

## TABLE DES MATIERES

	<i>Pages</i>
<i>Introduction</i>	<i>1</i>
PARTIE 1 : Réactions immunitaires de l'hôte face à l'agression causée par les tiques	10
A- <u>Les éosinophiles et les mastocytes</u>	11
B- <u>Les basophiles</u>	13
C- <u>L'histamine</u>	16
D- <u>Les cellules de Langerhans</u>	19
E- <u>Le complément</u>	21
F <u>Lymphocytes et immunoglobulines</u>	24
1- Quelques rappels	24
2- Lors d'infestation par les tiques	28
PARTIE 2 : Mécanismes d'échappement de la tique	31
A- <u>Vis-à-vis des mastocytes</u>	31
B- <u>Vis-à-vis du complément</u>	33
C- <u>Vis-à-vis des lymphocytes : diminution de la lymphoprolifération</u>	35
D- <u>Vis-à-vis des cytokines</u>	36
E- <u>Vis-à-vis des anticorps : diminution de la production d'anticorps par les plasmocytes</u>	39
F- <u>Vis-à-vis des cellules Natural Killer (NK)</u>	40
PARTIE 3 : Applications pratiques	42
A- <u>Facilitation de la transmission d'agents pathogènes</u>	42
1- Rôle de l'immunomodulation induite par les tiques	43
2- Limitation de la transmission des agents pathogènes	45
B- <u>La lutte contre les tiques par l'immunisation des hôtes contre des antigènes cachés : nouveaux vaccins</u>	47
1- Recherche d'antigènes cachés	48
2- Mode d'action des nouveaux vaccins	51

3- Efficacité	53
4- Action croisée	54
5- Effet sur la transmission d'agents pathogènes	55
6- Limites de la vaccination	56
C- <u>Sélection d'animaux résistants</u>	58
1- Résistance polygénique	59
2- croisements entre races résistantes	60
3- Gène majeur	61
4- Croisements entre races à résistance polygénique et races porteuses de gène majeur	62
5- Résistance aux tiques et productivité	63
6- Les systèmes laitiers	64
Conclusion	67
Bibliographie	68

## LISTE DES ILLUSTRATIONS

	<i>Pages</i>
<i>Tableau I : systématique simplifiée des tiques</i>	3
<i>Tableau II : rôles pathogènes indirects des Argasidés</i>	4
<i>Tableau III : principaux agents pathogènes transmis par les tiques du genre Ixodes</i>	5
<i>Tableau IV : principaux agents pathogènes transmis par les tiques du genre Rhipicephalus</i>	6
<i>Tableau V : principaux agents pathogènes transmis par les tiques du genre Dermacentor</i>	7
<i>Tableau VI : principaux agents pathogènes transmis par les tiques du genre Haemaphysalis</i>	8
<i>Tableau VII : principaux agents pathogènes transmis par les tiques du genre Hyalomma</i>	9
<i>Figure 1 : afflux de mastocytes et d'éosinophiles au site d'attache</i>	12
<i>Figure 2 : mode d'action des basophiles</i>	14
Figure 3 : mécanismes d'action de l'histamine	17
Figure 4 : mode d'action des cellules de Langerhans	20
Figure 5 : les voies d'activation du complément	21
Figure 6 : mode d'action du complément	22
Figure 7 : rôle central des cellules T auxiliaires au cours de la réponse immunitaire	25
Tableau VIII : propriétés des clones de cellules T auxiliaires	25
Figure 8 : différenciation des cellules T helper	26
Figure 9 : interactions entre les cellules TH1 et TH2	27
Figure 10 : action sur l'histamine	32
Figure 11 : action de la salive de tique sur le complément	33
Figure 12 : action sur le complément	34
Figure 13 : mode d'action des nouveaux vaccins	52

## INTRODUCTION

Les tiques constituent un groupe très particulier d'ectoparasites. Quelques dizaines d'espèces sur environ 800 connues ont proliféré et se sont adaptées aux animaux domestiqués par l'homme. Elles ont acquis une grande importance en médecine vétérinaire et parfois en médecine humaine (Bourdeau, 1993).

L'origine des tiques est encore mal connue. Elles sont probablement apparues comme parasites de reptiles à la fin du paléozoïque, dans les zones de climat chaud et humide. Deux groupes majeurs se sont différenciés : les tiques dures (aujourd'hui Ixodina), et les tiques molles (aujourd'hui Argasina). Ce n'est qu'à l'ère tertiaire qu'elles deviennent parasites des oiseaux et des mammifères (Bourdeau, 1993). (Tableau I : systématique générale).

A partir des populations sauvages plus ou moins adaptées aux hôtes domestiques, quelques espèces de tiques se sont disséminées dans le monde, très loin de leur biotope d'origine. Les exemples les plus connus concernent les espèces du genre *Boophilus* et le bétail bovin, *Rhipicephalus sanguineus* et le chien, et certaines espèces du genre *Hyalomma* et les Camélidés, *Argas persicus* et le poulet (Bourdeau, 1993)..

Les tiques sont à l'origine de pertes économiques très importantes (estimées à 14 milliards de dollars par an) (De Castre *et al.*, 1993), de façon directe, par la spoliation qu'elles infligent à leurs hôtes, et de façon indirecte, car elles sont vecteurs de nombreuses pathologies (Preston *et al.*, 1999).(Tableau II à VIII). De plus, les tiques posent un grave problème de santé publique : elles sont à l'origine de nombreuses zoonoses (Wikel *et al.*, 1994) : les tiques sont les deuxièmes agents, après les moustiques, vecteurs de pathologies chez l'Homme (Wikel, 1999). (Tableau IX).

L'emploi d'acaricides reste actuellement le moyen de lutte le plus utilisé. Cependant, cette méthode montre ses limites par :

→ le développement de résistances vis à vis de ces produits. La mise au point permanente de nouveaux acaricides reste insuffisante, car les résistances apparaissent environ au bout de 5 années d'utilisation (Willadsen, 1997).

→ La plupart des acaricides ont une rémanence limitée d'où une utilisation répétée (Willadsen, 1997).

→ L'utilisation des acaricides est à l'origine d'une pollution de l'environnement et il y a un risque important de retrouver des résidus dans l'alimentation (Willadsen, 1997).

→ Lors d'utilisation de ces produits, on constate une atteinte des espèces non cibles (Frisch, 1999).

→ Et enfin, ces produits ont un coût élevé (de Castro *et al.*, 1993).

Les acaricides sont donc une solution de court terme pour un problème immédiat, mais n'offrent pas de solution à long terme (Frisch, 1999).

D'où la nécessité de développer des méthodes de lutte alternatives : nous allons voir qu'elles reposent sur la compréhension des interactions immunitaires complexes entre l'hôte et la tique.

Pour cela, cette thèse va s'articuler en trois parties : tout d'abord la réponse immunitaire de l'hôte face aux tiques, pour ensuite étudier les mécanismes d'échappement à la réponse immunitaire, élaborés par de la tique, pour aboutir enfin sur les conséquences pratiques.

Tableau I :Systématique simplifiée des tiques (d'après Bourdeau, 1993))

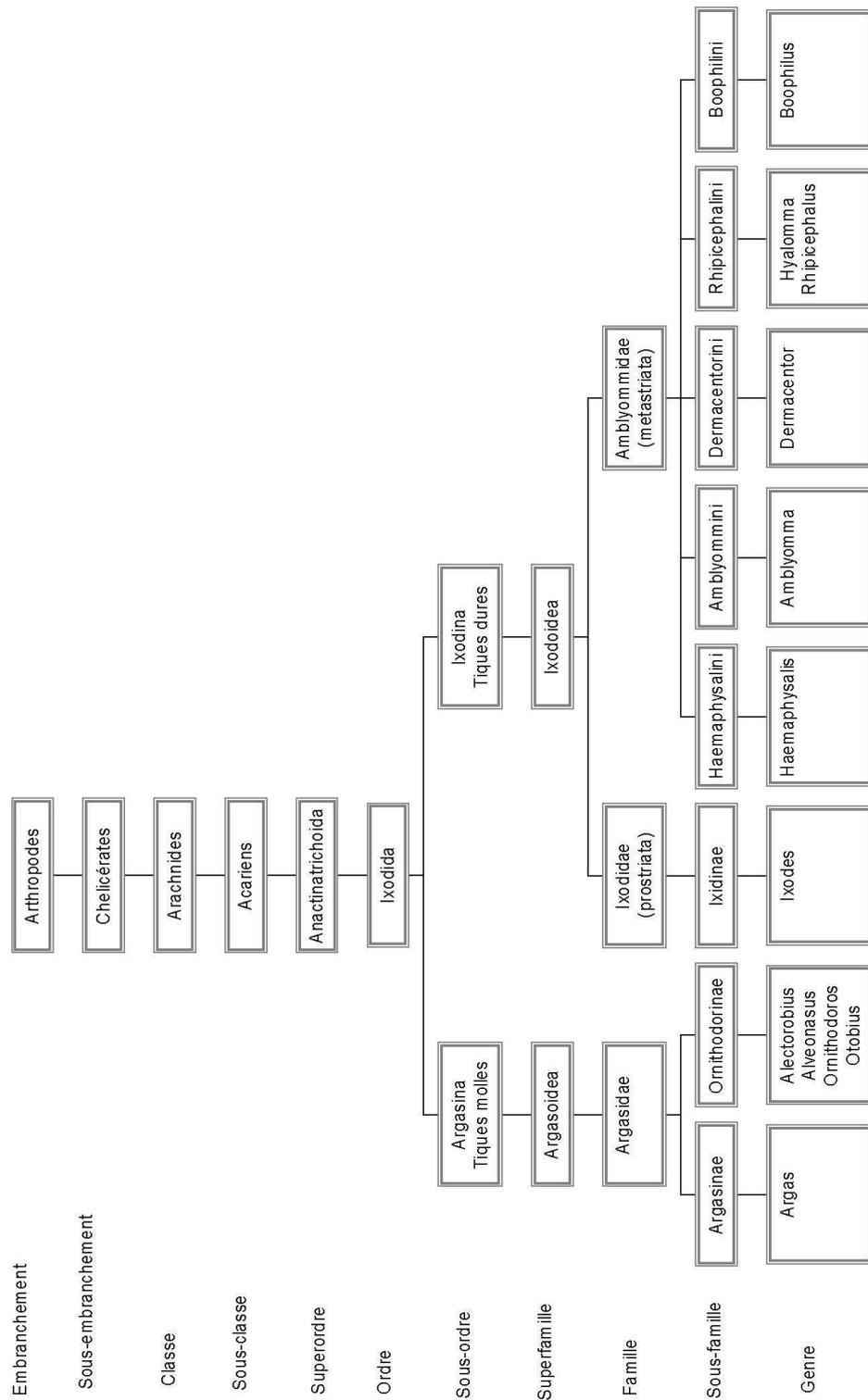


Tableau II : Rôles pathogènes indirects des *Argasidés* (d'après Bourdeau, 1993)**Bactéries**

Bactéries diverses	salmonelles, colibacilles, staphylocoques, <i>Pseudomonas</i> , <i>Proteus</i> , <i>Bacillus anthracis</i> ... (au total environ 150)	<i>A. persicus</i>
Spirochètoses	<i>Borrelia anserina</i>	<i>A. persicus</i> <i>A. africolombae</i>
	<i>Borrelia gallinae</i> (borrelioses aviaires) <i>Borrelia hispanica</i>	
	Fièvre récurrente hispano-marocaine	<i>A. erraticus</i>
	<i>Borrelia duttoni</i>	
Rickettsioses	Fièvre récurrente africaine	<i>O. moubata</i>
	<i>Aegyptianella pullorum</i>	
	Aegyptianellose aviaire	<i>A. persicus</i> <i>A. africolombae</i>
Mycoplasmoses	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	<i>A. persicus</i>
Chlamydies	Avortement enzootique	<i>O. cariceus</i>
<b>Virus</b>	Peste porcine africaine (suidés)	<i>O. moubata</i> <i>O. erraticus</i>
	Maladie de Newcastle (volailles)	<i>A. reflexus</i>
<b>Helminthes</b>	ex : filaire de Bovidés <i>Dipetalonema vitae</i> (mériion)	<i>Argas</i> sp. <i>Alectorobius</i> sp.

Tableau III : Principaux agents pathogènes transmis par les tiques du genre *Ixodes* (d'après Bourdeau, 1993)

<i>I. Dammini</i>	<i>Babesia microti</i> <i>Borrelia burgdorferi</i>
<i>I. holocyclus</i>	<i>Coxiella burneti</i> <i>Rickettsia australis</i>
<i>I. pacificus</i>	<i>Francisella tularensis</i>
<i>I. persulcatus</i>	<i>Babesia bovis, Babesia ovis</i> Virus encéphalite verno-estivale de la taïga
<i>I. ricinus</i>	<i>Babesia divergens, B. bovis, B. jakimovi, B. motasi, B. ovis</i> <i>Anaplasma marginale</i> <i>Borrelia burgdorferi burgdorferi</i> <i>Borrelia afzelii</i> <i>Borrelia garinii</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Coxiella burneti</i> <i>Cytoetes phagocytophila</i> <b>Virus</b> louping ill Encéphalite à tiques d'Europe centrale Fièvre à virus Eyach

Tableau IV : Principaux agents pathogènes transmis par les tiques du genre *Rhipicephalus* (d'après Bourdeau 1993)

<i>R. appendiculatus</i>	<p><i>Babesia bigemina</i>  <i>Hepatozoon canis</i>  <i>Theileria mutans, T. parva, T. lawrencei</i>  <i>Rickettsia conori</i>  <i>Ehrlichia bovis</i>  <i>Corynebacterium pyogenes</i>  Virus : maladie de Nairobi  Toxicose à tiques</p>
<i>R. bursa</i>	<p><i>Babesia ovis, B. motasi, B. bigemina, B. bovis, B. caballi, B. equi</i>  <i>Theileria ovis, T. hirci</i>  <i>Anaplasma marginale, A. ovis</i>  <i>Rickettsia ovina</i>  <i>Coxiella burneti</i>  <i>Ehrlichia ovina</i>  Virus : maladie de Nairobi  Fièvre hémorragique de Crimée-Congo</p>
<i>R. evertsi</i>	<p><i>Babesia bigemina, B. equi</i>  <i>Theileria parva, T. mutans, T. ovis</i>  <i>Ehrlichia ovina</i>  <i>Borrelia theileri</i>  <i>Rickettsia conori</i></p>
<i>R. sanguineus</i>	<p><i>Babesia canis, B. vogeli, B. gibsoni, B. caballi, B. equi</i>  <i>Trypanosoma theileri</i>  <i>Dipetalonema reconditum, D. grassi</i>  <i>Anaplasma marginale</i>  <i>Francisella tularensis</i>  <i>Coxiella burneti</i>  <i>Rickettsia conori, R. sibirica, R. rickettsi</i>  <i>Ehrlichia canis</i>  <i>Haemobartonella canis</i>  <i>Salmonella enteritidis</i>  <i>Escherichia coli</i>  Virus : maladie de Nairobi</p>
<i>R. turanicus</i>	<p><i>Babesia caballi, B. trautmanni</i></p>

Tableau V: Principaux agents pathogènes transmis par les tiques du genre *Dermacentor* (d'après Bourdeau 1993)

<i>D. albipictus</i>	<i>Anaplasma</i> <i>Rickettsia rickettsi</i> Paralytie à <i>Klebsiella</i>
<i>D. andersoni</i>	<i>Babesia canis</i> <i>Anaplasma marginale</i> <i>Francisella tularensis</i> <i>Coxiella burneti</i> <i>Rickettsia rickettsi</i> Virus : encéphalite équine de l'ouest Chorioméningite lymphocytaire Fièvre à tiques du Colorado
<i>D. marginatus</i>	<i>Babesia caballi</i> , <i>B. ovis</i> <i>Anaplasma ovis</i> <i>Rickettsia sibirica</i> , <i>R. slovaca</i>
<i>D. nuttalli</i>	<i>Francisella tularensis</i> <i>Rickettsia sibirica</i>
<i>D. occidentalis</i>	<i>Anaplasma marginale</i> <i>Francisella tularensis</i> <i>Coxiella burneti</i> Virus : fièvre à tiques du Colorado
<i>D. reticulatus</i>	<i>Babesia canis</i> , <i>B. caballi</i> <i>Coxiella burneti</i> Virus : fièvre hémorragique d'Omsk
<i>D. variabilis</i>	<i>Rickettsia rickettsi</i> <i>Anaplasma marginale</i> <i>Francisella tularensis</i> Virus : encéphalite de St-Louis

Tableau VI: Principaux agents pathogènes transmis par les tiques du genre *Haemaphysalis*.(d'après Bourdeau, 1993).

<i>H. sp</i>	<i>Rickettsia sibirica</i>
<i>H. bispinosa</i>	<i>Babesia gibsoni, B. canis, B. motasi</i>
<i>H. humerosa</i>	<i>Coxiella burneti</i>
<i>H. inermis</i>	<i>Babesia major, B. motasi</i> <i>Theileria mutans, T. ovis</i> <i>Rickettsia slavaqua</i> <i>Cixiella burneti</i> Virus : encéphalite à tiques
<i>H. leachi</i>	<i>Babesia canis</i> <i>Rickettsia conori</i> <i>Coxiella burneti</i>
<i>H. leporipalustris</i>	<i>Francisella tularensis</i> <i>Cixiella burneti</i>
<i>H. longicornus</i>	<i>Babesia ovata, B. canis, B. gibsoni</i> <i>Theileria mutans, T. sergenti, T. annulata</i> <i>Cixiella burneti</i> <i>Chlamydia</i>
<i>H. punctata</i>	<i>Babesia bigemina, B. major, B. motasi</i> <i>Theileria mutans, T. sergenti</i> <i>Anaplasma marginale, A. centrale</i> <i>Francisella tularensis</i> <i>Rickettsia conori</i> Virus : fièvre hémorragique de Crimée
<i>H. spinigera</i>	Virus : maladie de la forêt du Kyasanur
<i>H. sulcata</i>	<i>Anaplasma sp.</i> <i>Babesia sp.</i> <i>Theileria sp.</i>

Tableau VII: Principaux agents pathogènes transmis par les tiques du genre *Hylomma* (d'après Bourdeau, 1993).

<i>H. marginatum</i>	<i>Babesia canis, B. caballi, B. equi</i> <i>Theileria annulata</i> <i>Coxiella burneti</i> Virus : fièvre hémorragique de Crimée-Congo
<i>H. anatolicum</i>	<i>Babesia equi, B. merionis</i> <i>Theileria annulata, T. hirci</i> <i>Ehrlichia bovis</i> <i>Coxiella burneti</i> <i>Chlamydia</i> sp. <i>Brucella</i> sp. <i>Escherichia coli</i> Virus : complexe Crimée Congo Thogoto
<i>H. detritum detritum</i>	<i>Theileria annulata</i>
<i>H. rufipes</i>	<i>Rickettsia conori, R. prowasecki</i> Virus : fièvre hémorragique de Crimée-Congo
<i>H. truncatum</i>	<i>Babesia caballi, B. equi</i> <i>Theileria annulata, T. hirci, T. ovis</i> <i>Trypanosoma theileri</i> <i>Anaplasma marginale</i> <i>Rickettsia conori, T. sibirica</i> <i>Coxiella burneti</i> Virus : fièvre hémorragique de Crimée-Congo

## PARTIE 1

### REACTIONS IMMUNITAIRES DE L'HÔTE FACE A L'AGRESSION CAUSEE PAR LES TIQUES

Face à toute agression, l'organisme développe des défenses pour se protéger. Il en est de même lors d'infestation parasitaire.

Dans le cas d'infestation par les tiques, la mise en place des défenses immunitaires de l'hôte, se traduit chez la tique par l'une ou l'autre de ces manifestations :

- une augmentation de la durée du repas
- une diminution du poids de gorgement de la femelle
- une diminution du nombre de tiques gorgées
- une diminution de la production d'œufs et de leur viabilité
- une incapacité de muer
- la mort de la tique (Wikel, 1996)

Chez l'hôte, ces réactions immunitaires mettent en œuvre un certains nombres d'agents :

- les mastocytes, les éosinophiles et les basophiles
- les cellules présentatrices d'antigène
- le complément
- les lymphocytes B et T
- les cytokines
- les anticorps homocytotropes (Brossard *et al.*, 1991 et Wikel, 1982)

Nous allons donc étudier ces différents mécanismes de la réponse immunitaire.

Intéressons nous tout d'abord à ce qui se passe au niveau cutané.

Après que la tique se soit fixée à son hôte, des vaisseaux de petite taille sont rompus. Ce type de flux sanguin est normalement arrêté rapidement et complètement par les procédés hémostatiques de l'hôte (Bowman *et al.*, 1997) :

- Agrégation plaquettaire pour former un clou plaquettaire qui bouche le trou de ponction au niveau du vaisseau sanguin
- Activation de la cascade de la coagulation plasmatique pour former un réseau de fibrine qui tient le clou plaquettaire en place.

→ Vasoconstriction, ce qui assure l'étanchéité au niveau du site lésionnel.

La taille des vaisseaux atteints détermine la relative importance de chacun de ces trois procédés.

Lors de lésion de vaisseaux de petite taille, comme c'est le cas lors du repas de la tique, le clou plaquettaire et la vasoconstriction permettent l'arrêt du flux sanguin au niveau du site d'attache de la tique (Bowman *et al.*, 1997).

Mais le rôle prépondérant dans le rejet des tiques par l'hôte est rempli par le système immunitaire :

L'examen histologique au site d'attache de la tique pendant l'infestation initiale et les infestations suivantes, montre que la résistance acquise vis à vis des tiques a une base immunologique, due à un afflux de cellules dans le derme et l'épiderme qui entoure les pièces buccales de la tique (Brossard et Wikel, 1997).

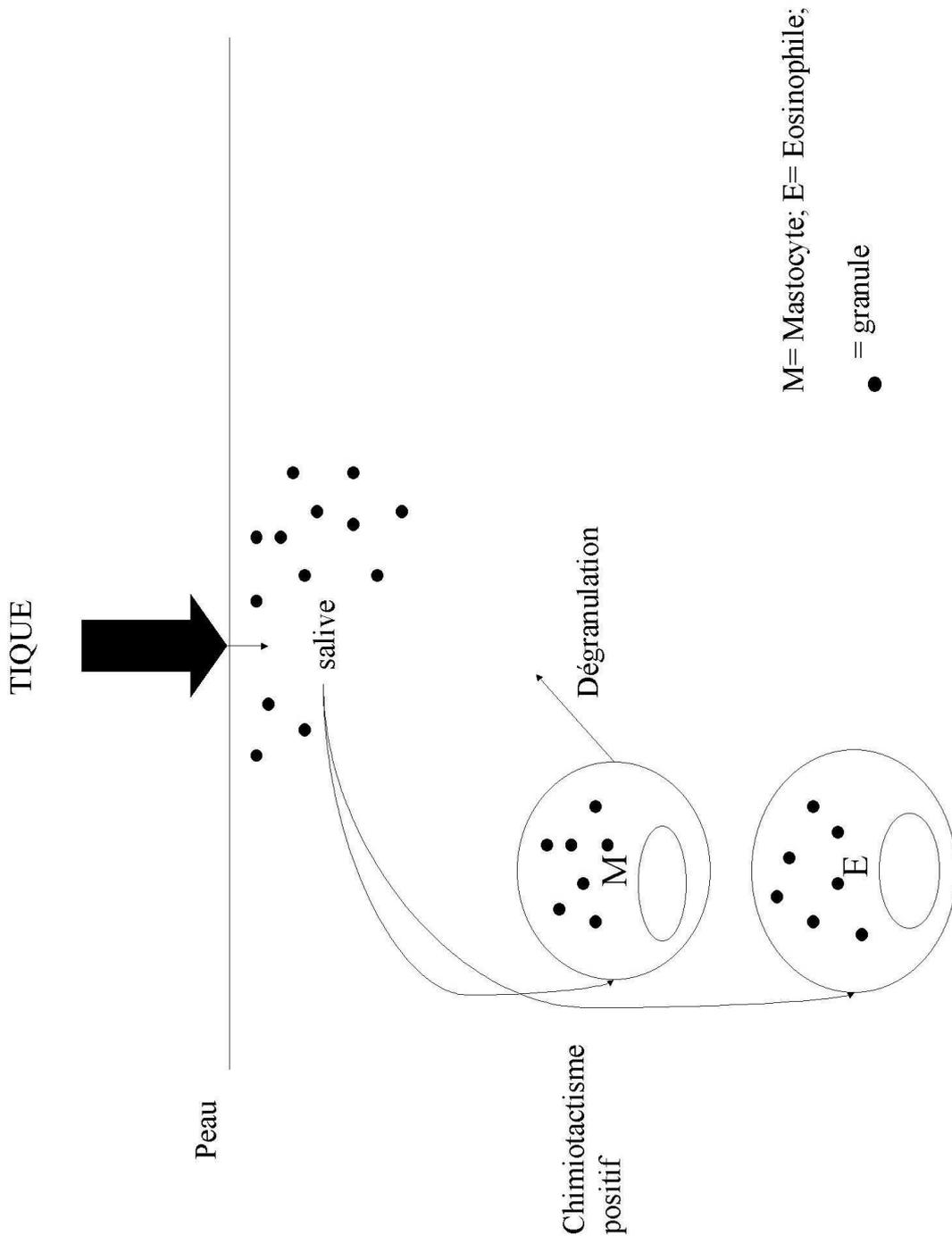
Lorsque l'on s'intéresse aux réactions histologiques au niveau cutané en réponse au repas de la tique, on constate que différents types de mécanismes entrent en jeu :

#### A- Les éosinophiles et les mastocytes

Lorsque l'on infeste des Cochons d'Inde résistants aux tiques avec des larves de *Dermacentor variabilis* et que l'on analyse les réactions cutanées aux sites d'attache, on note une accumulation importante de leucocytes polynucléaires, quelques éosinophiles qui s'accumulent autour des pièces buccales. L'épithélium est épaissi, le tissu cutané est oedématié. Les tiques sont pâles, ce qui indique qu'elles n'ont pas réalisé un repas de sang normal (Wikel *et al.*, 1986).

Au niveau du site d'attache de *Rhipicephalus sanguineus* sur des chiens, on constate de nombreuses dégranulations de mastocytes et l'accumulation de neutrophiles (Wikel *et al.*, 1986)

**Figure 1: Afflux de mastocytes et d'éosinophiles au site d'attache**



Chez les bovins résistants à *Boophilus microplus* on note une accumulation de lymphocytes et de leucocytes polynucléaires, principalement des éosinophiles, au niveau du site d'attache. La présence de mastocytes en plus des éosinophiles au site d'attache de *Boophilus microplus* a également été montrée (Wikel, 1984).

→ *Boophilus microplus* induit une réponse immunitaire de la part de son hôte Bovin, qui se manifeste par une dégranulation des mastocytes, une infiltration et une concentration des éosinophiles au site d'attache, ainsi qu'une production d'anticorps vis à vis des antigènes de la tiques (Inokuma *et al.*, 1993).

Ces observations suggèrent une réaction de type hypersensibilité immédiate à l'infestation (Wikel, 1984).

Le degré de résistance de *Bos taurus* à la tique *Boophilus microplus* est corrélé au nombre d'éosinophiles et à leur dégranulation au site d'attache de la larve.

Il est donc clair que les éosinophiles et les mastocytes jouent un rôle important, en particulier par l'apport en histamine au niveau du site lésionnel, comme nous le verrons un peu plus loin (Wikel, 1984).

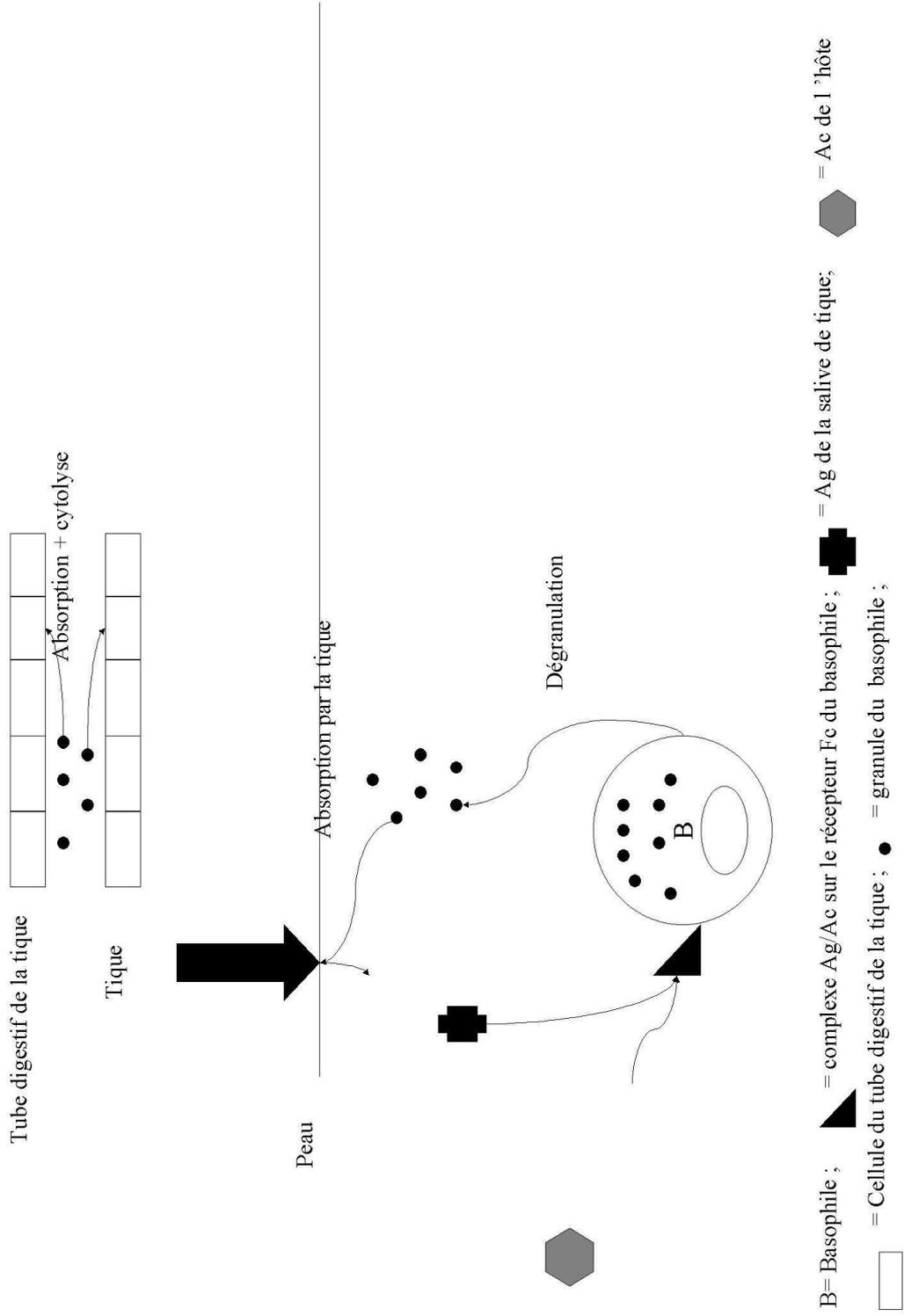
## B- Les basophiles

Au site d'attache de tiques sur des Cochons d'Inde résistants, on note une importante accumulation de basophiles (Allen, 1973) : l'infiltration par les basophiles correspond à une réponse d'hypersensibilité cutanée basophile, qui est une forme d'hypersensibilité retard mise en oeuvre par les lymphocytes Th1 (Brossar *et al.*, 1997; Wikel *Et al.*, 1994; Dvorak, 1970).

Les cellules basophiles jouent un rôle central dans la réponse de l'hôte aux repas des *Ixodes*. Cela semble être un mode de réaction commun aux antigènes de tique et probablement aux arthropodes hématophages en général (Wikel *et al.*, 1986).

Différentes expériences ont montré ce rôle des basophiles dans la réponse immune contre les tiques :

**Figure 2: Mode d'action des basophiles**



→ De jeunes Bovins Hereford infestés avec *Amblyomma maculatum* développent une basophilie périphérique (Wikel, 1984).

→ On constate également une augmentation au niveau du sang périphérique et de la moelle osseuse, du nombre de basophiles chez des Cochons d'Inde soumis à des infestations répétées par *Dermacentor andersoni* (Wikel, 1984).

→ Brown *et al.* (1982) ont démontré le rôle des basophiles et de leurs médiateurs dans l'expression de la résistance face aux tiques : ils ont aboli cette expression de la résistance en administrant un sérum anti-basophile à des Cochons d'Inde résistants.

Leur mode d'action serait le suivant :

Les récepteurs Fc des mastocytes et des basophiles infiltrants, occupés par les anticorps homocytotrope, contribuent à la dégranulation pendant le repas de celle-ci (Wikel *et al.*, 1994). Il est à noter que Brossard *et al.* (1982) ont montré que la dégranulation des mastocytes et des basophiles au niveau du site d'attache de la tique est supérieure lors de la seconde infestation par rapport à la première.

Le tube digestif des tiques se nourrissant sur un hôte résistant contient des granulations de basophiles et d'éosinophiles au niveau de la lumière du tube digestif. Ces granulations sont phagocytées par les cellules du tube digestif. Les membranes des cellules du tube digestif de la tique sont endommagées aux sites adjacents des granulations basophiles. La mort de la tique est corrélée aux dommages des cellules de son tube digestif (Wikel *et al.*, 1994).

Les molécules relarguées par les basophiles, éosinophiles et mastocytes influencent les réponses physiologiques des tiques, ainsi que les lésions cellulaires et des modifications comportementales (Fragoso *et al.*, 1998 et Willadsen, 1997).

### C- L'histamine

Les mastocytes et les basophiles jouent leur rôle dans les défenses immunitaires par les substances qu'ils relarguent, en particulier l'histamine (Broosard et Wikel, 1997). De plus il n'est pas étonnant que l'histamine apparaisse être impliquée dans l'expression de la résistance, depuis que l'on sait qu'il y a une réaction d'hypersensibilité au niveau cutané par afflux de basophiles et d'éosinophiles au site d'attache de la tique chez les animaux résistants (Wikel *et al.*, 1986).

Un certain nombre d'observations ont permis d'aboutir à cette conclusion :

→ Les troupeaux résistants à *Boophilus microplus* ont un taux significativement plus élevé en histamine que les troupeaux sensibles (Wikel *et al.*, 1986).

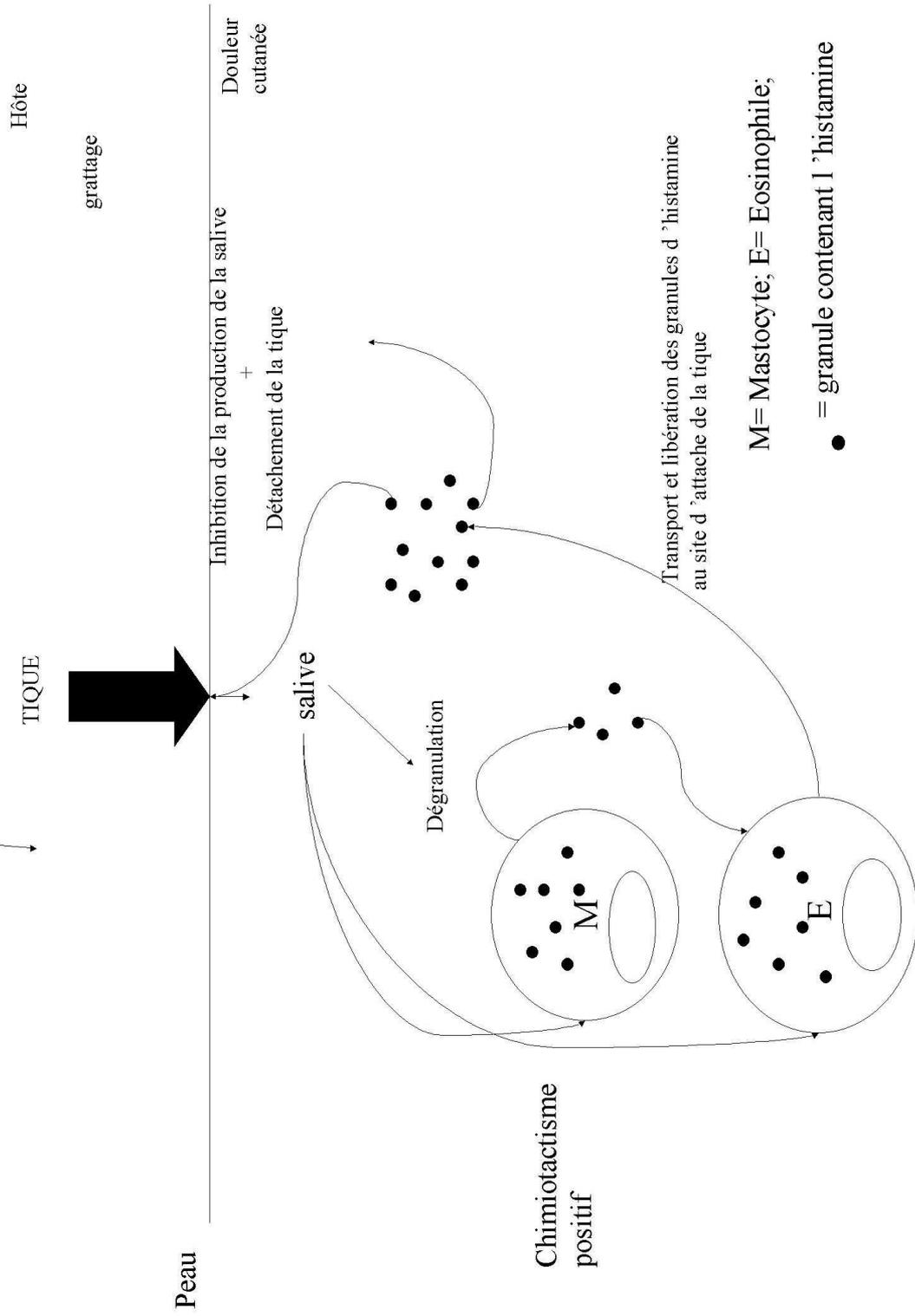
→ Le taux d'histamine au site d'attache des tiques chez des cochons d'Inde résistants à *Dermacentor andersoni* est significativement plus élevé, comparé à celui d'animaux sensibles (Wikel 1982).

→ Le taux en histamine est proportionnel à l'intensité de l'accumulation en basophiles qui a lieu au site d'attache des tiques sur des animaux résistants (Wikel, 1996).

→ Le taux d'histamine sanguin chez les troupeaux résistants infestés par *Boophilus microplus* est plus élevé (Wikel, 1984). De plus, on note que plus la concentration en histamine est élevée au niveau de la peau de *Bos taurus*, plus l'animal présente une grande résistance (Schleger *et al.*, 1981.)

→ Le taux d'histamine au niveau cutané est directement corrélé au niveau de résistance exprimée (Wikel, 1984). Des souris BALB/c développent une résistance aux repas des tiques durant la troisième et la quatrième infestation (Den Hollander *et al.*, 1985). Les souris mâles permettent le gorgement de plus de larves pendant les infestations primaires par rapport aux souris femelles. Une possible explication de cette différence est que les surfaces de peau dorsale et ventrale des souris femelles ont un taux supérieur en histamine que les souris mâles (Lebel *Et al.*, 1980).

Figure 3: Mécanismes d'action de l'histamine



→ Et enfin, administrer des antagonistes aux récepteurs de l'histamine de type 1 ou de type 2 individuellement, n'altère pas l'expression de la résistance aux tiques. Cependant, si on administre les deux en même temps, on bloque significativement l'expression de la résistance (Wikel, 1982).

L'action exercée par l'histamine au point d'attache de la tique est la suivante :

→ Des adultes de *Dermacentor andersoni* se nourrissant à travers une membrane artificielle, montrent une diminution du gorgement et de la salivation lorsque l'on ajoute de la sérotonine et de l'histamine au milieu (Wikel *et al.*, 1986; Pain *et al.*, 1983).

→ Les larves de *Boophilus microplus* se nourrissant *in vitro* sur une membrane artificielle, se détachent lorsque l'histamine est ajoutée au milieu de culture (Preston *et al.*, 1999). Cela a également été observé *in vivo* (Kemp *et al.*, 1980; Schleger *et al.*, 1981). Ces expériences montrent donc que l'histamine inhibe la salivation et le gorgement de la tique (Wikel 1999).

→ Une autre réaction est importante dans le rejet des tiques : le grattage ("grooming"). Cette réponse apparaît chez l'hôte rapidement après l'attache de la tique sur l'hôte et peut durer de 4 à 5 heures après le début de l'infestation. Le grattage est induit par la concentration en histamine au niveau de la lésion : c'est un médiateur chimique de la douleur cutanée (Schleger *et al.*, 1981).

→ Le phénomène du grattage ne doit pas être négligé : en effet, c'est un facteur important de limitation de l'infestation par *Boophilus microplus* : des animaux de type *Bos taurus* résistants à *Boophilus microplus* rejettent 9 à 54% des larves par le grattage au bout de 24 heures d'infestation (Wikel *et al.*, 1986).

L'histamine est acheminée au niveau du site d'attache de la tique de la façon suivante :

Lors d'infestation de bovins *Bos taurus* par des larves de *Boophilus microplus*, l'histamine relarguée par les mastocytes est transportée au site d'attache de la tique, par les éosinophiles. On note que la résistance des bovins *Bos taurus* est corrélée à la concentration en éosinophiles au site d'attache de la tique. Les éosinophiles jouent donc un rôle dans le rejet de *Boophilus microplus* en concentrant l'histamine relarguée par les mastocytes au point

d'attache de la tique. Le taux de concentration en histamine est corrélé à la capacité de rejet du parasite ( Schleger *et al.*, 1981). L'histamine ainsi relarguée agit de façon directe en induisant le détachement de la tique, et de façon indirecte, car la concentration de ce médiateur au niveau cutané est corrélé au comportement de grattage de la part de l'hôte (Willadsen, 1997 ; Bennet, 1969).

Des substances vasoactives faciliteraient l'accumulation d'immunoglobines, du complément et des cellules au site d'attache, en augmentant la perméabilité vasculaire et d'autres modifications endothéliales (Wikel, 1996).

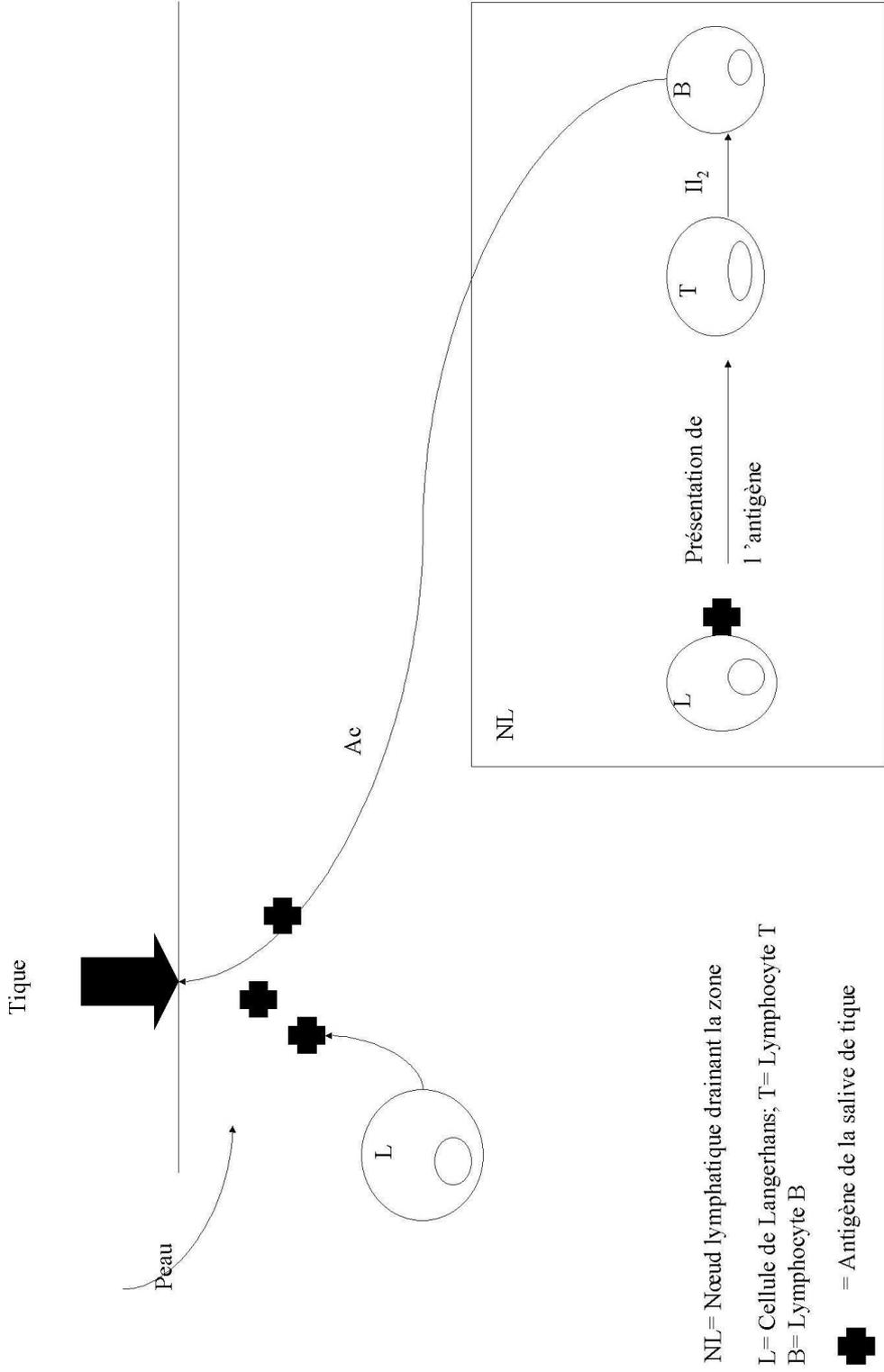
#### D- Les cellules de Langerhans

Ces cellules se distinguent des autres cellules de l'épiderme, mélanocytes et kératinocytes, par leur noyau lobulé, leur cytoplasme clair contenant des granules de Birbeck, leur intense activité ATPasique, et leurs prolongements dendritiques ; elles forment une sorte de filet tangentiel à la surface de la peau, comportant 460 à 1000 cellules par mm<sup>2</sup>. Ces cellules, que l'on trouve en plus petit nombre dans le derme et dans certaines muqueuses, sont d'origine mésenchymateuses. Bien que très peu phagocytaires, elles présentent des caractères communs avec les macrophages, notamment l'expression de molécules d'histocompatibilité de classe II, et la capacité de stimuler des lymphocytes T allogéniques en culture mixte, par présentation antigénique (Bach, Ed. Flammarion, 1993).

Ces cellules ont donc un rôle important dans le développement de l'hypersensibilité de contact. Elles font partie des premières cellules à être au contact des molécules immunogènes de l'épiderme. En effet, les sécrétions des glandes salivaires, les immunoglobulines G et le complément ont été localisés au niveau des cellules de Langerhans dans la peau, au site d'attache de la tique (Allen *et al.*, 1979).

Les cellules de Langerhans captent les antigènes de la salive des tiques à ce niveau, et migrent au niveau du nœud lymphatique drainant la zone, où elles jouent le rôle de cellule présentatrice d'antigène aux lymphocytes. Il y a alors production d'anticorps circulants, qui avec le complément contribuent à la résistance acquise (Fivaz, 1989; Brossard *et al.*, 1997).

Figure 4: Mode d'action des cellules de Langerhans



NL= Nœud lymphatique drainant la zone

L= Cellule de Langerhans; T= Lymphocyte T

B= Lymphocyte B

⬛ = Antigène de la salive de tique

Le taux de cellules de Langerhans diminue dans l'épiderme durant la première infestation et augmente au site d'attache pendant le début de la deuxième infestation, lorsque la résistance est exprimée (Nithiuthai *et al.*, 1984). Des radiations C d'ultraviolet d'ondes courtes détruisent les cellules de Langerhans présentes dans l'épiderme de Cochons d'Inde pendant une durée de 6 jours après le traitement, avec une légère inflammation résiduelle. Ce traitement pratiqué sur des Cochons d'Inde avant une infestation par des tiques, diminue significativement l'acquisition d'une résistance anti-tique (Wikel, 1996). Des études *in vitro* ont confirmé que les cellules de Langerhans ont une fonction présentatrice d'antigènes et ont un rôle dans la résistance acquise vis à vis des tiques (Nithiuthai *et al.*, 1985).

De la même façon, des cellules macrophages-like peuvent présenter des antigènes au nœud lymphatique drainant la zone (Wikel *et al.*, 1994).

### E- Le complément

Le complément est un système biologique complexe (composé environ de 20 protéines sériques) capable d'autostructuration et d'activations en cascade.

Il peut être divisé en 3 unités : deux unités de reconnaissance (la voie classique et la voie alterne) conduisant à des activations en parallèle mais distinctes et une unité effectrice terminale commune (Bach, Ed. Flammarion, 1993).

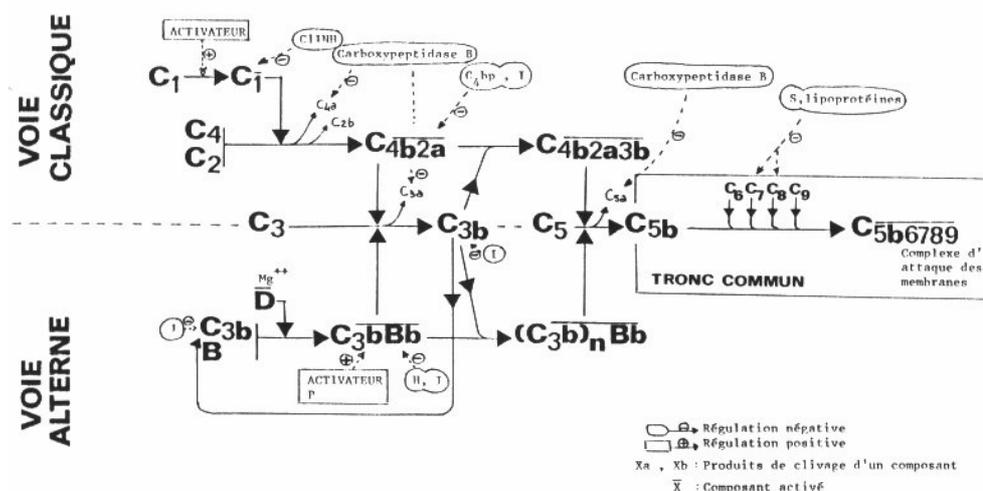
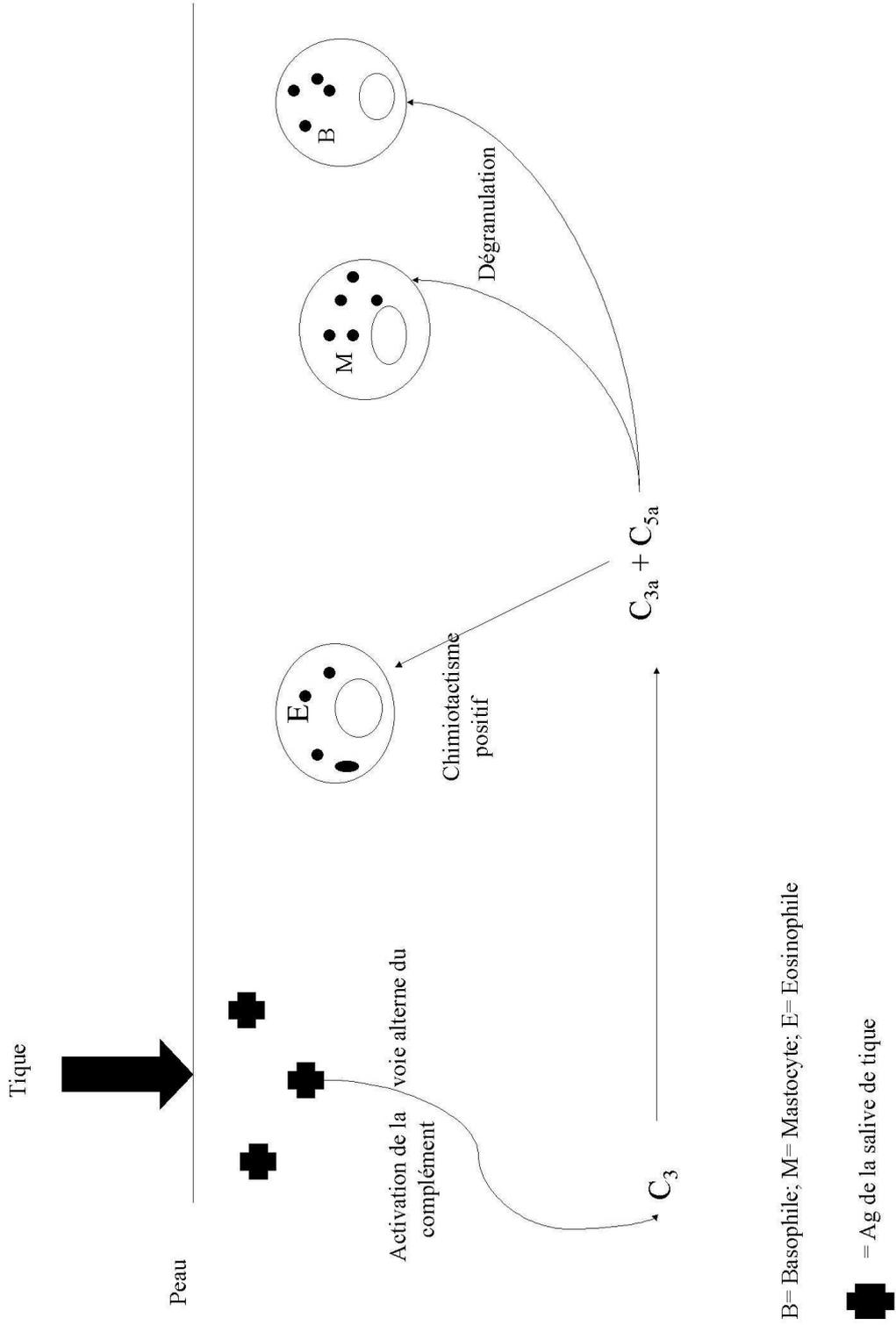


Figure 5, d'après le cours du Pr. Millon, 1997

Figure 6: Mode d'action du complément



La voie alterne du complément participe aux réactions immunitaires qui induisent une résistance vis à vis des tiques :

→ Lorsque l'on utilise du venin de Cobra pour diminuer le taux de complément chez des Cochons d'Inde résistants infestés par *Dermacentor andersoni*, on note une diminution de leur résistance (Wikel *et al.*, 1986). De plus des Cochons d'Inde totalement dénués du composant C<sub>4</sub> du complément, développent et expriment une résistance de manière similaire aux animaux infestés avec des compétences immunitaires intactes.(Wikel, 1979). Cela indique que l'activation de la voie alterne du complément est impliquée dans l'expression de la résistance (Wikel *et al.*, 1986).

→ L'activation de cette voie alterne du complément induit un chimiotactisme positif pour les basophiles. En effet, l'accumulation de basophiles au site d'attache de la tique diminue chez les Cochons d'Inde traités avec du venin de Cobra (Wikel *et al.*, 1986). Les composants du complément induisant ce chimiotactisme ont été identifiés, il s'agit du C<sub>5a</sub> et du C<sub>3a</sub>.(Wikel *et al.*, 1994; Brossard *et al.*, 1997).

→ C<sub>3</sub> et C<sub>5a</sub> induisent la dégranulation des mastocytes et des basophiles, et induisent le ralargage de facteurs chimiotactiques pour les éosinophiles et de substances vasoactives. C<sub>5a</sub> est chimiotactique pour les neutrophiles et les mastocytes (Frank, 1989), ce qui augmente la perméabilité vasculaire et potentialise l'accumulation d'anticorps et de cellules immunitaires au niveau du site d'implantation de la tique (Kubes *et al.*, 1994).

C<sub>5a</sub> et des médiateurs dérivés des lymphocytes sont chimiotactiques pour les basophiles de Cochons d'Inde (Ward *et al.*, 1975).

## F- Lymphocytes et immunoglobulines.

### 1- Quelques rappels (Bach, Ed. Flammarion, 1993)

Les lymphocytes se divisent en 2 catégories, les cellules B et T. Les lymphocytes B sont à l'origine de la sécrétion d'anticorps, tandis que l'immunité à médiation cellulaire est assurée par les lymphocytes T.

Les lymphocytes T se divisent eux-mêmes en 2 catégories : les lymphocytes  $CD_4^+$  (dépendant du système d'histocompatibilité de classe II), et les lymphocytes  $CD_8^+$  (dépendant du système d'histocompatibilité de classe I). Les lymphocytes  $CD_4^+$  après un stade initial  $Th_0$  se polarisent en lymphocytes  $CD_4^+ Th_1$  ou  $Th_2$  selon le type de cytokines sécrétées.

On note une coopération entre les lymphocytes B et T : en effet, dans le cas des Antigènes thymo-dépendant (les plus fréquents), les cellules T reconnaissent certains déterminants sur la molécule d'Antigène et aident les cellules B à produire les Anticorps contre d'autres déterminants. On parle de cellule T auxiliaire ou « helper » (Th).

Deux catégories de Th on été définies :

→ les  $Th_1$  impliqués plus particulièrement dans l'hypersensibilité retardée qui s'accompagne d'une activation macrophagique.

→ les  $Th_2$  préférentiellement responsables de la prolifération et la différenciation des cellules B.

L'existence de ces 2 sous-populations de cellules Th suggère qu'une activation sélective de l'une au l'autre pourrait déterminer la nature humorale ou cellulaire de la réponse immunitaire.

Les cellules Th régulent non seulement la production d'Anticorps, mais agissent également sur la prolifération des cellules T (de façon autocrine ou paracrine), l'activation des macrophages, des polynucléaires, des cellules Natural Killer (NK) et des cellules LAK (Lymphokine Activated Killer), ainsi que sur l'hématopoïèse de façon à augmenter le nombre de cellules réactives, par l'intermédiaire de différents médiateurs ou cytokines.

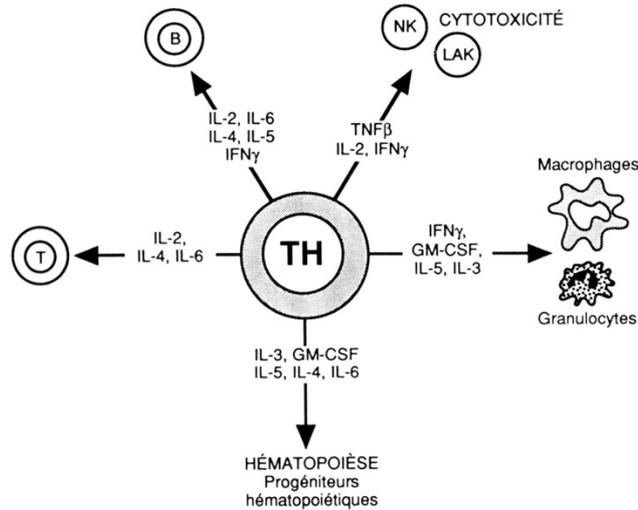


figure 7: rôle central des cellules T auxiliaires au cours de la réponse immunitaire. D'après Bach, Ed. Flammarion, 1993.

Les cellules Th se différencient par les cytokines qu'elles sécrètent :

- les Th<sub>1</sub> sécrètent principalement l'IL<sub>2</sub>, l'IFN $\gamma$  et le TNF $\beta$  (ou lymphotoxine)
- les Th<sub>2</sub> s'écrètent principalement l'IL<sub>4</sub>, l'IL<sub>5</sub>, l'IL<sub>6</sub> et l'IL<sub>10</sub>.

Tableau VIII: propriétés des clones de cellules T auxiliaires, d'après Bach, Ed. Flammarion, 1993.

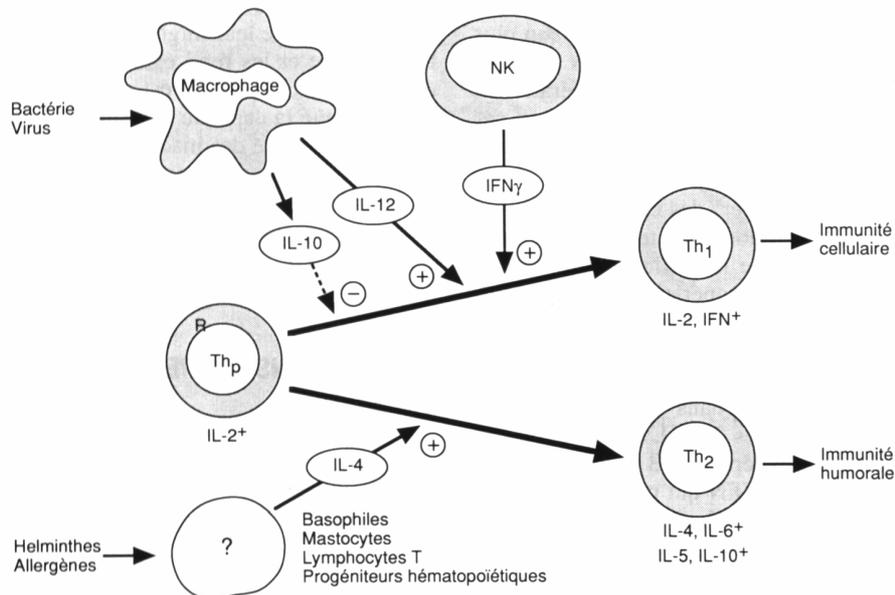
	Th1	Th2
Interféron $\gamma$	++	-
Interleukine 2	++	-
Lymphotoxine (TNF $\beta$ )	++	-
GM-CSF	++	+
TNF $\alpha$	++	+
Interleukine 3	++	++
Interleukine 4	-	++
Interleukine 5	-	++
Interleukine 6	-	++
Interleukine 10	-	++
Effet sur les cellules B		
IgM, IgG 1, IgA	+	++
IgG 2a	++	+
IgE	-	++
Hypersensibilité retardée	++	-
Activation des macrophages	++	$\pm$

Les cytokines produites par ces 2 types de cellules TCD<sub>4</sub><sup>+</sup> confèrent à celles-ci des fonctions bien distinctes : les cellules Th<sub>2</sub> sont impliquées dans la coopération avec les cellules B

aboutissant à une production d'anticorps, en particulier des IgE, alors que les cellules Th<sub>1</sub> induisent plutôt une réaction d'hypersensibilité retardée.

De plus l'orientation Th<sub>1</sub> ou Th<sub>2</sub> est principalement sous la dépendance du contenu en cytokines du microenvironnement où a lieu leur différenciation : Il<sub>4</sub> a un rôle primordial dans la différenciation Th<sub>2</sub>, et l'IFN $\gamma$  dans la différenciation Th<sub>1</sub>. De même Il<sub>12</sub> facilite l'expansion des cellules Th<sub>1</sub>. Il<sub>12</sub> est produite par les macrophages et est connue pour son effet sur la production d'IFN $\gamma$  par les cellules NK.

La source d'Il<sub>4</sub> nécessaire à la différenciation Th<sub>2</sub> est encore mal définie.



Différenciation des cellules T helper. Les cellules Th<sub>p</sub> sous l'influence de l'IL-12 et/ou l'IFN $\gamma$  se différencient en cellules Th<sub>1</sub> alors que la différenciation de ces mêmes cellules vers Th<sub>2</sub> nécessite la présence d'IL-4. Il est à noter que le macrophage semble avoir un rôle ambigu puisqu'en tant que producteur d'IL-12 il favorise le développement des cellules Th<sub>1</sub>, mais peut également l'inhiber par la production d'IL-10. La source exacte d'IL-4 est encore mal connue.

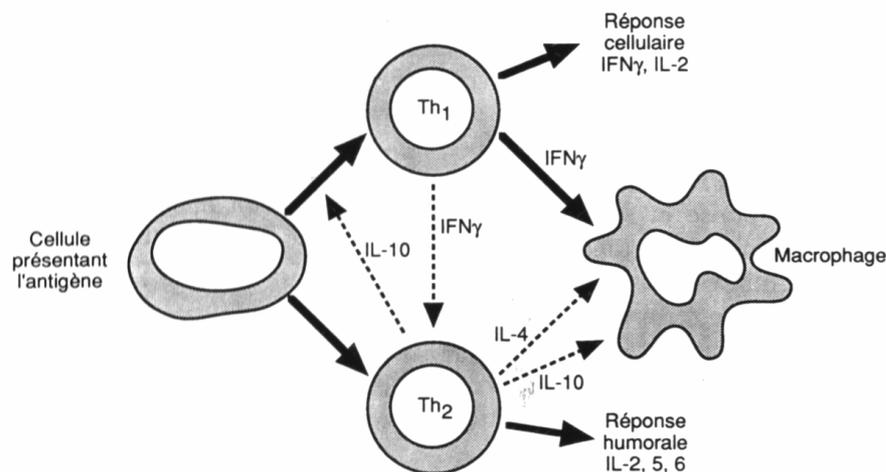
Figure 8, d'après Bach, Ed. Flammarion, 1993.

Dans un grand nombre de réponses immunitaires, il semble exister une sorte de modulation réciproque négative entre la production d'anticorps et l'hypersensibilité retardée : c'est-à-dire que plus l'une des réponses est forte, plus l'autre est faible. Etant donné les caractéristiques attachées aux cellules Th<sub>1</sub> et Th<sub>2</sub>, ce phénomène pourrait être expliqué par la prédominance de l'un ou l'autre de ces types cellulaires qui exercerait une inhibition sur l'autre.

En effet, il est maintenant établi que l'IFN $\gamma$  produit par les cellules Th $_1$  inhibe la prolifération des cellules Th $_2$ . Parallèlement, IL $_{10}$  sécrété par les cellules Th $_2$  inhibe la synthèse des cytokines par les cellules Th $_1$  en réduisant la capacité des monocytes à présenter l'antigène via une diminution de l'expression des antigènes d'histocompatibilité de classe II.

En plus de ces interactions entre cellules Th $_1$  et Th $_2$  aboutissant à une modulation de la production de cytokines, les cellules Th $_2$  semblent pouvoir modifier l'activité cytotoxique des macrophages induite par l'IFN $\gamma$  provenant des cellules Th $_1$ : l'action tumoricide des macrophages peut être abolie ou fortement diminuée par l'IL $_4$  sécrétée par les cellules Th $_2$ . Ceci résulte de l'inhibition de la synthèse de monoxyde d'azote qui est à l'origine de la toxicité des macrophages induite par l'IFN $\gamma$  provenant des cellules Th $_1$ .

En résumé, l'orientation d'une réponse immunitaire cellulaire ou humorale semble dépendre de la nature des cytokines produites par les cellules T impliquées. L'incompatibilité entre ces 2 modalités de la réponse immunitaire résulte d'un effet inhibiteur entre les cellules. Il peut se manifester soit précocement au cours de la réponse immunitaire, à l'exemple d'IL $_{10}$  qui diminue la présentation de l'Ag par les monocytes aux cellules Th $_1$ , ou de l'IFN $\gamma$  qui empêche la prolifération de cellules Th $_2$ , soit tardivement par une modulation des effets biologiques des cytokines induites comme l'inhibition par l'IL $_4$  de la cytotoxicité macrophagique en réponse par l'IFN $\gamma$ .



Interactions entre les cellules TH1 et TH2 ( $\rightarrow$  : stimulation;  $---\rightarrow$  : inhibition).

Figure 9, d'après Bach, Ed. Flammarion, 1993.

## 2- Lors d'infestation par les tiques

La peau et les nœuds lymphatiques de souris BALB/c résistantes, infestées par *Ixodes ricinus* ont été examinés en utilisant *in situ* l'hybridation des ARNm de l'IFN $\gamma$ , d'Il $_2$  et d'Il $_4$ . L'infestation par des nymphes d'*Ixodes ricinus* induit une expression importante des ARNm de l'IFN $\gamma$  et d'Il $_2$ , et une expression plus faible en ARNm d'Il $_4$ . Des infestations répétées induisent un taux plus élevé en IFN $\gamma$  et Il $_2$  dans la peau. Les observations suggèrent la présence d'une **réponse cutanée Th $_1$**  provoquée par les immunogènes de la tique (Mbow *et al.*, 1994).

Wikel *et al.* (1986) ont transféré une résistance aux larves de *Derma-centor andersoni* à des Cochons d'Inde, avec 10<sup>8</sup> cellules viables de nœuds lymphatiques d'animaux résistants. Les cellules ont été transférées aux Cochons d'Inde 48 heures avant l'infestation d'une durée de 5 jours par 100 larves. Lorsque les cellules des nœuds lymphatiques de Cochons d'Inde résistants à *Derma-centor andersoni* ont été enrichies en lymphocytes B et T, et transmis passivement aux Cochons d'Inde receveurs, une résistance plus importante, de façon significative, a été transférée avec les cellules enrichies en lymphocytes T, par rapport à celles enrichies avec des lymphocytes B (Wikel et Whelen, 1986).

Les lymphocytes T sont un élément clé dans la régulation et dans leur rôle effecteur des fonctions du système immunitaire, comprenant la production d'anticorps, l'hypersensibilité retardée et les cellules T cytotoxiques : l'activation par des antigènes spécifiques des lymphocytes T induit la production de cytokines, la différenciation et la réplication de cellules (Brossard *et al.*, 1997).

De plus, les lymphocytes sont à l'origine de la production d'anticorps, qui ont également un rôle dans l'expression de la résistance :

→ Wikel *et al.* ( 1986) ont administré de la cyclophosphamide à des Cochons d'Inde résistants et ont ainsi bloqué l'expression de cette résistance . L'inhibition de la résistance comme conséquence de l'administration de cyclophosphamide a largement été attribuée à l'inhibition de la production en anticorps de l'hôte.

→ La technique Dot ELISA a été utilisée pour décrire la réponse en anticorps des Cochons d'Inde infestés par des adultes ou des nymphes de *Dermacentor andersoni* : un titre significatif en anticorps réagissant avec des antigènes de glandes salivaires a été détecté. Les anticorps jouent un rôle dans la résistance aux Ixodes. Cependant, il est clair que d'autres mécanismes sont actifs dans la réponse protectrice (Wikel *et al.*, 1986).

→ Le taux d'anticorps chez des Lapins a été mesuré par immunofluorescence indirecte : il atteint un pic 18 jours après le début de l'infestation primaire, et reste relativement constant pendant les infestations ultérieures aux jours 21,49 et 84 Le titre en anticorps spécifiques anti-tique reste constant, alors que l'hôte devient progressivement plus résistant au repas d'*Ixodes ricinus*, ce qui suggère que l'expression de la résistance n'est pas seulement due aux anticorps, ce que nous avons déjà constaté précédemment ( Wikel *et al.*, 1986).

Les anticorps jouent donc clairement un rôle dans l'expression de la résistance, mais le(s) site(s) d'action de ces anticorps reste à être mis en évidence (Wikel, .1984)

On sait cependant que les antigènes introduits au cours du repas forment des complexes avec les anticorps homocytotropes fixés aux mastocytes résidents et aux basophiles ayant investi la zone, et induisent le ralarbage de molécules bioactives (Sauer *et al.*, 1995).

## Encadré récapitulatif

Les tiques se fixent sur leur hôte, et via les composants de leur salive, libèrent des antigènes à leur point d'attache :

- Les **cellules de Langerhans** captent ces antigènes, et au niveau du nœud lymphatique, jouent le rôle de cellule présentatrice d'antigène aux lymphocytes, ce qui induit :
  - La production **d'anticorps circulants**
  - La production d' $IL_2$  et d' $IFN\gamma$  par les lymphocytes T, ce qui correspond à une **polarisation  $Th_1$**  de la réponse immunitaire.
- L' $IFN\gamma$  et les complexes antigène/anticorps fixés sur les récepteurs Fc des basophiles induisent une réponse **d'hypersensibilité cutanée basophile**.
- Les antigènes induisent **l'activation de la voie alterne du complément** et la formation des composés  $C_{3a}$  et  $C_{5a}$ . Ces composés induisent la dégranulation des mastocytes et des basophiles, ainsi que le relargage de facteurs chimiotactiques pour les éosinophiles. On a alors libération et concentration de **l'histamine** au site d'attache de la tique.

Nous avons donc constaté que les vertébrés ont développé différents mécanismes pour se protéger des infestations par les tiques :

- 1- Des mécanismes non spécifiques qui comprennent, la capacité phagocytaire et destructrice des éosinophiles, basophiles et mastocytes et les enzymes du complément. Ces mécanismes non spécifiques peuvent être activés par les produits de la réponse immunitaire spécifique, en particulier les anticorps et les cytokines. Ces mécanismes non spécifiques ont l'avantage d'être inductibles rapidement (Marrack *et al.*, 1994).
- 2- Des mécanismes spécifiques, qui comprennent une reconnaissance très spécifique des antigènes de l'envahisseur, et qui conduisent à son inactivation ou à son rejet de l'organisme de l'hôte. D'un côté, ils ont l'avantage d'être extrêmement spécifiques, de l'autre, ils mettent un certain temps à être induits.

## PARTIE 2

### MECANISMES D'ECHAPPEMENT DE LA TIQUE

Dans une première partie, nous avons étudié les différents mécanismes mis en œuvre par l'hôte lors d'infestation par les tiques.

Dans un second temps, nous allons donc étudier les différents mécanismes mis en œuvre par les tiques pour supprimer ou détourner les défenses immunitaires de leur hôte.

En effet, les tiques agissent sur les différents composants du système immunitaire de l'hôte:

- Les cellules présentatrices d'antigène
- Les cytokines, essentielles à l'acquisition et l'expression de la résistance face au repas des tiques.
- Les lymphocytes B et T
- Les anticorps circulants et homocytotropes
- Le complément
- Les granulocytes (Wikel *et al.*, 1997; Wikel, 1996) { 1 ; 17 }

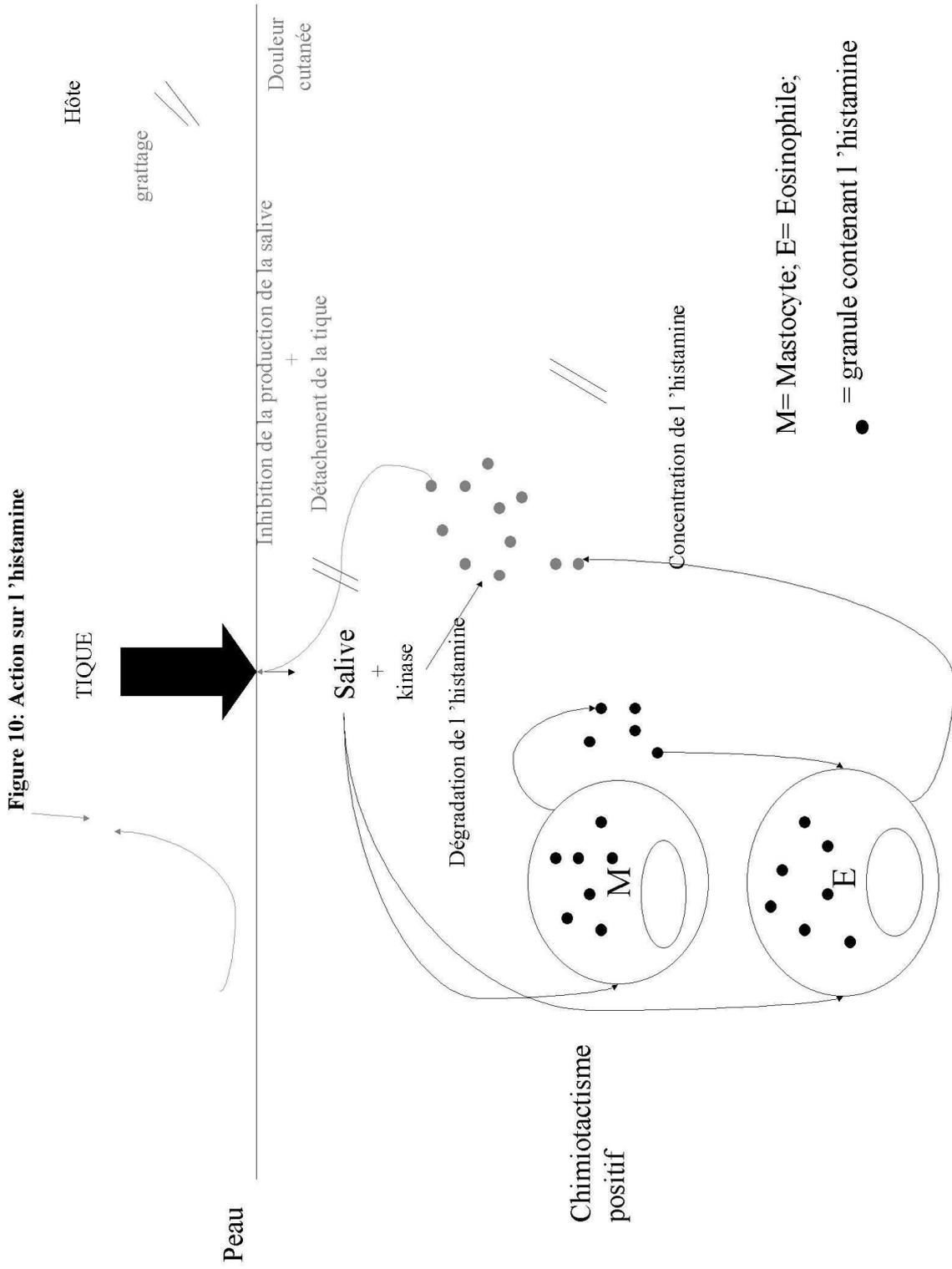
Cette action sur le système immunitaire de l'hôte se fait par l'intermédiaire des composants de la salive de tique. En effet, la salive de tique contient :

- Des anticoagulants, des « anti-plaquettes », des molécules à activité vasodilatatrice, ce qui inhibe l'hémostase de l'hôte et favorise l'afflux de sang au point d'attache.
- Des facteurs qui modulent l'inflammation de l'hôte, l'immunité innée, et la résistance acquise spécifique (Wikel *et al.*, 1997).

#### A- Vis à vis des mastocytes.

Nous avons précédemment constaté que le rôle majeur des mastocytes est la libération d'histamine au site d'attache de la tique. Cette libération d'histamine est à l'origine du comportement de grattage par l'hôte et donc du retrait mécanique de la tique.

Or, les tiques sont capables d'inhiber la réponse de grattage au site de morsure comme le montrent ces différentes observations (Wikel, 1999) :



→ La salive d'*Ixodes scapularis* contient un inhibiteur de l'histamine, médiateur de la douleur et de l'augmentation de la perméabilité vasculaire (Wikel, 1999).

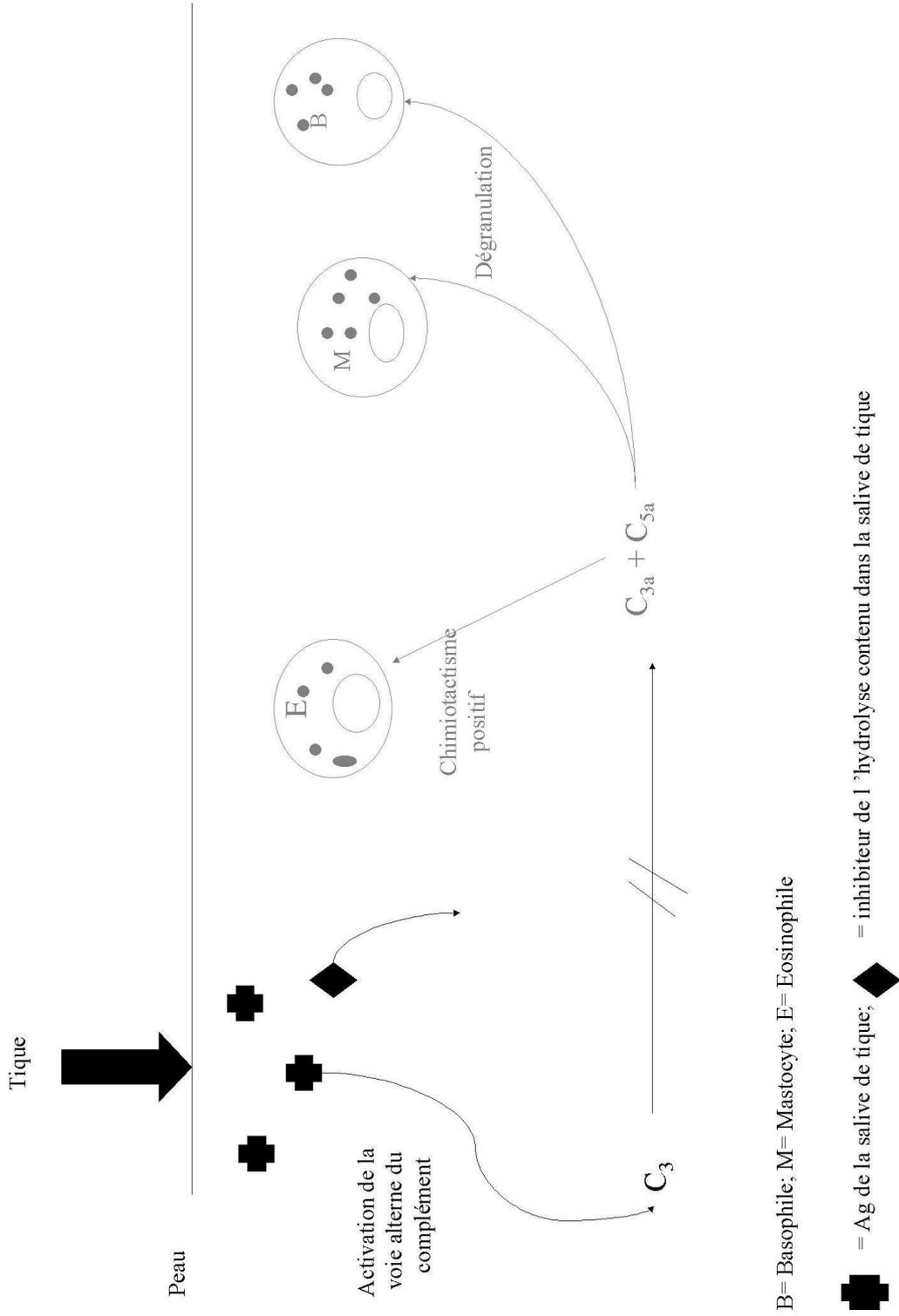
→ La salive d'*Ixodes dammini* contient une kinase capable d'inhiber l'histamine, donc la réponse douloureuse de l'hôte (Wikel *et al.*, 1994). L'activité de la kinase diminue l'irritation cutanée causée par l'histamine, ce qui diminue l'activité de grattage par l'hôte. (De la Fuente *et al.*, 1999).

→ De la même façon l'existence d'une protéine ayant une forte affinité pour l'histamine a été découverte dans la salive de *Rhipicephalus appendiculatus* (Willadsen *et al.*, 1989).

### B- Vis à vis du complément

La salive d'*Ixodes dammini* inhibe la formation des composants c3b et c5b du complément en les empêchant de se fixer sur les sites induisant leur activation, ce qui prévient la formation de l'anaphylatoxine c3a, par un inhibiteur de 49 kDa de l'hydrolyse de c3 (Wikel *et al.*, 1997; Wikel, 1996). Une enzyme (carboxypeptidase-N-like) dans la salive de cette tique est supposée inhiber les anaphylatoxines générées par le complément. La diminution de la fixation de c3b, inhibe l'activation de la voie classique et alterne du complément. Ceci, combiné avec le blocage de l'activation de l'anaphylatoxine, diminue la production d'effecteurs du complément et de facteurs chimiotactiques et le relargage de molécules vasoactives, qui ont un rôle dans l'expression de l'immunité acquise de l'hôte vis à vis de la tique (Wikel *et al.*, 1997; Wikel, 1996).

**Figure 12: Action sur le complément**



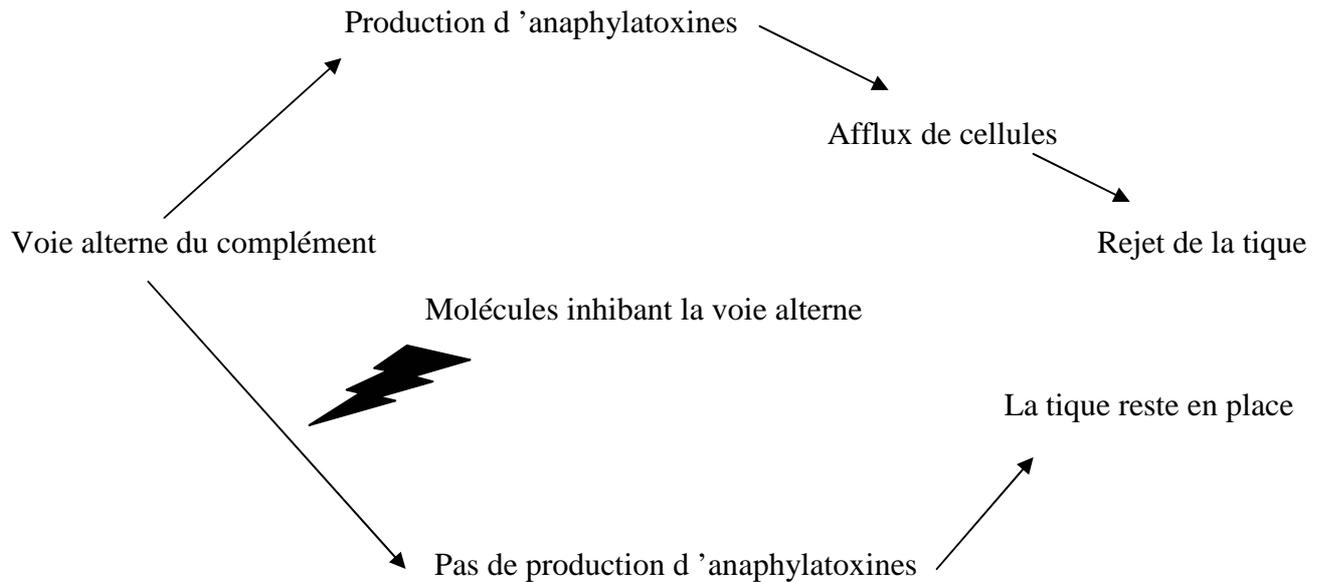


Figure 11 : Action de la salive de tique sur le complément

### C- Vis à vis des lymphocytes: diminution de la lymphoprolifération

Le rôle central des cellules T dans la régulation du système immunitaire font d'elles une cible de l'immunomodulation mis en œuvre par les tiques (Wikel *et al.*, 1997). De nombreuses expériences ont été réalisées pour mettre en évidence ces mécanismes :

→ Les lymphocytes isolés de Cochons d'Inde infestés par des adultes de *Dermacentor andersoni*, ont une réponse significativement plus faible en présence de mitogènes pour cellules T (Concanavalin A). La diminution de la lymphoprolifération est plus importante lors de la première infestation. (Wikel 1982). Il est à noter que dans le cas des lymphocytes B, leur multiplication reste normale. Cela suppose que leur fonctionnement n'est pas altéré (Wikel *et al.*, 1994).

→ Les lymphocytes T de souris BALB/c infestées avec des nymphes d'*Ixodes ricinus* ont leur réponse *in vitro* à la Concanavalin A diminuée, comparé aux mêmes cellules de souris non infestées. L'effet sur la lymphoprolifération en présence de ConcanavalinA

diminue de la première à la quatrième infestation, respectivement de 31,7 ; 22,1 ; 15 et 9,8%. Les infestations répétées induisent donc une réponse de l'hôte qui neutralise partiellement les facteurs immunosuppresseurs de la tique. Les infestations répétées sont sans doute à l'origine de la formation d'anticorps qui neutralisent les facteurs immunosuppresseurs (Brossard *et al.*, 1997; Wikel, 1996).

→ On note une plus grande immunomodulation lors d'infestation massive chez le lapin (Brossard *et al.*, 1997) : une stimulation antigénique massive due à une plus grande quantité de salive combinée avec une quantité plus importante de sang prélevé diminue les capacités du système immunitaire de l'hôte et augmente la capacité de la tique à se nourrir. En effet, on a une baisse de la réactivité des lymphocytes aux agents mitotiques et aux phytohématagglutinines (Brossard *et al.*, 1997).

Il a été proposé que cela serait dû à une baisse de la synthèse d'Il<sub>2</sub> due à des composants de la salive.

En effet : - La PgE<sub>2</sub> de la salive d'*Ixodes dammini* réduit la production d'Il<sub>2</sub> par les cellules T par contact direct (Brossard *et al.*, 1997).

- La PgE<sub>2</sub> inhibe la production de lymphokines par les cellules Th<sub>1</sub>, mais n'a pas d'effet sur la production de cytokines par les cellules Th<sub>2</sub> .

- La diminution de la production d'Il<sub>2</sub> par les cellules de la rate de souris est due à une protéine de 5 kDa de la salive de tique plutôt qu'à la PgE<sub>2</sub> chez *Ixodes scapularis* (Urioste *et al.* 1994). Une autre protéine a été isolée chez *Dermacentor andersoni*, capable d'inhiber la prolifération des lymphocytes T en présence d'agents mitotiques (Brossard *et al.*, 1997).

#### D- Vis à vis des cytokines

De nombreuses expériences ont montré que les tiques suppriment la production de cytokines par les macrophages et les cellules T, ce qui induit une réduction du développement et de l'expression de la résistance à l'infestation (Wikel *et al.*, 1997).

→ Des extraits de glande salivaire préparés à partir de femelles de *Dermacentor andersoni* gorgées, suppriment l'élaboration des cytokines par les macrophages et les cellules Th<sub>1</sub> de souris de BALB/c non infestées (Ramachandra *et al.*, 1992).

→ Des extraits de glande salivaire de *Dermacentor andersoni* inhibent la production par les macrophages d'IL<sub>1</sub> et TNFα de *Bos indicus* et *Bos taurus* non infestés. De même, la production d'IFNγ a été supprimée. En revanche, la production d'IL<sub>4</sub> n'est pas affectée (Wikel *et al.*, 1997).

De même, la sécrétion d'IL<sub>2</sub> par les lymphocytes T est supprimée *in vitro* par la salive d'*Ixodes dammini* (Fivaz, 1989).

Des extraits de glande salivaire préparés quotidiennement à partir de femelles de *Dermacentor andersoni* gorgées inhibent l'élaboration par les macrophages de l'IL<sub>1</sub> et du TNFα. Les mêmes extraits de glande salivaire réduisent la production par les lymphocytes Th<sub>1</sub> d'IL<sub>2</sub> et de l'IFNγ (Ramachandra *et al.*, 1992). La réponse en cytokine par les Th<sub>2</sub> n'est pas diminuée (Ramachandra *et al.*, 1992).

Les extraits de glande salivaire altèrent l'élaboration des cytokines TNFα et IL<sub>1</sub> par les macrophages de différentes manières. La production d'IL<sub>1</sub> par des macrophages normaux est inhibée de 89,8% au jour 0 à 61,6% au jour 5. Le taux d'IL<sub>1</sub> n'est pas altéré de façon significative des jours 6 à 9. Des cultures similaires montrent une inhibition importante de la production de TNFα : diminution de la synthèse de TNFα de 62,5% au jour 0 et de 94,6% au jour 9. Les molécules responsables de l'inhibition de la production de TNFα et d'IL<sub>1</sub> n'ont pas été identifiées. Les différences dans ces exemples du taux d'inhibition de la synthèse de ces 2 cytokines suggèrent la présence de plus d'un facteur de suppression ou que les récepteurs du TNFα et d'IL<sub>1</sub> ont une sensibilité différente à une même molécule de régulation (Wikel *et al.*, 1994).

→ Les concentrations d'IL<sub>4</sub> et d'IFNγ dans les surnageants de cultures de lymphocytes extraits de nœuds lymphatiques axillaire et brachial de souris BALB/c infestées d'une à trois fois par des nymphes d'*Ixodes ricinus*, après une stimulation *in vitro* avec de la Con A, ont été évaluées par la technique ELISA. 9 jours après l'initiation de la première infestation, les lymphocytes collectés à partir du nœud lymphatique drainant la zone d'infestation produisent un taux élevé d'IL<sub>4</sub> et un faible taux d'IFNγ, alors que des cellules similaires issues de nœuds lymphatiques ne drainant pas la zone d'infestation ne produisent aucune de ces cytokines. L'augmentation de la production d'IL<sub>4</sub> par les lymphocytes issus de nœuds lymphatiques drainant la zone d'infestation reste élevée même 9 jours après le début de la troisième infestation, alors que le taux d'IFNγ augmente pendant la troisième exposition.

Les cellules contrôlées ne produisent ni  $IL_4$  ni  $INF\gamma$ . De plus la production d' $IL_{10}$  a augmenté 9 jours après l'initiation de la première et la troisième infestation (Wikel 1996).  $IL_{10}$  est un inhibiteur de la production d' $IL_{12}$  par les macrophages et bloque la synthèse de cytokines par les  $Th_1$  (Wikel *et al.*, 1997).

→ L'infestation par les tiques diminue la synthèse d' $ARN_m$  d'une grande variété de cytokines pro-inflammatoires (  $IFN\alpha$ ,  $IFN\gamma$ ,  $IL_1$ ,  $IL_5$ ,  $IL_6$ ,  $IL_7$  et  $IL_8$  ) (Wikel *et al.*, 1997).

L'infestation de souris par des nymphes d'*Ixodes scapularis* a montré une suppression des cytokines des lymphocytes  $Th_1$  et l'augmentation de la production de cytokines par les lymphocytes  $Th_2$  (Wikel, 1999).

Toutes ces expériences permettent d'arriver aux conclusions suivantes :

→ La suppression de la production de cytokines par les tiques a pour cible les cellules présentatrices d'antigène, les macrophages et les lymphocytes  $Th_1$ , qui ont un rôle important dans l'induction et l'expression de l'immunité de l'hôte face aux tiques (Wikel, 1996).

→ L'analyse des cytokines de l'hôte révèle que les fonctions des macrophages et des cellules  $Th_1$  sont supprimées par les extraits de glande salivaire (Wikel, 1982).

La stimulation de la réponse prédominante  $Th_2$  par les antigènes de la salive de tique est obtenue par la production d' $IL_{10}$ , ce qui a pour conséquence la diminution de la réponse  $Th_1$  (Wikel, 1996).

On a donc une **polarisation  $Th_2$**  de la réponse immunitaire par les extraits de glande salivaire de tiques.

La(es) molécule(s) de la salive de tique responsable de la diminution de la production en cytokines par les lymphocytes  $Th_1$  reste inconnue (Wikel *et al.*, 1994; Wikel, 1996). La modulation par la tique de l'immunité de l'hôte apparaît être mis en œuvre par des protéines dérivées des glandes salivaires et probablement par la  $PgE_2$  : en effet, la  $PgE_2$  inhibe la production des cytokines par les lymphocytes  $Th_1$  et pas par les lymphocytes  $Th_2$ .

→ La suppression de l'activité des lymphocytes  $Th_1$  par les tiques, inhibe la multiplication des lymphocytes T ( $IL_2$ ), la différenciation des lymphocytes B ( $IL_2$ ), l'activation

des macrophages (IFN $\gamma$ ), l'augmentation de l'activité des NK (IFN $\gamma$ ), et la réponse d'hypersensibilité retardée (Wikel, 1996).

La suppression de l'élaboration des cytokines par les macrophages et les Th<sub>1</sub> diminue donc la réaction immunitaire de l'hôte dirigée contre les tiques, ce qui augmente les chances de réussite d'obtention du repas par la tique (Wikel 1996).

De plus, la baisse de compétence immunitaire de l'hôte influence la transmission et l'établissement d'agents pathogènes transmis par les tiques (Wikel, 1996), comme nous le verrons ultérieurement.

#### E- Vis à vis des anticorps : diminution de la production d'anticorps par les plasmocytes

L'action des composants de la salive des tiques sur les lymphocytes a également des conséquences sur la production des anticorps.

En effet, lorsque l'on mesure la capacité de Cochons d'Inde à synthétiser des IgM, selon qu'ils sont infestés par *Dermacentor andersoni* ou non, on obtient les résultats suivants :

La production d'IgM est significativement inférieure chez les animaux exposés aux tiques (diminution de 41%) (Wikel *et al.* 1994). Les Cochons d'Inde infestés par des larves de *Dermacentor andersoni* ont donc une capacité réduite à générer une réponse immunitaire en anticorps vis à vis d'un antigène thymo-dépendant.

La réduction de la formation d'anticorps par l'hôte favorise le repas de la tique (Wikel, 1996).

La suppression de l'immunité de l'hôte apparaît comme une balance entre le repas de la tique et la survie de son hôte dans son environnement, autrement dit, le niveau d'immunocompétence de l'hôte reste compatible avec sa survie (Brossard *et al.*, 1997).

## F- Vis à vis des cellules Natural Killer (NK)

Les extraits de glande salivaire (EGS) dérivés de femelles de *Dermacentor reticulatus* nourries pendant 6 jours sur des souris de laboratoire (EGSD6), induisent une baisse *in vitro* de l'activité des cellules NK humaines, (obtenues à partir de donneurs de sang en bonne santé), sur les cellules tumorales. Une telle diminution n'a pas été observée après traitement des cellules NK des mêmes donneurs par des EGS de tiques non nourries. La diminution de l'activité des cellules NK induite par les EGSD6 varie de 14 à 69% par rapport à l'activité des cellules NK non traitées (Kubes *et al.*, 1994).

La dilution au 10<sup>ième</sup> des EGSD6 diminue la capacité à réduire l'activité des cellules NK, et son effet est négligeable sur l'activité des cellules NK lors de dilution au 100<sup>ième</sup>. La diminution de l'activité des cellules NK est donc concentration dépendante. A la dilution 1/10<sup>ième</sup>, l'effet est faible, à la dilution 1/100<sup>ième</sup>, il est négligeable (Kubes *et al.*, 1994).

De nombreuses substance biologiques, incluant l'IFN $\gamma$  peuvent augmenter l'activité cytolytique des cellules NK : l'activité des cellules NK traitées avec des EGSD6 a été restaurée par l'IFN $\gamma$  à un taux approchant celui des cellules non traitées. La suppression de l'inhibition par l'IFN $\gamma$  indique que l'effet des EGSD6 sur l'activité des cellules NK n'est pas due à un effet cytotoxique (Kubes *et al.*, 1994).

Ces résultats montrent la présence d'un (de) facteurs(s) dans les produits des glandes salivaires de *Dermacentor reticulatus* qui influence l'activité des cellules NK *in vitro*.

Le(s) facteurs(s) d'inhibition est synthétisé dans les glandes salivaires de la tique (probablement pendant le repas), et sécrété dans la peau au site de fixation en tant que composant pharmacologiquement actif de la salive de la tique.

Bien que l'activité des cellules NK soit recouvrée après traitement à l'IFN $\gamma$ , il a été montré que les EGS de *Dermacentor andersoni* réduisent la production de l'IFN $\gamma$ . Ainsi les tiques sont capables de contre balancer l'effet restaurateur de l'IFN $\gamma$  sur l'activité des cellules NK (Kubes *et al.*, 1994).

Cette suppression de l'activité des cellules NK est intrigante, car on n'a pour l'instant mis en évidence aucun rôle des cellules NK dans la résistance aux infestations par les tiques. Cependant, les cellules NK produisent de l'IFN $\gamma$  quand elles sont stimulées par  $Il_2$ . L'IFN $\gamma$

produit par les cellules NK augmente la capacité des macrophages à élaborer de l' $\text{IL}_{12}$ , ce qui induit une polarisation  $\text{Th}_1$  de la réponse immunitaire de l'hôte (Wikel *et al.*, 1997).

La suppression de la réponse pro-inflammatoire apparaît donc comme avantageuse pour la réalisation du repas par la tique (Wikel *et al.*, 1997).

#### **Encadré récapitulatif**

Les composés de la salive de tique induisent :

- La dégradation de l'histamine par une kinase.
- L'inhibition de la formation des composants  $\text{C}_{3b}$  et  $\text{C}_{5b}$ , ce qui prévient la formation de l'anaphylatoxine  $\text{C}_{3a}$ . Cela diminue la formation de molécules chimiotactiques pour les éosinophiles, et cela diminue l'induction de la dégranulation des macrophages et des mastocytes.
- Une diminution de la lymphoprolifération : la  $\text{PgE}_2$  de la salive de tique induit une diminution de la production d' $\text{IL}_2$ .
- La  $\text{PgE}_2$  de la salive de tique inhibe la synthèse des cytokines par les cellules  $\text{Th}_1$ , mais pas par les  $\text{Th}_2$  : on a donc une polarisation  $\text{Th}_2$  de la réponse immunitaire de l'hôte.
- La diminution de la production d'anticorps.
- La diminution de l'activité des cellules NK.

### PARTIE 3

#### APPLICATIONS PARTIQUES

##### A- Facilitation de la transmission d'agents pathogènes

Les tiques sont les ectoparasites les plus importants du bétail dans les pays tropicaux et subtropicaux, et transmettent des maladies graves comme les babésioses (dont les vecteurs appartiennent au genre *Boophilus*), les theilérioses (transmises par *Hyalomma spp.*, *Rhipicephalus spp.* et *Amblyomma spp.*), et la « cowdriose » (transmis par *Amblyomma spp.*). Elles sont également à l'origine de transmission de virus (De Castro *et al.*, 1993). Le mode le plus commun de transmission semble être via les glandes salivaires, avec le plus souvent une réplication de l'agent pathogène dans les glandes salivaires (Bowman et Coons, 1997).

De plus, certaines espèces d'Ixodidés et d'Argasidés, et des sous-populations de certaines espèces, élaborent des toxines dans leurs sécrétions salivaires qui causent des toxicoses de différentes formes, dont la plus importante est la paralysie à tique (Wikel et Whelen, 1986).

Leur rôle vecteur est favorisé par les très volumineux repas de sang que ces parasites réalisent, ce qui augmente la probabilité qu'un agent pathogène, même présent en très faible concentration dans le sang de l'organisme parasité, soit ingéré. Ainsi, au cours de leur cycle évolutif, les tiques sont au contact de très nombreux virus, germes et parasites (Bourdeau, 1993).

De plus, l'anatomie de la tique favorise leur rôle de réservoir, dans la mesure où le tube digestif très dilaté est au contact des autres organes : cela permet le passage des agents pathogènes dans les différents tissus et leur survie au cours de la mue (Bourdeau, 1993).

Le plus souvent, la tique s'infecte à une stase immature et transmet l'agent pathogène à un nouvel hôte à la stase adulte. On parle de transmission intracyclique ou transtasiale. Cependant, un autre mécanisme, beaucoup plus insidieux et lourd de conséquence, est la possibilité du passage des agents infectieux dans les œufs et donc l'infection des stases de la génération suivante. On parle alors de transmission trans-ovarienne. Elle est particulièrement importante pour les protozoaires du genre *Babesia*. Les agents transmis peuvent donc être présents pendant plusieurs générations de tiques qui constituent un réservoir important (Bourdeau, 1993).

## 1- Rôle de l'immunomodulation induite par les tiques

La facilitation de la transmission des agents pathogènes semble due à la modulation du système immunitaire de l'hôte par la tique. Par exemple, la réponse immunitaire de l'hôte à *Borrelia burgdorferi* transmis par la tique au cours de son repas est très différente de celle résultant d'une inoculation à la seringue. On peut supposer que les facteurs salivaires de la tique, probablement ceux responsables de l'immunomodulation de la réponse de l'hôte, préparent un environnement très différent de celui rencontré par les Spirochètes injectés à l'aide d'une seringue (Wikel et Ramachandra, 1994).

En effet, de nombreuses preuves vont dans ce sens (Wikel, 1999):

→ Ramachandra et Wikel ont rapporté que les extraits de glande salivaire de *Dermacentor andersoni* suppriment la production d'Il<sub>1</sub> et du TNFα par les macrophages, et l'élaboration d'Il<sub>2</sub> et de l'IFNγ par les lymphocytes. Lorsque des souris C3H/HeJ sont traitées avec les cytokines TNFα, INFγ et Il<sub>2</sub> (seules ou combinées) pendant l'infestation par des nymphes d'*Ixodes scapularis* porteuses de *Borrelia burgdorferi*, elles sont résistantes à l'infection (Ziedner, 1996). La transmission passive de TNFα, IFNγ et d'Il<sub>2</sub> apporte une protection de 95% contre les infections à *Borrelia burgdorferi* transmises par les tiques (Ziedner, 1996).

L'administration d'Il<sub>2</sub> seule, d'IFNγ seul ou d'Il<sub>2</sub> et d'IFNγ ensembles, apporte une protection respectivement de 70% , 66,7% et 54,6%. Les cultures de spirochètes dans des milieux supplémentés avec des cytokines n'ont pas leur croissance significativement altérée.

Ainsi, l'administration de cytokines de macrophages et de cellules Th<sub>1</sub> pendant la transmission par la tique de *Borrelia burgdorferi*, inhibe de façon significative la transmission de l'infection à l'hôte (Ziedner, 1996).

→ Le type de réponse immunitaire anti-ectoparasite (Th<sub>1</sub> ou Th<sub>2</sub>) pourrait également potentialiser la transmission de certaines espèces d'agents pathogènes : Il<sub>4</sub> et Il<sub>10</sub> inhibent les mécanismes Th<sub>1</sub> responsables de la destruction des micro-organismes intracellulaires même en présence d'IFNγ. *Babesia* et *Theileria* sont des espèces protozoaires intracellulaires transmis par les tiques. Les cellules CD<sub>4</sub><sup>+</sup> Th<sub>1</sub> sont nécessaires pour induire une immunité protectrice contre *Babesia bovis* et *Babesia bigemina*. Les cytokines des Th<sub>1</sub> activent les

cellules T cytotoxiques nécessaires pour conférer une protection vis-à-vis de *Theileria parva*. Une polarisation Th<sub>2</sub> de la réponse immunitaire de l'hôte au site d'attache de la tique pourrait donc favoriser la transmission et le développement de ces agents pathogènes (Brossard et Wikel, 1997).

Les études de Jones, Hodgson et Nuttal (1990) ont montré que des tiques non infectées par le virus Thogoto réalisant leur repas sur un Cochon d'Inde non virémique, sont infectées par le virus Thogoto lorsqu'elles se nourrissent simultanément avec des tiques infectées. Ce phénomène est la Transmission Activée par la Salive (TAS) (Jones et Nuttal, 1990). Le facteur augmentant l'activité de transmission a disparu après traitement des extraits de glande salivaire avec une pronase ou une protéinase-K. Ces résultats indiquent que le facteur est probablement protéique (Jones *et al.*, 1990).

Il a été montré qu'un facteur est synthétisé par les glandes salivaires de tique en cours de repas, puis est sécrété dans la salive et potentialise la transmission par la tique de certains virus, incluant le virus de l'encéphalite à tique, le virus le plus important transmis par les arthropodes en Europe (Nuttal et Jones, 1994). La TAS a été montrée avec le virus de l'encéphalite à tique et les extraits de glande salivaire de femelles adultes de *Dermacentor reticulatus* nourries depuis 6 jours, mais n'a pas été mis en évidence avec des extraits de glande salivaire de tiques non nourries. Le(s) facteur(s) de la TAS induit des changements dans la peau au site de fixation de la tique en train de réaliser son repas qui sont exploités par le virus. La TAS favorise donc la contamination de l'hôte lorsque la tique est infectée par un agent pathogène, mais également le passage d'un agent pathogène entre tiques se nourrissant sur un même hôte.

Le mécanisme de la TAS est encore inconnu, mais de nombreux éléments suggèrent que des cellules immunologiques entrent en jeu (Kubes *et al.*, 1994). Il apparaît donc clairement que la modulation du système immunitaire de l'hôte semble être le point central de la transmission (Jones *et al.*, 1990).

Un des modes d'action avancé pour le facteur TAS est son action sur les cellules NK. En effet, parmi les différentes fonctions attribuées aux cellules NK, la plus établie est son activité antivirale. Les cellules NK restreignent la dissémination virale et limitent la taille de l'inoculum viral pendant les premières phases de l'infection. Or, il a été montré que les extraits de glande salivaire de *Dermacentor reticulatus* diminuent l'activité des NK. Donc, si

le mode d'action du facteur TAS est de supprimer l'activité des cellules NK, directement ou indirectement, cela expliquerait la remarquable capacité de certaines espèces de tiques à transmettre des virus (Kubes *et al.*, 1994).

## 2- Limitation de la transmission des agents pathogènes

L'exposition d'hôtes à la morsure de tiques non infectées par un agent pathogène stimule la protection contre les futures transmissions d'agents pathogènes pendant les repas de tiques de même espèce : 4 infestations répétées de souris BALB/c avec *Ixodes scapularis* exempts d'agents pathogènes induit une résistance vis-à-vis des infections à *Borrelia burgdorferi* transmis par les tiques pendant la 5<sup>ème</sup> infestation. Seulement 16,7% des souris infestées de façon répétée ont été infectées par *Borrelia burgdorferi*, contre 100% chez les souris témoins (Wikel, 1997).

De plus, les cochons d'Inde résistants aux infestations par les larves et les nymphes d'*Ixodes scapularis* sont protégés contre les infections par *Borrelia burgdorferi* lors d'infestation par des nymphes d'*Ixodes scapularis* infectées (Wikel, 1999).

Les lapins exprimant une résistance acquise vis à vis des infestations par *Dermacentor andersoni* sont moins sensibles aux infections par *Francisella tularensis* transmises par les tiques que les lapins sensibles (Wikel, 1999).

Les bases de cette résistance aux infestations restent inconnues. Il est possible que les infestations répétées induisent une réponse immunitaire de l'hôte qui neutralise les facteurs dérivés des tiques essentiels à l'établissement de l'infection (Wikel et Bergman, 1997).

Il a été montré que les anticorps anti-protéine OspA de *Borrelia burgdorferi* inactivent *Borrelia* à l'intérieur de la tique et bloquent sa transmission aux mammifères (Kurtenbach, 1997).

Il est donc possible d'imaginer le développement de vaccins bloquant la transmission d'agents pathogènes contre différents parasites, comme *Babesia*, après ingestion d'anticorps dirigés contre des phases du parasite à l'intérieur de la tique vectrice (Willadsen et Jongejan, 1989).

De plus, les effets possibles de l'immunité contre les antigènes « cachés » et les conséquences de la destruction des cellules intestinales de la tique sur leur capacité de vecteur sont inconnus. On sait que des composants non identifiés de la membrane des cellules intestinales de la tique, induisent la différenciation des *Babesia*. La destruction des cellules du tube digestif de la tique altérerait donc la barrière physique de la transmission et les facteurs de différenciation (Willadsen et Jongejan, 1989). On peut donc supposer (et nous le verrons un peu plus loin) que des vaccins anti-tique peuvent induire une réduction de la transmission d'agents pathogènes.

Cependant, il est à noter que des études ont montré que des virus transmis par les tiques peuvent être transmis aux hôtes en présence d'une « immunité » vis-à-vis- du virus. La salive de tique peut promouvoir la croissance virale (Willadsen et Jongejan, 1989).

La résistance acquise de l'hôte vis-à-vis du repas de la tique peut protéger l'hôte non seulement contre la tique elle-même, mais également contre les agents infectieux transmis par les tiques (Jones et Nuttal, 1990). En effet, la résistance de l'hôte au repas de la tique aboutit à un environnement défavorable pour le développement d'agents pathogènes au site d'attache de la tique, et/ou des effecteurs immunitaires de l'hôte comme les anticorps pourraient neutraliser les facteurs immunosuppresseurs de la tique qui facilitent la transmission d'agents pathogènes (Wikel, 1996). On peut donc imaginer que la sélection d'animaux résistants aux tiques diminuerait également la transmission d'agents pathogènes par les tiques (Wikel, 1996).

Nous avons donc constaté que l'immunomodulation du système immunitaire de l'hôte par la tique a pour conséquence de faciliter la transmission d'agents pathogènes. On peut donc aisément imaginer que des animaux protégés par vaccination contre les tiques, ou que la sélection d'animaux résistants permettront non seulement de réduire les infestations par les tiques, mais également de limiter les maladies transmises par les tiques.

Nous allons maintenant étudier ces 2 nouvelles méthodes de lutte contre les tiques.

## B- La lutte contre les tiques par l'immunisation des hôtes contre des antigènes cachés : nouveaux vaccins

La méthode de lutte la plus courante repose sur l'utilisation d'acaricides. L'utilisation de ces produits chimiques a abouti à la sélection de tiques résistantes aux acaricides. Celles qui ont développé le plus de résistances sont les tiques du genre *Boophilus*, et beaucoup sont multi-résistantes. Dès lors, il est nécessaire de développer continuellement de nouveaux acaricides (Frisch, 1999).

Il y a de plus en plus de preuves qui montrent que la lutte fondée sur les acaricides n'est pas rentable à long terme. Ces conséquences, en plus des problèmes de santé publique liés aux résidus chimiques dans l'alimentation et leurs conséquences sur l'environnement, ont conduit à la recherche de méthodes alternatives (Frisch, 1999).

Le développement de nouveaux vaccins anti-tique représente une des alternatives les plus prometteuses au contrôle des tiques par les acaricides chimiques et présente les avantages suivants : ils ont une cible spécifique, sont dénués de risques pour la santé humaine, leur administration est aisée, leur coût est moindre (Wikel, 1996), et le risque de développement de résistance est moins grand que celui observé avec l'utilisation d'acaricides chimiques (Willadsen, 1997). De plus, il n'y a pas de temps d'attente aussi bien pour la viande que pour le lait, on peut donc les utiliser chez les vaches laitières (Frisch, 1999).

Le terme « nouveau » est appliqué à chaque vaccin qui agit par un mécanisme immunologique ou contre une cible immunologique qui n'est pas une conséquence du développement d'une infection naturelle. L'hôte est vacciné avec un antigène caché (c'est-à-dire qui n'est pas exposé au système immunitaire de l'hôte dans les conditions naturelles). Le contact entre les anticorps et d'autres composants du système immunitaire de l'hôte avec l'antigène du parasite n'a lieu qu'après la réalisation de son repas, et aboutit à l'apparition de dommages chez le parasite (Willadsen et Kemp, 1988).

L'efficacité de tels vaccins dépend de la connaissance précise de l'immunité acquise de l'hôte vis-à-vis des tiques (Rechav et Hay, 1992).

Il existe 2 stratégies d'immunisation :

→ Premièrement, copier l'immunité naturelle acquise. Le but est de caractériser et d'isoler ces antigènes auxquels les hôtes sont exposés pendant une infestation normale et qui peuvent être les déclencheurs du développement de l'immunité.

→ La deuxième approche est de diriger la réaction immunitaire de l'hôte vers des antigènes « cachés » qui ne peuvent pas être reconnus par le système immunitaire de l'hôte pendant une infestation naturelle. Cette approche a surtout été développée en Australie et à Cuba.

Avec la première approche, une attention particulière a été apportée à la caractérisation des antigènes des glandes salivaires. Le taux d'immunité obtenu lors de ces expérimentations est au mieux aussi élevé que lors d'une infestation naturelle, mais bien souvent inférieur.

Au contraire, un degré de résistance élevé a été obtenu chez des cochons d'Inde après immunisation avec des extraits d'intestin grêle et du système de reproduction de femelles de *Dermacentor andersoni* (Brossard, 1998).

### 1- Recherche d'antigènes cachés

Le projet de développer un vaccin contre *Boophilus microplus* a débuté en 1981, lorsque l'on a observé que le bétail vacciné avec du matériel, brut ou partiellement purifié, issu du tube digestif de femelles adultes semi-gorgées, pouvait effectivement être protégé contre les infestations ultérieures par les tiques. L'antigène majeur responsable de ce résultat a été appelé Bm86, et a été isolé 4 ans plus tard (Willadsen, 1997).

Bm86 est une protéine liée à la membrane, localisée à la surface des cellules intestinales de *Boophilus microplus*. C'est une glycoprotéine de 86 kDa (Willadsen et Jongejan, 1989). Bien que sa fonction ne soit pas connue exactement, on suppose qu'elle est impliquée dans les phénomènes d'endocytose. Bm86 est présente dans des lignées de *Boophilus microplus* issues de différentes régions du monde, ce qui suggère un certain degré de conservation de cette protéine : l'analyse de la séquence d'acides-amino-codant pour cette région montre une variation inférieure à 4% entre les différentes lignées de *Boophilus microplus* (Fragoso et Hosman, 1998).

Le nombre de tiques gorgées sur le bétail vacciné est réduit, les tiques qui survivent ont un poids de gorgement réduit et les femelles ont une diminution importante de leur capacité de ponte (Willadsen, 1997). De plus, il y a une baisse de la viabilité des œufs pondus par des tiques issues de troupeaux vaccinés, mais cet effet est relativement faible (Willadsen *et al.*, 1995). En fait, il y a une mortalité considérable chez les tiques gorgées les jours suivant le gorgement (Willadsen, 1997).

Sachant qu'il faut environ 40 000 tiques pour obtenir 0,1 mg de protéine antigénique, la production d'un antigène recombinant a été développée (Bourdeau, 1997). Bm86 a été

exprimée chez *Escherichia coli*, ou chez des cellules d'insecte en utilisant un baculovirus comme vecteur, et chez *Pichia pastoris* (Frisch, 1993). Bm86 peut donc être produite en grande quantité, et c'est le seul antigène dans les vaccins commercialisés comme TickGARD<sup>ND</sup> (Hoechst Animal Health, Australie 1994), et GAVAC<sup>ND</sup> (Heber Biotec S.A., Havane, Cuba, 1993) (De la Fuente *et al.*, 1998).

Ces vaccins se sont montrés efficaces lors d'essais sur le terrain en Australie, à Cuba et au Brésil. La vaccination du bétail avec la protéine Bm86 recombinante conduit à la réduction du nombre de femelles de tiques gorgées, de leur poids et de leur fécondité. Pris ensemble, ces effets conduisent à une réduction de plus de 90% du nombre de larves par génération chez les tiques les plus sensibles (Willadsen et Jongejan, 1989).

Avec le vaccin recombinant, l'effet le plus marqué est son action sur la fécondité. De façon pratique, cela signifie que le contrôle des populations de tiques est plus visible après au moins une génération (Willadsen et Jongejan, 1989).

Le développement d'autres vaccins va dépendre de la caractérisation de nouvelles cibles antigéniques (Willadsen, 1997).

En effet, d'autres antigènes cachés permettant de développer l'immunité chez l'hôte ont été mis en évidence :

→ Un autre antigène du tube digestif de *Boophilus microplus*, Bm91, a été identifié et purifié pour être utilisé comme un vaccin anti-tique (Riding *et al.*, 1994).

→ Kemp *et al.* (1986 ;1989) ont montré qu'il y avait des dommages sévères de l'intestin des femelles et des mâles adultes de *Boophilus microplus* se nourrissant sur du bétail vacciné avec des antigènes dérivés de *Boophilus microplus*, alors qu'il n'y avait aucun effet sur les larves de la même espèce se nourrissant sur les mêmes animaux (Mulenga, 1999).

→ Un anticorps polyclonal (anti-HEX) a été développé contre une N-acetylhexosaminidase (HEX), isolée à partir d'extraits larvaires de *Boophilus microplus*. L'hexosaminidase purifiée a été fortement inhibée par la fraction IgG de cet anticorps. L'anticorps inhibe l'activité hexosaminidase de l'hémolymphe et des membranes larvaires. Les anticorps réagissent avec différents antigènes de l'hémolymphe de la tique, mais ne reconnaissent aucun antigène de la salive.

Les anti-HEX ont été inoculés à des femelles de *Boophilus microplus* complètement gorgées, ce qui diminue leur taux de ponte de 26%. Ces résultats montrent les potentialités de l'utilisation de cette enzyme de tique comme antigène dans le développement de vaccins (Del Pino et Brandelli, 1998).

→ Un c-ADN des glandes salivaires de tiques *Haemaphysalis longicornis*, codant pour une protéine de la matrice extracellulaire de 29 kDa, a été caractérisé et séquencé. Cette protéine est exprimée chez les *Haemaphysalis longicornis* matures ou immatures, nourries ou non. L'immunisation avec le recombinant p29 confère aux lapins une immunité protectrice significative, qui se manifeste par une diminution du poids de gorgement des tiques adultes et une mortalité qui augmente de 40 à 56% chez les larves et nymphes nourries sur les lapins immunisés. Cette protéine serait associée à la formation du ciment par la tique, un composé chimique qui permet à la tique de rester attachée à son hôte et de prévenir le contact entre les molécules du système immunitaire de l'hôte avec les pièces buccales de la tique. Ceci suggère que la p29 est une candidate à l'utilisation comme molécule de vaccin pour le contrôle des tiques *Haemaphysalis longicornis* (Mulenga, 1999).

Cependant la sensibilité des tiques matures et immatures vis-à-vis de la réponse immunitaire des lapins immunisés à l'aide de p29 est différente.

→ Les preuves d'une possible vaccination de différents hôtes en utilisant le tube digestif ou d'autres organes internes de tique, sont accumulées : la vaccination de lapins avec des extraits d'intestins de *Rhipicephalus appendiculatus* non nourries, induit une immunité qui est plus efficace que celle induite par les extraits de glande salivaire. Des observations similaires sur les différences de résistance induite par les extraits de glande salivaire et d'intestin de tiques ont été faites avec *Rhipicephalus sanguineus* et *Hyalomma marginatum* (Willadsen et Jongejan, 1989).

## 2- Mode d'action des nouveaux vaccins

Les vaccins commercialisés reposent sur une réponse immunitaire induite artificiellement par des antigènes cachés du tube digestif ou d'autres organes de la tique monoxène, *Boophilus microplus* (Preston et Jongejan, 1999).

Le mécanisme principal de l'action du vaccin contenant l'antigène intestinal Bm86, est l'action des anticorps anti-Bm86 avec une participation possible du complément et d'autres mécanismes effecteurs. Une corrélation entre le titre en anticorps et l'effet du vaccin sur la fertilité des tiques a été démontrée (De la Fuente *et al.*, 1998). Lors du repas, la tique ingurgite les anticorps anti-Bm86. La liaison de l'anticorps sur la protéine cible sur l'intestin de la tique conduit probablement à la lyse des cellules intestinales de la tique (Willadsen, 1997) et à une fuite importante de matériel de l'intestin vers l'hémolymphe (Willadsen *et al.*, 1995). Les anticorps anti-Bm86 inhibent l'endocytose par les cellules intestinales de la tique (Del Pino et Brandelli, 1998).

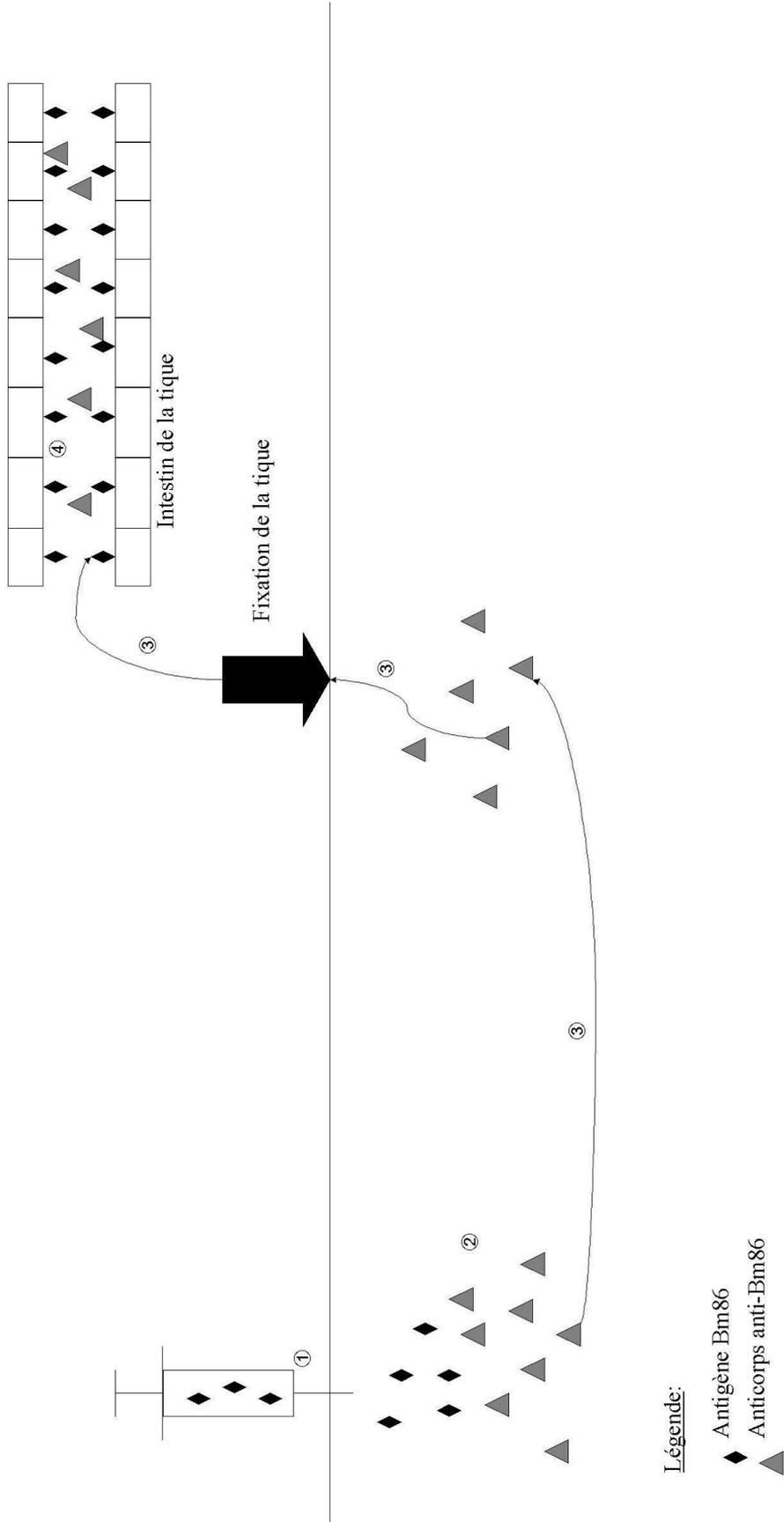
Lors de vaccination de bovins avec le vaccin Gavac<sup>ND</sup>, on constate une corrélation entre le taux en anticorps anti-Bm86 chez l'hôte, et l'action sur la fertilité des tiques. On peut donc supposer que des animaux vaccinés qui ont le même taux en anticorps anti-Bm86, vont développer le même niveau d'immunité vis-à-vis des tiques. Ces résultats permettent donc d'évaluer l'efficacité du vaccin en mesurant le taux en anticorps anti-Bm86 chez les animaux vaccinés (De la Fuente *et al.*, 1999).

On obtient une réduction du nombre de tiques d'environ 70% par immunisation du bétail avec des extraits dérivés de femelles de *Boophilus microplus*. Cette immunisation conduit à la mort des tiques adultes, alors qu'une immunisation suite à plusieurs infestations naturelles affecte au mieux les stades larvaires (Brossard, 1998).

Après immunisation, de sérieux dommages histologiques ont été trouvés dans l'épithélium de l'intestin des tiques. Plus de 90% des tiques présentent des dommages visibles après gorgement sur des animaux vaccinés (Brossard, 1998). Un des effets de la vaccination par Bm86 doit donc être due à l'inhibition de la fonction des cellules digestives (Willadsen, 1997).

La formulation TickGARD plus<sup>ND</sup> contient un autre adjuvant. Le titre en anticorps produit suite à la vaccination dans les troupeaux est 2 à 3 fois supérieur à celle induite par le vaccin TickGard<sup>ND</sup>, et l'effet sur les tiques est augmenté (Willadsen, 1997).

Figure 13: du mode d'action des nouveaux vaccins



① Injection de l'antigène Bm86; ② Production d'anticorps anti-Bm86 par l'hôte; ③ Ingestion de sang contenant les anticorps anti-Bm86 par la tique; ④ Fixation des anticorps sur les antigènes cibles et destruction des cellules intestinales de la tique.

### 3- Efficacité

La vaccination avec la protéine Bm86 est efficace sur différents isolats de tiques (incluant des populations résistantes aux acaricides chimiques), dans différents troupeaux, dans différentes localisations géographiques, quel que soit l'âge et le sexe, chez les femelles pleines ou en lactation, et dans les troupeaux recevant d'autres traitements en même temps que la vaccination (De la Fuente *et al.*, 1998).

L'âge et le stade de reproduction sont 2 facteurs importants dans la primo-vaccination. Les animaux les plus jeunes et non en gestants, répondent mieux à la vaccination avec un titre en anticorps plus élevé. Cela n'a pas été observé chez le bétail revacciné. Ceci suggère que la réponse immunitaire mémoire est moins affectée par le statut physiologique des animaux (De la Fuente *et al.*, 1998).

Dans différents tests d'efficacité et d'innocuité, l'utilisation du vaccin s'est révélée totalement sûre, et efficace dans différentes régions géographiques (Afrique, Amérique, Iran), ainsi que sur des tiques résistantes à différentes classes d'acaricides (Willadsen, 1997 ; De la Fuente *et al.*, 1999).

La sensibilité des tiques est variable pour des raisons encore inconnues. Cependant, un travail sur le terrain effectué sur un isolat de *Boophilus microplus* (Calliope), qui est la population la plus résistante isolée jusqu'à présent au vaccin, montre que l'utilisation du vaccin conduit à la réduction du nombre de tiques sur le bétail d'environ 80% à la fin de la saison des tiques (Willadsen, 1997).

Il y a plusieurs méthodes pour augmenter l'efficacité du vaccin :

- Une production plus importante et plus soutenue en anticorps anti-Bm86
- L'addition d'antigènes supplémentaires pour agir de façon additionnelle et/ou synergique avec Bm86.

La première des méthodes a été réalisée : une seconde version du vaccin TickGARD plus<sup>ND</sup> contenant un adjuvant différent a été développée. Cette amélioration est due à une augmentation de la production d'anticorps vis-à-vis de l'antigène recombinant Bm86 (Willadsen, 1997).

Des efforts considérables ont été développés pour l'identification d'autres antigènes qui pourraient être ajoutés à la protéine Bm86 existante pour augmenter son efficacité (Brossard, 1998). Ainsi Willadsen *et al.* (1996) a montré que l'antigène Bm91 exprimé comme protéine

recombinante par *Escherichia coli* peut augmenter de façon significative l'efficacité du vaccin contenant uniquement la protéine Bm86.

Une analyse des coûts a montré que la vaccination aboutit à une réduction de 60% du nombre de traitements acaricides, en même temps que le contrôle des infestations par les tiques, soit une économie de 23,4\$ US par animal et par an (De la Fuente *et al.*, 1998).

92% de l'économie réalisée lors de vaccinations est due à la réduction du nombre de traitements acaricides. Les modélisations à partir des modèles expérimentaux permettent de prédire une réduction progressive du nombre de traitements acaricides au fur et à mesure des vaccinations, ce qui permet l'hypothèse que les économies par animal et par an vont augmenter avec le temps (De la Fuente *et al.*, 1998).

#### 4- Action croisée

Dans de nombreuses régions du monde, *Boophilus microplus* coexiste avec d'autres espèces de *Boophilus*, en particulier *Boophilus annulatus* et *Boophilus decoloratus*. Il est donc nécessaire d'aboutir à un contrôle simultané des infestations par les différentes espèces de *Boophilus* (Fragoso et Hosman, 1998).

La protéine Bm86 a été retrouvée dans les différentes espèces du genre *Boophilus*. Les résultats d'expérimentation montrent une efficacité importante du vaccin GAVAC<sup>ND</sup> dans le contrôle des infestations par *Boophilus annulatus*. Le vaccin affecte non seulement le nombre de tiques qui réalisent leur cycle complet, mais également les capacités reproductrices des tiques survivantes. Ces résultats permettent de prédire un contrôle efficace des infestations sur les différentes espèces de *Boophilus*, ce qui empêche le remplacement de *Boophilus microplus* par les autres espèces du genre en conditions naturelles.

L'efficacité du vaccin sur *Boophilus annulatus* est supérieure à 99,9%, soit un meilleur résultat que celui obtenu lors de l'expérimentation du même vaccin sur *Boophilus microplus*. Ces résultats peuvent être expliqués par :

→ Une plus grande capacité de nutrition des larves de *Boophilus annulatus*, ce qui induit une ingestion plus rapide en anticorps anti-Bm86 et d'autres composants du système immunitaire de l'hôte.

→ Une quantité moins importante de protéase dans la salive de *Boophilus annulatus*, ce qui évite la dégradation des anticorps anti-Bm86 avant qu'ils n'atteignent leur cible dans l'intestin de la tique.

→ Ou les deux (Fragoso et Hosman, 1998).

Des résultats montrent que le vaccin présente également une efficacité vis-à-vis de *Boophilus decoloratus*, mais de façon moins importante que dans le cas de *Boophilus annulatus* (Willadsen et Jongejan, 1989).

La protéine Bm86 est présente chez d'autres espèces de tiques : *Hyalomma anatolicum anatolicum*, chez qui on retrouve une séquence de 100 acides aminés similaire à 76% à Bm86 de *Boophilus microplus* (Willadsen et Jongejan, 1989).

De même, il y a un gène chez *Rhipicephalus appendiculatus* qui est identique à 85% avec le gène Bm86 de *Boophilus microplus* (Willadsen, 1997).

On a donc une protection croisée, avec le vaccin Bm86 entre *Boophilus microplus* et d'autres espèces de tiques parfois limitée, parfois très bonne (Willadsen, 1997).

Le but à long terme de la vaccination est de diminuer le nombre de tiques de façon pérenne, et à court terme, d'apporter une protection des animaux contre les pathologies transmises par les tiques (De Castro *et al.*, 1993).

##### 5- Effet sur la transmission d'agents pathogènes

La vaccination est efficace dans le contrôle de la population de tiques et dans la transmission d'agents pathogènes par les tiques (De la Fuente *et al.*, 1998).

L'expérience avec le vaccin Gavac<sup>ND</sup> a montré un effet sur la transmission des babésioses dans les troupeaux vaccinés.

L'effet de ce vaccin sur la transmission de *Babesia bovis* est un aspect important, lorsque l'on considère l'impact de cette pathologie transmise par les tiques sur la production, et les difficultés actuelles pour contrôler cette maladie par un vaccin. La diminution du nombre de tiques réduit le taux d'inoculation de *Babesia bovis*, ce qui diminue le nombre de cas cliniques (De la Fuente *et al.*, 1998).

Dès la première injection, on constate une diminution importante de cas cliniques observée et plus particulièrement sur les larves de *Boophilus microplus*, 3 jours après leur attache, période pendant laquelle *Babesia bovis* est habituellement transmis (De la Fuente *et al.*, 1998).

De plus, dans les régions où les tiques sont les vecteurs principaux de l'anaplasmose, la vaccination avec le vaccin Gavac<sup>ND</sup> permet le contrôle de la transmission de ce parasite (De la Fuente *et al.*, 1999).

Ainsi, on note que la production laitière augmente chez les troupeaux vaccinés. Cela reflète probablement le contrôle plus efficace de la population de tiques et la transmission de pathologies (De la Fuente *et al.*, 1998).

#### 6- Limites de la vaccination

Les antigènes cachés induisent une immunité qui inhibe la fécondité de la tique, mais n'empêche pas le repas de la tique, alors que le contraire est vrai pour les protéines de la salive de tique. Quand on vaccine du bétail avec des extraits de glande salivaire ou des extraits intestinaux, on trouve :

→ Dans le premier cas : une réduction supérieure du taux d'attache et du poids de gorgement.

→ Dans la deuxième cas : une réduction supérieure de la fécondité.

Ces découvertes impliquent que les antigènes dérivés des glandes salivaires de tiques peuvent prévenir ou diminuer la transmission d'agents pathogènes. De plus, ces résultats montrent qu'une seule molécule de tique ne confère pas une protection immunitaire complète (Sahibi *et al.*, 1997).

Un vaccin efficace contre les tiques requiert donc un cocktail d'antigènes cibles qui sont à l'origine de fonctions physiologiques indépendantes ou synergiques. Ainsi, l'immunité anti-tique induite par plusieurs antigènes est plus efficace comparée à un vaccin ne comportant qu'un antigène (Riding *et al.*, 1994). La vaccination combinant l'antigène Bm86 et Bm91 est plus efficace qu'une vaccination avec chaque antigène séparément (Willadsen *et al.*, 1996).

L'inconvénient des vaccins fondés sur les nouveaux antigènes est la courte durée de protection conférée. Comme ces antigènes ne sont pas exposés naturellement à l'hôte, il n'y a

pas d'entretien régulier de l'immunité lors d'infestations naturelles par les tiques. Des rappels réguliers (toutes les 10 à 12 semaines) sont donc nécessaires pour maintenir un titre en anticorps effectif (Frisch, 1999).

Il existe des variations entre les animaux dans leur capacité de réponse à la vaccination avec la protéine Bm86. Les faibles « répondeurs » peuvent contribuer au maintien de populations de tiques non négligeables. Cependant, sélectionner des animaux forts « répondeurs » à la vaccination est plus difficile, plus complexe et moins efficace que de sélectionner directement des animaux résistants aux infestations naturelles (Frisch, 1999).

Un bétail en bonne santé répond mieux à la vaccination et développe un titre en anticorps plus élevé. Des facteurs d'élevage comme le stress ou les conditions d'ambiance pourraient donc être impliqués dans la variation de la réponse en anticorps d'un troupeau à l'autre (De la Fuente *et al.*, 1998).

Pour que le vaccin soit utilisé correctement, il est important que son mode d'action soit bien compris : les agents chimiques provoquent une forte mortalité chez les tiques sur une période relativement courte. L'effet de la vaccination sur la mortalité à court terme est très inférieure bien que significative, mais elle induit un effet substantiel sur la capacité reproductrice des tiques. Ainsi, le vaccin est plus efficace lors d'utilisation stratégique (Willadsen, 1997).

Par exemple, dans le Sud-Est du Queensland, l'infestation par les tiques est saisonnière. Un petit nombre de tiques apparaissent au début du printemps et puis, les générations de tiques se succèdent, de plus en plus nombreuses, jusqu'au début de l'hiver. Si la vaccination a lieu juste avant la première génération de tiques, un contrôle effectif des tiques est réalisé. En revanche, lorsque la vaccination a lieu quand les tiques sont déjà nombreuses, l'efficacité est bien inférieure (Willadsen, 1997).

Mais, en pratique, l'utilisation du vaccin dépend des autres contraintes de l'éleveur. Il n'est pas toujours possible de vacciner un troupeau au moment le plus approprié : il est alors recommandé, lorsque l'on veut vacciner un troupeau fortement parasité, de les traiter simultanément avec un acaricide pour garder le nombre de tiques sous contrôle jusqu'à ce que la vaccination soit effective : en effet, il y a toujours un délai entre la vaccination et l'apparition du pic en anticorps (Willadsen, 1997).

Le but de la vaccination est d'obtenir une réduction de 70 à 90% du nombre de tiques d'une génération à l'autre. Or, la réduction du nombre de tiques pleinement gorgées au cours d'une infestation n'est pas supérieure à 20 à 30%. Le vaccin n'a que peu d'effets immédiats sur le nombre de tiques, et sa capacité à maintenir les densités de tiques sous un seuil économiquement acceptable, n'est possible que lorsqu'on utilise la vaccination comme partie intégrante d'un programme à long terme de contrôle des tiques. Quand on utilise des animaux de faible résistance, exposés à une pression parasitaire élevée, la vaccination ne permet pas d'obtenir un contrôle suffisant du nombre de tiques. Le problème est surmonté en associant à la vaccination une utilisation stratégique des acaricides.

La vaccination doit être utilisée combinée à l'utilisation d'acaricides pour permettre l'obtention d'une protection efficace contre les tiques.

Ainsi, une telle stratégie peut permettre de ralentir l'apparition des résistances vis-à-vis des acaricides chimiques, mais pas de les empêcher (Frisch, 1999).

Une approche intégrée de la lutte contre les tiques, utilisant la vaccination et un haut degré de résistance de l'hôte, serait plus rentable dans le contrôle des tiques, qu'une vaccination seule, en particulier dans le système de pâturage extensif (Frisch, 1999). De même, les lésions occasionnées aux tiques par les anticorps anti-Bm86 ont un effet synergique avec les acaricides systémiques : les lactones macrocycliques sont 20 fois plus actives lors d'utilisation combinée à la vaccination (Bourdeau, 1997).

La vaccination à l'aide d'antigènes cachés n'offre donc pas encore de solution idéale, bien qu'elle ait permis de diminuer de façon significative la pression en tiques monoxènes lors des études sur le terrain. Nous allons donc voir si la sélection d'individus résistants est une alternative efficace à la vaccination.

### C- Sélection d'animaux résistants

La résistance de l'hôte aux tiques est la capacité de l'hôte à développer une réponse immunitaire vis-à-vis des composants de la salive de tiques, qui régule les infestations par une

diminution du gorgement, du nombre d'œufs pondus et de leur viabilité (De Castre *et al.*, 1993).

Il est clair que la résistance à *Boophilus microplus* varie non seulement d'un individu à l'autre, mais de façon plus marquée, d'une race à l'autre. On note 2 races majeures, parmi lesquelles se divisent les troupeaux domestiques : *Bos indicus* (Zebu) que l'on trouve dans les régions tropicales, et *Bos taurus* (Européen) dans les régions tempérées (De Castro *et al.*, 1993). Les races pures de *Bos indicus* ou issues de croisements ont une résistance innée à *Boophilus microplus* supérieure aux races *Bos taurus*. Il est possible que la résistance innée reflète une différence génétique chez les bovins (Wikel et Whelen, 1986).

Lors d'introduction de bétail de type *Bos taurus* dans les pays tropicaux, on a constaté des difficultés d'adaptation aux conditions climatiques. Lors de contact avec des tiques du genre *Boophilus* porteuses de babésioses, ce bétail a montré une très grande sensibilité (De Castro *et al.*, 1993).

En Australie, du bétail *Bos indicus* Brahman (viande) et Sahiwal (lait) a été importé, et leur résistance vis-à-vis des tiques et leur adaptation à la chaleur ont été utilisées pour augmenter les performances des taurins *Bos taurus* introduit précédemment (Brossard, 1998).

Chez *Bos taurus*, on peut également augmenter la résistance anti-tique : le moyen le plus simple, est l'incorporation de gènes *Bos indicus*. Chez les races résistantes aux tiques, il faut introduire au moins 50% des gènes de *Bos taurus* pour obtenir une productivité (en lait ou en viande) suffisante (De Castro *et al.*, 1993)..

L'estimation de l'héritabilité de la résistance ( $h^2$ ) à *Boophilus microplus* obtenue dans différentes études, montre que la sélection de la résistance n'est pas plus difficile que la sélection de la production lactée ou du poids corporel. Pour d'autres espèces de tiques, l'héritabilité n'est pas encore connue. Cependant, il y a conflit entre la résistance aux maladies et les caractères de production, et un compromis entre les deux est inévitable (De Castro *et al.*, 1993).

#### 1- Résistance polygénique (Frisch, 1999 : Frisch *et al.*, 2000)

La plupart, pas toutes, de ces résistances découvertes dans les différentes races, sont le résultat d'une sélection naturelle et non délibérée. Il a été reconnu que les races soumises à la pression permanente des tiques ont une résistance moyenne élevée vis-à-vis des tiques. Les

Zébus et quelques races taurines indigènes ont développé une relation relativement stable avec les tiques, et excepté dans des circonstances exceptionnelles, ne sont pas beaucoup affectés par l'exposition continue à celles-ci. De plus, ces troupeaux ne sont pas traités contre les tiques, ce qui permet de maintenir la sélection naturelle. Ainsi, par exemple, les races Brahman et Nelore, ont une grande résistance à *Boophilus microplus* et à *Boophilus decoloratus*, et les zébus d'Inde ont une résistance élevée à toutes les espèces de *Boophilus*. Toutes les races des régions tempérées, à l'exception des populations de Jersey, ont une faible résistance aux différentes espèces de *Boophilus*, d'*Amblyomma*, de *Hyalomma* et d'autres tiques africaines pluri-écologiques. Cependant, les races de milieu tempéré ont des potentiels de productions supérieurs que les races des pays tropicaux.

Développer les résistances de l'hôte à un niveau suffisamment élevé, rend inutile l'utilisation d'autres méthodes pour lutter contre les tiques : la race Nelore a une résistance tellement élevée à *Boophilus microplus*, que la majorité des troupeaux au Brésil sont rarement, voire jamais, traités avec des acaricides.

En Inde, on utilise les acaricides uniquement sur les races européennes ou les races issues de croisements entre Zebu et Européen. La même situation existe en Afrique où d'autres espèces que *Boophilus microplus* parasitent les bovins.

Cependant, même dans les races à haute résistance vis-à-vis des tiques, la résistance n'est pas totale : dans des conditions climatiques très favorables aux tiques, la croissance et la productivité de toutes les races sont diminuées.

## 2- Croisements entre races résistantes (Frisch, 1999 ; Frischet *al.*, 2000)

Dans les productions de bovins viande, les croisements induisant une faible résistance peuvent être évités en ne croisant que des races tropicales très résistantes entre elles. Cela ne serait avantageux que si la productivité est aussi élevée que celle obtenue lors de croisements entre races tempérées. Il y a de plus en plus de preuves montrant que cela est possible. Les races adaptées aux milieux tropicaux qui ont été testées (Brahman, Boran, Tuli), ont une qualité de viande supérieure aux Zébus d'origines indiennes. Il n'y a donc aucune raison de ne pas utiliser les croisements entre des races résistantes aux tiques adaptées aux milieux

tropicaux, pour augmenter la productivité des bovins dans les régions tropicales infestées par les tiques.

Le réel point de développement est d'identifier les races tropicales, pas uniquement pour la résistance vis-à-vis des tiques et autres stress environnementaux, mais également pour leurs caractères productifs, et leurs possibilités de développer la productivité via des croisements.

### 3- Gène majeur

Une autre alternative a également été récemment découverte : un animal de type *Bos taurus* avec une résistance très élevée a été identifié, et sa progéniture a également la capacité de devenir très résistante aux tiques. Des premiers résultats suggèrent que cette résistance est acquise, et aurait donc une base immunologique. Le mécanisme de résistance n'est pas encore élucidé, mais il semble qu'il soit différent de la réponse allergique décrite plus haut. L'héritabilité est grande, ce qui indique que cette résistance est due soit à un gène majeur unique, soit à un petit nombre de gènes. La résistance acquise est supérieure quand on l'introduit sur un terrain résistant, ce qui suggère de nouveau que le mécanisme de résistance allergique et ce nouveau phénomène sont différents et capables de s'ajouter l'un à l'autre (Willadsen, 1997).

Ces nouvelles méthodes impliquant l'utilisation de gènes majeurs, offrent un nouveau moyen pour augmenter relativement rapidement la résistance des races à viande et laitières . Le but principal est d'explorer différentes voies pour développer la résistance de l'hôte à *Boophilus microplus* à un niveau tel, que les acaricides seraient employés uniquement dans des circonstances exceptionnelles.

Le développement de la résistance de l'hôte a un faible coût, et offre une solution permanente. Développer la résistance de l'hôte est également avantageux dans tous les programmes d'éradication des tiques. La haute résistance de l'hôte est la principale méthode de lutte contre les tiques dans les tropiques (Frisch, 1999).

En présence de tiques, les porteurs du gène majeur acquièrent la résistance aux tiques tôt dans leur vie, et sous pression parasitaire faible. La résistance est stable, héritable et dure toute la vie de l'animal.

Une proportion significative d'animaux homozygotes pour le gène de résistance anti-tique, acquièrent une résistance totale ou quasi-totale vis-à-vis des tiques. Ainsi, il existe un tel gène

chez les Belmont Adaptaur (issus du croisement Hereford × Shorthorns), et il confère dans un environnement favorable, une résistance de 100%. La résistance totale aux tiques est donc possible et apporte une solution permanente aux problèmes posés par les tiques.

Par des croisements entre animaux très résistants, on pourrait simplement produire des animaux qui ont une résistance très élevée ou totale à différentes espèces de tiques (Frisch, 1999).

Le gène anti-tique de l'Adaptaur a des effets très puissants. Pendant plusieurs années à « Belmont », le nombre moyen de tiques portées par des animaux avec 2,1 ou 0 copies de ce gène, était respectivement de 7,36, 128. Ainsi, chaque copie du gène réduit le nombre de tiques de 75% (Frisch, 1999).

La fréquence de ce gène chez l'Adaptaur est d'environ 25%. Sa fréquence peut être augmentée par transfert d'embryons, ou par croisements choisis. Les hybrides de tels croisements développent un taux de résistance vis-à-vis des tiques et des vers similaires au taux de résistance observé dans les troupeaux Brahman, et ont une qualité de carcasse comparable aux *Bos taurus* (Brossard, 1998).

4- Croisements entre races à résistance polygénique et races porteuses de gène majeur (Frisch, 1999 ; Frisch *et al.*, 2000)

Le gène anti-tique contrôle une proportion significative de la variation génétique totale, mais la résistance polygénique est également importante dans la détermination du niveau final de résistance. Cependant, le gène anti-tique a le même effet proportionnel sur le nombre de tiques que la résistance polygénique soit faible (par exemple avec les Herefords=H), modérée (par exemple avec les Belmont Red=AX) ou élevée (par exemple avec les Brahman=B).

Le Belmont Red est issu du croisement de 50% Africander et 50% Hereford×Shorthorn (=Adaptaur=HS).

Des taureaux Adaptaur homozygotes ont été croisés à des Hereford et Belmont Red, et la résistance aux tiques de la descendance a été comparée à celle de Herefords contemporains.

Les résultats d'une seule copie du gène anti-tique sur le nombre de tiques, lors de différentes résistances de fond, sont les suivants :

Genotypes	Nombre de tiques
H (faible résistance polygénique)	186±29
H×HS (résistance polygénique modérée)	32±6
AX×HS (forte résistance polygénique)	7±2

La véritable difficulté est de faire la différence entre les hétérozygotes et les homozygotes : les hétérozygotes avec une résistance polygénique élevée sont aussi résistants, ou plus, que les homozygotes avec une résistance de fond faible. Un marqueur ADN permettrait de résoudre ce problème.

La résistance des AX est modérée, mais supérieure que celle des Herefords. Dans le croisement AX×HS, une seule copie du gène anti-tique aboutit à une résistance très élevée. Il est à noter que bien que les animaux issus du croisement AX×HS sont à 75% HS et à 100% *Bos taurus*, 50% de ces animaux portent moins de 2 tiques par jour, alors que dans les mêmes conditions, les Herefords portent 186 tiques par jour.

La proportion d'animaux résistants est tellement élevée, qu'on pourrait rapidement aboutir à la sélection d'un troupeau avec une très grande résistance.

Les animaux issus du croisement Tuli×Adaptaur, avec une seule copie de ce gène, ont une résistance totale vis-à-vis de *Boophilus microplus*. Même sans le vaccin anti-tique, les tiques et leurs conséquences sur les productions de ces animaux très résistants, seraient sans effets.

Ainsi, les résultats précédents montrent que même sans sélection, il est possible de produire des animaux 100% *Bos taurus* avec un niveau de résistance face aux tiques très élevé, en introduisant le gène anti-tique.

Une approche multigénique pour obtenir une haute résistance est désirable, car elle limite la possibilité des tiques à venir à bout de la résistance mono-génique par mutation.

#### 5- Résistance aux tiques, et productivité (Frisch, 1999 ; Frisch *et al.*, 2000)

La sélection sur la seule résistance aux tiques seules n'améliore pas la productivité. La sélection doit donc porter sur plusieurs caractères : la résistance et la productivité.

Il n'y a pas de corrélation génétique entre la résistance aux tiques et la croissance, lors de mesures en présence de tiques et d'autres stress environnementaux. Il faudra donc prendre en compte les 2 caractères simultanément.

Aucune publication n'a été faite pour estimer la corrélation génétique entre la résistance aux tiques et le potentiel génétique pour chaque caractère de production. Un doute subsistera donc sur la possibilité de sélectionner simultanément la résistance aux tiques et le potentiel de production, tant que ces corrélations génétiques n'auront pas été faites.

Cependant, la production laitière ne diminue pas lors de sélection intense pour la résistance face aux tiques, ce qui suggère que ces deux caractères peuvent être développés simultanément.

Il est donc possible de développer des races avec une grande résistance aux tiques et des forts potentiels de production.

#### 6- Les systèmes bovins laitiers (Frisch, 1999 ; Frisch *et al.*, 2000)

La résistance moyenne des Friesians (F) est très faible et similaire à celle des Herefords.

Il serait intéressant d'utiliser des taureaux laitiers résistants au tique (porteur de gène majeur) dans les croisements. Comme au marqueur ADN n'est encore disponible, on ne sait donc pas isoler (s'il y en a) les taureaux porteur de gène majeur. Il faut donc avoir recours à des taureaux porteurs de gène majeur non laitiers.

L'introduction du gène anti-tique pourrait induire une augmentation similaire de la résistance chez les Friesians que chez les Herefords. Le problème, c'est qu'en croisant des Adaptaur à quelque race laitière que ce soit, on diminue de façon significative la production laitière.

Cependant, dans de nombreux élevages laitiers, les vaches qui ne servent pas au renouvellement du troupeau, sont croisées avec des races à viande. On peut donc avoir recours à la technique conventionnelle d'introgession : ces vaches pourraient être croisées à des taureaux Adaptaur homozygotes pour produire un génération hétérozygote  $F_1F \times HS$ . Certaines Friesians ont une résistance modérée à forte, et l'on peut s'attendre à ce que cette génération hétérozygote soit très résistante, comme dans le cas des  $F_1H \times HS$ . Ces animaux résistants pourraient donc être identifiés, et utilisés à la place des Adaptaur pour produire une

deuxième génération d'hétérozygotes. On pourrait ainsi introduire le gène anti-tique, tout en minimisant les pertes de productions laitières, comme le montre le tableau suivant :

Génération	Génotype (vache×taureau)	Critères de selection	Utilisation des vaches
1	F×HS	Taureaux à forte résistance anti-tique	Bêtes à retirer du troupeau
2	F×(1/2F ;1/2HS)	Taureaux à forte résistance anti-tique	Bêtes à retirer du troupeau
3	F×(3/4F ;1/4HS)	Taureaux à forte résistance anti-tique	Bêtes à retire du troupeaux
4	F×(7/8F ;1/8HS)	Taureaux à forte résistance anti-tique et à fort potentiel laitier	Vaches « élites »
5	F×(15/16F ;1/16HS)	Taureaux à forte résistance anti-tique et à fort potentiel laitier	Vaches « élites »
6 et suivantes	Croisement entre vaches hétérozygotes et taureaux pour obtenir des homozygotes	Forte résistance ant-tique et fort potentiel laitier pour les taureaux et les vaches.	Vaches « élites »

Seulement une copie du gène anti-tique apporte un fond de résistance suffisant pour induire une très forte résistance vis-à-vis de *Boophilus microplus*. Ce niveau de résistance combiné à la vaccination anti-tique, pourrait donc permettre de se passer de l'utilisation routinière des acaricides.

La sélection d'animaux résistants, bien que nécessitant un investissement en temps important, semble offrir une alternative intéressante aux autres méthodes de lutte contre les tiques, quelque soit les races bovines.

Il faut cependant noter que dans les conditions naturelles, les bovins sont infestés par de nombreux autres parasites, et sélectionner des animaux « plurirésistants » semble tout de même fastidieux.

## CONCLUSION

La salive de tique joue un rôle central dans les interactions immunitaires hôte/tique : en effet, ce sont ses composants qui vont induire les réactions immunitaires de l'hôte, par leurs propriétés immunogènes. Ainsi, l'hôte résistant suite à la stimulation antigénique, va développer une réaction immunitaire polarisée Th<sub>1</sub>.

Mais c'est également la salive qui contient les molécules permettant à la tique de déjouer le système immunitaire de l'hôte pour réaliser son repas, et chez les individus sensibles, polariser la réponse immunitaire en Th<sub>2</sub>.

Enfin, se sont les composants de la salive de tique, qui vont permettre le passage d'agents pathogènes de la tique vers l'hôte.

L'étude des interactions immunitaires hôte/tique a permis le développement d'autres méthodes de lutte : les vaccins contenant des antigènes cachés. Bien que n'offrant actuellement qu'une protection partielle vis-à-vis des tiques et des agents pathogènes qu'elles transmettent, ces vaccins offrent une alternative très intéressante aux acaricides.

Cependant, un autre moyen s'offre à la recherche de nouveaux vaccins : la sélection d'animaux résistants, qui à long terme, pourrait apporter une solution permanente à la lutte contre les tiques.

## BIBLIOGRAPHIE

ALLEN J.R. – Tick resistance: basophils in skin reactions of resistant guinea pigs. *International Journal of Parasitology*, Vol 3, pp 195-200, 1973.

ALLEN J.R., KEMP D.H. – Observations on the behaviour of *Dermacentor andersoni* larvae infesting normal and tick resistant guinea pigs. *Parasitology*, Vol 84, pp 195-204, 1982.

ALLEN J.R., KHALIL H.M. – The localization of tick salivary antigens, complement and immunoglobulin in the skin of guinea-pigs infested with *Dermacentor andersoni* larvae. *Immunology*, Vol 38, pp 467-472, 1979.

BACH J.F. – Traité d'immunologie. Edition Flammarion Médecine-Sciences, 1993.

BENNET G.F. – *Boophilus microplus* (Acarina: Ixodidae): experimental infestations on cattle restrained from grooming. *Experimental Parasitology*, Vol 26, pp 323-328, 1969

BOURDEAU P. – Les tiques d'importance vétérinaire et médicale. Première partie: principales caractéristiques morphologiques et biologiques et leurs conséquences. *Le Point Vétérinaire*, Vol 25, pp 13-26, 1993.

BOURDEAU P. – Les tiques d'importance vétérinaire et médicale. Deuxième partie : principales espèces de tiques dures (*Ixodidae* et *Amblyommidae*). *Le Point Vétérinaire* ; Vol 25, pp 27-41, 1993.

BOURDEAU P.- La lutte contre les agents de gales et contre les tiques des ruminants. *Le Point Vétérinaire*, Vol 28, n° Spécial "Parasitologie des ruminants", pp 155-166, 1997.

BOWMAN A.S., COONS L.B. – Tick saliva: recent advances and implications for vector competence. *Medical and Veterinary Entomology*, n°11, pp277-285, 1997.

BROSSARD M. – The use of vaccines and genetically resistant animals in tick control. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* Vol 17, n°1, pp 188-199, 1998.

BROSSARD M., MONNERON J.P. – Progressive sensitization of circulating basophils against *Ixodes ricinus* L. antigens during repeated infestations of rabbits. *Parasite immunology*, Vol 4, pp 355-361, 1982

BROSSARD M., RUTTI B., HAUG T. – Immunological relationships between host and ixodid ticks. *Oxford University Press*, pp 177-200, 1991.

BROSSARD M., WIKEL S.K. – Immunology of interactions between ticks and hosts. *Medical and Veterinary Entomology*, n°11, pp 270-276, 1997.

BROWN S.J. – Immunology of acquired resistance to ticks. *Parasitology Today*, Vol 1,n°6, pp 165-171, 1985.

BROWN S.J., GALLI S.J. – Ablation of immunity to *Amblyomma americanum* by anti-basophils serum: cooperation between basophils and eosinophils in expression of immunity to ectoparasites (ticks) in guinea pigs. *Journal of Immunology*, Vol 129,n°2, pp 790-796, 1982.

De CASTRO J.J., NEWSON R.M. – Host resistance in cattle tick control. *Parasitology Today*, Vol 19, n°1, pp 13-17, 1993.

DVORAK H.F. – Cutaneous basophils hypersensitivity. A light and electron microscopic description. *Journal of Experimental Medicine*, Vol 132, pp 558-582, 1970.

FIVAZ B.H. – Immune suppression induced by the brown ear tick *Rhipicephalus appendiculatus*. *Journal of Parasitology*, Vol 75, pp 946-952, 1989.

FRAGOSO H., HOSHMAN P. – Protection against *Boophilus annulatus* infestations in cattle vaccinated with the *Boophilus microplus* Bm86-containing vaccine Gavac. *Vaccine*, Vol 16, n°20, pp 1990-1992, 1998.

FRANK M.M. – Complement. *Fundamental Immunology*, pp 676-701, 1989.

FRISCH J.E. – Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. *International Journal of Parasitology*, Vol 29, pp 57-71, 1999.

FRISCH J.E., O'NEILL C.J., KELLY M.J. – Using genetics to control cattle parasites – the Rockhampton experience. *International Journal for Parasitology*, Vol 30, pp 253-264, 2000.

De la FUENTE J., RODRIGUEZ M., REDONDO M. – Field studies and cost-effectiveness analysis of vaccination with Gavac<sup>TM</sup> against the cattle tick *Boophilus microplus*. *Vaccine*, Vol 16, n°4, pp 366-373, 1998.

De la FUENTE J., RODRIGUEZ M., REDONDO M, MONTERO C. – Vaccination against ticks (*Boophilus* spp): the experience with the Bm86-based vaccine Gavac<sup>TM</sup>. *Genetic Analysis: Biomolecular Engineering*, Vol 15, pp 143-148, 1999.

Den HOLLANDER N., ALLEN J.R. – *Dermacentor variabilis*: acquired resistance to ticks in BALB/c mice. *Experimental Parasitology*, Vol 59, pp 118-129, 1985.

INOKUMA A., KERLIN R.L., KEMP D.H. – Effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on the bovine immune system. *Veterinary parasitology*, Vol 47, pp 107-118, 1993.

KONES L.D., HODGSON E., NUTTAL P.A.- Characterization of tick salivary gland factor(s) that enhance Thogoto virus transmission. *Archives of virology*, Vol 1, pp 227S-234S, 1990.

JONES L.D., NUTTALL P.A. – The effect of host resistance to tick infestation on the transmission of Thogoto virus by ticks. *Journal of General Virology*, Vol 71, pp 1039-1043, 1990.

KEMP D.H., BAURNE A. – *Boophilus microplus*: the effects of histamine on the attachment of cattle-tick larvae – studies *in vivo* and *in vitro*. *Parasitology*, Vol 80, pp 487-496, 1980.

KUBES M., FUCHSBERGER N. – Salivary gland extracts of partially fed *Dermacentor reticulatus* ticks decrease natural killer cell activity *in vitro*. *Immunology*, Vol 82, pp 113-116, 1994.

KURTENBACH K. – Vaccination of natural reservoir hosts with recombinant lipidated OpsA induces a transmission-blocking immunity against Lyme disease spirochaetes associated with high level of LA-2 equivalent antibodies. *Vaccine*, Vol 15, pp 1670-1674, 1997.

LEBEL B., SCHEINMANN P. – Histamine levels in mouse tissues of different strains: influence of sex. *Agents and Actions*, Vol 10, pp 149-150, 1980.

MARRACK P., KAPPLER J. – Subversion of the immune system by pathogens. *Cells*, Vol 76, pp 323-332, 1994.

MBOW M.L., RUTTI B. – IFN $\gamma$ , IL-2 and IL-4 mRNA expression in the skin and draining lymph nodes of BALB/c mice repeatedly infested with nymphal *Ixodes ricinus* ticks. *Cellular Immunology*, Vol 156, pp 254-261, 1994.

MOSMANN T.R., COFFMAN R.L. – TH1 and TH2 cells: differential patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annual Reviews of Immunology*, Vol 7, pp 145-173, 1989.

MULENGA A. – Molecular characterization of a *Haemaphysalis longicornis* tick salivary gland-associated 29-kilodalton protein and its effect as a vaccine against tick infestation in rabbits. *Infection and Immunity*, Vol 67, pp 1652-1658, 1999.

NITHIUTHAI S., ALLEN J.R. – Significant changes in epidermal Langerhans cells of guinea-pigs infested with ticks (*Dermacentor andersoni*). *Immunology*, Vol 51, pp 133-141, 1984.

NITHIUTHAI S., ALLEN J.R. – Langerhans cells present tick antigens to lymph node cells from tick-sensitized guinea pigs. *Immunology*, Vol 55, pp 157-163, 1985.

NUTTAL P.A., JONES J.D. – Adaptations of arboviruses to ticks. *Journal of Medical Entomology*, Vol 31, n°1, pp 1-9, 1994.

PAIN S.H., KEMP D.H. – *In vitro* feeding of *Dermacentor andersoni*: effects of histamine and other mediators. *Parasitology*, Vol 86, pp 419-428, 1983.

PAPATHEODOROUDO V., BROSSARD M. – C3 levels in the sera of rabbits infested and reinfested with *Ixodes ricinus* L. and midguts of fed ticks. *Experimental and Applied Acarology*, Vol 3, pp 53-59, 1978.

Del PINO F.A.B., BRANDELLI A. – Effect of antibodies against beta-N-acetylhexoaminidase on reproductive efficiency of the bovine tick *Boophilus microplus*. *Veterinary Parasitology*, Vol 79, pp 247-255, 1998.

PRESTON P.M., JONGEJAN F. – Protective immune mechanisms to ticks and tick-borne diseases of ruminants. *Parasitology Today*, Vol 15, n°7, pp 255-258, 1999.

RANGAPPA N.RAMACHANDRA R.N., WIKEL S.K. – Modulation of host immune responses by ticks (Acari: Ixodidae): effect of salivary gland extracts on hosts macrophages and lymphocyte cytokine production.. *Journal Medical of Entomology*, Vol 29, pp 818-826, 1992.

RECHAV Y, HAY L. – The effects of nutritional status of rabbits and sheep on their resistance to the ticks *Rhipicephalus evertsi evertsi* and *Rhipicephalus appendiculatus*. *Experimental and Applied Acarology*, Vol 15, pp 171-179, 1992.

RIDING G.A., JARMEY J., Mc KENNA R.V. – A protective "concealed" antigen from *Boophilus microplus*. Purification, localization and possible function. *Journal of Immunology*, Vol 153, pp 5158-5166, 1994.

SAHIBI H., RHALEN A., BARRIGA O. – Comparative immunizing power of infections, salivary extracts, and intestinal extracts of *Hyalomma marginatum marginatum* in cattle. *Veterinary Parasitology*, Vol 68, pp 359-366, 1997.

SAUER J.R., SWAIN J.L. – Tick salivary gland physiology. *Annual Review of Entomology*, Vol 40, pp 245-267, 1995.

SCHLEGER A.V., LINCOLN D.T., KEMP D.H. – A putative role of eosinophils in tick rejection. *Experientia*, Vol 37, pp 49-50, 1981.

WARD P.A., DVORAK H.F. – Chemotaxis of basophils by lymphocyte-dependent and lymphocyte independent mechanisms. *Journal of Immunology*, Vol 114, pp 1523, 1527, 1975.

WIKEL S.K. – Histamine content of tock attachment and the effects if H1 and H2 histamine antagonist on the expression of resistance. *Annual Tropical Mredical Parasitology*, Vol 76, pp 179-185, 1982.

WIKEL S.K. – Immune responses to arthropods and their products. *Annual Revue of Entomology*, Vol 27, pp 21-48, 1982.

WIKEL S.K. – Immunomodulation of host responses to ectoparasite infestation – an Overview. *Veterinary Parasitology*, Vol 14, pp 321-339, 1984.

WIKEL S.K. – Host immunity to ticks. *Annual Revue of Entomology*, Vol 41, pp 1-22, 1996.

WIKEL S.K. – Tick modulation of host cytokines. *Experimental Parasitology*, Vol 84, pp 304-309, 1996.

WIKEL S.K.- Infestation with pathogen-free nymphs of *Ixodes scapularis* induces host resistance to transmission of *Borrelia burgdorferi* by ticks. *Infectious Immunology*, Vol 65, pp 335-338, 1997.

WIKEL S.K. – Tick modulation of host immunity: an important factor in pathogen transmission. *International Journal for Parasitology*, Vol 29, pp 851-859, 1999.

WIKEL S.K., BERGMAN D. – Tick-host immunology: Significant advances and challenging opportunities. *Parasitology Today*, Vol 13, n°10, pp 383-389, 1997.

WIKEL S.K., RAMACHANDRA R.N., BERGMAN D.K. – Tick-induced modulation of the host immune response. *International Journal of Parasitology*, Vol 24, n°1, pp 59-66, 1994.

WIKEL S.K., WHELEN C. – Ixodid-host immune interaction. Identification and characterization of relevant antigens and tick-induced host immunosuppression. *Veterinary parasitology*, Vol 20, pp 149-174, 1986.

WILLADSEN P. – Novel vaccines for ectoparasites. *Veterinary Parasitology*, n°71, pp209-222,1997.

WILLADSEN P. – Vaccines, genetics and chemicals in tick control: the Australian experience. *Tropical Animal Health Production*, Vol 29, pp 91S-94S, 1997.

WILLADSEN P., BIRD P.E., COBON G.S., HUNGEFORD J. – Commercialisation of a recombinant vaccine against *Boophilus microplus*. *Parasitology*, Vol 110, pp 43S-50S, 1995.

WILLADSEN P., JONGEJAN F. – Immunology of the tick-host interaction and the control of ticks and tick-borne diseases. *Parasitology Today*, Vol 15, n°7, pp 258-262,1999.

WILLADSEN P., KEMP D.H. – Vaccination with "concealed" antigens for tick control. *Parasitology Today*, Vol 4, pp 196-198, 1988.

WILLADSEN P., SMITH D., COBON G. – Comparative vaccination of cattle against *Boophilus microplus* with recombinant Bm86 alone or in combination with recombinant Bm91. *Parasite Immunology*, Vol 18, pp 241-246, 1996.

ZEIDNER N. – Suppression of acute *Ixodes scapularis* induces *Borrelia burgdorferi* infection using TNF $\alpha$ , IL2 and IFN $\gamma$ . *Journal of infectious diseases*, Vol 173, pp 187-195, 1996.