exustus* (Deshayes, 1834).

Les mollusques récoltés présentent une coquille discoïde à enroulement senestre. Les spécimens de l'espèce *B. pfeifferi* sont caractérisés par un diamètre (d) de la coquille adulte réduit, ne dépassant pas 15 mm. La forme de la face supérieure de la coquille est concave avec le dernier tour de spire très développé par rapport aux autres spires. Les spécimens de l'espèce *B. camerunensis* sont caractérisés par un diamètre de la coquille adulte en général supérieur à 16 mm. La forme de la face supérieure de la coquille est aplatie et la coquille est moins dépressée que celle de *B. pfeifferi*. En général l'enroulement de la spire est plus harmonieux chez cette espèce (figure 12).

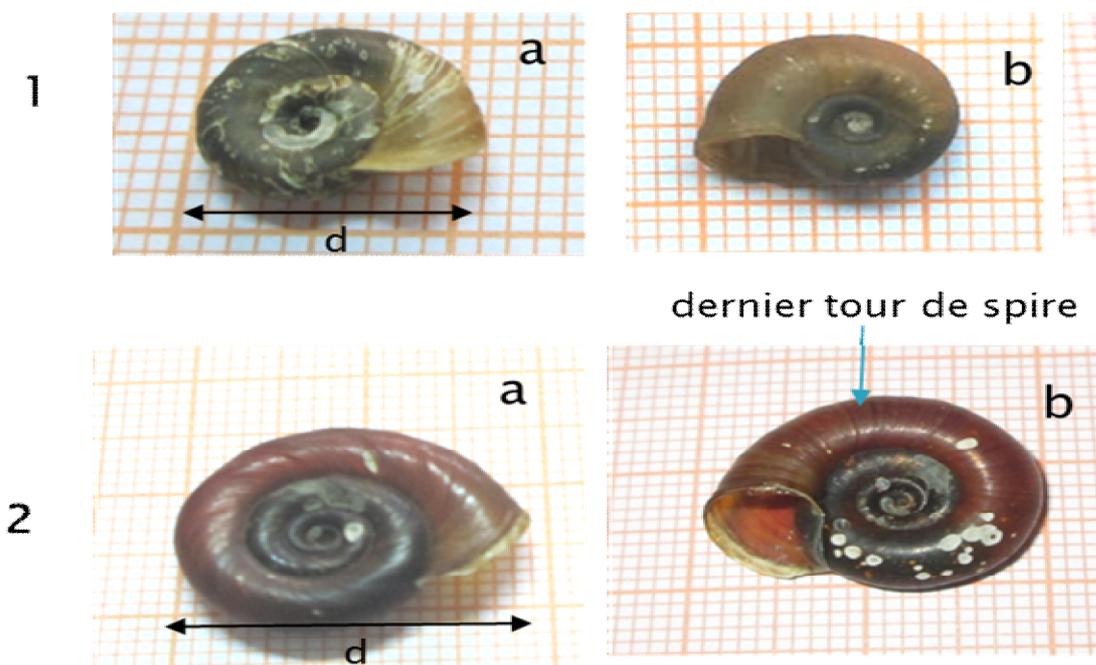


Figure 12 : Coquilles de *Biomphalaria* sp., hôtes intermédiaires de *Schistosoma mansoni* au Cameroun

Légende : (1) Coquilles de *Biomphalaria pfeifferi* ; (2) Coquilles de *Biomphalaria camerunensis* ; (a) Vue dorsale ; (b) Vue ventrale ; (d) Diamètre de la coquille

III-1-1-2. Apport de la taxonomie moléculaire des populations de mollusques

Le but de cette étude était de discriminer sur la base du polymorphisme d'une séquence d'ADN (ITS2) différentes populations de mollusques récoltées en utilisant la technique de la PCR-RLFP.

➤ Révélation de la région amplifiée ITS2 sur le gel d'agarose

L'ADN extrait par la méthode de CTAB s'est révélé d'une bonne qualité. L'épaisseur et l'intensité des bandes obtenues sur le gel d'agarose n'ont pas montré de grandes variations qualitatives dans la plupart des populations. Le produit de l'amplification de cette région a montré une bande unique de 460 Pb pour tous les individus examinés (figure 13).

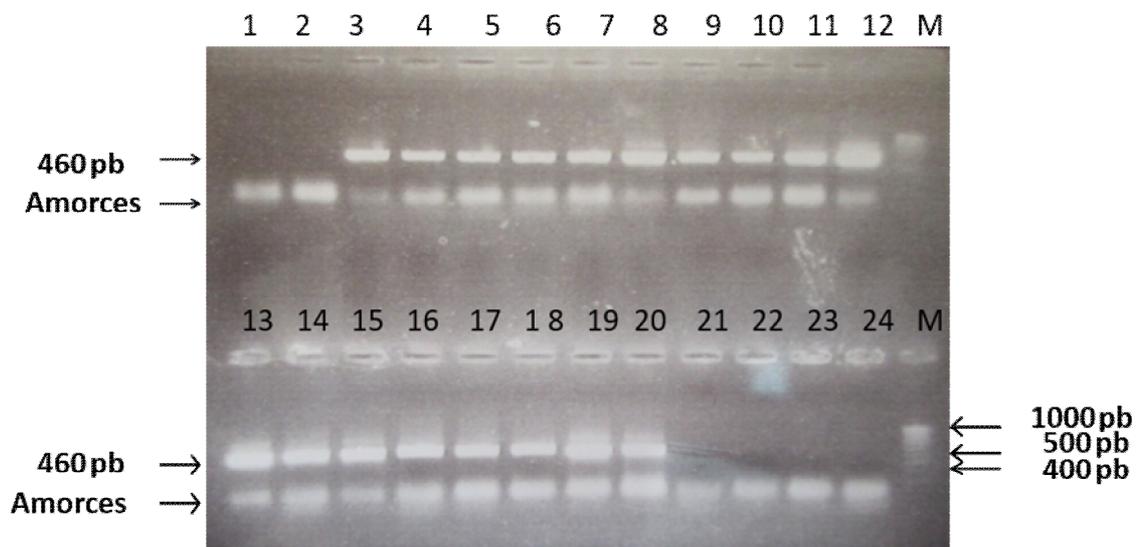


Figure 13 : Bandes révélées sur gel d'agarose caractérisant l'amplification de la séquence ITS2 chez *Biomphalaria*.

M= marqueur de taille ; 1 et 2= Contrôles négatifs 3 à 24 = Différents échantillons analysés.

➤ Révélation des produits de digestion de la région ITS2 par l'enzyme *Haemophilus influenzae*

Les profils de restriction obtenus après digestion avec l'enzyme HpaII sont distinguables sur le gel de polyacrylamide et présentent deux à trois fragments en fonction des individus analysés (figure 14). Quatre profils différents obtenus ont permis de distinguer les trois espèces identifiées morphologiquement. L'espèce *B. pfeifferi* est caractérisée par deux profils différents : un profil à deux bandes (290/137 pb) dit 'Profil *B. pfeifferi* 1' et un second présentant une bande intermédiaire supplémentaire (290/217/137 pb) dit 'Profil *B. pfeifferi* 2'. L'espèce *B. camerunensis* est caractérisée par un seul profil à deux bandes (217/144 pb) dit

‘Profil *B. camerunensis*’. Un individu appartenant à la population de Yana Messina a présenté une bande supplémentaire de 80 pb (217/144/80 pb). L’espèce *Indoplanorbis exustus* est caractérisée par un profil à deux bandes (240/75 pb) dit ‘Profil *Indoplanorbis exustus*’. La somme des fragments d’ADN observés sur le gel de polyacrylamide est inférieure au produit d’amplification du gène ITS2 (460 pb) mais lui reste assez proche chez *B. pfeifferi* et *B. camerunensis*.



Figure 14 : Séries de bandes révélées sur gel de polyacrylamide caractérisant différents individus du genre *Biomphalaria*.

- Echantillons 1- 5, 19** = Profil *B. camerunensis*
- Echantillons 6, 14 -16** = Profil 1 *B. pfeifferi*
- Echantillons 7 – 11** = Profil 2 *B. pfeifferi*
- Echantillons 12, 13, 17, 18** = Amplicons non digérés
- M** = Marqueur de taille

Le tableau IV rend les différents profils obtenus et les ribotypes correspondants reconnaissables à la taille des bandes obtenus sur le gel.

Tableau IV : Différents profils obtenus et ribotypes correspondants

Profils électrophorétiques obtenus	Ribotypes correspondant	Nombre d’individus par ribotype	Taille des bandes (Pb)
<i>B.pfeifferi</i> 1	A	12	290/137
<i>B.pfeifferi</i> 2	B	7	290/217/137
<i>B. camerunensis</i>	C	53	217/144
<i>I. exustus</i>	D	9	240/75

Les individus de l’espèce *B. pfeifferi* sont caractérisés par deux ribotypes différents A et B. Les individus de l’espèce *B. camerunensis* sont caractérisés par un seul ribotype C.

Le tableau V présente les différents ribotypes obtenus dans chaque population étudiée.

Tableau V : Différents ribotypes obtenus par population de mollusques

Ribotypes Populations	A	B	C	D	Total d'individus
Nkolbisson	3	2	0	0	5
Gounougou	9	1	0	0	10
Mokolo	4	0	0	0	4
Mounassi	0	0	6	0	6
Yana Messina	0	0	9	0	9
Kede	0	0	6	0	6
Sangmelima	0	0	26	0	26
Petpenoun	0	0	3	0	3
Etokos	0	0	0	9	9

Il permet de constater que le ribotype A est le plus fréquent parmi les individus analysés de l'espèce *B. pfeifferi*.

Le tableau VI présente les résultats généraux de l'identification des mollusques.

Tableau VI : Espèces de mollusques identifiées morphologiquement et par la PCR-RLFP

Populations	Morphologie		Analyse moléculaire		Profils observés
	Nombre examinés	Espèce	Nombre révélés sur gel d'agarose	Nombre révélés sur gel de polyacrylamide	
Nkolbisson	11	<i>B. pfeifferi</i>	8	5	<i>B. pfeifferi</i>
Gounougou	10	<i>B. pfeifferi</i>	10	10	<i>B. pfeifferi</i>
Mokolo	8	<i>B. pfeifferi</i>	7	4	<i>B. pfeifferi</i>
Total	29	<i>B. pfeifferi</i>	25	19	
Mounassi	10	<i>B. camerunensis</i>	9	6	<i>B. camerunensis</i>
Yana messina	9	<i>B. camerunensis</i>	9	9	<i>B. camerunensis</i>
Kede	18	<i>B. camerunensis</i>	8	6	<i>B. camerunensis</i>
Sangmelima	30	<i>B. camerunensis</i>	29	26	<i>B. camerunensis</i>
Petpenoun	25	<i>B. camerunensis</i>	8	3	<i>B. camerunensis</i>
Total	92	<i>B. camerunensis</i>	63	53	
Etokos	10	<i>Indoplanorbis exustus</i>	10	9	<i>Indoplanorbis</i>

Il ressort de ce tableau que l'analyse moléculaire de la région ITS2 a été réalisée avec succès et a permis de confirmer l'identification morphologique.

III-1-2. Système de reproduction des *Biomphalaria*

III-1-2-1. Quelques paramètres physico-chimiques des sites d'étude

Les individus de trois populations, une de *B. pfeifferi* (Etokos) et deux de *B. camerunensis* (Yana Messina et Mounassi), ont été maintenus en élevage pendant une période de 8 mois. La conductivité de l'eau du site d'Etokos a été de 162 Siemens et le pH de 7,12. Ces valeurs ont été de 230 Siemens, pH 7,30 et de 80 Siemens, pH 7,28 pour les sites de Mounassi et de Yana Messina respectivement. La conductivité de l'eau de source utilisée pour l'élevage est de 196 Siemens et le pH de 6,96 ; ces valeurs sont assez proches de celles enregistrées dans les sites naturels des mollusques.

III-1-2-2. Age à la maturité sexuelle

La maturité sexuelle est marquée par le dépôt des premières pontes. Le tableau VII donne la répartition au sein de chaque population, des nombres d'individus suivis, de ceux ayant émis des pontes, des individus morts ainsi que l'âge moyen à la maturité sexuelle des individus.

Tableau VII : Âge moyen à la maturité sexuelle relevé au bout de 8 mois de suivi chez les populations de mollusques

Populations	Nombre d'individus suivis	Nombre d'individus ayant pondus	Age à la maturité sexuelle			Nombre d'individus morts
			Min	Max	Moyenne (s)	
Etokos (<i>B.pfeifferi</i>)	92	92 (100%)	59	71	63,88 (3,027)	9 (10%)
Mounassi (<i>B.camerunensis</i>)	119	68 (57,1%)	60	175	112,32 (37,01)	16 (13,4%)
Yana Messina (<i>B.camerunensis</i>)	119	69 (58%)	60	175	103,72(36,65)	17 (14,3%)

La proportion de mollusques ayant émis des pontes est significativement plus élevée au sein de la population de *B. pfeifferi* (100,0%) que dans celles des populations de *B. camerunensis* ($X^2 = 50,66$; $p < 0,0001$). Cette proportion ne diffère pas significativement entre

les populations de *B. camerunensis*, celle de Mounassi (57,1%) et de Yana Messina (58%) ($X^2 = 0,02$; $p = 0,8875$).

La proportion de mollusques survivants et n'ayant pas pondu est significativement plus basse au sein de la population de *B. pfeifferi* (0,0%) que de celles des populations de *B. camerunensis* soit 27,7% et 29,4% pour Yana Messina et Mounassi respectivement ($X^2 = 30,24$; $p < 0,0001$). Cette proportion ne diffère pas significativement entre les populations de *B. camerunensis* de Mounassi et de Yana Messina ($X^2 = 0,08$; $p = 0,7773$).

La maturité sexuelle a été atteinte beaucoup plus tôt dans la population de *B. pfeifferi* comparée aux populations de *B. camerunensis* ($p < 0,0001$). Par contre, les individus des deux populations *B. camerunensis* atteignent la maturité sexuelle au même âge ($p = 0,277$).

III-1-2-3. Fécondité, taux d'éclosion, temps d'incubation et survie des mollusques en régime d'autofécondation

La fécondité est évaluée en fonction du nombre de pontes émises par individu et du nombre d'œufs contenus dans ces pontes. Le temps d'incubation représente le temps de maturation des embryons dans l'œuf et le taux d'éclosion la proportion d'individus qui sortent des œufs. Les résultats présentés ici sont ceux des populations d'Etokos pour l'espèce *B. pfeifferi* (tableau VIII) et de Yana Messina pour l'espèce *B. camerunensis* (tableau IX).

Chez l'espèce *B. pfeifferi*, tous les individus isolés ont émis des pontes (100%) au cours des 32 semaines d'expérimentation. Par contre, seulement une partie des individus isolés de l'espèce *B. camerunensis* ont émis des pontes (58,0 %). Le nombre moyen de pontes déposées par les deux espèces de *Biomphalaria* est similaire ($t = -0,057$; $p = 0,95$) tandis que le nombre moyen d'œufs est plus élevé chez les individus de l'espèce *B. pfeifferi* comparés à ceux de *B. camerunensis* ($t = -11,992$; $p < 0,0001$). Le temps d'incubation des œufs est similaire entre les deux espèces ($p = 0,417$), cependant, le taux d'éclosion est significativement plus élevé chez *B. pfeifferi* ($492/564 = 87,2\%$) que chez *B. camerunensis* ($229/333 = 68,8\%$) ($X^2 = 5,07$; $p = 0,0243$). Les taux moyens de survie des descendants G2 autofécondés sont meilleurs chez l'espèce *B. camerunensis* comparés à *B. pfeifferi*.

Tableau VIII: Paramètres de la fécondité et de la survie avant et après l'accouplement chez *Biomphalaria pfeifferi* d'Etokos et *Biomphalaria camerunensis* de Yana Messina

Paramètres	<i>B. pfeifferi</i>			<i>B. camerunensis</i>		
	Auto-fécondation	Allofécondation	Valeur de P	Auto-fécondation	Allofécondation	Valeur de P
Effectifs d'individus G1 suivis	35	34		30	30	
Nombre moyen de pontes/individu	19,03 (4,084)	19,35 (3,733)	0,732	18,90 (12,634)	27,94 (11,940)	0,010*
Nombre moyen d'œufs/ponte	363,17 (66,038)	366,56 (72,931)	0,840	121,20 (95,785)	315,17 (183,767)	<0.0001*
Nombre total de pontes suivis	32	30		36	42	
Temps d'incubation moyen de ces pontes (Jours)	9,56 (0,504)	9,43 (0,848)	0,202	10,03 (1,683)	8,21 (0,871)	<0.0001*
Pourcentage d'éclosion de ces pontes (IC à 95%)	87.2 (84,2-89,7)	92.3 (89,5-94,4)	0,5323	68,8 (63,6-73,5)	92,3 (89,9-94,3)	<0,0049*
Nombre de pontes incubées	30	30		36	36	
Taux de survie à J8 (IC à 95%)	72,6 (68,4-76,5)	67,4 (62,8-71,6)	0,0848	94,3 (90,5-96,6)	82,5 (78,8-85,7)	0,0001*
Taux de survie à J16 (IC à 95%)	64,2 (59,7-68,5)	50,1 (45,5-54,8)	0,0001*	85,5 (80,4-89,5)	79,7 (75,9-83,2)	0,648
Taux de survie à J30 (IC à 95%)	54,1 (49,5-58,6)	39,2 (34,8-43,9)	0,0001*	82,5 (77,0-86,9)	76,7 (72,7-80,3)	0,0838

Légende : Les valeurs sont données avec leur écart-type ou leur intervalle de confiance à 95% entre parenthèses.

III-1-2-4. Fécondité, taux d'éclosion, temps d'incubation et survie des mollusques en régime d'allofécondation

Chez *B. pfeifferi* le nombre de pontes et le nombre d'œufs restent similaires après les copulations. Chez *B. camerunensis*, le nombre moyen de pontes est significativement plus élevé ($t=3,51$; $p=0,001$) après les copulations. On note chez cette espèce une augmentation nette de la production en œufs pendant les 6 jours qui suivent la copulation (figure 17) avant de décroître. Une régression linéaire a été effectuée pour vérifier si la fécondité est liée au nombre de copulations chez *B. camerunensis*. Aucun lien significatif avec le nombre de pontes ($r=0,225$; $p=0,233$) ni avec le nombre d'œufs ($r = 0,221$; $p = 0,241$) n'a été trouvé, le nombre de copulations n'a pas aussi été statistiquement différent entre les individus testés (Kolmogorov-Smirnov, $KS=0,802$; $p=0,541$). Le nombre moyen d'œufs pondus est similaire entre les deux espèces ($t=-1,435$; $p=0,160$). Le temps d'incubation des œufs est plus court chez *B. camerunensis* (8 jours) comparé à *B. pfeifferi* (9 jours) mais les taux d'éclosion des œufs issus de l'allofécondation demeurent similaires entre les deux espèces, soit 92,32% (531/575) chez *B. camerunensis* et 92,27% (442/479) chez *B. pfeifferi* ($X^2=0$; $p=1$). L'analyse des courbes de survie (figure 15) montre que les taux moyens de survie sont meilleurs chez l'espèce *B. camerunensis*. Ces courbes révèlent une forte mortalité à J2 après éclosion avec une décroissance continue de cette mortalité jusqu'à J12 avant la stabilisation vers J16. Une corrélation positive entre la mortalité et la densité des mollusques dans les boîtes d'élevage a été retrouvée à J8 ($r=0,625$; $p < 0,0001$) à J14 ($r=0,620$; $P < 0,0001$) et à J30 ($r=0,719$; $P < 0,0001$).

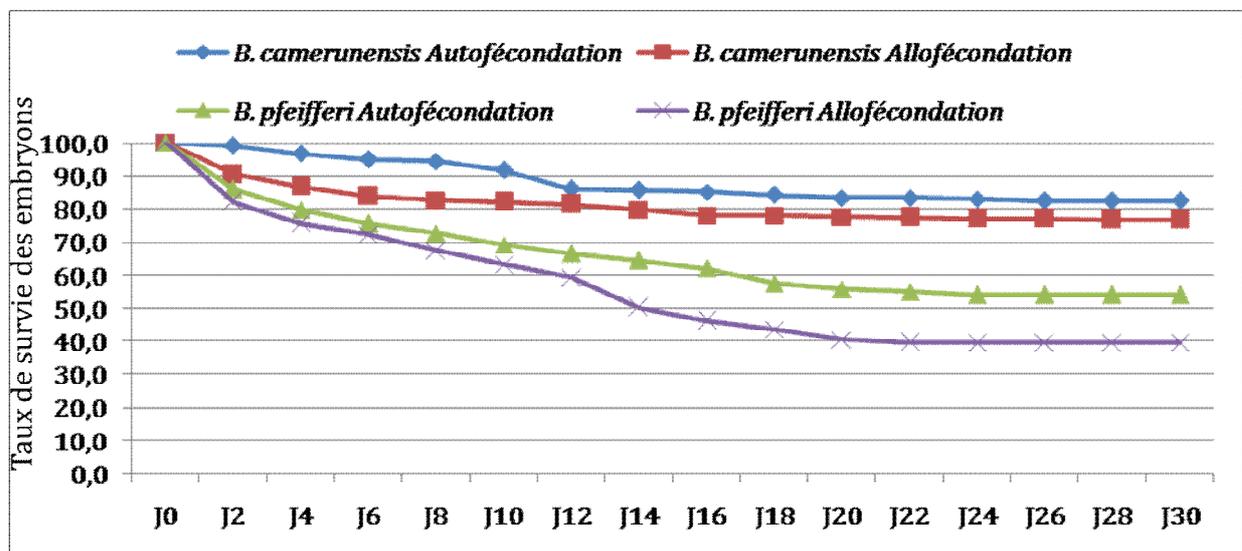


Figure 15 : Courbes de survie des différentes espèces de mollusques en fonction des types de fécondation pendant un mois.

III-1-2-5. Comparaison entre les deux traitements et dépression d'autofécondation

Chez *Biomphalaria pfeifferi*, les nombres moyens de pontes ont été similaires chez les individus isolés ($19,03 \pm 4,08$) et chez les individus accouplés ($19,35 \pm 3,73$) ($t=-0,344$; $p=0,732$) (tableau VIII).

La figure 16 présente la dynamique des pontes chez *B. pfeifferi* et révèle également que les nombres moyens d'œufs n'ont pas différé dans les deux traitements ; $363,17 \pm 66,04$ œufs en autofécondation et $366,56 \pm 72,93$ œufs en allofécondation ($t=-0,202$; $p=0,84$). Le temps d'incubation des œufs est d'environ 9 jours dans les deux traitements ($P=0,202$). Le taux d'éclosion des embryons semble plus élevé en allofécondation mais la différence n'est pas significative entre les deux traitements. Les taux de survie entre les descendants G2 d'individus isolés G1 et les descendants G2 d'individus croisés G1 sont similaires à J8 ($X^2=3,0$; $p=0,08$) ; des différences significatives ont été trouvées à J16 ($X^2= 18,2$; $p <0,0001$) et à J30 ($X^2= 19,81$; $p <0,0001$), les descendants d'individus isolés présentant une meilleure survie que ceux d'individus croisés.

Chez *B. camerunensis*, les nombres moyens de pontes et le nombre moyen d'œufs ont été significativement plus faibles chez les descendants d'individus isolés comparés aux descendants d'individus croisés ($p <0,01$) (figure 17). Le taux d'éclosion des œufs a été significativement plus élevé avec les œufs pondus par les individus croisés (92,3%) comparés à celui d'individus autofécondés (68,8%) ($X^2=7,9$; $p=0,005$) comme en témoigne la stratification du taux d'éclosion chez *B. camerunensis* (figure 18). Le taux de survie des descendants G2 d'individus isolés G1 à J8 a été significativement plus élevé que celui des descendants G2 d'individus croisés G1 ($X^2= 18,0$; $p= 0,0001$) et en général la survie est meilleure dans les deux modes de reproduction chez l'espèce *B. camerunensis* comparé à *B. pfeifferi*.

Les valeurs de dépression d'autofécondation, calculées en utilisant celles de la survie à J0 (dans le but de minimiser l'effet de la densité des juvéniles) et celles à J30, ont été plus élevées chez l'espèce *B. camerunensis* ($d=0,71$ et $d=0,53$ respectivement) que chez l'espèce *B. pfeifferi* ($d=0,06$ et $d= -0,26$ respectivement). Ces résultats nous permettent de conclure que le système de reproduction est de l'allofécondation chez *B. camerunensis* et de l'autofécondation chez *B. pfeifferi*.

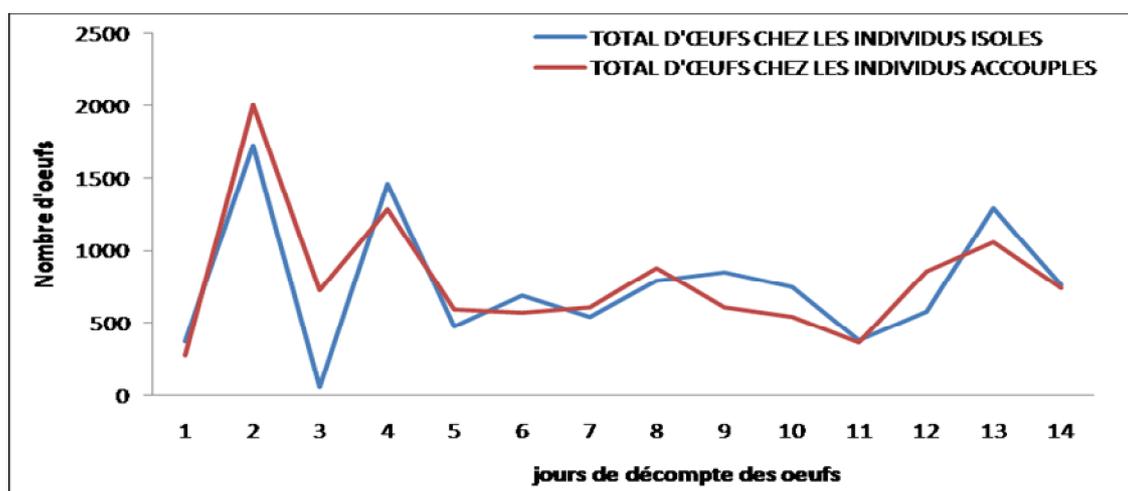


Figure 16 : Dynamique des pontes chez *Biomphalaria pfeifferi*

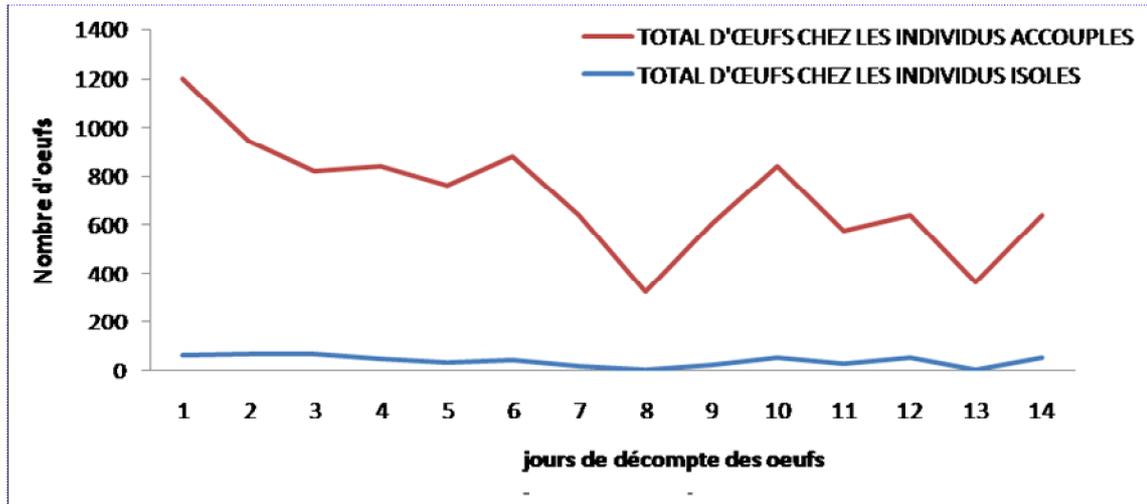


Figure 17 : Dynamique des pontes chez *Biomphalaria camerunensis*

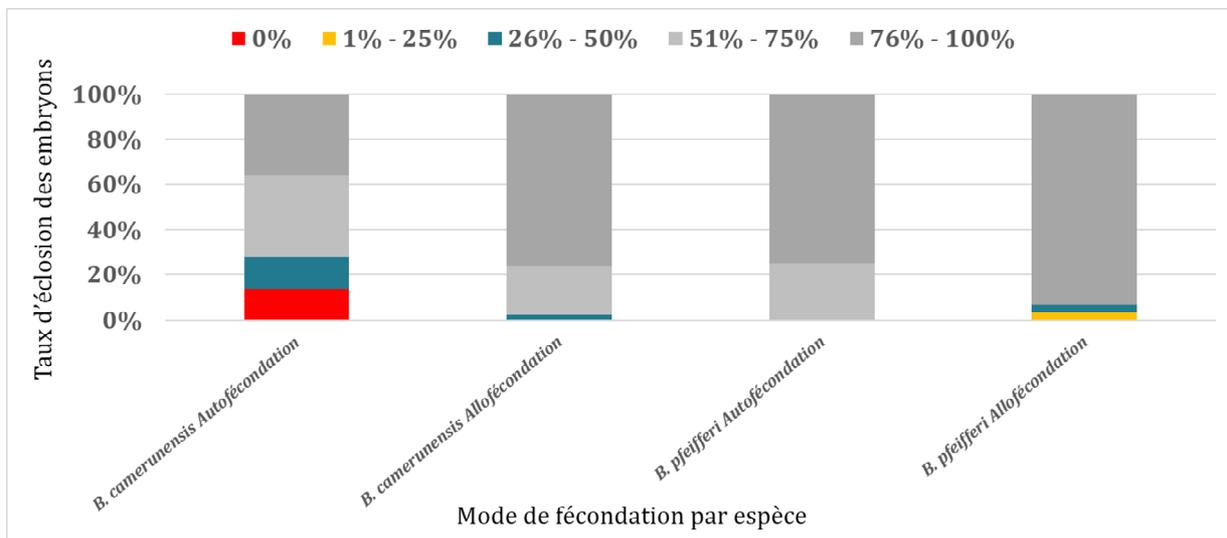


Figure 18 : Stratification du taux d'éclosion en fonction du type de fécondation chez les deux espèces de *Biomphalaria*

III-1-3. Comportement copulatoire des *Biomphalaria*

L'observation des couples constitués pendant 3 jours montre qu'en général l'activité copulatoire chez ces deux espèces de mollusques se fait aisément et rapidement, dès que les individus sont mis en présence de partenaires sexuels. Chez les deux espèces, les individus ont présenté un comportement copulatoire stéréotypé et bien élaboré (figure 19).

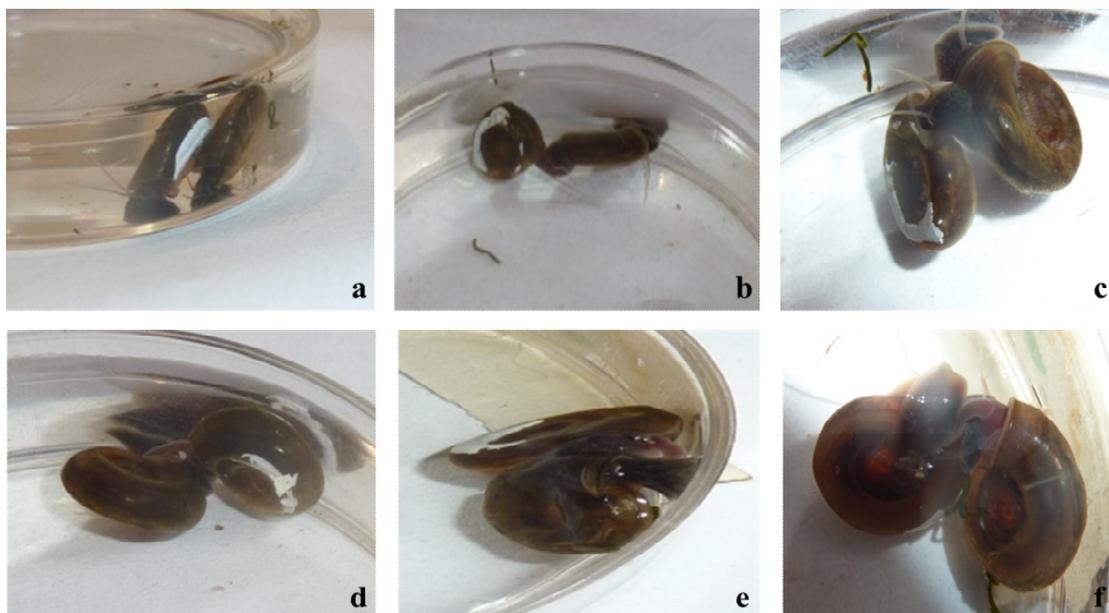


Figure 19 : Différentes phases de la copulation chez les deux espèces de *Biomphalaria*

Légende : **a** : poursuite et montage ; **b** : cerclage ; **c** : positionnement ; **d** : éversion du préputium; **e** : sondage ; **f** : intromission.

Deux phases ont pu être distinguées pendant la copulation : la phase d'activité pré-copulatoire et celle de copulation. Durant la première phase l'individu jouant le rôle mâle poursuit sa partenaire (figure 19a) ; il monte sur sa coquille puis tourne plusieurs fois autour d'elle (Figure 19b). Ensuite, il se dirige vers l'ouverture de la coquille où il se fixe par sa sole de reptation, de telle sorte que les têtes des deux partenaires soient orientées du même côté (figure 19c). Une agitation des tentacules et leurs croisements intermittents peuvent être observés chez les deux partenaires ; ce comportement laisse penser à une stimulation chimique par une émission de sécrétions des glandes tentaculaires comme décrit précédemment chez un autre Planorbidae *Segmentina oelandica* (Soldatenko & Petrov, 2009). 'Le mâle' évagine son préputium (figure 19d) et cherche l'orifice vaginal de 'la femelle' (figure 19e). A ce moment, l'individu jouant le rôle de femelle allonge son corps et expose ainsi son orifice vaginal sous sa coquille ; le 'mâle' y introduit son préputium et l'insémination commence (figure 19f). Cette intromission du préputium dans l'orifice vaginal, lorsque la bonne position est atteinte, représente la phase de copulation. Initialement le préputium évaginé est de couleur blanchâtre mais durant la copulation il devient rouge ce qui indique le flux d'hémolymphe à travers l'organe copulateur et sa disposition à transmettre l'allosperme ; à ce moment également des contractions vigoureuses du corps de l'individu insémineur sont observables. Durant cette phase de copulation 'la femelle' est fixée à un substrat (les bords de la boîte ici) soit la paire d'individus flotte à la surface de l'eau, leurs coquilles étant fermement attachées.

Après la phase copulatoire, ‘le mâle’ rétracte son préputium, descend de la coquille de la ‘femelle’ et s’en éloigne. Très souvent les individus changent de rôle après la première copulation, la copulation est alors dite réciproque. Ainsi, dans chaque couple, la fréquence des individus qui échangent de rôles sexuels après la première copulation (65,8%; IC 95%: 49,9% - 78,8%) a été significativement plus élevée que celle des individus copulant uniquement comme ‘mâle’ ou comme ‘femelle’ (34,2%; IC 95%: 21,2% - 50,1%) ($p=0,006$). Chez *B. camerunensis*, un autre type de copulation a été observé : la copulation réciproque simultanée caractérisée par des inséminations simultanées des deux partenaires qui jouent au même moment les rôles de ‘mâle’ et ‘femelle’. Dans ce type de copulation, les deux partenaires sont attachés/ fixés par leur pied sur la paroi de la boîte et les parties basales de leur coquille font face l’une à l’autre. Le partenaire actif évagine son préputium avant le partenaire passif. Lorsque les deux préputiums sont évaginés, chaque partenaire cherche le gonopore femelle de son vis-à-vis et les intromissions mutuelles se déroulent simultanément. La fréquence de ce phénomène a été faible et a représenté 1,5% et 10,0% du nombre total de copulations reportées chez les individus de Yana Messina et Mounassi respectivement.

Le nombre moyen de copulations est similaire dans les deux populations de *B. camerunensis* de Yana Messina et Mounassi ($p = 0,367$) mais significativement plus élevé dans chacune de ces deux populations de *B. camerunensis* comparés aux moyennes de *B. pfeifferi* ($p < 0,0001$) (tableau IX).

Nous avons enregistré un nombre similaire de copulations comme ‘mâle’ ou comme ‘femelle’ aussi bien chez *B. camerunensis* ($p = 0,377$) que chez *B. pfeifferi* ($p = 0,066$). La durée de la copulation a été longue chez les deux espèces, se terminant 30 min à 2 heures (moyenne : 1,27; Ecart type : 0,30), et 1 à 5 heures (moyenne : 2,33; Ecart type : 1,70) chez *B. pfeifferi* et *B. camerunensis*, respectivement.

Tableau IX : Nombre moyen de copulations par population de mollusques

Espèces	Populations	No couples	Nombre de copulations					
			Min	Max	Moy	s	IC 95% à la moyenne	
							Limite inférieure	Limite supérieure
<i>B. camerunensis</i>	Yana Messina	15	2	7	4,60	4,60	3,88	5,32
<i>B. camerunensis</i>	Mounassi	15	2	7	4,27	4,27	3,59	4,94
<i>B. pfeifferi</i>	Nkolbisson	15	0	4	1,53	1,53	0,88	2,19

No. : Nombre de ; s : Ecart type ; IC 95% : intervalle de confiance à 95%.

III-1-4. Temps d'attente chez l'espèce *Biomphalaria camerunensis*

Cette étude a été initiée pour vérifier l'existence et mesurer le temps d'attente chez les individus de l'espèce *B. camerunensis* qui ont 'refusé' de se reproduire en isolement. Pour cela nous avons comparé la reproduction des individus soumis à deux types de traitements T1 (isolement) et T3 (accouplement).

Le tableau XI résume les résultats de cette observation qui révèlent que près de la moitié des individus isolés (42,31%) préfèrent ne pas se reproduire en absence de partenaire sexuel. Ces individus se reproduisent en moyenne plusieurs semaines plus tard que les individus fréquemment exposés à des partenaires. La différence entre les âges moyens à maturité sexuelle des individus isolés (T1) et ceux accouplés (T3), qui constitue le temps d'attente, est d'environ 32 jours et significative ($U= 18,0 ; p < 0,0001$). Le taux de mortalité observé chez les individus isolés (13,33%) est relativement plus élevé que celui observé (7, 77%) chez les individus accouplés.

Tableau X : Temps d'attente chez les individus de l'espèce *Biomphalaria camerunensis*

Traitements expérimentaux	No. mollusques suivis	No. survivants (%)	No. individus ayant atteint la maturité sexuelle	Age moyen à la première reproduction (s)
T3 (Individus accouplés)	30	28(93,33%)	28	138,22 jours (10,863)
T1 (Individus isolés)	30	26 (86,67%)	15	170,6 jours (11,293)

Temps d'attente : 32,39 jours

No. : Nombre de ; s : Ecart type

III-1-5. Paramètres de la susceptibilité des populations de *Biomphalaria pfeifferi* et *Biomphalaria camerunensis* vis-à-vis de *Schistosoma mansoni*

Les tests de compatibilité *Biomphalaria* sp. / *Schistosoma mansoni* ont porté sur un total de 827 mollusques dont 344 *B. pfeifferi* et 483 *B. camerunensis*. Les résultats sont présentés au tableau XII.

Tableau XI : Résultats de l'infestation par *Schistosoma mansoni* des deux espèces de mollusques.

Espèces	Populations	Période Prepatente						Période Patente		
		EME	EMS	TM (%)	EMP	TRI (%)	Pp	EMS	NSP	TM (%)
B. <i>pfeifferi</i>	Nkolbisson	164	157	4,3	125	79,6	21-25	115	110	29,9
	Gounougou	92	90	2,2	40	44,4	25-32	66	22	28,3
	Mokolo	88	80	2,3	36	41,9	25-40	50	6	43,2
	Total	344	327	4,9	201	61,5		231	138	32,8
B. <i>camerunensis</i>	Yana Messina	91	90	1,1	4	4,4	34-36	63	4	30,8
	Mounassi	96	93	3,1	5	5,4	34-40	78	4	18,8
	Kede	92	87	5,4	5	5,7	34-40	75	4	18,8
	Sangmelima	99	97	2,0	0	0,0	0	81	0	18,2
	Petponoun	105	105	0,0	23	21,9	28-32	21	8	80,0
Total	483	472	2,3	37	7,8		318	20	34,2	

Légende : **EME**= Effectif de mollusques exposés à l'infestation, **EMS**= Effectif de mollusques survivants, **TM**= Taux de mortalité, **EMP**= Effectif de mollusques parasités émetteurs de cercaires, **TRI**= Taux de réussite de l'infestation, **Pp**= Période prépatente, **NSP**= Nombre de mollusques survivants parasités.

III-1-5-1. Taux de réussite de l'infestation des mollusques

Les valeurs des taux de réussite de l'infestation ont été très hétérogènes. En effet, elles diffèrent les unes des autres entre les différentes populations infestées, aussi bien chez *B. pfeifferi* que chez *B. camerunensis* ($P < 0,01$).

Chez l'espèce *B. pfeifferi*, toutes les trois populations exposées ont été sensibles au parasite (figure 20). Le taux de réussite de l'infestation le plus élevé (79,6%) a été obtenu dans la souche d'origine du parasite (Nkolbisson). Il est significativement différent de ceux obtenus dans les populations allopatriques de Gounougou ($X^2=31,91$; $P < 0,0001$) et de Mokolo ($X^2=35,43$; $P < 0,0001$).

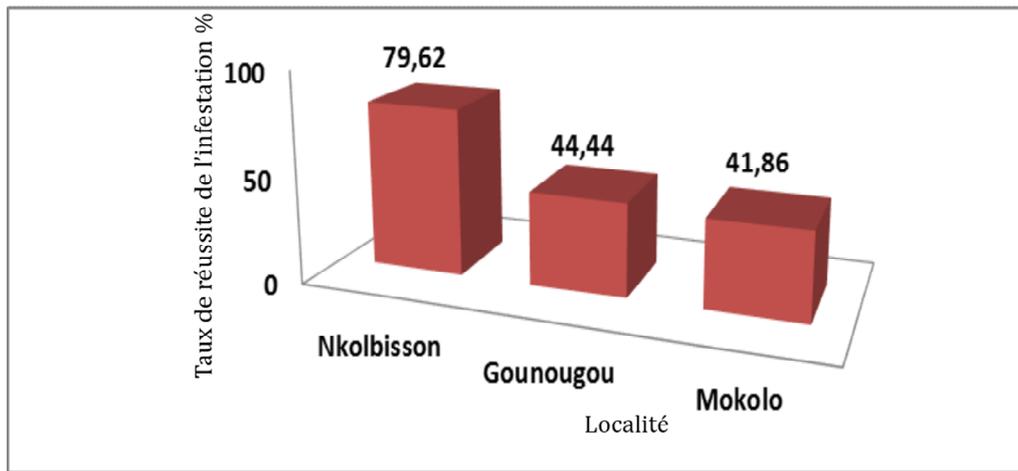


Figure 20 : Taux de réussite de l'infestation chez *Biomphalaria pfeifferi*

Chez *B. camerunensis*, quatre populations sur cinq ont été sensibles à *S. mansoni* (figure 21). Le taux d'infestation le plus important (21,9%) a été obtenu dans la population de Petpenoun. Il est significativement différent de ceux obtenus dans les populations de Yana Messina ($X^2=12,39$; $P<0,0004$), Mounassi ($X^2=11,10$; $P<0,0009$) et Kede ($X^2=9,97$; $P<0,0016$).

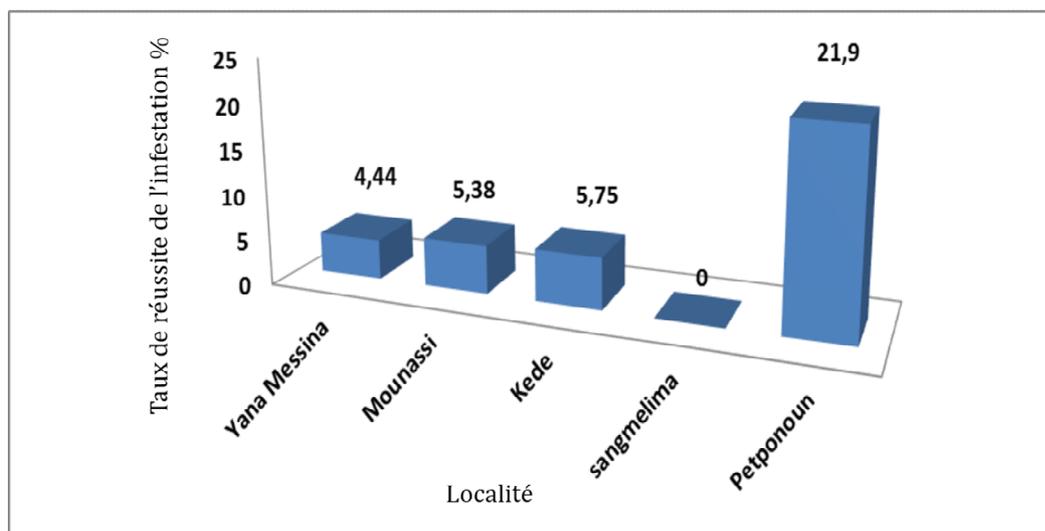


Figure 21 : Taux de réussite de l'infestation chez *Biomphalaria camerunensis*

La comparaison dans l'ensemble des taux de réussite de l'infestation entre les deux espèces montre qu'il est plus élevé chez *B. pfeifferi* soit 61,5% que chez *B. camerunensis* soit 7,8% ($X^2=258,88$; $P<0,0001$) (figure 22).

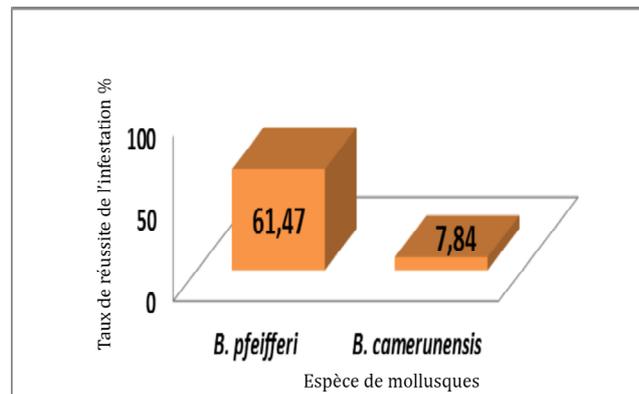


Figure 22 : Moyennes des taux de réussite de l'infestation chez les deux espèces de mollusques

III-1-5-2. Taux de mortalité des mollusques

A la fin de la période de prépatence, le taux de mortalité a été de 4,9% et de 2,3% chez *B. pfeifferi* et *B. camerunensis* respectivement (tableau XII). Cette valeur ne diffère pas significativement entre les deux espèces ($X^2= 0,200$; $P = 0,655$) et entre les populations ($X^2= 8,700$; $P = 0,191$). Durant la période de patence, une hausse du taux de mortalité a été observée au sein des différentes populations. Il est resté cependant similaire entre les deux espèces ($X^2= 0,359$; $P= 0,549$) mais très variable entre les différentes populations de mollusques aussi bien de *B. pfeifferi* ($X^2= 10,496$; $P<0,033$) que de *B. camerunensis* ($X^2= 144,519$; $P<0,0001$) (tableau XII). Une hausse significative de la mortalité des individus positifs à l'infestation a été observée dans la population de Mokolo ($X^2= 15,16$; $P<0,0001$) et celle de Petpenoun ($X^2= 4,56$; $P=0,0327$) comparée à celle des individus positifs à l'infestation de la population de Nkolbisson, sympatrique au parasite.

III-1-5-3. Durée de la période prépatente

La durée de la période prépatente varie de 21 à 40 jours et de 34 à 40 jours pour *B. pfeifferi* et *B. camerunensis*, respectivement (tableau XII). Elle diffère significativement entre les deux espèces ($P<0,0001$) et entre les populations de l'espèce *B. pfeifferi* ($X^2= 129,327$; $P<0,0001$) (figure 23). Chez l'espèce *B. camerunensis*, cette durée est similaire entre trois populations (Yana-Messina, Mounassi et Kede) ($X^2=0,39$; $P=0,821$) mais est significativement plus basse chez celle de Petpenoun ($X^2=28,202$; $P<0,001$) (figure 23). La durée de la période de prépatence a été négativement corrélée au taux de réussite de l'infestation ($r_{\text{spearman}}= -0,847$; $P=0,016$).

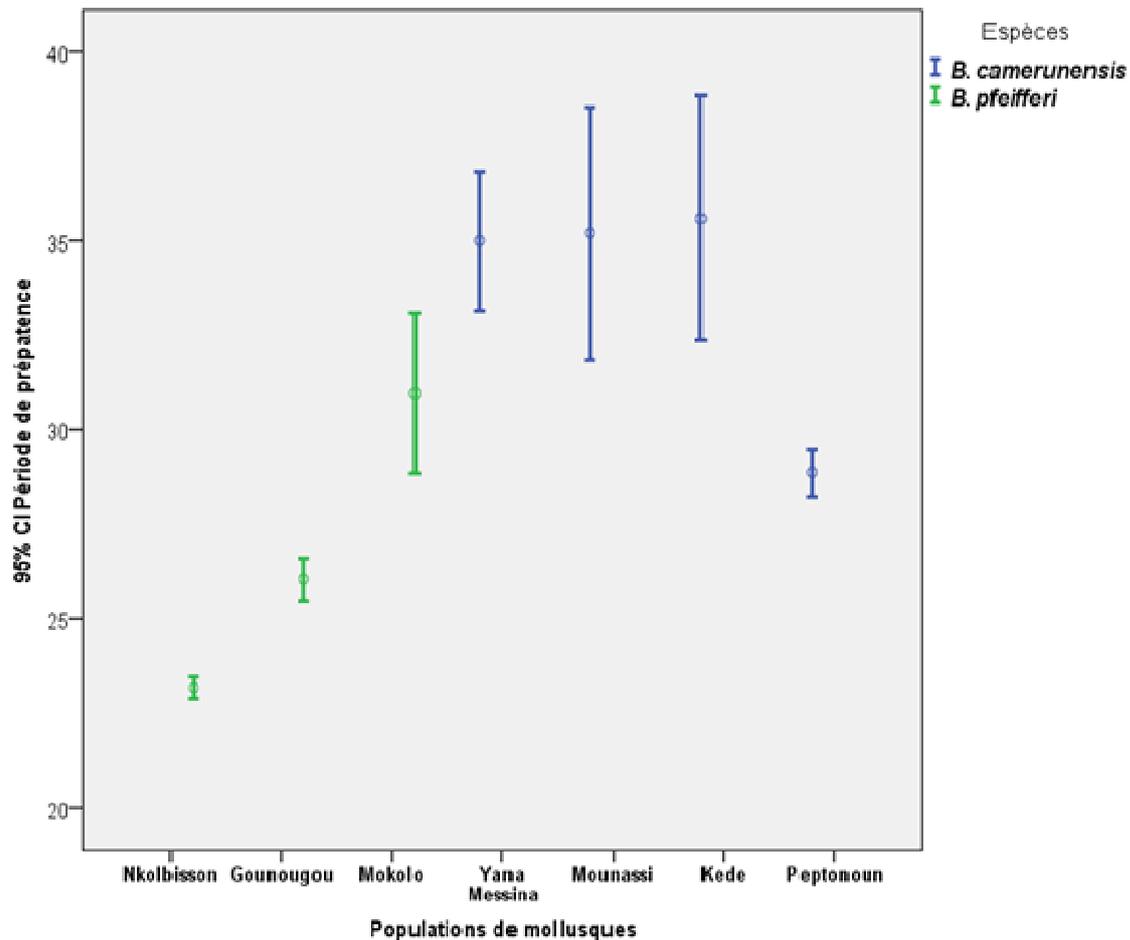


Figure 23 : Durée de la période prépatente chez les deux espèces de mollusques

III-1-5-4. Production cercarienne

Le tableau XIII récapitule les données de production cercarienne des deux espèces de mollusques. Elle est similaire chez les deux espèces de mollusques au jour 1 ($P=0,158$) mais significativement plus importante chez *B. camerunensis* à partir du Jour 2 ($P=0,001$) (figure 24). Nous avons observé la présence des mollusques infestés de l'espèce *B. pfeifferi* qui ont survécu près de huit mois après l'exposition tout en continuant d'émettre des cercaires (« super-survivants »). Les valeurs moyennes de production cercarienne journalière obtenues chez les couples *B. camerunensis*/*S. mansoni* et *B. pfeifferi*/*S. mansoni* sont respectivement de 2043 et de 1074 cercaires. Globalement, la production cercarienne sur les cinq jours de suivi a été significativement plus élevée chez *B. camerunensis* que chez *B. pfeifferi* ($P = 0,001$).

Tableau XII : Production cercarienne de *Biomphalaria pfeifferi* de Nkolbisson et *Biomphalaria camerunensis* de Petpenoun pendant les 5 jours de suivi

Date de suivi		N	Production cercarienne			Valeur de P
			Min	Max	Moy (Ecart-type)	
Jour 1	<i>B. pfeifferi</i>	16	50	3874	1376,50 (906,250)	<i>P</i> = 0,158
	<i>B. camerunensis</i>	8	850	4900	2143,38 (1381,248)	
Jour 2	<i>B. pfeifferi</i>	16	8	1288	588,81 (419,114)	<i>P</i> = 0,001
	<i>B. camerunensis</i>	8	520	2676	1879,00 (639,656)	
Jour 3	<i>B. pfeifferi</i>	16	8	2380	1086,13 (542,063)	<i>p</i> = 0,001
	<i>B. camerunensis</i>	8	1208	2564	2063,13 (404,921)	
Jour 4	<i>B. pfeifferi</i>	16	12	2160	1074,25 (634,761)	<i>p</i> = 0,008
	<i>B. camerunensis</i>	8	1012	2564	1916,50 (564,413)	
Jour 5	<i>B. pfeifferi</i>	16	40	2068	1245,44 (514,071)	<i>p</i> = 0,001
	<i>B. camerunensis</i>	8	1040	2780	2212,88 (538,898)	
Total	<i>B. pfeifferi</i>	16	23,6	1925,6	1074,23 (454,384)	<i>p</i> = 0,001
	<i>B. camerunensis</i>	8	1073,6	2633,6	2042,98 (485,171)	

N: Nombre d'individus suivis; Min: minimum; Max: maximum

La figure 24 présente de façon imagée cette production cercarienne chez les deux espèces.

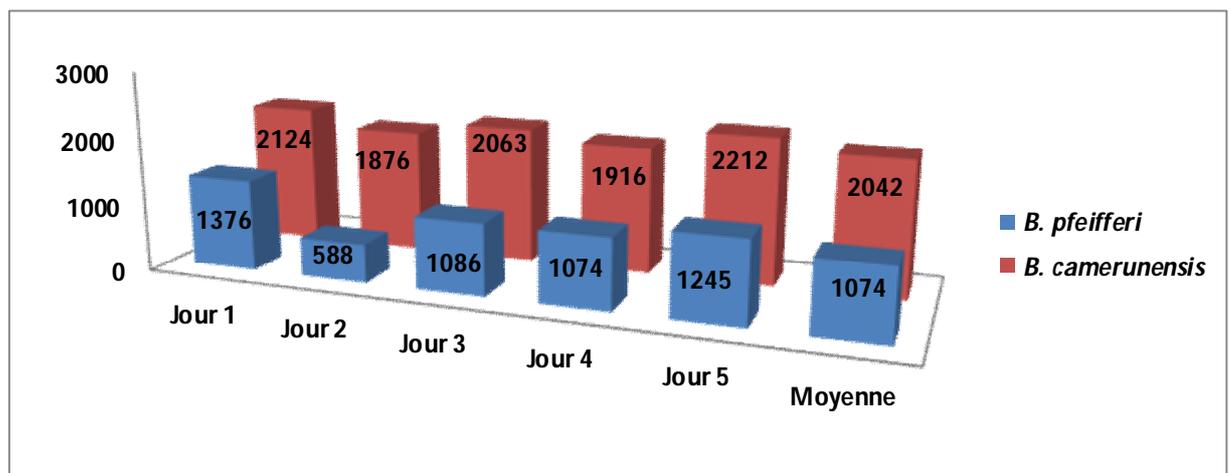


Figure 24 : Production cercarienne chez les deux espèces de mollusques.

III-1-5-5. Chronobiologie cercarienne

La courbe de production cercarienne moyenne journalière de *S. mansoni* par les individus de *B. camerunensis* présentée à la figure 25 révèle un rythme d'émission circadien. L'émission cercarienne commence avant 7h du matin et croît progressivement pour atteindre le pic entre 10h et 11h. Cette émission décroît ensuite de façon discontinue jusqu'à 19h mais ne s'annule pas. L'émission cercarienne de *S. mansoni* par les individus de *B. pfeifferi* au soleil a également montré un rythme similaire (Mimpfoundi *et al.*, 1983).

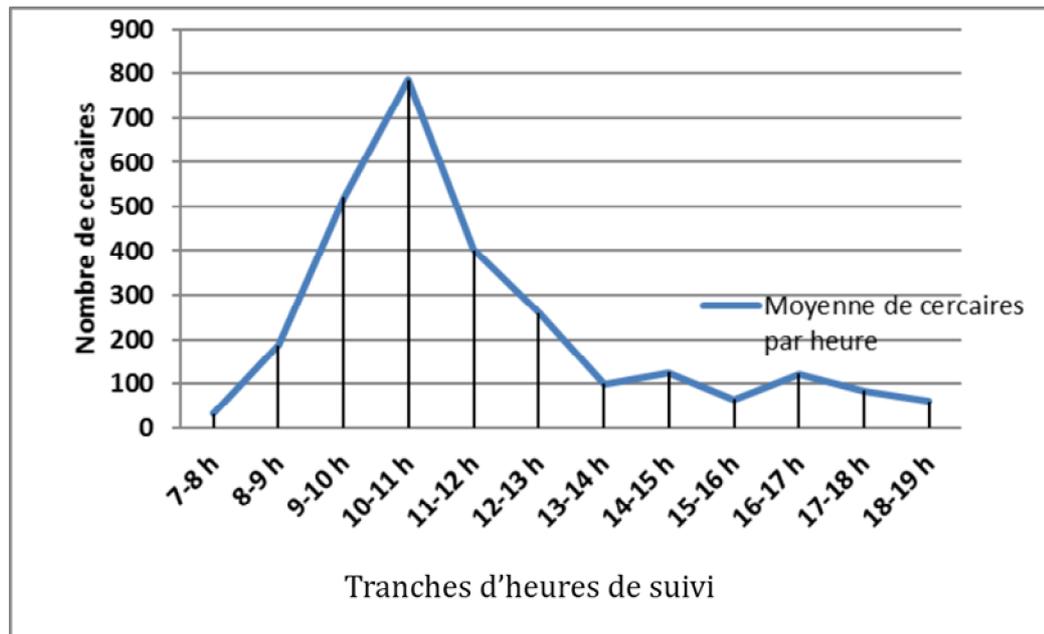


Figure 25 : Courbe du nombre moyen de cercaires de *Schistosoma mansoni* émises par heure par des individus de *Biomphalaria camerunensis*.

III-1-6. Effet du parasitisme de *Schistosoma mansoni* sur la croissance et la fécondité de *Biomphalaria pfeifferi*

III-1-6-1. Effet du parasitisme sur la croissance des mollusques

Les tableaux XIV et XV résument les observations faites sur l'effet du parasitisme sur la taille des mollusques à différentes dates. Les mollusques suivis sont les mêmes du début de l'expérience à la fin. Au début de l'expérience, c'est-à-dire à un mois d'âge de vie, l'observation montre que la taille ne diffère pas significativement entre les mollusques ($p=0,472$) suggérant une homogénéité des deux groupes expérimentaux. La taille reste similaire dans les deux groupes à l'âge de trois mois. Au cinquième mois d'âge, la taille diffère significativement entre les deux groupes et ce en faveur des mollusques témoins. Lorsqu'on compare le gain de taille entre les différents mois d'âge, on se rend compte que le gain de taille est significativement important chez les mollusques témoins

entre le premier et le cinquième mois ($P= 0,012$) et entre le troisième et cinquième mois d'âge ($P=0,017$).

Tableau XIII : Taille des mollusques témoins (1) et des mollusques infestés (2) en fonction de leur âge

Age des mollusques	Groupes	N	Taille des mollusques			IC à 95% de la Moyenne		P
			Min	Max	Moy (s)	Borne inférieure	Borne Supérieure	
M1	1	3	2,5	4,5	3,453 (0,600)	3,244	3,662	0,47
		4						
	2	3	2,5	4,5	3,562 (0,538)	3,383	3,742	
		7						
M3	1	3	8,0	9,5	8,655 (0,457)	8,487	8,822	0,22
		1						
	2	2	6,0	11,0	8,414 (0,992)	8,037	8,791	
		9						
M5	1	2	10,0	13,0	11,404 (0,837)	11,066	11,742	0,00
		6						
	2	1	9,0	13,5	10,594 (1,114)	10,000	11,187	
		6						

Légendes : 1 et 2 désignent respectivement les groupes de mollusques témoins et infestés. **M1, M3, M5** désignent respectivement le premier mois, le troisième mois et le cinquième mois d'âge des mollusques.

Tableau XIV : Gain de taille entre mollusques témoins (1) et mollusques infestés (1)

Période	Groupes	N	Taille des mollusques			IC à 95% de la Moyenne		P
			Min	Max	Moy	Borne inférieure	Borne Supérieure	
M1- M3	1	34	4,0	6,5	5,206 (0,721)	4,942	5,471	0,190
		2						
	2	37	3,0	6,5	4,879 (0,773)	4,585	5,173	
M1 - M5	1	31	6,2	10,0	7,831 (0,996)	7,428	8,233	0,012
		2						
	2	29	6,0	9,0	6,988 (0,932)	6,491	7,484	
M3 - M5	1	26	1,0	4,8	2,738 (0,842)	2,398	3,079	0,017
		2						
	2	16	1,0	4,8	2,188 (0,947)	1,683	2,692	

III-1-6-2. Effet du parasitisme sur la fécondité des mollusques

Au cours de l'expérience, seulement 3,13% (1/32) d'individus sont morts parmi les mollusques témoins tandis que chez les mollusques parasités, 78,43% (40/51) individus sont morts avant la fin de l'expérience. Ce résultat suggère que le parasite affecte grandement la survie des mollusques parasités. L'âge moyen du début de ponte dans les deux lots est similaire ($P=0,158$) mais chez les mollusques parasités certains mollusques pondent très tôt, à l'âge de 51 jours et d'autres très tard à l'âge de 87 jours. Le taux d'oviposition est de 100% (32/32), chez les mollusques témoins que chez les mollusques parasités soit 11,77% (6/51). Près de 90% des individus infestés ont subi une castration parasitaire et parmi eux, 4 individus ont survécu au-delà de 25 semaines (environ 6 mois d'âge) jusqu'à atteindre la 36^{ème} semaine (environ 8,5 mois d'âge) pour l'un deux. Ces observations traduisent un effet négatif du parasitisme à *S. mansoni* sur la fécondité. Les résultats de cette partie sont résumés dans le tableau XVI.

Tableau XV : Effet du parasitisme sur la ponte d'oeufs chez *Biomphalaria pfeifferi*

Periode d'évaluation	Groupes	N	Nombre d'œufs émis			Test de Mann-Whitney	P
			Min	Max	Moyenne (S)		
Age début ponte	1	32	60	62	60,50 (0,762)	64,0	0,158
	2	6	51	87	63,17 (18,093)		
Semaine 1	1	32	0	0	0,00 (0,000)	816,0	1,0
	2	51	0	0	0,00 (0,000)		
Semaine 2	1	32	0	0	0,00 (0,000)	656,0	0,085
	2	45	0	29	1,58 (5,983)		
Semaine 3	1	32	0	19	5,91 (5,816)	156,0	<0,0001
	2	39	0	0	0,00 (0,000)		
Semaine 4	1	32	18	105	60,56 (25,580)	0,0	<0,0001
	2	32	0	0	0,00 (0,000)		
Semaine 5	1	32	0	112	51,66 (28,488)	40,5	<0,0001
	2	27	0	0	0,00 (0,000)		
Semaine 6	1	32	35	157	81,06 (29,621)	0,0	<0,0001
	2	24	0	26	1,46 (5,540)		
Semaine 7	1,00	32	4	132	70,63 (28,239)	2,0	<0,0001
	2,00	18	0	18	1,00 (4,243)		
Semaine 8	1,00	32	2	91	40,75	4,0	<0,0001
	2,00	13	0	14	1,08		
Semaine 9	1,00	31	0	85	18,55	22,0	<0,0001
	2,00	11	0	0	0,00		

Légende : 1 et 2 désigne respectivement les groupes de mollusques sains et parasités. **N**: Nombre d'individus suivis ; **S** : Ecart type ; **Min**: minimum ; **Max** : maximum.

III-2. Discussion

La schistosomiase demeure un problème de santé publique au Cameroun malgré tous les efforts déjà fournis pour la contrôler. La mise en œuvre de la lutte anti vectorielle contribuerait à améliorer le contrôle de cette endémie (WHO, 2017). Un préalable à cette mise en œuvre serait d'approfondir les connaissances actuelles sur les hôtes intermédiaires du parasite à éliminer. Cette étude répond à ce besoin en ce qui concerne les hôtes intermédiaires de *S. mansoni*.

III-2-1. Identification des espèces de mollusques

L'identification des hôtes intermédiaires sur la base de la morphologie de la coquille est indispensable pour l'agent de lutte sur le terrain. Cependant compte tenu des fortes ressemblances entre les espèces très proches et des grandes variations intraspécifiques observées dans les caractères morphologiques, des méthodes complémentaires sont nécessaires. La méthode de la PCR-RFLP de la région ITS2 utilisée dans cette étude a été facile à mettre en œuvre et a permis de différencier *B. pfeifferi* de *B. camerunensis*. La migration électrophorétique sur gel d'agarose du gène ITS2 a révélé un fragment de longueur d'environ 460pb. Ce résultat est similaire à celui obtenu par Vidigal *et al.*, (2004) chez les espèces de *Biomphalaria* brésiliens. Nous avons obtenu un fragment de même taille pour toutes les populations analysées. Cette absence de polymorphisme explique la nécessité de digérer ce fragment à l'aide d'une enzyme capable de générer des fragments distincts pour chaque espèce. L'enzyme HpaII choisie a montré cette capacité en générant, à partir de la séquence ITS2, des profils distincts chez chaque espèce analysée. Ainsi chez *B. camerunensis*, les populations ont présenté un profil à deux bandes d'ADN. La somme de ces segments est inférieure à 460pb. Ce résultat laisse penser que des fragments supplémentaires n'ont pas pu être visualisés probablement parce qu'ils sont sortis du gel avant la fin de la migration électrophorétique. La présence d'un fragment supplémentaire de 80 pb chez un individu de l'espèce *B. camerunensis* confirme cette hypothèse. Chez l'espèce *B. pfeifferi*, deux populations (Gounougou et Nkolbisson) ont présenté chacune deux profils différents, un profil à deux bandes et un autre avec une bande supplémentaire, intermédiaire aux deux autres. Ces différents profils témoigneraient de la variation intraspécifique existant chez cette espèce. Un résultat similaire a été obtenu chez les spécimens de *B. taenagophila* (Vidigal *et al.*, 2004). La présence de cette diversité génétique serait un générateur de polymorphisme de la susceptibilité au parasite chez cette espèce. La taille de la bande intermédiaire identifiée dans ces deux populations (217pb) est identique à une bande retrouvée chez l'espèce *B. camerunensis*. Ce résultat pourrait s'expliquer par une mutation ayant généré ce profil supplémentaire mais aussi par une hybridation entre les deux espèces. Cette dernière hypothèse est d'autant plus possible que *B. pfeifferi* et *B. camerunensis* ont été retrouvées plusieurs fois dans le même site dans la province du centre (Same Ekobo, 1984).

En définitive, la technique de la PCR-RFLP du gène ITS2 nous a permis d'atteindre notre objectif qui était celui d'identifier précisément les populations de *Biomphalaria*. Cette technique pourrait être utilisée pour l'identification correcte des autres espèces de gastéropodes au Cameroun et représenterait un bon outil pour améliorer la lutte contre les hôtes intermédiaires.

III-2-2. Système de reproduction des *Biomphalaria*

III-2-2-1. Conditions d'élevage et conditions naturelles de vie des mollusques

Les conditions d'élevage des mollusques étaient légèrement différentes de celles qui prévalent dans la nature. De plus ces conditions, particulièrement celles du pH semblent plus favorables à l'élevage de *B. pfeifferi* qu'à celle de *B. camerunensis*. Cependant, plusieurs études antérieures ont montré que les gastéropodes sont tolérants à une large gamme de paramètres physicochimiques (Hussein *et al.*, 2011) ; cela est d'autant plus vrai concernant le pH de l'eau qui a un faible effet sur les populations de mollusques, les gastéropodes étant capables de tolérer une large gamme de pH mais avec une préférence pour des valeurs comprises entre 6 et 9 (Yapi Yapi *et al.*, 2014).

III-2-2-2. Age à la maturité sexuelle : un trait de vie plastique

Chez ces deux espèces de *Biomphalaria*, la maturité sexuelle est atteinte tardivement comparée aux espèces de bulins. Elle est en moyenne de 30 jours chez *Bulinus forskalii* (Njiokou *et al.*, 2000) et de 40 jours chez *Bulinus cernicus* (Rollison *et al.*, 2009). Cet âge tardif de début de la reproduction permet seulement le développement de deux à trois générations d'individus en une année. Ce faible nombre de générations annuelles représenterait un atout pour l'implémentation d'une lutte antivectorielle contre les populations de ces espèces. La reproduction des individus isolés de *B. pfeifferi* a été initiée au bout de 63 jours. Cette durée est supérieure à celle obtenue chez une autre population camerounaise de Mbalmayo (Etang, 1996) et inférieure à celles obtenues chez deux autres populations de Côte d'ivoire soit 118 et 88 jours (Tian-bi *et al.*, 2008). Ces différences d'âge à la maturité sexuelle peuvent être expliquées par la grande différenciation génétique existante entre les populations de *B. pfeifferi* (Charbonnel *et al.*, 2002 a, b, c). Celle-ci est supportée par l'instabilité des habitats de mollusques, la prévalence parasitaire de *S. mansoni* au sein des populations d'hôtes intermédiaires et l'histoire démographique de leurs populations (colonisation et goulot d'étranglements). Les individus de l'espèce *B. camerunensis* élevés en condition isolée ont atteint leur maturité sexuelle plus tard que ceux de *B. pfeifferi*, probablement à cause du délai dû au temps d'attente d'un partenaire sexuel présenté par ces individus. En effet, chez les espèces préférentiellement allofécondes comme *B. camerunensis*, les individus isolés préfèrent, au lieu de déposer de 'mauvaises pontes' contenant peu ou pas d'œufs, retarder leur reproduction pour attendre l'arrivée d'un partenaire sexuel (Tsitrone *et al.*, 2003). Ce retard dans la reproduction a pu conduire à

une mauvaise estimation de l'âge à la maturité sexuelle pour ces espèces préférentiellement allofécondes et pourrait expliquer pourquoi la biologie de cette espèce reste peu étudiée jusqu'aujourd'hui. La maturité sexuelle 'précoce' relevée chez *B. pfeifferi* comparée à celle de *B. camerunensis* serait un avantage pour la survie de cette espèce qui vit dans des cours d'eaux.

III-2-2-3. Copulations et comportement copulatoire

Les similarités observées dans le processus d'accouplement des deux espèces de mollusques peuvent être le fait de leur statut phylogénétique très rapproché (Dejong *et al.*, 2001). Cependant, les particularités de chacune de ces espèces permettent de comprendre leur système de reproduction préférentiel.

Nous avons enregistré un nombre similaire de copulations comme 'mâle' ou comme 'femelle' chez les deux espèces de gastéropodes. Ce résultat pourrait s'expliquer par une allocation optimale d'énergie entre les fonctions mâle et femelle (Jarne *et al.*, 2010). En plus, le fait que ces espèces soient de vrais hermaphrodites simultanés, chez qui la maturation des organes sexuels se fait au même moment, en comparaison aux espèces protandriques, chez qui la maturation des organes sexuels mâle et femelle n'est pas synchrone, pourrait expliquer pourquoi des phénomènes de réjections du partenaire lors de l'accouplement n'ont pas été observés (Soldatenko & Petrov, 2012). En général, les copulations enregistrées sont réciproques. Après la première copulation, les partenaires changent de rôle ce qui conduit à une insémination consécutive des deux partenaires.

Chez l'espèce *B. camerunensis* des inséminations simultanées ont été observées dans quelques couples. Ce type distinct de copulation a été décrit chez d'autres Planorbidae tels que *Anisus vortex* Linnaeus, 1758 (Soldatenko & Petrov, 2012), *B. glabrata* (Vianey-Liaud, 1992 ; Vernon & Taylor, 1996 ; Trigwell *et al.*, 1997 ; Costa *et al.*, 2004), et *Drepanotrema depressissimum* (Lamy *et al.*, 2012). Des différences dans les organes sexuels (Koene et Ter Maat, 2005) et/ou dans la génétique de *B. camerunensis* pourrait expliquer la survenue de ce type de copulation (Dejong *et al.*, 2001). Par ailleurs, la fréquence plus élevée et la durée plus longue de copulations observées chez cette espèce expliquent son système de reproduction préférentiellement allofécond (Trigwell *et al.*, 1996 ; Escobar *et al.*, 2011 ; Mimpfoundi, 1990). Aucune corrélation n'a été observée entre le nombre de copulations et la fécondité ; c qui permet de penser qu'une seule copulation est suffisante pour booster la fécondité des femelles ayant reçu de l'allosperme.

Chez l'espèce *B. pfeifferi*, un nombre important de copulations a été noté dans notre étude comparé aux résultats reportés chez d'autres populations et espèces préférentiellement autofécondes (Tian-bi *et al.*, 2008 ; Rupp & Woolhouse, 1999). Ce résultat pourrait s'expliquer soit par les différences dans les protocoles expérimentaux soit par la grande diversité des traits de vie exprimés par les populations de *B. pfeifferi* (Charbonnel *et al.*, 2002 a, b, c). Dans notre étude, les individus ont été

maintenus isolés pendant six semaines, alors que dans le protocole expérimental de Tian-Bi *et al.*, (2008), les individus de l'espèce *B. pfeifferi* ont été isolés seulement deux semaines avant l'accouplement. Ainsi, l'empressement à copuler des individus vierges isolés depuis leur éclosion pourrait expliquer le nombre élevé de copulations noté chez *B. pfeifferi*. Cette observation a été faite chez d'autres espèces préférentiellement autofécondes comme *Bulinus truncatus* (Njiokou *et al.*, 1992) et des espèces allofécondes comme *Bulinus globosus* (Van Duivenboden, 1983 ; Rudolph, 1983) et *B. glabrata* (Vianey-Liaud, 1992). Les copulations ont été observées dans tous les couples *B. pfeifferi* formés mais une faible valeur de dépression d'autofécondation a été relevée. Ce résultat indique que la copulation n'implique pas forcément une allofécondation ; ainsi, même si les partenaires sexuels sont disponibles et que les copulations ont lieu, une large fraction des œufs chez les espèces préférentiellement autofécondes proviennent de l'autofécondation (Escobar *et al.*, 2011). Nos résultats montrent que, le temps et le nombre de copulations par jour décroissent avec le temps comme précédemment démontré chez *Bulinus forskalii*, une autre espèce préférentiellement autoféconde (Njiokou *et al.*, 2000). Une fois encore, les conditions expérimentales peuvent expliquer cette observation.

III-2-2-4. Paramètres du système de reproduction

Les individus isolés de l'espèce *Biomphalaria pfeifferi* ont tous atteint la maturité sexuelle. Dès cette maturité, ils ont déposé régulièrement des pontes bien formées, contenant beaucoup d'embryons viables ayant présenté par la suite un taux élevé d'éclosion et une bonne survie. Cette première observation indique que : (1) ces individus n'ont pas souffert d'isolement et (2) suggère que l'autofécondation est leur système de reproduction préférentiel. Ce résultat confirme les précédentes études qui ont souligné le caractère prioritairement autofécond de l'espèce *B. pfeifferi* (Tian-Bi, 2008 ; Escobar *et al.*, 2011 ; Mimpfoundi, 1990).

La baisse du nombre de pontes émises par les individus croisés par rapport aux individus isolés pourrait être la conséquence d'un effet négatif de l'accouplement (épuisement de l'énergie vitale), qui causerait une diminution de la fréquence des pontes et retarderait l'oviposition chez les individus ayant copulé comme femelle (Van Duivenboden, 1983 ; Escobar *et al.*, 2011). Cependant, aucune différence significative n'a été retrouvée dans la fécondité (nombre de pontes et nombre d'œufs) entre les individus isolés et accouplés ; ceci suggère que l'accouplement n'affecte pas significativement le système autofécond préalablement adopté par les individus isolés. Des résultats similaires ont été obtenus chez *Bulinus forskalii* du Cameroun (Njiokou *et al.*, 2000). Il semble également que la copulation n'affecte ni le temps d'incubation, ni l'éclosion des œufs étant donné que ces paramètres ne diffèrent significativement pas entre les deux traitements. Cependant la survie des descendants G2 issus de l'autofécondation a été significativement plus élevée que celle des descendants G2 issus de

l'allofécondation. Ce résultat diffère de celui obtenu dans d'autres populations de *B. pfeifferi* où la survie des descendants est similaire dans les deux traitements (Tian-bi *et al.*, 2008) ; Il pourrait s'expliquer par le taux élevé d'éclosion des œufs issus d'allofécondation (92.3 %) comparé aux œufs issus de l'autofécondation (87.2 %), avec pour conséquence une densité plus élevée des descendants dans les boîtes d'élevage et entraînant une hausse de la mortalité. Ainsi, il a été prouvé que la survie des Basommatophores est une caractéristique intrinsèque qui varie d'un individu à l'autre ; elle peut traduire la différence génétique qui existe entre les individus observés. Une dépression d'autofécondation faible a été observée dans cette population ; elle confirme que l'autofécondation est le système de reproduction le plus courant chez *B. pfeifferi*. Ce mode de reproduction a été suggéré chez d'autres populations camerounaises de *B. pfeifferi* par l'observation d'un déficit en hétérozygotes dans leur structure génétique (Mimpfoundi *et al.*, 1990) et chez des populations de *B. pfeifferi* de Madagascar par l'obtention d'un taux moyen d'autofécondation élevé de $0,94 \pm 0,15$ (Charbonnel *et al.*, 2002 a, b). Chez les mollusques pulmonés, la reproduction par autofécondation semble plus facile d'un point de vue fonctionnel. Les spermatozoïdes et les ovules sont produits dans un même organe, l'ovotestis, et l'autofécondation a lieu dans le carrefour de fécondation situé juste à côté de l'ovotestis alors que l'allofécondation nécessite une copulation. A côté de cette raison fonctionnelle, la réduction importante de la taille de la population durant les saisons sèches (instabilité de l'habitat) obligerait les individus survivants à se reproduire par autofécondation pour s'assurer une descendance et recoloniser le milieu.

Chez l'espèce *B. camerunensis*, la proportion de mollusques isolés n'ayant jamais émis de pontes au bout de huit mois de suivi (29,4%) est significativement plus élevée comparée à celle de *B. pfeifferi* (0,0%). De plus ces individus isolés ont déposé sporadiquement des pontes non embryonnées et de formes irrégulières. Ces pontes semblaient plus petites que celles produites par ces mêmes individus après l'accouplement. Des observations similaires ont été faites chez d'autres espèces préférentiellement allofécondes (Lamy *et al.*, 2012). Elles indiquent que ces individus ont énormément souffert de l'isolement et suggèrent déjà que cette espèce préfère la reproduction croisée.

En examinant la fécondité de ces individus, il apparaît que le nombre moyen de pontes et d'œufs par pontes émis par individu ont été significativement plus élevés en allofécondation qu'en autofécondation. Cette capacité à produire plus de pontes et d'œufs pourrait être attribuée d'une part à la présence d'un partenaire sexuel dans la même boîte qui, grâce à sa stimulation tactile ou à l'émission de substances chimiques, influencerait la fécondité de l'autre partenaire comme cela a été démontré chez *B. glabrata* (Vianey-Liaud & Dussart, 2002). D'autre part, cette hausse de la fécondité pourrait être due au transfert de l'allosperme durant la copulation. Cet allosperme stimulerait le centre gonadotrophique du système nerveux central (Van Duivenboden, 1983). Une corrélation positive a été trouvée entre les nombres de pontes et d'œufs par ponte traduisant le fait qu'un même individu qui

produit plus de pontes, produit également plus d'œufs après la copulation. De plus, la production d'œufs a connu un pic durant les 6 jours suivant la copulation avant de décroître progressivement. Des observations similaires ont été faites chez *B. globosus* où les individus isolés passaient à l'allofécondation juste 6 jours après la copulation et étaient capable de conserver l'allosperme jusqu'à 11 jours après cette copulation (Njiokou *et al.*, 1992). En effet, chez les espèces préférentiellement allofécondes, un mollusque vierge sexuellement mature qui copule en tant que femelle et reçoit de l'allosperme d'un partenaire 'mâle' passe immédiatement de l'autofécondation à l'allofécondation (Vianey-Liaud, 1995 ; Vianey-Liaud, 1997). La baisse progressive de production d'œufs, 6 jours après les copulations, témoigne de l'utilisation progressive de l'allosperme et/ ou de sa destruction dans la *bursa copulatrix* (Njiokou, 1992 ; Vianey-Liaud, 1995 ; Jarne *et al.*, 1993).

Aucune différence n'a été notée dans la survie des descendants G2 malgré la forte éclosion des œufs issus de l'allofécondation comparée aux œufs issus de l'autofécondation. Ce résultat est contraire à celui observé chez *Lymnea peregra* et *Drepanotrema depressimum* chez qui la survie des descendants issus de l'allofécondation est meilleure. Le taux élevé de mortalité des descendants G2 de l'allofécondation pourrait s'expliquer par la densité élevée de ces juvéniles dans les boîtes d'élevage. Ainsi une moyenne de 13 individus G2 d'allofécondation étaient suivis par boîte, contrairement à une moyenne de 6 individus G2 d'autofécondation par boîte. De plus le temps réduit d'incubation de ces œufs, plus court qu'en régime d'autofécondation aurait occasionné un faible développement des embryons et une hausse de leur mortalité.

Nos résultats ont indiqué une grande différence entre les traits de vie en autofécondation et en allofécondation, avec une valeur de dépression d'autofécondation élevée. Cette valeur de dépression d'autofécondation est semblable à celles obtenues chez d'autres espèces préférant l'allofécondation comme *Lymnea peregra* (Jarne & Delay, 1990) et *B. glabrata* (Costa *et al.*, 2004 ; Escobar *et al.*, 2011). En théorie, la dépression d'autofécondation chez les populations d'espèces préférentiellement allofécondes est supérieure à 0,5 (Jarne & Charlesworth, 1993 ; Uyenoyama *et al.*, 1993 ; Husband & Schemske, 1996). Nos résultats rejoignent cette prédiction générale confirment que *B. camerunensis* est une espèce préférentiellement alloféconde comme précédemment souligné par Mimpfoundi & Greer (1990).

Cette étude sur le système de reproduction semble indiquer en définitive que, d'après les évidences phénotypiques, l'autofécondation est le système de reproduction préférentiel de *B. pfeifferi*. Cette assurance dans la reproduction pourrait expliquer pourquoi cette espèce est capable de coloniser plus d'habitats divers et inconstants que *B. camerunensis*. On comprend ainsi mieux la distribution géographique de ces deux espèces de mollusques au Cameroun : *B. pfeifferi* retrouvé dans tous les domaines climatiques et *B. camerunensis* retrouvé jusqu'en 2018, uniquement dans la partie équatoriale où les collections d'eau sont plus constantes. En plus de cette aptitude invasive, ce système

de reproduction autofécond assure le maintien d'une bonne compatibilité des descendants de *B. pfeifferi* avec le parasite. Par ailleurs la meilleure survie présentée par les descendants de *B. camerunensis* pourrait expliquer la stabilité observée de ses populations dans les anciens sites connus et leur extension au-delà de 6° de latitude Nord (Fadilatou, 2019) face aux les changements climatiques.

III-2-2-5. Temps d'attente chez les individus de l'espèce *Biomphalaria camerunensis*

Nos résultats montrent l'existence chez *B. camerunensis* d'un décalage dans l'âge de première reproduction chez les individus isolés du traitement T1. La valeur obtenue est supérieure à celle observée chez *Biomphalaria glabrata* (3,15 jrs) mais similaire à celle de *Helisoma trivolvis* (33 jrs) selon Escobar *et al.* (2011). Ces individus isolés ont produit de « mauvaises pontes », très peu viables et ces œufs produits avant la copulation sont susceptibles de dégénérer dans le tractus génital de l'individu (atrésie) ; leur production représente donc un coût « inutile » pour l'individu. Afin d'éviter cette perte d'énergie, les individus évitent de s'autoféconder précocement en retardant leur âge de première reproduction pour conserver une bonne valeur sélective de leurs descendants (« leur bon génotype »). Cette plasticité est une réponse à l'absence de partenaires sexuels, réalité qui dans le milieu de vie naturel est possible chez les mollusques d'eau douce du fait des variations hydriques et climatiques de leur habitat. L'existence de cette plasticité chez l'espèce *B. camerunensis* et/ou la difficulté qu'ont les individus isolés à se reproduire face à l'absence de partenaires sexuels pourraient expliquer pourquoi cette espèce montre une nette préférence pour les collections d'eau permanentes (Greer *et al.*, 1990). Cette plasticité est possible grâce à l'existence de réallocations énergétiques et physiologiques (à la survie, à la croissance, à la fécondité future) telles que mises en évidence chez *Physa acuta* (Tsitrone *et al.*, 2003).

Nous avons obtenu une valeur du temps d'attente relativement fixe entre les individus isolés qui ont commencé à se reproduire sensiblement à la même période. Cette observation traduit que les individus auraient hérité ce trait de vie de leurs parents ; elle confirme aussi la première approche théorique qui définit le temps d'attente comme une réponse invariable, stéréotypée et héritable évoluant avec la pression de sélection fixe que constitue la disponibilité en partenaires sexuels dans le milieu de vie des mollusques. Une seconde approche théorique soutient que le temps d'attente est une réponse variable liée à l'intelligence même du mollusque qui comprend grâce à des indices environnementaux (visuels, mécaniques ou signaux chimiques dissous dans l'eau) que la disponibilité en partenaires sexuels est insuffisante (Tsitrone *et al.*, 2003). Notre protocole expérimental ne permet pas de trancher si ce délai pourrait varier ou non entre les individus.

Une forte mortalité des mollusques due à une contamination de l'eau d'élevage durant la période de cette étude, nous a contraint à évaluer ce temps d'attente chez les individus de la deuxième

génération (G2). Il serait intéressant pour des études futures d'évaluer ce décalage dans l'âge de première reproduction chez un plus grand nombre d'individus de la première génération G1 et d'évaluer aussi les réallocations énergétiques et physiologiques qui y sont associées.

III-2-3. Susceptibilité des populations de *Biomphalaria pfeifferi* et *Biomphalaria camerunensis* vis-à-vis de *Schistosoma mansoni*

La présente étude a été menée dans un contexte où la persistance et surtout l'apparition de nouveaux foyers de schistosomiase à *S. mansoni* ont été observées au Cameroun (Tchuem Tchuente *et al.*, 2012 ; Tchuem Tchuente *et al.*, 2013). Plusieurs raisons peuvent expliquer cette situation épidémiologique (Bopda *et al.*, 2016) mais une adaptation du parasite « étranger » à un hôte intermédiaire apparaît indispensable à l'installation de nouveaux foyers de la maladie.

Nous avons évalué la susceptibilité de huit populations de *Biomphalaria* à une souche de *S. mansoni* afin de mesurer la compatibilité mollusque /schistosome (Njiokou *et al.*, 2004 ; Simoes *et al.*, 2013 ; Zuim *et al.*, 2005 ; Guimaraes *et al.*, 2010). Sachant que la résistance aux schistosomes augmente avec l'âge du mollusque, les individus ont été infestés à l'état juvénile, à une taille inférieure à 4mm (Richards & Shade, 1987).

III-2-3-1. Compatibilité

Les valeurs des taux de réussite de l'infestation obtenues sont très hétérogènes avec des différences observées entre les deux espèces et au sein d'une même espèce, confirmant l'important polymorphisme de la susceptibilité des espèces de *Biomphalaria* (Frandsen, 1979 ; Richard & Shade, 1987 ; Toledo & Fried, 2011). La susceptibilité aux schistosomes étant génétiquement déterminée (Toledo & Fried, 2011), ces résultats suggèrent une diversité génétique entre les populations étudiées. En effet, des variations intra-populationnelles ont été observées sur les profils électrophorétiques de 4 et 5 systèmes enzymatiques chez les populations camerounaises de *B. pfeifferi* et de *B. camerunensis*, respectivement (Mimpfoundi *et al.*, 1990). Charbonnel *et al.* (2002) ont également observé une grande diversité génétique entre les populations de *B. pfeifferi* de Madagascar. Le taux de réussite de l'infestation le plus élevé a été obtenu dans le couple homopatrique *B. pfeifferi* / *S. mansoni* de Nkolbisson ; ceci suggère une meilleure adaptation du parasite à sa population locale de mollusques (Njiokou *et al.*, 2003 ; Toledo & Fried, 2011), bien que ce ne soit pas toujours le cas (Kincaid *et al.*, 2016). Cette souche du parasite semble moins adaptée à la population du Nord-Cameroun (Gounougou) et surtout à celle de l'Extrême-Nord (Mokolo) comme en témoignent le faible taux de réussite de l'infestation et le taux de mortalité significativement élevé chez les mollusques infestés à la période patente. En effet, Gounougou et Mokolo se situent dans des zones climatiques et

phytogéographiques très différentes de la localité d'origine du parasite (figure 6), ceci pourrait expliquer la faible adaptation de cette souche de parasite à ces populations allopatriques.

Les populations de *B. camerunensis* ont en général présenté de faibles TRI. Un résultat similaire a été obtenu par Simoes *et al.* (2013) chez des populations de *Biomphalaria tenagophila* et de *B. straminea*, hôtes intermédiaires de *S. mansoni* au Brésil. La population de *B. camerunensis* de Petpenoun a présenté un taux de susceptibilité relativement élevé (21,9%) comparé aux taux de susceptibilité des quatre autres populations et semblable à celui obtenu chez d'autres populations de *B. pfeifferi* (Frandsen, 1979), de *B. glabrata*, l'hôte intermédiaire principal de la schistosomiase intestinale au Brésil (Richard et Shade, 1984), et de *B. taenagophila* (Marques *et al.*, 2014). Ce résultat est en contradiction avec l'idée selon laquelle *B. camerunensis* serait un hôte négligeable dans la transmission de *S. mansoni* (Greer *et al.*, 1990). Malgré la capacité des individus de Petpenoun à permettre le développement de *S. mansoni*, le taux de mortalité significativement élevé de mollusques positifs à l'infestation reflète l'effet néfaste du développement parasitaire sur la survie des mollusques parasités. Bien que certaines études prédisent une augmentation de la mortalité des individus infestés pendant la période patente (Sorensen & Minchella, 2001), la forte mortalité observée chez ces individus parasités de Petpenoun suggère que l'adaptation de *B. camerunensis* de Petpenoun à *S. mansoni* de Nkolbisson n'est pas parfaite.

De manière générale, les résultats acquis avec *B. camerunensis* révèlent d'une part une résistance de ses populations à la pénétration et au développement de *S. mansoni* et suggèrent une prédisposition génétique de ces individus à reconnaître le parasite comme non soi et à le détruire. Comprendre le mécanisme de la résistance de *B. camerunensis* vis-à-vis de *S. mansoni* et identifier les gènes impliqués dans cette résistance pourraient améliorer la lutte contre la bilharziose au Cameroun. D'autre part, sachant que la susceptibilité à *S. mansoni* est plus facile à obtenir au cours des générations que la résistance (Zuim *et al.*, 2005) et qu'une élévation de température est responsable de l'inversion de la résistance à *S. mansoni* (Knight *et al.*, 2015), la susceptibilité des populations de *B. camerunensis* vis-à-vis de *S. mansoni* pourrait s'accroître face au phénomène du réchauffement climatique mondial.

En effet, dans ce contexte de réchauffement climatique mondial, des changements importants dans la relation schistosome/mollusque sont notés et responsables d'une transmission dynamique des espèces de schistosomes. Au Cameroun, *Bulinus camerunensis*, jadis considéré comme résistant à la souche *S. haematobium* de Barrombi-kotto (Wright *et al.*, 1972) s'est avéré aujourd'hui sensible à cette souche (Nkengazong *et al.*, 2009 ; Kamwa-Ngassam *et al.*, 2012). Ce mollusque y est actuellement l'hôte le plus abondant et le plus important dans la transmission de *S. haematobium* comparé à *Bulinus truncatus* (Kamwa-Ngassam, 2012). En France, la susceptibilité de *Bulinus truncatus* à un schistosome hybride dans la région de Corse a conduit à la réémergence de la schistosomiase dans cette région (Calavas et Martin, 2014 ; Berry *et al.*, 2014).

La durée de la période prépatente est négativement corrélée au taux de réussite de l'infestation des mollusques sensibles aux schistosomes et une différence significative a été observée entre les populations. Ces résultats confirment qu'une courte période prépatente traduit une meilleure compatibilité de l'hôte intermédiaire avec le parasite (Minchella & Loverde, 1981) et qu'il existe une différence génétique entre nos populations. Chez *B. camerunensis*, nos résultats révèlent que le développement larvaire est meilleur chez les individus de la population de Petpenoum comparés aux individus des trois autres populations étudiées; ceci suggère une meilleure adaptation de cette souche de *S. mansoni* à la population de Petpenoum. De plus, la production cercarienne indique que ces individus parasités produisent, de manière intéressante, une quantité de cercaires près de deux fois supérieure à celle de *B. pfeifferi*. Cette aptitude à permettre une multiplication et une dissémination d'une grande quantité de cercaires pourrait combler le handicap que représente un petit nombre d'individus susceptibles à *S. mansoni* pour sa transmission.

Le taux de mortalité est un paramètre qui peut dépendre de plusieurs facteurs tels un pouvoir pathogène plus élevé du parasite, des conditions intrinsèques du mollusque et des conditions expérimentales (Njiokou *et al.*, 2004). Dans notre étude, la similitude des taux de mortalité observée chez les deux espèces, suggère que le parasite n'est pas le seul responsable de la mortalité des individus.

III-2-3-2. Aspects épidémiologiques

La réussite de l'infestation dans toutes les populations de *B. pfeifferi* à des taux de sensibilité significativement élevés chez cette espèce comparés à *B. camerunensis* confirme une hiérarchisation des rôles de ces deux hôtes intermédiaires dans la transmission de *S. mansoni* au Cameroun. En effet, le parasite semble mieux se développer et s'adapter chez *B. pfeifferi*. Cette adaptation serait le résultat d'une bonne compatibilité entre les gènes de *B. pfeifferi* et ceux de *S. mansoni* (Toledo & Fried, 2011). La variabilité de la susceptibilité observée chez *B. pfeifferi* pourrait contribuer aux différences de prévalences observées dans les populations humaines au Cameroun. De plus, il a été observé au cours de cette étude que les individus parasités étaient capables d'anticiper leur reproduction pour échapper à la castration parasitaire et que quelques uns d'entre eux survivaient plus de 8 mois après l'infestation et, ce en continuant à émettre des cercaires. Ces caractéristiques des individus parasités de *B. pfeifferi* permettent de mieux apprécier le rôle prépondérant de cette espèce dans la transmission de *S. mansoni* au Cameroun.

Au plan épidémiologique, si le nombre de mollusques infestés représente un paramètre important, c'est surtout leur production cercarienne qui permet de mieux évaluer les risques de transmission et d'extension des schistosomiasés à travers les charges de cercaires émises dans les sites de contact homme-eau (De Kock *et al.*, 2004). La valeur moyenne de production cercarienne journalière de 2043 cercaires obtenues avec le couple *B. camerunensis*/*S. mansoni* est nettement

supérieures à celle enregistrée chez les couples *B. pfeifferi* /*S. mansoni* (1074 cercaires) de notre étude. Elle est aussi nettement supérieure à celles des couples *B. pfeifferi* Sénégal/*S. mansoni* Cameroun (386 cercaires) (Southgate *et al.* 2000) ; *B. pfeifferi*/*S. mansoni* du Dhofar (464,04 cercaires) (Mintsa-Nguema, 2010), *B. pfeifferi*/*S. mansoni* du Sénégal (670 cercaires) (Tchuem-Tchuenté *et al.* 1999). Ainsi les individus parasités de *B. camerunensis* qui produisent une grande quantité de cercaires comparée à celle de *B. pfeifferi* représentent un risque potentiel d'augmentation de la transmission de *S. mansoni* au Cameroun. De plus, la raréfaction des mollusques de l'espèce *B. pfeifferi*, observée depuis quelques années dans les anciens sites où elle était présente, pourrait exercer une pression de sélection en faveur des miracidia capables de se développer chez *B. camerunensis*. En effet, les résultats de la cartographie de la schistosomiase intestinale menée en 2010 (Tchuem-Tchuenté *et al.*, 2012), révèlent généralement une augmentation des foyers de *S. mansoni* dans la zone équatoriale, mais, ils ne précisent pas quel est l'hôte intermédiaire responsable de cette transmission dans les localités prospectées. Les modifications environnementales défavorables à *B. pfeifferi* pourraient avoir augmenté l'importance de *B. camerunensis* dans la transmission de *S. mansoni* et l'évolution de l'incidence de cette endémie pourrait alors être le fait de l'évolution de la relation entre *Biomphalaria* et *S. mansoni*.

III-2-3-3. Chronobiologie cercarienne

La courbe d'émission cercarienne pour le couple *B. camerunensis*/ *S. mansoni* montre un pic d'émergence autour de la mi-journée, caractéristique des schistosomes humains (Southgate *et al.*, 2000). Ce résultat est semblable à celui obtenu par Mimpfoundi (1983) et par Tian-Bi *et al.*, (2008) pour le couple *B. pfeifferi*/*S. mansoni*. Chez les schistosomes, le rythme de l'émission des cercaires est essentiellement influencé par le parasite lui-même (Mouahid & Théron, 1986). Il est synchronisé avec les périodes d'activité de l'hôte définitif (Combes *et al.*, 1994). Le pic obtenu correspond au moment où les populations accroissent leur contact avec l'eau (baignades, lessives, vaisselle) des sites contaminés favorisant ainsi l'infestation par les cercaires dont le pouvoir infestant ne dure que quelques heures après l'émission.

III-2-4. Effet du parasitisme de *Schistosoma mansoni* sur la croissance et la fécondité de *Biomphalaria pfeifferi*

Le parasitisme est une interaction durable dans laquelle l'hôte et le parasite, pour survivre et se développer, s'influencent réciproquement. Ces pressions sélectives réciproques conduisent les deux protagonistes à acquérir sans cesse de nouvelles adaptations afin de ne pas être distancé par l'autre (Tsitrone *et al.*, 2003). Toutefois en général, c'est l'hôte qui subit le plus lourd tribut. Les résultats dans cette partie de notre travail montrent que l'infestation par *S. mansoni* affecte non seulement la croissance et la survie mais surtout la fécondité de son hôte intermédiaire.

Les mollusques juvéniles infestés subissent un ralentissement de leur croissance quelques semaines après l'infestation ; ce ralentissement est significatif à partir du 3^{ème} mois jusqu'au 5^{ème} mois post-infestation. Ce ralentissement de la croissance pourrait refléter la spoliation de l'énergie allouée à la croissance de l'hôte au détriment du parasite qui se multiplie de façon exponentielle dans son hôte (Gérard *et al.*, 1993). Ces résultats diffèrent néanmoins de ceux obtenus chez le couple *B. pfeifferi*/*S. mansoni* du Dhofar, chez qui les mollusques parasités ont une croissance significativement plus importante que celle des mollusques indemnes, aussi bien au niveau du diamètre de la coquille qu'au niveau de la masse corporelle (Mintsa-Nguema, 2010). Il serait intéressant, pour les études ultérieures, d'évaluer la masse corporelle des mollusques parasités, qui ont semblé pour certains, plus gros que les mollusques indemnes. En ce qui concerne la survie des mollusques, nos résultats indiquent qu'elle est négativement influencée par le parasite. Ils sont similaires à ceux d'autres travaux sur le même modèle hôte-parasite qui ont signalé que les mollusques parasités avaient une survie inférieure à celle des mollusques indemnes et ce d'autant plus que le nombre de miracidiums était élevé (Makanga, 1981; De Kock, 1992).

L'activité de ponte a été fortement réprimée chez les planorbes infestés allant jusqu'à la suppression des pontes chez près de 90% des mollusques observés. Cette forte baisse de la fécondité chez le mollusque hôte a également été démontrée dans le couple *B. pfeifferi* / *S. mansoni* d'Ouganda et du Dhofar (Oman) (Makanga, 1981, Mintsa Nguema, 2010) ainsi que chez d'autres systèmes hôtes-parasites tels que le couple *B. glabrata*/*S. mansoni* (Minchella & Loverde 1981), le couple *B. truncatus* /*S. haematobium* (Djuikwo-Teukeng, 2004). La présence de cette castration chez la plupart des individus pourrait être liée au fait que nos mollusques aient été infestés par cinq miracidia. En effet, Makanga (1981) a montré, pour le couple ougandais *B. pfeifferi*/*S. mansoni*, que plus on augmente le nombre de miracidiums plus la fécondité diminue pour aboutir à une stérilité des mollusques infestés avec 4 miracidia. Cette castration pourrait résulter soit de l'altération de la gonade par le parasite (Polak, 1996), soit de la réponse adaptative de l'hôte qui redirigerait les ressources allouées à la reproduction vers la survie, le renforcement de l'immunité et la croissance (Gandon *et al.*, 2002). Nous avons noté que quelques individus parasités, n'ayant jamais pondu, ont survécu plus de 6 mois après l'infestation. Cette castration complète serait en faveur d'une extension de la longévité des individus parasités, ce qui augmente en conséquence la probabilité de transmission du parasite à son hôte définitif. Il existerait en effet une interdépendance entre différents traits de vie et notamment entre la reproduction et la longévité. Cependant, cette observation expérimentale pourrait différer de ce qui se passe réellement dans la nature, étant donné que les individus parasités, qui augmentent leur nutrition, ne souffrent pas systématiquement d'une réduction de leur fécondité (Barnes *et al.*, 2006 ; Ponton *et al.*, 2010).

CONCLUSIONS, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES

Cette étude a été menée dans un contexte où la situation épidémiologique de la schistosomiase intestinale révèle une persistance de la transmission de *Schistosoma mansoni* et l'apparition de nouveaux foyers. Elle s'est donc proposée d'approfondir les connaissances sur *Biomphalaria pfeifferi* et *Biomphalaria camerunensis*, hôtes intermédiaires de *S. mansoni*, et a répondu à ce besoin sur trois plans.

Sur le plan de l'identification, nos résultats ont permis d'apporter un outil nouveau de différenciation de ces deux espèces de mollusques très semblables morphologiquement : le polymorphisme de la région ITS2 de l'ADNr a été révélé grâce à l'endonuclease HpaII. Cette technique moléculaire, utilisée pour la première fois dans l'identification des gastéropodes au Cameroun, a permis de caractériser chaque espèce par un ribotype particulier. Deux variants moléculaires au sein de l'espèce *B. pfeifferi* ont pu être également mis en évidence. Cette méthode efficace d'identification pourrait permettre d'identifier précisément les espèces de Planorbidae au Cameroun et de dresser des cartes malacologiques en vue d'améliorer la lutte contre ces gastéropodes.

Sur le plan de l'étude de la biologie de *Biomphalaria* spp., nos résultats montrent que ces mollusques possèdent de fascinantes capacités d'adaptation aux changements de leur milieu de vie. La maturité sexuelle est atteinte tardivement chez ces biomphalaria comparée aux bulins. La grande fécondité des individus (10 à 30 embryons en moyenne par œuf) assure la pérennité de l'espèce et la colonisation de nouveaux habitats. Chez *B. pfeifferi*, l'autofécondation est le système de reproduction préférentiel des individus leur accordant une grande capacité d'adaptation aux habitats changeant. Ce système de reproduction favorise une faible diversité génétique et assure au parasite la disponibilité d'une descendance d'individus susceptibles. Il permet également de comprendre pourquoi cette espèce a été retrouvée dans toutes les régions du Cameroun contrairement aux individus de l'espèce *B. camerunensis*. Ces derniers préfèrent s'accoupler avant de se reproduire et choisissent intelligemment de différer leur âge de première reproduction en absence d'un partenaire sexuel, en vue de conserver une bonne valeur sélective de leurs descendants et d'assurer leur bonne diversité génétique. Cette meilleure valeur sélective des descendants assure la pérennité de cette espèce dans les anciens sites et son extension au-delà de 6° de latitude Nord. Elle est attestée par l'occurrence d'un nombre élevé de copulations et d'un comportement sexuel plus diversifié comparé à *B. pfeifferi*.

Sur le plan de la compatibilité *Biomphalaria* spp./*Schistosoma mansoni*, nos résultats ont montré l'existence d'un fort polymorphisme de la susceptibilité des populations de mollusques infestées au parasite. Le rôle prépondérant de *B. pfeifferi* dans la transmission de *S. mansoni* au Cameroun a été confirmé ici, avec une meilleure adaptation du parasite à sa population locale, révélée par un taux d'infestation des mollusques plus élevé et une période de prépatence plus courte. Chez l'espèce *B. camerunensis*, nous avons noté d'une part la résistance totale d'une population et d'autre

part l'aptitude de certaines populations à transmettre et à disséminer efficacement le trématode. Le rôle « vecteur » de cette espèce devrait être pris en compte dans l'évaluation de la transmission de la schistosomiase en recherchant dans les sites actifs l'hôte intermédiaire responsable de la transmission du parasite.

RECOMMANDATIONS

- ✓ Une attention et une surveillance particulière devraient être faites concernant l'hôte *B. camerunensis* pour deux raisons :

(i) certaines populations de cette espèce représentent un risque d'aggravation de la situation épidémiologique au Cameroun,

(ii) cet hôte représenterait un important modèle de recherche pour étudier les mécanismes de défense immunitaire contre *S. mansoni*.

- ✓ Face au développement de grands projets hydrauliques, aux changements climatiques et environnementaux, des prospections malacologiques seraient nécessaires pour déterminer la distribution et l'abondance actuelles de *Biomphalaria* spp. sur le territoire.
- ✓ Ces prospections permettraient de réactualiser la carte de distribution de *Biomphalaria* spp. au Cameroun.

PERSPECTIVES

- ✓ Infester d'autres populations de *B. camerunensis* avec des souches provenant de la zone tropicale du Cameroun afin de prédire les zones d'extension possible.
- ✓ Comprendre les déterminants de la résistance chez certaines populations de cette espèce.
- ✓ Analyser les variants moléculaires retrouvés chez l'espèce *B. pfeifferi* à l'aide d'une autre enzyme de restriction afin de confirmer la taille de la bande intermédiaire retrouvée entre les deux espèces.
- ✓ Implémenter une lutte antivectorielle contre les populations de *Biomphalaria* sensibles à *S. mansoni*. Cette lutte pourrait se faire par l'utilisation des molluscicides ou par l'introduction des compétiteurs et/ou prédateurs naturels dans les sites encore actifs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ahmed AA, Ibrahim NA, Idris MA (2006). Laboratory Studies on the Prevalence and Cercarial Rhythms of Trematodes from *Bulinus truncatus* and *Biomphalaria Pfeifferi* Snails from Khartoum State, Sudan. *Sultan Qaboos University Medical Journal* 6 (2) : 65-69.

Akufongwe PF, Onwuliri COE, Titanji VPK, Okwuosa VN (1995). Prevalence of schistosomiasis and others intestinal helminth infections among senior primary school children in Makenene sub-division, Cameroon. *J Helminthol* 69: 103–105.

Allison J, Malcolm L, Chosich N and Miller JF (1992). Inflammation but not autoimmunity occurs in transgenic mice expressing constitutive levels of interleukin-2 in islet beta cells. *Eur J Immunol* 22:1115-1121.

Aloho-Bekong D, Agbor G, Nkengazong L (2011). Oxidative stress in school children co-infection with *Schistosoma mansoni* and soil-transmitted helminths. *Health Science Disease* 12 (3): 109-126.

Azevedo J, Frage de (1949). Rapport sur les bilharzioses humaines au Cameroun Français. *WHO Bul. Conf.*

Barnes AI, Boone JM, Jacobson J, Partridge L, Chapman T (2006). No extension of lifespan by ablation of germ line in *Drosophila*. *Proc Biol Sci* 273: 939–947.

Bennike T, Frandsen F, Mandahl-Barth G (1976). La bilharziose à Kinshasa. Données actuelles et danger pour l'avenir. *Ann Soc Belg Med Trop* 56:419–437.

Berry A, Iriart X, Boissier J, Fillaux J (2015). La Bilharziose : une parasitose plus uniquement tropicale. *Parasitol*, 327 : 37-46.

Berry A, Mone H, Iriart X, Mouahid G, Aboo O, et al. (2014). Schistosomiasis haematobium, Corsica, France. *Emerg Infect Dis* 20:1595–1597.

Bony KY, Konan KF, Edia OE, Kouassi NC, Diomande D, Ouattara A (2013). Anatomie et stratégies de reproduction de *Indoplanorbis exustus* (Deshayes, 1834), un mollusque invasif d'eau douce en Côte d'Ivoire (Afrique de l'Ouest). *J App Bios* 1:5742– 5752.

Bopda J, Nana-Djeunga H, Tenaguem J, Kamtchum-Tatuene J, Gounoue-Kamkuimo R, Assob-Nguedia C, Kamgno J (2016). Prevalence and intensity of human soil transmitted helminth infections in the Akonolinga health district (Centre Region, Cameroon): Are adult hosts contributing in the persistence of the transmission? *Parasit Epidemiol Control* 199–204.

Boyle J, Yoshino T (2000). The effect of water quality on ovi-position in *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Planorbidae), and a description of the stages of the egg-laying process. *J Mollus Stud* 66: 83–93.

Braschi S, & Wilson RA (2006). Proteins exposed at the adult schistosome surface revealed by biotinylation. *Mol Cell Proteomics* 5:347–356.

- Brooker S, Donnelly CA, Guyatt HL** (2000). Estimating the number of helminthic infections in the Republic of Cameroon from data on infection prevalence in schoolchildren. *Bull World Health Organ* **78**: 1456–1465.
- Brown D** (1994). Fresh water snails of Africa and their medical importance. (ed) 2, Taylor and Francis Ltd, London.; 608.
- Brown D & Christensen TK** (1993). A Field Guide to African Freshwater Snails. I. West African Species. Danish Bilharziasis Laboratory, USA, Pages: 55.
- Brumpt E** (1941). Observations biologiques diverses concernant *Planorbis* (*Australorbis*) *glabratus* hôte intermédiaire de *Schistosoma mansoni*. *Ann Parasitol* **18**: 9–45.
- Brunet J, Pfaff AW, Hansmann Y, Gregorowicz G, Pesson B, et al.**, 2015. An unusual case of hematuria in a French family returning from Corsica. *Int J Infect Dis* ;31:59-60.
- Calavas D, Martin PM** (2014) Schistosomiasis in cattle in Corsica, France. *Emerg Infect Dis* **20**:2163–2164.
- Campbell SJ, Stothard JR, O'Halloran F, Sankey D, Durant T, Ombede DE, Chuinteu GD 3, Webster BL 4, 5, Cunningham L 1, LaCourse EJ 1, Tchuem-Tchuente LA** (2017). Urogenital schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis (STH) in Cameroon: An epidemiological update at Barombi Mbo and Barombi Kotto crater lakes assessing prospects for intensified control interventions. *Infect Dis Poverty* **6**, 49.
- Carod-Artal FJ**, 2008. Neurological complications of *Schistosoma* infection. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 102 (2):107–116.
- Cassidy JR, Moore D, Lu BC, Pukkila PJ** (1984). Unusual organization and lack for recombination in the ribosomal RNA genes of *Coprinus cinereus*. *Current genetics* **8**: 607-613.
- Charbonnel N, Angers B, Rasatavonjizay R, Remond PB, Debain C, Jarne P** (2002a). The influence of mating system, demography, parasites and colonization on the population structure of *Biomphalaria pfeifferi* in Madagascar. *Mol Ecol* **11**: 2213-2228.
- Charbonnel N, Angers B, Rasatavonjizay R, Remond PB, Debain C, Jarne P** (2002b). Evolutionary aspects of the metapopulation dynamics of *Biomphalaria pfeifferi*, the intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *J Evol Biol* **15**: 248-261.
- Charbonnel N, Quesnoit M, Razatavonjizay R, Bremond P, Jarne P** (2002c). A spatial and temporal approach to microevolutionary forces affecting population biology in the freshwater snail *Biomphalaria pfeifferi*. *Am Nat* **160**: 741-755.
- Charbonnel N, Rasatavonjizay R, Sellin E, Bremond P, Jarne P** (2005). The influence of genetic factors and population dynamics on the mating system of the hermaphroditic snail *Biomphalaria pfeifferi*. *Oikos* **108**: 283-296.
- Charlesworth D** (2003). Effects of inbreeding on the genetic diversity of populations. *Philos Trans R Soc Lond* **358**: 1051–1070.

Charlesworth D & Charlesworth B (1987). Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Ann & Review of Ecology and Systematic* **18**: 237-268.

Coelho PMZ, Rosa FM, Maciel E, Negrão-Correa DA, Carvalho OS, Caldeira RL, Jannotti-Passos LK, Moreira LA, Oliveira GC, Teles HM (2008). Transmission control of schistosomiasis mansoni by introduction of a resistant strain of *Biomphalaria tenagophila* in areas where transmission is maintained by this species. *Acta Trop* **108**: 245–248.

Colaert J, Lokombe B, Fain A, Vandepitte J, Wery M (1977). Présence d'un petit foyer autochtone de bilharziose à *S. mansoni* à Kinshasa (République du Zaïre). *Ann Soc Belge Med Trop* **57**(3):157–162.

Colley DG, Bustinduy AL, Secor WE, King CH (2014). Human schistosomiasis. *Lancet* **383**: 2253-2264.

Combes C, Fournier A, Mone H & Theron (1994). Behaviors in trematode cercariae that enhance parasite transmission: Patterns and process. *Parasitology***63**: 82-89.

Costa MJ, Grault CE, Confalonieri UE (2004). Comparative study of the fecundity and fertility of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) and *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) in a laboratory through self-fertilization and cross-fertilization. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* **46**: 157-63.

Coustau C. (2009). Immunity in parasite-vector snails. *Med Sci (Paris)* **25**: 399-403.

Crews AE, Yoshino TP (1989). *Schistosoma mansoni*: effect of infection in reproduction and gonadal growth in *Biomphalaria glabrata*. *Exp Parasitol* **68**:326–334.

Cunin P, Poste B, Djibrilla K et Martin PMV (2001). Les schistosomoses dans le bassin de la Bénoué (Nord Cameroun). Bulletin de liaison et de documentation de l'OCEAC **34** (2) : 15-18.

Dai JR, Wang W, Liang YS, Li HJ, Guan XH, Zhu YC (2008). A novel molluscicidal formulation of niclosamide. *Parasitol Res***103**, 405-12.

De Jong-Brink M (1992). Neuro-endocrine mechanisms underlying the effects of schistosome parasites on their intermediate snail host. *Inv Reprod Dev* **22**: 127-138.

De Kock KN (1992). The effect of exposure to selected numbers of *Schistosoma mansoni* miracidia on survival of cohorts of *Biomphalaria pfeifferi*. *Ann Trop Med Parasitol* **86**, 557-62.

De Kock KN, Wolmarans CT, Bornman M (2004). Distribution and habitats of *Biomphalaria pfeifferi*, snail intermediate host of *Schistosoma mansoni*, in South Africa. *Water SA* **30**:29–36.

Deelder AM (1992). Diagnostic markers in schistosomiasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **5**: 125-7.

DeJong RJ, Morgan JAT, Paraense WL, Pointier JP, Amarista M, Ayeh-Kumi PFK, Babiker A, Barbosa CS, Brémond P, Pedro Canese A, de Souza CP, Dominguez C, Fichier S, Gutierrez A, Incani RN, Kawano T, Kazibwe F, Kpikpi J, Lwambo NJ, Mimpfoundi R, Njiokou F, Noël Poda J, Sene M, Velásquez LE, Yong M, Adema CM, Hofkin BV, Mkoji, GM, Loker ES (2001). Evolutionary Relationships and Biogeography of *Biomphalaria* (Gastropoda: Planorbidae) with implications regarding its role as host of the human

bloodfluke, *Schistosoma mansoni*. *Mol Biol Evol* **18** (12): 2225-2239.

Deschiens R & Delas A (1968). La répartition géographique des bilharzioses humaines au Cameroun. *Bull Soc Path Exot* **61**: 72-78.

Dieng I, 1999. Mécanisme de la compatibilité du schistosome avec son hôte définitif. Thèse. Université Cheikh Anta Diop de Dakar au Sénégal.

Dillon RT, McCullough TE, Earnhard CE (2005). Estimates of natural allosperm storage capacity and self-fertilization rate in the hermaphroditic freshwater Pulmonate snail *Physa acuta*. *Invertebrat Reprod Dev* **47**: 111-115.

Djuikwo-Teukeng FF (2004). Les couples Bulins/*Schistosoma haematobium*: compatibilité, chronobiologie cercarienne et action du parasite sur la croissance, la fécondité et l'immunologie des hôtes intermédiaires. Doctorat 3^{ème} Cycle de Biologie Animale, Université de Yaoundé I, Yaoundé, Cameroun.

Djuikwo-Teukeng FF, Da Silva A, Njiokou F, Kamgang B, Same Ekobo A, Dreyfuss G (2014). Significant population genetic structure of the Cameroonian freshwater snail, *Bulinus globosus*, (Gastropoda: Planorbidae) revealed by nuclear microsatellite loci analysis. *Acta Trop* **137**:111–7.

Dongmo NC (2010). Epidémiologie de la Schistosomiase et des geohelminthiases dans le Département du Mfoundi, Région du Centre. Mémoire de Master II en Parasitologie, Université de Yaoundé I, 71P. 62P.

Dreyfuss G, Rondelaud D (2011). Les mollusques dans la transmission des helminthoses humaine et vétérinaire. *Bulletin de l'académie vétérinaire de France*, **164** : 8P.

Duke BOL & Moore MJ (1976). The use of molluscicide in conjunction with chemotherapy to control *Schistosoma haematobium* at the Barombi lakes foci in Cameroon: I. the attack of the snail hosts, using N. tritylmorpholine and the effect on transmission from snail to man. *Trop Med Parasitol* **27**: 297-313.

Escobar SJ, Auld JR, Correa AC, Alonso AC, Bony YK, Coutellec M-A, Koene JM, Pointier JP, Jarne P, David P (2011). Patterns of mating-system evolution in hermaphroditic animals: correlations among selfing rate, inbreeding depression, and the timing of reproduction. *Evol* **65**(5):1233–53.

Escobar, JS, Nicot A, David P (2008). The different sources of variation in inbreeding depression, heterosis and outbreeding depression in a metapopulation of *Physa acuta*. *Genetics* **180**:1593-1608.

Etang JD (1996). Etudes systématiques, génétiques et biologiques dans la malacofaune des étangs de Mbalmayo. Mémoire de maîtrise UYI, 71 pp.

Facon B, Ravigne V, Goudet J (2006). Experimental evidence of inbreeding avoidance in the hermaphrodite snail *Physa acuta*. *Evol Ecol* **20**: 395-406.

- Facon B, Ravigne V & Goudet J** (2008). Gender-role alternation in the simultaneously hermaphroditic freshwater snail *Physa acuta*: not with the same partner. *Beh Ecol Socbiol* **62**: 713–720.
- Fadilatou FB**, 2019. Compatibilité expérimentale des populations de *B. camerunensis* à *S. mansoni* au Cameroun. Mémoire de Master II en Biologie des Organismes Animaux Option : Parasitologie, UYI, 90p.
- Fenwick A, Rollinson D, and Southgate V** (2006). Implementation of human schistosomiasis control: Challenges and prospects. *Adv Parasitol* **61**: 567-622.
- Frandsen F** (1979). Studies of the relationship between *Schistosoma* and their intermediate hosts. III. The genus *Biomphalaria* and *Schistosoma mansoni* from Egypt, Kenya, Sudan, Uganda, West Indies (St. Lucia) and Zaire (two different strains: Katanga and Kinshasa). *J Helminthol* **53**(4):321–348.
- Gandon S, Agnew PA, Michalakis Y** (2002). Coevolution between parasite virulence and host life-history traits. *American Naturalist* **160**:374-388.
- Gentilini M, Gaumes D, Mouchet J, Dufflo B, Lagardere B, Richard-Lenoble D, Bruker G** (1993). Bilharziose *Med Trop* (Ed) 5, 2è tirage actualisé, Flammarion, médecine science **928**: 221-255.
- 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. *Can J Zool* **71**: 1880-1885.
- Goodwillie C, Knight MC** (2006). Inbreeding depression and mixed mating in *Leptosiphon jepsonii*: A comparison of three populations. *Ann Bot* **98**: 351-360.
- Greer GJ, Mimpfoundi R, Malek AE, Joky A, Ngonseu E, Ratard RC** (1990). Human schistosomiasis in Cameroon. II. Distribution of the snail hosts. *Am J Trop Med Hyg* **42** (6): 573-580.
- Gryseels B, Polman K, Clerinx J, and Kestens L** (2006). Human schistosomiasis. *Lancet* **368**:1106–1118.
- Guimarães MCDA, Muniz C, Takahashi FY, Ohlweiler FO, Kawano T, Natal D**, 2010. The Effects Of The Experimental Infection From A Focus Of Transmission of *Schistosoma mansoni* in a Population of *Biomphalaria tenagophila* (D’orbigny, 1835) in the region of “Vale Do Ribeira De Iguape”. *Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **52**(2):101-105.
- Henry PY, Jarne P** (2007). Marking hard-shelled gastropods: tag loss, impact on life-history traits, and perspectives in biology. *Invertebr Biol* **126**:138–153.
- Hertel LA, Bayne CJ, Loker ES** (2002). The symbiont *Capsaspora owczarzaki*, nov.gen.nov.sp., isolated from three strains of the pulmonate snail *Biomphalaria glabrata* is related to members of the Mesomycetozoa. *Int J Parasitol* **32**1: 183-91.
- Hillis DM & Dixon MT** (1991). Ribosomal DNA: Molecular Evolution and phylogenetic Inference. *The Quarterly Review of Biology* **66**:411-453.

Hurd H. (2001). Host fecundity reduction: a strategy for damage limitation? *Trends in Parasitology* **17**:363-368.

Husband B, Schemske D (1996). Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants. *Evol* **50**: 54-70.

Hussein MA, Obuid-Allah AH, Mahmoud AA, Fangary HM (2011). Population dynamics of freshwater snails (Mollusca: Gastropoda) at Qena Governorate, Upper Egypt. *Egypt Acad J Biolog Sci* **3**(1): 11-22.

Ibironke OA, Phillips AE, Garba A, Lamine SM, Shiff C (2011). Diagnosis of *Schistosoma haematobium* by detection of specific DNA fragments from filtered urine samples. *Am J Trop Med Hyg* **84**: 998-1001.

Incidence de la schistosomiase au Cameroun: (Global Atlas of Helminth infections;<http://www.thiswormyworld.org/maps/distribution-of-schistosomiasis-survey-data-in-cameroon>)

Jarne P, Auld JR (2011). Animals mix it up too: the distribution of self-fertilization among hermaphroditic animals. *Evol* **60**: 1816-1824.

Jarne P, Charlesworth D (1993). The evolution of the selfing rate in functionally hermaphrodite plants and animals. *Annu Rev Ecol Evol Syst* **24**: 441-466.

Jarne P, Delay B, 1990. Population genetics of *Lymnaea peregra* (Müller) (Gastropoda: Pulmonata) in the Lake Geneva. *J Mollus Stud* **56**: 317-321.

Jarne P & Delay B, 1991. Populations genetics of freshwater snails. *Trends in Ecology and Evolution* **6**: 383-386.

Jarne P, Pointier JP, David P, Koene JM, 2010. Basommatophoran Gastropods. In A Cordoba-Aguilar and J. L. Leonard, Eds. The evolution of primary sexual characters in animals. Oxford Univ. Press, New York 173–196

Jarne P, Vianey-Liaud M, Delay B (1993). Selfing and outcrossing in hermaphrodite freshwater gastropods (Basommatophora): where, when and why. *Biol J Linn Soc* **49**: 99-125.

Jordaens K, Dillen L, Backeljau T (2007). Effects of mating, breeding system and parasites on reproduction in hermaphrodites: Pulmonate gastropods (Mollusca). *Anim Biol* **57**: 137-195.

Jordaens K, Dillen L, Backeljau, T (2009). Shell shape and mating behaviour in Pulmonate Gastropods (Mollusca). *Biol J Linn Soc* **96**: 306 – 321.

Kamwa Ngassam RI (2012). Epidémiologie de la schistosomiase et des géohelminthiases au Cameroun: Cartographie et étude de la dynamique de la transmission dans diverses régions. Thèse de Doctorat/PhD, Université de Yaoundé I, Yaoundé, Cameroun.

Katz N, Chaves A, Pellegrino J (1972). A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **14** : 379-400.

- Kengne AC** (2010). Néphropathies glomérulaires chez les patients atteints de *Schistosoma mansoni* à Yoro. Mémoire de Master II en Biologie et Physiologie Animales option : Parasitologie, Université de Yaoundé I, 71P.
- Kengne-Fokam AC, Nana-Djeunga HC, Djuikwo-Teukeng FF, Njiokou F** (2016). Analysis of mating system, fecundity, hatching and survival rates in two *Schistosoma mansoni* intermediate hosts (*Biomphalaria pfeifferi* and *Biomphalaria camerunensis*) in Cameroon. *Parasit Vectors* **9**, 10.
- Kincaid-Smith J, Rey O, Toulza E, Berry A, Boissier J** (2017). Emerging schistosomiasis in Europe: a need to quantify the risk. *Trends Parasitol* **33**(8):600–609.
- King C, Sturrock H, Kariuki RF, Hamburger HC** (2006). Transmission control for schistosomiasis - why it matters now. *Trends Parasitol* **22**, 575-82.
- Knight M, Brindley PJ, Richards CS, Lewis FA** (1991). *Schistosoma mansoni*: use of a cloned ribosomal RNA gene probe to detect restriction fragment length polymorphisms in the intermediate host *Biomphalaria glabrata*. *Exp Parasitol* **73**: 285-94.
- Knight M, Elhelu O, Smith M, Haugen B, Miller A, Raghavan N, et al.** (2015) Susceptibility of snails to infection with schistosomes is influenced by temperature and expression of Heat Shock Proteins. *Epidemiol (Sunnyvale)* **5**(2):189.
- Koene JM, Montagne-Wajer K, & Ter Maat A** (2006). Effects of frequent mating on sex allocation in the simultaneously hermaphroditic great pond snail (*Lymnaea stagnalis*). *Behav Ecol Sociobiol* **60**: 332–338.
- Koene JM & Ter Maat A** (2004). Energy budgets in the simultaneously hermaphroditic pond snail, *Lymnaea stagnalis*: a trade-off between growth and reproduction during development. *Belg J Zool* **134**: 41–45.
- Koene JM & Ter Maat A** (2005). Sex role alternation in the simultaneously hermaphroditic pond snail *Lymnaea stagnalis* is determined by the availability of seminal fluid. *Anim Behav* **69**: 845–850.
- Lamy T, Levy L, Pointier JP, Jarne P, David P** (2012). Does life in unstable environments favour facultative selfing? A case study in the freshwater snail *Drepanotrema depressissimum* (Basommatophora: Planorbidae). *Evol Ecol* **26**: 639-655.
- Lawton SP, Hirai H, Ironside JE, Johnson DA, Rollison D** (2011). Genomes and geography: genomic insights into the evolution and phylogeography of the genus *Schistosoma*. *Parasit Vectors* **4**:131.
- Letouzey M** (1985). Notice sur la carte phytogéographique du Cameroun au 1: 500000. Document NRA (Herbier National) Yaoundé, Cameroun, I.C.I.V Toulouse, France.
- Long EO & Dawid IB** (1980). Repeated genes in eukaryotes. *Ann Rev Biochem* **49**: 727-764.
- Loreau M, & Baluku B** (1987). Population dynamics of the freshwater snail *Biomphalaria pfeifferi* in eastern Zaire. *J Mollus Stud* **53**:249–265.
- Lowry R** VassarStats: Website for Statistical Computation. 1998. <http://vassarstats.net/>. Accessed on May 25, 2017.

- Makanga B**, (1981). The effect of varying the number of *Schistosoma mansoni* miracidia on the reproduction and survival of *Biomphalaria pfeifferi*. *J Invertebr Pathol* **37**: 7-10.
- Mandahl-Barth G, Ripert C & Raccurt C** (1974). Nature du sous-sol, répartition des mollusques dulcaquicoles et foyers de bilharzioses intestinale et urinaire au Bas Zaïre. *Rev Zool Afr* **88**:553–584.
- Marques DP, Rosa FM, Maciel E, Negrão-Corrêa D, Teles HM, Caldeira RL, Jannotti-Passos LK, Coelho PM** (2014). Reduced susceptibility of a *Biomphalaria tenagophila* population to *Schistosoma mansoni* after introducing the resistant Taim/RS strain of *Biomphalaria tenagophila* into Herivelton Martins Stream. *PLoS One* **9**(6): e99573.
- Mimpfoundi R** (1983). Compartiment mollusque et compartiment cercaire dans quelques sites de transmission de la schistosomose intestinale à Yaoundé. Données systématiques, écologiques et épidémiologiques. Thèse de Doctorat 3^{ème} cycle, Université de Yaoundé, 123 p.
- Mimpfoundi R** (1990). Variation génétiques intra- et interpopulationnelle chez les Planorbidae tropicaux: le polymorphisme enzymatique dans les genres *Biomphalaria* Preston, 1910 et *Bulinus* Müller, 1781 au Cameroun. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Yaoundé, 219p.
- Mimpfoundi R & Greer JG** (1990). Allozyme variation among populations of *Biomphalaria pfeifferi* (Krauss, 1848) (Gastropoda: Planorbidae) in Cameroon. *J Mollus Stud* **56**: 461-467.
- Mimpfoundi R & Greer JG** (1990). Allozyme variation among populations of *Biomphalaria camerunensis* (Boettger, 1941) (Gastropoda: Planorbidae) in Cameroon. *J Mollus Stud* **56**: 373-381.
- Mimpfoundi R & Ndassa A** (2005). Studies on the morphology and the compatibility between *Schistosoma haematobium* and the *Bulinus sp.* Complex (Gastropoda: Planorbidae) in Cameroun. *Afr J Biotech* **4** (9): 1010-1016
- Minchella DJ, Loverde PT** (1981). A cost of increased early reproductive effort in the snail *Biomphalaria glabrata*. *American Naturalist* **118**:876-881.
- Mintsa Nguema R** (2010). 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. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Perpignan; Université des Sciences de la Santé de Libreville (Gabon).
- Mitta G, Adema CM, Gourbal B, Loker ES, Theron A** (2012). Compatibility polymorphism in snail/schistosome interactions: from field to theory to molecular mechanisms. *Dev Comp Immunol* **37**(1):1–8.
- Mone Y** (2011). Bases moléculaires du polymorphisme de compatibilité dans l'interaction *Schistosoma mansoni* / *Biomphalaria glabrata*. Thèse de Doctorat Ph. D en Ecologie, Environnement, Université de Perpignan, 161p.
- Montresor A, Crompton DWT, Gyorkos TW, Savioli L** (2002). Helminth control in school-age children: a guide for managers of control programmes. First ed. Geneva: WHO.73.

Montresor A, Crompton DWT, Gyorkos TW & Savioli L (2004). Lutte contre les Helminthiases chez les enfants d'âge scolaire. Guide à l'intention des responsables des programmes de lutte. *Organisation Mondiale de la Santé*, Genève.

Mouahid A, Theron A (1986). *Schistosoma bovis*: patterns of cercarial emergence from snails of the genera *Bulinus* and *Planorbarius*. *Exp Parasitol* **62**: 389-93.

Moyou Somo R, Kouemeni LE, Ndjamen B, Ngogang J, Dongla R, Longang-Tchatchouang V, Hassimi M (2003). A new focus of *Schistosoma mansoni* in Yorro village, Mbam and Inoubou Division, Cameroon. *Am J Trop Med Hyg* **69**(1): 74-77.

Navajas M, Lagnel J, Gutierrez J, Boursot P (1998). Species wide homogeneity of nuclear ribosomal ITS2 sequences in the spider mite *Tetranychus urticae* contrasts with extensive mitochondrial COI polymorphism. *Hered* **80**: 742-752.

Ndifon GT & Ukoli FMA (1989). Ecology of freshwater snails in southwestern Nigeria. 1: Distribution and habitat preferences. *Hydrobiol* **171**:231-253.

Njiokou F (1992). Génétique et biologie des populations de deux hôtes intermédiaires de schistosomes à œuf à éperon terminal: *Bulinus globosus* (Morelet, 1866) et *B. truncatus* (Audouin, 1827); conséquences épidémiologiques. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, Montpellier, France.

Njiokou F, Bellec C, Jarne P, Finot L, Delay B (1992). Mating system analysis using electrophoresis in the self-fertile hermaphrodite species *Bulinus truncatus* (Gastropoda: Planorbidae). *J Mollus Stud* **59**: 125-133.

Njiokou F, Bellec C, N'goran KE, Yapi-Yapi G, Delay B, Jarne P (1992). Comparative fitness and reproductive isolation between two *Bulinus globosus* (Gastropoda: Planorbidae) populations. *J Mollus Stud* **58**: 367-76.

Njiokou F, Mouafo JB, Teukeng F, Njine T, Samè-Ekobo A, Jarne P (2000). The influence of self-fertilization and pairing on life-history traits in the freshwater snail *Bulinus forskalii* (Gastropoda: Planorbidae). *Acta Trop* **76**: 159-167.

Njiokou F, Teukeng F, Bilong Bilong CF, Njiné T, Ekobo SA (2004). Étude expérimentale de la compatibilité entre *Schistosoma haematobium* et deux espèces de bulins au Cameroun. *Bull Soc Pathol Exot* **97**(1):43-46.

Nkengazong L, Njiokou F, Teukeng F, Enyong P, Wanji S (2009). Reassessment of endemicity level of urinary schistosomiasis in the Kotto-Barrombi focus (South-West Cameroon) and impact of mass drug administration (MDA) on the parasitic indices. *J Cell Anim Biol* **3**(9):159-164.

Norton CG, Johnson AF & Mueller RL (2008). Relative size influences gender role in the freshwater hermaphroditic snail, *Helisoma trivolvis*. *Behav Ecol* **19**: 1122-1127.

Nvogo-Ndongo P (2012). Etudes conchyliologiques et génétiques des populations de *Biomphalaria camerunensis* (Boettger, 1941) de Minkama. Mémoire de Master II en Biologie et Physiologie Animales option : Parasitologie, Université de Yaoundé I, 55P.

Odogwu SE, Ramamurthy NK, Kabatereine NB, Kazibwe F, Tukahebwa E, Webster JP, Fenwick A, Stothard JR (2006). *Schistosoma mansoni* in infants (aged < 3 years) along the Ugandan shoreline of Lake Victoria. *Ann Trop Med Parasitol* **100** (4):315–26.

OMS (1991). Basic laboratory methods in medical parasitology. Geneva: *World Health Organization*. Pp. 25-28.

Peka Sangou MF (2012). Etudes conchyliologiques et génétiques dans la population de *Biomphalaria camerunensis* (Boettger, 1941) de Sangmélima. Mémoire de Master II de Biologie et Physiologie Animales option : Parasitologie, Université de Yaoundé I, 41P.

PNLSHI (2005). Programme National de Lutte contre la Schistosomiase et les Helminthiases intestinales au Cameroun. *Plan stratégique 2005-2010* 92p.

Pointier JP, David P (2004). Biological control of *Biomphalaria glabrata*, the intermediate host of schistosomes, by *Marisa cornuarietis* in ponds of Guadeloupe: long-term impact on the local snail fauna and aquatic flora. *Biol Control* **29**:81–89.

Pointier JP, David P, Jarne P (2011). The biological control of the snail hosts of schistosomes: the role of competitor snails and biological invasions. In *Biomphalaria snails and larval trematodes*. Toledo R, Fried B. New York: Springer: 215-238.

Polak M (1996). Ectoparasitic effects on host survival and reproduction: the *Drosophila*-*Macrocheles* association. *Ecol* **77** (5): 1379–1389

Ponton F, Lalubin F, Fromont C, Wilson K, Behm C, Simpson SJ (2010). Hosts use altered macronutrient intake to circumvent parasite-induced reduction in fecundity. *Internat J Parasitol* **10**: e1016

Ratard R, Koueméni LE, Ekani Bessala MM, Ndamkou Ndamkou C, Greer G, Spillsbury J, Cline BL (1990). Human schistosomiasis in Cameroon. I. distribution of Schistosomiasis. *Am J Trop Med Hyg* **42**:561–572.

Richards CS (1984). Influence of snail age on genetic variation in susceptibility of *Biomphalaria glabrata* for infection with *Schistosoma mansoni*. *Malacol* **25**: 493–503.

Richards CS, Shade PC (1987). The genetic variation of compatibility in *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni*. *J Parasitol* **73**(6): 1146–1151.

Richards CS (1975). Genetic factors in susceptibility of *Biomphalaria glabrata* for different strains of *Schistosoma mansoni*. *Parasitol* **70**:231–241.

Ripert C, Ambroise TP & Rouselle-Sauer C (1978). Etude épidémiologique des foyers de schistosomose à *Schistosoma mansoni* de Minkama et Nalassi (Département de la Lékié, Cameroun). *Rev Epidémiol San Publ* **26**:403-412.

Rollinson, Kane RA, Lines JRL (2009). An analysis of fertilization in *Bulinus cernicus* (Gastropoda: Planorbidae). *Zool* **217**(2): 295-310.

Rollinson D, Knopp S, Levitz S, Stothard JR, Tchuem Tchuente LA, Garba A, Mohammed KA, Schur N, Person B, Colley DG and Utzinger J (2013). Time to set the agenda for schistosomiasis elimination. *Acta Trop* **128**: 423-40.

Ross AG, Bartley PB, Sleigh AC, Olds AC, Li Y, Williams GM, McManus DP (2002). Schistosomiasis. *N Engl J Med* **346**:1212–1220.

Rudolph PH (1983). Copulatory activity and sperm production in *Bulinus (Physopsis) globosus* (Gastropoda: Planorbidae). *J Mollus Stud* **49**: 125-132.

Rupp JC, Woolhouse MEJ (1999). Impact of geographical origin on mating behaviour in two species of *Biomphalaria* (Planorbidae: Gastropoda). *Anim Behav* **58**: 1247-1251.

Same Ekobo A (1984). Faune malacologique du Cameroun. Description, répartition des mollusques dulçaquicoles et foyers de trématodoses humaines. Thèse Doctorat d'Etat, Université Rennes I, 632p.

Savioli L, Albonico M, Colley DG, Correa-Oliveira R, Fenwick A, Green W, Kabatereine, Kabore A, Katz N, Klohe K, LoVerde PT, Rollinson D, Stothard RJ, Tchuem Tchuente LA, Waltz J, Zhou XN (2017). Building a global schistosomiasis alliance: an opportunity to join forces to fight inequality and rural poverty. *Infect Dis Poverty* **6**, 65.

Sene M, Southgate VR, De Clercq D, Ly A, Vercruyse J, 2002. Implication of *Bulinus truncatus* in the transmission of urinary schistosomiasis in Senegal, West Africa. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* **96** (2) :175–180.

Schärer L (2009). Tests of sex allocation theory in simultaneously hermaphroditic animals. *Evol* **63**: 1377-1405.

Schur N, Hurlimann E, Garba A, Traore MS, Ndir O, Ratard RC, Tchuem Tchuente LA, Kristensen TK, Utzinger J, Vounatsou P (2011). Geostatistical model-based estimates of Schistosomiasis prevalence among individuals aged ≤ 20 years in West Africa. *PLoS Negl Trop Dis* **5**: e1194.

Shane HL, Verani JR, Abudho B, Montgomery SP, Blackstock AJ, Mwinzi PN, Butler SE, Karanja DM, Secor WE (2011). Evaluation of urine CCA assays for detection of *Schistosoma mansoni* infection in Western Kenya. *PLoS Negl Trop Dis* **5**: e951.

Sheir Z et al., 2001. A safe, effective, herbal antischistosomal therapy derived from myrrh. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **65**:700–704.

Simões LF, Camargo EAF, Bastos LD, Neves MF, De Carvalho JF, Magalhães LA, Zanotti-Magalhães EM (2013). Susceptibility of Argentinean *Biomphalaria tenagophila* and *Biomphalaria straminea* to infection by *Schistosoma mansoni* and the possibility of geographic expansion of mansoni schistosomiasis. *Rev Soc Bras Med Trop* **46**(5):611–616.

Siqueira LM, Couto FF, Taboada D, Oliveira AA, Carneiro NF, Oliveira E, Coelho PM, Katz N (2016). Performance of POC-CCA(R) in diagnosis of schistosomiasis mansoni in individuals with low parasite burden. *Rev Soc Bras Med Trop* **49**: 341-7.

- Sire C, Rognon A & Théron A** (1998). Failure of *Schistosoma mansoni* to reinfect *Biomphalaria glabrata* snails: acquired humoral resistance or intra-specific larval antagonism? *Parasitol* **117**: 117-122.
- Sobh M, Moustafa F, Basta M, Deelder A, Ghoniem M** (1987). Schistosomal specific nephropathy leading to end-Stage renal failure. *Kid Int* **31**: 1006-1011.
- Sokolow SH, Huttinger E, Jouanard N, Hsieh MH, Lafferty KD, Kuris A M, Riveau G, Senghor S, Thiam C, N'Diaye A, Faye DS, De Leo GA** (2015). Reduced transmission of human schistosomiasis after restoration of a native river prawn that preys on the snail intermediate host. *Proc Natl Acad Sci USA* **112**: 9650-5.
- Sokolow SH, Wood CL, Jones IJ, Swartz SJ, Lopez M, Hsieh MH, Lafferty KD, Kuris AM, Rickards C, De Leo GA** (2016). Global Assessment of Schistosomiasis Control Over the Past Century Shows Targeting the Snail Intermediate Host Works Best **10**:1371.
- Soldatenko EV & Petrov AA** (2009). The characteristics of copulation in *Segmentina oelandca* (Westerlund, 1885) (Gastropoda: Pulmonata: Planorbidae). *Zoosystematica Rossica* **18**: 196–204.
- Soldatenko E, Petrov A** (2012). Mating behaviour and copulatory mechanics in six Species of Planorbidae (Gastropoda: Pulmonata). *J Mollus Stud* **78**: 185 – 196.
- Sorensen RE & Minchella DJ** (2001). Snail-trematode life history interactions: past trends and future directions *Parasitology* **123**; S3-S8.
- Southgate VR, Tchuente LA, Theron A, Jourdane J, Ly A, Moncrieff CB., Gryseels B** (2000). Compatibility of *Schistosoma mansoni* Cameroon and *Biomphalaria pfeifferi* Senegal. *Parasitol* **121** (5): 501-5.
- Standley CJ, Dopson P, Stothard JR.** (2012). Out of animals and back again: Schistosomiasis as a zoonosis in Africa. *Livre, Med baghar Rokni*.
- Stevenson LA, Chilton NB and Gasser RB** (1995). Differentiation of *Haemonchus placei* from *H. contortus* (Nematoda: Trichostrongylidae) by the ribosomal second internal transcribed spacer. *Int J Parasitol* **25**: 483-488.
- Stothard JR, Sousa-Figuereido JC, Betson M, Adriko M, Arinaitwe M, Rowell C, Besiyge F, Kabatereine NB.** (2011). *Schistosoma mansoni* infections in Young Children: When Are Schistosome Antigens in Urine, Eggs in Stool and Antibodies to Eggs First Detectable? *Plos Negl Trop Dis* **5**(1): e938.
- Stothard JR, Sousa-Figueiredo JC, Betson M, Bustinduy A, Reinhard-Rupp J** (2013). Schistosomiasis in African infants and preschool children: let them now be treated! *Trends Parasitol* **29**(4):197–205.
- Stothard JR, Sousa-Figueiredo JC, Betson M, Bustinduy A, Reinhard-Rupp J** (2013). Schistosomiasis in African infants and preschool children: let them now be treated! *Trends Parasitol* **29**(4):197–205.
- Stothard JR, Sousa-Figueiredo JC, Standley C, Van Dam GJ, Knopp S, Utzinger J, Ameri H, Khamis AN, Khamis IS, Deelder AM, et al.** (2009). An evaluation of urine-CCA strip test and

fingerprick blood SEA-ELISA for detection of urinary schistosomiasis in schoolchildren in Zanzibar. *Acta Trop* ; 111(1):64–70.

Suchel JB (1987). Les climats du Cameroun. Thèse Doctorat d'Etat Université Bordeaux III, 1186p.

Sullivan JT, Cheng TC (1974). "Structure and function of the mantle cavity of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata)". *Transactions of the American Microscopical Society*. **93** (3): 416–420.

Sun LP, Wang W , Hong QB, Li SZ, Liang WS, Yang HT, Zhou XN (2017). Approaches being used in the national schistosomiasis elimination programme in China: a review. *Infectious Diseases of Poverty* 6:55-64.

Tchuem Tchuente LA, Dongmo NC, Kamwa Ngassam RI, Kenfack CM, Feussom GN, Dankoni E, Tariri A, Zhang Y (2013). Mapping of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis in the regions of Littoral, North-West, South and South-West Cameroon and recommendations for treatment. *BMC Infect Dis* **13**:602.

Tchuem Tchuente LA, N'Goran EK (2009) Schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis control in Cameroon and Cote d'Ivoire: implementing control on a limited budget. *Parasitol* **136**: 1739–1745.

Tchuem Tchuente LA, Kamwa Ngassam RI, Sumo L, Ngassam P, Dongmo NC, Luogbou Nzu DD, Dankoni E, Kenfack MC, Feussom GN, Akame J, Tariri A (2012). Mapping of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis in the regions of Centre, East and West Cameroon. *PLoS Negl Trop Dis* **6**(3):e1553.

Tchuem Tchuente LA, Rollinson D, Stothard JR, Molyneux D (2017). Moving from control to elimination of schistosomiasis in sub-Saharan Africa: time to change and adapt strategies. *Infect Dis Poverty* **6**: 42.

Tchuem Tchuente LA, Southgate VR, Théron A, Jourdan J, Ly A, Gryseels B (1999). Compatibility of *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria pfeifferi* in northern Senegal. *Parasitol* **118**:595–603.

Tchuem Tchuente LA, Southgate VR, Vercruyse J (2001). La bilharziose et les geohelminthiases dans l'arrondissement de Makenene, province du Centre, Cameroon. *Bull Liais Doc OCEAC* **34**: 19–22.

Théron A & Coustau C (2005). Are *Biomphalaria* snails resistant to *Schistosoma mansoni*? *J Helminthol* **79**: 187-91.

Theron A, Coustau C, Rognon A, Gourbière S, Blouin MS (2008) Effects of laboratory culture on compatibility between snails and schistosomes. *Parasitol* **135**:1179–1188

Théron A, Gérard C & Moné H (1992). Early enhanced growth of the digestive gland of *Biomphalaria glabrata* infected with *Schistosoma mansoni*: side effect or parasite manipulation? *Parasitol Research* **78**: 445-450.

- 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. *J Inv Pathol* **44**: 209-213.
- Thornhill JA, Jones JT, Kusel JR** (1986). Increased oviposition and growth in immature *Biomphalaria glabrata* after exposure to *Schistosoma mansoni*. *Parasitol* **93**:443-50.
- Tian-Bi YNT, Jarne P, Konan JN, Utzinger J, N’Goran EK** (2013). Contrasting the distribution of phenotypic and molecular variation in the freshwater snail *Biomphalaria pfeifferi*, the intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *Heredity* **110**:466-74.
- Tian-Bi YN, N’Goran EK, N’Guetta SP, Matthys B, Sangare A, Jarne P** (2008). Prior selfing and the selfing syndrome in animals: an experimental approach in the freshwater snail *Biomphalaria pfeifferi*. *Genet Res* **90**: 61-72.
- Toledo R, Fried B** (2011). *Biomphalaria* Snails and Larval Trematodes. Springer-Verlag.
- Tran MH, Pearson MS, Bethony JM, Smyth DJ, Jones MK, Duke M, Don TA, Mcmanus DP, Oliveira RC, Loukas A** (2006). Tetraspanins on the surface of *Schistosoma mansoni* are protective antigens against schistosomiasis. *Nat Med* **12**:835–840.
- Trigwell J, Dussart G & Vianey-Liaud M** (1997). Pre-copulatory behaviour of the freshwater hermaphrodite snail *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Gastropoda: Pulmonata). *J Mollus Stud* **63**: 116-120.
- Trigwell J, Dussart G, Vianey-Liaud M** (1996). Mating strategies in the freshwater hermaphrodite snail *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Gastropoda: Pulmonata). *Helveticus* **26**:25-32.
- Tsitrone A** (2001). Conséquences évolutives de la consanguinité: genotype, phenotype, systèmes de reproduction. Thèse de doctorat, Université de Montpellier II, 99p.
- Tsitrone A, Jarne P, David P** (2003). Delayed selfing and resource reallocations in relation to mate availability in the freshwater snail *Physa acuta*. *Am Nat* **162**: 474-488.
- Ukwandu NC, Odaibo AB, Okorie TG, Nmorsi OPG** (2011). Molluscicidal Effect of *Piper Guineense*. *Afr J Tradit Complement Altern Med* **8**(4): 447-451.
- Utzinger J, Becker SL, van Lieshout L, van Dam GL and Knopp S** (2015). New diagnostic tools in schistosomiasis. *Clin Microbiol Infect* **2015**; **21**: 529–542
- Utzinger J, Zhou XN, Chen MG, Bergquist R** (2005). Conquering schistosomiasis in China: the long march. *Acta Trop* **96**:69–196.
- Uyenoyama M, Holsinger KE, Waller D** (1993). Ecological and genetic factors directing the evolution of self-fertilization. *Oxford Surv Evol Biol* **9**: 327-381.
- Van Duivenboden YA** (1983). Transfer of semen accelerates the onset of egg laying in female copulants of the hermaphrodite freshwater snail, *Lymnaea stagnalis*. *Int J Invert Reprod* **6**: 249-257.

- Vernon J, Taylor J** (1996). Patterns of sexual roles adopted by the schistosome-vector snail *Biomphalaria glabrata* (Planorbidae). *J Mollus Stud* **62**: 235–241.
- Vianey-Liaud M** (1992). Sperm storage time in *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae): fertilization of albino snails by surgically castrated pigmented snails. *J Med Appl Malacol* **4**: 99-101.
- Vianey-Liaud M** (1995). Bias in the production of heterozygous pigmented embryos from successively mated *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae) albino snails. *Malacol Rev* **28**: 97-106.
- Vianey-Liaud M** (1997). La reproduction chez un Mollusque hermaphrodite simultané: Le planorbe *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Gastéropode, Pulmoné). *Haliotis* **27**: 67-114.
- Vianey-Liaud M & Dussart G** (2002). Aspects of pairing and reproduction in the hermaphrodite freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Pulmonata). *J Mollus Stud* **68**: 243–248.
- Vidigal THDA, Kissinger JC, Caldeira RL, Pires EC, Monteiro E, Simpson, AJ, Carvalho OS** (2000). Phylogenetic relationships among Brazilian *Biomphalaria* species (Mollusca: Planorbidae) based upon analysis of ribosomal ITS2 sequences. *Parasitol* **121**: 611-620.
- Vidigal THDA, Magalhães KG, Carvalho ODS** (2004). Polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis of the ITS2 region for differentiation of Brazilian *Biomphalaria* intermediate hosts of the *Schistosoma mansoni*. *Rev Soc Brasil Med Trop* **37**(4):351-353.
- Vidigal THDA, Montresor LC, Simpson AJG, Carvalho OS** (2002). Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism of Cytochrome oxidase I used for differentiation Brazilian *Biomphalaria* species intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *Memórias Instituto Oswaldo Cruz* **97**: 47-52.
- Webster BL, Southgate VR, Littlewood DTJ** (2006). A revision of the interrelationships of *Schistosoma* including the recently described *Schistosoma guineensis*. *Internat J Parasitol* **36**:947-955.
- WHO** (2010). Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Geneva: World Health Organization, WHO/HTM/NTD/2010.1 WHO/HTM/NTD/2010.1.
- WHO** (2012). World Health Assembly Resolution WHA 65.21 Elimination of schistosomiasis. Geneva: World Health Organization.
- WHO** (2013). Schistosomiasis: number of people treated in 2011. *Weekly epidemiological record* **88**:81–88.
- WHO** (2015). Schistosomiasis: number of people treated worldwide in 2013. *Wkly Epidemiol Rec* **90**(5):25–32.
- WHO** (2016). Schistosomiasis: number of people treated worldwide in 2015. *Wkly Epidemiol Rec* **91**:441–60. No 39, <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250245/1/WER9139.pdf>.

WHO (2017). Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*; 16; 390: 1151–1210.

Williams CL, Gilbertson DE (1983). Effects of alterations in the heartbeat rate and locomotor activity of *Schistosoma mansoni*-infected *Biomphalaria glabrata* on cercarial emergence. *J Parasitol* **69**(4): 677-81.

Woolhouse MEJ. Population biology of the freshwater snail *Biomphalaria pfeifferi* in the Zimbabwe highveld. *J Appl Ecol* 1992, 29: 687-694.

Wright CA, Southgate VR, Knwoles RJ (1972). What is *Schistosoma intercalatum* Fisher, 1934? *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 66: 20-64.

Yapi Yapi G, Toure M, Boka Ohoukou M, Tia E, Boby Ouassa AM, Kadjo Kouame A (2014). Dynamique des populations de *Biomphalaria pfeifferi* et de *Bulinus globosus* en zone d'endémie schistosomienne en Côte d'Ivoire. *Europ Sci J* 10: 339-363.

Zheng SB, Zhou YB, Li LH, Wu JY, Yao BD, Zhu SP, Wei CJ, Li FP, HU BJ, Ren GH, Yi P, Jiang QW (2013). Short-term effect of black film covering on *Oncomelania hupensis* snail control in marshland and lake regions. *Chin J Schisto Control* **25** (4):357–61.

Zuim NRB, Zanotti-Magalhães EM, Magalhães LA, Linhares AX, 2005. Genetic selection of *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria tenagophila* seeking the alteration of the susceptibility and resistance to *Schistosoma mansoni*. *Rev Soc Brasil Med Trop* ; 38(5):387-90.

ANNEXES