

# Etude de la flore bactérienne aérobie à Gram négatif de l'escargot d'élevage (*Helix aspersa*)

M.B. KIEBRE-TOE\*, E. BORGES, F. MAURIN, Y. RICHARD ET A. KODJO

Unité de Microbiologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 1 avenue Bourgelat, B.P. 83, F-69280 Marcy-l'Etoile.

\* Auteur pour la correspondance : mb.kiebre@vet-lyon.fr

## RÉSUMÉ

La nature et l'évolution du profil bactérien de la flore «normale» à Gram négatif de l'escargot (*Helix aspersa*) ont été étudiées dans trois unités héli-coles françaises à la faveur de prélèvements séquentiels.

Les résultats montrent que ces gastéropodes sont le siège d'une colonisa-tion précoce, importante et permanente. Le profil bactérien reste majoritairement dominé par des entérobactéries et des bactéries du genre *Aeromonas* quel que soit l'élevage considéré. Les entérobactéries et les *Aeromonas* représentent respectivement 62 % et 25 % des bactéries à Gram négatif chez les juvéniles. Chez les animaux adultes en fin d'engraissement, les Entérobactéries et les *Aeromonas* représentent respectivement 80 % et 7 % des bactéries à Gram négatif. Parmi les entérobactéries, les espèces des genres *Escherichia*, *Klebsiella* et *Pantoea* sont les plus importantes à la fois en nombre et en fréquence d'isolement. Parmi les *Aeromonas*, seuls *A. caviae* et *A. hydrophila* sont isolées. Les *Pseudomonas* et les autres bactéries à Gram négatif non fermentantes sont isolées de façon inconstante et dispa-raissent au cours de la période d'hibernation. Ces données pourraient contri-buer à une meilleure connaissance de la pathologie infectieuse chez l'escar-got d'élevage.

**Mots-clés :** escargot - flore bactérienne à Gram négatif - *Aeromonas* - entérobactéries.

**Study of Gram negative bacteria flora in breeding snails (*Helix aspersa*). By M.B. KIEBRE-TOE, E. BORGES, F. MAURIN, Y. RICHARD, A. KODJO,**

The nature and the evolution of Gram negative bacterial composition of healthy breeding snails were studied in investigating three French «mixed helix farms».

Results showed that in breeding conditions, these gasteropods are early, highly and permanently colonized with multiple species of bacteria. The flora mainly remained dominated by *Enterobacteriaceae* and *Aeromonadaceae* whatever the farm considered. Enterobacteries CFU/g) and aeromonads accounted for 62 % and 25 % respectively of Gram negative bacteria in young snails. At the end of the fattening stage, *Enterobacteriaceae* and *Aeromonadaceae* accounted for 80 % and 7 % of Gram negative bacteria. Within enterobacteries, species belonging to *Escherichia*, *Klebsiella* and *Pantoea* genus were the most important in terms of prevalence and intensity. Within aeromonads, only *A. caviae* and *A. hydrophila* were isolated. Pseudomonads and others Non fermentive Gram negative bacteria were inconstantly isolated and disappeared at the hibernation stage. This study may help to a better knowledge of some infec-tious diseases in these ectothermic animals.

**KEY-WORDS :** snail - Gram negative bacteria - *Aeromonadaceae*, *Enterobacteriaceae*.

## Introduction

Premier consommateur mondial d'escargots avec plus de 40 000 tonnes en équivalent vif par an, la France ne produit cependant que 1 % de sa consommation totale. Le potentiel de développement d'une production nationale a été mis à profit par les structures de recherche telles que l'INRA et l'Université de Rennes I [1] qui ont transféré aux héli-culteurs les résultats de techniques de production mis au point dans leurs laboratoires.

Cependant, comme dans la plupart des filières animales, les techniques d'intensification se sont associées à l'émer-gence de pathologies dont l'étiologie reste encore aujour-d'hui à préciser. L'héliciculture française se trouve aujour-

d'hui confrontée à un ensemble de troubles touchant la repro-duction et connus sous les terminologies de «pontes roses» et/ou «pontes transparentes» [3, 5, 10]. Plus récemment, un syndrome mortel apparemment associé à la période estivale semble avoir été à l'origine de pertes considérables dans toute la filière héli-cicole.

Si l'hypothèse d'une étiologie bactérienne (voire d'une intoxication par certains métaux lourds dont le cuivre [9]) a été avancée et laisse entrevoir des perspectives de recherches intéressantes, elle donne aussi la mesure d'un problème d'écologie microbienne qui paraît d'emblée délicat à résoudre. Le système d'élevage est conduit en «aveugle», les données sur la flore microbienne habituelle et «normale» des escargots sont rares. Une étude de cette flore de base paraissait dès lors nécessaire.

Dans ce cadre, l'objectif de notre étude était de préciser la nature et l'évolution du profil bactérien de la flore globale de l'escargot d'élevage (*Helix aspersa*) au sein de trois unités hélicoles Françaises.

## Matériel et méthodes

### A) ORIGINE DES PRÉLÈVEMENTS

Les prélèvements ont été réalisés dans trois unités hélicoles élevant essentiellement du Gros Gris (*Helix aspersa maxima*) et définis comme suit : l'élevage 1 (E1) situé à Gonsans dans le Doubs, l'élevage 2 (E2) à Cornillé-les-Caves dans le Maine et Loire, et l'élevage 3 (E3) à Chamberry en Savoie. Les élevages E2 et E3 pratiquent un système d'élevage de type dit mixte, dans lequel l'hibernation des animaux s'effectue en chambre froide, la reproduction sous serre et l'engraissement dans plusieurs parcs extérieurs. Ce système de production est le plus répandu en élevage hélicole en France [1, 2]. L'élevage E1 achète ses naissains qu'il engraisse directement en parcs extérieurs.

### B) NATURE ET RYTHME DES PRÉLÈVEMENTS

Dans chaque élevage, quatre types de prélèvements étalés d'avril 2001 à février 2002 ont été réalisés : P1 = naissains de 8 jours à leur sortie en parcs extérieurs, P2 = escargots âgés de 3 à 4 mois à mi-engraissement ; P3 = escargots âgés de 6 à 7 mois au ramassage ; P4 = escargots âgés de 9 à 10 mois en milieu d'hibernation. Les prélèvements ont été effectués par les éleveurs selon un protocole établi (Tableau I). Les échantillons ont ensuite été acheminés au laboratoire de microbiologie de l' Ecole Vétérinaire de Lyon par colis postal de type «colissimo». Les échantillons ont été congelés dès leur réception par le laboratoire.

### C) BACTÉRIOLOGIE

Les différents échantillons sont décongelés à température ambiante avant chaque manipulation. Les individus compo-

sant le prélèvement P1 sont sommairement décontaminés en surface à l'alcool à 70° avant broyage. Pour les autres prélèvements (P2, P3, P4), la coquille est enlevée et chaque escargot rincé à l'alcool à 70°. Il est ensuite repris au dixième en eau physiologique (poids/volume) puis broyé. Sur chaque broyat, une série de dilutions successives de raison dix est effectuée et 0,1 millilitre de chacune est ensemencé en double sur gélose trypticase soja, et sur milieu de Rambach. Les incubations sont effectuées à 30°C et à 37°C en aérobiose pendant 24h.

### D) IDENTIFICATION BACTÉRIENNE

Après dénombrement, sur chaque colonie différente, des tests culturaux et biochimiques sont réalisés : coloration de Gram, recherche de la mobilité, recherche de cytochrome oxydase, recherche du type respiratoire en gélose viande-foie en tube, réduction des nitrates, étude du métabolisme du glucose. Les systèmes API-Bio-Mérieux, API 20E, API 20 NE, API 50 CHE, ID 32E (Bio-Mérieux, Marcy l'Etoile, France) sont utilisés pour compléter ces tests. L'identification au genre et/ou à l'espèce a été réalisée selon les profils proposés par les systèmes API, en accord avec les critères d'espèce ou de genre définis par le Bergey's Manual of Determinative Bacteriology [4] et le Bergey's Manual of systematic Bacteriology [8].

## Résultats

Les résultats, rapportés en nombre de colonies formant unité (CFU) par gramme de substance analysée sont présentés dans les tableaux II et III et dans la figure 1.

Ces résultats montrent que l'escargot d'élevage *Helix aspersa* héberge de façon permanente une population bactérienne aérobie à Gram négatif quel que soit l'élevage considéré. La taille et le profil de cette flore évolue au sein d'un même élevage, mais aussi d'un élevage à l'autre, et ce, en fonction de l'âge des animaux. Cette évolution indique un fort taux de colonisation dès le transfert des naissains de la salle d'éclosion aux parcs extérieurs à l'âge de 8/10 jours.

Prélèvements	Nature	Agés	Nombre	Transport
P1	Naissains	8 jours	100 (1ponte)	Animaux vivants envoyés à sec, dans un pot type « pot de ponte »
P2	Escargots	3-4 mois	5	Animaux vivants envoyés à sec, dans un pot type « pot de ponte »
P3	Escargots	6-7 mois	5	Animaux vivants envoyés à sec, dans un pot type « pot de ponte »
P4	Escargots	9-10 mois	5	Animaux vivants envoyés à sec, dans un pot type « pot de ponte »

TABLEAU I. — Protocole de prélèvement des échantillons d'escargot dans les trois élevages.

Pour l'élevage E1, ce taux ( $56 \times 10^6$  CFU/g) baisse en fin d'engraissement ( $8 \times 10^6$  CFU/g), puis remonte en période d'hibernation ( $40 \times 10^6$  CFU/g) sans toutefois atteindre les valeurs observées chez les naissains. Pour l'élevage E2, ce taux ( $28 \times 10^6$  CFU/g) augmente au cours des semaines suivantes pour atteindre un pic ( $44 \times 10^6$  CFU/g) en milieu d'engraissement entre 3 et 4 mois d'âge. On observe ensuite une baisse notable des taux en fin d'engraissement ( $3 \times 10^6$  CFU/g) lorsque les animaux ont entre 7 et 8 mois d'âge et en

période d'hibernation ( $< 5 \times 10^6$  CFU/g). Pour l'élevage E3, ce taux ( $4 \times 10^6$  CFU/g) augmente progressivement au cours de la période d'élevage pour atteindre des valeurs plus élevées en période d'hibernation ( $24 \times 10^6$  CFU/g), (Tableau II, Figure 1).

La culture sur milieu de Ramback s'est révélée négative quant à la présence des espèces des genres *Salmonella* et *Shigella*.

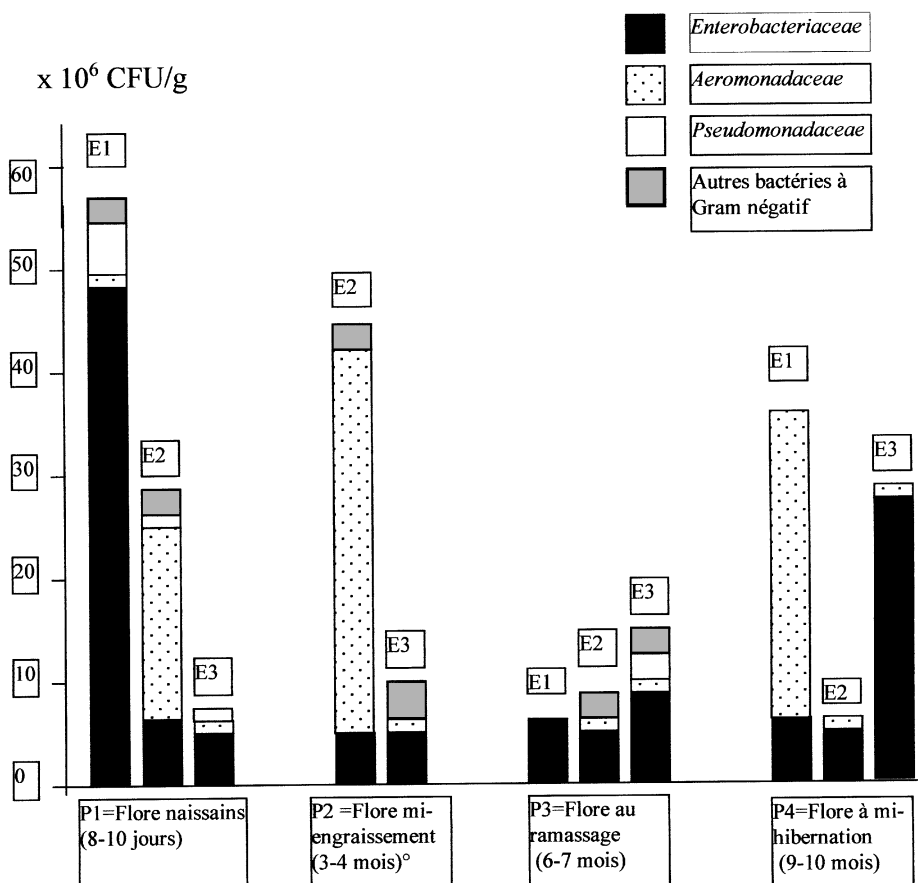


FIGURE 1. — Evolution de la flore bactérienne à Gram négatif chez l'escargot d'élevage de la sortie en parcs à l'hibernation au sein de trois élevages français.

Identification des bactéries à Gram négatif	P1 (x 10 <sup>6</sup> cfu / g)			P2 (x 10 <sup>6</sup> cfu / g)			P3 (x 10 <sup>6</sup> cfu / g)			P4 (x 10 <sup>6</sup> cfu / g)		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
<i>Aeromonadaceae</i>	1	21	0,7	NP*	40	0,6	0	0,6	0,5	34	0,21	0,9
<i>Enterobacteriaceae</i>	48	4,2	3	NP	3,3	4,5	4,2	1,3	7,6	4,6	1,5	23
<i>Pseudomonadaceae</i>	5	0,5	0,5	NP	0	0	0	0,02	1	1	0	0
Autres bactéries à Gram négatif	2	3	0	NP	1,3	2,7	0	0,94	0	0	0	0
<b>Total flore à Gram négatif **</b>	<b>56</b>	<b>28,7</b>	<b>4,2</b>	<b>NP</b>	<b>44,6</b>	<b>7,8</b>	<b>4,2</b>	<b>2,9</b>	<b>9,1</b>	<b>39,6</b>	<b>1,7</b>	<b>23,9</b>

TABLEAU II. — Composition et évolution de la flore bactérienne à Gram négatif chez l'escargot d'élevage Gros Gris de la sortie en parcs à l'hibernation au sein de trois élevages.

\* NP : prélèvements non parvenus

\*\* Moyenne sur 4 lots de 25 naissains pour P1 et sur 5 individus pour P2, P3 et P4.

Genre et/ou espèces bactériennes	Fréquence d'isolement dans les prélèvements											
	P1 (n*=4)			P2 (n=5)			P3 (n=5)			P4 (n=5)		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
<b><i>Aeromonadaceae</i></b>												
<i>A. caviae</i>		1/4			4/5	1/5		2/5	1/5		0/5	
<i>A. hydrophila</i>		1/4			2/5	3/5		2/5	1/5		0/5	2/5
<i>A. hydro. / caviae</i>	4/4	1/4	4/4		2/5	3/5		4/5	1/5	1/5	4/5	4/5
<b><i>Enterobacteriaceae</i></b>												
<i>Buttiauxella agrestis</i>	4/4	1/4	3/4		1/5			2/5	3/5	1/5	2/5	3/5
<i>Enterobacter cancerogenus</i>									1/5	1/5		2/5
<i>Enterobacter cloacae</i>		0/4	1/4		0/5	2/5		1/5	1/5		0/5	
<i>Enterobacter intermedius</i>									3/5	1/5		1/5
<i>Enterobacter sakazakii</i>		0/4			0/5			1/5			0/5	
<i>Escherichia hermannii</i>		0/4			0/5	1/5		1/5	1/5		0/5	
<i>Escherichia coli</i>		0/4	3/4									
<i>Escherichia vulneris</i>		0/4	3/4		3/5		3/5	2/5	4/5	5/5	3/5	2/5
<i>Citrobacter amalonaticus</i>							5/5					
<i>Citrobacter braakii</i>		1/4			0/5			1/5		1/5	0/5	1/5
<i>Citrobacter freundii</i>		0/4			0/5			1/5	1/5		1/5	
<i>Citrobacter youngae</i>	3/4	0/4	3/4		1/5	3/5		1/5			1/5	
<i>Hafnia alvei</i>		0/4			1/5			1/5			0/5	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2/4	1/4			3/5	4/5		3/5	3/5		2/5	
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>						2/5						
<i>Klebsiella terrigena</i>	2/4					1/5			1/5			2/5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3/4					1/5	1/5					
<i>Klebsiella spp</i>	2/4	1/4			2/5			0/5	2/5		0/5	
<i>Kluyvera ascorbata</i>	2/4											
<i>Kluyvera spp</i>												
<i>Pantoea spp</i>		0/4	4/4		2/5	4/5		0/5			0/5	
<i>Serratia liquefaciens</i>		0/4	2/4		2/5		2/5	3/5	4/5	3/5	4/5	3/5
<i>Serratia marcescens</i>					1/5		1/5				0/5	
<b><i>Pseudomonadaceae</i></b>												
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1/4	1/4			0/5			0/5		1/5	0/5	
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>		0/4	1/4		0/5			1/5			0/5	
<i>Pseudomonas putida</i>												
<i>Pseudomonas mendocina</i>	2/4	2/4	2/4		0/5			0/5		1/5	0/5	
<b>Autres bactéries Gram négatif</b>												
<i>Acinetobacter junii</i>		0/4			1/5			2/5			0/5	
<i>A. haemolyticus</i>						2/5			1/5			
<i>A. lwofii</i>		0/4			0/5	1/5		0/5			0/5	
<i>Brevundimonas vesicularis</i>						2/5			1/5			
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	3/4	1/4						3/5	1/5		0/5	
<i>Flavobacterium spp</i>					1/5	1/5						
<i>Moraxella spp</i>						1/5						
<i>Oligella urethralis</i>						1/5						
<i>Shewanella putrefaciens</i>	0/4	1/4			0/5			0/5			0/5	
<i>Sphingobacterium multivorum</i>		0/4			4/5			0/5			0/5	
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>		1/4			2/5			0/5			0/5	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		1/4			0/5			0/5			0/5	

TABEAU III. — Profil et fréquence d'isolement des genres et/ou espèces bactériennes de Gram négatif chez l'escargot d'élevage *Helix aspersa* de la sortie en parcs à l'hibernation au sein des trois élevages E1, E2, E3.

## Discussion

L'ensemble des résultats montre que le profil bactérien varie d'un élevage à l'autre. La flore aérobie à Gram négatif comprend une population dominante d'Entérobactéries telluriques au sein des élevages E1 et E3 (respectivement 65 % et 78 %), tandis que les *Aeromonas* dominent au sein de l'élevage E2 (75 %), suivi en terme d'importance par des Entérobactéries (14 %). Les *Pseudomonas* et les autres bactéries à Gram négatif (*Acinetobacter*, *Chryseobacterium*, ...) représentent une part infime et peu variable de l'ensemble de la flore isolée tout au long de la période considérée au sein des trois élevages.

La composition de cette flore bactérienne subit par ailleurs des variations d'un individu à l'autre, mais elle reste majoritairement et constamment dominée par les *Aeromonas* (*A. caviae*, *A. hydrophila*) et les Entérobactéries telluriques appartenant au genre *Escherichia* (*E. vulneris*), *Klebsiella* (*K. oxytoca*), *Pantoea*, *Citrobacter* (*C. freundii*, *C. braakii*), *Buttiauxella* (*B. agrestis*). Des espèces appartenant au genre *Enterobacter* (*E. cloacae*, *E. intermedius*) ont été davantage isolées en fin d'engraissement et en période d'hibernation dans les différents élevages. *Escherichia coli* a été isolé uniquement chez les naissains des élevages E1 et E2. *Citrobacter amalonaticus* était présent chez tous les naissains de l'élevage E1. Les espèces bactériennes appartenant au genre *Pseudomonas* (*P. mendocina*, *P. fluorescens*) ont été isolées de façon inconstante chez quelques juvéniles des élevages E2 et E3. Parmi les autres espèces bactériennes à Gram négatif et présents de façon sporadique, *Shewanella putrefaciens* a été isolé uniquement dans l'élevage E2, mais reste inféodée aux animaux de 3-4 mois d'âge.

L'étude réalisée par KODJO et coll. (1996) [6], sur la flore bactérienne aérobie de l'appareil génital de l'escargot *Helix aspersa aspersa* a mis en évidence la faible présence de bactéries à Gram positif dans les différents échantillons (< 10% de la flore totale). Ces résultats nous ont permis de cibler notre recherche sur les bactéries à Gram négatif, majoritairement rencontrées chez l'escargot, et d'orienter le choix des protocoles expérimentaux.

Les méthodes d'identification utilisées se sont inspirées des travaux antérieurs effectués au laboratoire de microbiologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon [3, 5, 6, 7, 10]. Il convient de rappeler qu'à l'heure actuelle, aucune méthode standardisée de référence ne permet d'identifier avec exactitude la plupart des espèces bactériennes rencontrées chez l'escargot. Les systèmes API que nous avons utilisé sont conçus pour une identification des espèces habituellement rencontrées en bactériologie médicale. Leur utilisation dans notre étude s'est néanmoins révélée intéressante dans la majorité des cas puisque la plupart des espèces identifiées par ce système ont été confirmées à l'aide des méthodes proposées dans les manuels «Bergey's manual of determinative bacteriology» et «Bergey's manual of systematic bacteriology». Par ailleurs, le fait que ces germes isolés aient pour la majorité d'entre eux un habitat hydrotellurique a été un critère satisfaisant d'acceptation de l'espèce. Dans de rares cas, il n'a pas été possible d'identifier l'isolat au rang d'espèce.

La présente étude avait pour but de contribuer à une meilleure connaissance de la flore bactérienne de base chez l'escargot d'élevage. Dans ce sens, elle venait en complément des études préliminaires sur la flore bactérienne de l'appareil génital chez cet animal. Le profil de la flore bactérienne établi dans la présente étude démontre l'existence d'une flore endogène polymicrobienne chez l'escargot d'élevage. Des variations d'effectifs de populations et de genre bactériens existent d'un individu à l'autre au sein d'un même groupe d'âge, mais aussi entre les différents groupes d'âge. Ces variations s'observent aussi bien au sein d'un même élevage, que d'un élevage à l'autre. Cependant, nous pouvons, dans le cadre de notre étude dégager les observations suivantes : (1) Le profil de la flore basale semble être polymicrobien et représenté majoritairement par au minimum 4 genres bactériens différents (*Aeromonas*, Entérobactéries, *Pseudomonas*, groupe des bactéries à Gram négatif non fermentants). (2) Parmi les principaux genres en présence, les Entérobactéries et les *Aeromonas* représentent les populations dominantes à la fois en fréquence et en nombre d'isolement sur l'ensemble des trois élevages. (3) Les Entérobactéries représentent la population dominante dans les élevages E1 et E3, avec un rapport de 6 pour 1 comparativement aux autres groupes. Ce groupe est soumis à d'énormes fluctuations dans le temps. La période d'hibernation lui semble la moins favorable dans l'élevage E1, et la plus propice dans l'élevage E3 qui se situe dans la région la plus septentrionale. A l'inverse, l'élevage E2 présente une population bactérienne à dominante d'*Aeromonas*, dans un rapport de 9 pour 1 comparativement aux autres groupes. La sortie en parcs et la mi-engraissement sont les périodes les plus favorables. (4) Les *Pseudomonas* et autres bactéries à Gram négatif non fermentants sont très faiblement présents et de façon sporadique ; ils disparaissent au cours de la période d'hibernation au profit des Entérobactéries et des *Aeromonas* quel que soit l'élevage considéré.

L'étude sur la flore bactérienne de l'appareil génital de l'escargot [6] rapporte une augmentation de la population bactérienne avec l'âge des animaux, associée à une prédominance de la population des Entérobactéries et une plus faible représentation des *Aeromonas*. Dans notre étude, les résultats de l'élevage E3 semblent aboutir aux mêmes conclusions. L'élevage E3 a été par ailleurs le site des prélèvements de l'étude sur la flore bactérienne de l'appareil génital. La constance de ces résultats au sein du même élevage à plusieurs années d'intervalle peut se comprendre du fait de la constance même des techniques de production appliquées. En effet, l'élevage E3 est un site pilote pédagogique (Lycée Agricole) avec des pratiques standard variant peu dans le temps. Les résultats de l'élevage E2 semblent contraires à ceux obtenus par KODJO et coll en 1996 [6]. En effet, les *Aeromonas* y prédominent, et, à partir de 3/4 mois d'âge, la population bactérienne décroît sensiblement jusqu'à atteindre des proportions 8 fois moindre en pleine hibernation. Cette décroissance est présente dans l'élevage E1. Cependant, ces résultats portent à conclure avec prudence ; les travaux de KODJO et coll [6] ne s'intéressaient qu'à l'appareil génital, tandis que nous avons étudié la flore endogène de l'escargot entier.

Néanmoins, ces deux études convergent quant à la présence chez l'escargot d'élevage d'une flore endogène composée de bactéries ubiquistes, aptes à coloniser les biotopes environnementaux (eaux, sol, végétaux). Au vu des résultats d'ensemble, les Entérobactéries dominent dans les élevages E1 et E3 situés en région Est et soumis à un climat plus froid, de type continental. Les *Aeromonas* sont majoritairement présents dans l'élevage E2 situé en région Ouest, et davantage soumis à un climat de type océanique plus doux. Face à ces bactéries ubiquistes, cet animal ectotherme semble être tout au plus un bio-indicateur.

Des travaux préliminaires effectués sur la mortalité estivale chez l'escargot d'élevage [7], ont montré qu'au cours de cet épisode, il interviendrait une nette modification de la flore bactérienne au profit des espèces bactériennes du genre *Aeromonas*. Il semble qu'une modification du profil microbien «normal» intervienne au cours du processus pathologique sans que l'on puisse affirmer avec certitude quelle en est la cause. Des conclusions similaires avaient déjà été rapportées lors des travaux de DEGEZ (1992) et de ROUS (1993) sur la pathologie des «pontes roses» et/ou «transparentes» chez *Helix aspersa*.

Quoi qu'il en soit, les résultats que nous rapportons tendraient à confirmer l'hypothèse d'une étiologie bactérienne dans l'une ou l'autre de ces pathologies. Cependant, il convient de rester prudent, tant que les études restent fragmentaires et sans lien établies entre elles.

## Conclusion

L'escargot d'élevage Gros Gris héberge de façon permanente une population bactérienne dont le faciès évolue dans le temps et l'espace. Cette population endogène essentiellement composée de bactéries à Gram négatif, comprend majoritairement des *Aeromonas* et des Entérobactéries d'origine

hydrotellurique. L'escargot est souvent utilisé comme animal sentinelle apte à refléter certaines caractéristiques des biotopes qu'il occupe. Une plus grande prise en compte des conditions d'élevage impliquant une diversité géographique des lieux de prélèvement viendront étayer les différentes hypothèses avancées jusque là.

## Bibliographie

1. — BONNET (J. C.), AUPINEL (P.) et VRILLON (J. L.) : L'escargot *Helix aspersa*, biologie - élevage. Du labo au terrain, INRA, Paris, 1990.
2. — DAGUSAN (J.) : Contribution à l'élevage de l'escargot Petit Gris *Helix aspersa* Müller (Mollusque Gastéropode Pulmoné Stylommatophore). III. Elevage mixte (reproduction en b, timents contrôlés - engraissement en parc extérieur). Activité des individus et évolution de la population juvénile selon la charge biotique du parc. *Annales Zootechniques*, 1985, **34**, 127-148.
3. — DEGEZ (P.) : Contribution à l'étude de la pathologie des pontes associées aux pontes anormales chez *Helix aspersa*. Thèse Vétérinaire, 131 p. Université Claude Bernard de Lyon, 1992.
4. — HOLT (J. B.), KRIEG (N. R.), SNEATH (P. H. A.), STALEY (J.T.) et WILLIAMS (S. T.) (ed) : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1994.
5. — HUGON (F.) : Ecologie microbienne de l'appareil reproducteur de l'escargot. Caractérisation de 38 souches de *Vibrionaceae* isolées dans un élevage d'*Helix aspersa* à pontes roses. Diplôme d'Etudes Approfondies, 71 p. Université Claude Bernard de Lyon, 1993.
6. — KODJO (A.), BORGES (E.), MAURIN (F.) et RICHARD (Y.) : Contribution à l'étude de la flore bactérienne aérobie de l'appareil génital de l'escargot Petit Gris (*Helix aspersa*). *Revue Méd. Vét.*, 1996, **147**, 825-830.
7. — KODJO A., F. HAOND and Y. RICHARD : Molecular and phenotypic feature of *Aeromonads* isolated from snails (*Helix aspersa*) affected with a new summer disease. *J. Vet. Med. B* **44**, 1997, 245-252.
8. — KRIEG (N. R.) et HOLT (J. B.) (ed) : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. I. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1984.
9. — PIHAN (F.) : Caractérisation de mollusques gastéropodes terrestres en tant que bioindicateurs de la contamination polymétallique (Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Zn, Cd et Pb). Thèse de Doctorat de l'université de Metz, 398 p. Université de Metz, 2001.
10. — ROUS (V.) : Contribution à l'étude de la flore bactérienne associée à une ponte anormale chez *Helix aspersa* : les pontes transparentes. Thèse de Doctorat vétérinaire, 113 p. Université Claude Bernard de Lyon, 1993.