



ANNEE 2007 THESE : 2007 – TOU 3 – 4025

□

# COMPARAISON DE LA REPONSE ANTICORPS SYSTEMIQUE DES OVINS BARBADOS BLACK BELLY ET INRA 401 LORS D'INFESTATIONS EXPERIMENTALES PAR *Haemonchus contortus* (Nematoda : Trichostrongylidae)

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2007  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*  
**Juliette, Marie PENICAUD**  
Née le 23 juillet 1981 à MEAUX (Seine et Marne)

---

**Directeur de thèse : M. le Docteur Philippe JACQUIET**

---

**JURY**

**PRESIDENT :**  
**M. Alexis VALENTIN** Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

**ASSESEUR :**  
**M. Philippe JACQUIET** Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
**Mlle Caroline LACROUX** Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



---

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE  
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	<b>A. MILON</b>
Directeurs honoraires	M.	<b>G. VAN HAVERBEKE</b>
	M.	<b>J. FERNEY</b>
	M.	<b>P. DESNOYERS</b>
Professeurs honoraires	M.	<b>L. FALIU</b>
	M.	<b>C. LABIE</b>
	M.	<b>C. PAVAU</b>
	M.	<b>F. LESCURE</b>
	M.	<b>A. RICO</b>
	M.	<b>D. GRIESS</b>
	M.	<b>A. CAZIEUX</b>
	Mme	<b>V. BURGAT</b>
	M.	<b>J. CHANTAL</b>
	M.	<b>J.-F. GUELF</b>
	M.	<b>M. ECKHOUTTE</b>

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

M.	<b>BRAUN Jean-Pierre</b> , <i>Physique et Chimie biologiques et médicales</i>
M.	<b>CABANIE Paul</b> , <i>Histologie, Anatomie pathologique</i>
M.	<b>DARRE Roland</b> , <i>Productions animales</i>
M.	<b>DORCHIES Philippe</b> , <i>Parasitologie et Maladies Parasitaires</i>
M.	<b>EUZEBY Jean</b> , <i>Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie</i>
M.	<b>TOUTAIN Pierre-Louis</b> , <i>Physiologie et Thérapeutique</i>

**PROFESSEURS 1<sup>ère</sup> CLASSE**

M.	<b>AUTEFAGE André</b> , <i>Pathologie chirurgicale</i>
M.	<b>BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy</b> , <i>Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie</i>
M.	<b>CORPET Denis</b> , <i>Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires</i>
M.	<b>DELVERDIER Maxence</b> , <i>Anatomie pathologique</i>
M.	<b>ENJALBERT Francis</b> , <i>Alimentation</i>
M.	<b>FRANC Michel</b> , <i>Parasitologie et Maladies Parasitaires</i>
M.	<b>HENROTEAUX Marc</b> , <i>Médecine des carnivores</i>
M.	<b>MARTINEAU Guy-Pierre</b> , <i>Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour</i>
M.	<b>PETIT Claude</b> , <i>Pharmacie et Toxicologie</i>
M.	<b>REGNIER Alain</b> , <i>Physiopathologie oculaire</i>
M.	<b>SAUTET Jean</b> , <i>Anatomie</i>
M.	<b>SCHELCHER François</b> , <i>Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour</i>

**PROFESSEURS 2<sup>e</sup> CLASSE**

Mme	<b>BENARD Geneviève</b> , <i>Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale</i>
M.	<b>BERTHELOT Xavier</b> , <i>Pathologie de la Reproduction</i>
M.	<b>CONCORDET Didier</b> , <i>Mathématiques, Statistiques, Modélisation</i>
M.	<b>DUCOS Alain</b> , <i>Zootéchnie</i>
M.	<b>DUCOS de LAHITTE Jacques</b> , <i>Parasitologie et Maladies parasitaires</i>
M.	<b>GUERRE Philippe</b> , <i>Pharmacie et Toxicologie</i>
Mme	<b>HAGEN-PICARD Nicole</b> , <i>Pathologie de la Reproduction</i>
Mme	<b>KOLF-CLAUW Martine</b> , <i>Pharmacie-Toxicologie</i>
M.	<b>LEFEBVRE Hervé</b> , <i>Physiologie et Thérapeutique</i>
M.	<b>LIGNEREUX Yves</b> , <i>Anatomie</i>
M.	<b>PICAVET Dominique</b> , <i>Pathologie infectieuse</i>
Mlle	<b>TRUMEL Catherine</b> , <i>Pathologie médicale des Equidés et Carnivores</i>

**INGENIEUR DE RECHERCHES**

---

M.	<b>TAMZALI Youssef</b> , <i>Responsable Clinique équine</i>
----	---

**PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

Mme	<b>MICHAUD Françoise</b> , <i>Professeur d'Anglais</i>
M.	<b>SEVERAC Benoît</b> , <i>Professeur d'Anglais</i>

## MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

## MAÎTRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*  
Mme **BOUCRAUT-BARALON Corine**, *Pathologie infectieuse*  
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*  
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*  
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*  
Mme **BRET-BENNIS Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*  
Mme **CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
Mme **COLLARD-MEYNAUD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*  
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du bétail*  
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*  
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé Avicoles et Cunicoles*  
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*  
Mme **MEYNADIER-TROEGELER Annabelle**, *Alimentation*  
M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*  
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*  
Mme **RAYMOND-LETRON Isabelle**, *Anatomie pathologique*  
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*  
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

## MAÎTRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie du bétail*  
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique des animaux de rente*  
M. **NOUVEL Laurent-Xavier**, *Pathologie de la reproduction*  
M. **REYNOLDS Brice**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*  
M. **VOLMER Romain**, *Infectiologie*

## ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*  
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*  
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*  
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*

**A notre Président de thèse,**

**Monsieur le Professeur Alexis VALENTIN**

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

*Zoologie-Parasitologie*

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,  
Hommage respectueux.

\*\*\*

**A notre Jury de thèse,**

**Monsieur le Docteur Philippe JACQUIET**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Parasitologie et Maladies parasitaires*

Qui nous a confié ce travail et nous a guidé dans son élaboration,  
Qu'il trouve ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

**MADAME LE DOCTEUR CAROLINE LACROUX**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Anatomie pathologique des animaux de rente*

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,  
Qui nous a fourni une aide inestimable,  
Sincères remerciements.

\*\*\*

A ma Mère,  
Qui compte pour moi plus que tout au monde, je salue ton courage petite maman.

A mon Père,  
Mon modèle, sans qui je ne serais pas devenue ce que je suis,  
Merci d'être toujours là pour moi.

A mes Amis,  
Aurélie H., Julie L., Anne-Sophie B., Noémie C. et Mathieu D.  
A toutes nos rigolades d'étudiants et à notre complicité,  
Vous serez toujours présents dans mon cœur.

A mes Chats...  
Et aux autres s'ils pensent à moi.

*Nous tenons de notre famille aussi bien les idées dont nous vivons  
que la maladie dont nous mourrons.*

Marcel Proust

# TABLE DES MATIERES

<b>TABLE DES MATIERES</b> .....	<b>1</b>
<b>TABLE DES ILLUSTRATIONS</b> .....	<b>10</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>12</b>
<b>CHAPITRE I: CONTEXTE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>14</b>
I.    GENERALITES SUR <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i> .....	14
A. <i>Classification des Trichostrongles gastro-intestinaux des ovins</i> .....	14
B. <i>Caractéristiques morphologiques d'Haemonchus contortus</i> .....	15
C. <i>Cycle évolutif d'Haemonchus contortus</i> .....	16
D. <i>Répartition géographique et capacités adaptatives</i> .....	17
II.   L'HAEMONCHOSE OVINE.....	18
A. <i>Epidémiologie</i> .....	18
B. <i>Symptômes</i> .....	19
C. <i>Lésions</i> .....	21
D. <i>Diagnostic</i> .....	21
III.  LA LUTTE CHIMIQUE CONTRE <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i> .....	22
A. <i>Les anthelminthiques et leurs modes d'action</i> .....	22
B. <i>La résistance aux anthelminthiques</i> .....	24
IV.   METHODES ALTERNATIVES DE LUTTE CONTRE LES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX	
.....	27
A. <i>Tarir les sources de contamination</i> .....	27
B. <i>Augmenter la résistance de l'hôte</i> .....	28
V.   LA REPONSE IMMUNITAIRE DES OVINS FACE AUX STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX ...	40
A. <i>La réponse immunitaire innée</i> .....	40
B. <i>La réponse immunitaire adaptative</i> .....	42
C. <i>Conséquences de la réponse immunitaire adaptative sur les traits de vie du parasite</i>	
.....	52
<b>CHAPITRE II: ETUDE EXPERIMENTALE</b> .....	<b>55</b>
I.    OBJECTIFS DES TRAVAUX DE THESE .....	55
II.   MATERIELS ET METHODES .....	56
A. <i>Modèles expérimentaux</i> .....	56
B. <i>Etudes des populations parasitaires</i> .....	60
C. <i>Exploration de la réponse immunitaire humorale</i> .....	62
D. <i>Analyses statistiques</i> .....	65
III.  RESULTATS .....	66
A. <i>Comparaison des réponses anticorps à IgG totales dans le sérum des ovins INRA</i>	
<i>401 et Barbados Black Belly (BBB) lors d'infestation par H. contortus</i> .....	66
B. <i>Résultats parasitologiques</i> .....	70
C. <i>Relation entre la réponse anticorps systémique à IgG et les paramètres</i>	
<i>parasitologiques</i> .....	74
IV.   DISCUSSION.....	76
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>79</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>81</b>
<b>ANNEXES</b> .....	<b>97</b>

# TABLE DES ILLUSTRATIONS

## □ Liste des Figures

Figure 1 : Cycle évolutif d' <i>Haemonchus contortus</i> chez les ovins .....	17
Figure 2: Organisation générale de la réponse immunitaire adaptative (Lacroux, 2006a) .....	42
Figure 3 : Répartition chronologique des prises de sang .....	63
Figure 4a: Réponse IgG systémique spécifique des PES de vers adultes chez les ovins des groupes A (abattage 4j post-infestation) .....	68
Figure 4b: Réponse IgG systémique spécifique des PES de vers adultes chez les ovins des groupes A (abattage 30j post-infestation) .....	68
Figure 4c : Réponse IgG systémique spécifique des PES de vers adultes chez les ovins des groupes B (abattage 30j post-infestation) .....	68
Figure 5a: Réponse IgG systémique spécifique des AgL <sub>3</sub> chez les ovins des groupes A (abattage 4j post-infestation) .....	69
Figure 5b: Réponse IgG systémique spécifique des AgL <sub>3</sub> chez les ovins des groupes A (abattage 30j post-infestation) .....	69
Figure 5c: Réponse IgG systémique spécifique des AgL <sub>3</sub> chez les ovins des groupes B (abattage 30j post-infestation) .....	69
Figure 6b: Moyennes des coproscopies durant la 2 <sup>nd</sup> e phase d'infestation.....	72
Figure 6a: Moyennes des coproscopies durant la phase initiale de primo-infestation.....	72

## □ Listes des Tableaux

Tableau 1: Tableau clinique d'une forme aiguë d'haemonchose (Chermette, 1982).....	20
Tableau 2: Principaux anthelminthiques actifs chez les ovins, noms déposés, posologies recommandées et temps d'attente à respecter. (DMV, 2005) .....	23
Tableau 3: Quelques études montrant la résistance à <i>H. contortus</i> entre races ovines .....	31
Tableau 4: Activité biologique des principales cytokines Th <sub>2</sub> (d'après Lacroux, 2006a) .....	46
Tableau 5: Description chronologique de l'expérimentation .....	59
Tableau 6 : Conditions optimales de détection d'IgG sériques, dirigées contre des antigènes d'excrétion-sécrétion de vers adultes (Ag ES) ou contre des antigènes de broyat total de larves L <sub>3</sub> ( Ag L <sub>3</sub> ) d' <i>Haemonchus contortus</i> , par technique ELISA. ....	64
Tableau 7: Nombre total de vers, longueur et nombre d'œufs <i>in utero</i> des vers adultes femelles, stade parasitaire et genre des populations d' <i>Haemonchus contortus</i> .....	73
Tableau 8a: Coefficients de corrélation entre la réponse anticorps et les paramètres parasitologiques, en fonction des groupes des agneaux abattus à J75 .....	75

Tableau 8b: Coefficients de corrélation entre la réponse anticorps et les paramètres parasitologiques, en fonction de la race des agneaux abattus à J75 .....	75
Tableau 8c: Coefficients de corrélation entre la réponse anticorps et le pourcentage d'installation des larves, chez les agneaux abattus à J49 .....	75

#### ❑ Listes des Photographies

Photo 1: <i>H. contortus</i> adultes sur la muqueuse d'une caillette de mouton .....	15
Photo 2: Extrémité antérieure d' <i>H. contortus</i> munie d'une lancette (Ó J.A. Van Wyk) .....	15
Photo 3: Vulve du vers femelle (© Mériat 2001).....	15
Photo 4 : Bourse copulatrice du mâle (Pr. L. de Vos, ÓBiodic 2003).....	15
Photo 5: Papille cervicale (Pr. L. de Vos, ÓBiodic 2003) .....	15
Photo 6: Oedème de l'auge dû à l'haemonchose aiguë (= bottle jaw) .....	20
Photo 7: Ovins de race INRA 401.....	56
Photo 8: Brebis Barbados Black Belly (S. Schoenian © 2000) .....	57
Photo 9: Bélier Barbados Black Belly .....	57

### Annexes

Tableau 9a : Résultats des tests ELISA pour les moutons abattus à j49 (abattages précoces) – Utilisation de l'antigène ES .....	97
Tableau 9b : Moyennes des densités optiques (DO) et écart-types (ET) [moutons j49/Ag ES] .....	97
Tableau 10a : Résultats des tests ELISA pour les moutons abattus à j75 (abattages tardifs) - Utilisation de l'antigène ES .....	98
Tableau 10b : Moyennes des densités optiques (DO) et écarts-types (ET) [moutons j75/Ag ES].....	99
Tableau 11a : Résultats des tests ELISA pour les moutons abattus à j49 (abattages précoces) – Utilisation de l'antigène L <sub>3</sub> .....	100
Tableau 11b : Moyennes des densités optiques (DO) et écart-types (ET) [moutons j49/Ag L <sub>3</sub> ] .....	100
Tableau 12a : Résultats des tests ELISA pour les moutons abattus à j75 (abattages tardifs) - Utilisation de l'antigène L <sub>3</sub> .....	101
Tableau 12b : Moyennes des densités optiques (DO) et écart-types (ET) [moutons j75/Ag L <sub>3</sub> ] .....	102



# INTRODUCTION

La France est le troisième pays producteur de petits ruminants de l'Union européenne derrière le Royaume-Uni et l'Espagne. Le cheptel ovin français se compose d'environ 9 millions d'animaux, dont 6,7 millions de femelles reproductrices (majoritairement des brebis allaitantes) réparties dans approximativement 50 000 élevages. Plus de la moitié des effectifs de brebis et d'agnelles est localisée dans 4 régions du sud de la France : le Poitou-Charentes, l'Aquitaine, la région Midi-Pyrénées et la région Provence-Alpes-Côtes d'Azur. (Source : Office de l'élevage, d'après SCEES, 2004).

Les dépenses liées à l'entretien sanitaire des animaux font partie des frais les plus importants pour l'éleveur de moutons, avec comme contrainte incontournable la gestion du parasitisme au sein de son troupeau. Les strongyloses gastro-intestinales font partie des troubles parasitaires le plus souvent rencontrés. L'haemonchose, due au nématode *Haemonchus contortus*, en fait partie. Ce parasite cosmopolite est très pathogène chez les moutons. S'il n'est pas le nématode majoritaire en région tempérée, il fait des ravages dans les populations ovines tropicales (Aumont et al., 1997 ; Jacquet, 2000). *Haemonchus contortus* est un ver hématophage localisé dans la caillette des petits ruminants. L'anémie résultant de l'infestation génère des troubles métaboliques conduisant à la non valeur économique de l'animal voire à sa mort. Les pertes de production engendrées sont considérables. Elles sont dues autant au manque à gagner lié à l'animal lui-même (diminution des performances zootechniques) qu'aux dépenses sanitaires déboursées pour lutter contre ce parasite. (Chermette, 1982)

Actuellement, le contrôle de l'haemonchose est réalisée à l'aide de traitements anthelminthiques. Toutefois, ce nématode développe des résistances à ces molécules chimiques, et dans certaines régions du globe, des populations d'*H. contortus* sont désormais résistantes à toutes les classes d'anthelminthiques connues. C'est pourquoi il est urgent de développer des méthodes alternatives à l'emploi de ces molécules de synthèse. La mise au point de vaccins ou l'utilisation de races génétiquement résistantes à ce nématode en font partie. En effet, des différences de résistance à *H. contortus* entre races ovines ont été rapportées à maintes reprises. Mais les mécanismes qui pourraient les expliquer sont mal connus. L'origine immunitaire sous contrôle génétique est l'une des hypothèses les plus privilégiées (Woolaston et Baker, 1996a).

Dés lors, la connaissance des mécanismes immunitaires innés ou adaptatifs impliqués dans la régulation des populations du parasite est une étape préliminaire essentielle. Plusieurs études se sont déjà attachées à décrire les séquences de la réponse immunitaire concernant l'activité des anticorps ou des effecteurs cellulaires contre *H. contortus*, mais les questions non résolues sont encore nombreuses (Gill et al., 1992, 1993b, 2000 ; Schallig, 2000 ; Miller et Horohov, 2006).

Dans nos travaux, nous avons choisi de nous intéresser aux immunoglobulines G systémiques mises en évidence lors d'infestation par *H. contortus*, en comparant leur production et leurs rôles entre deux races ovines, l'une réputée sensible au parasite : la race INRA 401, et l'autre connue pour être résistante : le Barbados Black Belly (Aumont et al., 2003 ; Gruner et al., 2003). Nos objectifs ont d'abord été de décrire et de comparer entre les deux races la réponse IgG systémique contre deux antigènes parasitaires (produits d'excrétion-sécrétion de vers adultes et extraits somatiques de larves L<sub>3</sub>) en titrages ELISA lors d'infestations expérimentales. Ensuite, les paramètres liés aux traits de vie d'*H. contortus* ont été analysés. Enfin, l'analyse des corrélations entre réponse anticorps et paramètres parasitologiques a été effectuée afin de préciser l'implication des IgG dans la réponse immunitaire contre le parasite chez les INRA 401 et les Barbados Black Belly.

# CHAPITRE I: CONTEXTE BIBLIOGRAPHIQUE

## I. GENERALITES SUR *HAEMONCHUS CONTORTUS*

### A. Classification des Trichostrongles gastro-intestinaux des ovins

La classification des Trichostrongles a été établie par Durette-Desset et Chabaud (1993) :

<b>Phylum</b>	<b>Némathelminthes</b>
<b>Classe</b>	<b>Nématodes</b>
<b>Sous-Classe</b>	<b>Secernentea</b>
<b>Ordre</b>	<b>Strongylida</b>
<b>Sous-Ordre</b>	<b>Trichostrongylina</b>
<b>Super-Famille</b>	<b>Trichostrongyloidea</b>
<b>Famille</b>	<b>Trichostrongylidae</b>

La majorité des strongles gastro-intestinaux des ruminants appartient à la famille des Trichostrongylidae, subdivisée en quatre sous-familles (Haemonchinae, Trichostrongylinae, Ostertagiinae et Cooperiinae). Parmi les Haemonchinae, le genre *Haemonchus*, qui parasite la caillette des ruminants, comprend 10 espèces, mais seules 4 d'entre elles parasitent les ruminants domestiques (Jacquiet, 2000).

- *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) chez les ovins et caprins
- *Haemonchus similis* (Travassos, 1914) chez les bovins
- *Haemonchus placei* (Place, 1893) chez les bovins
- *Haemonchus longistipes* (Raillet et Henry, 1909) chez les dromadaires

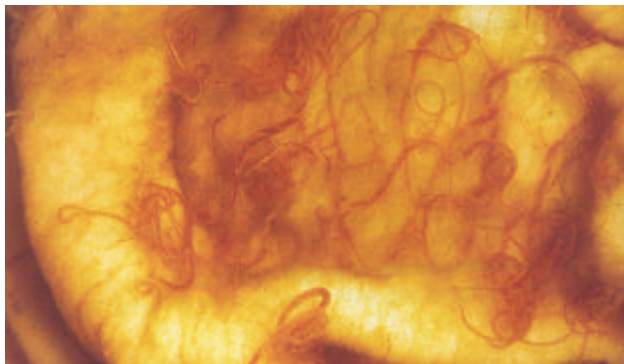
Seul *Haemonchus contortus* est cosmopolite, les 3 autres espèces ne se rencontrant pas en Europe.

## B. Caractéristiques morphologiques d'*Haemonchus contortus*

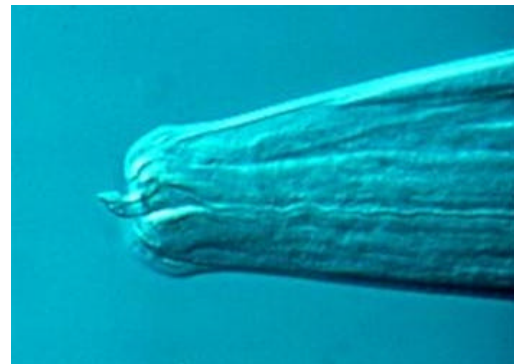
Les adultes sont facilement identifiables par leur localisation spécifique dans la caillette des ovins, leur grande taille (15 à 35 mm de long sur 0,4 à 0,6 mm de large) et une coloration brun-rosée uniforme due à l'hématophagie. Leur extrémité antérieure possède des papilles céphaliques bien développées et est constituée d'une ébauche de capsule buccale conique renfermant une petite lancette. Cette lancette est en fait une dent vestigiale perforante dont les parasites se dotent juste avant leur dernière mue, elle leur permet d'atteindre la lumière des capillaires sanguins de la muqueuse.

- *la femelle* : ses 2 cordons génitaux blancs spiralés s'enroulent autour du tube digestif rougeâtre (« vers mirliton»). La vulve, localisée au quart de la longueur du corps en avant de l'extrémité caudale, est en général surmontée d'une languette supra-vulvaire.

- *le mâle* : plus petit que la femelle, sa bourse copulatrice est formée de 2 grands lobes latéraux et d'un petit lobe dorsal asymétrique bardé de 2 spicules (0,5 mm) et soutenu par une côte en Y. (Bussiéras et Chermette, 1991 ; Bowman, 1999 ; Urquhart et al., 1996b)



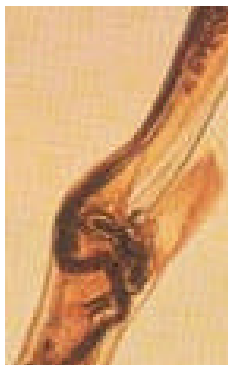
**Photo 1:** *H. contortus* adultes sur la muqueuse d'une caillette de mouton. (<http://www.smo.uhi.ac.uk>)



**Photo 2:** Extrémité antérieure d'*H. contortus* munie d'une lancette

(© J.A. Van Wyk)

(<http://www.wormboss.com.au/LivePage.aspx?pageId=437>)



**Photo 3:** Vulve du vers femelle (©Merial 2001) (<http://au.merial.com/producers/sheep/disease/haemo.html>)



**Photo 4 :** Bourse copulatrice du mâle (Pr. L. de Vos, ©Biodic 2003). (<http://www.ulb.ac.be/sciences/biodic/ImNematodes.html>)



**Photo 5:** Papille cervicale (Pr. L. de Vos, ©Biodic 2003). (<http://www.ulb.ac.be/sciences/biodic/ImNematodes.html>)

## C. Cycle évolutif d'*Haemonchus contortus*

*Haemonchus contortus* a un cycle évolutif monoxène (absence d'hôte intermédiaire) à deux phases. Une phase libre dans le milieu extérieur ou phase externe et une phase parasitaire chez l'hôte ou phase interne.

**La phase libre** débute avec l'élimination d'œufs pondus par les vers femelles dans les matières fécales de l'hôte. Leur température optimale de développement est comprise entre 20 et 30°C. Par contre, ils ne se développent pas lorsque la température est inférieure à 9°C (Chermette, 1982). Ces œufs éclosent et donnent des larves L<sub>1</sub> qui muent en larves L<sub>2</sub>. Ces deux premiers stades se nourrissent de matières organiques et de micro-organismes des matières fécales. Ils sont peu résistants dans le milieu extérieur ce qui explique un taux de mortalité très élevé. Les larves L<sub>2</sub> évoluent ensuite en larves infestantes L<sub>3</sub> au cours d'une deuxième mue incomplète car la larve reste engainée dans la gaine ou exuvie de L<sub>2</sub>. Les larves de stade 3 sont très résistantes dans l'environnement puisqu'elles sont protégées par leur exuvie. Elles peuvent ainsi survivre plusieurs mois sur une pâture grâce à leurs réserves lipidiques. Ces larves de troisième stade constituent le stade infestant. L'évolution et la survie des stades libres sont directement dépendants des conditions climatiques : des températures comprises entre 25° et 30°C et une forte humidité leur sont très favorables tandis que des températures supérieures à 40°C et la déshydratation les tuent rapidement.

**La phase parasitaire** débute quand les larves L<sub>3</sub> sont ingérées par l'hôte. Ces larves vont perdre leur exuvie lors du passage dans le rumen, puis elles vont séjourner plusieurs jours dans les sacs glandulaires abomasaux où elles muent en larves L<sub>4</sub>. A ce stade, il est fréquent que les larves s'enkystent dans la muqueuse digestive et retardent leur développement (phénomène d'« hypobiose larvaire » ou de « développement retardé » des larves). Puis elles regagnent la lumière de l'organe. Une dernière mue permettra ensuite aux larves L<sub>4</sub> d'atteindre le stade juvénile (parfois appelé stade 5) puis adulte. Après fécondation, les femelles pondent des œufs qui sont excrétés dans les matières fécales de l'hôte et deviennent une nouvelle source de contamination du pâturage. La durée comprise entre l'ingestion des larves infestantes et la ponte par des femelles se définit comme la période prépatente : en l'absence d'hypobiose au stade L<sub>4</sub>, celle-ci est d'environ 3 semaines. (Jacquet, 2000 ; Bowman, 1999).

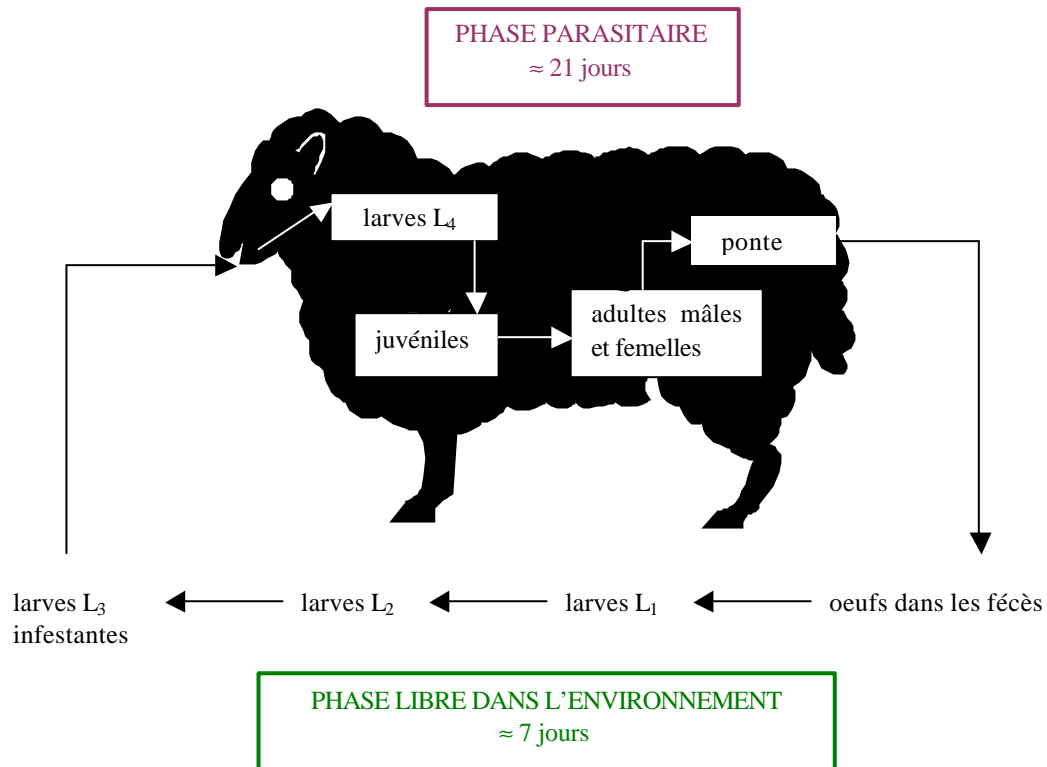


Figure 1 : Cycle évolutif d'*Haemonchus contortus* chez les ovins

## D. Répartition géographique et capacités adaptatives

*Haemonchus contortus* est un nématode cosmopolite. Il est présent dans les régions tempérées froides comme dans les régions tropicales humides ou arides. Les capacités adaptatives de ce parasite sont donc importantes et diverses :

- forte prolificité des femelles par rapport aux autres espèces de strongles, avec en moyenne une production de 5000-7000 œufs par jour et par femelle (Coyne et al., 1991). Cette caractéristique permet de contrebalancer la mortalité des œufs excrétés dans les matières fécales (Jacquet et al., 1995 ; Jacquet, 2000).

- hypobiose larvaire au stade 4 dans la muqueuse de la caillette, l'espèce peut ainsi survivre pendant la saison hostile. Ce phénomène est moins marqué en Europe tempérée et n'existe pas en climat tropical humide (Cabaret, 1977).

- longue survie des adultes, qui vont ensemer abondamment les pâturages pendant la saison favorable (Jacquet et al., 1995 ; Jacquet, 2000).

## II. L'HAEMONCHOSE OVINE

### A. Épidémiologie

En France métropolitaine, l'haemonchose n'est pas la plus fréquente des strongyloses digestives, les populations de larves infestantes  $L_3$  d'*H. contortus* sont peu nombreuses par rapport à d'autres genres de strongles gastro-intestinaux tels *Ostertagia* et *Trichostrongylus*. Sa prévalence est inférieure à 10% chez les chèvres laitières en Poitou-Charentes (Chartier et Reche, 1992) et il en est de même pour les ovins viande du centre de la France (Cabaret et al., 2002). Cependant, la Guadeloupe et la Martinique sont beaucoup plus sévèrement touchées. Dans la zone Caraïbe, l'haemonchose est la parasitose digestive majeure des petits ruminants. Sa prévalence varie entre 80 et 100% et l'apparition de résistances dues à l'utilisation fréquente d'anthelminthiques en complique le contrôle (Aumont et al., 1997).

*H. contortus* est présent sur tous les continents : 37% des troupeaux suédois sont atteints, même à des latitudes proches du cercle polaire (Lindquist et al., 2001) et il fait par exemple partie des nématodes gastro-intestinaux dominants de la pampa argentine (Suarez et Buseti, 1995), de la Malaisie (Dorny et al., 1995) mais aussi de l'Australie, de la Nouvelle Zélande (Vlassof et al., 2001) et de très nombreux pays d'Afrique avec entre autres, une prévalence de 90% au Niger et au Kenya (Nwosu et al., 1996; Gatongi et al., 1998).

Sur le territoire français métropolitain, c'est en avril-mai que le nombre de larves infestantes  $L_3$  est le plus réduit voire nul. La nouvelle génération de  $L_3$  est assurée par la présence de brebis ou d'agneaux sur le pâturage (Mage, 1991). En effet, l'infestation des brebis au début du printemps génère une forte proportion de  $L_3$  en fin de printemps. Les agneaux qui pâturent avec leurs mères recyclent alors très fortement les parasites (Dorchies et al., 2003).

Mais l'haemonchose survient souvent en début et en cours d'été et dépend de la nécessaire association chaleur – humidité (température extérieure  $> 20^\circ\text{C}$  ; pluies, orages) : cette maladie constitue un risque majeur avec des mortalités brutales possibles (Alzieu et al., 2004). C'est de juin à septembre que les larves  $L_3$  sont en plus grand nombre sur les prairies, avec une évolution qui peut être très rapide (3 à 4 jours en conditions climatiques optimales). Ceci explique l'apparition brutale et imprévisible de la maladie (Mage, 1991).

D'autre part, une enquête réalisée en Ariège et dans les Pyrénées-Atlantiques (Jacquet et al., 2004) montre que c'est à l'automne que le parasite est le plus présent dans les caillettes des ovins. De grandes variabilités existent en fonction des saisons, mais aussi et surtout en

fonction des exploitations. Les facteurs qui peuvent expliquer ces disparités sont discutés (densité des brebis à l'hectare, résistance aux benzimidazoles, nature des sols, conduite d'élevage et composante génétique des animaux).

## B. Symptômes

Les agneaux à l'herbe sont en général les premiers atteints dans le troupeau du fait de leur plus grande sensibilité à l'infestation. Les brebis en mauvais état corporel où venant d'allaiter sont une autre catégorie d'animaux sensibles. Les brebis vides ou en gestation, mais en bon état corporel, sont moins exposées. Il est donc possible qu'il n'y ait pas de manifestation clinique sur toutes les brebis (Mage, 1991).

L'essentiel du pouvoir pathogène d'*H. contortus* est dû à son mode de nutrition hématophage qui provoque un syndrome d'anémie sévère. Chaque vers spolie environ 0,05 ml de sang par jour. Un petit ruminant infesté par 5000 *H. contortus* peut donc perdre jusqu'à 250 ml de sang/jour (Urquhart et al., 1996b). Cette spoliation est considérable car à l'hématophagie s'ajoute l'action de sécrétions anticoagulantes qui entraînent une petite hémorragie au point de fixation du vers pendant 5 à 10 minutes, alors que celui-ci est déjà fixé ailleurs (Chermette, 1982).

La perturbation des fonctions digestives abomasales (modification de la perméabilité de la muqueuse, altération des fonctions sécrétoires, troubles de la motricité et du débit abomasoduodéal) est à l'origine d'une réduction de la dégradation des protéines alimentaires et d'une malabsorption qui peuvent favoriser la survenue d'infections secondaires par modification de la flore bactérienne (Chermette, 1982; Bueno, 1982).

L'haemonchose ovine est connue sous trois formes :

- **Haemonchose suraiguë** : peu fréquente, elle est liée à des infestations massives avec plus de 30 000 vers, chez des animaux apparemment en bonne santé. Ils meurent de façon subite d'une gastrite hémorragique sévère.
- **Haemonchose aiguë** : forme typique, elle se caractérise par une anémie avec chute progressive et sévère de l'hématocrite, survenant généralement deux semaines environ après l'infestation. Dans les semaines qui suivent, l'hématocrite se stabilise à bas niveau. Cependant, la fuite continue de fer et de protéines dans le tractus digestif, ainsi que la

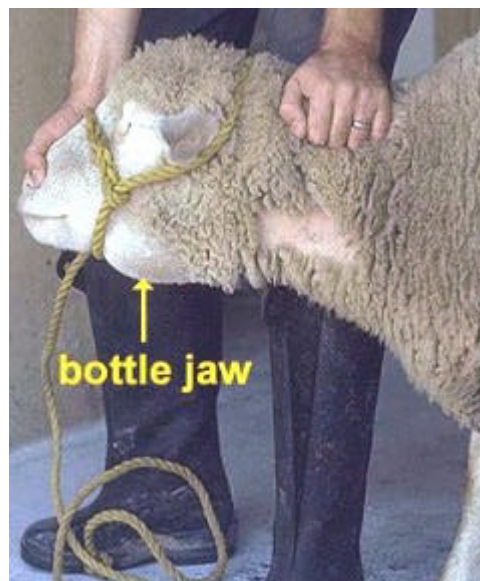


baisse de digestibilité des aliments, affaiblissent l'animal. D'autre part, malgré une stimulation compensatrice de l'érythropoïèse, la moelle osseuse est rapidement dépassée et l'hématocrite chute jusqu'à la mort de l'animal.

**Tableau 1: Tableau clinique d'une forme aiguë d'haemonchose (Chermette, 1982)**

Symptômes généraux	Faiblesse, essoufflement, amaigrissement, perte de laine
Symptômes locaux	Pâleur sévère des muqueuses (oculaire, buccale, vulvaire), œdèmes en régions déclives (« signe de la bouteille »)
Paramètres hématologiques	Anémie hypochrome et microcytaire, avec chute de la concentration en hémoglobine (30 à 50%), hyposidérémie, hématocrite entre 10 et 20%
Evolution	Variable : - fatale en 1-6 semaines chez les animaux les plus faibles - amélioration temporaire grâce à la réponse immunitaire - mort des agneaux par agalactie des mères

- **Haemonchose chronique** : la plus répandue. A l'origine des pertes économiques les plus importantes en raison d'une morbidité élevée, elle apparaît de façon discrète et insidieuse, et aboutit à une dégradation de l'état général rappelant la malnutrition. L'anémie n'est généralement décelable que par dosages des paramètres sanguins. Les signes cliniques sont des retards de croissance, une diminution de la production laitière, un amaigrissement, des toisons de mauvaise qualité, parfois des troubles de la fécondité voire des avortements en fin d'évolution. La mort peut survenir en 2 à 6 mois.



**Photo 6: Oedème de l'auge dû à l'haemonchose aiguë ou "signe de la bouteille" (= bottle jaw)**  
(<http://www.danekeclublambs.com>)

## C. Lésions

- *Carcasse* : cachexie et anémie diffuse.
- *Caillette* : lésions inflammatoires de la paroi telles que congestion, hypersécrétion de mucus, épaissement de la muqueuse et œdème de la sous-muqueuse. On peut noter la présence de foyers hémorragiques plus ou moins confluent, ainsi que des ulcères, qui correspondent aux points de fixation des vers et aux hémorragies qu'ils provoquent lorsqu'ils se détachent. De petits nodules blanchâtres (1 à 2 mm de diamètre) peuvent traduire la présence de larves enkystées. Si l'autopsie est précoce post-mortem, il est possible d'observer des vers adultes vivants et très mobiles (Mage, 1991; Brard et Chartier, 1997).

## D. Diagnostic

- **diagnostic épidémiologique-clinique** : en élevage ovin, l'apparition entre juin et septembre de signes cliniques comme l'anémie, l'œdème sous-glossien, la perte d'appétit, la prostration associés à de la mortalité, sont des signes d'appel de l'haemonchose. Les agneaux sont atteints avant les adultes.
- **diagnostic nécropsique** : lorsque l'on est en présence de mortalité, le recours à l'autopsie est d'un grand intérêt. Elle doit être pratiquée le plus tôt possible après la mort. L'examen de la caillette permet la mise en évidence des parasites et des lésions caractéristiques (congestion exsudative et foyers hémorragiques sur la muqueuse abomasale).
- **diagnostic de laboratoire** :
  - *la coproscopie* : cette méthode permet la mise en évidence des œufs d'*H. contortus* et leur numération exprimée en nombre d'œufs par gramme de fèces (o.p.g.). Deux méthodes quantitatives sont utilisées : la méthode d'enrichissement par flottation en lame de Mac Master et la méthode d'enrichissement par flottation en Ovassay. La méthode de Baermann peut être utilisée pour rechercher les larves après évolution en coproculture.
  - *la coproculture* : ce procédé consiste à faire évoluer les œufs récoltés dans les fèces en larves infestantes qui permettent ensuite l'identification du parasite. Il faut que les fèces soient suffisamment parasitées, prélevées sur plusieurs animaux et en quantité assez importante (Brard et Chartier, 1997).

### III. LA LUTTE CHIMIQUE CONTRE *HAEMONCHUS CONTORTUS*

#### A. Les anthelminthiques et leurs modes d'action

L'utilisation des anthelminthiques permet d'avoir une action sur la phase parasitaire. Ce moyen de contrôle est actuellement le plus répandu chez les éleveurs. Il existe trois grandes familles de molécules anthelminthiques efficaces contre les strongles gastro-intestinaux des ovins: les benzimidazoles, les imidazothiazoles et les lactones macrocycliques, auxquels s'ajoute la famille des salicylanilides actifs contre les strongles hématophages.

- *Les benzimidazoles et pro-benzimidazoles* agissent spécifiquement par fixation sur la  $\beta$ -tubuline et en inhibant la formation des microtubules du cytosquelette sans altérer ceux de l'hôte (Martin, 1997). Ils induisent des lésions des cellules intestinales et donc un arrêt de l'alimentation des vers. Toute multiplication cellulaire étant bloquée, la ponte est arrêtée. En réponse à une solubilité limitée dans l'eau et à une absorption médiocre des benzimidazoles, différentes prodrogues ont été élaborées dont le fébantel et le nétobimin.
- *Le lévamisole* (famille des imidazothiazoles) agit sélectivement comme agoniste des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine au niveau des synapses des cellules musculaires des nématodes. Ils induisent une dépolarisation membranaire aboutissant à une contraction musculaire par ouverture des canaux à ions non spécifiques, perméables au  $\text{Na}^+$  et au  $\text{K}^+$ . Il en résulte donc une paralysie spastique létale pour le parasite (Martin, 1997; Kohler, 2001). Cette molécule n'a par contre aucun effet sur les larves inhibées.
- *Les salicylanilides* (closantel) *et les phénols halogénés* (nitroxinil) sont actifs contre les strongles hématophages. Ce sont des ionophores de protons découplant spécifiquement la phosphorylation oxydative des mitochondries des parasites. Les systèmes enzymatiques sont perturbés, ce qui entraîne une déplétion énergétique (Martin, 1997).
- *Les lactones macrocycliques* comprennent les avermectines (ivermectine et doramectine) et les milbémycines (moxidectine). Elles provoquent une paralysie du parasite liée à une augmentation de la perméabilité des cellules musculaires aux ions chlorures. Ces ions entraînent une paralysie flasque des muscles somatiques des vers et inhibent l'ingestion alimentaire par blocage du muscle pharyngé. L'effet thérapeutique sélectif s'explique par une action sur les canaux à ions  $\text{GluCl}$  qui sont présents chez les nématodes parasites mais pas chez les animaux à sang chaud (Martin, 1997).

**Tableau 2: Principaux anthelminthiques actifs chez les ovins, noms déposés, posologies recommandées et temps d'attente à respecter.** (Source: Dictionnaire des médicaments vétérinaires, 13ème édition, 2005)

Famille	Molécule	Noms déposés	Posologie recommandée et voie d'administration	Temps d'attente	
				Lait	Viande et abats (jours)
Benzimidazoles	Albendazole	Actifuge®, Bilutac®, Valbazen®, Disthelm®, Mediamix VDisthelm®, Rumifuge®, Proftril®	3.8 à 7.5 mg/kg selon les produits VO	interdit	10
	Fenbendazole	Panacur®, Mediamix V Fenben®	5 mg/kg VO	nul	8
	Oxfendazole	Oxfenil®, Synanthic®	5 mg/kg VO	nul	14
	Thiabendazole	Némapan®	50mg/kg VO	6 traites	14
Pro-benzimidazoles	Fébantel	Rintal®	5 mg/kg VO	nul	10
	Nétobimin	Hapadex®	7.5 mg/kg VO	interdit	10
Imidazothiazoles	Lévamisole	Anthelminticide®, Biaminthic®, Capizol®, Clémiver®, Ivecide®, Lévamisol®, Lévanol®, Lévisol®, Lobiavers®, Némisol®, Niratil®, Polystrongle®	5 à 10 mg/kg VO ou injectable selon les produits	interdit	3
		Iména-L®, Spectril®			14
		Parsifal®			28
		Ripercol®		2 traites	3
Salicylanilides	Closantel	Supaverm® (association de closantel et mébendazole) Seponver®	10 mg/kg VO	interdit	28
Phénol halogéné	Nitroxinil	Dovenix®	10 mg/kg SC	interdit	45
Lactones macrocycliques	Doramectine	Dectomax®	0.2 mg/kg IM	interdit	70
	Ivermectine	Ivermectine Eco®, Qualimec®	0.2 mg/kg SC		42
		Ivomec®			28
		Oramec®	0.2 mg/kg VO		3
	Moxidectine	Cyductine®	0.2 mg/kg VO ou SC		14 52

Légende : VO : voie orale, SC : sous-cutanée, IM : intra-musculaire

Interdit : molécules interdites chez les brebis laitières dont le lait est destiné à la consommation humaine

## B. La résistance aux anthelminthiques

### 1. Définitions

Pendant de nombreuses années, la lutte contre les helminthes des petits ruminants ayant consisté à utiliser des antiparasitaires de façon systématique et régulière, des souches de strongles gastro-intestinaux résistants sont apparues. Ce phénomène a tendance à se développer et à s'étendre à toutes les classes connues d'anthelminthiques, pour la plupart des nématodes des petits ruminants.

« Une population chimiorésistante est une population de parasites ayant génétiquement acquis la capacité de résister à des concentrations d'antiparasitaires habituellement létales pour des individus de cette espèce » (définition de l'OMS). C'est donc un phénomène évolutif qui résulte d'une sélection génétique. Les individus résistants, préexistants et peu nombreux, sont favorisés par une pression de sélection exercée par l'emploi d'antiparasitaires.

Plusieurs types de résistance sont décrits selon les capacités des parasites à résister à une substance unique (résistance simple), à un groupe de substances ayant le même mode d'action (résistance de famille, la plus fréquente), ou à un ensemble de composés qui ont des modes d'action différents (résistance multiple) (Beugnet et Kerboeuf, 1997).

### 2. Prévalence de la résistance aux anthelminthiques

Les populations de parasites chimiorésistants sont d'abord apparues dans les pays tropicaux où elles ont pris une importance considérable, le climat favorable et l'utilisation fréquente d'anthelminthiques ayant précipité le phénomène.

Concernant *Haemonchus contortus* chez le mouton, des résistances multiples sont présentes à travers le monde : Australie (benzimidazoles, lévamisole, ivermectine, closantel), Amérique du Nord (benzimidazoles, lévamisole) et du Sud (benzimidazoles, ivermectines) (Bjørn, 1994). Ces résistances sont aussi largement répandues en Afrique du Sud, certaines populations d'*H. contortus* étant devenues multirésistantes et ne pouvant plus être maîtrisées par la voie chimique (Van Wyk et al., 1999). Le continent européen n'est pas épargné même si l'on considère que la résistance y est moindre. Les résistances se cantonnent aux benzimidazoles et ont notamment été détectées en Grande-Bretagne, Suisse, Pays-Bas, Belgique, Allemagne et Suède (Bjørn, 1994). En France, la résistance d'*H. contortus* aux benzimidazoles chez le mouton est bien réelle, même si elle est difficile à estimer en raison du

faible nombre d'enquêtes réalisées. Elle a été mise en évidence dans le Val de Loire (Kerboeuf et al., 1988), le Limousin (Hubert et al., 1991), l'ouest lyonnais (Beugnet, 1992) et les Deux-Sèvres (Chartier et al., 1998).

Bien entendu, le phénomène de résistance s'étend à d'autres parasites de différentes espèces d'animaux de rente. Toutefois, les petits ruminants sont le plus sévèrement touchés, avec en plus d' *H. contortus*, *Teladorsagia sp.*, *Trichostrongylus sp.* et *Nematodirus sp.*, résistants majoritairement aux benzimidazoles mais aussi aux lévamisole, pyrantel et morantel, ainsi qu'à l'ivermectine et la moxidectine (Sangster, 2001).

### 3. Emergence de la résistance

Les mécanismes de sélection et de diffusion de la résistance sont complexes et variés (Jacquiet, 2004 ; Beugnet et Kerboeuf, 1997) :

- **le mode d'élevage** : les jeunes contaminés au pâturage recyclent massivement et rapidement les larves infestantes. L'intensité de la pression parasitaire est donc augmentée et les éleveurs traitent plus souvent leurs animaux.
- **l'introduction de strongles résistants dans l'élevage** : lors d'achat, de pâturage commun à plusieurs élevages ou lors de la constitution d'un troupeau avec sélection d'animaux porteurs de vers résistants.
- **l'administration d'anthelminthiques** :
  - l'usage fréquent et à intervalles rapprochés du même type de molécule augmente la pression de sélection. Le risque maximal est représenté par une utilisation égale à la période prépatente des parasites, chaque génération étant soumise à un traitement. Le phénomène est d'autant plus accru dans le cadre de l'utilisation de diffuseurs intra-ruminaux.
  - le sous-dosage, surtout s'il est systématique et appliqué sur une longue période, permet la survie d'individus hétérozygotes portant un allèle de résistance.
  - les traitements s'avèrent risqués quand la population de nématodes située dans un « refuge » est minime. Une fraction de la population est dans un refuge quand elle n'est pas accessible à l'antiparasitaire (stades libres sur le pâturage, larves L<sub>4</sub> chez l'hôte). Plus cette population est faible, plus la contribution des allèles de résistances à la génération suivante sera importante.

#### 4. Conduite à tenir

Après détection d'un phénomène de chimiorésistance, il convient d'envisager l'application d'un certain nombre de mesures (Jacquiet, 2004 ; Beugnet et Kerboeuf, 1997) :

- **Mesures offensives** : utilisation d'un produit alternatif ou d'une association d'antiparasitaires.
  
- **Mesures défensives** :
  - éviter l'introduction de nématodes résistants en traitant les animaux avec plus d'un type d'anthelminthiques lors d'achat
  - administrer une posologie adaptée
  - effectuer les traitements avec une fréquence minimale, notamment en développant des mesures zootechniques et agronomiques (conduite du troupeau par classes d'âge, gestion des pâturages)
  - traiter à des périodes où l'infestation est maximale
  - faire une rotation lente (annuelle) des antiparasitaires
  - préserver un « refuge » pour les parasites sensibles dans la population d'helminthes (ex. : conservation d'animaux non traités au sein du troupeau)

Ainsi, depuis quelques années, l'emploi presque exclusif de la chimiothérapie dans la lutte contre les strongles gastro-intestinaux est remis en question. L'apparition à l'échelle mondiale de résistances aux antiparasitaires se révèle inquiétante. De plus, la législation sur les médicaments, notamment en matière d'AMM, de délai d'attente lait et de connaissances des LMR, font que de nombreuses molécules ont disparu du marché (Rehby, 2004). Le nombre de familles chimiques utilisables est donc limité et le sera de plus en plus à cause du coût de développement de nouveaux antiparasitaires pour les laboratoires (Beugnet et Kerboeuf, 1997). A cela s'ajoute la préoccupation croissante du public et des consommateurs vis à vis de l'usage de substances chimiques en agriculture et de leur impact sur l'environnement (Hoste et Chartier, 1997). Il est donc fondamental de se préoccuper du développement de méthodes alternatives à la chimiothérapie en matière de lutte contre les helminthes.

## IV. METHODES ALTERNATIVES DE LUTTE CONTRE LES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX

Les principaux axes de lutte contre les strongles gastro-intestinaux chez les ovins sont les suivants :

- Eliminer les strongles gastro-intestinaux par l'emploi raisonné des anthelminthiques
- Tarir les sources de contamination : - gestion raisonnée des pâturages
  - champignons nématophages
- Augmenter la résistance de l'hôte : - rôles de l'alimentation
  - vaccination
  - sélection de races génétiquement résistantes

Les alternatives à la chimiothérapie concernent donc les deuxième et troisième points.

### A. Tarir les sources de contamination

L'objectif général est de minimiser le contact entre animaux sensibles et larves infestantes.

#### 1. La gestion raisonnée des pâturages

- Le pâturage mixte ou alterné, entre espèces différentes (petits ruminants et bovins ou petits ruminants et chevaux) contribue à « diluer » le caractère infestant d'une parcelle. La spécificité relativement étroite des nématodes pour chaque hôte explique la décontamination des pâtures (Hoste et al., 2003).
- La mise au repos prolongé des parcelles, ainsi que le retournement par labour permettent, s'ils sont bien conduits, un assainissement des terres (Hoste et al., 2004).

#### 2. Les champignons nématophages

Les spores de certains champignons microscopiques, notamment *Duddingtonia flagrans*, ont la capacité de survivre après passage dans le tube digestif des ruminants, de germer dans leurs fécès et de piéger les larves infestantes dans un réseau collant de filaments mycéliens (Larsen et al., 1998). Ces spores pourraient donc à l'avenir être distribuées dans l'alimentation des animaux, mais leur utilisation fait encore partie du domaine expérimental. De la même manière, les capacités nématophages du champignon *Arthrobotrys cladodes* var. *macroides* ont récemment été mises en évidence, plus particulièrement envers *Haemonchus contortus* (Eslami et al., 2005).



## B. Augmenter la résistance de l'hôte

### 1. L'influence de l'alimentation

- Les tannins condensés de certaines plantes induiraient une réduction de l'excrétion fécale des œufs de parasites et, dans une moindre mesure, une réduction du nombre de vers installés et de la fertilité des femelles. Toutefois, les résultats obtenus sont très variables en fonction des plantes, des espèces d'hôtes et de parasites considérées (Hoste et al., 2004).
- L'infestation par les nématodes gastro-intestinaux provoque une réduction de la prise alimentaire des animaux, une perturbation de la digestion et de l'assimilation des nutriments avec des conséquences néfastes sur le métabolisme protéique (Coop et Holmes, 1996). La supplémentation en protéines serait capable d'augmenter la résilience et la résistance des moutons à ce type d'infestation parasitaire (Louvandini et al., 2006).

### 2. La vaccination

La vaccination contre *Haemonchus contortus* a fait l'objet de nombreuses études et certains antigènes potentiellement protecteurs sont aujourd'hui bien caractérisés. Deux grandes catégories d'antigènes peuvent être utilisées comme antigènes vaccinaux (Schallig, 2000) :

- **les antigènes naturels** : de nombreux essais aux conclusions variées ont été menés avec des larves irradiées (Urquhart et al., 1996a ; Smith et Christie, 1978), des extraits somatiques du parasite à différents stades de vie (Jacobs et al., 1999 ; Dominguez-Torano et al., 2000), ou avec des enzymes protéolytiques et autres produits d'excrétion-sécrétion de vers adultes ou de larves (Schallig et al., 1997 ; Vervelde et al. 2002).

- **les antigènes dits «cachés»** : (Newton et Munn, 1999 ; Munn et al., 1997 ; Geldhof et al., 2005). Les résultats les plus encourageants ont été obtenus avec l'utilisation de ces antigènes cachés correspondant le plus souvent à des protéines du tractus digestif du parasite avec lesquelles le système immunitaire de l'hôte n'est pas directement en contact : ces protéines cibles sont exposées aux anticorps produits par la vaccination quand le parasite avale son repas sanguin, ce qui provoquerait l'arrêt de la digestion du parasite (Smith, 1993). Mais à l'heure actuelle, aucun vaccin commercialisable n'a vu le jour en raison notamment des difficultés d'obtention à large échelle de ces antigènes et du coût de leur production, soit sous forme native, soit sous forme de protéines recombinantes (Knox et al., 2003).

### 3. La sélection de la résistance aux nématodes gastro-intestinaux

L'utilisation d'animaux génétiquement sélectionnés pour leur résistance aux infestations parasitaires offre la possibilité de réduire l'utilisation des anthelminthiques et de freiner la diffusion de la chimiorésistance au sein des populations de nématodes.

#### a) Définitions

*La résistance* des ovins aux nématodes gastro-intestinaux se définit comme le développement et le maintien des réponses immunitaires induites par l'hôte pour empêcher l'implantation des parasites et/ou provoquer l'expulsion des parasites déjà implantés.

*La résilience* indique l'aptitude de l'hôte à maintenir un niveau de production acceptable sous l'effet du parasitisme. Dans ce cas, les pâturages sont soumis à une contamination continue puisque les animaux n'ont aucun contrôle sur la production des œufs de parasites (Lalhoul-Kassi et al., 1994).

#### b) Les bases de la résistance

Depuis les années 30, de nombreuses publications ont fait état de l'existence d'une importante variation de la résistance vis à vis des strongles gastro-intestinaux, entre les races de moutons, à l'intérieur d'une race ou au sein d'une même population ovine. En effet, les helminthes se répartissent dans une population d'hôtes selon une distribution qui suit une loi binomiale négative : une faible proportion d'animaux héberge la majorité de la population parasitaire tandis que la plupart des hôtes hébergent peu de parasites (Barger, 1985 ; Gruner, 1991 ; Kassai et Sréter, 1992). Cette variabilité trouve son origine en partie dans la différence de réponse immunitaire face aux infestations. Le déterminisme de cette différence est génétique. Les animaux résistants ont la capacité de mettre en place une réponse immunitaire plus rapide (Lahlou-Kassi et al., 1994). La résistance semble donc indissociable de la réponse immunitaire mise en jeu lors d'infestations parasitaires. Ceci expliquerait que les ovins adultes ou âgés répondent plus efficacement et plus rapidement aux infestations parasitaires que les jeunes animaux (Gruner, 1991 ; Douch et Morum, 1993).

**c) Les races résistantes aux strongles gastro-intestinaux (Tableau 2)**

Plusieurs études ont comparé différentes races ovines et ont mis en évidence que certaines d'entre elles, souvent des races locales de milieux tropicaux, ont des capacités accrues à résister aux infestations à *Haemonchus contortus*. Aux Etats-Unis, des races exotiques telles que les Florida Native et Gulf Coast Native sont respectivement plus résistantes que les Rambouillet et les Suffolk (Amarante et al., 1999 ; Miller et al., 1998). Au Kenya, ce sont les moutons Red Maasai qui montrent une plus grande résistance que les races importées comme le Dorper (Wanyangu et al., 1997 ; Preston et Allonby, 1979). De même, des travaux montrent que les moutons Sainte Croix sont plus résistants que les Dorset (Gamble et Zajac, 1992). Les Barbados Black Belly ou leurs croisés sont plus résistants que les ovins Dorset, Suffolk, Rambouillet, et Landrace (Yazwinski et al., 1979, 1981). En 2003, Gruner et al. ont démontré que les agneaux Barbados Black Belly élevés en Guadeloupe sont beaucoup plus résistants que les agneaux INRA 401 élevés en France. Les résultats obtenus par Aumont et al. (2003) corroborent les précédents en prouvant que les Black Belly sont plus résistants à des souches guadeloupéenne et française d' *Haemonchus contortus* que les INRA 401.

La comparaison des différentes publications reste délicate. Les données obtenues proviennent d'expérimentations différentes, en infestations naturelles (en pâtures) ou expérimentales, uniques ou répétées. Dans la majorité des études, l'exposition préalable des animaux aux nématodes gastro-intestinaux n'a pas été contrôlée. De plus, la résistance des troupeaux étudiés dans certains travaux pourrait être le résultat de l'utilisation d'un nombre limité de béliers étalons (Gasbarre et Miller, 2000).

Tableau 3: Quelques études montrant la résistance à *Haemonchus contortus* entre races ovines

Lieu de l'étude	Races étudiées	Type d'infestation	Paramètres considérés	Conclusions	Référence
Texas (Etats Unis)	Florida Native, Rambouillet, F1	Naturelle	OPG Hématocrite	OPG Rambouillet > F1 = Fl. Native Ht Florida Native > F1 > Rambouillet	Amarante et al. (1999)
Louisiane (Etats Unis)	Gulf Coast Native et Suffolk	Naturelle (pâtures différentes sur les 3 premières années puis pâture commune pendant 5 ans)	OPG hématocrite	OPG significativement plus faibles et Ht significativement plus haut chez les Gulf Coast Native	Miller et al. (1998)
Ohio (Etats Unis)	Sainte Croix, ¾ Sainte Croix Black Belly, Florida Native, croisées (Finn-Dorset, Suffolk, Rambouillet)	Expérimentale	OPG Nombre total de vers Hématocrite	1 <sup>ère</sup> infestation : différences très variables entre races 2 <sup>ème</sup> infestation : OPG Ste Croix < autres Nombre total de vers Ste Croix < ¾ Ste Croix < autres Ht races exotiques > races domestiques avec Ht Ste Croix, ¾ Ste Croix > BB, Fl. Native > autres	Courtney et al. (1985)
Maryland (Etats Unis)	Sainte Croix et Dorset	Naturelle	OPG Nombre total de vers	OPG et nombre total de vers significativement plus faibles chez les Ste Croix	Gamble et Zajac (1992)
		Expérimentale	OPG	1 <sup>ère</sup> infestation : pas de différences entre les deux races 2 <sup>ème</sup> infestation : OPG significativement plus faibles chez les Ste Croix naïfs et ovins immunisés des deux races	
Kenya	Red Maasai et Dorper	Expérimentale puis naturelle	OPG Hématocrite	OPG significativement plus faibles et Ht significativement plus haut chez les Red Maasai	Wanyangu et al. (1997)
Kenya	Red Maasai, Blackhead Persian, Merino, Dorper, Corriedale, Hampshire	Naturelle	OPG	OPG Red Maasai << autres races	Preston et Allonby (1979)
Caroline du Nord (Etats Unis)	Dorset, BB, Dorset x BB, Suffolk x BB, Suffolk x BB x Dorset	Expérimentale	OPG Hématocrite	Ht significativement plus haut dans les races avec du BB OPG : pas de différences entre races	Yazwinski et al. (1981)
Caroline du Nord (Etats Unis)	Dorset, BB, Dorset x BB, (exp. III de l'étude)	Naturelle puis expérimentale (exp. III de l'étude)	OPG Hématocrite	OPG BB et Dorset x BB significativement plus bas que les Dorset Ht BB et Dorset x BB significativement plus haut que les Dorset	Yazwinski et al. (1979)
France et Guadeloupe	Barbados Black Belly et INRA 401	Expérimentale	OPG Nombre total de vers	OPG et nombre total de vers significativement plus bas chez les BB	Aumont et al. (2003)
France	Barbados Black Belly, INRA 401 et F1	Expérimentale	OPG Nombre total de vers	OPG INRA 401 > F1 > BB (dès première infestation) Nombre total vers F1 < INRA 401 (BB non disponibles)	Gruner et al. (2003)

Légende : Ht : hématocrite ; OPG : œufs par gramme ; BB : Barbados Black Belly

#### **d) Sélection au sein d'une même race**

Il existe suffisamment de variation génétique individuelle au sein d'une même race, et d'héritabilité du caractère de résistance, pour qu'une sélection de la résistance aux nématodes gastro-intestinaux soit possible chez les ovins (Dominik, 2005). Ainsi, la sélection de lignées résistantes ou sensibles a été réalisée dans les races Mérinos (Woolaston et al., 1990 ; Albers et al., 1987), Rhön (Gauly et Erhardt, 2001) ou Polish Long Wool (Bouix et al., 1998). Ces lignées divergentes sont fréquemment dénommées:

- «high-responders» ou «increased resistance» pour les ovins identifiés comme résistants au sein d'une race
- «low responders» ou «decreased resistance» pour les ovins considérés comme les plus sensibles au sein d'une race.

#### **e) Identification des animaux résistants**

La faisabilité d'une sélection génétique en matière de résistance est intimement liée à la possibilité d'identifier les animaux génétiquement supérieurs, candidats à la sélection. Il est donc nécessaire de définir sur quels critères ils doivent être choisis. Ces critères sont regroupés sous le terme de marqueurs phénotypiques. Le phénotype correspond à l'ensemble des caractéristiques d'un individu, que ce soit son apparence physique ou sa physiologie. Il est en partie déterminé par le fond génétique de l'individu, mais également par l'ensemble des facteurs environnementaux qui influent sur cet individu.

Idéalement, un marqueur phénotypique doit être facile à mesurer, de manière peu coûteuse et répétable, et être fortement corrélé à la résistance de l'animal (Douch et al., 1996a).

Ces marqueurs doivent être héréditaires. L'héritabilité ( $h^2$ ) se définit comme la part de la variation phénotypique attribuable à la génétique. Elle s'exprime en valeur relative (comprise entre 0 et 1). Ainsi, plus sa valeur est élevée, plus le caractère étudié est sous dépendance génétique. On peut également la définir comme l'aptitude d'un caractère donné à se transmettre au cours des générations.

Les niveaux d'héritabilité peuvent être divisés en trois grandes catégories :

- $h^2 < 0,1$  : **Faible héritabilité** : la variation du caractère phénotypique considéré est très peu influencée par la génétique et l'amélioration de celui-ci par un schéma de sélection sera très difficile. Dans ce cas, la sélection génétique est irréalisable.
- $0,1 < h^2 < 0,3$  : **Héritabilité modérée** : le caractère est modérément influencé par la génétique mais il reste possible de différencier des animaux sur la base de celui-ci, même si le progrès génétique obtenu par la sélection sera lent.
- $h^2 > 0,3$  : **Héritabilité forte** : le caractère considéré est sous forte dépendance génétique ; les animaux à haut potentiel seront facilement ciblés dans la population d'origine et le progrès génétique escompté sera rapide.

La variabilité génétique entre les individus d'un troupeau a été utilisée en vue d'une sélection d'ovins résistants dans de nombreux programmes expérimentaux australiens et néo-zélandais. Ces programmes de sélection ont pour objectifs communs (Windon, 1996) :

- d'estimer les corrélations entre la résistance aux nématodes et les paramètres de production
- de comprendre les mécanismes génétiques de la résistance
- d'identifier des marqueurs phénotypiques et génétiques associés à la résistance afin de les inclure dans des programmes de sélection commerciaux
- d'évaluer la spécificité de sélection par rapport à d'autres parasites ou pathogènes non parasites.

#### ❖ Les marqueurs phénotypiques

Un grand nombre de paramètres parasitologiques, physiologiques ou immunologiques ont été testés comme marqueurs de résistance. Ils peuvent être classés en marqueurs directs (ne nécessitant pas l'euthanasie des animaux) ou indirects (étudiés lors de programmes de recherche puisque conditionnés par le sacrifice des animaux).

##### □ *Marqueurs directs*

**L'excrétion fécale des œufs de parasites** : exprimée en nombre d'œufs par gramme ou **OPG**, c'est le critère le plus fréquemment mesuré pour évaluer la résistance aux strongles gastro-intestinaux (Morris, 2000). Ce critère est facile à mesurer pour un coût relativement

modeste. En général, le nombre d'OPG reflète étroitement le degré d'infestation parasitaire de l'hôte mais il peut être influencé par de nombreux facteurs (Douch et al., 1996a):

- le degré d'infestation de l'animal : lors d'infestation expérimentale, le nombre de larves dans l'inoculum peut influencer le nombre d'OPG (phénomène densité-dépendant).
- la composition spécifique de la communauté de nématodes présente chez l'hôte.
- le stade d'infestation : l'excrétion fécale est nulle lors de la période pré-patente ou en période d'hypobiose.
- le statut immunitaire de l'hôte : influence le degré d'établissement larvaire, la fécondité des femelles...
- les facteurs alimentaires : qualité de la pâture (espèces végétales présentes et teneurs en protéines) et la gestion du pâturage.
- le statut physiologique de l'hôte et notamment la parturition chez les brebis.

De plus, les problèmes d'échantillonnage (répartition inégale des œufs, variations journalières), de stockage des matières fécales (incapacité de conserver des matières fécales sur de longues périodes) et l'impossibilité d'automatiser le comptage des œufs dans celles-ci représentent des inconvénients techniques non négligeables.

Toutefois, la mesure de l'excrétion d'œufs reste le paramètre le plus utilisé à l'heure actuelle dans les schémas de sélection existants. Son héritabilité varie entre 0,2 et 0,4 en fonction des études.

De nombreux autres marqueurs phénotypiques directs ont été évalués comme alternatives ou en complément au dénombrement des œufs dans les matières fécales.

**Le comptage des polynucléaires éosinophiles circulants :** l'éosinophilie sanguine et tissulaire est une caractéristique fréquemment observée chez les ovins en réponse à une infestation par des helminthes (Douch et al., 1996a). L'intérêt de son utilisation en tant que critère de sélection est controversé (Hohenhaus et Outteridge, 1995 ; Woolaston et al., 1996b), l'héritabilité estimée de ce paramètre n'étant d'environ que de 0,2. De plus, sa spécificité est relativement faible : l'éosinophilie sanguine peut être influencée par des infestations parasitaires autres que par les strongyloses gastro-intestinales, par des phénomènes allergiques ou lors de syndromes éosinophiliques. Enfin, l'éosinophilie sanguine n'est pas un reflet exact de l'éosinophilie tissulaire, dans le sens où de faibles comptages

d'éosinophiles sanguins peuvent être liés soit à une baisse de production de précurseurs par la moelle osseuse, soit à un recrutement tissulaire massif (Douch et al., 1996).

**Les produits des mastocytes muqueux :** l'hyperplasie des mastocytes muqueux et des globules leucocytes (considérés à l'heure actuelle comme des mastocytes intra-épithéliaux dégranulés) est également l'une des caractéristiques rencontrées dans les strongyloses du tractus digestif. Leur localisation tissulaire ne permet pas leur dénombrement direct. Leur nombre peut être estimé de façon indirecte par le dosage des produits qu'ils libèrent dans la circulation générale lorsqu'ils sont activés : leucotriènes, histamine et protéinases (SMCP : sheep mast cell proteinases). Toutefois, même si leurs taux dans la circulation générale sont plus élevés lors d'infestation par les nématodes gastro-intestinaux (à l'exception des leucotriènes), ils ne semblent pas refléter les niveaux observés dans les tissus parasités. En outre, des stimuli autres que les nématodes peuvent entraîner une augmentation de ces cellules et de leurs produits. En conditions naturelles, les résultats de la mesure des produits des mastocytes muqueux ne sont donc certainement pas comparables au comptage des œufs excrétés dans les fèces. (Douch et al., 1996)

**L'hématocrite :** sa mesure permet de quantifier l'anémie due à *H. contortus*. Vanimisetti et al. (2004) ont montré une corrélation négative de l'hématocrite et de l'excrétion fécale d'œufs, et l'héritabilité de l'hématocrite varie de 0.15 à 0.55 selon les études (Albers et al., 1987 ; Van Wyk et Bath, 2002 ; Vanimisetti et al., 2004), ce qui pourrait faire de ce paramètre sanguin un bon indicateur de résistance. Cependant, les variations physiologiques de l'hématocrite en fonction des races ovines en font un marqueur phénotypique controversé, et aucune étude n'a évalué précisément la pertinence de ce critère.

**Réponses anticorps sériques spécifiques d'antigènes parasitaires :** le développement de tests ELISA ainsi que la disponibilité d'anticorps monoclonaux dirigés contre les différents isotypes des immunoglobulines ovines a permis d'étudier la dynamique de la réponse immunitaire dans le sérum des ovins suite aux infestations par les nématodes gastro-intestinaux (Beh, 1987 et 1988 ; Schallig et al., 1994a et 1995). Les comparaisons des lignées ovines sélectionnées pour leur résistance ou leur sensibilité aux infestations par les nématodes ont permis de considérer l'intensité des réponses anticorps sériques comme indicateurs potentiels de résistance (Gill, 1991 ; Gill et al., 1993b ; Douch et al., 1996).



**Le type d'hémoglobine :** Plusieurs études ont suggéré que les ovins possédant une hémoglobine de type AA seraient plus résistants à l'infestation par *H. contortus* et ses effets que les ovins ayant une hémoglobine de type BB ou AB. Cependant, d'autres travaux ne l'ont pas confirmé. Aucune conclusion générale ne peut donc être tirée concernant l'utilité du type d'hémoglobine comme marqueur prédictif de la résistance (Gray, 1997).

**Les antigènes lymphocytaires ovins ou OLA :** Si pour certains parasites tel que *Trichostrongylus colubriformis*, les ovins « high-responders » porteraient plus fréquemment les allèles SY1a et SY1b alors que les « low responders » porteraient plutôt l'allèle SY2 (Outteridge et al., 1985, 1986 et 1988), il semblerait qu'il n'y ait pas d'association significative entre le type des allèles des antigènes lymphocytaires ovins et la résistance à *H. contortus* (Cooper et al., 1989 ; Gray, 1991 ; Hohenhaus et Outteridge, 1995).

#### □ Marqueurs indirects

Le paramètre de référence pour évaluer le degré de résistance des ovins aux strongles gastro-intestinaux reste certainement le **nombre total de vers** présents chez l'hôte. Mais le seul moyen d'évaluer ce critère est l'autopsie de l'animal, ce qui est inenvisageable dans le cadre d'un programme de sélection à grande échelle (Gasbarre et Miller, 2000).

Un autre d'indicateur d'intérêt est le degré d'**accumulation des cellules immunitaires dans la muqueuse gastro-intestinale** (mastocytes muqueux, globules leucocytes et éosinophiles). Mais ces analyses histologiques ne peuvent se faire que post-mortem et ne sont pas applicables, hormis dans des programmes de recherche, et sont limités à un nombre restreint d'animaux (Gasbarre et Miller, 2000).

#### ❖ Sélection et marqueurs génétiques

Si l'on considère que les phénotypes observés résultent de l'expression de très nombreux gènes, la sélection n'est évidemment possible qu'à partir de paramètres dont l'héritabilité est élevée. C'est une méthode relativement simple et lente, qui offre les avantages d'un possible retour en arrière et d'une estimation du progrès génétique au cours des années. La plupart des programmes expérimentaux de sélection mis en place sont fondés sur cette approche. Ils font appel à la sélection phénotypique des animaux, le plus fréquemment sur la base de l'excrétion d'œufs dans les matières fécales (Windon, 1996).

A contrario, on peut prendre en compte dans la sélection, en plus du fond polygénique habituel, l'existence d'un ou plusieurs gènes ayant un effet individuel « fort » sur le caractère étudié. La recherche de tels gènes est devenue de plus en plus efficace grâce à l'établissement de cartes génétiques pour les animaux de rente. L'ensemble du génome peut alors être balayé pour détecter les zones influençant le caractère étudié: les Quantitative Trait Loci (QTL) (Dominik, 2005). Chez les ovins, les résultats de recherche de QTL liés à la résistance aux nématodes gastro-intestinaux ont souvent été contradictoires. Ces différences trouvent probablement leur explication dans la diversité des protocoles expérimentaux mis en œuvre (Dominik, 2005). Notons que pour *H. contortus*, des zones chromosomiques d'intérêt ont été identifiées sur les chromosomes 1, 3, 6, 14, 20 et 23 (Miller et Horohov, 2005 ; Janssen et al., 2002).

□ *Intérêts de la sélection génétique :*

- **Une réduction durable de la contamination des pâtures.** Une étude menée en Australie pendant 224 jours, sur de jeunes ovins de race Mérinos infestés par *H. contortus*, a démontré l'efficacité de la sélection d'ovins résistants sur la base de leurs OPG. Les résultats indiquent que le plus large et le plus persistant effet sur l'excrétion fécale est obtenu par cette sélection (diminution de 69% des OPG), en comparaison avec une supplémentation protéique (diminution de 35% des OPG), un traitement anthelminthique à base de closantel et d'ivermectine (diminution de 28% des OPG) ou à une vaccination expérimentale des agneaux (aucun effet sur les OPG) (Eady et al., 2003).

- **Une résistance étendue à un groupe d'espèces proches.** Certaines études suggèrent que la sélection de moutons pour leur résistance à *H. contortus* pourrait permettre des progrès notables de leur résistance contre d'autres espèces de nématodes. Gray et al. (1992) ont montré que des agneaux sélectionnés pour leur résistance à *H. contortus* avaient aussi des OPG réduits après infestation par *Trichostrongylus colubriformis* et *Ostertagia circumcincta*. De même, Sréter et al. (1994) ont trouvé que 70% de leurs moutons sélectionnés comme « high-responders » à *H. contortus* l'étaient aussi pour *T. colubriformis*.

- **Une meilleure compréhension des réactions immunologiques lors d'infestation parasitaire,** afin d'optimiser le développement de vaccins efficaces (Gray, 1991 ; Windon, 1996).

□ *Les limites de la sélection génétique :*

En quelques dizaines d'années, *H. contortus* a su s'adapter à la forte pression de sélection engendrée par l'utilisation des anthelminthiques. Il est donc à craindre que le parasite soit aussi capable, comme d'autres pathogènes (virus ou bactéries), de s'adapter à la résistance de son hôte (Windon, 1991). L'approche polygénique de la résistance suppose qu'il existe des mécanismes immunologiques complexes et multiples qui provoquent une pression de sélection plus variée que les anthelminthiques. L'éventuelle adaptation d'*H. contortus* devrait donc être longue et décelable précocement au cours des programmes de sélection, permettant ainsi d'y remédier. Mais si un schéma de sélection se base sur l'existence d'un gène majeur, l'adaptation du nématode pourrait être beaucoup plus rapide (Windon, 1991).

Cependant, plusieurs études montrent que le parasite ne s'adapte pas à la résistance de son hôte. Woolaston et al. (1992) ont maintenu une population d'*H. contortus* au sein de deux lots de moutons, sensibles et résistants. Après 5, 7, ou 14 générations, l'adaptation des deux lignées de nématodes obtenues a été évaluée par infestation de nouveaux moutons sensibles ou résistants. Dans un même lot de moutons, les deux lignées de parasite donnaient le même nombre d'OPG : il n'y a pas eu d'adaptation de la fécondité d'*H. contortus* à la résistance des ovins. De même, les passages en série (10 générations) d'un isolat d'*H. contortus* sur des ovins à statut de résistance très différent (agnelles Black Belly primo-infestées *versus* agnelles immunodéprimées par injection de corticoïdes) a permis d'obtenir 2 lignées de parasites. Ces 2 lignées ont été inoculées à de nouveaux agneaux, notamment des jumeaux monozygotes sensibles ou résistants et aucune différence dans les traits de vie des lignées parasitaires n'a pu être mise en évidence (Saulai et al., 2001).

□ *Conséquences économiques de la sélection génétique :*

Les conséquences de la résistance des ovins sur leurs productions ont fait l'objet de plusieurs publications aux résultats parfois contradictoires, mais faisant toujours état de corrélations modérées, positives ou négatives (Gasbarre et Miller, 2000). Prédire les gains engendrés par la sélection d'ovins résistants est très difficile, étant donné la diversité des environnements au sein desquels ils peuvent vivre (divers degrés de parasitisme, différentes conduite d'élevage) (Kassai et Sréter, 1992). La logique voudrait que les effets pathogènes des parasites étant réduits, cela ne peut être que profitable pour la croissance ou la qualité de la laine des animaux (Gray, 1991). Quoi qu'il en soit, les gains ou les pertes économiques provoqués par

la résistance des ovins semblent marginaux face à l'intérêt de prévenir les pertes désastreuses dues à la résistance des parasites aux anthelminthiques (Gasbarre et Miller, 2000).

Les conséquences éventuelles de la sélection génétique sur la fertilité des animaux sont encore discutées. Une étude de Vanimisetti et al. (2004) montre que la fertilité et la prolificité des brebis ne sont pas corrélées à leur résistance. Néanmoins, en l'absence de données plus étayées, cette absence de corrélation mérite d'être ré-évaluée.

Enfin, la réduction de 50 à 95% des OPG dans des troupeaux d'ovins sélectionnés pour leur résistance aux nématodes gastro-intestinaux a évidemment d'importantes conséquences en termes d'épidémiologie des infestations parasitaires : l'accumulation de larves infestantes sur les pâtures est réduite de façon durable, ainsi que les risques de pertes économiques ou de maladie clinique (Kassai et Sréter, 1992).

Les possibilités réduites de commercialisation de nouvelles molécules anthelminthiques efficaces, dans un avenir proche, rendent urgentes la recherche de méthodes alternatives ou complémentaires au traitement chimique pour la lutte contre les nématodes gastro-intestinaux. La vaccination des animaux avec des antigènes parasitaires, ou la sélection d'animaux résistants, représentent les méthodes les plus prometteuses. Les essais expérimentaux n'ont pas permis de développer des vaccins commercialisables et utilisables sur le terrain, et les programmes de sélection d'animaux résistants ne sont appliqués que dans certains pays comme l'Australie ou la Nouvelle-Zélande. Le frein majeur de l'utilisation de ces méthodes alternatives reste toutefois la méconnaissance des interactions hôte/nématodes et en particulier la réponse immunitaire des ovins face aux strongles gastro-intestinaux.

## V. LA REPONSE IMMUNITAIRE DES OVINS FACE AUX STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX

La réponse immunitaire des hôtes face à une infection est classiquement divisée en deux mécanismes:

**La réponse immunitaire innée**, dans laquelle des mécanismes non spécifiques, rapides et des plus anciens sur le plan phylogénétique, sont mis en œuvre contre un pathogène (Tosi, 2005). L'immunité naturelle n'est pas toujours suffisante pour éliminer le pathogène, mais elle est indispensable pour mener à bien une première défense en attendant que l'immunité adaptative prenne le relais.

**La réponse immunitaire adaptative**, dans laquelle des réponses plus tardives sont mises en jeu. Cette réponse présente à la fois un haut degré de spécificité envers le pathogène rencontré ainsi qu'une remarquable propriété de « mémoire » : la ré-exposition à un même antigène a pour conséquence une réponse immunitaire plus rapide et souvent plus importante qualitativement (plus grande affinité des anticorps pour l'antigène) et quantitativement (titres en anticorps élevés), pour neutraliser l'agent pathogène en cause (Doenhoff, 2000).

Après une brève présentation de la réponse immunitaire innée, nous nous attacherons plus spécifiquement, dans ce chapitre, aux mécanismes de la réponse immunitaire adaptative, composante essentielle de la réponse face aux strongles gastro-intestinaux.

### A. La réponse immunitaire innée

Le système immunitaire inné s'organise à partir d'éléments mécaniques, chimiques et cellulaires.

- Dans le tractus gastro-intestinal, la composante mécanique comprend l'épithélium digestif qui représente une barrière physique contre l'invasion des organismes pathogènes. La desquamation épithéliale et la sécrétion de mucus (mucines des cellules caliciformes) (Basset et al., 2003), ainsi que le péristaltisme intestinal qui aident à l'expulsion des agents pathogènes (Onah et Nawa, 2000) sont les éléments déterminants de cette barrière.

- Les éléments chimiques peuvent être subdivisés en trois catégories : les récepteurs qui reconnaissent des motifs moléculaires particuliers, les protéines ou peptides anti-microbiens, et enfin, les cytokines et chémokines qui orchestrent la réponse immunitaire (Basset et al., 2003).
- La composante cellulaire est représentée par les cellules épithéliales, les mastocytes, les cellules dendritiques, les phagocytes (macrophages et granulocytes neutrophiles) et les cellules Natural Killer (NK) (Basset et al., 2003).

Le contact avec l'agent pathogène engendre la synthèse de cytokines, chémokines, prostaglandines et leucotriènes par l'épithélium digestif, signalant ainsi l'agression tissulaire pour le recrutement de diverses populations leucocytaires. Le pathogène interagit aussi avec des cellules de l'immunité permettant l'activation de la réponse immunitaire innée. Cette activation repose sur la reconnaissance de motifs moléculaires antigéniques : ce sont des arrangements spécifiques de molécules clés appelées PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns) reconnus par des récepteurs spécialisés de l'hôte, les PRRs (Pattern Recognition Receptors), dont font partie les TLRs (Toll-like Receptors). Les PAMPs sont des structures vitales des agents pathogènes, très conservées au cours de l'évolution. Les PRRs peuvent être solubles ou situés sur de nombreuses cellules immunitaires telles que les cellules épithéliales, les macrophages et monocytes, les granulocytes, les mastocytes et les cellules dendritiques. Du fait que les PAMPs ne sont produits que par des micro-organismes et non par l'hôte, leur reconnaissance par les PRRs signale la présence de pathogènes. (Basset et al., 2003).

Cette reconnaissance permet alors d'activer directement les mécanismes de la réponse immunitaire innée, comme l'induction de la synthèse de peptides anti-microbiens, l'activation du système du complément, la phagocytose, la synthèse et la sécrétion de cytokines par les macrophages, la lyse des cellules infectées par les cellules NK... L'ensemble de ces mécanismes permet de détruire les cellules infectées par le micro-organisme pathogène ou le pathogène lui-même. (Tosi, 2005 ; Basset et al., 2003)

Cependant, dans le domaine des parasites métazoaires, le rôle de l'immunité innée est mal connu, même s'il est probable. Certains travaux l'ont mis en évidence, plus particulièrement sur *Trichinella spiralis* (Artis, 2006 ; Gruden-Movsesijan et Milosavljevic, 2006).

## B. La réponse immunitaire adaptative

Les études sur des rongeurs infestés par différents nématodes gastro-intestinaux (*Trichinella spiralis*, *Heligmosomoïdes polygyrus*, *Nippostrongylus brasiliensis* et *Trichuris muris*) ont fourni beaucoup d'informations sur les mécanismes immunitaires mis en jeu et leur régulation dans les strongyloses gastro-intestinales (Finkelman et al., 1997).

Ainsi, quatre grandes étapes de la réponse immunitaire adaptative ont été mises en évidence :

- 1 – Présentation des antigènes parasitaires aux lymphocytes T CD4+
- 2 – Orientation de la réponse immunitaire dans l'une des deux grandes voies de polarisation : Th1 ou Th2
- 3 – Mise en place des effecteurs de l'immunité représentés par les cellules et les anticorps
- 4 – Conséquences sur les traits de vie des strongyles gastro-intestinaux : installation des larves, développement chez l'hôte, fécondité des femelles, mortalité des vers adultes.

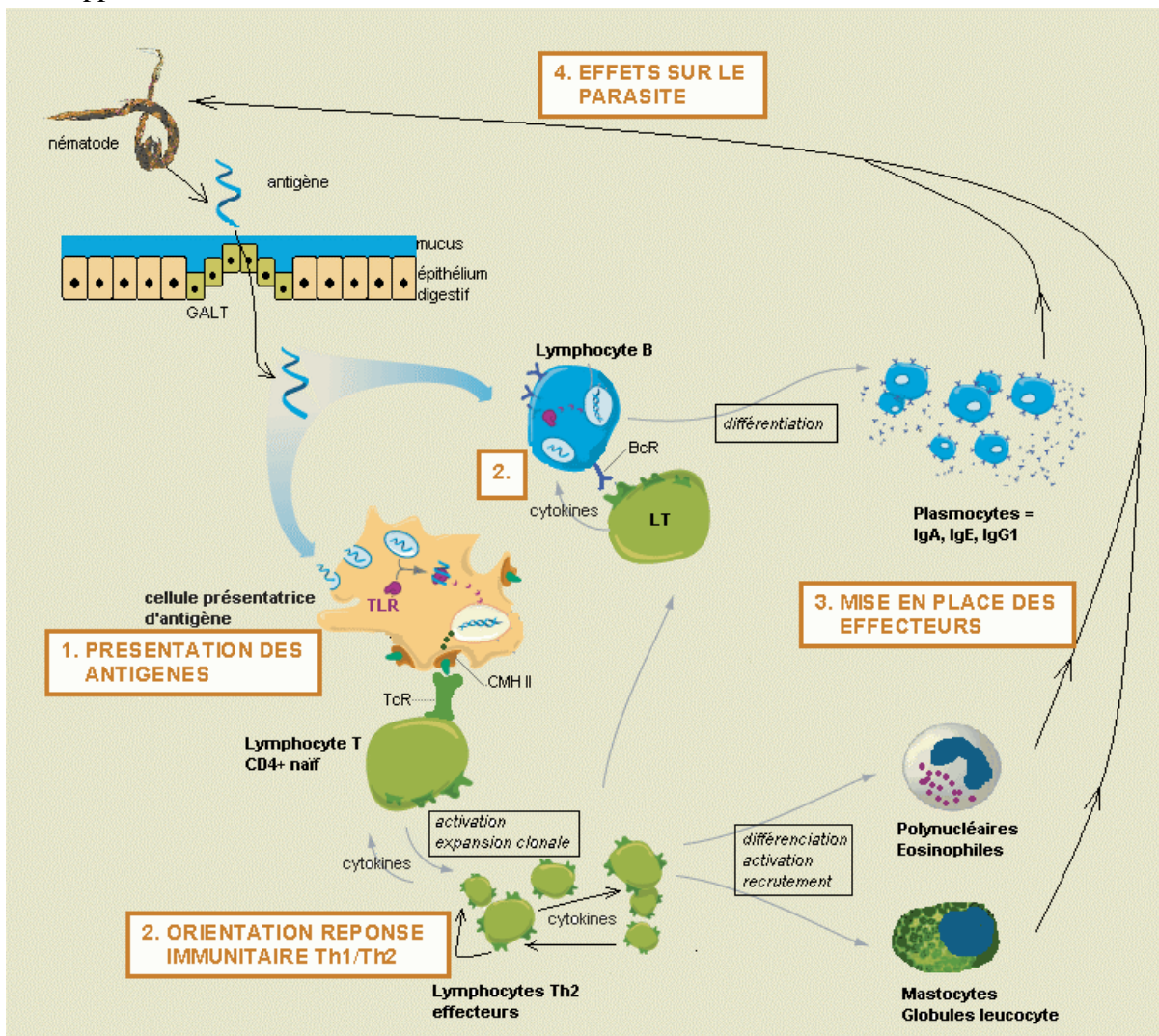


Figure 2: Organisation générale de la réponse immunitaire adaptative  
(d'après Lacroux, 2006a)

Dans la suite de ce chapitre, nous allons envisager successivement ces quatre grandes parties de la réponse immunitaire contre *Haemonchus contortus*.

### 1. Présentation des antigènes parasitaires et initiation de la réponse immunitaire adaptative

La première étape de cette initiation consiste en une capture des antigènes parasitaires par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) situées dans la muqueuse digestive. L'épithélium gastro-intestinal et le mucus présent à sa surface constituant une barrière physique à la capture des antigènes, celle-ci s'effectue dans les structures lymphoïdes disséminées tout au long de la muqueuse digestive : les plaques de Peyer et autres formations lymphoïdes associées au tube digestif (GALT : Gut Associated Lymphoid Tissues). Des cellules spécialisées, les cellules M, permettent le transport des antigènes vers les cellules présentatrices d'antigènes situées dans un dôme sous-épithélial où ont lieu les interactions initiales entre CPA et lymphocytes T (LT) (Onah et Nawa, 2000).

Après phagocytose, les cellules présentatrices d'antigènes présentent des fragments peptidiques d'antigènes étrangers aux récepteurs des LT CD4+ (T-cell receptor : TCR). Ces fragments peptidiques sont liés aux molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH II) des CPA. Cette présentation d'antigènes génère l'expansion clonale de LT spécifiques et leur différenciation vers une fonction effectrice (Doenhoff, 2000).

A l'heure actuelle, on ne connaît pas le mode de présentation des antigènes de nématodes gastro-intestinaux dans le tube digestif des ruminants ni la nature des antigènes capables d'initier la réponse immunitaire (antigènes cuticulaires, de liquide de mue, produits d'excrétion-sécrétion ?). A partir d'études in vitro, au moins quatre types cellulaires (cellules dendritiques, macrophages, lymphocytes B et cellules épithéliales) semblent être capables de présenter des antigènes au sein du tissu lymphoïde associé au tube digestif (Onah et Nawa, 2000). Cependant, en raison du nombre restreint d'études sur la capture et la présentation des antigènes de nématodes, il n'existe aucune preuve solide in vivo de l'implication de ces cellules dans la présentation de ces antigènes (Miller, 1996a). D'autres types cellulaires, dont les mastocytes et les polynucléaires éosinophiles, peuvent exprimer les molécules de classe II du CMH et donc présenter des peptides aux lymphocytes T CD4+. Leur capacité de présentation antigénique, associée à leur présence dans les muqueuses, notamment digestive,



en font également de bons candidats pour l'initiation des réponses immunitaires dans ces sites (Coffman et von der Weid, 1997).

## 2. Orientation de la réponse immunitaire : Th<sub>1</sub> ou Th<sub>2</sub> ?

Plusieurs études prouvent que ce sont les LT CD4<sup>+</sup> qui participent activement à l'initiation de la réponse immunitaire contre *H. contortus*. Par traitement à base d'anticorps monoclonaux anti-CD4, la déplétion en LT CD4<sup>+</sup> d'agneaux Mérinos, sélectionnés génétiquement pour leur résistance à *H. contortus*, a complètement abrogé l'expression de cette résistance. Les OPG et le nombre total de vers étaient significativement plus hauts que chez les animaux témoins, et la mastocytose muqueuse comme l'éosinophilie tissulaire ont été supprimées. (Gill et al., 1993a). De la même manière, Karanu et al. (1997) ont montré que des moutons immunisés avec des antigènes digestifs d'*H. contortus* perdaient cette immunité quand les LT CD4<sup>+</sup> étaient déplétés.

On sait que l'orientation de la réponse immunitaire adaptative vers l'une des deux grandes voies Th<sub>1</sub> ou Th<sub>2</sub> dépend des cytokines sécrétées par les LT CD4<sup>+</sup>. Depuis le milieu des années 90, de grand progrès ont été faits pour caractériser les cytokines ovines, mais leurs rôles précis dans la réponse immunitaire est encore largement inconnu. Il semblerait que ce soit moins la quantité mais d'avantage les proportions entre les différents niveaux de cytokines qui orientent la réponse Th<sub>1</sub> ou Th<sub>2</sub>. (Schallig, 2000)

Les LT Th<sub>1</sub> produisent l'interleukine 2 (IL-2) et l'interféron  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Les LT Th<sub>2</sub> sont quant à eux définis par la production d'IL-4 (cytokine clé de la réponse Th<sub>2</sub>), IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 et IL-13. Une réponse Th<sub>2</sub> typique est caractérisée par l'augmentation de la sécrétion d'immunoglobulines par les lymphocytes B, en particulier les IgG1 et les IgE, et par la prolifération des éosinophiles et des mastocytes muqueux. (Schallig, 2000). La différenciation de clones de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> naïfs en cellules productrices d'IL-4 est l'étape déterminante pour la mise en place d'une réponse Th<sub>2</sub> efficace et protectrice. D'une façon caricaturale, les réponses de type Th<sub>1</sub> seraient initiées lors d'infections intra-cellulaires (virales, bactériennes, infections à protozoaires), alors que les réponses Th<sub>2</sub> le seraient lors d'infections par des parasites métazoaires extra-cellulaires.

La présence de cellules sources de cytokines Th<sub>2</sub> ainsi que la concentration locale en cytokines dans un site anatomique donné, en particulier la muqueuse digestive, détermine un

micro-environnement cytokinique qui est indispensable pour l'orientation de la réponse immunitaire (Kourilsky et Truffa-Bachi, 2001), l'IL-4 étant nécessaire pour l'amplification des cellules Th<sub>2</sub> (Gause et al., 2003). Les sources précoces d'IL-4 ainsi que leur mode de régulation ne sont pas complètement définis. Différents types cellulaires pourraient produire cette cytokine : les cellules lymphocytaires T CD4<sup>+</sup> et les lymphocytes T  $\gamma\delta$  mais également les polynucléaires éosinophiles et les basophiles, ainsi que les cellules T Natural Killer (NK) et les mastocytes. (Coffman et von der Weid, 1997).

Chez les ruminants, la nature de la réponse immunitaire envers les nématodes gastro-intestinaux n'est pas claire et l'existence d'une véritable dichotomie Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub> a suscité de nombreuses questions. Peu d'études sur la polarisation de la réponse immunitaire contre *H. contortus* sont disponibles et les résultats sont parfois équivoques. Dans une étude préliminaire utilisant la PCR semi-quantitative sur un nombre restreint de moutons, Schallig (2000) a observé une réponse Th<sub>1</sub> non protectrice chez des moutons primo-infestés par *H. contortus*. Une seconde infestation a induit une réponse Th<sub>2</sub> protectrice avec de hauts niveaux d'expression des ARNm de l'IL-4 sans surexpression de l'IL-5. D'autre part, une étude in vitro de Gill et al. (2000) a montré que les cellules immunitaires issues de moutons infestés produisaient peu d'IFN $\gamma$  et beaucoup d'IL-5 par rapport à celles d'ovins naïfs, lorsqu'elles étaient en présence d'antigènes d'*H. contortus*. Dans les mêmes conditions, les cultures cellulaires issues de moutons génétiquement résistants présentent de forts taux d'IgG1 spécifiques et d'IgE, et la muqueuse abomasale de ces derniers contient de fortes densités de mastocytes et d'éosinophiles. Ces résultats concordent avec une orientation Th<sub>2</sub> mais ils sont obtenus in vitro.

Cependant, la polarisation de la réponse immunitaire adaptative contre *H. contortus* a récemment été démontrée de manière certaine (Lacroux, 2006b). Une orientation Th<sub>2</sub> a clairement été observée dans la muqueuse de la caillette et le nœud lymphatique abomasal. La sur-expression des ARNm des interleukines 4, 5 et 13, le recrutement des éosinophiles, des mastocytes et globules leucocytes, ainsi que la production d'IgG systémiques et d'IgA muqueuses spécifiques ont été observés chez des moutons INRA 401, d'une façon plus précoce chez les animaux déjà sensibilisés que chez les ovins primo-infestés, et sans aucune expression d'un profil cytokinique de type Th<sub>1</sub>.

### 3. Mise en place et rôle des effecteurs de l'immunité dans l'haemonchose

Les réponses cellulaires et humorales dépendent de la polarisation Th<sub>2</sub> initiale de la réponse immunitaire. Ces réponses sont caractérisées par :

- une éosinophilie sanguine et tissulaire
- une mastocytose tissulaire, avec apparition de globules leucocytes intra-épithéliaux (stade ultime supposé de la différenciation des mastocytes)
- la production d'anticorps sériques ou locaux (sites tissulaires d'infiltration) dominés par les immunoglobulines IgG1, IgA et IgE

L'activation de ces effecteurs de l'immunité est conditionnée par l'environnement cytokinique induit par la polarisation de la réponse immunitaire. Les cytokines de type Th<sub>2</sub> ont de nombreuses activités biologiques sur les cellules lymphocytaires T ainsi que sur les précurseurs de cellules hématopoïétiques. Elles permettent la différenciation, l'activation et le recrutement des polynucléaires éosinophiles et des mastocytes dans les tissus infestés, et promeuvent probablement l'hyperplasie des cellules à mucus. Ces cytokines ont également des effets sur les lymphocytes B, permettant la synthèse et la libération des immunoglobulines G1, A et E. Les rôles principaux des différentes cytokines de type Th<sub>2</sub> sont résumés dans le tableau 4.

**Tableau 4: Activité biologique des principales cytokines Th<sub>2</sub> (d'après Lacroux, 2006a)**

Cytokine	Activité biologique
IL-3	Facteur de croissance pour cellules souches hématopoïétiques Mastocytose
IL-4	Inhibition de la production d'IFN- $\gamma$ et de la synthèse de cytokines inflammatoires (IL-1, TNF) par les macrophages Croissance, survie et différenciation des lymphocytes T en cellules Th <sub>2</sub> Activation, croissance et commutation isotypique des lymphocytes B (production d'IgE et d'IgG1) Contraction des muscles lisses Hyperplasie des cellules à mucus Mastocytose
IL-5	Différenciation des lymphocytes B et production d'IgA et d'IgE Croissance, différenciation, survie, migration et activation des éosinophiles Hyperplasie des cellules à mucus
IL-6	Différenciation des lymphocytes B en plasmocytes produisant des immunoglobulines
IL-9	Stimulation de la production d'IgE Eosinophilie, mastocytose, hyperplasie des cellules à mucus
IL-10	Inhibition de la voie Th <sub>1</sub> par les lymphocytes T Inhibition de la libération de cytokines par les macrophages Croissance des mastocytes
IL-13	Production d'IgE Hyperplasie des cellules à mucus Contraction des muscles lisses
Eotaxine	Chimio-attraction des éosinophiles dans les sites tissulaires

### a) Rôles des polynucléaires éosinophiles

In vivo, les éosinophiles s'accumulent dans les tissus envahis par les nématodes gastro-intestinaux et notamment par les larves L<sub>3</sub> d'*H. contortus* (Balic et al., 2002). Leur mode d'action serait la cytotoxicité cellulaire : la libération des protéines cationiques contenues dans leurs granulations cytoplasmiques, ainsi que la génération de médiateurs néoformés auraient un effet cytolytique sur le tégument des parasites, induisant une immobilisation des larves, des lésions cuticulaires et conduisant à leur mort (Weller, 1994).

Bien que ce mécanisme n'ait pas été démontré in vivo, le polynucléaire éosinophile est considéré comme une cellule protectrice pour l'hôte lors d'infestation parasitaire. Cette hypothèse est notamment étayée par l'observation histologique de parasites dans les tissus de l'hôte : de nombreux polynucléaires éosinophiles sont mis en évidence en association avec des parasites intacts ou endommagés et semblent dégranuler in vivo à proximité de ceux-ci (Butterworth, 1984 ; Balic et al., 2006).

Mais l'implication du couple éosinophile/IL-5 dans l'immunité protectrice n'a pas encore été clairement démontrée (Onah et Nawa, 2000). In vitro, les éosinophiles sont capables d'immobiliser et de tuer les larves d'*H. contortus* en présence d'anticorps spécifiques anti-L<sub>3</sub> (Rainbird et al., 1998), ce qui suggère que les éosinophiles pourraient être des effecteurs dans le mécanisme d'élimination des larves L<sub>3</sub> chez les moutons immunisés.

Cependant, les dommages muqueux locaux induits par les polynucléaires éosinophiles pourraient fournir un micro-environnement bénéfique au parasite. Cette hypothèse pourrait être confortée par la démonstration récente que des extraits totaux de stades larvaires ou d'adultes d'*H. contortus* induisent une puissante activité chimio-attractrice pour les polynucléaires éosinophiles in vitro, alors que ces mêmes produits issus d'un nématode libre non-parasite, *Caenorhabditis elegans*, n'en sont pas capables (Wildblood et al., 2005).

Enfin, un rôle non négligeable des polynucléaires éosinophiles in vivo est leur capacité de production de certaines cytokines dans leur environnement immédiat, en particulier l'IL-3 et l'IL-5, suggérant un rôle dans la mastocytose associée aux infestations helminthiques ainsi que dans l'amplification de l'éosinophilie via une activité IL-5 autocrine ou sur les autres polynucléaires éosinophiles (Weller, 1994).

## b) Rôles des mastocytes et des globule leucocytes

Une mastocytose dans la muqueuse abomasale, incluant la présence de globules leucocytes intra-épithéliaux, est invariablement associée à une helminthose gastro-intestinale (Huntley et al., 1992). Les globule leucocytes dérivent des mastocytes muqueux sub-épithéliaux de la muqueuse digestive pendant l'infestation parasitaire (Rothwell, 1989).

Cette mastocytose est contrôlée par plusieurs cytokines Th<sub>2</sub>, principalement les IL-3, IL-4, IL-9 et IL-10 (Else et Finkelman, 1998). Lors d'infestations par des nématodes gastro-intestinaux, les mastocytes sont responsables du développement de réactions d'hypersensibilité de type I médiées par les IgE (Miller, 1996b). Ces réactions sont généralement considérées comme protectrices vis à vis des infestations par des nématodes selon trois mécanismes :

- La libération de médiateurs de faible poids moléculaire (histamine, protéoglycanes, protéases, leucotriènes) pourraient directement affecter la survie des vers (Rothwell, 1989). Ces médiateurs sont également impliqués dans l'inhibition de la migration des larves des nématodes gastro-intestinaux chez le mouton (Douch et al., 1996b).
- La dégranulation des mastocytes entraîne une hypersécrétion d'ions chlorure et d'eau qui favoriserait l'élimination des parasites par un effet purgatif (Baird et O'Malley, 1993).
- L'augmentation de la perméabilité muqueuse, due à la sécrétion de protéases (chymases) (Scudamore et al., 1995), pourrait favoriser la translocation d'anticorps anti-parasitaires qui compromettraient la survie des vers, probablement via une coopération entre les anticorps et les mucines (Miller, 1996b).

Chez les ovins, le nombre de globule leucocytes, mais pas de mastocytes muqueux, dans la muqueuse semble être un bon indicateur de la résistance des animaux face aux Trichostrongles (Douch et al., 1986). Cependant, le seul dénombrement de mastocytes muqueux et/ou de globule leucocytes ne renseigne pas sur les capacités fonctionnelles de ces cellules. Une mesure directe de l'activation et de la dégranulation mastocytaire est possible par le dosage chez les ovins de la SMCP (Sheep Mast Cell-Derived Proteases) (Huntley et al., 1992). Des études ont ainsi montré que chez des moutons hyperimmunisés par des infestations répétées, la sécrétion de SMCP est concomitante de l'expulsion d'*H. contortus* (Miller et al., 1995). Cependant, Huntley et al. (1992) ont montré que les moutons étaient capables d'expulser les vers efficacement dans les 48h, même si le nombre de mastocytes était faible et que la SMCP n'était pas détectable dans la lumière digestive.

### c) Rôle des réponses anticorps

Le rôle de la réponse humorale systémique reste sujet à discussion. Des expériences ont montré la nécessité de transférer à la fois du sérum et des cellules immunitaires d'un donneur immunisé pour que l'immunité conférée au receveur naïf soit protectrice (Ahmad et al., 1990). Par contre, l'importance de la sécrétion d'anticorps à la surface des muqueuses (réponse humorale locale) est plus généralement admise (Else et Finkelman, 1998 ; Onah et Nawa, 2000).

Les cinétiques de la réponse immunitaire locale contre *H. contortus* (Gill et al., 1992) montrent que la quantité d'IgA, IgG1, IgG2 et d'IgM contenue dans les cellules de l'abomasum des moutons avant infestation est faible. Après infestation, on observe une augmentation du nombre de cellules contenant les immunoglobulines, avec un pic entre 21 et 28 jours. Les cellules à IgA sont les plus nombreuses, suivies des cellules à IgG1, suggérant l'importance relative de ces immunoglobulines dans la réponse immunitaire contre l'haemonchose. Le rôle des IgM est souvent considéré comme d'importance mineure. (Schallig, 2000)

#### ❖ Les IgA

En général, une augmentation des IgA sériques est observée en réaction aux antigènes larvaires ou adultes, après une infestation primaire ou secondaire. Mais on ne sait pas s'il y a une relation directe entre les taux d'anticorps sériques et le statut immunitaire du mouton (Gomez-Munoz et al, 1999). Cela est probablement dû au fait que *H. contortus* se localise à la surface de la muqueuse de la caillette et que la réponse immunitaire périphérique est vraisemblablement un pâle reflet de la réponse immunitaire locale. Ainsi, les concentrations en IgA sériques sont généralement basses tandis que les IgA locales jouent un rôle important dans le mucus abomasal des moutons immunisés. (Schallig, 2000). Les moutons résistants à *H. contortus* présentent une augmentation très importante du nombre de plasmocytes à IgA dans la muqueuse abomasale, par rapport à des moutons sensibles (Gill et al., 1994). Le mécanisme par lequel les IgA contribuent à l'immunité contre les strongles gastro-intestinaux n'est pas complètement élucidé. Les anticorps pourraient avoir un effet direct sur le parasite en neutralisant ou en inactivant des enzymes essentielles au métabolisme d'*H. contortus* (Gill et al., 1993b). Un rôle plus général dans la participation à la réaction d'hypersensibilité a aussi été suggéré (Gill et al., 1993b ; Miller, 1996a) : les IgA ont la capacité d'induire la dégranulation des éosinophiles, et la reconnaissance des immuns complexes IgA/Ag par les

cellules de l'inflammation dans la muqueuse entraîne la production de cytokines et de médiateurs pro-inflammatoires. (Schallig, 2000)

### ❖ Les IgG

Le rôle des IgG chez les ruminants est peu documenté. Les IgG1 (90% des IgG sériques) et dans une moindre mesure, les IgG2, sont les immunoglobulines sériques dominantes lors d'infestation par *H. contortus* (Schallig et al., 1995). Des taux élevés d'IgG1 ont été observés chez des moutons génétiquement résistants à *H. contortus* (Gill et al., 1993b).

Le premier contact avec le parasite ne provoquerait qu'une faible augmentation des concentrations sériques d'IgG. C'est après une réinfestation, chez des moutons préalablement immunisés, qu'elles augmentent notablement et rapidement (Schallig et al., 1994a, 1995 ; Gomez-Munoz et al., 1999). D'après Gomez-Munoz et al. (1999), la réponse IgG est liée au stade de développement du vers : elle est plus précoce contre les antigènes de larves L<sub>3</sub> que contre les antigènes de vers adultes. De plus, cette réponse anticorps serait dose-dépendante. En effet, lors d'infestation expérimentale, Cuquerella et al. (1991) ont obtenu des augmentations significatives d'IgG en doublant le nombre utilisé de larves infestantes (passage de 2500 à 5000 L<sub>3</sub>).

Comme les IgA sériques, la concentration en IgG du sérum ne peut pas être mise en relation directe avec le statut immunitaire des ovins. Dans l'étude de Gomez-Munoz et al. (1999) où sont comparées les réponses anticorps entre moutons naïfs et moutons immunisés, les profils obtenus après Western blot sont très variables entre animaux. Aucune relation claire entre protection (ovins primo-infestés *versus* ovins immunisés) et reconnaissance de protéines antigéniques particulières n'a été observée. De même, Schallig et al. (1995) ont trouvé qu'une grande variété d'antigènes était reconnue par les IgG1 sériques des animaux primo ou secondairement infestés. En général, le sérum des moutons capables de monter une réponse IgG partiellement protectrice contre *H. contortus* (ovins immunisés) semble réagir plus intensément en Western blots que le sérum des moutons naïfs (Schallig et al., 1995). Notons que la reconnaissance d'un antigène de 24 kDa est communément observée dans les extraits somatiques ou les produits d'excrétion-sécrétion du parasite (Schallig et al., 1995).

Les IgG pourraient avoir un effet direct sur le parasite en neutralisant ou en inactivant des enzymes métaboliques d'*H. contortus* (Gill et al., 1993b). Chez des moutons naïfs, il n'y a pas de cellules contenant des IgG spécifiques du parasite dans la muqueuse abomasale. Ces cellules commencent à apparaître une semaine post-infestation, et contiennent majoritairement des IgG1, les cellules immunitaires à IgG2 locales étant en quantité

négligeable (Gill et al., 1994). La translocation d'IgG dans la lumière digestive (Yacoob et al., 1983) plaiderait en faveur d'un rôle important dans la réponse immunitaire.

#### ❖ Les IgE

L'infestation d'ovins par *H. contortus* provoque une augmentation des concentrations sériques des IgE totales, 2 à 4 semaines post-infestation (Kooyman et al., 1997). A l'autopsie, il existe une corrélation négative entre le nombre total de vers et les taux d'IgE totales sériques. De plus, ces IgE sont majoritairement dirigées contre des antigènes d'excrétion-sécrétion de vers adultes et non contre des antigènes larvaires. Le rôle principal des IgE seraient l'activation de la cytotoxicité des mastocytes et des éosinophiles (Miller, 1996a).

#### **d) Rôle des cellules caliciformes et des mucines**

L'activation du système immunitaire du tractus digestif lors d'infestation par des strongles gastro-intestinaux, avec notamment la production d'IL-4 et IL-13, induit des changements structuraux et fonctionnels de la muqueuse digestive et des cellules caliciformes consistant en une augmentation de la motricité intestinale, une hyperplasie du muscle lisse de la paroi digestive et une augmentation de la production de mucus (Emery et al., 1993).

Chez le rat infesté par *N. brasiliensis*, ces modifications physiologiques sont concomitantes à l'expulsion des vers (Rothwell, 1989). Les mécanismes d'action du mucus dans la protection contre les strongles gastro-intestinaux sont encore mal définis. Le mucus jouerait un rôle protecteur en piégeant et délogeant les vers, inhibant leur mobilité ainsi que leur capacité à se nourrir (Rothwell, 1989). L'expulsion des vers coïncide avec des changements au niveau de la production de mucus, tant sur le plan quantitatif que sur le plan qualitatif, avec une modification de la composition des mucines qui deviennent acides et sulfatées (Koninkx et al., 1988), ce qui favoriserait leur action sur les nématodes. L'incorporation de médiateurs inflammatoires mastocytaires dans le mucus pourrait également avoir des effets délétères sur les vers (Rothwell, 1989). Ces mécanismes seraient identiques chez les moutons infestés par *H. contortus* (Emery et al., 1993).



### e) Rôle de la motricité du tractus digestif

La motricité du tractus digestif lors d'infestation par des nématodes a principalement été étudiée chez les rongeurs de laboratoire. Les deux principales cytokines Th<sub>2</sub>, IL-4 et IL-13, promeuvent la contraction des muscles lisses intestinaux (Zhao et al., 2003). Lors d'une inflammation intestinale, l'hyper-contraction des muscles lisses est très importante dans la partie proximale de l'intestin grêle alors qu'elle est plus réduite en partie distale (iléon, côlon), augmentant ainsi la propulsion du contenu luminal et donc des parasites vers les parties distales du tractus digestif et favorisant leur expulsion. Chez la souris une association positive a été démontrée entre l'intensité de la contraction des muscles lisses intestinaux et la capacité de l'hôte à expulser les parasites (Vallance et al., 1997).

## C. Conséquences de la réponse immunitaire adaptative sur les traits de vie du parasite

### 1. Manifestations de l'immunité contre les nématodes parasites adultes

#### a) Expulsion des vers adultes

Le phénomène de « self-cure » a lieu quand des *H. contortus* adultes installés sont spontanément expulsés lors d'une infestation larvaire massive sur une très courte période. Il est généralement observé après les pluies qui libèrent de nombreuses larves infestantes séquestrées dans les fécès. (Adams, 1982 ; Miller et Horohov, 2006). Lors d'infestation répétées, l'expulsion des *H. contortus* adultes représente une conséquence fréquente de la mise en place de l'immunité acquise (Barger et al., 1985). Le self-cure serait dose-dépendant, les moutons expulsent les adultes si la quantité de larves infestantes ingérées est suffisamment importantes (>5000) (Luffau et al., 1981).

#### b) Réduction de la taille des vers adultes

Les observations de la modification de la morphologie des nématodes gastro-intestinaux chez les ruminants ont permis de décrire une réduction de la taille des nématodes adultes (Balic et al., 2000). Ce changement de morphologie, manifestation de l'immunité acquise, a été mis en évidence chez des ovins infestés par *H. contortus* (Coyne et Smith, 1992).

### c) Diminution de la fécondité des femelles

La réduction de fécondité des vers femelles est considérée comme une force de régulation majeure des populations de strongles gastro-intestinaux chez les ovins (Stear et al., 1997). Les mécanismes responsables de cette diminution de fécondité peuvent être la résultante soit d'une compétition densité-dépendante entre les parasites, soit de l'immunité acquise, soit des deux, bien que les données issues de différentes études soient conflictuelles (Balic et al., 2000). La diminution de la fécondité des femelles a été rapportée comme la conséquence d'infestations répétées par *H. contortus* (Dineen et Wagland, 1966). La diminution de fécondité des femelles peut être appréciée (Onah et Nawa, 2000) :

- indirectement, par la mesure de l'excrétion d'œufs dans les matières fécales, mais de nombreux autres facteurs peuvent influencer cette excrétion.
- directement, par le comptage du nombre d'œufs présents dans l'utérus des femelles retrouvées chez l'hôte, ce qui est une méthode plus précise.

## 2. Manifestations de l'immunité contre les larves de nématodes parasites

### a) Arrêt du développement des larves (hypobiose)

L'arrêt du développement des larves au stade L<sub>4</sub> dans la muqueuse de l'hôte est un phénomène fréquent associé à la résistance de l'hôte chez les ruminants. Cependant, il est aussi lié à un certain nombre d'autres facteurs tels que les variations climatiques et la densité parasitaire dans l'hôte (Balic et al., 2000).

### b) Résistance à l'établissement de nouvelles larves

La réduction du nombre de larves qui s'installent puis se développent en adultes est la manifestation majeure et la plus aboutie de l'immunité acquise dans les strongyloses gastro-intestinales (Onah et Nawa, 2000). Le fait que les larves ingérées n'arrivent pas à s'établir chez des animaux massivement infestés est appelé « exclusion immunitaire » (Miller et al., 1983 ; Newlands et al., 1990). On considère que ce phénomène est à médiation immunitaire car un traitement à base de corticoïdes empêche l'exclusion immunitaire (Jackson et al., 1988). De plus, elle est dépendante de fortes doses larvaires infestantes.

Chez les ruminants, de nombreuses études sur la résistance aux larves infestantes ont permis d'établir plusieurs points clés (Balic et al., 2000) :

- Cette résistance à l'établissement larvaire est plus fortement exprimée à l'issue de contacts répétés sur de longues périodes avec des larves infestantes : ainsi peut on l'observer chez le mouton après six ou huit semaines d'infestations expérimentales quotidiennes par *H. contortus* (Barger et al., 1985).
- La résistance générée contre une espèce de nématode peut agir contre d'autres espèces présentes dans le même tissu (résistance croisée à l'installation de larves de différentes espèces de nématodes).
- Plusieurs mécanismes d'expulsion existeraient permettant d'expliquer des délais variables de rejet des larves : l'expulsion des larves d'*H. contortus* peut avoir lieu dans les heures qui suivent l'infestation (Miller et al., 1983) ou bien 4 à 7 jours après l'ingestion des larves (Adams, 1982).

Les connaissances actuelles sur la réponse immunitaire face aux strongyloses gastro-intestinales ont majoritairement été établies à partir d'études sur des modèles d'infestations parasitaires chez les murins. Chez les ovins infestés par *Haemonchus contortus*, de nombreuses questions subsistent :

- la cinétique des mécanismes effecteurs, cellulaires ou humoraux, ainsi que leur rôle dans le contrôle de l'haemonchose, ne sont pas complètement élucidés,
- les phénomènes d'immunomodulation par les populations parasitaires commencent à être étudiés chez les rongeurs mais l'on ne sait pas quelle place ils peuvent avoir dans l'espèce ovine (Maizels et al., 2004),
- enfin, les variations de résistance à *Haemonchus contortus* entre races ovines restent à ce jour inexplicées et le rôle éventuel que pourrait jouer la réponse immunitaire adaptative dans cette résistance reste à éclaircir.

## CHAPITRE II: ETUDE EXPERIMENTALE

### I. OBJECTIFS DES TRAVAUX DE THESE

La résistance des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques, autrefois limitée à quelques nématodes du mouton et de la chèvre dans l'hémisphère sud et à un nombre restreint de molécules, a tendance à se développer et à s'élargir à toutes les classes connues d'anthelminthiques pour la plus part des nématodes des petits ruminants.

Chez le mouton, la résistance des souches d'*Haemonchus contortus* à travers le monde a des répercussions financières sévères : aux pertes de production et aux mortalités engendrées par cette nématodose, s'ajoute le coût très élevé des anthelminthiques.

La recherche de méthodes alternatives à l'utilisation des antiparasitaires est donc fondamentale. L'une d'entre elles s'intéresse à la sélection d'ovins résistants à *Haemonchus contortus*. Puisqu'il existe des différences de résistance au parasite entre races de moutons et entre individus d'une même race, des programmes de sélection génétique ont vu le jour pour comprendre et tirer profit de ce phénomène.

Les mécanismes de la résistance demeurent inconnus. L'hypothèse d'une réponse immunitaire plus efficace chez les animaux résistants est actuellement privilégiée. La réponse anticorps est une des composantes de la réponse immunitaire adaptative, son rôle exact reste à définir. Cependant, pour les parasites hématophages comme *H. contortus*, la réponse anticorps sérique de l'hôte peut avoir un effet direct sur le tube digestif du nématode et sa physiologie.

C'est pourquoi, dans nos travaux, la réponse anticorps à IgG totales sériques a été étudiée par titrage ELISA, chez des ovins de race résistante (Barbados Black Belly) et comparée à celle obtenue chez des ovins sensibles (INRA 401), afin de savoir si elle explique, en partie, la différence de résistance entre ces deux races de moutons. Dans un second temps, les résultats concernant les paramètres parasitologiques issus des mêmes moutons (OPG, pourcentage de larves et de vers immatures, nombre total de vers, longueur des femelles...) ont été exposés. Ces résultats ont été obtenus par Lacroux et al. (2006b). Enfin, la réponse anticorps à IgG totales sériques et les paramètres parasitologiques ont été mis en parallèle pour déterminer d'éventuelles corrélations.

## II. MATERIELS ET METHODES

### A. Modèles expérimentaux

#### 1. Les animaux

##### a) Ovins de race INRA 401

La race INRA 401 est le produit d'un programme de recherche INRA ayant débuté en 1963, dont le but était de renforcer la productivité du troupeau ovin français en créant une souche de moutons prolifiques, faciles à élever et bien conformés. Elle a été créée au domaine expérimental INRA de La Sapinière près de Bourges, par croisements entre une race prolifique (Romanov) et une race bouchère (Berrichon du Cher). C'est à partir de 1980 que les premiers béliers ont été mis à la disposition des éleveurs au niveau national. Cette race est utilisée pour sa laine, de qualité moyenne, et surtout pour sa viande. Elle peut être exploitée sur tous les milieux et dans tous les modes d'élevage. Les brebis produisent en moyenne deux agneaux par portée et font preuve d'une très bonne aptitude au désaisonnement naturel. A l'heure actuelle, la race INRA 401 est principalement élevée dans le sud de la France (60% des effectifs) et se développe également dans les zones céréalières du Nord. La population est de l'ordre de 45 000 brebis. (Babo, 2000 ; Bureau des ressources génétique, 2005)

Dans notre travail, les ovins de race INRA 401 ont été utilisés comme exemple d'ovins sensibles au parasitisme gastro-intestinal dû à *Haemonchus contortus*.



**Photo 7: Ovins de race INRA 401**

(Département des Sciences Animales © 2000, inapg-inra  
<http://www.viarural.com.ar/viarural.com.ar/ganaderia/asociaciones/exteriorovinos/>)

## b) Ovins de race Barbados Black Belly

Les ovins Barbados Black Belly représentent l'une des races ovines dites "à poils ou sans laine". C'est une race indigène de l'île de la Barbade, dans les Caraïbes, dont l'existence a été enregistrée dès le XVII<sup>e</sup> siècle. Elle descend très probablement des moutons africains de la côte du golfe de Guinée qui ont été importés à l'époque de la traite des esclaves lors du « commerce triangulaire ». A l'heure actuelle, les Barbados Black Belly se rencontrent surtout aux petites Antilles, mais aussi en Amérique latine tropicale. Ils doivent leur nom à leur robe fauve-acajou avec un ventre, des extrémités, des sourcils, l'auge et des muqueuses noirs. Ils sont élevés pour leur viande et leurs principales qualités sont leurs bonnes performances de reproduction ainsi que leur rusticité. (Naves et al., 2001 ; Mahieu et al., 1997)

Le noyau Black Belly, entretenu et multiplié sur le domaine INRA de la Sapinière (Cher), a été importé, sous la forme d'embryons, d'un élevage INRA de Guadeloupe dans le but initial de faire des études sur la saisonnalité de la reproduction. Toutefois, la résistance de ce type d'ovins au parasitisme gastro-intestinal en fait un excellent modèle d'étude de la réponse immunitaire et de la régulation des populations de strongles, par comparaison avec une race sensible comme l'INRA 401.



**Photo 8: Brebis Barbados Black Belly**

(S. Schoenian, université de Virginie (E.U.) © 2000  
[http://www.blackbelliesheep.org/articles/blackbellies\\_in\\_caribbean\\_photos.htm](http://www.blackbelliesheep.org/articles/blackbellies_in_caribbean_photos.htm))



**Photo 9: Belier Barbados Black Belly**

(<http://hometown.aol.com/buffalocreekfarm/images/picture%20094%20low.jpg>)

### c) Age, sexe et entretien des animaux

Les animaux ont été inclus dans nos expérimentations vers 3-4 mois d'âge et sont uniquement des mâles, pour des raisons de disponibilité limitée des femelles de race pure Barbados Black Belly. De leur arrivée à l'autopsie, ils ont été maintenus à l'intérieur et alimentés avec du foin à volonté et du concentré afin d'éviter toute infestation accidentelle.

## 2. Les parasites

Les larves d'*H. contortus* utilisées proviennent de la souche « Humeau » isolée d'un élevage caprin dans la région du Quercy. Les larves infestantes sont récoltées à partir de coprocultures de matières fécales d'agneaux. Les larves utilisées en expérimentation ont environ 1 à 2 mois d'âge et sont conservées à 4°C.

## 3. Infestations expérimentales

Les ovins ont été infestés par voie orale à la seringue, avec des doses de 10 000 L<sub>3</sub>, en primo comme en réinfestation. Une telle dose est suffisante pour entraîner une réponse chez l'hôte, mais n'entraîne pas de signes cliniques extrêmes voire la mort des animaux au cours de l'expérimentation.

Les animaux ont été divisés en trois groupes :

- Un groupe primo-infesté ou immunisé (groupe A) : ces animaux ont été infestés une première fois à J0 (immunisation). Au bout de 30 jours, ils ont reçu un traitement anthelminthique par voie orale (Ivermectine ORAMEC® Ovin 0.2 mg/kg) visant à éliminer cette première infestation. Après 15 jours de repos, ces animaux ont été réinfestés avec une dose parasitaire similaire (J45).
- Un groupe naïf (groupe B) : ces animaux ont été infestés une seule fois à J45.
- Un groupe contrôle (groupe C) : ovins non infestés.

Afin de suivre la cinétique de la réponse immunitaire et de ses effecteurs, mais également l'évolution de la population parasitaire au sein de l'hôte, les expérimentations ont été conduites avec des points d'abattage des animaux correspondant à une étape précoce du développement d'*H. contortus* : transformation des larves de stade 3 en stade 4 (J4), et à la fin présumée du développement parasitaire avec présence d'adultes mâles, et femelles excrétrices d'œufs à J30.

Tableau 5: Description chronologique de l'expérimentation

Races	Groupes	Infestation initiale	Traitement Anthelminthique	Infestation 10 000 <i>H. contortus</i> L <sub>3</sub>	Nombre de moutons autopsiés	
		0	30	45	49	75
INRA 401	Immunisés (A)	+	+	+	n = 5	n = 5
	Primo-infestés (B)	-	+	+	n = 5	n = 5
	Contrôle (C)	-	+	-	n = 4	n = 4
Barbados Black Belly	Immunisés (A)	+	+	+	n = 4	n = 5
	Primo-infestés (B)	-	+	+	n = 4	n = 5
	Contrôle (C)	-	+	-	n = 3	n = 4



## B. Etudes des populations parasitaires

### 1. Comptage des œufs de strongles dans les matières fécales

Le nombre d'œufs de strongles par gramme de matières fécales (ou OPG) est évalué par la technique de McMaster, modifiée par Raynaud (1970). Elle permet de suivre l'excrétion des œufs pendant la période de ponte des vers femelles, qui fait généralement suite à une période dite prépatente, durant de 17 à 21 jours après l'infestation de l'hôte.

Les prélèvements ont été effectués deux fois par semaine, de J15 à J30 pour les groupes A et de J60 à J75 pour les trois groupes.

Les matières fécales sont directement prélevées dans le rectum des ovins et sont pesées. Un volume de 42 mL de NaCl ( $d=1,19$ ) est ajouté à une quantité d'environ 3 grammes de fèces (obtention d'une suspension de matières fécales diluées au  $1/15^{\text{ème}}$ ). L'ensemble est homogénéisé à l'aide d'un agitateur puis filtré dans une passoire à thé. Cette solution saline, d'une densité supérieure à celle de la plupart des œufs de parasites, permet la flottation des œufs d'*H. contortus*, tout en laissant couler les débris fécaux. Un échantillon du surnageant ainsi obtenu permet de remplir les deux cellules de la lame de McMaster (environ 0.5 mL par cellule). Dans chaque cellule se trouve un réseau quadrillé correspondant à un volume de 0.15 mL.

Le comptage des œufs est réalisé dans l'ensemble du réseau. Le nombre d'œufs par gramme (OPG) est alors donné par la formule :

$$\text{OPG} = \frac{\text{(nombre d'œufs/volume total du réseau)} \times (\text{volume de NaCl} + \text{masse des fèces})}{\text{masse des fèces}}$$

De façon plus simple, chaque cellule de la lame de McMaster a un volume connu de 0,15 mL donc, comme la solution est diluée au  $1/15^{\text{ème}}$ , le nombre d'œufs comptés est celui contenu dans un centième de gramme de fèces. Pour obtenir le nombre d'œufs par gramme, on multiplie le résultat obtenu lors du comptage sur une cellule par 100 (on conseille toutefois de compter les deux cellules. Le facteur de multiplication est alors de 50), soit :

$$\text{OPG} = \text{Nombre d'œufs dans les deux cellules de la lame de McMaster} \times 50$$

## 2. Mise en culture in vitro des œufs de *Haemonchus contortus*

Le développement des œufs en larves infestantes L<sub>3</sub> correspond à la phase libre du cycle parasitaire des Trichostrongles. Cette étape revêt une importance particulière puisque son échec peut mettre en péril l'ensemble du cycle parasitaire. Nous nous sommes intéressés à la capacité des œufs récoltés dans les matières fécales à se transformer en L<sub>3</sub> afin de vérifier que des œufs issus d'ovins résistants (comme les Barbados Black Belly) ont ou non la même capacité à évoluer en L<sub>3</sub> que des œufs excrétés par des animaux de race sensible.

A la fin de l'expérimentation, les matières fécales des moutons sont prélevées pendant l'autopsie, directement dans le rectum. 3g de chaque échantillon sont utilisés pour évaluer l'excrétion d'œufs, tandis que le reste est pesé et mis en culture à 23°C pendant une dizaine de jours, période au cours de laquelle elles sont régulièrement humidifiées. Au bout de 10 jours, les échantillons sont transférés dans un appareil de Baermann pour récolter les larves infestantes L<sub>3</sub>. 24h plus tard, le liquide contenu dans l'appareil est récupéré. Le comptage des larves s'effectue dans 500 µL de suspension. Pour optimiser le dénombrement des larves, les matières fécales restantes (après Baermann) sont de nouveau pesées et 1g de celles-ci est dissout dans 100 ml d'eau. Les larves sont comptées dans 10 ml de suspension et le total est additionné à la valeur précédente correspondante. Au final, le pourcentage d'œufs présents au départ qui ont évolué en larve L<sub>3</sub> est calculé de la manière suivante :

$$\% \text{ de larves produites} = \frac{100 \times \text{nombre total de larves dénombrées}}{\text{OPG} \times \text{masse de fécès mise en culture}}$$

## 3. Etude quantitative et qualitative de la population parasitaire chez l'hôte (bilans parasitaires)

L'analyse quantitative de la population de strongles chez l'hôte permet de calculer le taux d'installation des larves infestantes grâce au nombre total de vers recueillis dans l'organe cible, et donc de comparer l'installation entre races résistants et sensibles, entre ovins immunisés et naïfs, ou entre animaux d'un même groupe. A l'autopsie, la caillette est isolée.

Pour chaque organe, les vers sont recherchés dans le contenu de l'organe (ainsi que dans les lavages des parois de celui-ci) après passage à travers un tamis de 40 µm afin d'éclaircir les débris alimentaires. Les vers sont aussi recherchés dans la paroi de l'organe, afin de récupérer et de dénombrer les larves L<sub>4</sub> contenues dans la muqueuse. Pour cela, l'organe cible est digéré dans une solution d'acide chlorhydrique / pepsine pendant 6 heures à 37°C.

Le contenu abomasal est filtré sur un tamis de 40 $\mu$ m. Les lavages de la muqueuse et les digestats sont préservés par addition d'un large volume d'éthanol 70° jusqu'à analyse. Leur volume est ensuite ajusté à 1 litre et le nombre total de vers est estimé dans un aliquot de 10%.

En parallèle du nombre total de vers, une analyse qualitative de la population de strongles est réalisée en dénombrant les différents stades parasitaires : larves L<sub>4</sub>, vers immatures mâles et femelles, vers adultes mâles et femelles. Cette analyse, lorsqu'elle est effectuée sur des prélèvements en cinétique, permet d'apprécier le développement des vers sur la période considérée, ainsi que le respect ou non du schéma habituel de maturation larvaire.

#### 4. Etude de la fécondité des femelles parasitaires adultes

Un des effets de la réponse immunitaire sur la population parasitaire est une diminution de la fécondité des vers femelles. Cette fécondité peut être appréciée par deux paramètres :

- la longueur totale des femelles, directement liée à leur degré de maturation
- le nombre d'œufs qu'elles contiennent dans leur utérus

Lors des dénombrements des différents stades parasitaires à J75, une vingtaine de femelles par animal est prélevée et conservée dans de l'éthanol à 70°. Ces femelles sont, dans un premier temps, mesurées, puis plongées jusqu'à complète désintégration dans de l'eau distillée avec 200  $\mu$ L de solution Milton Sterilizing fluid 20% (Milton Pharmaceutical LTD, contenant 2% w/v eau de Javel et 16% w/v chlorure de sodium). Cette étape a pour but de libérer les œufs de l'utérus de la femelle. Leur paroi étant relativement épaisse, ils résistent plus facilement à la désintégration dans la solution d'eau de Javel que le corps de la femelle, et peuvent ainsi être dénombrés (Kloosterman et al., 1978).

### **C. Exploration de la réponse immunitaire humorale**

La réponse humorale ou réponse « anticorps » peut être étudiée à l'échelle de l'organisme (réponse générale ou systémique) ou à l'échelle de l'organe cible de l'infestation parasitaire (réponse locale) soit, dans notre cas, la caillette. Nous avons choisi de nous intéresser à la réponse anticorps systémique en immunoglobulines G. Elles sont détectées par une méthode ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

## 1. Collecte des prélèvements

Une prise de sang hebdomadaire sur tube sec est réalisée sur l'animal par ponction jugulaire. Le sérum est récupéré après une centrifugation de 5 minutes à 5000 rpm, puis congelé à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

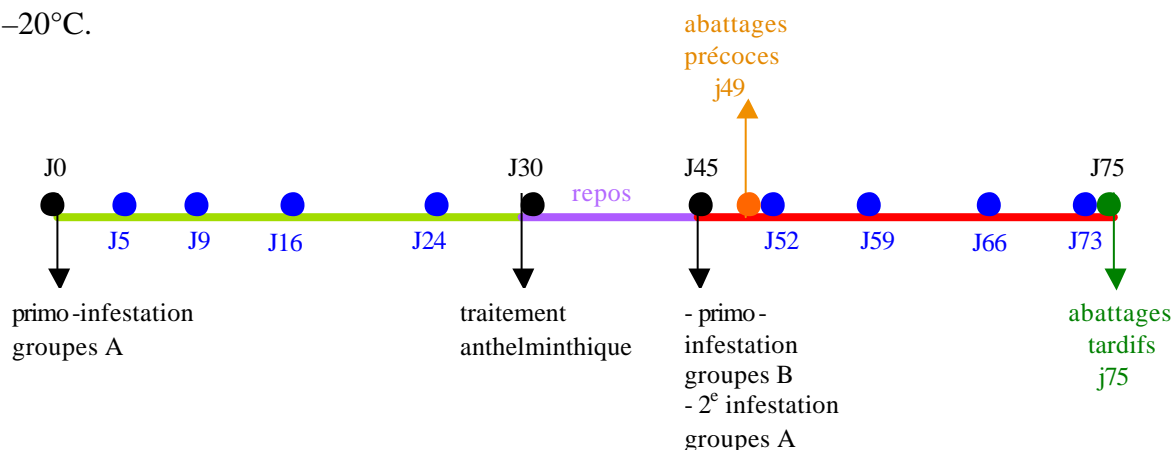


Figure 3 : Répartition chronologique des prises de sang

● prise de sang

## 2. Préparation des antigènes

Différentes préparations antigéniques ont été utilisées pour mettre en évidence des anticorps spécifiques :

- Les produits d'excrétion-sécrétion de vers adultes (PES), car ce sont les différentes protéines produites par le ver adulte pour assurer sa nutrition et sa reproduction.
- Des broyats totaux de larves  $L_3$ , car ce sont les premiers antigènes parasitaires en contact avec l'hôte.

L'obtention de vers adultes est réalisée par infestation massive (50 000 larves infestantes) d'un mouton donneur, euthanasié 30 jours après le challenge. Les vers adultes sont isolés du contenu alimentaire abomasal. Après plusieurs lavages dans du PBS contenant de la pénicilline (100 UI/mL) et de la streptomycine (1 mg/mL), ces vers sont maintenus à  $37^{\circ}\text{C}$ , pendant une nuit environ, sous 5 % de  $\text{CO}_2$  dans la même solution de PBS à raison d'une densité maximale de 50 adultes par puits de 200  $\mu\text{L}$  de plaque de culture cellulaire. Le surnageant de cette culture (produits d'excrétion-sécrétion) est alors collecté et filtré (0.2  $\mu\text{m}$ ).

Les antigènes de larves  $L_3$  sont obtenus après trois cycles de congélation / décongélation des larves ( $-70^{\circ}\text{C}$  ;  $25^{\circ}\text{C}$ ), homogénéisation à  $4^{\circ}\text{C}$  et centrifugation à 30 000g pendant 30 minutes à  $4^{\circ}\text{C}$ . La concentration en protéines de ces surnageants est déterminée par la méthode de Lowry et al. (1951).

### 3. Détermination des conditions optimales pour l'ELISA

Les concentrations optimales des réactifs utilisés (anticorps secondaire conjugué à une peroxydase), des préparations antigéniques et les dilutions des échantillons de sérum sont déterminées par des séries de tests sur des échantillons positifs (sérum d'ovins immunisés avec le parasite d'intérêt) et négatifs (sérum d'ovins contrôles, non-infestés). Les résultats détaillés de ces tests ne sont pas présentés. En revanche, les paramètres retenus sont présentés dans le tableau 6. Ils permettent d'obtenir un bruit de fond minimal et une distinction maximale entre les échantillons positifs et négatifs.

**Tableau 6 : Conditions optimales de détection d'IgG sériques, dirigées contre des antigènes d'excrétion-sécrétion de vers adultes (Ag ES) ou contre des antigènes de broyat total de larves L<sub>3</sub> ( Ag L<sub>3</sub>) d'*Haemonchus contortus*, par technique ELISA.**

Type d'antigène	Ag ES	Ag L <sub>3</sub>
Concentration de l'antigène (µg/mL)	2	1
Dilution du sérum	1:200	1:200
Dilution du conjugué	1:1000	1:1000

### 4. Technique ELISA

La méthode employée dans nos travaux est un test ELISA indirect.

- Des plaques à fond plat (Nunclon, VWR International) sont coatées avec 100 µL/puits d'antigène dilué dans un tampon carbonate pH = 9,6. Les plaques sont emballées dans du papier d'aluminium et laissées pendant une nuit au réfrigérateur à 4°C. Le lendemain matin, ces plaques sont lavées deux fois avec du PBS pH=7.2 contenant 0.1% de Tween 20 (PBS-T), puis séchées.
- Afin de minimiser la fixation non spécifique des anticorps, les plaques sont mises à l'étuve pendant une heure à 37°C en chambre humide, avec 200 µL/puits de PBS-T contenant 5 % de lait demi-écrémé (Régilait®). Les plaques sont ensuite vidées et séchées sans lavage.

- 100 µL de sérum à la dilution optimale préalablement déterminée sont ajoutés par puits (trois puits par sérum) et incubés pendant une heure à 37°C en chambre humide, puis lavées trois fois avec du PBS-T. Lors du troisième lavage, le PBS-T est laissé pendant cinq minutes avant de sécher les plaques.
- Pour mettre en évidence les IgG totales, les plaques sont incubées à 37°C pendant une heure et demie en chambre humide, avec 100 µL/puits de conjugué anti-IgG d'ovin dilué dans du PBS-T (Sigma Immuno Chemicals, réf. A3415). Les plaques sont ensuite lavées trois fois au PBS-T puis séchées.
- La révélation se fait selon une réaction colorimétrique par une incubation des plaques avec 100 µL/puits de révélateur, pendant une heure à 37°C en chambre humide. La solution de révélateur comprend 100 ml d'eau distillée, un comprimé de 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid, Sigma, réf. A9941), un comprimé de tampon citrate (Citrate buffer tablets, Sigma, réf. 104.4) et 25 µL de peroxyde d'hydrogène (Hydrogène-peroxyde, Sigma, réf. H1009). La réaction est stoppée en plaçant les plaques pendant 15 minutes à 4°C.
- La densité optique est alors mesurée à la longueur d'onde 405 nm par un spectrophotomètre (Microplate Reader, Dynatech). Le résultat final a été exprimé en densité optique corrigée, c'est à dire la densité optique obtenue par le lecteur à laquelle a été retirée la valeur obtenue pour les puits « blancs » contrôles, ne contenant initialement que du PBS.

## **D. Analyses statistiques**

Les comparaisons entre les différents groupes expérimentaux et entre les différentes dates de la cinétique ont été effectuées au moyen du test statistique non paramétrique de Kruskal-Wallis grâce au logiciel SYSTAT. Le suivi de certains paramètres sur les mêmes animaux à des dates successives a fait l'objet d'une analyse de variance en données répétées (SYSTAT). Une probabilité inférieure à 5% a été considérée comme significative.

### III. RESULTATS

#### A. Comparaison des réponses anticorps à IgG totales dans le sérum des ovins INRA 401 et Barbados Black Belly (BBB) lors d'infestation par *H. contortus*

Les moyennes et les écarts-types des résultats obtenus par ELISA sont présentés dans les tableaux en annexes (p.97 à 102).

##### 1. IgG totales spécifiques des produits d'excrétion-sécrétion de vers adultes d'*H. contortus*

###### a) Ovins des groupes A, abattus 4 jours post-infestation

De J0 à J49, la réponse anticorps des BBB est plus importante que celle des INRA 401, mais la différence n'est pas significative. La valeur importante de densité optique moyenne observée chez les BBB à J16 est due à un animal du groupe (Figure 4a).

###### b) Ovins des groupes A et B, abattus 30 jours post-infestation

Pour les agneaux des groupes A, la première exposition à *Haemonchus contortus* induit une séroconversion à partir de J16 même si celle-ci reste très discrète chez les INRA 401. Assez rapidement, la réponse IgG systémique des animaux de race Barbados Black Belly est significativement supérieure à celle des animaux de race INRA 401 ( $P < 0,05$ ). Cette différence s'estompe après traitement à J30. Lors de la seconde infestation, les réponses IgG sont similaires en terme d'intensité entre les deux races (Figure 4b).

Pour les agneaux des groupes B, l'infestation a lieu à J30. De cette date à J75, aucune différence significative entre races n'apparaît ce qui vient contredire les résultats de la première infestation des animaux des groupes A (Figure 4c). Dans les deux races, c'est à partir de J59 que la réponse anticorps est significativement ( $P < 0,01$ ) plus élevée que celles des groupes contrôles.

## 2. IgG totales spécifiques des antigènes somatiques de larves L<sub>3</sub> d'*H. contortus*

### a) **Ovins des groupes A, abattus 4 jours post-infestation**

Les densités optiques enregistrées sont élevées dans les deux races de J0 à J49. Il ne semble pas y avoir de variation importante de l'intensité de cette réponse IgG tout au long de l'étude (Figure 5a).

### b) **Ovins des groupes A et B, abattus 30 jours post-infestation**

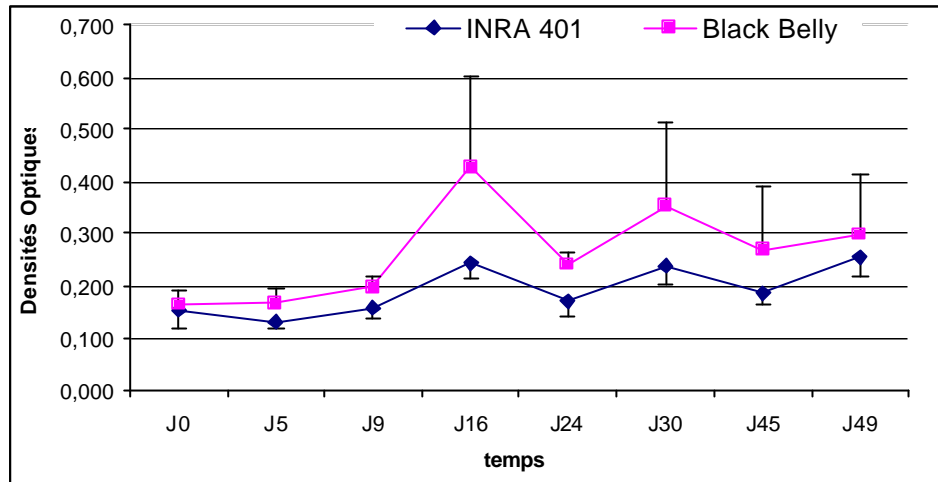
Chez les agneaux immunisés des groupes A, de J0 à J75, il n'y a aucun effet race significatif. (Figure 5b). De J30 à J75, dans les deux races, les réponses anticorps restent très proches de celles de leurs groupes contrôles respectifs.

Concernant les agneaux des groupes B, de J30 à J75, il n'y a pas de différence entre les INRA 401 et les BBB (Figure 5c). De plus, comme pour les groupes A, les réponses anticorps des deux races restent très proches de celles de leurs groupes contrôles respectifs.

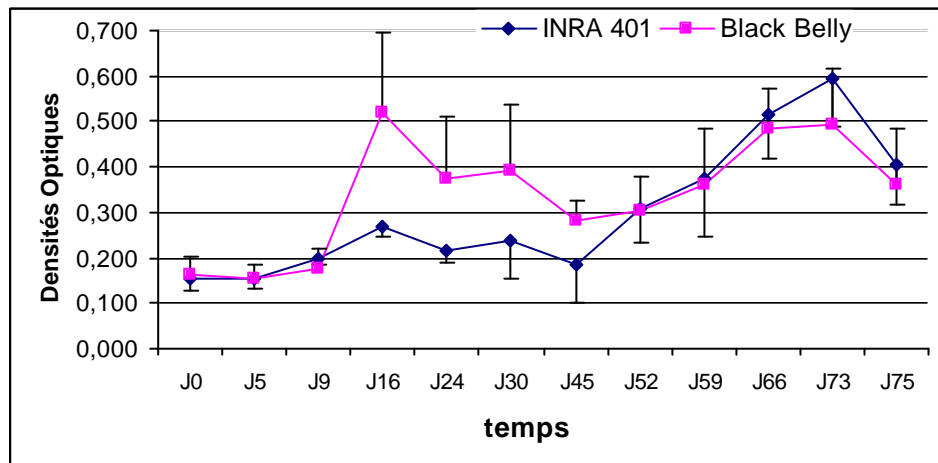
Au sein d'une même race, il n'y a pas d'effet groupe significatif. De J30 à J75, les valeurs des groupes C restent relativement stables au cours du temps, avec une légère diminution des densités optiques chez les BBB (perte de 0,1 point).



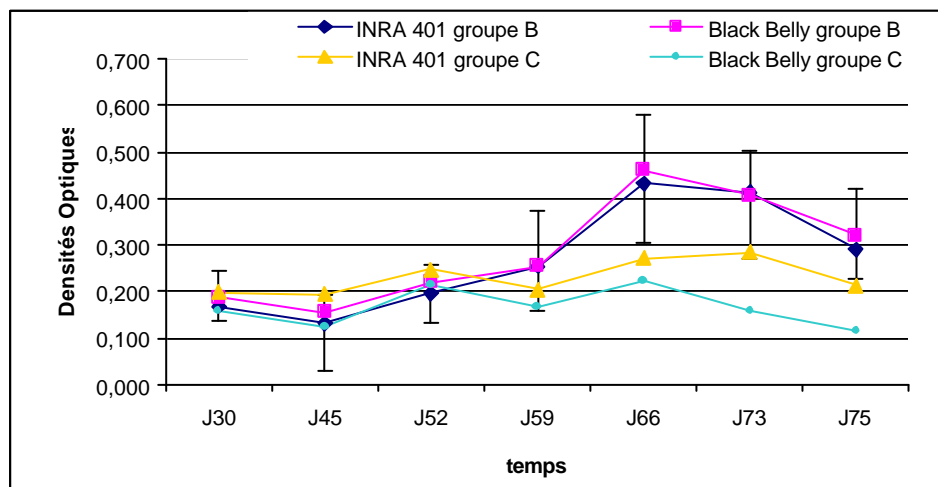
**Evolution des densités optiques (DO) obtenues par ELISA pour le titrage des IgG totales dirigées contre les produits d'excrétion sécrétion (PES) d'*H. contortus* :**



**Figure 4a: Réponse IgG systémique spécifique des PES de vers adultes chez les ovins des groupes A (abattage 4j post-infestation)**

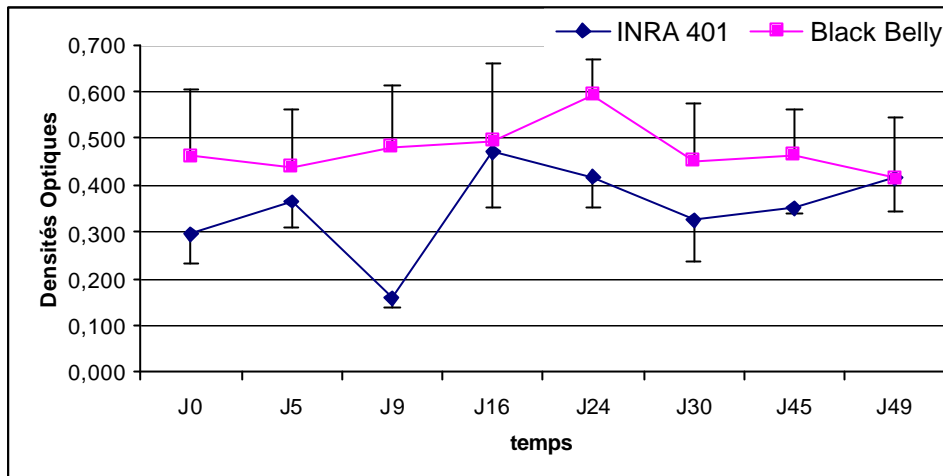


**Figure 4b: Réponse IgG systémique spécifique des PES de vers adultes chez les ovins des groupes A (abattage 30j post-infestation)**

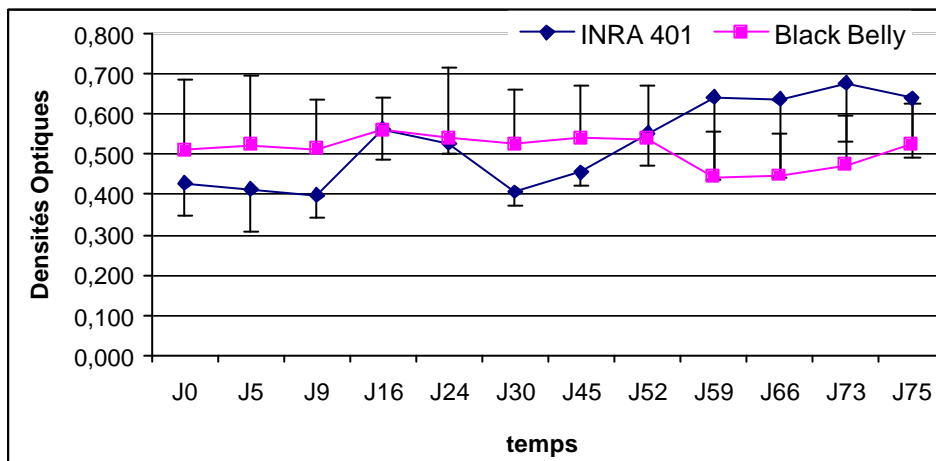


**Figure 4c : Réponse IgG systémique spécifique des PES de vers adultes chez les ovins des groupes B (abattage 30j post-infestation)**

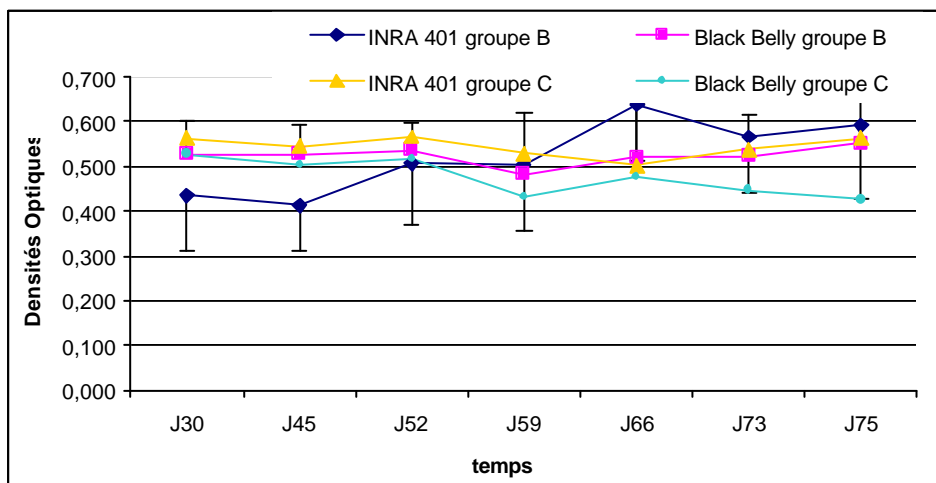
**Evolution des densités optiques (DO) obtenues par ELISA pour le titrage des IgG totales dirigées contre les antigènes somatiques de larves L<sub>3</sub> (AgL<sub>3</sub>) d'*H. contortus* :**



**Figure 5a: Réponse IgG systémique spécifique des AgL<sub>3</sub> chez les ovins des groupes A (abattage 4j post-infestation)**



**Figure 5b: Réponse IgG systémique spécifique des AgL<sub>3</sub> chez les ovins des groupes A (abattage 30j post-infestation)**



**Figure 5c: Réponse IgG systémique spécifique des AgL<sub>3</sub> chez les ovins des groupes B (abattage 30j post-infestation)**

## **B. Résultats parasitologiques** (Lacroux et al., manuscrit en préparation)

### 1. Excrétion fécale d'œufs dans les matières fécales

Aucune excrétion fécale n'a été enregistrée chez les agneaux des groupes contrôles (C) au cours de l'expérimentation. Ceci a été confirmé à l'autopsie par l'absence de vers dans la caillette. Durant la première phase de l'expérimentation (primo-infestation J0-J30), des animaux des groupes A, l'excrétion fécale d'œufs a commencé à J19 chez les agneaux INRA 401 et à J23 chez les BBB (Figure 6a). De plus, les comptages d'œufs chez les animaux BBB sont significativement plus bas que chez les INRA 401 ( $P < 0,001$ ). Pendant la deuxième phase (J45-J75), l'excrétion fécale d'œufs a été observée à J64 pour les agneaux INRA 401 et à J66 pour les BBB (Figure 6b), c'est à dire respectivement 19 et 21 jours après la seconde infestation. La différence entre les groupes immunisés et primo-infestés au sein d'une même race n'est pas significative même si une baisse de l'excrétion d'œufs a pu être observée chez les agneaux INRA 401 lors de la seconde exposition. De façon similaire à ce qui a été observé pendant la phase de première infestation des groupes A, les excrétions d'œufs des BBB du groupe B sont plus basses que celles des INRA 401 du groupe B ( $P = 0,005$ ). Néanmoins, il n'y a pas de différence entre les comptages d'œufs des BBB et des INRA 401 des groupes A.

### 2. Nombre total de vers, taille et fécondité des femelles adultes d'*H. contortus*

Les résultats de ces paramètres parasitologiques sont présentés dans le tableau 7.

A J49 (4 jours après la seconde infestation), seules des larves L<sub>4</sub> ont été retrouvées dans la caillette des agneaux des deux races. Les groupes A et B d'agneaux BBB ont des dénombrements de vers significativement plus bas que les INRA 401 ( $P < 0,005$ ), et il n'y a pas d'effet groupe à l'intérieure d'une même race.

A J75 (30 jours après la seconde infestation), il n'y a pas de différence significative entre les dénombrements de vers des groupes A et B des agneaux INRA 401. Au contraire, le nombre total de vers est plus important chez les BBB immunisés ( $P < 0,005$ ) par rapport aux BBB primo-infestés (groupe B). De plus, seuls les agneaux BBB primo-infestés (groupe B) ont des dénombrements parasitaires plus bas que les INRA 401 ( $P < 0,005$ ).

A J75, des vers à tous les stades de développement (des larves L<sub>4</sub> aux adultes) sont présents dans tous les groupes d'agneaux. Des pourcentages plus élevés de L<sub>4</sub> et d'immatures sont observés chez les INRA 401 du groupe A (P=0,011) et chez les BBB du groupe B (P<0,005) suggérant un développement retardé des parasites. Les vers femelles récoltées chez les INRA 401 immunisés sont significativement plus courts et contiennent moins d'œufs *in utero* que les agneaux INRA 401 primo-infestés (P<0,005). Cette différence n'est pas observée entre les agneaux BBB des groupes A et B. Les comptages d'œufs *in utero* des vers issus des BBB sont comparables à ceux des INRA 401 immunisés et significativement plus faibles que ceux des INRA 401 primo-infestés (P<0,001). Un profil similaire est observé concernant la taille des vers femelles, excepté le fait que les vers des BBB du groupe B soient plus courts que les INRA 401 du groupe A.

### 3. Développement des œufs d'*H. contortus* en larves infestantes

Les proportions d'œufs d'*H. contortus* qui se sont développés en larves L<sub>3</sub> après 10 jours de culture varient de 24,5% à 44,4%, mais il n'y a pas d'effet groupe ni d'effet race.

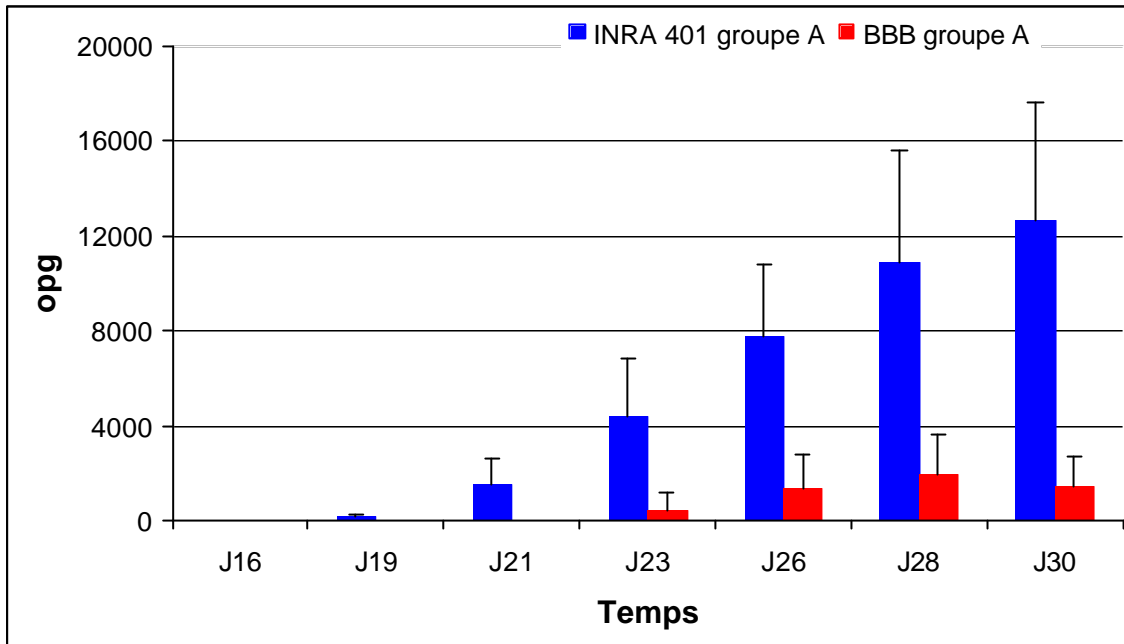


Figure 6a: Moyennes des coproscopies durant la phase initiale de primo-infestation

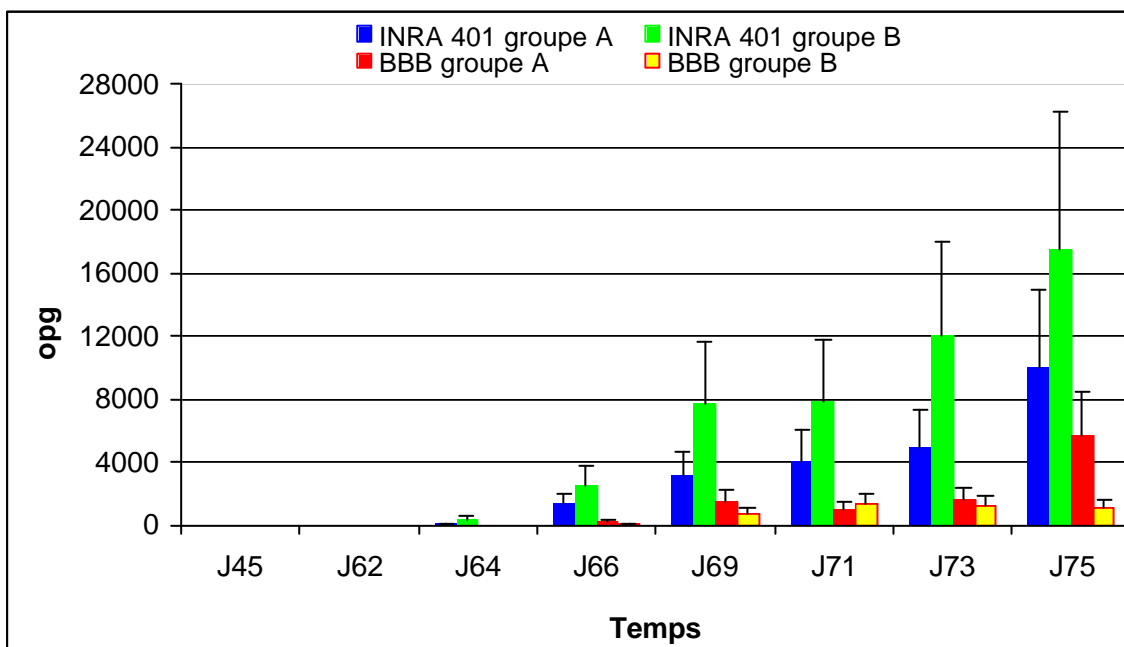


Figure 6b: Moyennes des coproscopies durant la 2<sup>nd</sup>e phase d'infestation

Tableau 7: Nombre total de vers, longueur et nombre d'œufs *in utero* des vers adultes femelles, stade parasitaire et genre des populations d'*Haemonchus contortus*.

Jours post-infestation	Race	Groupe	Nombre total de vers (moyenne+/- écart-type)	Longueur des adultes femelles (mm) (moyenne+/- écart-type)	Nombre d'œufs in utero (moyenne+/- écart-type)	L <sub>4</sub> (%)	Immatures mâles (%)	Immatures femelles (%)	Adultes mâles (%)	Adultes femelles (%)
4 (J49)	INRA 401	A	1650 ± 467 <sup>a</sup>	-	-	100	-	-	-	-
		B	1892 ± 535 <sup>a</sup>	-	-	100	-	-	-	-
	BBB	A	695 ± 458 <sup>b</sup>	-	-	100	-	-	-	-
		B	1205 ± 246 <sup>b</sup>	-	-	100	-	-	-	-
30 (J75)	INRA 401	A	4370 ± 902 <sup>a</sup>	16.8 ± 1.2 <sup>a</sup>	334 ± 201 <sup>a</sup>	15	6	7	34	38
		B	5558 ± 763 <sup>a</sup>	19.8 ± 1.4 <sup>b</sup>	713 ± 129 <sup>b</sup>	6	2	4	41	47
	BBB	A	4274 ± 1980 <sup>b</sup>	14.8 ± 1.9 <sup>a</sup>	234 ± 120 <sup>a</sup>	8	4	5	40	43
		B	2465 ± 623 <sup>a</sup>	14.6 ± 1.2 <sup>a</sup>	180 ± 70 <sup>a</sup>	10	12	13	35	30

<sup>ab</sup> : A une date donnée, les moyennes de la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes (P<0,005).

### C. Relation entre la réponse anticorps systémique à IgG et les paramètres parasitologiques

Les coefficients de corrélation entre la réponse IgG et les paramètres parasitologiques sont présentés dans les tableaux 8a, b, c.

Chez les agneaux abattus tardivement à J75, aucun paramètre parasitologique n'est corrélé significativement à la réponse IgG systémique dirigée contre les antigènes somatiques de larves L<sub>3</sub>, excepté le pourcentage d'installation d'*H. contortus* chez les INRA 401 du groupe A qui est positivement corrélé à la réponse anticorps ( $r = 0,90$  ;  $P < 0,05$ ).

En revanche, la réponse anticorps dirigée contre les antigènes d'excrétion-sécrétion (Ag ES) de vers adultes est significativement corrélée avec le pourcentage d'installation des vers, positivement chez les BBB du groupe A ( $r = 0,93$ ) et négativement chez les INRA 401 du groupe B ( $r = -0,86$ ). La proportion de larves immatures chez les BBB du groupe A ainsi que le nombre d'œufs *in utero* et l'excrétion d'œufs des parasites des INRA 401 du groupe B sont corrélés négativement à la réponse anticorps ( $r = -0,99$  ;  $-0,99$  et  $-0,82$  respectivement ;  $P < 0,05$ ). Le pourcentage de larves L<sub>3</sub> obtenues après coproculture est positivement corrélé à la réponse IgG (Ag ES) des BBB du groupe A ( $r = 0,82$  ;  $P < 0,05$ ). (tableau 8a)

Lorsque l'on considère les races ovines indépendamment des groupes, la proportion des vers immatures chez les INRA 401 est positivement corrélée à la réponse IgG dirigée contre les antigènes d'excrétion-sécrétion ( $r = 0,66$  ;  $P < 0,05$ ). De plus, chez les ovins INRA 401, la longueur des vers femelles, le nombre d'œufs *in utero* et l'intensité de l'excrétion d'œufs sont négativement corrélés à la réponse anticorps contre les antigènes ES ( $r = -0,78$  ;  $-0,75$  et  $-0,68$  respectivement ;  $P < 0,05$ ). (tableau 8b). La relation négative entre développement des vers, fécondité des femelles et intensité d'excrétion d'œufs d'une part, et intensité de la réponse IgG spécifique des produits d'excrétion-sécrétion des vers adultes observée chez les INRA 401 n'est pas retrouvée chez les agneaux de race Barbados Black Belly.

Chez les agneaux abattus précocement à J49, seuls les pourcentages d'installation d'*H. contortus* ont été chiffrés. Aucune corrélation significative avec les groupes ou les races d'ovins n'a été observée. (tableau 8c)

Tableau 8a: Coefficients de corrélation entre la réponse anticorps et les paramètres parasitologiques, en fonction des groupes des agneaux abattus à J75

Paramètre	% d'installation				% de larves immatures				% de L <sub>3</sub> cultivées				Longueur des femelles				Œufs in utero				Excrétion d'œufs			
	INRA 401		BBB		INRA 401		BBB		INRA 401		BBB		INRA 401		BBB		INRA 401		BBB		INRA 401		BBB	
Groupe	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
IgG(ES)	0.46	-0.86	0.93	0.00	0.08	0.76	-0.99	0.25	0.06	0.69	0.82	0.34	-0.47	-0.77	0.69	0.22	-0.32	-0.99	0.12	-0.06	-0.45	-0.82	0.55	0.35
IgG(L <sub>3</sub> )	0.90	-0.04	0.08	0.50	-0.10	0.53	-0.45	-0.04	0.68	0.19	0.31	0.02	-0.18	-0.36	-0.14	0.59	0.17	-0.20	-0.73	0.49	0.10	0.08	-0.49	0.47

Tableau 8b: Coefficients de corrélation entre la réponse anticorps et les paramètres parasitologiques, en fonction de la race des agneaux abattus à J75

Paramètre	% d'installation		% de larves immatures		% de L <sub>3</sub> cultivées		Longueur des femelles		Œufs in utero		Excrétion d'œufs	
	INRA 401	BBB	INRA 401	BBB	INRA 401	BBB	INRA 401	BBB	INRA 401	BBB	INRA 401	BBB
IgG(ES)	-0.46	0.57	0.66	-0.41	0.39	0.54	-0.78	0.53	-0.75	0.11	-0.68	0.47
IgG(L <sub>3</sub> )	0.16	0.16	0.30	-0.11	0.45	0.11	-0.30	0.12	-0.12	-0.31	0.01	-0.31

Tableau 8c: Coefficients de corrélation entre la réponse anticorps et le pourcentage d'installation des larves, chez les agneaux abattus à J49

Paramètre	% d'installation				% d'installation	
	INRA 401		BBB		INRA 401	BBB
Groupe	A	B	A	B		
IgG(ES)	-0.65	-0.10	0.85	-0.06	-0.41	0.24
IgG(L <sub>3</sub> )	-0.22	-0.56	-0.20	-0.69	-0.29	0.04

Légende :

- IgG(ES)/(L<sub>3</sub>): réponse IgG en fonction de l'antigène utilisé pour le test ELISA
- En rouge : P<0,05



## IV. DISCUSSION

Le dispositif expérimental décrit dans la partie « Matériels et Méthodes » a été mis en place afin d'apprécier l'implication éventuelle de la réponse anticorps IgG systémique dans la résistance à *H. contortus* chez les ovins INRA 401 et Barbados Black Belly. Les animaux utilisés étaient de jeunes agneaux âgés de 5 à 6 mois au début de l'expérimentation et d'environ 8 mois à la fin de la manipulation. Cette caractéristique est importante car on sait que les jeunes moutons ne sont pas pleinement immunocompétents et qu'en particulier, ils ne peuvent pas encore contrôler l'installation des larves infestantes (Cuquerella et al., 1991 ; Schallig, 2000). D'autre part, les primo-infestations et les ré-infestations par *H. contortus* étaient massives (10 000 larves infestantes à chaque fois) et administrées en une seule fois à la seringue. Cette modalité expérimentale est très différente de ce qui se passe dans les conditions naturelles au pâturage. De plus, la durée de chacune des infestations a été courte (1 mois environ) ce qui laisse peu de temps, notamment aux animaux des groupes B, pour monter une réponse anticorps importante. Enfin, il aurait été préférable de disposer d'effectifs plus importants, mais cela n'a pas été possible pour des raisons de disponibilité d'animaux de race pure Barbados Black Belly.

Le premier objectif de notre étude était de mesurer et de comparer l'intensité de la réponse anticorps IgG systémique entre les deux races ovines, contre les antigènes d'excrétion-sécrétion d'*H. contortus* adultes et contre les antigènes somatiques de L<sub>3</sub> lors de primo-infestation et de ré-infestation. Les intensités des réponses IgM et IgA sériques n'ont pas été mesurées dans ce travail. En effet, les données de la littérature et l'expérience acquise dans le laboratoire indiquent que la réponse IgM sérique est identique chez les animaux infestés et chez les animaux contrôles, enfin, la réponse sérique IgA est très faible et ne reflète pas la réponse IgA locale (Schallig et al., 1995). La réponse IgG se décompose chez les ruminants en réponse IgG1 et IgG2. Toutefois, chez les ovins, la grande majorité des IgG (> 90%) sont des IgG1 (Schallig et al., 1995). Dans les animaux des groupes A, il semble que la réponse IgG systémique, spécifique des produits d'excrétion-sécrétion des vers adultes et initiée lors de la première infestation, soit plus précoce chez les BBB que chez les INRA 401. Un premier contact avec *H. contortus* s'accompagne généralement d'une réponse anticorps faible comme cela a pu être montré dans diverses races européennes (Cuquerella et al., 1991 ; Gomez-Munoz et al., 1999 ; Schallig et al., 1995). Certains animaux de race Barbados Black Belly démontrent une aptitude à une réponse IgG rapide. Lors de la seconde exposition, la réponse

des animaux INRA 401 s'amplifie très nettement pour atteindre en intensité celle des Barbados Black Belly. D'une façon surprenante, quelques agneaux INRA 401 du groupe B (Figure 4c) ont démontré une plus grande précocité de leur réponse IgG systémique (équivalente à celle des agneaux Black Belly) que leurs congénères du groupe A lors de leur première infestation. Il paraît probable que des variations individuelles soient responsables de ces différences. La réponse IgG systémique spécifique des antigènes de larves L<sub>3</sub> est très faible. Les valeurs de densité optique observées après infestation expérimentale sont très proches de celles des animaux témoins. Ce phénomène avait déjà été observé chez les moutons INRA 401 (Lacroux et al. 2006b). Les réponses à ces deux antigènes seraient donc indépendantes. Toutefois, d'autres travaux, sur des races ovines différentes, ont montré de fortes réponses IgG contre les antigènes de L<sub>3</sub> (Schallig et al. 1994, 1995).

Le deuxième objectif de notre travail était de comprendre les rôles éventuels des IgG totales dans la régulation des populations d'*H. contortus*. Chez les ovins INRA 401, la réponse IgG systémique est négativement corrélée aux paramètres de développement des vers (pourcentage d'installation, nombre d'œufs in utero, excrétion d'œufs et longueur des femelles) et positivement corrélée au pourcentage de vers immatures. Ces résultats, identiques à ceux recueillis par Lacroux et al. (2006b) toujours chez les agneaux INRA 401, montrent que, dans cette race, les IgG systémiques sont probablement impliquées dans le retard de développement des vers. Le mécanisme exact d'action des anticorps n'est pas connu mais, compte tenu du fait que les larves L<sub>4</sub>, les immatures et les adultes d'*H. contortus* sont hématophages, on peut faire l'hypothèse que les IgG du sang accèdent directement aux vers et agissent par neutralisation d'enzymes excrétées secrétées perturbant ainsi la nutrition du parasite. Il est également fort probable qu'un phénomène de coopération puisse exister entre certaines cellules inflammatoires comme les éosinophiles et les anticorps dans un processus de dégranulation, complète ou partielle, anticorps dépendant. Les corrélations précédentes n'ont pas été retrouvées chez les agneaux Barbados Black Belly, qui pourtant, démontrent une plus grande résistance. Même si certains agneaux Black Belly ont montré une relative précocité de la réponse IgG systémique contre les produits d'excrétion-sécrétion de vers adultes, la différence de résistance entre les deux races ne peut pas être imputée à des variations de précocité ou d'intensité de cette réponse. Nos résultats doivent toutefois être interprétés avec précaution, car nous n'avons pas d'information sur la spécificité de la réponse IgG systémique des agneaux Black Belly et INRA 401. Or, des travaux réalisés sur la réponse anticorps locale contre *Ostertagia circumcincta* ont montré que la spécificité des IgA avait un

rôle majeur dans la résistance acquise (Strain et Stear, 1999). De même, les travaux de Schallig et al. (1994b) ont montré que les IgG1 de moutons de race Texel, naïfs ou préalablement immunisés, reconnaissent des polypeptides d'excrétion-sécrétion de masses moléculaires différentes. Ainsi, au sein d'une même race, il existe des variations de reconnaissance antigénique entre moutons au statut immunitaire différent (les ovins naïfs sont plus sensibles). Il est donc possible qu'un phénomène similaire ait lieu avec les IgG systémiques des ovins Black Belly et INRA 401. Il apparaît donc nécessaire d'effectuer des études en western blots pour mesurer la variabilité individuelle des profils de reconnaissance antigénique spécifiques au sein d'une même race puis de les comparer entre une race sensible et une race résistante. Enfin, les travaux pour élucider les mécanismes immunitaires impliqués dans la résistance des races exotiques à *Haemonchus contortus* doivent se poursuivre.

## CONCLUSION

Nos travaux de thèse ont contribué à la caractérisation de la réponse anticorps IgG systémique lors d'infestation expérimentale d'agneaux par *H. contortus* dans deux races ovines, Barbados Black Belly et INRA 401. Nous n'avons pas observé de différence majeure de précocité et d'intensité de la sécrétion d'IgG totales dans le sang. Une relation négative, significative, existe, chez les INRA 401, entre les paramètres de développement et de fécondité des vers d'une part et l'intensité de la réponse IgG spécifique des produits d'excrétion-sécrétion des vers adultes d'autre part. Cette relation n'existe pas chez les agneaux de race Barbados Black Belly suggérant ainsi que les mécanismes de résistance observée dans cette race sont indépendants de l'intensité de cette réponse anticorps. De nouveaux travaux avec des analyses plus complètes (analyse de la spécificité de la réponse anticorps) et sur des effectifs plus importants sont nécessaires afin de conclure définitivement sur le rôle de la réponse IgG systémique dans la régulation des populations d'*H. contortus* chez le mouton. Les moyens de lutte contre l'haemonchose ovine pourraient à l'avenir se baser sur la sélection d'animaux résistants ou sur des schémas vaccinaux efficaces afin de restreindre l'utilisation des anthelminthiques. Toutefois, une bonne connaissance des mécanismes immunitaires mis en jeu reste à acquérir.

**AGREMENT ADMINISTRATIF**

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que  
**Melle PENICAUD, Juliette, Marie**  
a été admis(e) sur concours en : 2001  
a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 6 Juillet 2006  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

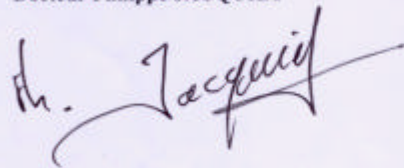
**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

Je soussigné, Philippe JACQUIET, Maître de Conférences, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,  
autorise la soutenance de la thèse de :  
**Melle PENICAUD, Juliette, Marie**

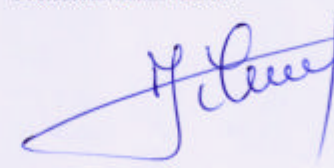
intitulée :

*Comparaison de la réponse anticorps systémique des ovins Barbados Black Belly et INRA 401 lors d'infestations  
expérimentales par Haemonchus contortus (Nematoda : Trichostrongylidae)*

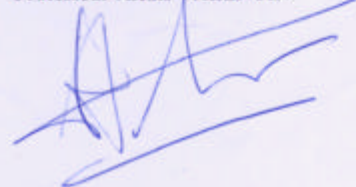
**Le Professeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Docteur Philippe JACQUIET**



**Vu :  
Le Directeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Professeur Alain MILON**



**Vu :  
Le Président de la thèse :  
Professeur Alexis VALENTIN**



**Vu le : 12 JAN. 2007  
Le Président  
de l'Université Paul Sabatier  
Professeur Jean-François SAUTEREAU**



# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ADAMS D.B.

Time of onset and target of immune reactions in sheep with acquired immunity against *Haemonchus contortus*.

*Int. J. Parasitol.*, 1982, 12(5) : 439-443

AHMAD A., WANG C.H., KORENAGA M. et al.

Synergistic interaction between immune serum and thoracic duct cells in the adoptive transfer of rapid expulsion of *Trichinella spiralis* in adult rats.

*Exp. Parasitol.*, 1990, 71(1): 90-99

ALBERS A.A., GRAY G.D., PIPER L.R. et al.

The genetics of resistance and resilience to *Haemonchus contortus* infection in young Merino sheep.

*Int. J. Parasitol.*, 1987, 17(7) :1355-1363

ALZIEU J.P., JACQUIET P., TROTTIER P., PONCELET J.L.

Gestion thérapeutique du parasitisme de la brebis laitière.

*Bull. des GTV*, Hors Série Parasitologie des ruminants laitiers, 2004 : 119-124

AMARANTE A.F., CRAIG T.M., RAMSEY W.S. et al.

Comparison of naturally acquired parasite burdens among Florida native, Rambouillet and crossbreed ewes.

*Vet. Parasitol.*, 1999, 85(1): 61-69

ARTIS D.

New weapons in the war of worms: Identification of putative mechanisms of immune-mediated expulsion of gastro-intestinal nematodes.

*Int. J. Parasitol.*, 2006, 36(6) :723-733

AUMONT G., GRUNER L., HOSTACHE G.

Comparison of the resistance to sympatric and allopatric isolates of *Haemonchus contortus* of Black Belly sheep in Guadeloupe (FW1) and of INRA 401 sheep in France.

*Vet Parasitol.*, 2003, 116(2): 139-150

AUMONT G., POUILLOT R., SIMON R., HOSTACHE G., VARO H., BARRE N.

Parasitisme digestif des petits ruminants dans les Antilles françaises.

*INRA Prod. Anim.*, 1997, 10 (1) : 79-89

BABO D.

Races ovines et caprines françaises. 1<sup>ère</sup> édition

Paris : Editions France agricole, 2000. 302 p.

BAIRD A.W., O'MALLEY K.E.

Epithelial ion transport – possible contribution to parasite expulsion.

*Parasitol. Today*, 1993, 9(4): 141-143

- BALIC A., BOWLES V.M., MEEUSEN E.N.  
The immunobiology of gastrointestinal nematode infections in ruminants.  
*Adv. Parasitol.*, 2000, 45:181-241
- BALIC A., BOWLES V.M., MEEUSEN E.N.  
Mechanisms of immunity to *Haemonchus contortus* infection in sheep.  
*Parasite Immunol.*, 2002, 24(1):39-46
- BALIC A., CUNNINGHAM C.P., MEEUSEN E.N.  
Eosinophil interactions with *Haemonchus contortus* larvae in the ovine gastrointestinal tract.  
*Parasite Immunol.*, 2006, 28(3): 107-115
- BARGER I.A.  
The statistical distribution of trichostrongylid nematodes in grazing lambs.  
*Int. J. Parasitol.*, 1985, 15(6) : 645-649
- BASSET C., HOLTON J., O'MAHONY R., ROITT I.  
Innate immunity and pathogen-host interaction.  
*Vaccine*, 2003, 21(Suppl.2): S12-S23
- BEH K.J.  
Production and characterization of monoclonal antibodies specific for sheep IgG subclasses IgG1 or IgG2.  
*Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1987, 14(2) :187-196
- BEH K.J.  
Monoclonal antibodies against sheep immunoglobulin light chain, IgM and IgA.  
*Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1988, 18(1):19-27
- BEUGNET F.  
Présence de souches de strongles gastro-intestinaux des ovins et caprins résistants aux benzimidazoles dans l'Ouest lyonnais.  
*Rev. Méd. Vét.*, 1992, 143(6) : 529-533
- BEUGNET F., KERBOEUF D.  
Les résistances aux antiparasitaires chez les parasites des ruminants.  
*Le Point Vét.*, numéro spécial Parasitologie des ruminants, 1997, vol. 28 : 167-174
- BJØRN H.  
Workshop summary: Anthelmintic resistance.  
*Vet. Parasitol.*, 1994, 54: 321-325
- BOUIX J., KRUPINSKI J., RZEPECKI R. et al.  
Genetic resistance to gastrointestinal nematode parasites in Polish long-wool sheep.  
*Int. J. Parasitol.*, 1998, 28(11) : 1797-1804
- BOWMAN D.D.  
Georgis' Parasitology for Veterinarians. 7<sup>e</sup> édition.  
Philadelphia: W. B. Saunders company, 1999. 414 p.

BRARD C., CHARTIER C.

Quand suspecter une strongylose digestive chez les ovins et les caprins et conduite à tenir.  
*Le Point Vét.*, numéro spécial Parasitologie des ruminants, 1997, 28 : 1865-1870

BUENO L., DAKKAK A., FIORAMONTI J.

Gastro-duodenal motor and transit disturbances associated with *Haemonchus contortus* infection in sheep.

*Parasitology*, 1982, 84 (Pt 2): 367-374

BUREAU DES RESSOURCES GENETIQUES

(page consultée le 10 août 2006) Bureau des ressources génétiques [en ligne].

Adresse URL : <http://www.brg.prd.fr/brg/pages/rga/ovins/70>

BUSSIERAS J., CHERMETTE R.

Abrégé de Parasitologie vétérinaire – Helminthologie – Fascicule IV

Informations techniques de services vétérinaires.

Service de parasitologie de l'ENV de Maisons-Alfort. 1991

BUTTERWORTH A.E.

Cell-mediated damage to helminths.

*Adv. Parasitol.*, 1984, 23:143-235

CABARET J.

L'inhibition du développement larvaire chez les strongles gastro-intestinaux des ruminants domestiques : conséquences épidémiologiques.

*Rec. Méd. Vét.*, 1977, 153 (6) : 419-427

CABARET J., MAGE C., BOUILHOL M.

Helminth intensity and diversity in organic meat sheep farms in centre of France.

*Vet. Parasitol.*, 2002, 105 (1) : 33-47

CHARTIER C., PORS I., HUBERT J., ROCHETEAU D., BENOIT C., BERNARD N.

Prevalence of anthelmintic resistant nematodes in sheep and goats in Western France.

*Small Rum. Res.*, 1998, 29(1): 33-41

CHARTIER C., RECHE B.

Gastrointestinal helminths and lungworms of french dairy goats : prevalence and geographical distribution in Poitou-Charentes.

*Vet. Res. Commun.*, 1992, 16 (5) : 327-335

CHERMETTE R.

L'haemonchose ovine et ses particularités : importance et situation actuelle en France.

*Le Point Vét.*, 1982, 13 (65) : 21-28

COFFMAN R.L., VON DER WEID T.

Multiple pathways for the initiation of T helper 2 (Th2) responses.

*J. Exp. Med.*, 1997, 185(3):373-375



- COOP R.L., HOLMES P.H.  
Nutrition and parasite interaction.  
*Int. J. Parasitol.*, 1996, 26(8-9) : 951-962
- COOPER D.W., VAN OORSCHOT R.A., PIPER L.R., LE JAMBRE L.F.  
No association between the ovine leucocyte antigen (OLA) system in the Australian merino and susceptibility to *Haemonchus contortus* infection.  
*Int. J. Parasitol.*, 1989, 19(6) : 695-697
- COURTNEY C.H., PARKER C.F., McCLURE K.E., HERD R.P.  
Resistance of exotic and domestic lambs to experimental infection with *Haemonchus contortus*.  
*Int. J. Parasitol.*, 1985, 51(1) : 101-109
- COYNE M.J., SMITH G.  
The mortality and fecundity of *Haemonchus contortus* in parasite-naive and parasite-exposed sheep following single experimental infections.  
*Int. J. Parasitol.*, 1992, 22(3) : 315-325
- COYNE M.J., SMITH G., JOHNSTONE C.  
A study of the mortality and fecundity of *Haemonchus contortus* in sheep following experimental infections.  
*Int. J. Parasitol.*, 1991, 21 (7) : 847-853
- CUQUERELLA M., GOMEZ-MUNOZ M.T., ALUNDA J.M.  
Serum IgG response of Manchego lambs to infection with *Haemonchus contortus* and preliminary characterisation of adult antigens.  
*Vet. Parasitol.*, 1991, 38(2-3):131-143
- DINEEN J.K., WAGLAND B.M.  
The dynamics of the host-parasite relationship. IV. The response of sheep to graded and to repeated infection with *Haemonchus contortus*.  
*Parasitology*, 1966, 56(4): 639-650.
- DOENHOFF M.J.  
The immune system.  
In: AXFORD R.F.E., BISHOP S.C., NICHOLAS F.N., OWEN J.B.  
Breeding for disease resistance in farm animals, 2<sup>nd</sup> Edition  
Wallingford, UK: CAB international, 2000, 47-65
- DOMINGUEZ-TORANO I.A., CUQUERELLA M., GOMEZ-MUNOZ M. et al.  
Vaccination of Manchego lambs against *Haemonchus contortus* with a somatic fraction (p26/23) of adult parasites.  
*Parasite Immunol.*, 2000, 22(3): 131-138
- DOMINIK S.  
Quantitative trait loci for internal nematode resistance in sheep: a review.  
*Genet. Sel. Evol.*, 2005, 37 (suppl.1): S83-S96

- DORCHIES P., ALZIEU J.P., BRARD C., CAMUSET P., JACQUIET P., HOSTE H.  
Appréciation du risque parasitaire chez les ovins et les bovines : ne pas manquer le rendez-vous de la saison d'herbe.  
*Symposium des Journées Nationales des GTV-Nantes 2003* : 171-86
- DORNY P., SYMOENS C., JALILA A., VERCRUYSSSE J., SANI R.  
Strongyle infections in sheep and goats under the traditional husbandry system in peninsular Malaysia.  
*Vet. Parasitol.*, 1995, 56 (1-3) : 121-136
- DOUCH P.G.C., GREEN R.S., MORRIS C.A., McEWAN J.C., WINDON R.G.  
Phenotypic markers for selection of nematode-resistant sheep.  
*Int. J. Parasitol.*, 1996a, 26(8-9) : 899-911
- DOUCH P.G., HARRISON G.B., ELLIOTT D.C. et al.  
Relationship of gastrointestinal histology and mucus antiparasite activity with the development of resistance to trichostrongyle infections in sheep.  
*Vet. Parasitol.*, 1986, 20(4) : 315-331
- DOUCH P.G., MORUM P.E.  
The effect of age on the response of Romney sheep to gastrointestinal nematodes during grazing.  
*Int. J. Parasitol.*, 1993, 23(5) : 651-655
- DOUCH P.G., MORUM P.E., RABEL B.  
Secretion of anti-parasite substances and leukotrienes from ovine gastrointestinal tissues and isolated mucosal mast cells.  
*Int. J. Parasitol.*, 1996b, 26(2) : 205-211
- DURETTE-DESSET M.C., CHABAUD A.G.  
Nomenclature of Strongylidae above the family group.  
*Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1993, 68 (2) : 111-112.
- EADY S.J., WOOLASTON R.R., BARGER I.A.  
Comparison of genetic and nongenetic strategies for control of gastrointestinal nematodes of sheep.  
*Livestock Production Science*, 2003, 81(1):11-23
- ELSE K.J., FINKELMAN F.D.  
Intestinal nematode parasites, cytokines and effector mechanisms.  
*Int. J. Parasitol.*, 1998, 28(8) : 1145-1158
- EMERY D.L., McCLURE S.J., WAGLAND B.M.  
Production of vaccines against gastrointestinal nematodes of livestock.  
*Immunol. Cell. Biol.*, 1993, 71(Pt5): 463-472
- ESLAMI A., RANJBAR-BAHADORI S., ZARE R., RAZZAGHI-ABYANEH M.  
The predatory capability of *Arthrobotrys cladodes* var. *macroides* in the control of *Haemonchus contortus* infective larvae.  
*Vet. Parasitol.*, 2005, 130(3-4): 263-266

- FINKELMAN F.D., SHEA-DONOHUE T., GOLDHILL J. et al.  
Cytokine regulation of host defense against parasitic gastrointestinal nematodes: lessons from studies with rodent models.  
*Annu. Rev. Immunol.*, 1997, 15:505-533
- GAMBLE H.R., ZAJAC A.M.  
Resistance of St Croix lambs to *Haemonchus contortus* in experimentally and naturally acquired infections.  
*Vet. Parasitol.*, 1992, 41(3-4): 211-225
- GASBARRE L.C., MILLER J.E.  
Genetics of helminth resistance.  
In: AXFORD R.F.E., BISHOP S.C., NICHOLAS F.N., OWEN J.B.  
Breeding for disease resistance in farm animals, 2<sup>nd</sup> Edition  
Wallingford, UK: CAB international, 2000, 129-145
- GATONGI P.M., PRICHARD R.K., RANJAN S. et al.  
Hypobiosis of *Haemonchus contortus* in natural infections of sheep and goats in a semi-arid area of Kenya.  
*Vet. Parasitol.*, 1998, 77 (1): 49-61
- GAULY M., ERHARDT G.  
Genetic resistance to gastrointestinal nematode parasites in Rhon sheep following natural infection;  
*Vet. Parasitol.*, 2001, 102(3): 253-259
- GAUSE W.C., URBAN J.F., STADECKER M.J.  
The immune response to parasitic helminths: insights from murine models.  
*Trends immunol.*, 2003, 24(5):269-277
- GELDHOF P., NEWLANDS G.F., NYAME K. et al.  
Presence of the LDNF glycan on the host-protective H-gal-GP fraction from *Haemonchus contortus*.  
*Parasite Immunol.*, 2005, 27(1-2): 55-60
- GILL H.S.  
Genetic control of acquired resistance to *Haemonchus contortus* in Merino lambs.  
*Parasite Immunol.*, 1991, 13(6):617-628
- GILL H.S., ALTMANN K., CROSS M.L., HUSBAND A.J.  
Induction of T helper 1- and T helper 2-type immune responses during *Haemonchus contortus* infection in sheep.  
*Immunology*, 2000, 99:458-463
- GILL H.S., GRAY G.D., WATSON D.L., HUSBAND A.J.  
Isotype-specific antibody responses to *Haemonchus contortus* in genetically resistant sheep.  
*Parasite Immunol.*, 1993b, 15(2):61-67

- GILL H.S., HUSBAND A.J., WATSON D.L.  
Localization of immunoglobulin-containing cells in the abomasums of sheep following infection with *Haemonchus contortus*.  
*Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1992, 31(1-2):179-187
- GILL H.S., HUSBAND A.J., WATSON D.L., GRAY G.D.  
Antibody-containing cells in the abomasal mucosa of sheep with genetic resistance to *Haemonchus contortus*.  
*Res. Vet. Sci.*, 1994, 56(1) : 41-47
- GILL H.S., WATSON D.L., BRANDON M.R.  
Monoclonal antibody to CD4+T cells abrogates genetic resistance to *Haemonchus contortus* in sheep.  
*Immunology*, 1993a, 78(1):43-49
- GOMEZ-MUNOZ M.T., CUQUERELLA M., GOMEZ-IGLESIAS L.A. et al.  
Serum antibody response of Castellana sheep to *Haemonchus contortus* infection and challenge : relationship to abomasal worm burdens.  
*Vet. Parasitol.*, 1999, 81(4):281-293
- GRAY D.  
Breeding for resistance to Trichostrongyle nematodes in sheep.  
In: OWEN J.B., AXFORD R.F.E.  
Breeding for disease resistance in farm animals  
Wallingford, UK: CAB international, 1991, 139-158
- GRAY G.D.  
The use of genetically resistant sheep to control nematode parasitism.  
*Vet. Parasitol.*, 1997, 72(3-4):345-366
- GRAY G.D., BARGER I.A., LE JAMBRE L.F. , DOUCH P.J.  
Parasitological and immunological responses of genetically resistant Merino sheep on pastures contaminated with parasitic nematodes.  
*Int. J. Parasitol.*, 1992, 22(4) : 417-425
- GRUDEN-MOVSESIJAN A., MILOSAVLJEVIC L.j.S.  
The involvement of the macrophage mannose receptor in the innate immune response to infection with parasite *Trichinella spiralis*.  
*Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2006, 109(1-2): 57-67
- GRUNER L.  
Breeding for helminth resistance in sheep and goats.  
In: OWEN J.B., AXFORD R.F.E.  
Breeding for disease resistance in farm animals  
Wallingford, UK: CAB international, 1991, 187-200
- GRUNER L., AUMONT G., GETACHEW T. et al.  
Experimental infection of Black Belly and INRA 401 straight and crossbred sheep with trichostrongyle nematode parasites.  
*Vet. Parasitol.*, 2003, 116(3): 239-249

HOHENHAUS M.A., OUTERIDGE P.M.

The immunogenetics of resistance to *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus contortus* parasites in sheep.

*Br. Vet. J.*, 1995, 151(2):119-140

HOSTE H., CHARTIER C.

Perspectives de lutte contre les strongyloses gastro-intestinales des ruminants domestiques.

*Le Point Vét.*, 1997, Numéro spécial parasitologie des ruminants, 28 : 1963-1969 (p.181-187)

HOSTE H., GUITARD J.P., PONS J.C.

Pâturage mixte entre ovins et bovins : intérêt dans la gestion des strongyloses gastro-intestinales.

*Fourrages*, 2003, 176 : 425-436

HOSTE H., PAOLINI V., PARAUD C., CHARTIER C.

Gestion non chimique du parasitisme par les nématodes chez les petits ruminants.

*Bull. des GTV*, hors série parasitologie des ruminants laitiers, 2004 : 131-135

HUBERT J., KERBOEUF D., NICOLAS J.A., DUBOST G., GAYAUD C.

Résistance des strongles gastro-intestinaux aux benzimidazoles chez les petits ruminants en Limousin.

*Rec. Méd. Vét.*, 1991, 167(2) : 135-140

HUNTLEY J.F., NEWLANDS G.F., JACKSON F., MILLER H.R.

The influence of challenge dose, duration of immunity, or steroid treatment on mucosal mast cells and on the distribution of sheep mast cell proteinase in *Haemonchus*-infected sheep.

*Parasite Immunol.*, 1992, 14(4):429-440

JACKSON F., MILLER H.R., NEWLANDS G.F. et al.

Immune exclusion of *Haemonchus contortus* larvae in sheep : dose dependency, steroid sensitivity and persistence of the response.

*Res. Vet. Sci.*, 1988, 44(3) : 320-323

JACOBS H.J., WILTSHIRE C., ASHMAN K., MEEUSEN E.N.

Vaccination against the gastrointestinal nematode *Haemonchus contortus*, using a purified larval surface antigen.

*Vaccine*, 1999, 17(4): 362-368

JACQUIET P.

Adaptations des Nématodes parasites de Ruminants à la survie en région subdésertique. pour le cours "Évolution des Parasites et des Relations Hôtes-Parasites", MNHN, 3-5 mai 2000

[en ligne] (pages consultées le 10 avril 2006) Adresse URL : <http://www.mnhn.fr>

JACQUIET P.

La résistance aux anthelminthiques chez les strongles des ruminants : état des lieux en France et perspectives.

*Symposium des Journées Nationales des GTV-Tours 2004* : 581-588

- JACQUIET P., ALZIEU J.P., CABARET J. et al.  
Epidémiologie comparée en Ariège et dans les Pyrénées-Atlantiques des brebis à l'herbe par les helminthes et par *Oestrus ovis*.  
*Bull. des GTV*, hors série Parasitologie des ruminants laitiers, 2004 : 91-97
- JACQUIET P., CABARET J., DIOP C., THIAM E.  
Experimental study of survival strategy of *Haemonchus contortus* in sheep during the dry season in desert areas of Mauritania.  
*J. of Parasitol.*, 1995, 81 (6): 1013-1015
- JANSSEN M., WEIMANN C., GAULY M., ERHARDT G.  
Associations between infections with *Haemonchus contortus* and genetic markers on ovine chromosome 20.  
In: Proc. 7<sup>th</sup> World Cong. Genet. Appl. Livest. Prod., Montpellier, 19-23 August, 2002, INRA, Castanet-Tolosan, France, Communication No. 13-11
- KARANU F.N., McGUIRE T.C., DAVIS W.C. et al.  
CD4+T lymphocytes contribute to protective immunity induced in sheep and goats by *Haemonchus contortus* gut antigens.  
*Parasite Immunol.*, 1997, 19(10):435-445
- KASSAI T., SRETER T.  
Genetic aspects of hosts resistance to helminthic infections.  
*Research and Reviews in Parasitology*, 1992, 52(3-4):67-75
- KERBOEUF D., BEAUMONT-SCHWARTZ C., HUBERT J., MAILLON M.  
Résistance des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques chez les petits ruminants. Résultats d'une enquête dans le Val de Loire.  
*Rec. Méd. Vét.*, 1988, 164(12) : 1001-1006
- KLOOSTERMANN A., ALBERS G.A., VAN DER BRINK R.  
Counting eggs in utero of individuals female worms.  
*Vet. Parasitol.*, 1978, 24:353-368
- KNOX D.P., REDMOND D.L., NEWLANDS G.F. et al.  
The nature and prospects for gut membrane proteins as vaccine candidates for *Haemonchus contortus* and other ruminant trichostrongyloids.  
*Int. J. Parasitol.*, 2003, 33(11) : 1129-1137
- KOHLER P.  
The biochemical basis of anthelmintic action and resistance.  
*Int. J. Parasitol.*, 2001, 31 (4) : 336-345
- KONINKX J.F., MIRCK M.H., HENDRIKS H.G. et al.  
*Nippostrongylus brasiliensis* : histochemical changes in the composition of mucins in goblet cells during infection in rats.  
*Exp. Parasitol.*, 1988, 65(1) : 84-90

- KOOYMAN F.N., VAN KOOTEN P.J., HUNTLEY J.F. et al.  
Production of a monoclonal antibody specific for ovine immunoglobulin E and its application to monitor serum IgE responses to *Haemonchus contortus* infection.  
*Parasitology*, 1997, 114(Pt4):395-406
- KOURILSKY P., TRUFFA-BACHI P.  
Cytokine fields and the polarization of the immune response.  
*Trends immunol.*, 2001, 22(9) : 502-509
- LACROUX C.  
Régulation des populations de Nématodes gastro-intestinaux (*Haemonchus contortus* et *Trichostrongylus colubriformis*) dans deux races ovines, INRA 401 et Barbados Black Belly.  
Th. D. : qualité et sécurité des aliments : Toulouse, INP. 2006a. 234.
- LACROUX C., NGUYEN T.H.C., ANDREOLETTI O., et al.  
*Haemonchus contortus* (Nematoda : Trichostrongylidae) infection in lambs elicits an unequivocal Th2 immune response.  
*Vet. Res.*, 2006b, 37(4) : 607-622
- LACROUX C., TEREFE G., ANDREOLETTI O. et al.  
Dynamics of the adaptative immune response to *Haemonchus contortus* in susceptible INRA 401 et resistant Barbados Blackbelly lambs.  
Manuscrit en préparation
- LAHLOU-KASSI A., TEMBELY S., BAKER R.L.  
Résistance génétique des animaux aux maladies: cas de parasitoses gastro-intestinales chez les petits ruminants.  
In : Biotechnologies du diagnostic et de la prévention des maladies animales.  
Paris : Ed. AUPELF-UREF, John Libbey eurotext, 1994, 265-304
- LARSEN M., FAEDO M., WALLER P.J., HENNESSY D.R.  
The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: studies with *Duddingtonia flagrans*.  
*Vet. Parasitol.*, 1998, 76 (1-2): 121-8
- LINDQVIST A., LJUNGSTROM B.L., NILSSON O., WALLER P.J.  
The dynamics, prevalence and impact of nematode infections in organically raised sheep in Sweden.  
*Acta. Vet. Scand.*, 2001, 42 (3) : 377-389
- LOUVANDINI H., VELOSO C.F., PALUDO G.R., DELL'PORTO A., GENNARI S.M., McMANUS C.M.  
Influence of protein supplementation in the resistance and resilience on young hair sheep naturally infected with gastrointestinal nematodes during rainy and dry season.  
*Vet. Parasitol.*, 2006, 137(1-2): 103-11
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L., RANDALL R.J.  
Protein measurement with the Folin phenol reagent.  
*J. Biol. Chem.*, 1951, 193(1):265-275

- LUFFAU G., PERY P., PETIT A.  
Self-cure and immunity following infection and reinfection in ovine haemonchosis.  
*Vet Parasitol.*, 1981, 9(1):57-67
- MAGE C.  
L'haemonchose ovine: actualités épidémiologique, thérapeutique et preventive.  
*Bull. des GTV*, 1991, 98 (3): 75-89
- MAHIEU M., AUMONT G., ALEXANDRE G.  
Elevage intensif des ovins tropicaux à la Martinique.  
*INRA Prod. Anim.*, 1997, 10:21-32
- MAIZELS R.M., BALIC A., GOMEZ-ESCOBAR N. et al.  
Helminth parasites-masters of regulation.  
*Immunol. Rev.*, 2004, 201: 89-116
- MARTIN R.J.  
Modes of action of anthelmintic drugs.  
*Vet. J.*, 1997, 154 (1): 5-7
- MILLER H.R.P.  
Prospects for the immunological control of ruminant gastrointestinal nematodes: natural immunity, can it be harnessed?  
*Int. J. Parasitol.*, 1996a, 26(8-9) : 801-811
- MILLER H.R.P.  
Mucosal mast cells and the allergic response against nematode parasites.  
*Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1996b, 54(1-4): 331-336
- MILLER J.E., BAHIRATHAN M., LEMARIE S.L. et al.  
Epidemiology of gastrointestinal nematode parasitism in Suffolk and Gulf Coast Native sheep with special emphasis on relative susceptibility to *Haemonchus contortus*.  
*Vet. Parasitol.*, 1998, 74(1): 55-74
- MILLER J.E., HOROHOV D.W.  
Immunological aspects of nematode parasite control in sheep.  
*J. Anim. Sci.*, 2006, 84(E. Suppl.) : E124-E132
- MILLER H.R.P., HUNTLEY J.F., NEWLANDS G.F.J.  
In: CAUGHEY G.H.  
Mast cell proteases in immunology and biology.  
New York, USA: M. Dekker, 1995, p. 203
- MILLER H.R.P., JACKSON F., NEWLANDS G., APPLEYARD W.T.  
Immune exclusion, a mechanism of protection against the ovine nematode *Haemonchus contortus*.  
*Res. Vet. Sci.*, 1983, 35(3) : 357-363



MORRIS C.A.

Genetics of susceptibility in cattle and sheep.

In: AXFORD R.F.E., BISHOP S.C., NICHOLAS F.N., OWEN J.B.

Breeding for disease resistance in farm animals, 2<sup>nd</sup> Edition

Wallingford, UK: CABI publishing, 2000, p.343-355

MUNN E.A., SMITH T.S., SMITH H. et al.

Vaccination against *Haemonchus contortus* with denatured forms of the protective antigen H11.

*Parasite Immunol*, 1997, 19(6): 243-248

NAVES M., ALEXANDRE G., LEIMBACHER F. et al.

Les ruminants domestiques de la Caraïbe : le point sur les ressources génétiques et leur exploitation.

*INRA Prod. Anim.*, 2001, 14:181-192

NEWLANDS G.F., MILLER H.R., JACKSON F.

Immune exclusion of *Haemonchus contortus* larvae in the sheep: effects on gastric mucin of immunization, larval challenge and treatment with dexamethasone.

*J. Comp. Pathol.*, 1990, 102(4):433-442

NEWTON S.E., MUNN E.A.

The development of vaccines against gastrointestinal nematode parasites, particularly *Haemonchus contortus*.

*Parasitol. Today*, 1999, 15(3): 116-122

NWOSU C.O., OGUNRINADE A.F., FAGBEMI B.O.

Prevalence and seasonal changes in the gastro-intestinal helminths of Nigerian goats.

*J. Helminthol.*, 1996, 70 (4): 329-333

OFFICE DE L'ELEVAGE (page consultée le 15 octobre 2006). Site de l'office de l'élevage, [en ligne]. Adresse URL : <http://www.ofival.fr/o-e/index.html>

ONAH D.N., NAWA Y.

Mucosal immunity against parasitic gastrointestinal nematode.

*Korean J. Parasitol.*, 2000, 38(4): 209-236

OUTTERIDGE P.M., WINDON R.G., DINEEN J.K.

An association between a lymphocyte antigen in sheep and the response to vaccination against the parasite *Trichostrongylus colubriformis*.

*Int. J. Parasitol.*, 1985, 15(2) :121-127

OUTTERIDGE P.M., WINDON R.G., DINEEN J.K., SMITH E.F.

The relationship between ovine lymphocyte antigens and faecal egg count of sheep selected for responsiveness to vaccination against *Trichostrongylus colubriformis*.

*Int. J. Parasitol.*, 1986, 16(4) : 369-374

- OUTTERIDGE P.M., WINDON R.G., DINEEN J.K.  
An ovine lymphocyte antigen marker for acquired resistance to *Trichostrongylus colubriformis*.  
*Int. J. Parasitol.*, 1988, 18(6):853-858
- PRESTON J.M., ALLONBY E.W.  
The influence of breed on the susceptibility of sheep of *Haemonchus contortus* infection in Kenya.  
*Res. Vet. Sci.*, 1979, 26(2) : 134-139
- RAINBIRD M.A., McMILLAN D., MEEUSEN E.N.  
Eosinophil-mediated killing of *Haemonchus contortus* larvae: effect of eosinophil activation and role of antibody, complement and interleukin-5.  
*Parasite Immunol.*, 1998, 20(2):93-103
- RAYNAUD J.P.  
Etude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le contrôle des infestations parasitaires des bovins, ovins, équins et porcins.  
*Annales de parasitologie humaine comparée*, 1970, 45 : 321-342
- REHBY L.  
La résistance aux antiparasitaires chez les petits ruminants.  
*Symposium des Journées Nationales des GTV-Tours 2004* : 911-916
- ROTHWELL T.L.  
Immune expulsion of parasitic nematodes from the alimentary tract.  
*Int. J. Parasitol.*, 1989, 19(2) : 139-168
- SANGSTER N.C.  
Managing parasiticide resistance.  
*Vet. Parasitol.*, 2001, 98(1-3): 89-109
- SAULAI M., CABARET J., HOSTACHE G., MANDONNET M., AUMONT G.  
Life-trait evolution of a parasite strongyle nematode in response to host resistance : an experimental approach using *Haemonchus contortus* in Black Belly lambs.  
*Genet. Sel. Evol.*, 2001, 33 (suppl.1):S25-S44
- SCHALLIG H.D.  
Immunological responses of sheep to *Haemonchus contortus*.  
*Parasitology*, 2000, 120:S63-S72
- SCHALLIG H.D., VAN LEEUWEN M.A., BERNADINA W.E., HENDRIKX W.M.  
Serum antibody responses of Texel sheep experimentally infected with *Haemonchus contortus*.  
*Res. Vet. Sci.*, 1994a, 57(1) :63-68
- SCHALLIG H.D., VAN LEEUWEN M.A., HENDRIKX W.M.  
Immune responses of Texel sheep to excretory/secretory products of adult *Haemonchus contortus*.  
*Parasitology*, 1994b, 108(Pt3):351-357

- SCHALLIG H.D., VAN LEEUWEN M.A., HENDRIKX W.M.  
Isotype-specific serum antibody responses of sheep to *Haemonchus contortus* antigens.  
*Vet. Parasitol.*, 1995, 56(1-3):149-162
- SCHALLIG H.D., VAN LEEUWEN M.A., CORNELISSEN A.W.  
Protective immunity induced by vaccination with two *Haemonchus contortus* excretory secretory proteins in sheep.  
*Parasite Immunol.*, 1997, 19(10): 447-453
- SCUDAMORE C.L., THORNTON E.M., McMILLAN L., NEWLANDS G.F., MILLER H.R.  
Release of the mucosal mast cell granule chymase, rat mast cell protease-II, during anaphylaxis is associated with the rapid development of paracellular permeability to macromolecule in rat jejunum.  
*J. Exp. Med.*, 1995, 182(6):1871-1881
- SMITH W.D.  
Protection in lambs immunised with *Haemonchus contortus* gut membrane proteins.  
*Res. Vet. Sci.*, 1993, 54(1) : 94-101
- SMITH W.D., CHRISTIE M.G.  
*Haemonchus contortus*: local and serum antibodies in sheep immunised with irradiated larvae.  
*Int. J. Parasitol.*, 1978, 8(3) : 219-223
- SRETER T., KASSAI T., TAKACS E.  
The heritability and specificity of responsiveness to infection with *Haemonchus contortus* in sheep.  
*Int. J. Parasitol.*, 1994, 24(6) : 871-876
- STEAR M.J., BAIRDEN K., DUNCAN J.L. et al.  
*Nature*, [letter], 1997, 389:27
- STRAIN S.A., STEAR M.J.  
The recognition of molecules from four stage larvae of *Ostertagia circumcincta* by IgA from infected sheep.  
*Parasite Immunol.*, 1999, 21(3):163-168
- SUAREZ V.H., BUSETTI M.R.  
The epidemiology of helminth infections of growing sheep in Argentina's western pampas.  
*Int. J. Parasitol.*, 1995, 25 (4) : 489-494
- TOSI M.F.  
Innate immune response to infection.  
*J. Allergy Clin. Immunol.*, 2005, 116:241-249
- URQUART G.M., ARMOUR J., DUNCAN J.L., DUNN A.M., JENNINGS J.W.  
Veterinary Parasitology. 2<sup>o</sup> edition.  
Oxford: Blackwell Science, 1996b. 307 p.

- URQUART G.M., JARRETT W.F., JENNINGS F.W., McINTYRE W.I., MULLIGAN W.  
Immunity to *Haemonchus contortus* infection: relationship between age and successful vaccination with irradiated larvae.  
*Am. J. Vet. Res.*, 1996a, 27(121): 1645-1648
- VALLANCE B.A., BLENNERHASSETT P.A., COLLINS S.M.  
Increased intestinal muscle contractility and worm expulsion in nematode-infected mice.  
*Am. J. Physiol.*, 1997, 272(2 Pt 1):G321-327
- VANIMISETTI H.B., ANDREW S.L., ZAJAC A.M., NOTTER D.R.  
Inheritance of fecal egg count and packed cell volume and their relationship with production traits in sheep infected with *Haemonchus contortus*.  
*J. Anim. Sci.*, 2004, 82(6):1602-1611
- VAN WYK J.A., BATH G.F.  
The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individuals animals for treatment.  
*Vet. Res.*, 2002, 33(5):509-529
- VAN WYK J.A., STENSON M.O., VAN DER MERWE J.S., VORSTER R.J., VILJOEN P.G.  
Anthelmintic resistance in South Africa: surveys indicate an extremely serious situation in sheep and goat farming.  
*Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1999, 66(4): 273-284
- VERVELDE L., VAN LEEUWEN M.A., KRUIDENIER M. et al.  
Protection studies with recombinant excretory/secretory proteins of *Haemonchus contortus*.  
*Parasite Immunol.*, 2002, 24(4): 189-201
- VLASSOF A., LEATHWICK D.M., HEATH A.C.  
The epidemiology of nematode infections of sheep.  
*N.Z. Vet. J.*, 2001, 49 (6) : 213-221
- WANYANGU S.W., MUGAMBI J.M., BAIN R.K. et al.  
Response to artificial and subsequent natural infection with *Haemonchus contortus* in red Maassai and Dorper ewes.  
*Vet. Parasitol.*, 1997, 69(3-4): 275-282
- WELLER P.F.  
Eosinophils: structure and functions.  
*Curr. Opin. Immunol.*, 1994, 6(1):85-90
- WILDBLOOD L.A., KERR K., CLARK D.A. and al.  
Production of eosinophil chemoattractant activity by ovine gastrointestinal nematodes.  
*Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2005, 107(1-2):57-65

WINDON R.G.

Genetic control of hosts responses involved in resistance to gastrointestinal nematodes of sheep.

In: OWEN J.B., AXFORD R.F.E.

Breeding for disease resistance in farm animals

Wallingford, UK: CAB international, 1991, 162-182

WINDON R.G.

Genetic control of resistance to helminths in sheep.

*Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1996, 54(1-4):245-254

WOOLASTON R.R., BAKER R.L.

Prospects of breeding small ruminants for resistance to internal parasites.

*Int. J. Parasitol.*, 1996a, 26(8-9):845-855

WOOLASTON R.R., BARGER I.A., PIPER L.R.

Response to helminth infection of sheep selected for resistance to *Haemonchus contortus*.

*Int. J. Parasitol.*, 1990, 20(8) : 1015-1018

WOOLASTON R.R., ELWIN R.L., BARGER I.A.

No adaptation of *Haemonchus contortus* to genetically resistant sheep.

*Int. J. Parasitol.*, 1992, 22(3):377-380

WOOLASTON R.R., MANUELI P., EADY S.J. et al.

The value of circulating eosinophil count as a selection criteria for resistance of sheep to trichostrongyle parasites.

*Int. J. Parasitol.*, 1996b, 26(1) : 123-126

YACOOB A., HOLMES P.H., ARMOUR J.

Pathophysiology of gastrointestinal trichostrongyles in sheep : plasma losses and changes in plasma pepsinogen levels associated with parasite challenge of immune animals.

*Res. Vet. Sci.*, 1983, 34(3) : 305-309

YAZWINSKI T.A., GOODE L., MONCOL D.J. et al.

Parasite resistance in straightbred and crossbred Barbados blackbelly sheep.

*J. Anim. Science* 1979, 49(4): 919-926

YAZWINSKI T.A., GOODE L., MONCOL D.J. et al.

*Haemonchus contortus* resistance in straightbred and crossbred Barbados Blackbelly sheep.

*J. Anim. Sci.*, 1981, 51(2): 279-284

ZHAO A., McDERMOTT J., URBAN J.F. Jr. et al.

Dependence of Il-4, Il-13, and nematode-induced alterations in murine small intestinal smooth muscle contractility on Stat6 and enteric nerves.

*J. Immunol.*, 2003, 171(2):948-954

# ANNEXES

## Tableaux des densités optiques obtenues par test ELISA sur les sérums des moutons infestés par *H. contortus*.

Tableau 9a : Moutons abattus à j49 (abattages précoces) – Utilisation de l'antigène ES

Races	Groupes	N°	J0-3mois	J0	J5	J9	J16	J24	J30	J45	J49	
INRA 401	A	2073	0,073	0,136	0,135	0,173	0,281	0,134	0,299	0,212	0,22	
		2194	0,059	0,203	0,119	0,135	0,261	0,221	0,216	0,163	0,281	
		2207	0,079	0,186	0,129	0,176	0,228	0,174	0,203	0,183	0,303	
		2317	0,041	0,121	0,117	0,137	0,203	0,168	0,239	0,164	0,218	
		2515	0,065	0,125	0,15	0,169	0,247	0,161	0,232	0,208	0,254	
	B	2035	0,067	x	x	x	x	x	x	0,17	0,043	0,226
		2068	0,1	x	x	x	x	x	x	0,249	0,172	0,249
		2079	0,073	x	x	x	x	x	x	0,151	0,12	0,237
		2099	0,112	x	x	x	x	x	x	0,367	0,315	0,29
		6435	0,078	x	x	x	x	x	x	0,159	0,175	0,239
	C	2064	0,086	x	x	x	x	x	x	0,177	0,169	0,235
		2093	0,053	x	x	x	x	x	x	0,268	0,167	0,175
		2157	0,07	x	x	x	x	x	x	0,284	0,239	0,257
		2196	0,048	x	x	x	x	x	x	0,307	0,161	0,272
	BBB	A	7019	0,087	0,139	0,175	0,196	0,467	0,214	0,259	0,19	0,228
7032			0,045	0,146	0,123	0,174	0,355	0,238	0,255	0,19	0,281	
7050			0,005	0,183	0,193	0,223	0,242	0,265	0,306	0,245	0,215	
7052			0,074	0,189	0,173	0,193	0,648	0,247	0,591	0,448	0,467	
B		7010	0,085	x	x	x	x	x	x	0,194	0,16	0,338
		7038	0,102	x	x	x	x	x	x	0,207	0,138	0,272
		7040	0,091	x	x	x	x	x	x	0,133	0,117	0,176
		7046	0,08	x	x	x	x	x	x	0,099	0,108	0,167
C		7005	0,114	x	x	x	x	x	x	0,161	0,148	0,307
		7058	0,132	x	x	x	x	x	x	0,19	0,147	0,177
		7066	0,119	x	x	x	x	x	x	0,089	0,106	0,105

Tableau 9b : Moyennes des densités optiques (DO) et écart-types (ET) [moutons j49/Ag ES]

Races	Groupes		J0	J5	J9	J16	J24	J30	J45	J49
INRA 401	A	DO	0,154	0,130	0,158	0,244	0,172	0,238	0,186	0,255
		EC	0,038	0,013	0,020	0,030	0,032	0,037	0,023	0,037
	B	DO	x	x	x	x	x	0,219	0,165	0,248
		EC	x	x	x	x	x	0,091	0,099	0,025
	C	DO	x	x	x	x	x	0,259	0,184	0,235
		EC	x	x	x	x	x	0,057	0,037	0,043
BBB	A	DO	0,164	0,166	0,197	0,428	0,241	0,353	0,268	0,298
		EC	0,025	0,030	0,020	0,173	0,021	0,161	0,123	0,116
	B	DO	x	x	x	x	x	0,158	0,131	0,238
		EC	x	x	x	x	x	0,051	0,023	0,082
	C	DO	x	x	x	x	x	0,147	0,134	0,196
		EC	x	x	x	x	x	0,052	0,024	0,102

Tableau 10a : Moutons abattus à j75 (abattages tardifs) - Utilisation de l'antigène ES

Races	Groupes	N°	J0-3 mois	J0	J5	J9	J16	J24	J30	J45	J52	J59	J66	J73	J75	
INRA 401	A	2058	0,1	0,125	0,131	0,192	0,252	0,18	0,242	0,052	0,222	0,267	0,514	0,504	0,391	
		2095	0,086	0,129	0,135	0,194	0,268	0,215	0,13	0,234	0,298	0,589	0,652	0,703	0,517	
		2098	0,096	0,16	0,166	0,218	0,262	0,257	0,294	0,273	0,335	0,388	0,568	0,706	0,482	
		2106	0,111	0,172	0,154	0,184	0,311	0,221	0,187	0,169	0,272	0,308	0,462	0,534	0,324	
		2514	0,075	0,188	0,186	0,199	0,254	0,213	0,332	0,193	0,418	0,32	0,39	0,515	0,319	
	B	2034	0,077	x	x	x	x	x	x	0,132	0,033	0,128	0,18	0,273	0,287	0,274
		2063	0,083	x	x	x	x	x	x	0,179	0,017	0,214	0,18	0,595	0,506	0,341
		2066	0,113	x	x	x	x	x	x	0,198	0,221	0,296	0,223	0,352	0,322	0,266
		2071	0,099	x	x	x	x	x	x	0,136	0,218	0,168	0,289	0,423	0,337	0,208
		2503	0,076	x	x	x	x	x	x	0,203	0,172	0,178	0,405	0,516	0,616	0,368
	C	2013	0,057	x	x	x	x	x	x	0,17	0,2	0,257	0,194	0,3	0,365	0,254
		2087	0,16	x	x	x	x	x	x	0,194	0,211	0,34	0,283	0,356	0,288	0,214
		2251	0,063	x	x	x	x	x	x	0,286	0,149	0,17	0,137	0,21	0,214	0,152
		6434	0,108	x	x	x	x	x	x	0,145	0,214	0,223	0,206	0,221	0,268	0,235
	BBB	A	7024	0,027	0,124	0,147	0,175	0,591	0,477	0,446	0,304	0,314	0,298	0,459	0,541	0,418
7048			0,035	0,148	0,134	0,153	0,259	0,161	0,176	0,223	0,195	0,185	0,373	0,28	0,135	
7070			0,112	0,14	0,136	0,161	x	0,439	0,567	0,342	0,375	0,441	0,446	0,537	0,434	
7071			0,1	0,16	0,135	0,15	0,618	0,328	0,438	0,287	0,271	0,397	0,528	0,517	0,397	
7073			0,028	0,232	0,212	0,249	0,612	0,47	0,339	0,248	0,368	0,487	0,607	0,598	0,412	
B		7015	0,038	x	x	x	x	x	x	0,144	0,185	0,18	0,18	0,393	0,337	0,404
		7017	0,086	x	x	x	x	x	x	0,121	0,099	0,183	0,118	0,358	0,41	0,205
		7027	0,006	x	x	x	x	x	x	0,2	0,176	0,233	0,24	0,461	0,372	0,366
		7028	0,021	x	x	x	x	x	x	0,207	0,138	0,259	0,337	0,66	0,566	0,412
		7067	0,046	x	x	x	x	x	x	0,27	0,182	0,249	0,405	0,439	0,356	0,216
C		7009	0,113	x	x	x	x	x	x	0,196	0,232	0,246	0,181	0,261	0,199	0,106
		7013	0,101	x	x	x	x	x	x	0,172	0,091	0,169	0,155	0,228	0,162	0,167
		7018	0,016	x	x	x	x	x	x	0,168	0,093	0,196	0,157	0,225	0,124	0,094
		7034	0,001	x	x	x	x	x	x	0,097	0,088	0,247	0,176	0,174	0,153	0,098

Tableau 10b : Moyennes des densités optiques (DO) et écarts-types (ET) [moutons j75/Ag ES]

Races	Groupes		J0	J5	J9	J16	J24	J30	J45	J52	J59	J66	J73	J75
INRA 401	A	DO	0,155	0,154	0,197	0,269	0,217	0,237	0,184	0,309	0,374	0,517	0,592	0,407
		ET	0,027	0,023	0,013	0,024	0,027	0,081	0,084	0,074	0,128	0,100	0,103	0,090
	B	DO	x	x	x	x	x	0,170	0,132	0,197	0,255	0,432	0,414	0,291
		ET	x	x	x	x	x	0,034	0,100	0,063	0,095	0,128	0,141	0,064
	C	DO	x	x	x	x	x	0,199	0,194	0,248	0,205	0,272	0,284	0,214
		EC	x	x	x	x	x	0,062	0,030	0,071	0,060	0,069	0,063	0,044
BBB	A	DO	0,161	0,153	0,178	0,520	0,375	0,393	0,281	0,305	0,362	0,483	0,495	0,359
		ET	0,042	0,034	0,041	0,174	0,134	0,146	0,047	0,075	0,121	0,089	0,124	0,126
	B	DO	x	x	x	x	x	0,188	0,156	0,221	0,256	0,462	0,408	0,321
		ET	x	x	x	x	x	0,058	0,037	0,037	0,116	0,118	0,092	0,102
	C	DO	x	x	x	x	x	0,158	0,126	0,215	0,167	0,222	0,160	0,116
		ET	x	x	x	x	x	0,043	0,071	0,039	0,013	0,036	0,031	0,034



Tableau 11a : Moutons abattus à j49 (abattages précoces) – Utilisation de l'antigène L<sub>3</sub>

Races	Groupes	N°	J0-3 mois	J0	J5	J9	J16	J24	J30	J45	J49	
INRA 401	A	2073	0,151	0,27	0,318	0,173	0,571	0,472	0,449	0,348	0,449	
		2194	0,277	0,355	0,38	0,135	0,533	0,455	0,312	0,351	0,512	
		2207	0,215	0,371	0,389	0,176	0,422	0,449	0,293	0,341	0,352	
		2317	0,244	0,246	0,298	0,137	0,287	0,304	0,205	0,344	0,341	
		2515	0,183	0,235	0,438	0,169	0,546	0,413	0,365	0,365	0,423	
	B	2035	0,169	x	x	x	x	x	x	0,624	0,573	0,612
		2068	0,303	x	x	x	x	x	x	0,451	0,379	0,517
		2079	0,349	x	x	x	x	x	x	0,295	0,256	0,31
		2099	0,283	x	x	x	x	x	x	0,566	0,536	0,646
		6435	0,208	x	x	x	x	x	x	0,461	0,426	0,41
	C	2064	0,237	x	x	x	x	x	x	0,423	0,329	0,407
		2093	0,215	x	x	x	x	x	x	0,347	0,346	0,448
		2157	0,277	x	x	x	x	x	x	0,652	0,694	0,747
		2196	0,171	x	x	x	x	x	x	0,714	0,766	0,81
	BBB	A	7019	0,295	0,521	0,502	0,521	0,573	0,674	0,544	0,564	0,486
7032			0,237	0,622	0,576	0,649	0,684	0,633	0,568	0,526	0,556	
7050			0,232	0,415	0,297	0,361	0,307	0,505	0,335	0,417	0,275	
7052			0,216	0,293	0,38	0,398	0,414	0,559	0,362	0,354	0,341	
B		7010	0,274	x	x	x	x	x	x	0,471	0,53	0,504
		7038	0,52	x	x	x	x	x	x	0,594	0,575	0,582
		7040	0,277	x	x	x	x	x	x	0,549	0,542	0,472
		7046	0,235	x	x	x	x	x	x	0,47	0,494	0,428
C		7005	0,257	x	x	x	x	x	x	0,463	0,483	0,482
		7058	0,262	x	x	x	x	x	x	0,675	0,652	0,644
		7066	0,277	x	x	x	x	x	x	0,499	0,422	0,38

Tableau 11b : Moyennes des densités optiques (DO) et écart-types (ET) [moutons j49/Ag L<sub>3</sub>]

Races	Groupes		J0	J5	J9	J16	J24	J30	J45	J49
INRA 401	A	DO	0,295	0,365	0,158	0,472	0,419	0,325	0,350	0,415
		ET	0,063	0,057	0,020	0,118	0,068	0,090	0,009	0,071
	B	DO	x	x	x	x	x	0,479	0,434	0,499
		ET	x	x	x	x	x	0,126	0,127	0,140
	C	DO	x	x	x	x	x	0,534	0,534	0,603
		ET	x	x	x	x	x	0,177	0,229	0,205
BB	A	DO	0,463	0,439	0,482	0,495	0,593	0,452	0,465	0,415
		ET	0,141	0,124	0,131	0,167	0,075	0,121	0,097	0,129
	B	DO	x	x	x	x	x	0,521	0,535	0,497
		ET	x	x	x	x	x	0,061	0,033	0,065
	C	DO	x	x	x	x	x	0,546	0,519	0,502
		ET	x	x	x	x	x	0,113	0,119	0,133

Tableau 12a : Moutons abattus à j75 (abattages tardifs) - Utilisation de l'antigène L<sub>3</sub>

Races	Groupes	N°	juin	J0	J5	J9	J16	J24	J30	J45	J52	J59	J66	J73	J75	
INRA 401	A	2058	0,38	0,503	0,53	0,395	0,589	0,528	0,455	0,436	0,651	0,721	0,7	0,651	0,633	
		2095	0,335	0,401	0,426	0,375	0,592	0,544	0,415	0,462	0,597	0,866	0,847	0,861	0,81	
		2098	0,436	0,518	0,478	0,477	0,49	0,542	0,41	0,497	0,539	0,493	0,526	0,589	0,542	
		2106	0,251	0,324	0,264	0,33	0,662	0,534	0,399	0,414	0,536	0,764	0,748	0,786	0,761	
		2514	0,203	0,395	0,359	0,417	0,481	0,48	0,355	0,463	0,43	0,365	0,356	0,498	0,448	
	B	2034	0,35	x	x	x	x	x	x	0,514	0,29	0,404	0,305	0,505	0,369	0,339
		2063	0,239	x	x	x	x	x	x	0,505	0,447	0,532	0,469	0,741	0,651	0,719
		2066	0,266	x	x	x	x	x	x	0,526	0,546	0,694	0,717	0,779	0,701	0,749
		2071	0,289	x	x	x	x	x	x	0,397	0,448	0,557	0,543	0,653	0,54	0,549
		2503	0,431	x	x	x	x	x	x	0,235	0,337	0,342	0,484	0,516	0,57	0,603
	C	2013	0,49	x	x	x	x	x	x	0,755	0,766	0,798	0,751	0,708	0,681	0,735
		2087	0,319	x	x	x	x	x	x	0,472	0,388	0,453	0,427	0,386	0,406	0,404
		2251	0,186	x	x	x	x	x	x	0,588	0,595	0,613	0,58	0,547	0,639	0,663
		6434	0,398	x	x	x	x	x	x	0,438	0,431	0,399	0,357	0,372	0,428	0,45
	BBB	A	7024	0,336	0,574	0,655	0,608	0,561	0,667	0,564	0,635	0,635	0,461	0,49	0,583	0,523
7048			0,274	0,542	0,6	0,6	0,554	0,613	0,63	0,594	0,655	0,55	0,516	0,535	0,46	
7070			0,492	0,558	0,569	0,49	x	0,704	0,586	0,576	0,531	0,454	0,472	0,473	0,618	
7071			0,285	0,21	0,22	0,301	0,659	0,298	0,29	0,307	0,319	0,257	0,262	0,263	0,392	
7073			0,208	0,667	0,574	0,557	0,469	0,416	0,555	0,581	0,55	0,493	0,494	0,512	0,63	
B		7015	0,201	x	x	x	x	x	x	0,446	0,495	0,456	0,342	0,441	0,423	0,508
		7017	0,168	x	x	x	x	x	x	0,45	0,482	0,519	0,338	0,364	0,476	0,458
		7027	0,383	x	x	x	x	x	x	0,537	0,552	0,611	0,561	0,58	0,496	0,489
		7028	0,198	x	x	x	x	x	x	0,58	0,469	0,498	0,515	0,542	0,55	0,611
		7067	0,316	x	x	x	x	x	x	0,618	0,634	0,588	0,65	0,675	0,667	0,693
C		7009	0,359	x	x	x	x	x	x	0,632	0,644	0,61	0,575	0,596	0,499	0,528
		7013	0,275	x	x	x	x	x	x	0,423	0,392	0,349	0,292	0,347	0,356	0,313
		7018	0,287	x	x	x	x	x	x	0,64	0,507	0,544	0,367	0,459	0,414	0,398
		7034	0,201	x	x	x	x	x	x	0,415	0,47	0,572	0,492	0,506	0,52	0,465

Tableau 12b : Moyennes des densités optiques (DO) et écart-types (ET) [moutons j75/Ag L<sub>3</sub>]

Races	Groupes		J0	J5	J9	J16	J24	J30	J45	J52	J59	J66	J73	J75
INRA 401	A	DO	0,428	0,411	0,399	0,563	0,526	0,407	0,454	0,551	0,642	0,635	0,677	0,639
		ET	0,081	0,104	0,054	0,076	0,026	0,036	0,031	0,082	0,206	0,195	0,147	0,150
	B	DO	x	x	x	x	x	0,435	0,414	0,506	0,504	0,639	0,566	0,592
		ET	x	x	x	x	x	0,123	0,101	0,138	0,148	0,126	0,127	0,163
	C	DO	x	x	x	x	x	0,563	0,545	0,566	0,529	0,503	0,539	0,563
		ET	x	x	x	x	x	0,143	0,172	0,180	0,175	0,158	0,142	0,161
BBB	A	DO	0,510	0,524	0,511	0,561	0,540	0,525	0,539	0,538	0,443	0,447	0,473	0,525
		ET	0,175	0,173	0,126	0,078	0,175	0,135	0,132	0,133	0,111	0,104	0,124	0,102
	B	DO	x	x	x	x	x	0,526	0,526	0,534	0,481	0,520	0,522	0,552
		ET	x	x	x	x	x	0,077	0,068	0,064	0,138	0,121	0,093	0,098
	C	DO	x	x	x	x	x	0,528	0,503	0,519	0,432	0,477	0,447	0,426
		ET	x	x	x	x	x	0,125	0,105	0,116	0,126	0,104	0,076	0,092

Toulouse, 2007

NOM : PENICAUD

PRENOM : JULIETTE

TITRE : COMPARAISON DE LA REPONSE ANTICORPS SYSTEMIQUE DES OVINS BARBADOS BLACK BELLY ET INRA 401 LORS D'INFESTATIONS EXPERIMENTALES PAR *HAEMONCHUS CONTORTUS* (NEMATODA : TRICHOSTRONGYLIDAE).

RESUME :

La sélection d'ovins génétiquement résistants est une alternative à l'utilisation des anthelminthiques dans la lutte contre le nématode *Haemonchus contortus*. Mais la méconnaissance de la réponse immunitaire contre ce parasite est un obstacle à son développement. Nos travaux évaluent le rôle des IgG sériques, par tests ELISA, en comparant les taux d'anticorps entre ovins sensibles (INRA 401) et résistants (Barbados Black Belly). Aucune différence de sécrétion des IgG n'a été établie entre les deux races. Chez les INRA 401, la réponse IgG est négativement corrélée aux paramètres de développement des vers, alors que le taux d'IgG des Black Belly et leur état de résistance ne sont pas liés. Cependant, nous n'avons pas d'information sur la spécificité de la réponse IgG systémique qui pourrait conditionner la différence de statut immunitaire des ovins.

MOTS-CLES :

HAEMONCHUS CONTORTUS / OVIN / INRA 401 / BARBADOS BLACK BELLY / ANTICORPS / IGG

---

ENGLISH TITLE : COMPARISON OF SERUM ANTIBODY RESPONSES IN BARBADOS BLACK BELLY AND INRA 401 SHEEP TO *HAEMONCHUS CONTORTUS* ARTIFICIAL INFECTION (NEMATODA : TRICHOSTRONGYLIDAE).

ABSTRACT :

Breeding for genetically resistant sheep is an alternative method to anthelmintics use in the control of *Haemonchus contortus* infections. But the lack of knowledge about the immune response against this nematode acts as a brake on its development. Our study evaluates the systemic IgG functions, with ELISA tests, by comparison of antibodies levels between susceptible (INRA 401) and resistant (Barbados Black Belly) sheep. None difference in IgG production was found between the two breeds. The IgG response in INRA 401 lambs is negatively correlated with worm development traits, while IgG levels and Black Belly resistant status are not linked. Nevertheless, we have no information about the specificity of IgG systemic response that could explain the difference of ovine immune status.

KEY WORDS :

HAEMONCHUS CONTORTUS / OVINE / INRA 401 / BARBADOS BLACK BELLY / ANTIBODY / IGG