

LES PHENOMENES IMMUNOLOGIQUES IMPLIQUES DANS LA GALE PSOROPTIQUE OVINE (*Psoroptes ovis*)

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2005
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Amélie DESVARS

Née, le 17 novembre 1980 à ANGOULEME (Charente)

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Michel FRANC

JURY

PRESIDENT :

M. Jean-Paul SEQUELA

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :

M. Michel FRANC

M. Guy BODIN

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Toulouse, 2004

NOM : DESVARS

Prénom : Amélie

TITRE : Les phénomènes immunologiques impliqués dans la gale psoroptique ovine (*Psoroptes ovis*) – Synthèse bibliographique.

RESUME : La gale psoroptique est une des plus vieilles maladies des ovins. Cosmopolite, l'agent étiologique est un acarien : *Psoroptes ovis*. Actuellement, le diagnostic repose sur l'observation des signes cliniques et la recherche des parasites au niveau des lésions.

Les réactions immunitaires du mouton ont été très étudiées. Si la chronologie exacte des événements reste obscure, il semble qu'au niveau de la peau, ces réactions évoluent d'une inflammation classique à des phénomènes d'hypersensibilité de type I, III ou IV. Ces processus pourraient être la cause même de la pathogénie du parasite.

Les progrès dans la caractérisation des antigènes parasitaires laissent espérer qu'un test de diagnostic immunologique pourrait voir le jour prochainement.

Enfin, les pertes économiques dues à cette ectoparasitose et les inquiétudes liées à l'utilisation des acaricides chimiques motivent la recherche vaccinale. Différents essais de vaccination ont été menés, mais aucun n'a montré un résultat satisfaisant.

MOTS CLES : Gale psoroptique, *Psoroptes ovis*, immunologie, ovin.

ENGLISH TITLE : Immunological reactions involved in sheep scab (*Psoroptes ovis*) : bibliographical synthesis

ABSTRACT : Psoroptic mange is one of the oldest diseases known in sheep. This parasitosis is caused by the mite *Psoroptes ovis*. Currently the diagnosis is based on the observation of clinical signs and the research of the parasites within the lesions. The immunological reactions have been well described. If their exact chronology is still obscure, at skin level they evolve from a classical inflammatory process to type I, III and IV hypersensitivity reactions. These immunological phenomena could be the cause of the pathogeny of the parasite itself. The characterization of many *Psoroptes*' antigens let researchers hope that an immunological test of diagnosis could be designed before long. Moreover, the considerable economic losses due to sheep scab as well as worries about the use of chemical products motivate research on vaccination. Several assays were conducted, but none has shown any satisfactory results yet.

KEY WORDS : Psoroptic mange, *Psoroptes ovis*, immunology, sheep.

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

Directeur	: M.	P. DESNOYERS
Directeurs honoraires.....	: M.	R. FLORIO
	M.	J. FERNEY
	M.	G. VAN HAVERBEKE
Professeurs honoraires.....	: M.	A. BRIZARD
	M.	L. FALIU
	M.	C. LABIE
	M.	C. PAVAU
	M.	F. LESCURE
	M.	A. RICO
	M.	A. CAZIEUX
	Mme	V. BURGAT
	M.	D. GRIESS
	M.	J. CHANTAL
	M.	J.-F. GUELFY
	M.	M. EECKHOUTTE

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M.	CABANIE Paul, <i>Histologie, Anatomie pathologique</i>
M.	DARRE Roland, <i>Productions animales</i>
M.	DORCHIES Philippe, <i>Parasitologie et Maladies Parasitaires</i>
M.	TOUTAIN Pierre-Louis, <i>Physiologie et Thérapeutique</i>

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

M.	AUTEFAGE André, <i>Pathologie chirurgicale</i>
M.	BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy, <i>Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie</i>
M.	BRAUN Jean-Pierre, <i>Physique et Chimie biologiques et médicales</i>
M.	DELVERDIER Maxence, <i>Histologie, Anatomie pathologique</i>
M.	EUZEBY Jean, <i>Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie</i>
M.	FRANC Michel, <i>Parasitologie et Maladies Parasitaires</i>
M.	MARTINEAU Guy-Pierre, <i>Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour</i>
M.	MILON Alain, <i>Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie</i>
M.	PETIT Claude, <i>Pharmacie et Toxicologie</i>
M.	REGNIER Alain, <i>Physiopathologie oculaire</i>
M.	SAUTET Jean, <i>Anatomie</i>
M.	SHELCHER François, <i>Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour</i>

PROFESSEURS 2^e CLASSE

Mme	BENARD Geneviève, <i>Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale</i>
M.	BERTHELOT Xavier, <i>Pathologie de la Reproduction</i>
M.	CONCORDET Didier, <i>Mathématiques, Statistiques, Modélisation</i>
M.	CORPET Denis, <i>Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires</i>
M.	DUCOS Alain, <i>Zootechne</i>
M.	DUCOS DE LAHITTE Jacques, <i>Parasitologie et Maladies parasitaires</i>
M.	ENJALBERT Francis, <i>Alimentation</i>
M.	GUERRE Philippe, <i>Pharmacie et Toxicologie</i>
Mme	KOLF-CLAUW Martine, <i>Pharmacie -Toxicologie</i>
M.	LEFEBVRE Hervé, <i>Physiologie et Thérapeutique</i>
M.	LIGNEREUX Yves, <i>Anatomie</i>
M.	PICAVET Dominique, <i>Pathologie infectieuse</i>

PROFESSEUR ASSOCIE

M.	HENROTEAUX Marc, <i>Médecine des carnivores</i>
----	---

INGENIEUR DE RECHERCHES

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

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

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

MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

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

MAÎTRE DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

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

MAÎTRE DE CONFERENCES CONTRACTUELS

M. CASSARD Hervé, *Pathologie du bétail*
N. DESMAIZIERES Louis-Marie, *Clinique équine*
M. LEON Olivier, *Elevage et santé en productions avicoles et porcines*

MAÎTRE DE CONFERENCES ASSOCIE

M. REYNOLDS Brice, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des ruminants*
Mlle LACROUX Caroline, *Anatomie pathologique des animaux de rente*
Mme MEYNADIER-TROEGELER Annabelle, *Alimentation*
M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
Mlle PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*

Table des matières

Remerciements

Table des matières

Liste des annexes

Liste des tableaux

Liste des figures

Remerciements

À Monsieur le Professeur Jean-Paul SEGUELA,
Professeur des Universités de la Faculté de Médecine de Toulouse Rangueil
Praticien hospitalier
Parasitologie - Mycologie

Pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.
Remerciements respectueux.

À Monsieur le Professeur Michel FRANC,
Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Parasitologie et maladies parasitaires

Pour nous avoir guidé dans la réalisation de ce travail.
Sincères remerciements.

À Monsieur le Professeur Guy BODIN-ROZAT DE MANDRES-NEGRE,
Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie générale – Microbiologie - Immunologie

Pour nous avoir fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,
Pour les conseils précieux qu'il nous a apportés.
Sincères remerciements.

Remerciements

À mes Parents,

Pour m'avoir donné confiance et avoir cru en moi.

Pour avoir été mes « boussoles » lorsque que trop de fois je me suis égarée.

Merci de votre Amour.

Je vous dédie cette thèse à tous les deux.

À ma Sœur,

Pour sa patience, sa compréhension et son écoute,

Pour nos fous rires...et le reste...

Parce qu'elle est ma petite sœur et que je l'adore, tout simplement !

À mes Grands-parents,
À ma Grand-mère,
Parce que je suis un peu d'eux...

À ma famille.

À Nathalie et Laurent,
Pour la place toute particulière qu'ils occupent dans mon cœur.

Sincères remerciements à Philippe et Martine, Jean et Michèle, Jojo et Ginette,
Grands-parents ou parents par intérim, mais amis à plein temps,
Rien n'aurait été possible sans vous.
Encore merci.

À mes Amis, Agathe, Antoine, Caroline, Céline, Maxime, Gaëtan, Mélanie, Sandra,
Céline, Jenny, Barbara, Kristina, Serge, Van et tous les autres,

Vous qui comptez tant pour moi,
Pour tous ces instants partagés, nos discussions et nos délires,
Pour nos années d'amitié et les prochaines.

Pensées toutes particulières pour :

Amélie,
Mon amie et confidente,
Pour tous ces moments qui auraient été vides sans ce que tu y as mis de toi.

Olivier,
Pour avoir été toujours là pour moi,
Et pour tous nos petits mots échangés sur des bouts de carton...

Galou,
Parce que ce qui se passe « dans ma tête »... est désormais partagé !

Et Matthieu,
Pour toutes ces notes géniales qui dorment en toi.

Table des matières

Introduction	18
Chapitre I : Présentation de la maladie et de l'agent	19
<u>Partie.1</u> : Epidémiologie descriptive	19
I.1.1. Répartition géographique	19
I.1.2. Saisonnalité	20
I.1.3. Modes de transmission	20
I.1.4. Facteurs de sensibilité	21
<u>Partie 2</u> : Importance économique	22
I.2.1. Perte de poids	22
I.2.2. Perte en laine	23
I.2.3. Détérioration des cuirs	23
<u>Partie 3</u> : Présentation de <i>Psoroptes ovis</i>	24
I.3.1. Position taxonomique : actualités et historique	24
I.3.2. Biologie du parasite	29
I.3.2.1. Cycle parasitaire	29
I.3.2.2. Morphologie externe des différents stades	30
I.3.2.3. Alimentation	33
I.3.2.4. Anatomie et physiologie digestives	33
I.3.2.4.1. Anatomie	33
I.3.2.4.2. Activités enzymatiques digestives	36
I.3.2.4.3. Flore intestinale	38
I.3.2.4.4. Excrétion fécale	39
<u>Partie 4</u> : Expression clinique de la gale psoroptique ovine	39
I.4.1. Prurit	39
I.4.2. Lésion élémentaire : la papulo-vésicule	40
I.4.3. Altération de la laine et de la peau	40

I.4.4. Evolution sur l'animal	42
I.4.4.1. Surface corporelle atteinte	42
I.4.4.2. Modifications du comportement	43
I.4.5. Modifications des paramètres sanguins	44
I.4.5.1. Hématologie et biochimie sanguine	44
I.4.5.2. Modifications sérologiques : les anticorps, témoins de la réponse humorale	47
I.4.6. Facteurs influençant la pathogénie de la maladie	48
<u>Partie 5</u> : Diagnostic, traitement et prophylaxie	49
I.5.1. Diagnostic	49
I.5.2. Traitement et contrôle de la maladie	51
I.5.2.1. Méthodes d'application	51
I.5.2.1.1. Bains	51
I.5.2.1.2. Douches	52
I.5.2.1.3. Pulvérisations	52
I.5.2.1.4. Application topique dorsale	52
I.5.2.1.5. Traitements systémiques	53
I.5.2.2. Produits acaricides	53
I.5.2.2.1. Organochlorés	53
I.5.2.2.2. Organophosphorés	54
I.5.2.2.3. Amidines	54
I.5.2.2.4. Pyréthriinoïdes	55
I.5.2.2.5. Avermectines et milbémycines	55
I.5.2.2.6. Autres produits	56
I.5.3. Prophylaxie	57

Chapitre II : Mécanismes de protection de la peau	59
<u>Partie 1</u> : Mécanismes de protection non immunologiques et effecteurs	59
<u>Partie 2</u> : Mécanismes de protection immunologiques et effecteurs	60
II.2.1. Immunité naturelle : rôles et effecteurs	60
II.2.1.1. Protéines de la phase aiguë de l'inflammation chez le mouton	61
II.2.1.2. Complément	62
II.2.1.3. Cytokines du mouton	65
II.2.1.4. Cellules réactionnelles	65
II.2.1.4.1. Macrophages	66
II.2.1.4.2. Mastocytes	68
II.2.1.4.3. Granulocytes	69
II.2.2. Immunité acquise : rôles et effecteurs	71
II.2.2.1. Lymphocytes B	72
II.2.2.2. Lymphocytes T	73
II.2.2.3. Les anticorps, effecteurs de la réponse immunitaire à médiation humorale	77
II.2.3. Mécanismes généraux de la protection immunitaire	80
II.2.3.1. Répartition tissulaire et circulation des leucocytes ovins	80
II.2.3.2. Circulation leucocytaire dans les tissus stimulés	81
II.2.3.3. Phagocytose	84
II.2.3.4. Réponse à médiation cellulaire : la réponse des cellules T cytotoxiques	86
II.2.3.5. Réponse à médiation humorale : la réponse des cellules B et la synthèse d'anticorps	86

Chapitre III : Modalités de la réponse immunitaire contre <i>P. ovis</i>.	90
<u>Partie 1</u> : Molécules à l'origine de la réponse immunitaire : les antigènes parasitaires	91
III.1.1. Antigènes : généralités	91
III.1.2. Antigènes de <i>Psoroptes ovis</i> impliqués dans l'immunopathogénie de la gale psoroptique ovine	91
<u>Partie.2</u> : Réaction immunitaire	97
III.2.1. Manifestations de l'acquisition d'une immunité envers <i>Psoroptes ovis</i> chez le mouton	98
III.2.2. Cellules présentes sur les sites lésionnels	99
III.2.3. Immunité à médiation humorale	102
III.2.3.1. Concentration sérique en anticorps	102
III.2.3.2. Evolution de la réponse humorale	104
III.2.3.3. Effet du traitement sur la réponse humorale et diminution des concentrations en anticorps	107
III.2.4. Réactions d'hypersensibilité (HS) intervenant dans l'immunopathogénie de la gale psoroptique ovine	108
III.2.4.1. HS de type I (immédiate)	108
III.2.4.1.1. Généralités	108
III.2.4.1.2. Réaction d'HS de type I classique et gale psoroptique ovine	110
III.2.4.1.3. Anaphylaxie cutanée passive chez les moutons naïfs	112
III.2.4.2. HS de type III (dépendante des complexes immuns)	114
III.2.4.2.1. Généralités	114
III.2.4.2.2. Réaction d'HS de type III et gale psoroptique ovine	116
III.2.4.3. HS de type IV (retardée)	116
III.2.4.3.1. Généralités	116
III.2.4.3.2. HS de Jones-Mote ou HS cutanée à basophiles	118
III.2.4.3.3. HS de contact	119
III.2.4.3.4. Réponse de type HS retardée dépendante des cellules éosinophiles	120

III.2.5. Conclusion

Partie 3 : Conséquence des phénomènes immunitaires sur la

biologie de *Psoroptes ovis* 123

III.3.1. Réponse immunitaire et alimentation de *P.ovis* 123

**III.3.2. Réaction immunitaire, croissance de la population parasitaire
et fécondité des *Psoroptes*** 124

III.3.3. Réponse immunitaire protectrice ou délétère ? 126

III.3.3.1. Réponse immunitaire délétère pour l'hôte 126

III.3.3.2. Réponse immunitaire protectrice 127

Chapitre IV : Applications pratiques de la connaissance des phénomènes immunologiques impliqués dans la gale psoroptique ovine	130
<u>Partie 1 : Immunité et dépistage de la maladie</u>	130
IV.1.1. Méthodes de diagnostic	130
IV.1.1.1. Test de précipitation des anticorps	131
IV.1.1.2. Test ELISA	132
IV.1.1.2.1 ELISA indirect	132
IV.1.1.2.2. La technique sandwich	133
IV.1.1.2.3. Test ELISA cinétique	135
IV.1.1.2.4. Réactions croisées dans les tests ELISA	136
IV.1.1.3. Technique Westernblot (ou immunoblot)	136
IV.1.1.4. Intradermo-réactions	138
IV.1.2. Précocité du diagnostic	140
IV.1.3. Production des antigènes parasitaires : contraintes et perspectives	140
IV.1.4. Primo-infestation <i>versus</i> infestation secondaire	141
IV.1.5. Choix d'une valeur seuil	141
IV.1.6. Intérêt pour les enquêtes épidémiologiques et le suivi sérologique des troupeaux	142
<u>Partie 2 : Immunité et recherche vaccinale</u>	143
IV.2.1. Intérêts de la recherche vaccinale dans la lutte contre la gale psoroptique ovine	145
IV.2.1.1. Développement inquiétant de résistance chez <i>P.ovis</i>, envers les composés acaricides	145
IV.2.1.2. Effets potentiels des produits acaricides sur l'homme et l'environnement	146
IV.2.1.3. Difficultés à trouver des méthodes de lutte nouvelles	147
IV.2.1.4. Intérêts économiques	147
IV.2.2. Induction d'une immunité par la vaccination	148
IV.2.2.1. Antigènes immuns candidats	148

IV.2.2.2. Résultats d'essais vaccinaux	152
IV.2.2.3. Choix de l'adjuvant	155
<u>Partie 3 : Limites et perspectives de ces techniques</u>	159
IV.3.1. Limites	159
IV.3.1.1. Recherche d'antigènes immunogènes	159
IV.3.1.2. Production d'antigènes vaccinaux	160
IV.3.1.3. Spécificité de la réponse immunitaire envers <i>P.ovis</i>	161
IV.3.1.4. Contraintes liées à l'adjuvant	162
IV.3.1.5. Effets secondaires possibles de la vaccination	162
IV.3.1.6. Critères de choix d'un protocole vaccinal	163
IV.3.2. Perspectives	164
IV.3.2.1. La vaccination contre les ectoparasites du bétail : données actuelles	164
IV.3.2.2. Qualités du vaccin idéal	165
IV.3.2.3. Synthèse des interrogations actuelles	166
Conclusion	168
Bibliographie	169
Annexes	182

Liste des annexes

- Annexe 1 :** Propriétés et fonction des macrophages/monocytes, cellules natural killer (NK) et cellules dendritiques ovins.
- Annexe 2 :** Propriétés des granulocytes et mastocytes ovins.
- Annexe 3 :** Techniques de biologie moléculaire.
- Annexe 4 :** Modes d'action des adjuvants de l'immunité employés dans les essais vaccinaux contre *P.ovis*.
- Annexe 5 :** Caractéristiques des adjuvants employés dans les essais vaccinaux contre *P.ovis* et modes d'action.

Liste des figures

- Figure 1 :** Place de *P.ovis* au sein de la classification.
- Figure 2 :** Caractères morphométriques de diagnose de Boyce et coll., mesurés sur l'adulte mâle *Psoroptes* sp.
- Figure 3 :** Agrandissement de la protubérance opisthosomale gauche décrivant les caractères morphométriques mesurés par Boyce et coll., pour la diagnose chez le mâle adulte *Psoroptes* sp.
- Figure 4:** Cycle biologique de *P.ovis*.
- Figure 5 :** Tube digestif des acariens.
- Figure 6 :** (A) Système digestif de *P.ovis*, vue ventrale. (B) Tractus digestif type des Oribatidés.
- Figure 7 :** Schéma de la membrane péritrophique.
- Figure 8 :** Les trois voies générales de défense de l'organisme animal contre les invasions microbiennes.
- Figure 9 :** Les quatre signes cardinaux de l'inflammation.
- Figure 10 :** Origine des cellules issues de la moelle osseuse.
- Figure 11 :** Les fonctions des macrophages.
- Figure 12 :** Contenu des granules cytoplasmiques des granulocytes neutrophiles et leurs fonctions.
- Figure 13 :** Frottis sanguin de mouton montrant un granulocyte éosinophile et un granulocyte neutrophile $\times 400$.
- Figure 14 :** Structure d'un plasmocyte.
- Figure 15 :** Les cytokines majeures sécrétées par les cellules Th1 et leurs fonctions

principales.

- Figure 16 :** Les cytokines majeures sécrétées par les cellules Th2 et leurs fonctions principales.
- Figure 17 :** Division des cellules T en différentes populations.
- Figure 18 :** La stimulation et la multiplication clonale des lymphocytes.
- Figure 19 :** Quantités relatives de chaque classe d'immunoglobulines produites lors d'une réponse immunitaire primaire et lors d'une réponse secondaire.
- Figure 20 :** La coopération cellulaire dans la réponse immune.
- Figure 21 :** Les étapes essentielles de la réponse immunitaire.
- Figure 22 :** Profil schématique des antigènes identifiés par Westernblot dans l'expérience de Matthes et coll. (70).
- Figure 23 :** L'hypersensibilité de type I
- Figure 24 :** Rôle de l'IL-4 et de l'IL-5 dans l'induction de la réponse allergique.
- Figure 25 :** Les mécanismes d'HS de type III impliqués dans la réaction d'Arthus.
- Figure 26 :** Schéma décrivant la pathogénie de la réaction d'HS retardée.
- Figure 27 :** La phase de sensibilisation et la phase effectrice dans la réaction d'HS de contact.
- Figure 28 :** Les facteurs impliqués dans l'activation des éosinophiles.
- Figure 29 :** Cinétique de la réponse immunitaire cutanée contre *P.ovis*.
- Figure 30 :** Protocole de diagnostic établi par Fisher (1972) pour la gale psoroptique ovine.
- Figure 31 :** Description de la technique SDS-PAGE/Westernblot développée par Jayawardena et coll. pour l'étude antigénique de *P.ovis* (1998).
- Figure 32 :** Place de la vaccination parmi les différentes voies d'acquisition de l'immunité.
- Figure 33 :** La recherche d'anticorps par la technique ELISA indirect.
- Figure 34 :** La recherche d'anticorps par la technique ELISA sandwich.
- Figure 35 :** La technique du Westernblot.
- Figure 36:** Principe d'utilisation de la technique de diffusion sur gel pour déterminer la relation entre deux antigènes.

Liste des tableaux

- Tableau 1 :** Activités enzymatiques décrites chez les acariens du genre *Psoroptes*.
- Tableau 2 :** Les fragments d'immunoglobulines.
- Tableau 3 :** Flore bactérienne présente à la surface cutanée chez un mouton sain et chez un mouton galeux.
- Tableau 4 :** Composés disponibles en France pour le traitement et/ou la prévention de la gale psoroptique du mouton.
- Tableau 5 :** Les mécanismes de protection non immunologiques de la peau chez le mouton.
- Tableau 6 :** Protéines connues de la phase aiguë de l'inflammation chez le mouton.
- Tableau 7 :** Principaux composants du complément, identifiés chez le mouton et leur fonction.
- Tableau 8 :** Comparaison des deux types de mastocytes chez la souris.
- Tableau 9 :** Valeurs typiques de la répartition des cellules T chez un agneau de 3-4 mois.
- Tableau 10 :** Propriétés physiques et fonctionnelles des immunoglobulines ovines.
- Tableau 11 :** Concentrations sériques et tissulaires des différents isotypes d'immunoglobulines chez le mouton.
- Tableau 12 :** Distribution des leucocytes dans le sang et la lymphe chez le mouton.
- Tableau 13 :** Sous-populations lymphocytaires dans le sang et la lymphe chez le mouton.
- Tableau 14 :** Nombre d'animaux chez lesquels on observe une liaison antigène-anticorps IgG au cours de la primo-infestation.
- Tableau 15 :** Nombre d'animaux chez lesquels on observe une liaison antigène-anticorps IgE au cours de la primo-infestation.
- Tableau 16 :** Variation de la réponse antigène-anticorps au cours de la réponse immunitaire primaire et secondaire ; comparaison de l'intensité des réactions antigène-IgG et antigène-IgE.
- Tableau 17 :** Comparaison des protocoles ELISA sandwich mis en œuvre dans le diagnostic de la gale psoroptique chez les bovins et chez les moutons.
- Tableau 18 :** Variations de la sensibilité et de la spécificité du test en fonction de la valeur seuil retenue.
- Tableau 19 :** Synthèse des essais vaccinaux conduits contre *P.ovis*.
- Tableau 20 :** Caractéristiques du vaccin "idéal".

Liste des graphiques

- Graphique 1 :** Incidence de l'infestation par *P.ovis* sur l'hémoglobinémié chez le mouton.
- Graphique 2 :** Incidence de l'infestation par *P.ovis* sur l'albuminémié moyenne chez le mouton.
- Graphique 3 :** Incidence de l'infestation par *P.ovis* sur la fibrinogénémié moyenne chez le mouton.
- Graphique 4 :** Incidence de l'infestation par *P.ovis* sur le nombre moyen de neutrophiles sanguins chez le mouton.
- Graphique 5 :** Incidence de l'infestation par *P.ovis* sur le nombre moyen d'éosinophiles sanguins chez le mouton.
- Graphique 6 :** Développement de l'aire lésionnelle cutanée chez le mouton, après une primo ou une seconde infestation par *P.ovis*.
- Graphique 7 :** Comptage des granulocytes éosinophiles lésionnels.
- Graphique 8 :** Comptage des mastocytes et des basophiles lésionnels.
- Graphique 9 :** Taux d'IgG spécifiques anti-*P.ovis* lors d'infestations primaire et secondaire.
- Graphique 10 :** Taux d'IgM spécifiques anti-*P.ovis* lors d'infestations primaire et secondaire.
- Graphique 11 :** Evolution des titres en IgE sériques.
- Graphique 12 :** Taux d'éosinophiles circulants chez des moutons en primo-infestation et en seconde infestation.
- Graphique 13 :** Comparaison de la fécondité moyenne des femelles *P.ovis* chez des bovins, lors d'infestation expérimentale.

Liste des photographies

- Photographie 1 :** Femelle ovigère *P.ovis*.
- Photographie 2 :** Mâle *P.ovis*.
- Photographie 3 :** Mâle *P.ovis*, tubercules postérieurs.

Introduction

Psoroptes ovis est l'agent de la gale dite "de la toison" des ovins. Cette maladie a une prévalence forte dans de nombreux pays d'élevage ovin. Dans les zones tempérées, la maladie est commune en automne et hiver, lors des périodes humides et froides. *P.ovis* a une préférence pour les zones enlainées et les adultes ponctionnent la peau de l'hôte, provoquant une inflammation et la formation d'un exsudat qui forme une croûte au sein de laquelle vivent les parasites. Les symptômes sont caractéristiques et bien connus des éleveurs : grattage, mordillement, perte de laine...La maladie est très contagieuse et entraîne des pertes économiques considérables (réduction de la consommation alimentaire, chute de poids vif, perte de laine, mort par infections secondaires...)

Le traitement de la gale psoroptique ovine consiste actuellement en l'utilisation d'acaricides. Bien qu'à l'heure actuelle les risques pour les travailleurs agricoles, pour les consommateurs qui mangent la viande et pour l'environnement soient pris en compte au cours du développement et de l'enregistrement de ces produits de lutte, on ressent une forte demande pour la mise au point d'un contrôle biologique, efficace sur le long terme. La vaccination permettrait en effet d'éviter les délais d'attente, de détourner le problème des résistances que pourraient présenter les parasites vis-à-vis des traitements chimiques et de faire face aux inquiétudes des utilisateurs et des consommateurs. Les avancées dans le domaine de l'immunologie de la gale ovine permettent d'espérer, outre la conception d'un vaccin, l'élaboration de tests de diagnostic précoce, fiables et aisés à utiliser.

Dans la première partie nous présenterons la maladie et le parasite responsable.

Ensuite, nous décrirons les différents phénomènes immunologiques entrant en jeu au niveau de la peau des moutons ainsi que les possibilités de défense de cet organe.

Dans la troisième partie, nous tenterons d'établir les modalités et les voies de la réponse immunologique du mouton face à *Psoroptes ovis*.

Enfin, nous chercherons à montrer les applications possibles de ces connaissances récentes dans l'immunologie de la gale psoroptique ovine ainsi que leurs limites.

Chapitre I : Présentation de la maladie et de l'agent

Partie 1 : Epidémiologie descriptive

I.1.1. Répartition géographique

La gale psoroptique ovine est une des plus vieilles maladies connues chez le mouton (77). La Bible, ainsi que certains auteurs grecs et latins, font déjà référence aux gales, même si l'étiologie précise de ces affections leur était alors inconnue (33, 64). Les premières véritables études épidémiologiques concernant cette pathologie furent effectuées par Salmon et Stiles en 1903, pour être poursuivies ensuite par Stockman (1910), Woodruff (1912) et en Afrique du Sud Schilston (1915), puis Babcock et Black (1933), Downing (1936), Spence (1949), aux Etats-Unis Wilson et coll. (1977) et en Allemagne Liebisch et coll. (1978) (77).

La maladie est commune à travers l'Europe, l'Asie et l'Amérique du Sud (122). La gale psoroptique a été définitivement éradiquée d'Australie en 1884. En 1924, l'éradication est effective au Canada, en 1927 en Scandinavie et en 1973, elle est achevée aux Etats-Unis (77) (alors que la gale psoroptique bovine y persiste) (39)). Koltai (1984) rapporte que la maladie fut temporairement éliminée de Hongrie en 1965, pour y être réintroduite en 1977 par un bélier importé. Il semble que l'Angleterre ait été indemne entre 1963 et 1973, mais des moutons en provenance d'Irlande seraient à l'origine de sa récente réapparition (77).

Au Royaume-Uni, la gale était en effet une pathologie d'importance notable jusqu'en 1992 ; ses conséquences financières et sur le bien-être animal sont telles que de 1973 à 1992, une campagne d'éradication y a été instaurée, *via* la balnéation annuelle obligatoire des moutons. Bien que cette mesure ait permis une diminution du nombre de cas, elle n'a pas éliminé totalement la gale du territoire anglo-saxon (20).

Avec une prévalence estimée à 10,4%, la gale psoroptique est une maladie importante sur le territoire suisse ; le nombre de cas a augmenté ces dernières années (la Suisse est passé de 4 cas en 1985 à 56 en 1999), malgré les mesures prophylactiques (moyens chimiques) mises en jeu (40).

Ainsi, dans de nombreux pays, la prévalence de la gale psoroptique ovine a fortement diminué (grâce à l'utilisation d'acaricides modernes) et la maladie a même été éradiquée de certains pays. Cependant, des difficultés sont rencontrées, comme aux Etats-Unis, car certaines

souches résistent aux produits chimiques employés (phénomène favorisé par des concentrations en acaricides inférieures aux recommandations dans les bains de traitement) (53, 78), sans compter que les échanges commerciaux mondiaux favorisent la persistance de la maladie (exemple du Royaume-Uni).

I.1.2. Saisonnalité

Sous nos climats tempérés l'incidence de la maladie est la plus forte en hiver (77). Cette saisonnalité a été attribuée à la combinaison de facteurs climatiques et d'éléments de gestion du troupeau : l'utilisation de produits acaricides en été pour contrôler les ectoparasites comme *Lucilia sericata*, et les bains d'automne pour contrôler *P.ovis*, réduisent l'incidence de la gale au cours de ces saisons. La concentration des moutons pour le passage de l'hiver ou les mises bas, la sous-alimentation et l'introduction d'animaux issus des ventes d'automne, augmentent le risque d'infestation lors des mois hivernaux (78, 118).

I.1.3. Modes de transmission

La gale psoroptique est une maladie très contagieuse qui se répand rapidement à l'intérieur d'un troupeau (104, 118) ; le simple transfert d'une femelle ovigère sur un mouton réceptif est suffisant pour établir l'infestation (118). La transmission est reliée au stade de l'infestation et au stade démographique de la population parasitaire : il semble, en effet, que la contagion soit la plus forte lorsque le nombre de parasites sur les hôtes est au plus haut. Tandis que la population parasitaire augmente chez les animaux malades, le nombre de parasites dans l'environnement fait de même, ainsi que les chances pour les autres moutons d'être infestés (20). La transmission du parasite peut être :

- directe, par contact entre un mouton malade cliniquement ou dont l'infestation est subclinique, et un mouton réceptif,
- indirecte, par le matériel (sur lequel les animaux se grattent et déposent des lambeaux de laine), les clôtures, les enclos, les véhicules de transport, les brosses communes... (118). Cette transmission indirecte est permise par les possibilités de survie des parasites dans le milieu extérieur (118).

I.1.4. Facteurs de sensibilité

La race de mouton aurait une influence sur l'évolution de la maladie, reflet des différences inter- raciales de physiologie cutanée et de microclimat de la toison (15, 104). Par exemple, la réaction des moutons de race Mérinos face à une infestation par *P.ovis* est plus sévère que chez les moutons Dorper¹ (71). La longueur et la densité de la laine sont clairement des facteurs prépondérants (on sait en effet que *P.ovis* ne s'établit pas facilement sur des moutons récemment tondus, comme c'est le cas en été, favorisant l'apparition de la maladie en automne-hiver) (104). Mais, la production de sébum, la présence d'une microflore influençant l'établissement des parasites et le taux de reproduction, ainsi que d'autres facteurs encore non identifiés et sous contrôle génétique (la réponse immunologique par exemple) peuvent aussi rentrer en jeu (104). Enfin, d'autres études montrent que les races des plaines (avec une forte densité de follicules pileux) sont particulièrement prédisposées à l'infestation (118). Par exemple, on observe une croissance des lésions plus rapide chez les moutons Polled Dorsets² des plaines (à laine fine) que chez les Swaledales des hauts plateaux (race à laine épaisse) (15). Les moutons des hauts pâturages ont en effet un phénotype qui les rend moins sensibles à la maladie : ils présentent de petites lésions avec un nombre de parasites relativement bas et ont une meilleure capacité à éliminer les *Psoroptes* (15).

Il n'y a aucune influence du sexe dans l'incidence et l'évolution de la gale ovine (77) ; par contre les antenais sont plus sensibles. Enfin, la fréquence des mouvements des animaux (notamment dans les troupeaux de grande taille) expose les moutons à un risque plus élevé (40, 77, 78).

Une observation fréquente montre que dans un groupe de moutons apparemment similaires, infestés expérimentalement avec une quantité égale de parasites, la maladie ne se développe pas chez 30% des individus, alors qu'elle progresse normalement chez les autres (104). Des essais pour réinfester ultérieurement ces individus non sensibles sont en général des réussites, suggérant que les facteurs de réceptivité et de sensibilité peuvent varier dans le temps (104).

¹ Race issue d'un croisement à partir du Dorset Horn et du Blackhead Persian (1946) (2).

² Race anglaise originaire du Dorset, un comté situé sur la côte de la Manche au sud-ouest de l'Angleterre (9).

Partie 2 : Importance économique

Il faut retenir que la gale psoroptique ovine, outre son importance sanitaire, possède un poids financier considérable, entraînant (92) :

- une diminution de la consommation alimentaire (alors que, d'après une étude chez les bovins, le besoin énergétique est majoré de 0,5 Mcal/jour pour chaque augmentation de 10 % de surface corporelle atteinte (30)),
- une chute marquée du gain pondéral et une diminution du poids des carcasses,
- une diminution du rendement de carcasse,
- une réduction de l'épaisseur du gras dorsal,
- une baisse de note corporelle des masses musculaires,
- une augmentation du pH musculaire à 1 heure et à 24 heures après l'abattage (ce phénomène peut être la conséquence d'une faible teneur en glycogène dans le muscle des animaux malades, à cause de l'activité physique continue engendrée par le prurit intense),
- une baisse de la fertilité.

Les pertes économiques sont aussi liées à la réduction du poids et de la qualité des toisons, au coût lié à la prévention et aux traitements (63) et à la détérioration des clôtures (due au grattage) dont la réparation entraîne une perte d'argent et de temps.

I.2.1. Perte de poids

La principale perte financière reste celle liée à la baisse du gain moyen quotidien (GMQ) chez les animaux en croissance et à la perte de poids vif chez les adultes (54, 118). Dans une étude, des moutons Mérinos-Landrace âgés de 5-6 mois, pesant au départ entre 21,2 et 35,0 kg sont séparés en deux groupes : dans le premier, les moutons, indemnes de gale (grâce à un traitement prophylactique à base d'ivermectine), présentent après 18 semaines un gain de poids de 20,9 kg, alors que dans le second groupe, des individus infestés et non traités pendant cette période ne gagnent en moyenne que 12,8 kg (92), soit une réduction de 16% du gain pondéral chez les animaux galeux. Une autre étude (54), a montré qu'après 14 semaines d'infestation chez des agneaux de race Cheviot de 9 semaines, les moutons sains avaient gagné 14,6 kg alors que le gain de poids n'avait été que de 1,1 kg pour les animaux malades, ce qui représente une perte pondérale de 30% (54). Ainsi, en estimant le prix du kilogramme

de viande à 2,07 euros (3), une telle perte de masse corporelle dans un troupeau de 100 moutons (d'environ 25 kg chacun) revient presque à un manque à gagner de 1590 euros (54, 3) (notons que les facteurs qui ont pu influencer l'évolution de la maladie et conduire à une perte pondérale de 16 (92) ou 30% (54) peuvent être : l'espèce de moutons considérée, la longueur de la laine, la virulence des parasites et l'époque de l'année (92)).

Par ailleurs, le poids d'une portée issue d'une brebis sévèrement infestée par *P.ovis* au cours de la gestation est de 10 % inférieur à celui des agneaux nés de mères modérément atteintes. L'infestation des brebis gestantes entraîne aussi une augmentation de la mortalité périnatale, tandis que la production laitière est diminuée (98).

I.2.2. Perte en laine

La gale ovine entraîne une perte moyenne de 1,2 kg de laine par mouton (après 14 semaines de maladie) (54). Il faut aussi considérer que la laine restante est souillée, elle est tâchée, feutrée et en lambeaux (54, 71), donc inutilisable. Des moutons sains (après un traitement prophylactique à l'ivermectine) présentent un poids de laine propre de 1,5 kg et une production laineuse (poids de laine propre/poids de laine sale \times 100) de 52,1%, chiffres supérieurs aux moutons infestés par *P.ovis* (respectivement 0,9 kg et 34,1%) ainsi qu'à ceux infestés puis traités en cours d'expérimentation (respectivement 1,0 kg et 47,8 %) (93).

I.2.3. Détérioration des cuirs

Les pertes économiques touchent aussi l'industrie des cuirs. Les peaux tannées provenant de moutons galeux montrent un grain grossier et des défauts dans la granulation de surface, tels que des décolorations, des indurations (93) et des traînées blanchâtres provoquées par le frottement de l'animal sur les clôtures. Des tests physiques révèlent que le cuir des moutons atteints de gale psoroptique est moins fin et moins résistant au déchirement et à l'élongation que celui provenant d'animaux indemnes (93).

Partie 3 : Présentation de *Psoroptes ovis*

I.3.1. Position taxonomique : actualités et historique

Psoroptes ovis appartient (figure 1) (1, 4, 5, 6, 53, 72) :

- au super-règne des Eucaryotes
- au règne des Animaux
- au sous-règne des Métazoaires
- à l'embranchement des Arthropodes,
- au sous-embranchement des Chélicérates
- à la classe des Arachnides
- à la sous-classe des Acariens
- au super-ordre des Acariformes (ou Actinotrichida³)
- à l'ordre des Astigmatés (ou Acaridida)
- à la famille des Psoroptidae
- à la sous-famille des Psoroptinae
- au genre *Psoroptes*
- à l'espèce *ovis*

Les acariens astigmatés de la famille des Psoroptidae sont des ectoparasites, non térébrants, des mammifères. Quatre genres sont généralement reconnus : *Psoroptes*, *Chorioptes*, *Otodectes*, et *Caparinia* sp., représenté au Royaume-Uni par *Caparinia tripilis*, parasite du hérisson européen (*Erinaceus europaeus*) (13).

Les *Psoroptes* sont des parasites obligatoires cosmopolites (13). La première classification des *Psoroptes*, établie par Megnin (1877), décrivait l'agent de la gale du corps des moutons, chevaux et bovins ainsi que celui de la gale des oreilles du lapin, comme des variants d'une même espèce : *Psoroptes longirostris* (c'est à dire *P.longirostris* var. *ovis*, *P.longirostris* var. *equi*, *P.longirostris* var. *bovis* et *P.longirostris* var. *cuniculi*) (13). Quant à Railliet (1893), il considérait aussi tous les acariens du genre *Psoroptes* comme des variants d'une seule espèce, qu'il avait redéfinie sous le nom de *Psoroptes communis* (par exemple, *P.communis* var.

³ Les soies tactiles et chimiosensibles des Actinotrichida contiennent une couche de matériel optiquement actif, l'actinochitine, qui montre une biréfringence à la lumière polarisée (l'actinochitine n'existe pas chez les Anactinotrichida) (53).

ovis). Neveau-Lemaire (1938) fit de même en les regroupant sous le nom de *Psoroptes equi* (par exemple, *P.equi* var. *ovis*). Hirst (1922) décrivit deux espèces de Psoroptes : *P.natalensis*⁴ et *P.communis* ; il fut le premier à utiliser la longueur de la soie externe de l'opisthosome du mâle pour les différencier (13). En considérant la longueur de la soie opisthosomale externe du mâle et la localisation du parasite sur l'hôte, Sweatman (1958) établit l'existence de cinq espèces qui furent divisées en deux groupes : celles affectant le corps (*P.ovis*, *P.equi*, *P.natalensis*) et celles vivant dans les oreilles (*P.cuniculi* et *P.cervinus*) (13).

L'identification des espèces au sein du genre *Psoroptes* est difficile car les différents stades sur les divers hôtes semblent morphologiquement identiques, à l'exception du stade adulte mâle (22). Une étude morphométrique (22) propose une identification des espèces basée sur la longueur de la soie opisthosomale externe du mâle et celle du bord latéral de sa protubérance (figures 2 et 3).

De plus, puisque sur un même hôte aucune différence n'a été montrée entre les parasites colonisant des régions corporelles différentes (*P.ovis* a, en effet, été identifié dans le canal auriculaire de moutons), la localisation même du parasite sur l'hôte ne peut constituer un critère d'identification de l'espèce comme le suggérait Sweatman (1958) (22). Enfin, une séparation des différentes souches de *P.ovis* peut également être établie à partir de leur résistance respective aux différents produits anti-parasitaires (13).

L'immunologie a permis de mettre en évidence huit antigènes communs entre *P.ovis* et *P.cuniculi*. Néanmoins, ces deux espèces se différencient par des antigènes qui leur sont propres (41, 91, 25). Par ailleurs, il existe une réactivité croisée étendue et quasi complète entre les *Psoroptes* isolés sur des mouflons⁵, des cerfs muets⁶, des bovins et des lapins (23). Le croisement entre *P.ovis* (souche prélevée sur bovin) et *P.cuniculi* (prélevée sur lapin) est possible expérimentalement et le produit est infestant pour les deux espèces hôtes, suggérant que *P.cuniculi* et *P.ovis* ne sont pas isolés sur le plan de la reproduction mais constituent deux races distinctes du même parasite, différenciées par leur préférence d'hôte (13). Ainsi, pour Bates (13), *P.ovis* et *P.cuniculi* infestant l'espèce ovine, ne sont isolés ni reproductivement ni écologiquement, mais sont des variants phénotypiques d'une même espèce. Il suggère alors de réinstaurer l'espèce *P.communis* en lui admettant deux variants, parasite du mouton : *P.communis* var. *ovis* et *P.communis* var. *cuniculi* (31) (théorie identique à celle de Raillet).

⁴ Parasite du corps des bovins, zébus et chevaux.

⁵ *Ovis canadensis*, espèce de cervidé nord-américaine.

⁶ *Odocoileus hemionus*, espèce de cervidé nord-américaine.

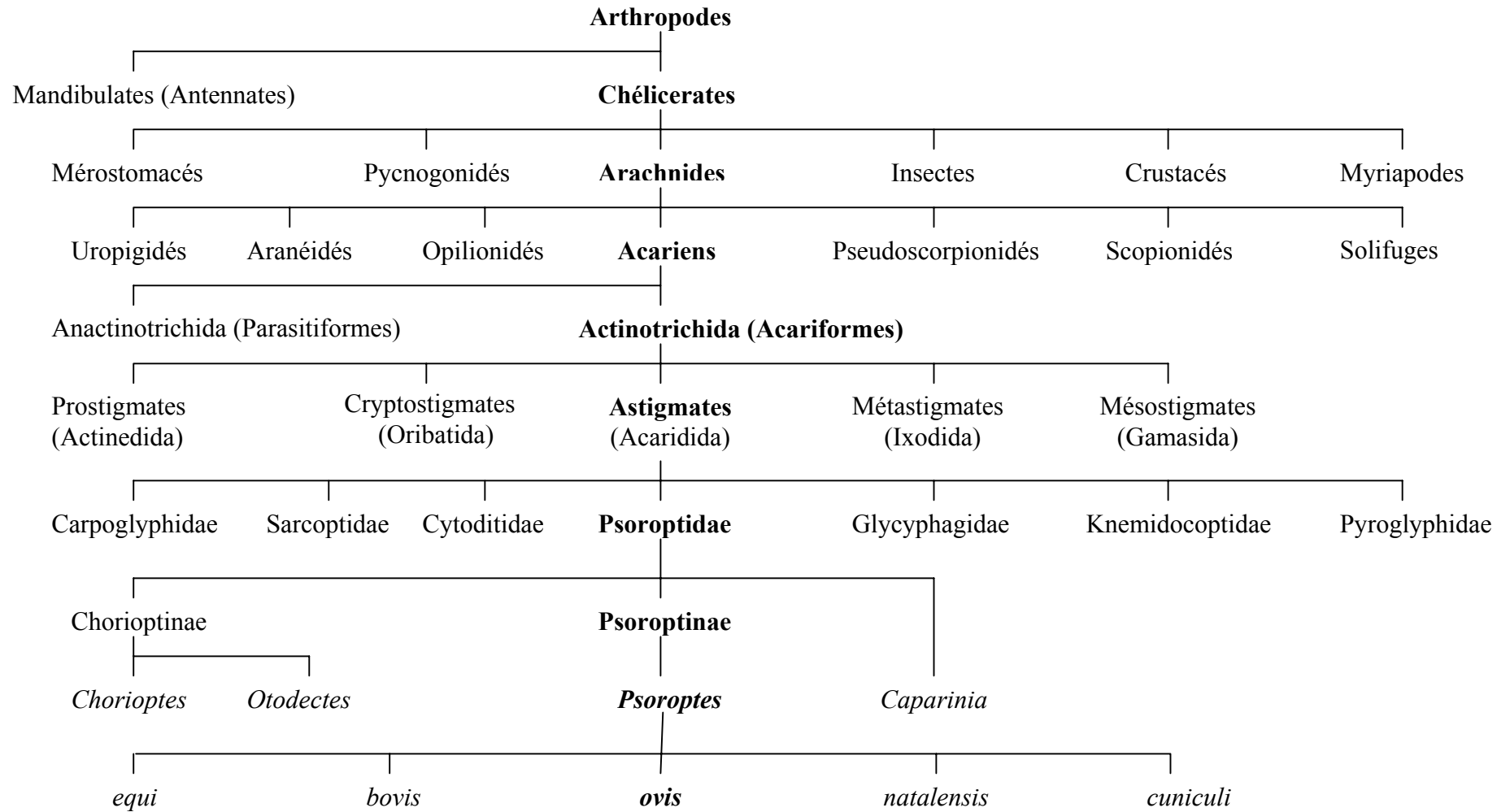


Figure 1 : Place de *P.ovis* au sein de la classification

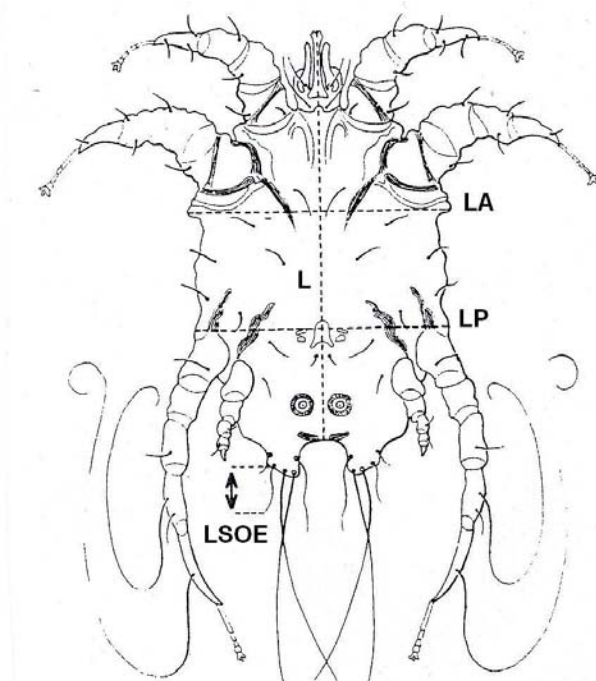


Figure 2 : Caractères morphométriques de diagnose de Boyce et coll., mesurés sur l'adulte mâle *Psoroptes* sp. L : longueur du corps, LA : largeur de la partie antérieure du corps, LP : largeur de la partie postérieure du corps, LSOE : longueur de la soie opisthosomale externe (22).

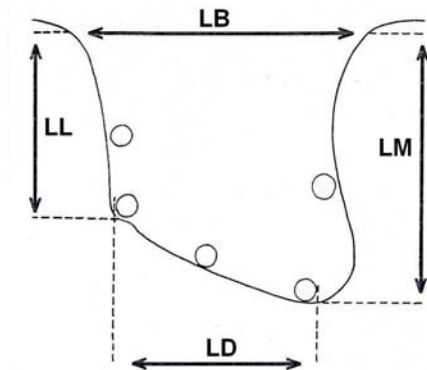


Figure 3 : Agrandissement de la protubérance opisthosomale gauche chez un mâle adulte *Psoroptes* sp. montrant les caractères morphométriques mesurés par Boyce et coll. pour la diagnose. LM : longueur du bord médial de la protubérance, LL : longueur du bord latéral de la protubérance, LB : largeur de la base de la protubérance, LD : largeur distale de la protubérance (22).

I.3.2. Biologie du parasite

I.3.2.1. Cycle parasitaire

Le cycle biologique de *P.ovis* inclut l'œuf et quatre stades de développement : larve, protonympe, tritonympe et adulte (stades 1, 2, 3 et 4) (figure 4).

La durée moyenne du cycle (de l'œuf à la production d'œufs par la femelle adulte) varie de 10-12 jours (34, 122), à 16 (122) voire 19 jours (118). Hors de l'hôte, le parasite survit pendant une période maximum de 38 jours (107) et son pouvoir infectieux serait nul après 13 jours passés dans le milieu extérieur (107).

L'œuf met 2-3 jours à éclore. La larve hexapode est très active, elle commence à se nourrir dès l'éclosion et ce, pendant les 24 à 36 premières heures de sa vie. Une phase de quiescence survient ensuite au cours des 12 à 24 heures précédant la mue (34). Après sa sortie de l'enveloppe larvaire, la nymphe se nourrit et grandit, puis entre dans une phase quiescente suite à laquelle un mâle ou une femelle émerge. Si la nymphe est destinée à se transformer en femelle pubère le repas dure 24 heures et la phase de quiescence, entre 24 et 36 heures. Si la nymphe devient un mâle, le stade 3 est plus long (5 jours en moyenne, la durée du repas étant en général de 48 heures et celle de quiescence d'environ 72 heures) (34).

Le repas de la femelle pubère est court. Si un mâle est présent, l'accouplement a lieu et peut durer 48 heures (moins si le nombre de mâles est inférieur au nombre de femelles), au cours desquelles les tubercules de la femelle s'insèrent dans les ventouses copulatrices du mâle, les parties antérieures des animaux étant dirigées dans des directions opposées. Le stade pubère dure en moyenne 2,2 jours (34). La femelle n'est fécondée qu'une seule fois, tandis que le mâle peut s'accoupler plusieurs fois (64).

La femelle ovigère commence à se nourrir tôt et continue pendant 1 à 2 jours. Il semblerait qu'elle ingère la majeure partie de son repas au cours de la première prise alimentaire, bien qu'elle puisse encore se nourrir dans l'intervalle des pontes (34). Immédiatement après le repas, la ponte commence (34, 118).

Il y a une grande variabilité dans la longévité et la fécondité des femelles ovigères, qui peuvent respectivement être de 13 à 60 jours et de 1 à 2 (59) voire 6 œufs par jour (118). Habituellement, ce sont 15-30 œufs qui sont pondus au total, bien que dans des conditions optimales ce chiffre puisse atteindre 90 (118) (influence de la température : plus celle-ci est

basse, plus le nombre d'œufs pondus est important et plus la durée de vie des femelles ovigères est réduite) (34, 53).

La longévité du mâle semble être d'approximativement 1 mois (34).

Le taux de mortalité des parasites adultes est d'environ 6,2% par jour (34) et la population croît d'environ 11% par jour, elle double tous les 6,3 jours (122).

La chaleur et l'humidité (induites par les processus inflammatoires cutanés) fournissent le microclimat idéal à *P. ovis* (12) ; à l'inverse, cet acarien est rapidement tué lorsqu'il est exposé aux rayons solaires ou à la sécheresse (107).

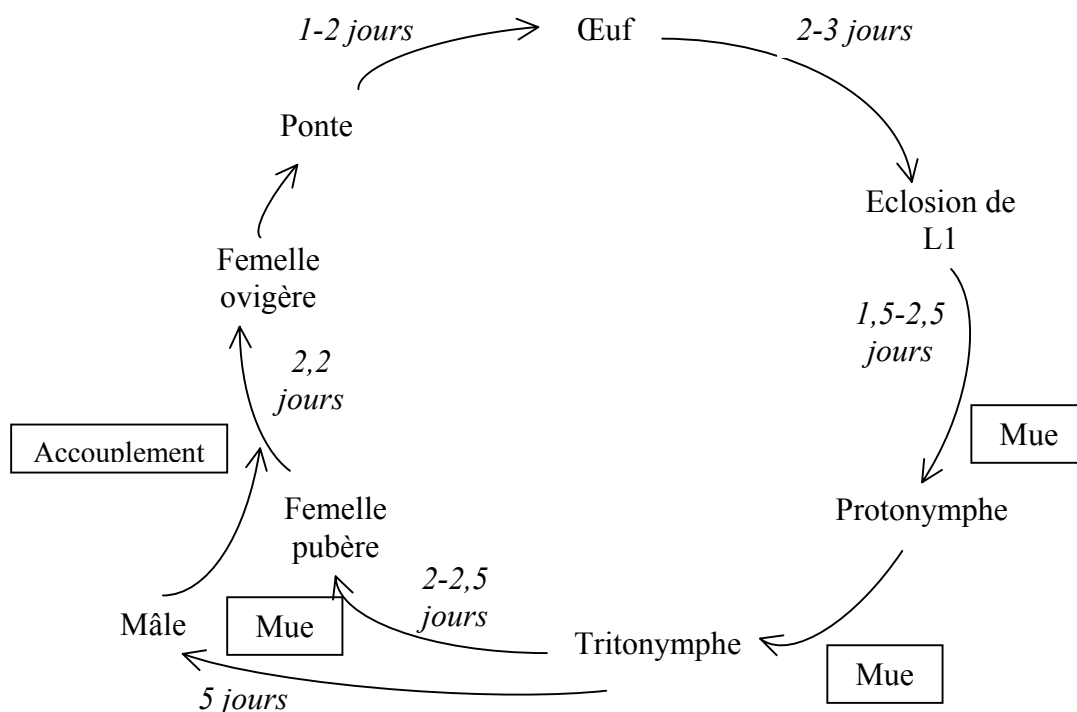


Figure 4 : Cycle biologique de *P. ovis*

I.3.2.2. Morphologie externe des différents stades

L'œuf pondu de *P. communis* var. *ovis* est ovale ou légèrement en forme de saucisse, opaque, blanc et brillant (34), d'une longueur d'environ 250 µm (53). Après 24 heures, il devient transparent et, peu de temps avant l'éclosion, les pièces buccales chitineuses de la larve lui donnent localement, par transparence, une teinte marron (34).

La larve compte trois paires de pattes dont les deux premières portent des ventouses. Lorsqu'elle sort de l'œuf, la larve est très petite et presque transparente, à l'exception des régions du capitulum et des pattes qui sont les premières à prendre une couleur d'abord marron clair puis foncé (34). Sa taille augmente (jusqu'à 330 µm, (53)) et elle prend une couleur blanc opaque (34).

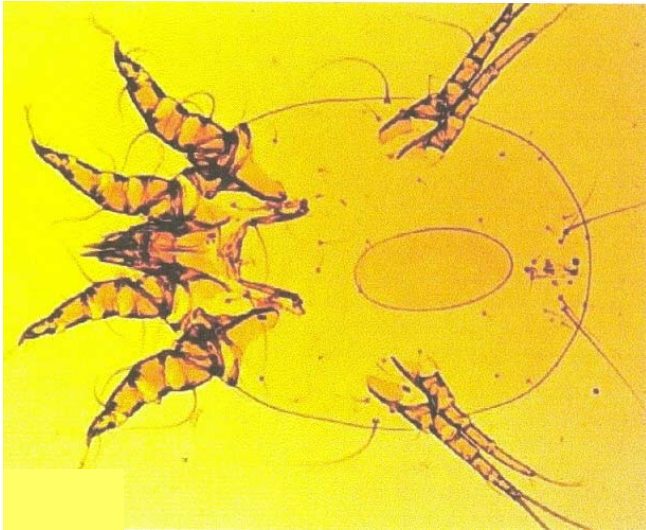
Le troisième stade, ou stade nymphal, se distingue du stade larvaire par la présence de quatre paires de pattes. Des ventouses sont présentes à l'extrémité des prétarses triarticulés (retrouvés aussi aux stades suivants) des deux premières pattes (13, 34). Mises à part la taille (plus petite) et l'absence de vulve, la nymphe ressemble à la femelle ovigère (34).

La femelle pubère est le seul stade visible à l'œil nu. Elle mesure 750 µm (13) et ses deux premières pattes sont munies de ventouses. La principale caractéristique de ce stade est la paire de tubercules copulateurs situés de chaque côté de l'anus à l'extrémité postérieure du corps (34).

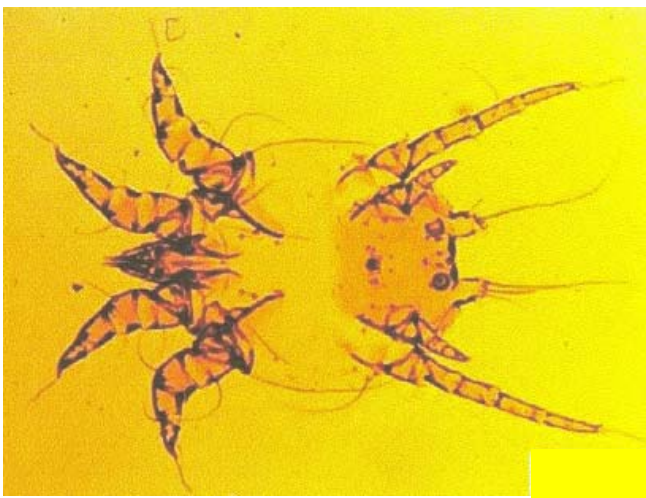
La femelle ovigère (photographie 1) se distingue par sa taille relativement importante. Elle a quatre paires de pattes dont les deux premières et la quatrième portent une ventouse. Le signe distinctif de ce stade est la présence d'une vulve en position thoracique, située entre le coxae et la seconde paire de pattes (34).

Le mâle (photographie 2) a aussi quatre paires de pattes, la troisième est très longue alors que la quatrième est très courte et les trois premières paires possèdent des ventouses. Le mâle se reconnaît aisément par la paire de processus postérieurs qui portent chacun trois grosses soies (photographie 3). Sur la face ventrale du corps, à la base de chaque processus, de part et d'autre de l'anus, se trouve une ventouse copulatrice (34).

La morphologie du parasite change selon s'il est au sein d'une lésion ou non. Ainsi, *P. ovis* à l'état "normal" possède une face ventrale plate, une face dorsale convexe et des pattes tendues. Prélevé sur une lésion cutanée, *P. ovis* présente un corps déformé et des pattes tordues (103).



Photographie 1 : Femelle ovigère.



Photographie 2 : Mâle *P.ovis*.



Photographie 3 : Mâle *P.ovis*,
tubercules postérieurs.

Source photographies : <http://icb.usp.br/~marcelcp/Psoroptes.htm>

I.3.2.3. Alimentation

P. ovis vit et se nourrit à la surface de l'épiderme, de substances constitutives du *stratum corneum* desquamant (102) ou, plus probablement, comme tous les acariens Psoroptidae, il ponctionne le tégument autour des lésions et prend les nutriments dans l'exsudat inflammatoire séreux, les sécrétions cutanées et les lipides cutanés (ses pièces buccales ne lui permettant que la prise d'éléments liquides) (12, 69, 102).

A l'inverse des souches parasites du lapin ou des bovins, sur le mouton, *P. ovis* ne semble ingérer ni sang, ni hémoglobine, ni érythrocytes (12, 75, 91, 127). Cependant, *P. ovis* ingère des composants sériques présents dans l'exsudat en surface des lésions (12), par conséquent, de l'albumine mais aussi des immunoglobulines (Ig) G ovines (12, 70, 85), qui vont ensuite, chez les stades prenant un repas, se localiser à la surface ou dans le cytoplasme des cellules intestinales (85) (régions assurant entre autre une protéolyse des anticorps ingérés) (12). *P. ovis* ingère aussi des granulocytes basophiles (120) et des éosinophiles ont été retrouvés dans la lumière digestive (69). Chez le parasite, ces cellules peuvent être à l'origine de lésions au niveau de l'intestin (120).

Les lipides (abondants à la surface cutanée et dans la toison du mouton), bien que représentant la majeure partie du régime alimentaire de *P. ovis* (12, 91), ne sont probablement pas (ou peu) digérés (le parasite a en effet une activité lipase faible) (12).

I.3.2.4. Anatomie et physiologie digestives

I.3.2.4.1. Anatomie

Avant d'imaginer une éventuelle possibilité de vaccination contre la gale, il est pertinent d'examiner quelques aspects de la physiologie de *P. ovis*. De même, la connaissance de la structure du système digestif de ce parasite est un pré-requis pour l'identification des antigènes cibles (susceptibles d'être visés lors d'une attaque immunologique potentielle).

Tous les acariens possèdent deux paires d'appendices, les chélicères et les palpes (dont l'ensemble est regroupé sous le terme de gnathosome), localisés en partie antérieure de la tête. Le gnathosome est identique chez le mâle et la femelle (91). Il est court et se compose de palpes, d'un hypognathum et de chélicères longs et dentés chacun sur leur côté latéral, capables d'éroder la peau mais non de la percer (91). Ces structures sont utilisées principalement pour attraper et ingérer la nourriture (48). Le gnathosome permet un double

flux de liquide : les sécrétions digestives s'écoulent par un canal central pour être déposées sur la peau et l'action de pompe du pharynx (69) permet d'aspirer les liquides nutritifs pour les transporter dans le tube digestif antérieur (48). Le système digestif de *P.ovis* est de type acarien (la figure 5 schématise la morphologie type du tube digestif des acarins.). Il est identique à celui des Oribatidés (mais *P.ovis* possède en plus quatre diverticules antérieurs situés dorsalement au ventricule moyen) (18) (figure 6). Le système digestif de *P.ovis* est divisé en trois parties : d'abord un intestin antérieur (48, 69), composé d'un pharynx et d'un œsophage musculueux (18, 69), puis un intestin moyen qui consiste en un estomac divisé en un ventricule, 4 diverticules antérieurs et 2 diverticules postérieurs connectés au ventricule, un colon, un post-colon (48) et enfin, un intestin postérieur (atrium anal) (18, 48) (figure 6). Selon les publications, *P.ovis* possède (48, 53) ou ne possède pas de glandes salivaires (12).

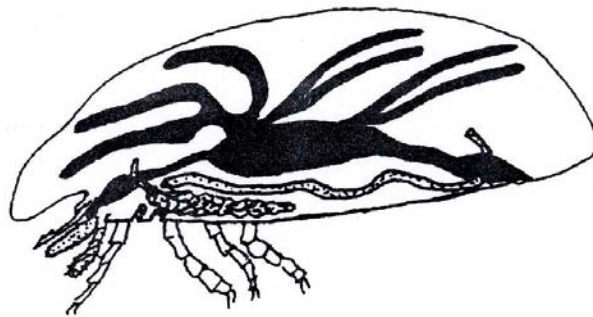


Figure 5 : Tube digestif des acarins (en noir) (72).

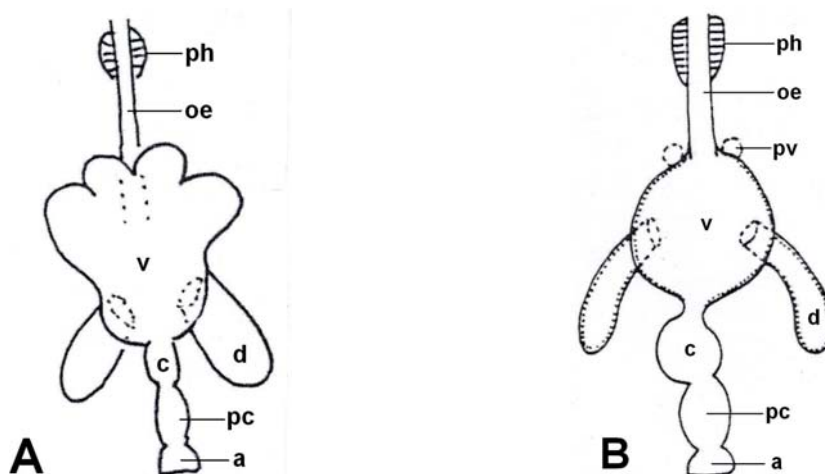


Figure 6 : (A) Système digestif de *P.ovis*, vue ventrale. (B) Tractus digestif type des Oribatidés. a : atrium anal, c : colon, d : diverticule (caecum), oe : œsophage, pc : post colon, ph : pharynx, pv : glande préventriculaire, v : ventricule (18).

Comme chez tous les Arthropodes, les parties antérieures et postérieures du tractus alimentaire sont recouvertes de cuticule, tandis que la partie intermédiaire est couverte de microvillosités (69). L'intestin moyen synthétise la membrane péritrophique à partir de matériaux sécrétés par les microvillosités des cellules épithéliales. C'est une structure acellulaire qui consiste typiquement en un tressage de chitine contenant des microfibrilles enchâssées dans une matrice dont les principaux constituants sont des protéines, des glycoprotéines et des mucopolysaccharides (12, 38). Cette membrane sépare les aliments ingérés de l'épithélium digestif (12, 38). Elle divise la lumière digestive en un espace clos, endopéritrophique (ou sac endotrophique), et en un espace externe, exopéritrophique, compris entre la membrane péritrophique et l'épithélium intestinal (38, 72) (figure 7). Diverses suggestions ont été faites quant aux fonctions physiologiques de la membrane péritrophique : protection des cellules intestinales de l'abrasion mécanique (mais cette fonction n'est pas pertinente chez les Arthropodes se nourrissant de fluides), protection contre les infestations des parasites et les pathogènes, "réserve" de molécules fonctionnelles, prévention des liaisons non spécifiques d'aliments non digérés aux membranes des cellules épithéliales.

L'épithélium de l'intestin moyen est un site de synthèses et de sécrétions d'enzymes digestives et d'absorption des nutriments (48), comme chez tous les arachnides, il compte deux types de cellules : les cellules de type I (ou type sécrétoire), qui permettent une digestion extracellulaire, et les cellules de type II (ou type digestif), qui permettent une digestion intracellulaire. Les cellules de type I sont les plus abondantes, les cellules de type II représentent environ 8 % des cellules stomacales chez *P.ovis*, elles sont semblables aux cellules sécrétoires, mais elles peuvent quitter l'épithélium intestinal, devenir des cellules libres flottantes, atteindre la lumière digestive et dégénérer ensuite (69, 48).

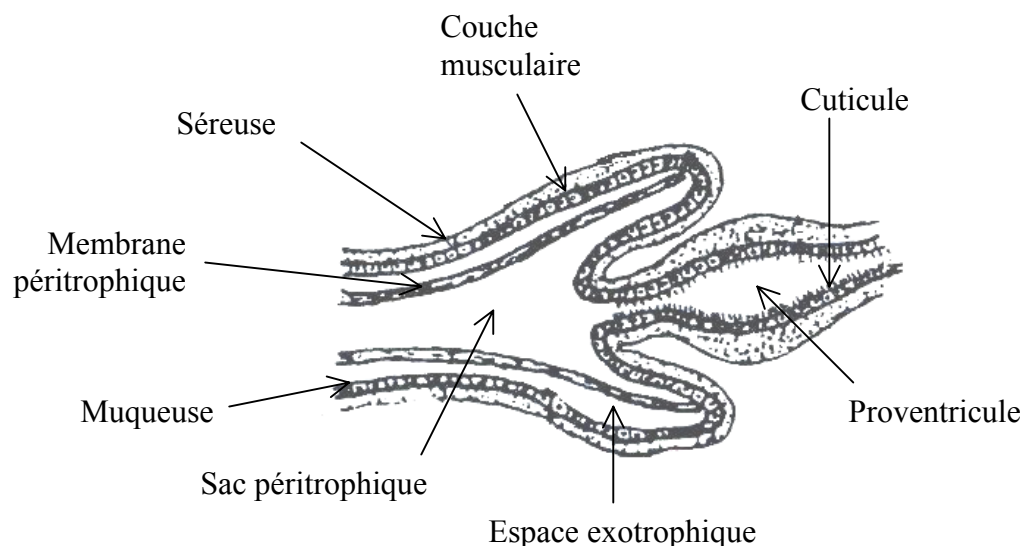


Figure 7 : Schéma de la membrane pérित्रophique (d'après 72)

I.3.2.4.2. Activités enzymatiques digestives

Les différentes activités enzymatiques présentes chez *P. ovis* sont résumées dans le tableau 1. Certaines nous intéressent particulièrement et seront étudiées plus spécifiquement.

Tableau 1 : Activités enzymatiques décrites chez les acariens du genre *Psoroptes* (d'après 48).

Enzymes	<i>P. ovis</i>	<i>P. cuniculi</i>
<u>Phosphatases</u>		
Acide	+	+
Alcaline	+	+
Phosphoamidase	+	+
<u>Estérases</u>		
Estérase (C4)	+	+
Estérase lipase (C8)	+	+
<u>Lipase</u> (C14)	+/-	-
<u>Protéinases</u>		
Aspartylprotéinase	+	+
Cystéine protéinase	+	+
Métaloprotéinase	+	n/t
Leucine aminopeptidase	+	+
Valine aminopeptidase	+	+
<u>Glycosidases</u>		
β -galactosidase	+	+
β -glucuronidase	+/-	+
β -glucosidase	+	+
N-acétyl- β -glucosaminidase	+	+

+ : enzyme présente, - : absente, n/t : non testée

Nisbet et Billingsley (75) et Kenyon et Knox (52) ont prouvé la présence de nombreuses enzymes à activité digestive chez *P. ovis* (85). Il semble que le régime alimentaire influence les types d'enzymes présentés par le parasite (48) :

▣ Protéinases

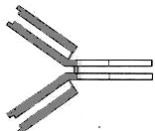
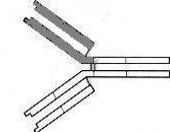
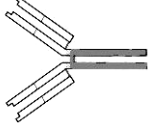
Les protéinases sont classées en quatre groupes : les protéinases à sérine (absentes chez *P. ovis*), à cystéine, les aspartyl-protéinases et les métalloprotéinases.

Une activité protéinase à cystéine a été identifiée chez *P. ovis*. Or, on sait que les allergènes du groupe I décrits chez les acariens de poussière sont des protéinases à cystéine. *Psoroptes cuniculi* et *P. ovis* possèdent tous deux une aspartyl-peptidase. Cependant, l'activité de cette enzyme est supérieure chez *P. cuniculi* qui, sur l'hôte, ingère des érythrocytes (48). *P. ovis* montre aussi une activité métalloprotéinase (48, 52, 89) et différentes métalo-exopeptidases, comme l'aminopeptidase à leucine ou l'aminopeptidase à valine sont présentes chez ce parasite (48, 75, 89). Une aminopeptidase à leucine a été détectée chez *Dermatophagoides* sp. et dans les boulettes fécales de l'acarien de stockage *Tyrophagus putrescentis*, suggérant un rôle digestif pour cette enzyme (48). L'analyse des extraits de *P. ovis* par migration sur gélose a complété ces données en démontrant que ces protéinases étaient différenciables entre elles sur la base de leurs poids moléculaires (52).

Ces enzymes pourraient jouer un rôle dans l'initiation des lésions (52, 75, 89). En effet, à pH acide, l'activité des protéases à cystéine est prédominante, elles dégradent les dérivés de collagène solubles, la gélatine et la fibronectine (un composant de la matrice glycoprotéique extracellulaire des membranes basales). Les métalloprotéinases dégradent aussi la gélatine et le fibrinogène (52). Il est clair que la protéolyse de ces substrats facilite la pénétration de la barrière cutanée, donc l'initiation des lésions. Ces enzymes aident aussi à la prise de nourriture (52). Les aspartyl- et métalloprotéinases semblent, en plus, avoir un effet anti-coagulant si l'on en juge par leurs possibilités de dégradation du fibrinogène. Cette action prolongerait l'exsudation séreuse à partir des lésions et favoriserait la prise de nourriture pour les parasites. La dégradation de l'hémoglobine par contre, n'est attribuable qu'à l'action des aspartyl-protéinases (52).

Certaines enzymes (aspartyl-protéinase, aminopeptidase (75), protéinase à cystéine et métalloprotéinase (52)) sont capables de digérer les IgG de mouton (52, 85). Cette digestion des IgG les scinde en différents fragments : F(ab')₂ (d'environ 95 kDa), Fab, (d'environ 45 kDa) et Fc (d'environ 70 kDa) (85) (tableau 2).

Tableau 2 : Les fragments d'immunoglobulines (d'après 67)

Fragment	Structure	Obtention
F(ab') ₂		Digestion par la pepsine
Fab		Digestion par la papaïne
Fc		Digestion par la papaïne

Aucune activité de protéinase à sérine ou de carboxypeptidase n'a pu être mise en évidence (48).

L'intestin est un site de protéolyse lors de la digestion. Les anticorps ingérés de l'hôte et les autres effecteurs moléculaires ou cellulaires de l'immunité peuvent donc y être lysés avant (ou pendant) qu'ils aient agi sur leur cible (12).

▣ Glycosidases

Il existe chez *P.ovis* une faible activité β -galactosidase (48, 75), β -glucuronidase (48, 75) β -glucosidase (48, 75), et n-acétyl- β -glucosaminidase (75), qui témoigne probablement d'une alimentation très riche en protéines (48).

▣ Autres activités enzymatiques

Les principales estérases sont la C4-estérase et la C8-estérase. On trouve aussi, en plus faible quantité, une C14-lipase (48). Une glutathion-S-transférase a aussi été découverte chez *P.ovis* mais aucune fonction digestive n'a pu lui être attribuée (48).

I.3.2.4.3. Flore intestinale

Le système digestif de *P.ovis* contient une population importante de bactéries lumineales, celles-ci pouvant être retrouvées en grand nombre dans les matières fécales (12) (tableau 3). La flore intestinale est importante chez les Arthropodes en tant que source d'aliments, symbiote ou pathogène (48). La flore bactérienne de *P.ovis* est abondante mais peu diversifiée

(69) et chez les acariens *Psoroptes*, la bactérie Gram négatif *Serratia marcescens* est une des espèces les plus fréquemment isolées (68, 86). Ces bactéries symbiotiques semblent être productrices de lipases extracellulaires que les *P.ovis* exploiteraient pour digérer les lipides (48, 69). Il semble aussi que *P.ovis* puisse utiliser *S.marcescens* comme source de nutriments (68).

I.3.2.4.4. Excrétion fécale

Comme chez tout acarien, le principal catabolite nitrogené de *P.ovis* est la guanine (2-aminohypoxanthine), une purine très insoluble, éliminée sous la forme de boulettes fécales (12, 104), sèches et solides, d'environ 15 µm de diamètre (48), entourées par la membrane péritrophique et déposées à la surface cutanée de l'hôte (69,104). Cette membrane péritrophique est résistante à l'air mais non à l'eau. De nombreuses activités enzymatiques sont associées aux fèces (48), et il semble que ces enzymes soient concentrées dans la matrice péritrophique entourant les boulettes fécales (48).

Partie 4 : Expression clinique de la gale psoroptique ovine

La peau est l'organe cible de *P.ovis* et la gale se limite aux régions couvertes de laine (64, 113). Les conséquences de l'action pathogène des parasites sont les suivantes :

- le prurit, signe principal et constant (12, 64, 81, 104, 118),
- la papulo-vésicule, lésion élémentaire caractéristique, résultant de la pénétration des pièces buccales des parasites dans l'épiderme (81),
- l'altération de la peau, conséquence du grattage et des morsures auto-infligées par les animaux eux-mêmes (81),
- l'atteinte viscérale, due à la résorption de toxines, elle se traduit par une adénite et une atteinte hépatorénale (81),
- la modification du comportement de l'animal parasité (81, 21).

I.4.1. Prurit

Au début, les lésions génèrent un prurit moyen (12, 118) qui apparaît en 2 à 3 semaines (5, 18), mais, tandis que la maladie progresse, le prurit s'intensifie (118). Les moutons sont agités

et l'irritation augmente parallèlement à l'extension des lésions (104). Les animaux se frottent contre les supports solides, se grattent le corps et les oreilles avec les pattes arrières (12, 31, 59, 99), mordillent les lésions et présentent un balancement de la tête. Au début, le prurit est proportionnel à l'âge des lésions et à leur taille (21, 122). Il est parfois si intense que de petites hémorragies apparaissent (12, 104) et les traumatismes des régions exposées résultent en l'apparition d'abrasions et d'infections bactériennes secondaires (14, 98, 118) pouvant induire des abcès sous-cutanés (14). Très exceptionnellement, le prurit est si violent qu'il peut engendrer une crise épileptiforme avec convulsions, qui peut entraîner la mort (12, 64, 104, 118).

I.4.2. Lésion élémentaire : la papulo-vésicule

Une lésion inflammatoire de petite taille apparaît dans les 24 heures suivant le contact avec les *Psoroptes* (104). La lésion consiste au départ en une petite vésicule (sur le site de ponction du parasite) (107) pouvant atteindre 5-6 mm de diamètre (81, 118) et remplie d'un liquide clair, se transformant généralement en pustule (107) qui se rompt et dont le contenu s'écoule à la surface cutanée, sèche et forme une croûte jaune, à bords humides et verdâtres (81, 107, 110). Puis, tandis que la population parasitaire décline (12), l'apparence de la lésion de gale change, les bords s'estompent et il y a une desquamation (12, 99). En tombant, la croûte entraîne la chute de la laine (81). La lésion commence à guérir par le centre et la laine repousse dans les zones alopéciques.

I.4.3. Altération de la laine et de la peau

La laine recouvrant les zones affectées (en particulier au niveau des épaules, du dos et des lombes) (12) devient tâchée, humide, souillée et collante (12, 118). La toison apparaît déguenillée, en lambeaux ou cordons, et la laine s'arrache facilement, par touffes (12, 81, 104).

Macroscopiquement, on observe de l'érythème, souvent accompagné de papules et/ou de pustules et la formation de croûtes adhérentes et très épaisses (64) rappelant l'aspect de "flocons de maïs" (12, 64). Le prurit entraîne des lésions mécaniques fréquentes (rupture de la peau entre autre) (A5) souvent surinfectées (64, 128). La peau s'épaissit, se plisse (81) et prend une odeur rance due à la décomposition des composants sériques de la croûte (120). La

pyodermite peut être très marquée (64), et la perte de lipides du *stratum corneum* (ingérés par *P. ovis*), entraîne une déperdition d'eau et expose les couches cutanées superficielles, favorisant les infections bactériennes secondaires (12, 99) (à *Actinomyces pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Bacillus* sp. et *Dermatophilus congolensis*, 99), susceptibles d'induire une furonculose (128). Cette dernière complication est à l'origine des hypertrophies ganglionnaires parfois très marquées (64) (tableau 3). Au niveau de l'oreille, un othématome peut se former (12).

Microscopiquement, chez les moutons comme chez les bovins, on observe dans les 6 heures (45) une réaction inflammatoire cutanée aiguë (29, 76), avec une dermatite périvasculaire caractérisée par un infiltrat inflammatoire du derme (29, 45, 104, 110). L'œdème superficiel est caractérisé par de larges espaces périvasculaires (qui peuvent être comblés par un fluide pâle, protéinique et éosinophile), des vaisseaux lymphatiques dilatés ainsi qu'une séparation des faisceaux de collagène. Les érosions et ulcérations sont occasionnelles (110). Les vaisseaux touchés sont principalement ceux situés juste sous l'épiderme et jusqu'à la base des follicules pileux (les vaisseaux profonds ne sont qu'occasionnellement atteints) (110).

Tableau 3 : Flore bactérienne présente à la surface cutanée chez un mouton sain et chez un mouton galeux (d'après 48).

Etat de la toison	Espèces bactériennes	Localisation
Toison saine	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus thuringiensis</i> <i>Micrococcus</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Staphylococcus cohnii</i> <i>Staphylococcus xylosum</i>	Surface cutanée
Infestation par <i>P. ovis</i>	<i>Alloiococcus otitidis</i> <i>Acinetobacter</i> sp. <i>Burkholderia</i> sp. <i>Bacillus</i> sp. <i>Bradyrhizobium japonicum</i> <i>Corynebacterium</i> sp. Bactéries reliées à <i>C. baltica</i> <i>P. agglomerans</i> <i>P. rubiacearum</i> <i>Propionibacterium acnes</i> <i>Pseudomonas</i> sp. Protéobactéries reliées à <i>Pseudomonas tolaasii</i> Eubactéries non cultivées <i>Salinicoccus roseus</i> <i>S. marcescens</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus intermedius</i>	Intestin moyen de <i>P. ovis</i> Surface cutanée Surface cutanée et intestin moyen de <i>P. ovis</i> Intestin moyen de <i>P. ovis</i> Intestin moyen de <i>P. ovis</i> Intestin moyen de <i>P. ovis</i> Intestin moyen de <i>P. ovis</i> Intestin moyen de <i>P. ovis</i> Intestin moyen de <i>P. ovis</i> Intestin moyen de <i>P. ovis</i> Intestin moyen de <i>P. ovis</i> Surface cutanée et intestin moyen de <i>P. ovis</i> Intestin moyen de <i>P. ovis</i> Intestin moyen de <i>P. ovis</i> Intestin moyen de <i>P. ovis</i> Intestin moyen de <i>P. ovis</i> Surface cutanée et intestin moyen de <i>P. ovis</i> Intestin moyen de <i>P. ovis</i>

La lésion galeuse peut aller d'un infiltrat périvasculaire minime à une infiltration diffuse du derme papillaire (110). On observe aussi une hypertrophie de l'endothélium, une dilatation vasculaire, une congestion et une légère margination des granulocytes neutrophiles (110).

Chez les animaux infestés par *P.ovis*, il y a prolifération d'un épiderme acanthosique, conduisant à une hyperkératose et une parakératose multifocales et diffuses (99, 110). Après 72 heures (45), dans différentes régions, les cellules épidermiques se séparent du *stratum basale* (spongieuse). Ces régions forment parfois des microvésicules ou des micro-abcès et des pustules si elles se remplissent de cellules inflammatoires (45, 110). La dégénérescence hydropique de l'épiderme est une observation constante (110).

On observe chez le mouton des lésions spécifiques (car non présentes chez les bovins atteints de gale psoroptique, 110), telles qu'une atrophie du brin de laine, une hypertrophie et une fragmentation des muscles arcteurs des poils ainsi qu'une ectasie plus prononcée du canal de la glande apocrine (110) (ces changements dont la pathogénie est incertaine, représentent probablement des réactions secondaires, de la peau des moutons, à une inflammation prolongée). Il est aussi possible d'observer un œdème dans la partie supérieure du follicule pileux ainsi qu'une augmentation légère de la taille des glandes sébacées (hypertrophie sébacée avec prolifération des cellules de la couche glandulaire basale) (110).

I.4.4. Evolution sur l'animal

I.4.4.1. Surface corporelle atteinte

Après une infestation, l'absence de signes cliniques (phase de latence) peut durer de un (12) à 2 ou 8 mois (20, 77, 118) selon le taux d'infestation, la souche parasitaire, l'état d'entretien et la résistance de l'animal.

Les lésions initiales se développent dans les zones enlainées de la surface corporelle (20) et le dos est généralement la première région touchée (12, 99). Au début, les lésions inflammatoires élémentaires sont isolées mais après quelques jours, ces lésions deviennent confluentes (21, 104). Les changements de physiologie cutanée et l'accumulation de matières fécales parasites obligent les *Psoroptes* à migrer en périphérie des lésions (12, 20, 53, 103, 104, 107) et c'est à l'interface zone cutanée affectée/zone cutanée saine qu'ils se nourrissent et pondent (118). Ce phénomène entraîne l'extension des lésions (103) qui se dispersent alors rapidement, de manière exponentielle et parallèlement à l'augmentation du nombre de

parasites (12, 103, 110), sur les flancs, les membres, la tête et la queue (12, 103). Après deux mois (ou plus, selon la souche parasitaire), l'aire lésionnelle peut couvrir plus de 50 % de la surface corporelle provoquant un inconfort extrême (104). Par exemple, deux semaines après l'infestation de moutons Mérinos d'environ 27 kg, Meintjes et coll. (71) évaluent la taille moyenne des lésions à 2 cm², ce chiffre atteint 342 cm² à huit semaines et 2068 cm² après douze semaines.

Après quelques temps, l'évolution des lésions ralentit, voire stoppe complètement, tandis que la réponse immune de l'hôte et le manque de sites pour se nourrir forcent les parasites à se disperser au hasard sur la surface corporelle et à migrer vers les "sites cachés" dans lesquels ils persistent grâce à une activité réduite et une meilleure tolérance de la peau (107). Ces sites sont : le canal auditif externe et le larmier, qui sont les deux principaux, les fosses inguinales, les zones périnéale, scrotale et interdigitées, les sillons et les plis vulvaires ou encore les plis de la peau et toute région corporelle enlainée où les parasites sont protégés par une croûte (12, 107). Dans ces sites, *P.ovis* échappe souvent à la détection (107). Cette localisation possible dans les sites cachés justifie la nécessité de plonger trois fois la tête de l'animal dans la solution lors de la baignade. Il est rare que la population parasitaire disparaisse totalement et que l'animal guérisse naturellement, sans traitement. Même si parfois les moutons semblent récupérer, ils portent toujours une petite population résiduelle d'acariens qui se multiplieront dès que les conditions redeviendront favorables (12).

La colonisation de ces refuges survient en deux circonstances :

- elle est saisonnière et suit un changement climatique et physiologique rendant l'environnement cutané défavorable aux parasites (35, 107) (chaleurs estivales, tonte d'été) ;
- elle appartient à l'évolution normale de la maladie, indépendamment de la saison, en étant liée à l'extension des croûtes, l'induration et la sécheresse de la peau et la dénudation engendrée par la perte de laine (35, 107).

La migration des parasites dans les refuges peut aussi survenir avant ces phénomènes (107).

I.4.4.2. Modifications du comportement

L'irritation continuelle détourne le mouton de son activité de nutrition, perturbe sa digestion (21), mais réduit aussi le temps passé à se reposer, par une augmentation de l'activité physique (grattage) (21), conduisant à une baisse de l'état général (12, 21), un épuisement et une perte protéique au niveau des lésions (21). Il est possible que la perte de poids observée

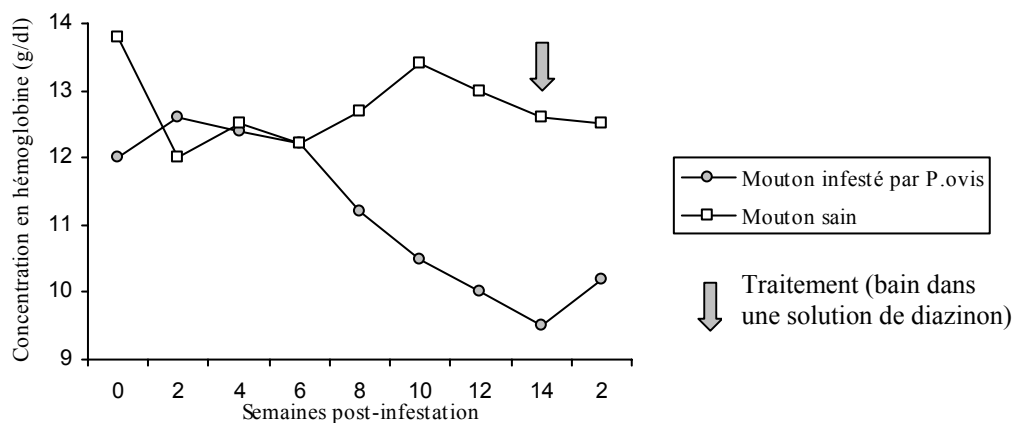
chez les malades résulte de ces diverses perturbations (99). Par exemple, les bovins sévèrement atteints de gale psoroptique ont des difficultés à consommer suffisamment de nourriture, les besoins énergétiques ne sont pas comblés et les animaux sont susceptibles de souffrir d'hypothermie. D'autre part, le stress par le froid chez les ruminants diminue leur capacité de digestion, tandis que la perte de poils et les dommages sur la peau réduisent l'isolement thermique des animaux et accroît ainsi les effets du stress par le froid. Il est possible que les ovins réagissent de manière similaire. Chez les bovins, le gain pondéral n'est généralement affecté que si les lésions couvrent plus de 15 % de la surface corporelle de l'animal. On peut supposer que cette observation s'applique aussi au mouton avant que son gain de poids vif ne soit touché (71).

I.4.5. Modifications des paramètres sanguins

I.4.5.1. Hématologie et biochimie sanguine

La réaction inflammatoire cutanée entraîne une fuite des protéines plasmatiques, d'érythrocytes et de fluide sérique au niveau de la peau (29, 91). Les changements dans les paramètres sanguins connaissent des variations inter-individuelles importantes (76).

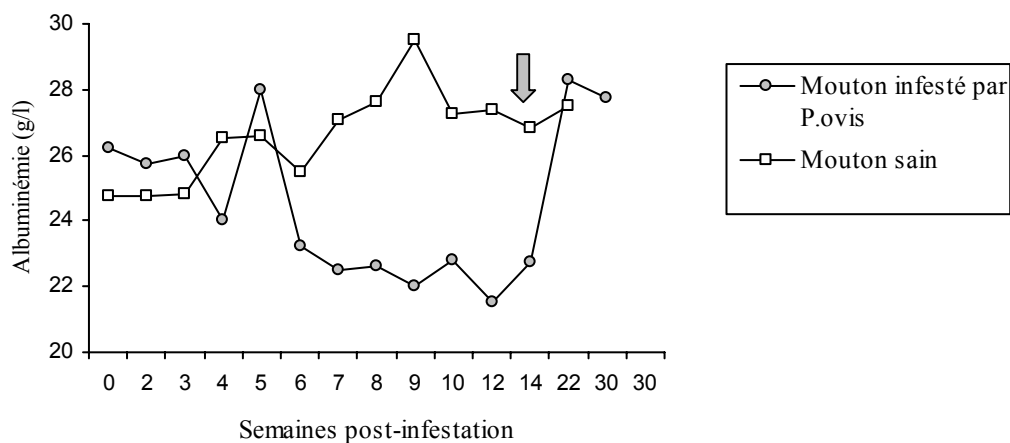
□ La concentration en hémoglobine chute chez les moutons infestés (71, 76), et la différence avec les moutons sains est nette après 7 semaines d'infestation et jusqu'à deux semaines post-traitement (graphique 1) (76). Cette baisse de l'hémoglobinémie est intéressante. Comme l'ont remarqué Nelson et coll. (74), l'anémie ne résulte pas de l'action du parasite (qui n'ingère pas de globules rouges chez le mouton), mais il semble qu'il y ait une suppression de l'érythropoïèse (en effet, même si l'abrasion entraînée par le grattage cause quelques pertes sanguines, ce phénomène est insuffisant pour provoquer une hémorragie) (71, 74, 76). De plus, la baisse du niveau d'alimentation participe à la baisse de l'hémoglobinémie.



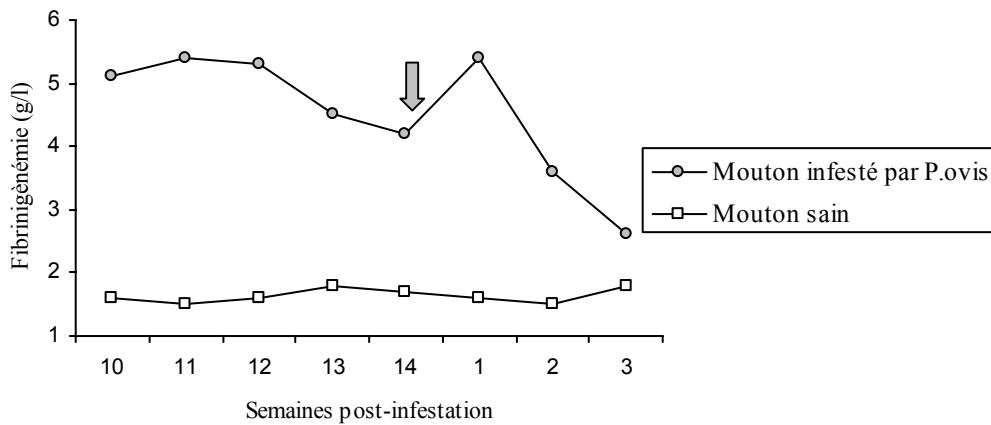
Graphique 1 : Incidence de l'infestation par *P.ovis* sur l'hémoglobinémie chez le mouton (d'après 76).

□ L'albuminémie chute après cinq (76) à six (71) semaines de maladie (mais remonte rapidement après le traitement) (76) (graphique 2). Cette diminution peut être la conséquence de l'anorexie engendrée par l'infestation (5) ou résulter de la perte massive en protéines au niveau cutané (110), due à l'augmentation de la perméabilité capillaire (99).

□ La fibrinogénémie est plus élevée chez les animaux galeux (76) (graphique 3), témoin de la présence d'un phénomène inflammatoire.



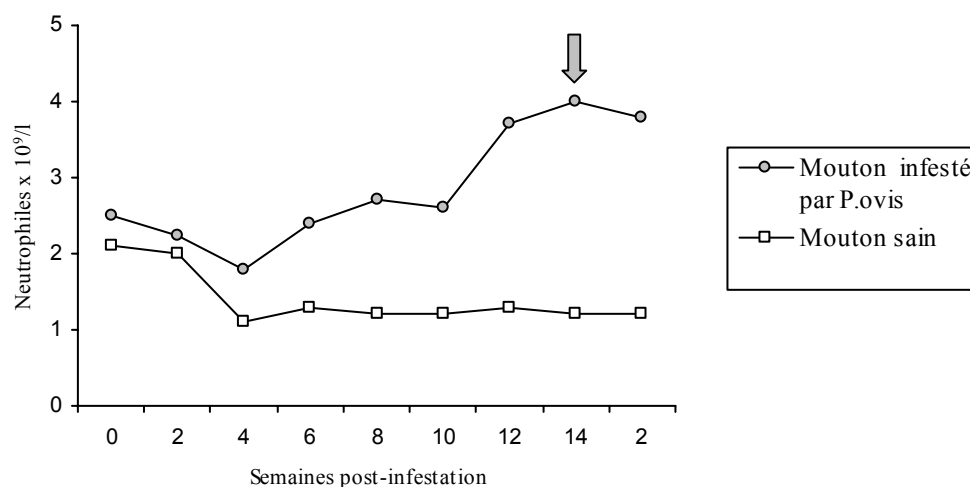
Graphique 2 : Incidence de l'infestation par *P.ovis* sur l'albuminémie moyenne chez le mouton (d'après 76)



Graphique 3 : Incidence de l'infestation par *P.ovis* sur la fibrinogénémie moyenne chez le mouton (d'après 76)

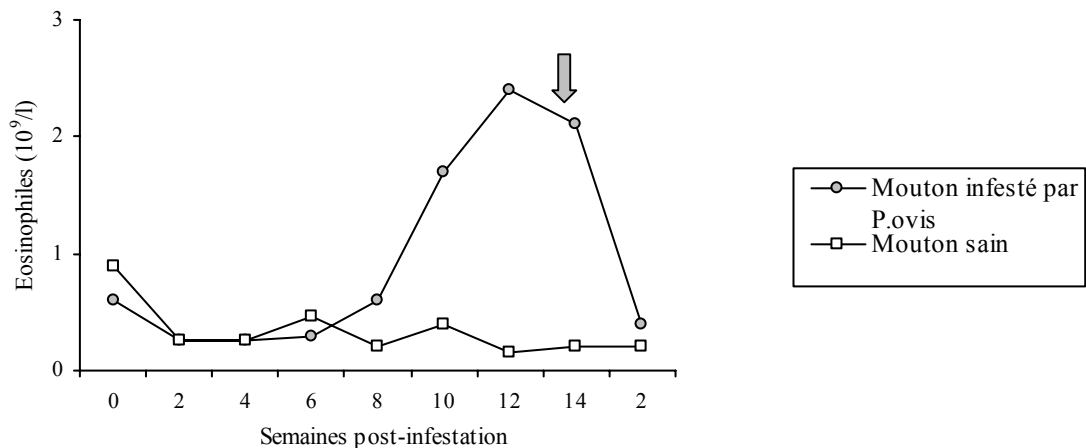
□ Alors que le nombre de globules blancs circulants reste dans les valeurs usuelles (71, 76), les concentrations sanguines en granulocytes neutrophiles et éosinophiles suivent l'évolution des signes cliniques de l'inflammation cutanée et du rétablissement (76, 120) : O'Brien et coll. (76) notent une neutrophilie significative à partir de la 10^{ème} semaine post infestation. Celle-ci elle augmente encore après le traitement (conséquence d'un relargage antigénique fort à la mort des parasites) puis régresse et n'est plus significative 3 semaines après le traitement (76) (graphique 4). Au contraire, Meintjes et coll. (71) observent une baisse du nombre de granulocytes neutrophiles circulants au moment où l'infestation atteint un pic, puis un retour à la normale après le traitement.

On notera qu'inversement aux moutons, les bovins atteints de gale psoroptique présentent une leucopénie et une neutropénie (112, 113).



Graphique 4 : Incidence de l'infestation par *P.ovis* sur le nombre moyen de neutrophiles sanguins chez le mouton (d'après 76).

□ Les animaux infestés développent une éosinophilie significative de la neuvième semaine post infestation jusqu'à la seconde semaine après le traitement (76) (graphique 5). Dans ces études, les animaux ont été vermifugés avant l'expérimentation et la variabilité des taux sanguins en granulocytes éosinophiles observée chez les malades ne dépend donc que de facteurs individuels et environnementaux (112, 113). Notons que chez les bovins, en particulier chez les animaux présentant une dermatite étendue, le déclin du nombre d'éosinophiles après le traitement est précédé d'une augmentation transitoire -mais significative- de l'éosinophilie sanguine (113).



Graphique 5 : Incidence de l'infestation par *P.ovis* sur le nombre moyen d'éosinophiles sanguins chez le mouton (d'après 76)

□ Le nombre de basophiles sanguins augmente lors d'infestation primaire, mais cette basophilie n'est pas constamment rapportée lors d'infestation secondaire (120)

□ A partir de la deuxième (71) ou sixième (76) semaine après l'infestation et jusqu'au traitement, une lymphopénie est notée (76, 71).

I.4.5.2. Modifications sérologiques : les anticorps, témoins de la réponse humorale

La synthèse d'anticorps en réponse aux antigènes/allergènes de *P.ovis* connaît des variations individuelles importantes (121, 24, 70, 50). Deux semaines après l'infestation, la concentration moyenne en globulines chez un mouton galeux augmente fortement, puis reste supérieure aux valeurs usuelles tout au long de la maladie (76). On observe un pic 12 semaines post infestation, alors que l'expression clinique de la maladie est à son maximum (71). Ce paramètre est le témoin d'une réponse anticorps (voir infra) (71). Les anticorps circulants ne sont détectables qu'après 20 à 25 jours de maladie (pour une souche de virulence

moyenne), alors que les lésions sont déjà présentes (12, 57). Leur concentration croît parallèlement aux signes cliniques (61), soutenant l'hypothèse (110, 62) d'une dermatite causée par la réponse immunitaire (l'apparition de cette dermatite peut, en effet, être retardée par un traitement immunosuppresseur) (61). En outre, on observe un pic de la concentration en IgE vers 90 jours après l'infestation (57). Il existe une faible, mais positive, corrélation entre les titres en anticorps et le nombre de parasites (111). Cette observation est en accord avec les travaux de Stromberg et Fisher (110) rapportant que la réponse immunitaire ne suffit pas à canaliser la croissance de la population parasitaire (110).

On notera qu'au niveau de la peau, les concentrations en immunoglobulines sont comparables à celles mesurées dans le sang (12).

I.4.6. Facteurs influençant la pathogénie de la maladie

Différents facteurs influencent la pathogénie de la gale du mouton :

□ Il est évident que la souche de *P.ovis* en cause joue un rôle important dans le développement et la sévérité de la maladie. Certains isolats virulents entraînent une évolution rapide de la maladie, alors que des souches moins pathogènes produisent une forme plus chronique (12). De plus, quelques souches semblent être confinées aux oreilles du mouton, où elles ne sont pas pathogènes. Ce phénomène semble exclure l'implication d'éléments du métabolisme parasitaire en tant que facteurs de virulence (par exemple, la guanine excrétée), car toutes les souches en produisent. Mais, est-ce qu'un aspect quantitatif plus que qualitatif serait susceptible de rentrer en jeu ? Des souches plus virulentes auraient-elles un appétit plus vigoureux et par conséquent excréteraient plus de guanine que les souches moins virulentes (104) ? Dans tous les cas, la présence du parasite vivant est nécessaire à l'expression clinique de la maladie, qui ne dépend pas d'une quelconque substance toxique, comme cela avait été supposé (113).

□ Certains auteurs ont montré l'importance de la microflore dans la biologie des acariens du genre *Psoroptes*. Mathieson et Lehane (69), par exemple, ont suggéré que les différences observées dans la pathogénie de la gale étaient dépendantes des espèces bactériennes digestives portées par les populations de *P.ovis*, et Perrucci et coll. (86) ont montré que les bactéries du genre *Serratia* (présentes dans le tube digestif) pouvaient réduire la virulence de *P.cuniculi*.

□ *Scopulariopsis* sp. est un champignon ubiquiste et commun, pouvant se trouver sur la peau des mammifères. Il a la caractéristique d'être entomopathogène et ses hyphes poussent sur le dos des acariens agents de gales. Perrucci et coll. (87) ont montré que *Scopulariopsis* sp. pouvait avoir un effet pathogène sur *P.cuniculi*, en diminuant la mobilité des acariens et entraînant leur mort précoce. Ces effets pourraient se retrouver chez *P.ovis* et influencer la croissance de la population parasitaire, donc l'évolution de la maladie.

□ Pour terminer, on remarquera que les lésions de gale sont probablement exacerbées par la présence de bactéries qui exploitent l'environnement local lésé, et que la nature des lésions pourrait être en partie déterminée par les espèces bactériennes présentes. Par exemple, *Pseudomonas aeruginosa* excrète une élastase qui digère les protéines des jonctions intracellulaires et la matrice extracellulaire ; *Serratia marcescens* et *Panteoa agglomerans* produisent une lipase extracellulaire (87). Ces espèces ont été identifiées en association avec *P.ovis in vivo* (elles appartiennent à la flore bactérienne intestinale du parasite) (48). De plus, *Serratia marcescens* provoque des infections cutanées et des septicémies chez de nombreux animaux domestiques (68). Mathieson et Lehane (68) pensent que cette bactérie entre par les lésions cutanées ou les hémorragies causées par les acariens, et aggrave la pathologie de la gale. De plus, il est possible que ces bactéries exercent un rôle pathogène chez les *Psoroptes*, ce qui pourrait expliquer la plus grande virulence des parasites qui en sont indemnes (86).

Partie 5 : Diagnostic, traitement et prophylaxie

I.5.1. Diagnostic

Le diagnostic est basé sur la combinaison de signes épidémiologiques (saison, température...) et cliniques, ainsi que sur l'identification de l'agent dans le voisinage et sur les lésions (59).

La gale psoroptique devra être fortement suspectée face à une dermatose contagieuse, prurigineuse et touchant les zones enlainées. Les moutons infestés peuvent aussi présenter un mouvement stéréotypé de la bouche, qui consiste en un mordillement avec protrusion de la langue et claquement des lèvres supérieures, initié par le frottement ou le grattage de la peau en périphérie des lésions (20, 31, 64, 118) (parfois aussi, ce mouvement apparaît sans aucun stimulus) (31). La toison prend un aspect caractéristique, avec une laine souillée, en lambeaux et une alopecie diffuse pouvant affecter de larges régions corporelles (31).

On remarque que l'intensité du prurit est la même lors d'un premier ou d'un second contact avec le parasite (104).

The Sheep Scab Order 1997 (créé sous le Animal Health Act 1981) définit un mouton atteint de gale comme un animal "montrant des signes cliniques de la maladie", ce qui signifie que le mouton présente des signes comportementaux et/ou des lésions manifestes et que *P.ovis* a été isolé (12). Ainsi, les moutons galeux peuvent présenter diverses combinaisons des symptômes suivants :

- *Frottement contre les objets inanimés ou les autres moutons,*
- *Grattage du corps et des oreilles avec les pattes arrières,*
- *Perte de laine discrète à extensive,*
- *Zones de laine tâchées ou cordons de laine, dus au mordillement de la peau,*
- *Croûtes.*

Le diagnostic différentiel de la gale psoroptique ovine doit inclure :

- Les dermatoses prurigineuses, telles que la phtiriose (*Bovicola ovis*) (12, 59) et l'infestation par les mélophages (*Melophagus ovinus*) (12) ;
- Les dermatoses non prurigineuses, telle que la dermatophilose (*Dermatophilus congolensis*) (12) ;
- Les affections à symptomatologie nerveuse telle que la tremblante du mouton (12, 59).

Le diagnostic de certitude repose essentiellement sur l'examen microscopique d'un prélèvement cutané qui consiste en un raclage réalisé au niveau des lésions actives, c'est-à-dire humides et inflammatoires. On utilise le plus souvent une lame de scalpel ou à défaut une cuillère à café. Il faut s'assurer de récolter les couches superficielles de l'épiderme. On prélève en général à deux ou trois endroits différents (surface totale de 10 cm² environ) (H). Pour augmenter l'activité et par conséquent les mouvements des acariens éventuellement présents, on réalise un chauffage modéré de la préparation (par exemple à 37°C). Si l'examen est différé ou si le matériel est expédié vers un laboratoire, les débris cutanés sont enfermés dans un récipient hermétique et solide. On y introduit une humidité relativement élevée essentielle à la survie des acariens (celle-ci peut alors atteindre une semaine) (64).

Un diagnostic précis au niveau de l'espèce nécessite le prélèvement de quelques parasites et leur examen microscopique, sous des grossissements de 100 à 400 fois (l'examen microscopique est plus facile lorsque l'acarien est déposé dans une goutte de chlorolactophénol) (64).

I.5.2. Traitement et contrôle de la maladie

La gamme des produits acaricides est très étendue. Le choix repose sur différents critères : le type de gale, le coût de l'acaricide et la main-d'œuvre, le nombre de moutons à traiter, l'existence d'autres ectoparasites, la longueur de la laine, mais aussi les éventuelles considérations environnementales. On dispose de différentes formulations et méthodes d'application (64, 81).

I.5.2.1. Méthodes d'application

Les bains et les douches aboutissent à la saturation de la toison alors que les pulvérisations, les poudrages et les "pour-on" à effet de surface ne le permettent pas (43).

I.5.2.1.1. Bains

Le bain acaricide est utilisé depuis le XIX^{ème} siècle (64) et c'est William Cooper, en 1843, qui produit le premier bain commercial (77). La balnéation peut se pratiquer en baignoire-couloir ou en baignoire circulaire (43). La baignoire-couloir peut être bâtie ou en tôle, de longueur comprise entre 3 et 10 mètres et contenir 2500 à 10000 litres (43). Pour le traitement de la gale, il faut immerger les animaux pendant au moins cinq minutes (81) et leur tête doit être plongée à deux reprises dans le bain (43). La baignoire circulaire est une baignoire tronconique contenant 1280 à 4000 litres, avec ou sans îlot central pour le manipulateur. Le modèle Chaminade commercialisé en France a une capacité de 1800 litres. Les moutons (quatre par quatre) effectue un tour et demi dans la cuve en trente secondes (43).

La balnéation est un système rapide et efficace (si effectuée dans les 4-8 semaines après la tonte) (43, 64), mais qui est difficile à réaliser correctement et demande des installations coûteuses, de la main-d'œuvre, de grands volumes de préparation acaricide. Elle impose un stress aux animaux et peut éventuellement permettre la transmission de germes (43, 64). Le bain peut, en outre, poser des contraintes au niveau environnemental (élimination des eaux de vidanges) (64).

I.5.2.1.2. Douches

Les douches collectives consistent soit en un couloir d'aspersion au travers duquel passent les animaux, soit en une douche circulaire dans laquelle les animaux sont enfermés (la solution est pulvérisée par-dessus et par-dessous). Elles sont fixes ou mobiles (64) et chaque animal reçoit 30 à 50 litres de préparation à basse pression (4-5 kg/cm²). Le liquide filtré est réutilisé. Ce système nécessite un volume d'acaricide très faible (200 à 2000 litres), mais plus ce volume est faible plus la concentration en principe actif doit être contrôlée (43). La douche individuelle permet de traiter chaque animal séparément (on utilise un pulvérisateur à main ou à moteur) (64).

Ce système permet de traiter l'ensemble du corps de l'animal, y compris les zones peu accessibles (dessous de la queue, périnée, entre-cuisse...), le stress est moindre comparé à la balnéation et l'imprégnation en acaricide est bonne si la laine est assez longue et si le temps d'application de 3-4 minutes est respecté (43). De plus, après le traitement, on peut pulvériser le surplus de produit sur les murs et le matériel (43). Cette technique est économique et adaptée pour les petits troupeaux (64). Les inconvénients sont liés au faible volume utilisé dans certains cas, qui peut être à l'origine d'une contamination bactérienne ou d'une action acaricide insuffisante si une concentration efficace n'est pas maintenue (43).

I.5.2.1.3. Pulvérisations

On les utilise en général pour le traitement de quelques animaux ou pour la protection de certaines régions telles que la vulve ou la base des cornes (43). Les pulvérisations ne remplacent pas le bain ou la douche (43). La solution acaricide est pulvérisée à des pressions de 3.5 à 7 kg/cm² et il faut compter 0.5 à 8 litres par animal en fonction de son âge, de sa taille, du type et de la longueur de sa laine (43). Cette méthode est simple, rapide et permet d'utiliser un faible volume, concentré en produit. Les animaux ne sont pas stressés, l'équipement est mobile et bon marché (43). Néanmoins, l'imprégnation est souvent insuffisante, favorisant l'apparition de résistance chez les parasites et l'opérateur est plus exposé (43).

I.5.2.1.4. Application topique dorsale

Un faible volume d'acaricide (5 à 10 ml) est déposé le long de la ligne du dos ("pour-on") ou en un endroit bien précis ("spot-on") (43, 81). Le produit diffuse sur la totalité de la toison, au

niveau des couches superficielles de la peau (64). Le stress et la main-d'œuvre sont très réduits et la demande en eau est nulle (donc pas de refroidissement des animaux) (43). On peut traiter juste après la tonte. Cette méthode ne nécessite aucune préparation de produit et la dose appliquée sur chaque animal est précise (43). Elle est donc tout à fait adaptée dans les pays sahéliens où le problème du manque d'eau se pose (81). Pourtant, ces topiques ne permettent pas aujourd'hui de traiter correctement la gale psoroptique et lors de l'utilisation il est difficile de distinguer les animaux traités de ceux qui ne le sont pas (absence de marqueur mélangé au produit) (43).

I.5.2.1.5. Traitements systémiques

Le produit s'administre sous forme d'injection. Après administration, il se retrouve au niveau du sang et de la lymphe. Les molécules utilisées sont en général douées d'une grande rémanence, par conséquent, les délais d'attente imposés pour le lait et la viande sont longs (64, 81).

I.5.2.2. Produits acaricides

En 180 avant Jésus Christ, afin de contrôler la gale ovine, Cato Le censeur préconisait déjà l'onction des moutons, après la tonte, avec un mélange équivalent de lie d'huile d'olive, d'eau (dans laquelle des graines de lupins ont trempé), et de lie de bon vin (dont le nom n'était pas précisé) (77). Beaucoup de composés différents ont par la suite été utilisés, on peut citer entre autre le mercure, l'hellébore ou l'essence de térébenthine. Le sulfure, la nicotine, l'arsenic et le phénol furent les plus efficaces et les plus couramment employés (même s'ils tâchaient et dévaluaient les toisons) (77).

Les principaux acaricides utilisés actuellement en France sont présentés et résumés dans le tableau 4. Etant donné qu'aucun produit n'est actif sur les œufs, un seul bain permet rarement de guérir la gale (33). Le protocole habituel est d'effectuer deux traitements à 10 jours d'intervalle (33).

I.5.2.2.1. Organochlorés

Il a fallu attendre 1947 pour que Downing teste les organochlorés comme antiparasitaires pour la balnéation (77). Il observa qu'ils permettaient une protection de 130 jours. Cela constitua un remarquable changement, mais l'accumulation de ces produits dans

l'environnement et les organismes animaux (résidus) (64, 81) entraîne leur interdiction en France dès 1985 (77). En raison de sa grande efficacité et de son faible coût le lindane est encore utilisé dans certains pays, sous forme de douche dont la concentration varie entre 0.25 et 1‰ (64).

I.5.2.2.2. Organophosphorés

Les organophosphorés remplacèrent avec succès les organochlorés (77). Ces composés s'accumulent peu dans les tissus et sont peu rémanents (64, 81). Leurs performances sont mauvaises en présence de matières organiques ou si leur dilution est insuffisante, ou encore, si le mouton n'est pas plongé assez longtemps dans la solution (77). On les utilise essentiellement sous forme de bain ou de douche (59, 77, 64, 43).

- Le diazinon (Dimpygal[®], Diazadip[®]), grâce à une baignade d'une minute dans une solution à 20 ppm, assure la destruction des parasites et les moutons sont protégés des réinfestations pendant 8 semaines (43) ; le délai d'attente pour l'abattage est de quatorze jours, pour le lait, il est nul pour le Diazadip[®] et de deux jours pour le Dympigal[®] (81, 84).
- Le propétamphos (Blotic[®]) s'emploie en baignade de 1 minute, à 125 ppm. Il élimine les parasites et protège les animaux pendant 4 semaines (43, 84).
- Le phoxim (Sébacil[®] solution), à la concentration de 500- 2000 ppm, en bain, douche ou pulvérisation, est efficace pendant 7 semaines (43, 64, 84). Le coumaphos est présenté sous forme de poudre hydrodispersible à 50 % de principe actif (43), mais aucune autorisation de mise sur le marché n'existe pour le mouton (84).
- Le malathion est employé en France pour le traitement des locaux et du matériel d'élevage (Meri-Muls[®]80) (84).

I.5.2.2.3. Amidines

Ce groupe ne renferme qu'une molécule d'usage courant, l'amitraz (Taktic[®]). L'amitraz est liposoluble, rapidement dégradé et s'accumule peu dans les tissus de l'animal. On l'utilise sous forme de bain ou de douche (64, 81) à des concentrations de 0.025 à 0.05 % (81). Il

nécessite un délai d'attente de quatorze jours pour la viande et d'une journée pour le lait (81, 84).

I.5.2.2.4. Pyréthriinoïdes

Utilisés depuis le début des années 1980, les pyréthriinoïdes sont des produits de synthèse analogues aux pyréthrines naturelles mais beaucoup plus stables et plus actifs (64, 81). Après application, sous forme de bain, de douche ou de "pour-on", ils ne traversent pas la peau mais diffusent sur l'ensemble du pelage grâce à leur lipophilie. Ils ne s'accumulent donc pas dans les tissus et ont une faible toxicité pour l'homme et les animaux (64, 81). Ils ne font l'objet d'aucun délai d'attente (64, 106). Les plus employés contre la gale sont le fenvalérate, la deltaméthrine et la fluméthrine (64) :

- Le fenvalérate (Acadrex[®]60) est recommandé en bain (à 150 ppm) ou en pulvérisation (à 204 ppm) (43) ; le temps d'attente est nul (84).
- La deltaméthrine (Butox[®]) a longtemps été utilisée pour la baignation, la douche ou en pulvérisation, formulations pour lesquelles le temps d'attente est nul (84). Sa concentration efficace est de 50 ppm. A l'heure actuelle, il existe également une formulation "pour-on" d'une émulsion huileuse à 1 % (81), avec un délai d'attente de trois jours pour la viande (84).
- Il existe en France une spécialité à base de fluméthrine, mais celle-ci n'est disponible que pour les bovins (84).

Les produits à base de pyréthriinoïdes, formulés sous forme de spot-on ou de pour-on, n'ont pas d'autorisation de mise sur le marché car, en laissant certaines zones (comme le ventre) sans protection, ils n'assurent pas une efficacité absolue. Ce type d'application induit la formation d'un gradient de concentrations décroissant du dos jusqu'au ventre, ce qui peut favoriser l'apparition de résistance (64).

I.5.2.2.5. Avermectines et milbémycines

Ces molécules complexes ont été introduites dans les années 70 (59). Les endectocides ont l'avantage de présenter un large spectre d'activité comprenant les nématodes, les insectes et les acariens (64, 77). On les administre facilement par injection sous-cutanée ou

intramusculaire, mais on les utilise aussi sous forme de "pour-on" et plus récemment chez le mouton, sous forme de bolus intragastrique à libération continue (à visée thérapeutique et prophylactique), possédant une activité de 100 jours (64, 77). Ces molécules s'accumulent dans les tissus dont elles s'éliminent lentement, imposant de longs délais d'attente (64).

- Avec deux injections sous-cutanées de 200 µg/kg (59, 64,77, 81), espacées de 7 à 10 jours (77, 81), l'ivermectine (Ivomec[®]) est efficace contre la gale ovine et constitue le seul moyen efficace permettant l'éradication des cas d'otacariase. L'ivermectine impose un délai d'attente de 28 jours pour la viande, elle est interdite chez les laitières en lactation ou moins de 21 jours avant l'agnelage (84).
- Une seule injection de moxidectine (Cydectine[®]) (à la posologie de 200 µg/kg) est totalement efficace (115, 77). Le délai d'attente pour la viande est fixé à 40 jours, elle est interdite chez les femelles en lactation, les agnelles gravides et les brebis tarées dans les 60 jours avant la mise bas (84).
- L'effet thérapeutique de la doramectine (Dectomax[®]) s'observe pour une dose unique de 300 µg/kg (77, 115). Le temps d'attente pour la viande est de 35 jours pour une administration par voie intramusculaire, 56 jours pour une injection sous-cutanée. Cette molécule est interdite chez les brebis laitières (84).

I.5.2.2.6. Autres produits

Un autre groupe de produits, les régulateurs de croissance des insectes (produits non polluants) permettraient un contrôle de la maladie, de même que le fipronil (un insecticide phénylpyrazolé, peu toxique pour les mammifères, mais pour lequel il n'existe aucune formulation pour les ovins). Des produits naturels comme le linalool et l'huile de lavande auraient aussi des propriétés acaricides, mais des études plus approfondies doivent encore être effectuées (77).

A ce jour, aucun de ces produits n'a prouvé son efficacité sur les acariens.

Pour terminer, on citera quelques méthodes de lutte biologiques. Une méthode consiste à ensemercer la peau ou la toison avec des espèces fongiques prédatrices de *P.ovis*. *Metarhizium anisopliae* est par exemple un champignon pathogène pour *Psoroptes* ; des essais effectués sur *P.cuniculi* montrent que les acariens morts sont encore source de

Metarhizium pour leur congénères jusqu'au 18^{ème} jour après leur mort (26), permettant ainsi une lutte prolongée contre les parasites. L'ensemencement peut aussi être fait avec des souches de bactéries, normalement commensales de *P.ovis*, mais génétiquement modifiées pour contenir des toxines létales pour le parasite (104).

Par ailleurs, comme les différentes races ovines montrent une sensibilité différente à la même souche de *Psoroptes*, la possibilité de sélectionner les moutons sur leur résistance génétique pourrait aussi être envisagée (104).

I.5.3. Prophylaxie

En l'absence actuelle de toute prophylaxie vaccinale, on applique les mesures suivantes :

- les locaux occupés par les animaux galeux doivent subir un vide sanitaire d'au moins trois semaines ;
- les animaux nouvellement acquis ne sont pas introduits dans le troupeau sans un examen clinique approfondi et un traitement acaricide systématique ;
- l'ensemble des animaux est traité dès qu'un cas de gale est observé au sein du cheptel ;
- les mesures d'hygiène générale sont appliquées.

Tableau 4 : Composés disponibles en France pour le traitement et/ou la prévention de la gale psoroptique du mouton

<i>Molécule</i>	<i>Nom déposé</i>	<i>Laboratoire</i>	<i>Indications</i>	<i>Mode(s) d'utilisation</i>	<i>Délais d'attente</i>
Organophosphorés					
- Diazinon	Dimpygal [®]	Noé	Tiques, puces, poux, mélophages, agents de gale	Pulvérisation, bain	Viande et abats : 14 j ; Lait : 4 traites (2 j)
	Diazadip [®]	Schrering-Plough		Pulvérisation, bain	Viande et abats : 14 j ; Lait : nul
- Propétamphos	Blotic [®]	Noé	Poux, mélophages, acariens	Pulvérisation, bain	Viande et abats : 14 j ; Lait : 4 traites (2 j)
- Phoxim	Sébacil [®] solution	Bayer	Parasites externes	Bain, douche, aspersion	Viande et abats : 28 j Lait : ne pas administrer aux femelles laitières dont le lait est destiné à la consommation
Amidines					
- colon	Taktic [®]	Intervet	Gales sarcoptique, psoroptique et chorioptique ; mélophages, tiques	Pulvérisation, bain	Viande et abats : 14 j ; Lait : 2 traites (1 j)
Pyréthroïdes					
- Fenvalérate	Acadrex [®] 60	Novartis	Agents de la gale	Pulvérisation, bain	Viande et abats : nul ; Lait : nul
- Deltaméthrine	Butox [®] 50 %	Intervet	Agents de la gale, tiques, poux, mélophages, mouches	Pulvérisation, bain	Viande et abats : 3 j ; Lait : nul
	Butox [®] 7.5 Pour on	Intervet		Pour-on	Viande et abats : nul ; Lait : nul
Lactones macrocycliques					
- Ivermectine	Ivomec [®]	Mérial	Strongyloses gastro-intestinales, strongyloses pulmonaires, oestrose, gales sarcoptique et psoroptique, mélophages	Injection sous-cutanée stricte	Viande et abats : 28 j Lait : interdit chez les brebis laitières en lactation et les femelles moins de 21 jours avant la mise bas
- Moxidectine	Cydectine [®]	Fort Dodge	Nématodes gastro-intestinaux, nématodes de l'appareil respiratoire, larves d'insectes, agents de la gale psoroptique	Injection sous-cutanée	Viande et abats : 40 j Lait : ne pas utiliser chez les brebis laitières ainsi que chez les agnelles gravides et les brebis tarées dans les 60 jours avant la mise bas
- Doramectine	Dectomax [®]	Pfizer	Nématodes gastro-intestinaux, nématodes de l'appareil respiratoire, agents de la gale psoroptique, larves d' <i>Oestrus ovis</i> .	Injection sous-cutanée ou intramusculaire	Viande et abats : voie sous-cutanée : 56 j ; voie intramusculaire : 35 j Lait : ne pas utiliser chez les femelles laitières, en lactation, au tarissement, productrices de lait de consommation, ni chez les femelles gravides futures productrices de lait de consommation, dans les deux mois précédant la mise bas

Chapitre II : Mécanismes de protection de la peau

Comme tout organisme étranger, *P.ovis* provoque la mise en place de divers mécanismes immunitaires chez le mouton. Afin de pouvoir comprendre les réactions spécifiques à ce parasite, la partie II présente les principaux systèmes de défense disponibles au niveau de l'organe cutané des ovins : moyens de protection non immunologiques ou immunologiques, ainsi que leurs effecteurs respectifs et les mécanismes d'action.

La figure 8 présente les trois voies générales par lesquelles l'organisme animal se défend contre les invasions microbiennes (117) :

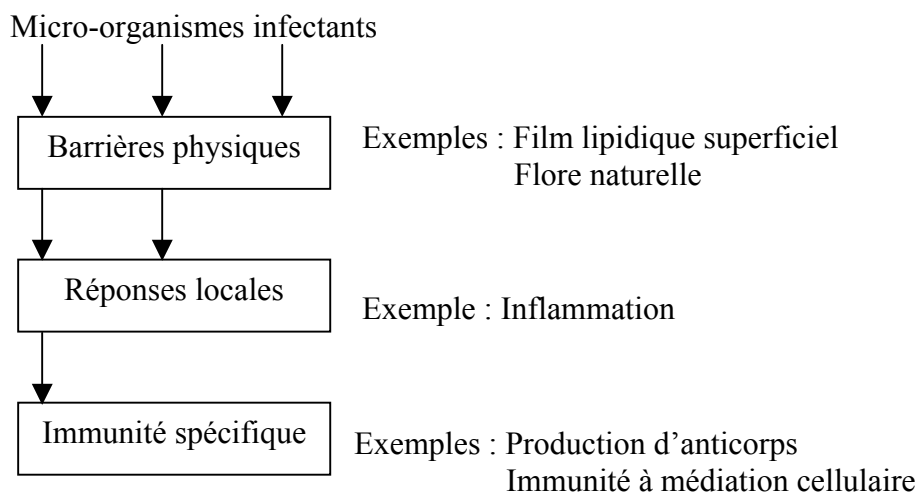


Figure 8 : Les trois voies générales de défense de l'organisme animal contre les invasions microbiennes (d'après 117).

Partie 1 : Mécanismes de protection non immunologiques et effecteurs

Une des fonctions les plus importantes de la peau est de présenter une barrière aux microorganismes. Elle représente un obstacle physique efficace auquel s'ajoutent une desquamation cellulaire continue, une dessiccation et un pH relativement bas, dû à la richesse du sébum en acides gras. De plus, la peau héberge une flore bactérienne empêchant l'établissement d'autres bactéries ou éléments fongiques (voir I.4.3, tableau 3). Le tableau 5

reprend les mécanismes de protection non immunologiques présentés au niveau de la peau chez les ovins.

Néanmoins, si l'environnement cutané est perturbé, ses propriétés de protection sont diminuées et des infections cutanées peuvent apparaître, en particulier au niveau des régions axillaires et inguinales, parties du corps où le pH et l'humidité sont relativement élevés. C'est pourquoi, le risque infectieux est augmenté chez les animaux vivant dans des zones humides ou boueuses (117).

Tableau 5 : Les mécanismes de protection non immunologiques de la peau chez le mouton (83).

Organe	Effecteurs	Fonction
PEAU	Laine, poils, lanoline, kératine	Protection contre les intempéries ; maintien de la température corporelle ; protection contre les pathogènes ; la desquamation élimine les micro-organismes.
	Glandes sébacées et sudoripares	Le sébum et la sueur à la surface cutanée forment un film lipidique protecteur. Le pH acide de la surface cutanée peut restreindre la colonisation par les micro-organismes.
	Cellules de Langerhans et cellules dendritiques dermiques	Capture des protéines étrangères ; réparation des plaies ; les cellules forment un réseau cellulaire (capture des pathogènes ?) ; cellules présentatrices d'antigènes

Partie 2 : Mécanismes de protection immunologiques et effecteurs

II.2.1. Immunité naturelle : rôle et effecteurs

L'immunité naturelle (ou innée) est le fait de différents mécanismes effecteurs permettant le rejet par l'organisme de tout agent étranger. A la différence de l'immunité acquise, elle n'est ni spécifique, ni plus efficace après plusieurs rencontres avec un agent infectieux particulier (67, 117). Le système immunitaire inné du mouton a été peu étudié. Les données disponibles suggèrent qu'il est similaire à celui des autres mammifères. Les réponses spécifiques chez les

ovins pourraient provenir d'une combinaison entre le milieu où vit le mouton et l'effet de la sélection opérée par l'Homme. En outre, des différences dans l'épaisseur et la longueur de la laine peuvent influencer les variations de résistances aux ectoparasites et autres pathogènes cutanés (83).

L'immunité naturelle fait intervenir des facteurs solubles tels que le lysozyme, le complément, les protéines de la phase aiguë de l'inflammation, les phagocytes et les cellules natural killers (NK) (67).

II.2.1.1. Protéines de la phase aiguë de l'inflammation chez le mouton

L'inflammation correspond à la réponse des tissus à une blessure (figure 9). Elle a pour effet de diriger les effecteurs moléculaires et cellulaires vers le site de la lésion tissulaire. En règle générale, les granulocytes neutrophiles sont les premières cellules sur le site de l'inflammation aiguë, elles sont suivies par les macrophages et les lymphocytes en cas de stimulation immunologique (67).

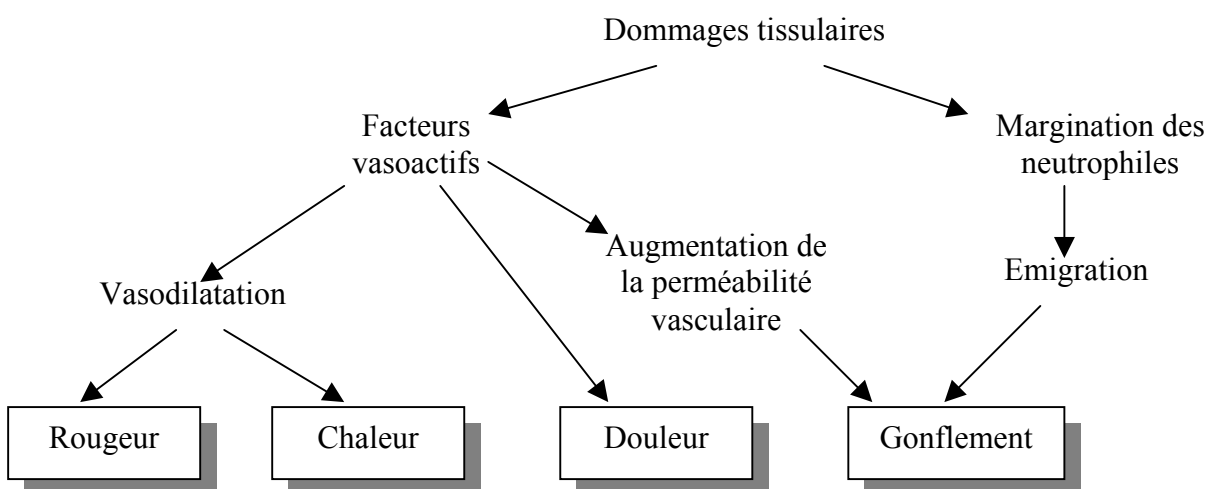


Figure 9 : Les quatre signes cardinaux de l'inflammation, mis en évidence par Celsius (42 av. JC – 38 apr. JC) (d'après 117).

Les protéines de la phase aiguë sont des molécules sériques synthétisées par le foie, sous l'influence de l'interleukine (IL) 1, de l'IL-6 et du tumor necrosis factor α (TNF- α). Leurs concentrations augmentent dans les heures suivant l'infection, pour retrouver des valeurs normales en 24-48 heures (67, 117). Ces effecteurs comprennent, entre autre (117), les

protéines du complément, les inhibiteurs de protéases, les interférons (INF, molécules limitant l'extension des infections virales) (67), comme les INF- α et β , ou l'INF- γ qui jouent un rôle dans l'immunité. Ces molécules sont présentées dans le tableau 6. Les plus importantes sont la protéine C-réactive (CRP), la protéine sérique P amyloïde (SAP) et la protéine sérique A amyloïde (SAA). La concentration sanguine de ces protéines peut être multipliée par mille lors d'infection bactérienne ou de dommages tissulaires (117). La CRP et la SAP sont étroitement liées structurellement et fonctionnellement ; en général, seule l'une des deux est une protéine de la phase aiguë pour une espèce donnée. La CRP n'en est pas une pour les bovins (117), on peut penser qu'il en est de même dans l'espèce ovine.

Un second groupe de protéines de la phase aiguë comprend des molécules comme l' α 1-antitrypsine, l' α 1-antichymotrypsine, l' α 2-macroglobuline ou encore l'haptoglobuline. Leur concentration sérique est multipliée par deux ou trois lors de l'inflammation. L'haptoglobuline est une protéine majeure de la phase aiguë chez les ruminants, elle réduit la disponibilité du fer pour les microorganismes mais aussi pour la synthèse des hématies, c'est pourquoi une anémie est fréquemment associée aux infections sévères ou chroniques (117). D'autres protéines sont des protéines "négatives" de la phase aiguë car leur taux diminue au cours de l'inflammation aiguë. Ce sont l'albumine, la pré-albumine et la transferrine (117).

Tableau 6 : Protéines connues de la phase aiguë de l'inflammation chez le mouton (d'après 83)

Phase aiguë	Protéines	Fonction
<u>Phase précoce (locale)</u> : sécrétées par les cellules épithéliales, endothéliales et les macrophages activés.	Cytokines : IL-1 β , TNF- α , IL-6.	Non testées, mais il est probable que ces molécules aient une action sur les cellules hépatiques afin de stimuler la synthèse des réactifs de la phase tardive.
<u>Phase tardive (systémique)</u>	Haptoglobuline, céruloplasmine et fibrinogène Albumine	Non testées. Diminue dans le plasma.

II.2.1.2. Complément

Il existe chez le mouton, comme chez tous les mammifères, la voie classique et la voie alterne. Les cascades réactionnelles que l'on peut observer dans cette espèce sont les mêmes que celles observées chez les autres mammifères.

Les études portant sur la structure protéique et génétique des éléments de la cascade du complément ovin sont limitées. Une molécule de même structure et fonction que le CD59 (protectine) (67) a été identifiée au niveau de la membrane érythrocytaire ovine. Les globules rouges du mouton possèdent aussi une protéine membranaire présentant une activité de cofacteur du facteur I, permettant la conversion du C3b en iC3b (l'activité de cette protéine pourrait indiquer qu'il s'agit d'un analogue du CD46). De plus, divers composants du complément ont été identifiés chez le mouton, c'est le cas du C1r, du C4, du facteur B...(tableau 7) (83). Peu de travaux ont été menés pour identifier les récepteurs cellulaires pour les produits de clivage des composants du complément. Le récepteur pour le CR3 est exprimé sur les macrophages, les granulocytes et la plupart des lymphocytes. Le plasma ovin est une riche source d'anaphylatoxines (C3a, C5a) pour lesquelles les granulocytes neutrophiles, mais surtout les granulocytes basophiles et les mastocytes expriment des récepteurs qui diffèrent selon le stade de maturation de ces cellules (83).

Le niveau d'activité du complément varie selon les fluides corporels et l'âge de l'animal. Tous les composants de la voie classique sont présents dans le sérum des moutons adultes ainsi que chez le fœtus (chez qui l'activité du complément est réduite). L'activité de la voie classique décline durant les 3 premiers mois suivant la naissance, pour atteindre le niveau observé chez l'adulte vers 1 an. Au contraire, l'activité de la voie alterne est faible pendant les 6 semaines après la naissance et augmente ensuite jusqu'à son niveau adulte, atteint aux alentours de 3 mois d'âge (83). Cette diminution post-natale de l'activité du complément et son faible niveau d'activité sérique chez l'agneau nouveau-né avant la tétée, indiquent qu'il existe un transfert colostrale de ses composants (83).

Tableau 7 : Principaux composants du complément, identifiés chez le mouton et leur fonction (d'après 67 et 83).

Composants du complément identifiés chez le mouton	Fonction
Voie classique	
C1 (C1q, C1s, C1r)	Forment le complexe C1q-C1r ₂ -C1s ₂ , dépendant du calcium ; le C1q se lie aux immunoglobulines complexées pour activer la voie classique.
C2 C4, C4a	Molécules de la voie classique, activées par le C1s pour former une C3-convertase, le C4b2a.
C3 (C3b, iC3b)	Le C3 actif (C3b) est une opsonine qui active la voie lytique ; le C3a provoque la dégranulation des mastocytes et la contraction des muscles lisses ; iC3b, C3d, C3e et C3g sont des produits de dégradation du C3b.
C5 (C5a, C5b)	Le C5b, fixé sur une membrane, initie la voie lytique ; le C5a est un facteur chimiotactique pour les macrophages et les granulocytes neutrophiles, il provoque la dégranulation des mastocytes et la contraction des muscles lisses, il augmente la perméabilité vasculaire.
C6 C7 C8 C9	Composants de la voie lytique qui s'assemblent en présence du C5b pour former le complexe d'attaque membranaire et provoquer ainsi la lyse cellulaire.
Voie alterne	
Facteur B Facteur D	Le facteur B se lie au C3b en présence des activateurs de la voie alterne, puis est clivé par le facteur D (enzyme sérique) pour former la C3-convertase C3bBb.
C4-binding protein Facteur H Facteur I	Le C4-bp, lié au C4b, et le facteur H, lié au C3b, sont des cofacteurs pour le facteur I qui clive et inactive le C3b et le C4b.
Properdine	Stabilise C3bBb, ce qui accélère la boucle d'amplification.
Régulation	
C1-inhibitor	Se lie et inactive le C1r ₂ et le C1s ₂ .
Cofacteur protéique membranaire CD46	Haut degré d'activité au niveau des érythrocytes ovins
Facteur accélérant la dissociation (DAF, « decay accelerating factor, ou CD55)	Exprimé sur les érythrocytes et les lymphocytes CD55 et CD46 limitent l'activation de la voie alterne et le développement des C5-convertases.
CD59	Exprimé sur les macrophages alvéolaires, les cellules sanguines mononucléées et les granulocytes. CD59 limitent l'activité des C8 et C9 autologues.
Protéine-S (vitronectine)	Lie le complexe C5b, C6, C7 et l'empêche de se fixer sur les membranes.
C-8 binding protein iC3b- receptor C3a-receptor C4a-receptor	

II.2.1.3. Cytokines du mouton

Les cytokines sont un groupe de molécules, synthétisées par les leucocytes (dans certains cas par d'autres types cellulaires), qui sont impliquées dans la transmission des signaux entre les cellules du système immunitaire. Elles se nomment interleukines (IL), interférons (INF), facteurs nécrosant les tumeurs (TNF) et facteurs stimulant les colonies (ou colony stimulating factor, CSF) (67). Les cytokines ont un rôle important dans le contrôle de la réponse immunitaire. De plus, elles modulent la différenciation et l'activation des cellules souches hématopoïétiques ainsi que l'activation des lymphocytes et des phagocytes. Certaines contrôlent la balance entre les réponses humorales et cellulaires, d'autres peuvent intervenir dans l'inflammation (67).

18 gènes codant pour des cytokines ont été identifiés chez les ovins, une partie d'entre elles a été caractérisée au niveau de leurs protéines constitutives et de leurs fonctions (83).

II.2.1.4. Cellules réactionnelles

L'immunité naturelle fait aussi intervenir des cellules phagocytaires de la lignée myéloïde. Ces cellules proviennent de cellules souches localisées dans la moelle osseuse (*myéloïde* vient du grec *myelos* signifiant moelle osseuse) (figure 10). Elles regroupent les érythrocytes, les thrombocytes, les monocytes (appelés macrophages lorsqu'ils ont migré dans les tissus) et les granulocytes. Seules ces deux dernières catégories de cellules nous intéressent dans le cadre de notre étude. Les annexes 1 et 2 donnent de plus amples détails concernant les propriétés et les fonctions de ces cellules.

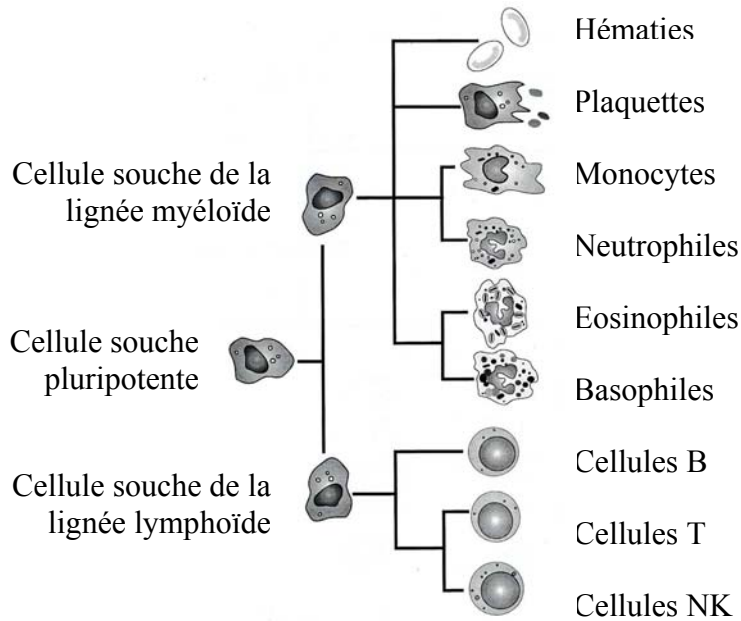


Figure 10 : Origine des cellules issues de la moelle osseuse. Notez que les cellules lymphoïdes sont originaires de souches cellulaires différentes des cellules de la lignée myéloïde (d'après 117).

II.2.1.4.1. Macrophages

Les macrophages sont des cellules d'environ 15 μm de diamètre, possédant un cytoplasme abondant, au centre duquel se trouve un noyau simple, rond, en forme de haricot ou dentelé (117). Comme toutes les cellules du système phagocytaire mononucléé, auquel ils appartiennent, les monocytes naissent dans la moelle osseuse après maturation de cellules appelées monoblastes. Ces dernières se transforment en pro-monocytes, puis en monocytes (cellules circulantes). Cette évolution se fait sous la dépendance des CSF. Dans le sang, les monocytes circulent pendant trois jours avant de pénétrer dans les tissus et de se développer en macrophages. Les macrophages tissulaires sont non seulement issus des monocytes mais aussi d'une prolifération locale ; leur durée de vie est assez longue (le taux de remplacement est d'environ 1% par jour, à moins qu'ils ne soient activés par un phénomène inflammatoire ou des dommages tissulaires).

Les macrophages ont différents rôles dont le principal est la phagocytose : ils sont attirés par des produits bactériens, des molécules du complément (comme le C5a), mais aussi par des molécules relarguées par des cellules ou des tissus lésés. Les macrophages détruisent les organismes étrangers grâce à des mécanismes oxydatifs et non oxydatifs liés aux lysosomes, et l'une de leur fonction consiste en l'élimination des cellules mortes.

L'activité des macrophages peut être stimulée et il existe différents degrés d'activation. Ainsi, quand les monocytes entrent pour la première fois dans un tissu enflammé, ils acquièrent la fonction de macrophagie, augmentent l'expression de leurs récepteurs membranaires aux anticorps et au complément ainsi que leur sécrétion de protéines et d'enzymes lysosomiales. Ces cellules sont alors nommées macrophages inflammatoires. Si l'organisme étranger persiste pour une longue période, les macrophages s'accumulent en grand nombre autour de ce matériel et ces cellules sont alors appelées cellules épithélioïdes. Si elles tentent d'ingérer une particule trop large pour être phagocytée par une cellule seule, les cellules épithélioïdes peuvent fusionner pour former des cellules géantes multinucléées (c'est ce qui se passe dans les lésions tuberculeuses chez certaines espèces telles que les bovins ou l'homme ou les lésions à corps étranger).

Les macrophages possèdent à leur surface divers récepteurs ayant des fonctions déterminées : un récepteur de transport pour la transferrine (CD71), des récepteurs aux cytokines (le CD25 pour l'interleukine-2 par exemple), des récepteurs aux molécules du complément (CD35 ou CR1 pour le C3b, CD11b et CD18 pour un fragment du C3b), ainsi que des récepteurs pour les anticorps (CD64 ou FcγRI, CD32 ou FcγRII, CD16 ou FcγRIII).

Enfin, les macrophages sont des cellules sécrétoires, ils synthétisent de nombreuses protéines dont certaines sont secrétées de façon continue (comme le lysozyme et les C2, C3, C4 et C5 du complément), alors que d'autres sont relâchées uniquement lors de la phagocytose (protéases lysosomiales, collagénases, élastases et activateurs du plasminogène). De plus, les macrophages sécrètent quatre protéines (cytokines) jouant un rôle clé dans la régulation de l'immunité : les interleukines (IL) -1, -2, -12 et le TNF-α (figure 11).

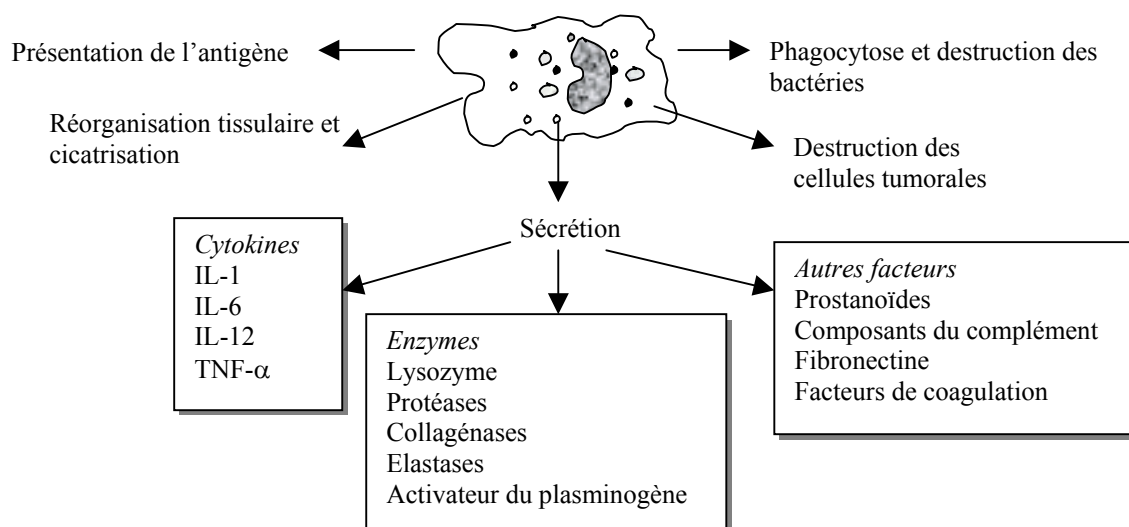


Figure 11 : Les fonctions des macrophages (d'après 117)

II.2.1.4.2. Mastocytes

Les mastocytes sont de grandes cellules rondes réparties dans l'organisme au niveau des tissus conjonctifs. Leur principale caractéristique morphologique est leur cytoplasme rempli de gros granules (basophiles au May Grünwald Giemsa -ou MGG- et métachromatiques au bleu de toluidine), qui masquent généralement un noyau, assez gros, en forme de haricot.

La population mastocytaire majeure se trouve dans les tissus conjonctifs. Le diamètre de ces cellules est compris entre 19 et 20 μm , elles sont ubiquistes, distribuées autour des vaisseaux sanguins et leur espérance de vie est supérieure à 6 mois (67). L'autre population de mastocytes se situe à la surface des muqueuses. Le diamètre de ces cellules est de 9 à 10 μm , elles sont présentes notamment au niveau de l'intestin et des poumons et leur nombre s'accroît lors d'infestation parasitaire. Leur durée de vie est inférieure à 40 jours (67).

Les mastocytes du tissu conjonctif contiennent de nombreux granules uniformes et sont riches en histamine, héparine, sérotonine et leucotriènes. A l'inverse, les mastocytes muqueux possèdent moins de granules, ceux-ci sont de taille variable, contiennent des chondroïtines sulfate, un peu d'histamine mais pas d'héparine (tableau 8). Les mastocytes produisent aussi différentes prostaglandines et leucotriènes (comme le platelet activating factor ou PAF). Alors qu'au niveau des tissus conjonctifs la population mastocytaire se maintient à un niveau relativement constant, au niveau des muqueuses, les mastocytes prolifèrent en réponse à l'IL-3 et à l'IL-4, synthétisées et libérées par les lymphocytes T (ainsi, les animaux déficients en cellules T sont aussi déficients en mastocytes). Les granules sont libérés sous l'influence du C3a ou du C5a mais surtout par la liaison spécifique de l'antigène avec les anticorps de classe IgE liés à leurs récepteurs de haute affinité pour l'IgE (Fc ϵ RI) présents à la surface des mastocytes. La stimulation des mastocytes induit la production de prostaglandines et de leucotriènes (67, 117).

Tableau 8 : Comparaison des deux types de mastocytes chez la souris (d'après 117).

	Mastocytes muqueux	Mastocytes des tissus conjonctifs
Structure	Peu de granules, taille des granules variable	Nombreux granules uniformes
Taille	9-10 μm de diamètre	19-20 μm de diamètre
Protéoglycane	Chondroïtine sulfate	Héparine
Histamine	1.3 pg par cellule	15 pg par cellule
Espérance de vie	<40 jours	>6 mois
Production stimulée par l'IL-3	+	-

II.2.1.4.3. Granulocytes

Les granulocytes ont tous un cytoplasme rempli de granules. Ils possèdent un noyau caractéristique, lobulé et irrégulier, qui leur a donné le nom erroné de polynucléaires ou "cellules polynucléées" (les opposant ainsi au noyau simple et rond des cellules mononucléées). Les granulocytes sont divisés en trois populations en fonction de la couleur que prennent leurs granules lorsqu'on leur applique un colorant : les cellules dont les granules prennent une coloration basophile lorsqu'elles sont colorées avec de l'hématoxyline sont appelées basophiles, celles qui prennent une coloration acidophile lorsqu'elles sont colorées par l'éosine sont les éosinophiles, les cellules dont les granulations ne deviennent ni acidophiles ni basophiles sont nommées neutrophiles (117).

▣ Granulocytes neutrophiles (GNN) (83, 117)

Après leur formation dans la moelle osseuse, les GNN migrent dans les vaisseaux sanguins et, environ douze heures plus tard, entrent dans les tissus. Leur espérance de vie totale n'est que de quelques jours. Contrairement aux carnivores chez qui ils constituent environ 60 à 75 % des leucocytes sanguins, chez les ruminants, les GNN n'en représentent que 20 à 30 %.

Les GNN en suspension dans le sang sont des cellules rondes d'environ 12 µm de diamètre. Au centre de leur cytoplasme se trouve un noyau segmenté. La microscopie électronique a permis de mettre en évidence deux types principaux de granules cytoplasmiques, riches en matériel enzymatique :

- Les granules primaires qui contiennent des enzymes bactéricides (comme la myéloperoxydase et le lysozyme), des protéases neutres (comme l'élastase) et des hydrolases acides (comme la β -glucuronidase et la cathépsine B) ;
- Les granules secondaires, qui contiennent des enzymes telles que le lysozyme, la collagénase et la lactoferrine (protéine liant le fer) (117).

La fonction des GNN est la capture et la destruction d'éléments étrangers par phagocytose (figure 12).

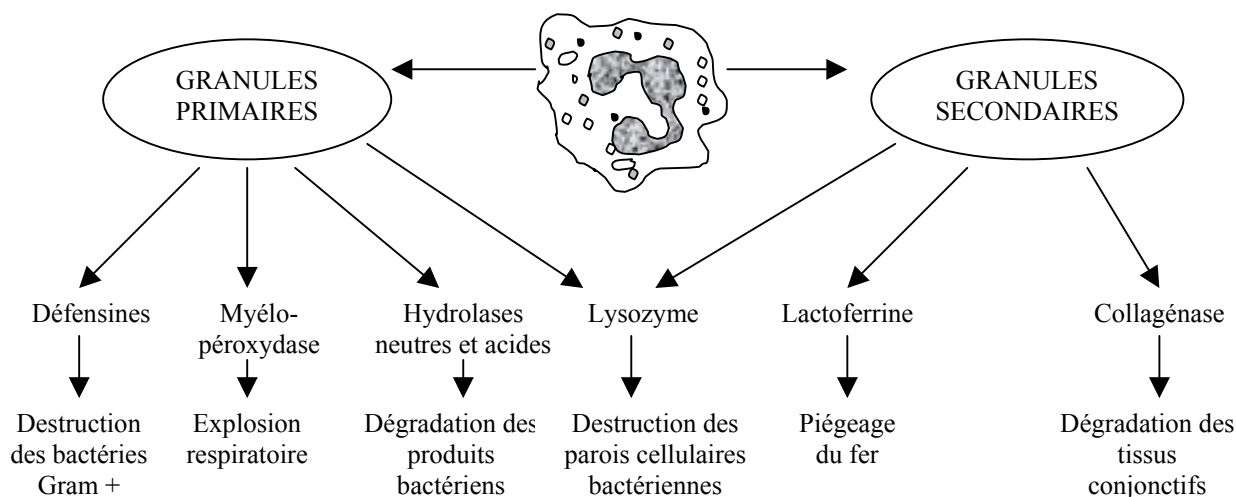


Figure 12 : Contenu des granules cytoplasmiques des granulocytes neutrophiles et leurs fonctions (d'après 117).

▣ Granulocytes éosinophiles (GNE) (83, 117)

Seconde population granulocytaire (néanmoins beaucoup moins importante que la précédente), les éosinophiles quittent la moelle osseuse à un stade relativement immature et migrent directement dans la rate où ils atteignent leur maturité. Ils passent ensuite une courte période dans la circulation sanguine où leur demi-vie est de 30 minutes et atteignent les tissus (leur demi-vie passe alors à 12 jours). Cellules un peu plus grandes que les GNN et possédant un noyau bilobé (figure 13), les GNE contiennent eux aussi deux types majeurs de granules :

- Les granules primaires, de petites taille et contenant différentes enzymes (aryl-sulfatase, peroxydase éosinophile et phosphatase acide) ;
- Les granules cristalloïdes, qui contiennent quatre protéines majeures : la protéine basique majeure, une peroxydase, une protéine cationique et une neurotoxine.

De plus, la membrane cellulaire des éosinophiles présente une grande quantité de lysophospholipase (117).

Comme les GNN, les GNE sont des cellules phagocytaires. Cependant, la peroxydase éosinophile est plus efficace que celle des granulocytes neutrophiles dans l'élimination de certains organismes et l'activité biologique prépondérante des GNE est la destruction des parasites infestants. Par conséquent, les GNE sont plus adaptés à la destruction extracellulaire

de grands parasites (par exemple, les GNE peuvent extérioriser par exocytose leurs granules dans le liquide environnant et le contenu des granules peut alors détruire le parasite).

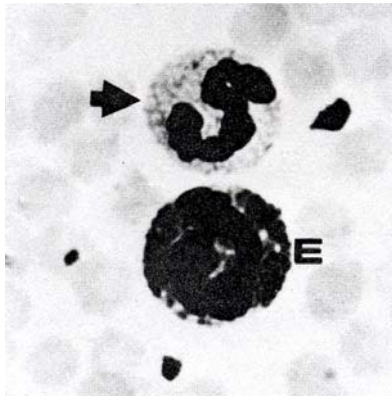


Figure 13 : Frottis sanguin de mouton montrant un granulocyte éosinophile (E) et un granulocyte neutrophile (flèche) $\times 400$ (10).

▣ Granulocytes basophiles (GNB) (83, 117)

Ils constituent environ 0,5% des leucocytes sanguins. Ils ne sont normalement pas présents dans le secteur extravasculaire, mais, sous l'influence des lymphocytes, ils peuvent infiltrer les tissus, où leur dégranulation permet la libération d'amines vasoactives (telles que l'histamine et la sérotonine) médiateurs de l'inflammation. Les GNB ont un rôle complémentaire à celui des mastocytes.

II.2.2. Immunité acquise : rôle et effecteurs

L'immunité acquise fait intervenir l'immunité à médiation cellulaire et l'immunité humorale. L'immunité acquise est spécifique de l'agent qui l'a induite et se caractérise par une augmentation de la réponse à chaque rencontre avec cet agent. Ainsi, les caractéristiques majeures de la réponse immune adaptative sont la mémoire et la spécificité (67). Les effecteurs de ces réactions sont les cellules du système lymphoïde.

Les lymphocytes sont des cellules petites et rondes, de diamètre compris entre 7 et 15 μm , trouvées dans le sang et les organes lymphoïdes comme le thymus, les nœuds lymphatiques et la rate. Chaque cellule contient un noyau, gros et rond, et le rapport nucléo-cytoplasmique est élevé.

Malgré leur uniformité apparente, la population lymphocytaire est divisée en différents sous-groupes, qui possèdent des propriétés et des fonctions propres. Ces différentes populations ne

peuvent être différenciées sur la base de critères structuraux, mais il est possible de les distinguer grâce à leurs protéines de surface (117). Il existe cependant une exception à cette uniformité morphologique : certains lymphocytes sont relativement gros et contiennent aussi des granules cytoplasmiques, ils constituent une population distincte appelée cellules natural killers (ou cellules NK) (117).

II.2.2.1. Lymphocytes B

Les cellules B sont des lymphocytes se développant d'abord dans le foie fœtal puis dans les plaques de Peyer ou la moelle osseuse dans laquelle elles effectuent un second passage (dans la bourse de Fabricius chez les oiseaux) qui leur confère leur rôle définitif de cellules B. Les cellules B mûres présentent à leur surface des immunoglobulines (Ig) à fonction de récepteurs pour l'antigène : ce sont les BCR (B Cell Receptors). Les lymphocytes B (LB) possèdent aussi des récepteurs aux immunoglobulines (ils sont nommés Fc μ R pour les IgM, Fc γ R (ou CD32) pour les IgG et Fc ϵ R (ou CD23, pour les IgE) ainsi que des récepteurs pour les cytokines (CD125 pour l'IL-5 par exemple) (67). Il a été suggéré (grâce à la cytométrie de flux) que les ovins possédaient deux populations distinctes de cellules B : une population serait constituée de petits lymphocytes conventionnels tandis que l'autre consisterait en des cellules plus grosses et à cytoplasme plus abondant (117). La même observation a été faite chez la plupart des animaux et chez l'homme. On ne relie ces variations morphologiques à aucune fonction.

Les plasmocytes sont des cellules B parvenues au stade terminal de leur différenciation. Elles présentent un cytoplasme plus volumineux et sont entièrement consacrées à la production-sécrétion d'anticorps (figure 14) (67, 117).

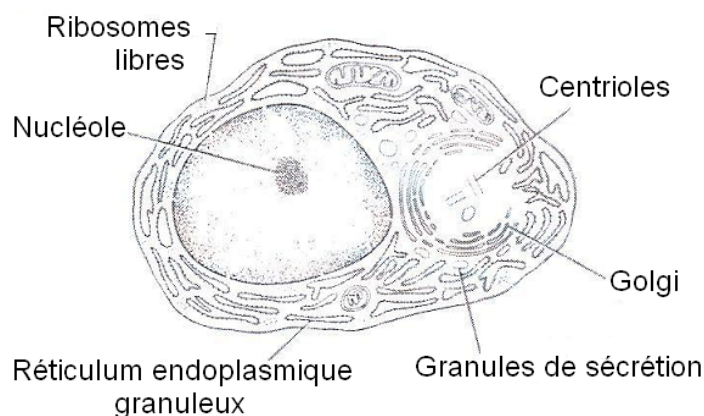


Figure 14 : Structure d'un plasmocyte. La présence d'un important réticulum endoplasmique rugueux est typique d'une cellule dédiée à la synthèse massive de protéines (117).

II.2.2.2. Lymphocytes T

Les cellules T sont des lymphocytes se différenciant dans le thymus. Ces cellules possèdent elles aussi différents types de récepteurs :

- Le récepteur pour l'antigène ou TCR (T Cell Receptor), auquel est associé un complexe de protéines nommé CD3 (83) et agissant comme un transducteur du signal engendré lors de la liaison du TCR avec l'antigène spécifique (117). Il existe deux formes de TCR : l'une possède les chaînes α et β (TCR $\alpha\beta$), l'autre utilise les chaînes γ et δ (TCR $\gamma\delta$) (117). L'hétérodimère de surface TCR $\alpha\beta$ migre à 85 kDa dans des conditions non réductrices, après réduction, on obtient deux sous-unités de 40 et 50 kDa. L'hétérodimère ovin $\gamma\delta$ migre à 70-75 kDa sous conditions non réductrices et se scinde en deux sous-unités de 41-44 kDa et 36 kDa après réduction (83). Les cellules T $\gamma\delta$ constituent 60% des cellules T périphériques à la naissance des agneaux (tableau 9), mais ce taux chute à 30% à l'âge de un an, pour atteindre 5 à 10% vers cinq ans (117). Cette population mineure de cellules T est en proportion plus importante (par rapport à la population de cellules exprimant les récepteurs TCR de type $\alpha\beta$) dans certains sites particuliers comme l'intestin, la peau et le vagin (67). Par ailleurs, il semble que, bien que non caractérisés de manière extensive, les TCR ovins soient de structure et d'expression très proches de ceux des autres mammifères (83).

Tableau 9 : Valeurs typiques de la répartition des cellules T chez un agneau de 3-4 mois (d'après 83)

<i>Tissus</i>	<i>Pourcentage de cellules T $\alpha\beta$^a</i>	<i>Pourcentage de cellules T $\gamma\delta$^a</i>
Thymus	96-68	2-4
Nœuds lymphatiques ^b	47-58	4-14
Rate	55-75	5-8
Plaques de Peyer iléales ^c	<1	-
Plaques de Peyer jéjunales ^c	10-15	1-2
Cellules sanguines	20-45	15-60
Lymphes efférentes	60-70	5-15
Lymphes afférentes	65-80	12-25

^a Les valeurs sont en pourcentage de chaque type de cellule T parmi les leucocytes mononucléaires de chaque tissu.

^b Les nœuds lymphatiques périphériques (pré-scapulaire, pré-fémoral, poplité) ont tendance à contenir relativement plus de cellules T (valeur limite supérieure), alors que les valeurs concernant les nœuds lymphatiques associés à l'intestin (mésentériques) sont plus proches de la valeur seuil inférieure.

^c Les données concernant les plaques de Peyer font référence à la population lymphocytaire intra-folliculaire et n'incluent pas les cellules T extra-folliculaires qui sont dominantes au sein des plaques de Peyer jéjunales mais pas au sein des plaques de Peyer iléales.

- Une autre protéine de surface permet de diviser les cellules T en deux sous-populations, l'une portant le marqueur CD4, l'autre le marqueur CD8. Le CD4 n'est rencontré que chez les cellules reconnaissant les antigènes exogènes : les lymphocytes T helpers (LT_h). Il s'agit d'un récepteur pour le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II, présent à la surface des cellules présentatrices d'antigènes (cellules dendritiques, cellules de Langerhans, macrophages) (67, 117). Il y a deux sous-populations de LT_h, elles sont appelées LT_{h1} et LT_{h2}. Ces cellules répondent aux antigènes présentés par différentes cellules présentatrices. Par exemple, les cellules T_{h2} répondent de manière optimale aux antigènes présentés par les macrophages et moins bien à ceux présentés par les cellules B. Elles sont spécifiquement activées par des signaux générés par la molécule co-stimulatrice CD86. Les cellules T_{h1}, au contraire, répondent très bien aux antigènes présentés par les cellules B et à la molécule de co-stimulation CD80 (117). Ces deux sous-populations de LT CD4+ synthétisent une grande quantité de cytokines différentes (les figures 15 et 16 montrent respectivement les produits de sécrétion des cellules Th1 et Th2). Les LT_{h2} stimulent la formation d'anticorps par les lymphocytes B, alors que les LT_{h1} optimisent plutôt une réponse à médiation cellulaire (67, 117).

Le CD8 n'est trouvé que sur les lymphocytes T cytotoxiques (LT_C), cellules qui détruisent les cellules anormales. Le CD8 est un récepteur pour les molécules du CMH de classe I, il est nécessaire à la reconnaissance des antigènes endogènes (67, 117).

Ainsi, les cellules T sont divisées en plusieurs sous-populations en fonction de leurs récepteurs à l'antigène (TCRs), de la présence du CD4 ou du CD8 à leur surface, et de leur rôle dans l'immunité (figure 17). Chez le mouton, les LB représentent 11 à 50% des lymphocytes circulants, les cellules T en représentent 56 à 64%. Les CD4⁺ participent à hauteur de 8 à 22% à la population lymphocytaire périphérique et les CD8⁺ pour 4 à 8%. Les 5% de LT restants ne sont ni CD4⁺ ni CD8⁺ et sont dits "doubles négatifs". Le ratio CD4⁺ sur CD8⁺ sanguin est de 1,55 chez le mouton (117). Il peut être utile pour évaluer la fonction lymphocytaire dans des situations cliniques.

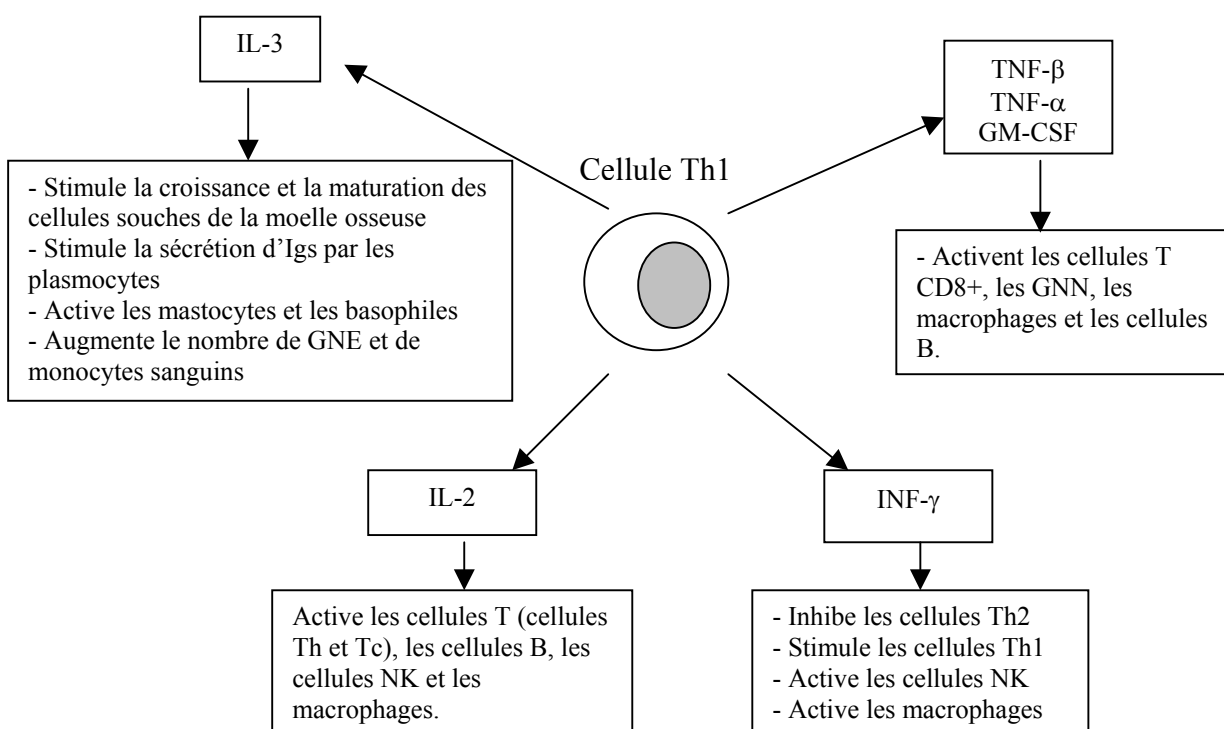


Figure 15 : Les cytokines majeures sécrétées par les cellules Th1 et leurs fonctions principales (d'après 67 et 117).

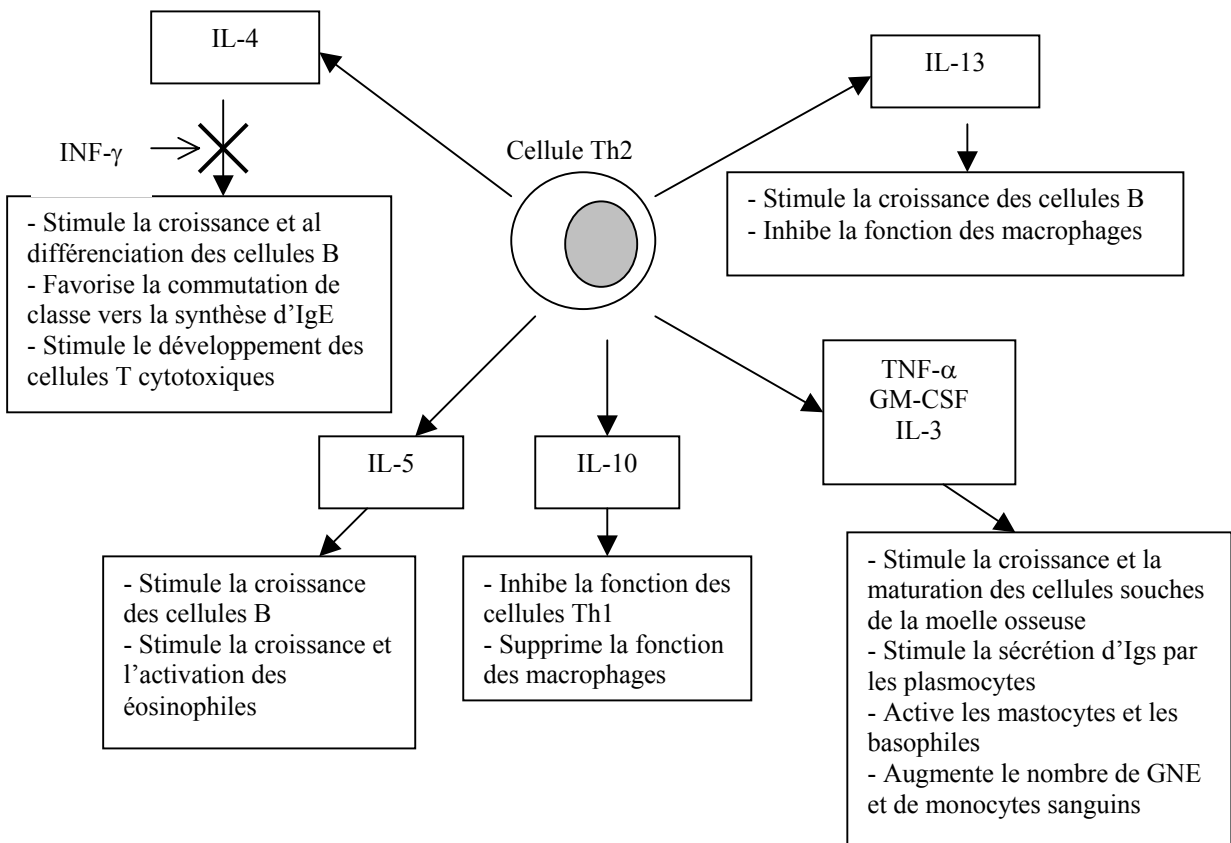


Figure 16 : Les cytokines majeures sécrétées par les cellules Th2 et leurs fonctions principales (d'après 67 et 117).

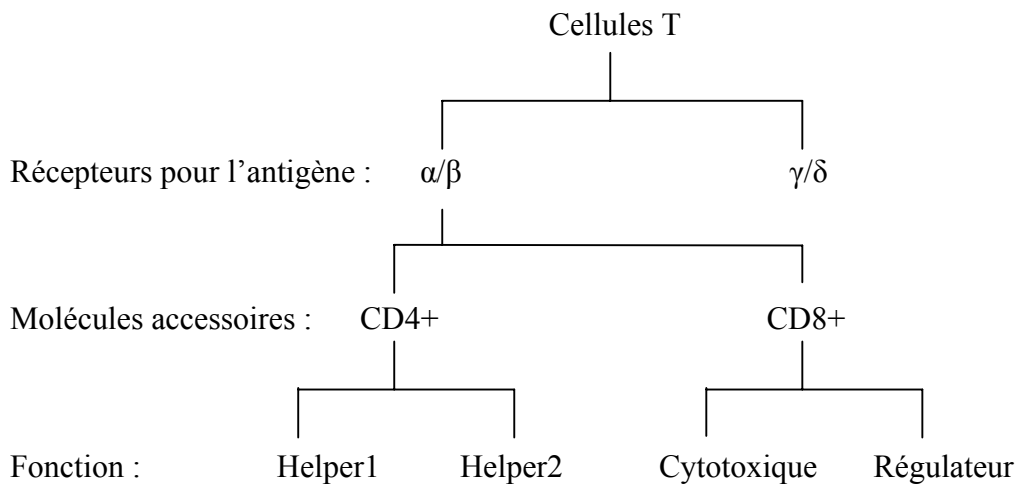


Figure 17 : Division des cellules T en différentes populations. Ce processus est basé sur la nature de leur récepteur à l'antigène (TCRs), la présence du CD4 ou du CD8, et leur rôle dans l'immunité (117).

II.2.2.3. Les anticorps, effecteurs de la réponse immunitaire à médiation humorale

Les anticorps sont des immunoglobulines synthétisées en réponse à une exposition à un antigène et pouvant se combiner spécifiquement avec cet antigène (117). Les immunoglobulines ont toutes la même structure de base, en forme de "Y", constituée de quatre chaînes polypeptidiques, liées deux par deux grâce à des ponts dissulfures : 2 chaînes lourdes identiques (H ou "heavy chains") et deux chaînes légères identiques (L ou "light chains"). Les chaînes légères sont de deux types, kappa (κ) et lambda (λ). Les deux types de chaîne légère peuvent être associés à n'importe quel type de chaîne lourde (67). Il existe cinq types principaux de chaînes lourdes, elles se nomment mu (μ), gamma (γ), alpha (α), epsilon (ϵ) et delta (δ). Chaque type définit une classe d'anticorps (respectivement, IgM, IgG, IgA, IgE et IgD). Ces classes regroupant des chaînes qui possèdent des analogies structurales sont appelées isotypes. La forme de chaîne lourde prédominante chez le mouton est la chaîne γ (comme chez la plupart des espèces) (83).

En plus de ces différentes classes, il peut y avoir des variations héréditaires dans la structure des immunoglobulines. Ainsi, les immunoglobulines d'un individu peuvent être différentes de celles d'un autre sujet de la même espèce. Ce phénomène est appelé allotypie (117). Enfin, au niveau des extrémités N-terminales des chaînes lourdes et des chaînes légères des immunoglobulines se trouve un domaine dit variable (ou V, opposé aux régions constantes, dites C). Dans ces zones, le degré de variation dans la composition en acides aminés est très élevé. Ces variants constituent des idiotypes (67, 117). Les régions V d'une chaîne légère et d'une chaîne lourde constituent le site de liaison à l'antigène (67). La partie formée par les régions hypervariables des domaines V est appelée paratope (l'épitope est la partie de l'antigène qui se lie au paratope) (67).

Les anticorps sont des molécules bifonctionnelles (67). Tout d'abord, ils établissent une liaison avec l'antigène, ensuite, ils doivent permettre son élimination (en coopération avec les mécanismes effecteurs de la fonction immunitaire). Les différentes classes et sous-classes d'anticorps n'interagissent pas toutes avec les mêmes cellules et sont, par conséquent, douées de fonctions différentes (67). Chez le mouton, les isotypes IgM, IgA, IgE et IgG ont été identifiés (83). Selon les auteurs, la classe des IgG est divisée en deux (83) ou trois (117) sous-classes : IgG1, IgG2 et IgG3. La classe des IgA, ainsi que celle des IgE, sont divisées chacune en deux sous-classes : respectivement IgA1 et IgA2, IgE1 et IgE2 (117). Aucune preuve ne permet d'affirmer la présence d'IgD à la surface des lymphocytes B ovins (83). Des

études ont montré la présence d'IgM, IgG1 et IgG2 sériques dans la peau, alors que les IgA semblent être issues d'une synthèse locale. Les propriétés physiques et fonctionnelles des immunoglobulines ovines sont résumées dans le tableau 10. Les concentrations sériques et tissulaires des diverses classes d'immunoglobulines varient selon l'espèce animale considérée (117). Chez le mouton, les valeurs usuelles retenues sont présentées dans le tableau 11.

□ L'IgG est synthétisée et sécrétée par des plasmocytes localisés dans la moelle osseuse, la rate et les nœuds lymphatiques. C'est l'immunoglobuline dont la concentration sanguine est la plus importante, elle joue donc un rôle majeur dans les mécanismes de défense humorale. L'IgG possède deux chaînes légères identiques (κ ou λ) et deux chaînes lourdes de type γ . Son poids moléculaire moyen chez les animaux domestiques est de 180 kDa (117). Les IgG ovines possèdent une chaîne lourde de poids moléculaire égal à 55 kDa, tandis que celui des chaînes légères est de 22 kDa (85). Etant la plus petite des immunoglobulines, l'IgG peut sortir des vaisseaux sanguins plus facilement que les autres, sans toutefois traverser le placenta. Cette constatation prend toute son importance lors d'inflammation tissulaire, dans laquelle l'augmentation de la perméabilité vasculaire permet aux IgG de participer à la défense des tissus et des surfaces corporelles (117). Les IgG, fixées sur l'antigène spécifique qui leur a donné naissance, peuvent activer le complément par la voie classique.

□ L'IgM est aussi sécrétée par des plasmocytes, dans la rate, les nœuds lymphatiques et la moelle osseuse. Chez la plupart des mammifères, c'est la deuxième immunoglobuline importante en concentration dans le sérum (après les IgG). Les IgM peuvent appartenir aux BCR de la membrane des lymphocytes B (voir supra), elles ont alors une structure monomérique, avec un poids moléculaire moyen égal à 180 kDa chez les animaux. Une fois sécrétées, les IgM se regroupent pour former des pentamères de 900 kDa, dont deux unités sont liées par un polypeptide riche en cystéine nommé chaîne J. Chaque monomère d'IgM présente une structure conventionnelle, avec deux chaînes lourdes de type μ et deux chaînes légères identiques pouvant être de type κ ou λ . L'IgM est la principale immunoglobuline produite lors d'une réponse immunitaire primaire. Elle est aussi produite lors de la réponse secondaire, mais la forte proportion d'IgG alors sécrétées la masque. Leur taille étant importante, les IgM restent en général dans la circulation sanguine et semblent avoir un rôle mineur dans la défense immunitaire des tissus et des surfaces corporelles (117).

□ L'IgA est sécrétée par des plasmocytes, au niveau des tissus situés juste au-dessous des surfaces corporelles : dans la paroi des tractus respiratoire, urinaire et digestif, dans la peau et

les glandes mammaires (117). C'est la classe d'immunoglobuline la plus abondante dans les sécrétions, où elle protège les membranes des muqueuses (67). Sa concentration sérique est, chez la plupart des mammifères, inférieure à celle en IgM (117). Les IgA peuvent se présenter sous la forme de monomères, dimères ou polymères de l'unité de base (67) (dont le poids moléculaire est en moyenne de 150 kDa), mais elles sont cependant le plus souvent sécrétées sous forme de dimères (117). Chaque IgA a une structure typique, c'est-à-dire quatre chaînes dont deux légères identiques (κ ou λ) et deux lourdes, de type α . Dans les formes dimériques, les deux molécules sont jointes par une chaîne J (117). Les IgA produites au niveau des surfaces corporelles peuvent passer à travers les cellules épithéliales dans les sécrétions extériorisées, elles sont alors appelées IgA sécrétoires et possèdent dans leur structure une pièce dite "sécrétoire", synthétisée par l'épithélium et qui les rend résistantes à l'action des enzymes protéolytiques. Les IgA peuvent aussi passer dans la circulation sanguine. Le principal rôle des IgA est de prévenir l'adhésion des antigènes sur les surfaces corporelles, en se liant à eux. Par ailleurs, ce sont les seules immunoglobulines capables d'agir à l'intérieur des cellules (117).

□ Comme les IgA, les IgE sont synthétisées par des cellules localisées sous les surfaces corporelles. Les IgE sont des immunoglobulines typiques, avec deux chaînes lourdes ϵ et deux chaînes légères. Leur poids moléculaire chez les animaux est de 190 kDa environ. Leur concentration sérique est très faible et les IgE agissent comme des transducteurs membranaires de signal. Elles sont en effet normalement trouvées liées à des récepteurs spécifiques des mastocytes et des granulocytes basophiles, les Fc ϵ RI. Lorsque les antigènes se lient à ces molécules, il se produit une libération rapide de médiateurs de l'inflammation par les cellules qui les portent. La réaction inflammatoire aiguë ainsi engendrée stimule les défenses locales et aide à l'élimination de l'organisme étranger. Ainsi, les IgE sont les acteurs principaux des réactions d'hypersensibilité de type I et interviennent dans l'immunité anti-parasitaire. Les IgE ont la demi-vie la plus courte de toutes les immunoglobulines (2 à 3 jours) et sont assez instables, sauf lorsqu'elles sont fixées à la membrane des mastocytes (117).

Tableau 10 : Propriétés physiques et fonctionnelles des immunoglobulines ovines (d'après 83).

	Récepteur antigénique des LB	Anticorps sécrété	Transport sélectif dans les sécrétions	Fixation du complément
IgM	75-80 kDa	19S ^(a)	±	+
IgG1		7S ^(a)	+	+
IgG2		7S ^(a)	-	-
IgA		7S ^(a) et 15S ^(a)	+	-
IgE		8S ^(a)	(1)	(1)

^(a) Unité svedberg. L'unité svedberg est une unité de sédimentation (unité de poids dans un gradient de densité).

(1) : Pas de donnée.

Tableau 11 : Concentrations sériques et tissulaires des différents isotypes d'immunoglobulines chez le mouton (d'après 83).

	<i>IgM</i> (en mg/ml)	<i>IgG1</i> (en mg/ml)	<i>IgG2</i> (en mg/ml)	<i>IgA</i> (en mg/ml)	<i>IgE</i> (en µg/ml)
Sérum sanguin ^a	1,5-3	16-22	5-7	0,5-1	0,8-200
Lymphes efférentes ^b	0,6-0,9	6-14	2,6-5,3	1-2	(1)
Lymphes afférentes ^b	0,2-0,8	4-13	1,3-5,5	2,7 ^c	(1)
Sécrétions mammaires :					
Colostrum	1,3	94,1	2,5	2,8	(1)
Début de lactation	0,4	5,0	0,1	2,3	(1)
Milieu de lactation	0,1	1,4	0,2	0,7	(1)
Involution mammaire	0,2	2,9	1,2-2,0	6,6	(1)
Sécrétions intestinales	0,4-0,8	2,8-5,2	1,2-2,0	4,9-12,5	(1)
Bile	0,2	0,05	0,04	1,6	(1)

(1): Pas de données.

^a Les valeurs sanguines sériques ont été faites sur des animaux matures. Chez le fœtus, le sérum ne contient pas d'Igs mesurables jusqu'aux environs du 120^{ème} jour de gestation. Du 120^{ème} jour jusqu'au terme, un faible taux d'IgM (<100 µg/ml) peut être détecté, et, plus rarement, des traces d'IgG1.

^b Les concentrations lymphatiques en immunoglobulines varient selon l'endroit du corps d'où provient la lymphe et reflète la perméabilité du lit capillaire lymphatique.

^c Représente le taux d'IgA mesuré dans la lymphe intestinale afférente.

II.2.3. Mécanismes généraux de la protection immunitaire

II.2.3.1. Répartition tissulaire et circulation des leucocytes ovins

La population leucocytaire est scindée en deux types cellulaires : les cellules non mobiles et les cellules circulantes. Ces dernières ont pour rôle la surveillance des tissus et elles disséminent la mémoire immunologique. Tous les leucocytes ont la capacité d'accéder aux

tissus dans des conditions normales ou pathologiques, en migrant hors de la circulation sanguine, entre les rangées de cellules endothéliales bordant les vaisseaux sanguins. Ils peuvent tous être présents dans la lymphe pré-nodale (périphérique), mais seuls les lymphocytes peuvent recirculer continuellement entre le sang et les tissus via la lymphe post-nodale (centrale) (83). La répartition des différentes populations de leucocytes est présentée dans le tableau 12. En se basant sur un volume sanguin de 70 ml/kg et un nombre de lymphocytes sanguins périphérique de $5 \cdot 10^6$ par ml, seulement 1% de tous les lymphocytes ($1 \cdot 10^{10}$) sont dans la circulation sanguine périphérique de façon constante. Les autres cellules résident dans les tissus lymphoïdes et circulent différemment des cellules issues de la lymphe (tableau 13) (83).

Tableau 12 : Distribution des leucocytes dans le sang et la lymphe chez le mouton (d'après 83)

	Sang périphérique	Lympe périphérique	Lympe centrale
Lymphocytes	40-75 %	70-95 %	95-100 %
Neutrophiles	10-50 %		
Eosinophiles	0-15 %	0-10 % ^a	< 1 % ^a
Basophiles	0-3 %		
Macrophages, monocytes, cellules dendritiques	1-6 %	5-20 %	< 1 %
Nombre de cellules par mL	$4-12 \times 10^6$	$1-20 \times 10^6$	$3-12 \times 10^7$

^a valeur totale incluant tous les granulocytes

Tableau 13 : Sous-populations lymphocytaires dans le sang et la lymphe chez le mouton (83)

	Sang périphérique	Lympe périphérique	Lympe centrale
LT CD4	$14,3 \pm 3,0$ %	$38,5 \pm 3,7$ %	$38,8 \pm 7,7$ %
LT CD8	$8,5 \pm 0,5$ %	$12,8 \pm 1,1$ %	$14,0 \pm 1,8$ %
LT $\gamma\delta$	$11,8 \pm 2,1$ %	$27,8 \pm 2,2$ %	$10,0 \pm 3,1$ %
LB	$17,5 \pm 5,3$ %	$7,3 \pm 0,3$ %	$32,0 \pm 7,0$ %

II.2.3.2. Circulation leucocytaire dans les tissus stimulés

Les médiateurs de la migration leucocytaire chez les ovins sont : l'IL-1 α , l'IL-2, l'IL-8, l'IFN- α , l'IFN- γ , le TNF- α , le ZAP, le PGE_{2 α} , le PAF, les bradykinines et le LTB₄. Ils ont été identifiés dans la lymphe drainant les tissus stimulés par les antigènes (83). La circulation des leucocytes augmente fortement lors d'une réponse immunitaire (83). Selon la nature du stimulus, la constitution phénotypique des cellules dans les nœuds lymphatiques drainant

varie considérablement. Dans beaucoup de cas, les antigènes sont libérés directement dans les nœuds lymphatiques, ils arrivent par un des vaisseaux lymphatiques afférents et sont phagocytés par les macrophages, ce qui entraîne des changements caractéristiques de la circulation des lymphocytes à travers les nœuds lymphatiques :

❑ Le stade 1 est caractérisé par une chute marquée du débit des lymphocytes dans la lymphe efférente (selon l'antigène, ce phénomène est variable en durée et en intensité). Cette chute du débit cellulaire est due à l'arrêt des cellules recirculantes au sein du nœud lymphatique (et non uniquement à une diminution de la migration à partir du sang).

❑ Le stade 2 se caractérise par une multiplication cellulaire et une augmentation du débit de sortie des lymphocytes (clones informés du même antigène) jusqu'à un taux plus de dix fois supérieur à celui qu'il était avant la stimulation. Ceci s'explique par une augmentation du recrutement cellulaire à partir du pool sanguin. Les cellules spécifiques de l'antigène disparaissent de la lymphe centrale et sont retenues dans le nœud lymphatique. Cet accroissement de la circulation lymphocytaire, permise par une stimulation au niveau du nœud lymphatique, augmente la probabilité qu'une cellule spécifique d'un antigène rencontre ce dernier.

❑ Lors du stade 3, les macrophages, ayant phagocyté et "concassé" l'antigène, transmettent l'information épitopique aux lymphocytes à vie longue, qui se transforment en lymphoblastes se divisant activement (figure 18), simultanément à l'apparition des cellules sensibilisées. Ce stade peut durer 2-3 jours, après lesquels le débit des cellules lymphocytaires retrouve le taux qu'il avait avant la stimulation (83).

Au cours d'une réponse secondaire, la cinétique de ces processus est plus rapide.

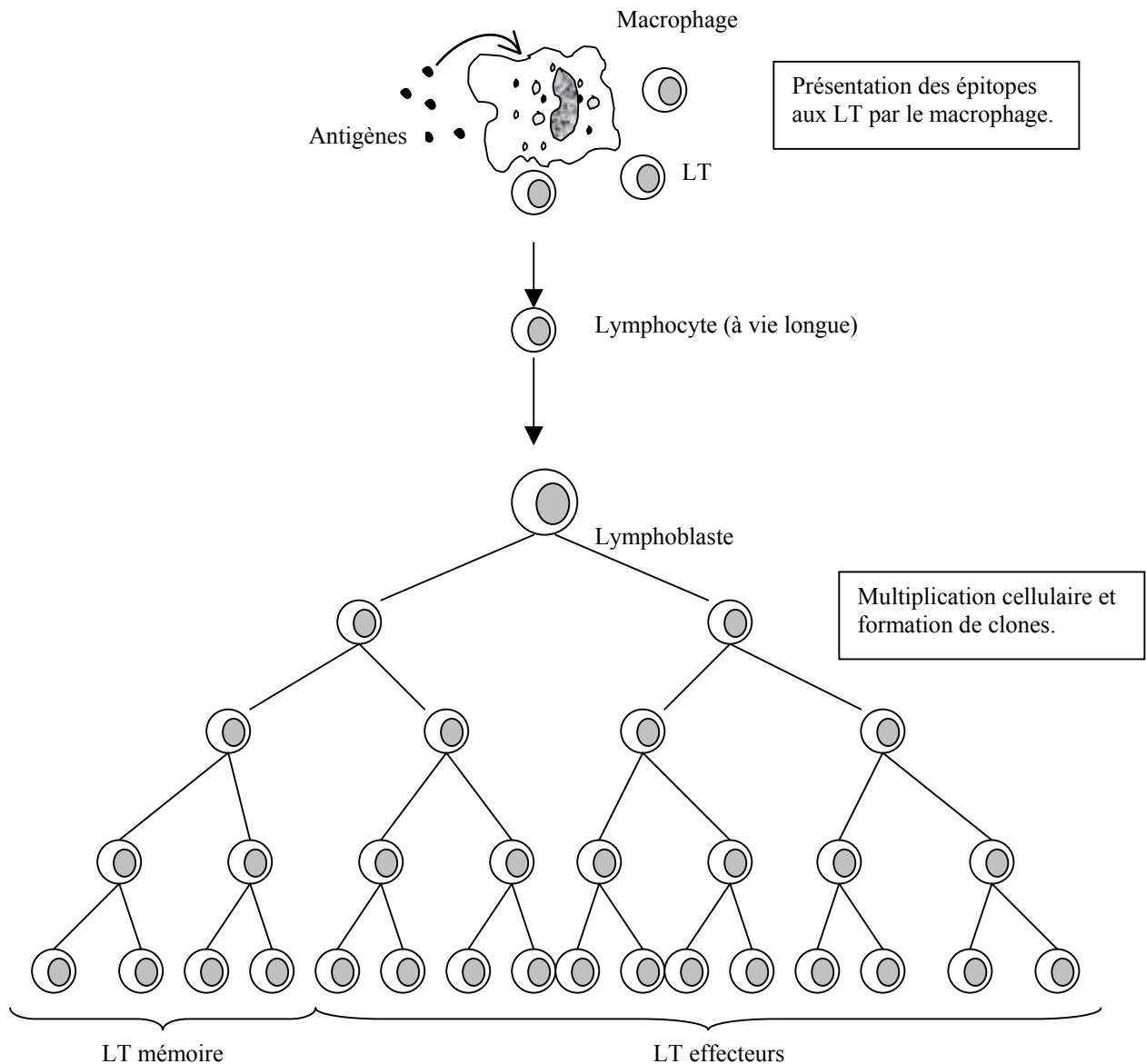


Figure 18 : La stimulation et la multiplication clonale des lymphocytes.

Il existe chez le mouton au moins trois pools différents de petits lymphocytes recirculant spécifiquement dans les tissus méésentériques, les nœuds lymphatiques cutanés et sous-cutanés. La population principalement concernée par ce phénomène est celle des $LT\alpha\beta$ (tandis que les cellules $LT\gamma\delta$ migrent au hasard). Aucune spécificité de tissu n'a été démontrée pour les LB (83).

La migration trans-endothéliale nécessite l'interaction de molécules de surface leucocytaires spécifiques avec les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. Le procédé de migration des leucocytes semble être le même chez le mouton que chez les autres espèces pour lesquelles il a été plus étudié (en effet, un grand nombre de molécules de surface impliquées

dans la migration ont été identifiées à la surface des leucocytes ovins : L-selectine, MadCAM, β_7 Integrin, β_1 Integrin, VCAM-1, CD44, CD11a) (83).

II.2.3.3. Phagocytose

La phagocytose est effectuée par les macrophages, les granulocytes neutrophiles et éosinophiles. Bien qu'elle soit un phénomène continu, une division en quatre phases peut être envisagée : chimiotactisme, adhérence, ingestion et digestion. La phagocytose constitue un mécanisme de défense non spécifique, mais c'est aussi la première étape, indispensable, de la réaction immunitaire spécifique.

▣ Chimiotactisme

Les cellules phagocytaires circulent normalement dans le sang. Elles quittent le sang grâce à une augmentation de la capacité d'adhésion des cellules endothéliales formant la paroi des vaisseaux. Ces dernières expriment des protéines d'adhésion appelées sélectines et intégrines, qui lient les phagocytes aux murs des petits vaisseaux sanguins. Ainsi, lorsqu'elles sont attirées par certains composés chimiques, les cellules phagocytaires migrent dans les tissus (117).

▣ Adhérence et opsonisation

Quand une cellule phagocytaire rencontre une particule étrangère, elle s'y lie. L'adhérence n'est pas un processus spontané et nécessite l'intervention des opsonines, petites molécules se fixant aux éléments étrangers, diminuant ainsi leurs charges négatives et permettant l'adhésion des phagocytes également chargés négativement.

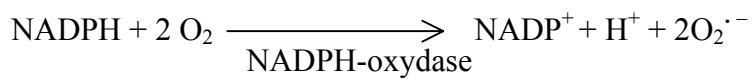
▣ Ingestion

Tout d'abord, un pseudopode se forme. Son cytoplasme contient un réseau filamenteux de protéines (actine et myosine) dont l'état détermine la fluidité du cytoplasme. Il y a alors établissement de liaisons entre les opsonines de la particule étrangère et les récepteurs de la cellule phagocytaire. Une fois ces liaisons mises en place, l'élément étranger est internalisé et inclus dans une particule appelée phagosome.

▣ Digestion

Deux mécanismes distincts permettent la destruction de la particule ingérée : l'explosion respiratoire et la digestion par les enzymes lysosomiales.

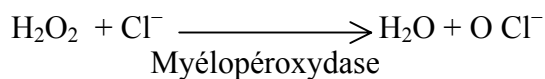
- L'*explosion respiratoire* se déroule dans les phagosomes. Elle est activée par l'agrégation des récepteurs du Fc (récepteurs membranaires pour les immunoglobulines) ou du C3 par l'antigène. Une enzyme, la NADPH-oxydase, est assemblée dans la membrane du phagosome, où elle réduit l'oxygène en ion superoxyde ($O_2^{\cdot -}$) (67, 117) :



Les deux molécules d' $O_2^{\cdot -}$ interagissent spontanément par dismutation pour générer une molécule de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) sous l'influence de l'enzyme superoxyde dismutase (SOD) :



Etant donné la rapidité de cette réaction, l'anion superoxyde ne s'accumule pas, contrairement à l' H_2O_2 . Ce dernier est converti en composé bactéricide grâce à l'action de la myéloperoxydase, enzyme la plus importante de la réaction d'explosion respiratoire (elle est trouvée en grande quantité dans les granules primaires des granulocytes). Elle catalyse la réaction entre le peroxyde d'hydrogène et des ions halides (Cl^- , Br^- , I^- , ou SCN^-). Les GNN utilisent de façon préférentielle les ions Cl^- , pour produire des hypophalides (117):



La peroxydase éosinophile est distincte de la myéloperoxydase neutrophile ; elle utilise de façon prépondérante les ions Br^- pour produire OBr^- (117), ce qui explique les rôles différents de ces cellules vis-à-vis des agents étrangers.

- Les *enzymes lysosomiales* : une fois que la particule étrangère est liée à la membrane de la cellule phagocytaire, des granules appelés lysosomes migrent à travers le cytoplasme,

fusionnent avec la vésicule de phagocytose et relarguent leurs enzymes. La vacuole formée est alors appelée phagolysosome. Les enzymes contenues dans ces granules peuvent digérer la paroi bactérienne et tuer la plupart des microorganismes (67, 117).

II.2.3.4. Réponse à médiation cellulaire : la réponse des cellules T cytotoxiques

Quand une cellule exprimant un antigène (sur son CMH de classe I) est reconnue par une cellule CD8+, cette dernière entraîne l'apoptose de la cellule présentant l'antigène. Ces cellules CD8+ sont donc nommées cellules T cytotoxiques (LTc), elles défendent l'organisme en détruisant les cellules étrangères ou altérées comme celles infectées par des virus, les cellules cancéreuses, les tissus étrangers greffés (117). Trois types cellulaires sont indispensables au processus d'apoptose : une cellule exprimant l'antigène à sa surface (cellule cible), une cellule Tc CD8+ et une cellule T_h1 (117). La cellule Tc reçoit un premier signal de la cellule T_h1 : l'IL-2. Le second signal vient du complexe antigène-CMH de classe I de la cellule anormale qui se lie au complexe TCR-CD8. Ces signaux induisent la mitose des cellules T qui se transforment soit en cellules mémoire, soit en cellules Tc (117). Les lymphocytes Tc provoquent l'apoptose de leur cible par deux voies : l'une implique la sécrétion de protéines appelées perforines (voie des perforines), l'autre est médiée par les récepteurs de surface CD95 ou fas (voie du CD95) (117).

II.2.3.5. Réponse à médiation humorale : la réponse des cellules B et la synthèse d'anticorps

A la suite de l'injection d'un antigène, la réponse qui se développe peut être divisée en quatre phases. D'abord, une phase de latence au cours de laquelle on ne détecte pas d'anticorps. Cette phase est suivie par une phase de croissance exponentielle de la concentration en anticorps, puis par un plateau et enfin une décroissance, au cours de laquelle les anticorps sont catabolisés ou éliminés dans les immuns complexes (67).

Il existe deux voies de présentation de l'antigène aux cellules B : soit l'antigène est thymo-dépendant et il est présenté par l'intermédiaire des cellules T (LT helpers), associé au CMH ; soit l'antigène est libre, thymo-indépendant, et se lie directement au BCR (117).

Lors de réponse immunitaire cutanée, la présentation de l'antigène aux cellules lymphocytaires est effectuée par les cellules présentatrices d'antigènes (ou CPA) de la peau, c'est-à-dire les macrophages et les cellules de Langerhans. Les cellules de Langerhans

circulent dans la peau et captent les antigènes pour les transporter jusqu'aux nœuds lymphatiques régionaux. Elles migrent sous forme de macrophages entourés d'un voile cytoplasmique en mouvement permanent (on les appelle aussi "cellules voilées") dans la lymphe afférente puis se localisent dans les nœuds lymphatiques où elles sont appelées cellules dendritiques (67). Ces cellules ont pour fonction de présenter des antigènes exogènes aux lymphocytes T_h (117). Les cellules de Langerhans sont particulièrement importantes dans le développement de l'hypersensibilité de contact (voir infra) (67).

La présence des cellules T_h est nécessaire pour une réponse optimale des cellules B et la molécule CD4 est indispensable aux cellules T_h pour répondre aux peptides exogènes liés au CMH de classe II des cellules présentatrices de l'antigène. Ces cellules T CD4⁺ activent les cellules B spécifiques (le contact cellulaire est médié par le CD19, complexe corécepteur des cellules B) (67) tandis que la différenciation des cellules B activées est stimulée par l'IL-4 (117). L'activation d'un LB mature provoque sa division et sa différenciation en plasmocyte synthétisant des Ig spécifiques de l'antigène (117). Une sous-population de cellules T réside dans la peau ; ainsi, si un antigène est injecté dans le derme (comme cela se produit lors de piqûres par des ectoparasites par exemple), il est capturé par les cellules de Langerhans et présenté aux cellules T cutanées, stimulant une réponse immunitaire rapide et efficace. Chez les bovins, les IgM, IgG1 et IgG2 sériques traversent la peau par transudation, mais les IgA sont synthétisées localement (117). On peut penser que le mécanisme est identique dans l'espèce ovine.

Après une réponse primaire à un antigène, quelques lymphocytes B deviennent des cellules mémoire qui, lors d'une réponse secondaire au même antigène répondront plus rapidement et plus intensément (117). La réponse anticorps mesurable après la seconde rencontre avec l'antigène est différente de celle qui suit le premier contact. La phase de latence de la réponse secondaire est plus courte, la concentration en anticorps au plateau est plus importante et décroît moins rapidement que lors d'une réponse primaire (67). Les IgM sont les immunoglobulines prédominantes de la réponse primaire et sont produites avant les IgG alors que ce dernier isotype est le plus représenté lors d'une réponse secondaire (67, 117) (figure 19).

Tandis que leur réponse à l'antigène se poursuit, les cellules B productrices d'immunoglobulines (ou plasmocytes), exercent une commutation de classe (ou switch : c'est la chaîne lourde des immunoglobulines qui varie) de μ à γ , ϵ ou α , sans que les régions variables originales ne changent. Ainsi, elles produisent des immunoglobulines de différentes

classes, sans altérer leur spécificité antigénique (67, 117). Ce phénomène est à la base du changement d'isotype que l'on observe dans la réponse secondaire. Le mode d'administration de l'antigène et la façon dont il est présenté aux cellules T et B influent sur le développement de la réponse et la classe d'anticorps produits (67).

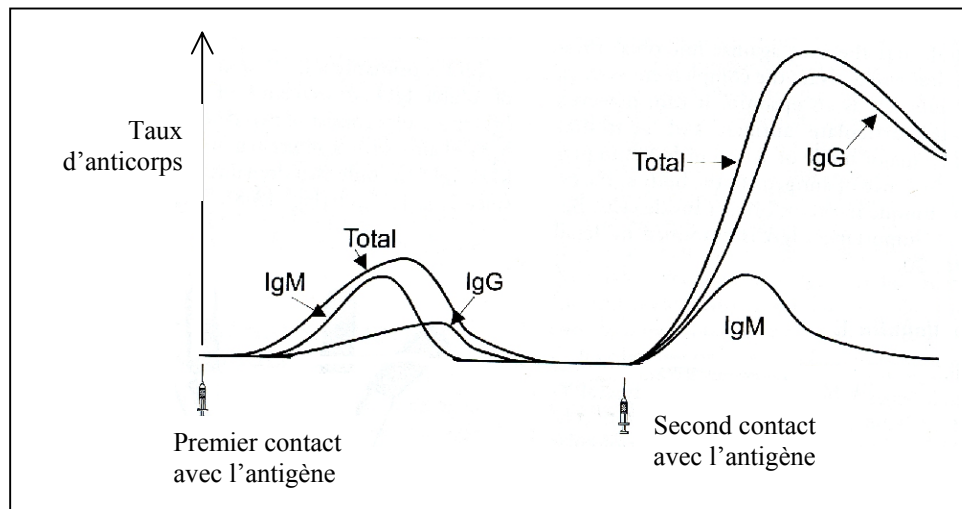


Figure 19 : Quantités relatives des différentes classes d'immunoglobulines produites lors d'une réponse immunitaire primaire et lors d'une réponse secondaire (d'après 117).

Tous les phénomènes immunitaires décrits nécessitent une coopération rigoureuse entre les cellules. On dit que les cellules T ont un effet auxiliaire pour décrire les interactions coopératives entre les cellules Th2 et les cellules B (mais aussi les macrophages) lors de la production d'anticorps (on emploie le même terme pour décrire les interactions existant entre les cellules Th1 et les macrophages dans la réponse à médiation cellulaire) (67, 117). Dans les deux cas, les cellules B ou les macrophages présentent l'antigène concassé et apprêté aux cellules T, reçoivent le signal de co-stimulation, et sont stimulés par les cytokines spécifiques (figure 20).

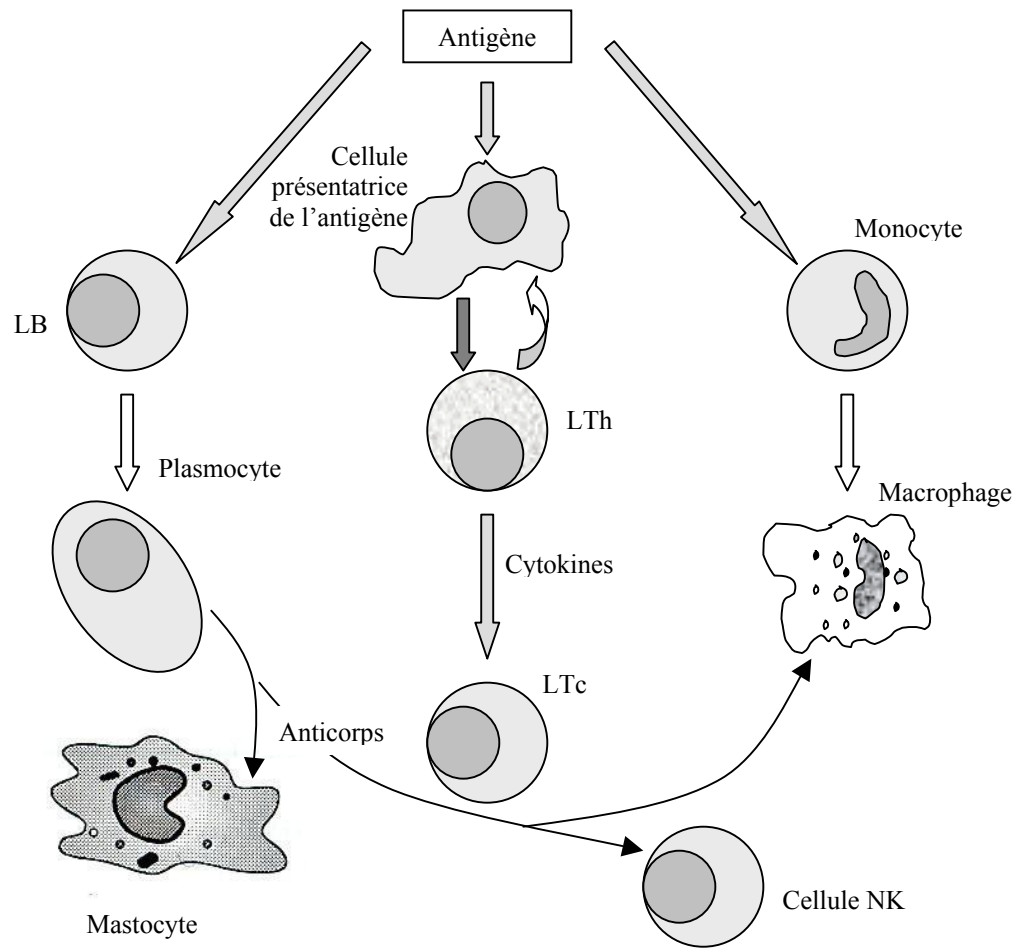


Figure 20 : La coopération cellulaire dans la réponse immune (67).

Chapitre III : Modalités de la réponse immunitaire contre

P. ovis.

Les réponses de l'hôte aux ectoparasites sont qualifiées d'immunologiques ou d'allergiques. Les mécanismes impliqués dans ces réactions sont similaires et peuvent être regroupés sous le terme d'immuno-allergiques. Ils mettent en jeu des antigènes, introduits dans l'hôte par le parasite, qui activent soit des anticorps, soit des lymphocytes, qui réagissent spécifiquement avec eux (figure 21) (74). De nombreux antigènes sont en général présents dans les sécrétions-excrétions des arthropodes. L'efficacité d'un antigène à activer une réponse anticorps chez l'hôte dépend de divers paramètres, par exemple, sa structure chimique et physique, la manière dont il est présenté au système immunitaire de l'hôte, sa quantité... (74).

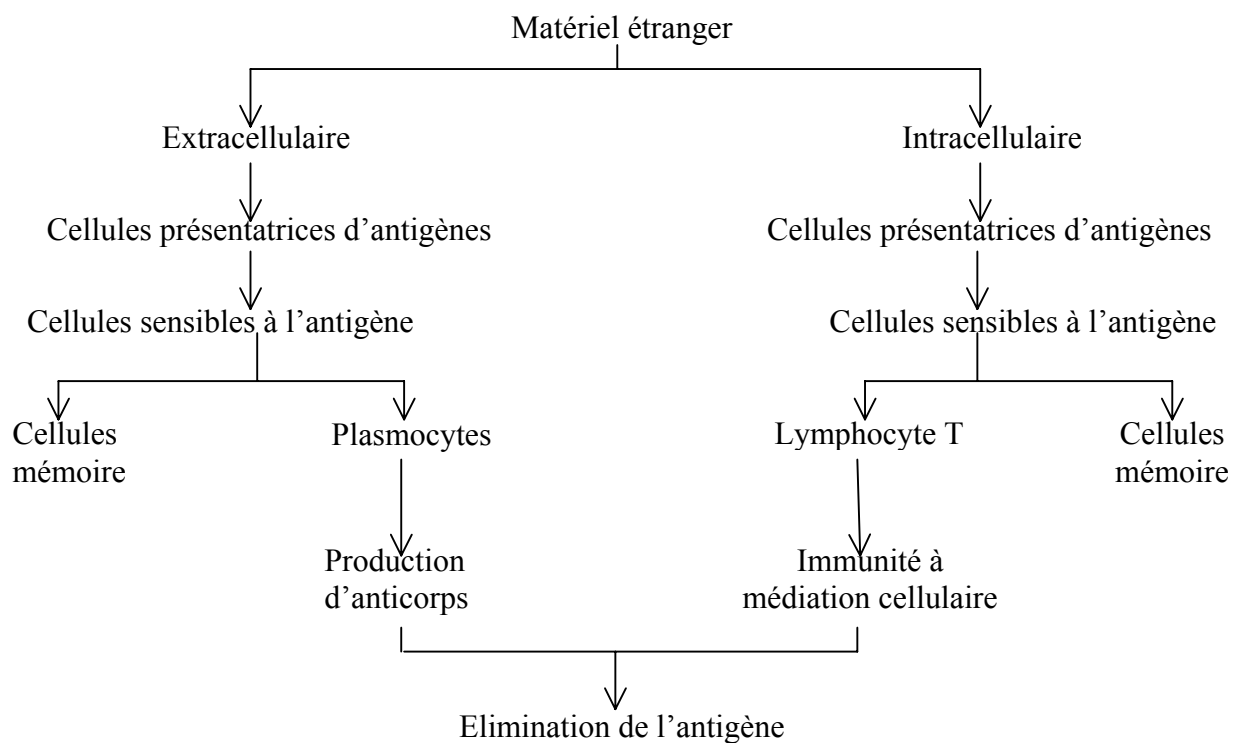


Figure 21 : Les étapes essentielles de la réponse immunitaire (d'après 117).

Partie 1 : Molécules à l'origine de la réponse immunitaire : les antigènes parasitaires

III.1.1. Antigènes : généralités

Un antigène est une substance étrangère susceptible d'être reconnue par le système immunitaire (67). Sa capacité à induire une réaction immunitaire définit son immunogénicité. On nomme allergènes les antigènes à l'origine d'une réaction d'hypersensibilité.

Les parasites des animaux possèdent des antigènes qui entrent en contact avec l'hôte (protéines salivaires, matières fécales, éléments cuticulaires). D'autres antigènes, appelés "antigènes cachés", sont localisés au sein des organes internes du parasite et ne sont jamais directement présentés à l'hôte. Ce sont surtout des enzymes, souvent protéolytiques et glycosylées (75). Ces antigènes cachés ont trois propriétés (55) :

- 1) ils ne sont normalement pas exposés à l'hôte,
- 2) ils ont un rôle physiologique essentiel,
- 3) ils entraînent une réaction immunitaire forte (après une sensibilisation préalable de l'hôte).

III.1.2. Antigènes de *Psoroptes ovis* impliqués dans l'immunopathogénie de la gale psoroptique ovine

Alors que les allergènes des acariens de poussière tels que *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Euroglyphus pteronyssinus* ou *Lepidoglyphus destructor* ont été largement étudiés (on leur reconnaît un rôle dans l'"allergie"), les antigènes/allergènes de *P.ovis* stimulant une réponse immunitaire chez les moutons (ou les bovins) ont été peu caractérisés. L'ensemble de ces molécules n'est, à ce jour, pas encore identifié. Les connaissances sur l'immuno-antigénicité/allergénicité des protéines purifiées de *P.ovis* sont donc limitées, mais de nombreuses recherches tendent à élargir le spectre de nos connaissances à leur sujet. La réponse immunitaire dépend de la quantité d'antigènes présentés (c'est à dire, du nombre de parasites), qui définit l'intensité du stimulus. Beck et Hiepe (17) ont montré que seules quelques-unes des fractions protéiques de *P.ovis* avaient une activité antigénique.

Le système immunitaire de l'hôte est naïf envers la majorité des composants des ectoparasites, à l'exception des produits sécrétés/excrétés et des composants de surface, qui sont responsables de la pathologie typique observée lors d'infestation. Ces antigènes induisent rarement une immunité protectrice. En outre, les sérums de bœufs parasités par *P.ovis* réagissent davantage avec les antigènes du système digestif du parasite qu'avec ceux associés à l'exosquelette ou aux autres organes (18, 48). Sachant que les pièces buccales de *P.ovis* ne pénètrent pas les couches inférieures au *stratum corneum* (12), il semble que la principale cause d'apparition des lésions et du prurit soit la réponse immuno-inflammatoire de l'hôte. En effet, certains éléments parasitaires, comme l'exuvie, les enzymes de mue ou de digestion, les boulettes fécales entourées par la membrane péritrophique, les bactéries et les substances libérées par les *Psoroptes* morts, sont inévitablement déposés sur l'épiderme intact ou enflammé (12, 118). Ces produits ont une action directe sur les cellules et l'architecture de l'épiderme (75) (voir I.2.2.4.).

Les matières d'origine fécale de *P.ovis* induisent une réaction immunitaire au niveau de la peau du mouton (12, 76). La réaction allergique (voir infra) observée lors de la maladie serait, pour une part, le résultat de la réponse immunitaire aux antigènes fécaux du parasite (110). Par analogie avec les acariens de poussière, on pense que les protéines de *P.ovis* responsables de la pathogénie de la gale, sont localisées dans l'intestin et séquestrées dans les boulettes fécales (57). Les enzymes associées à la membrane péritrophique pourraient, par ailleurs, favoriser la pénétration des produits parasitaires dans l'épiderme et engendrer une inflammation cutanée (118). Chez les acariens de poussière, en effet, la majorité des allergènes comprend des glycoprotéines de faible poids moléculaire (5-50 kDa) excrétées dans les boulettes fécales et capables de pénétrer le système respiratoire des individus atteints (48). De plus, la guanine contenue dans ces paquets d'excréments est considérée comme un antigène majeur (48, 99) et il est possible que l'antigène Dpt 12 de *D. pteronyssinus*, essentiellement associé aux fèces, soit présent chez *P.ovis* (mais à une concentration trop basse pour qu'il puisse être détecté) (57). Enfin, les produits issus du métabolisme des bactéries présentes dans la lumière du tube digestif de *P.ovis* peuvent aussi avoir des propriétés allergènes.

La connaissance des antigènes, de leur structure et des réactions croisées possibles entre *P.ovis* et d'autres arthropodes parasitaires (ou à l'origine de phénomènes allergiques) est importante pour le développement de tests immunologiques. Boyce et Brown (23) ont révélé une quasi complète homologie dans les profils antigéniques des acariens du genre *Psoroptes*.

P. ovis possède aussi des antigènes communs avec *Sarcoptes suis*, *Notoedres cati* et *Chorioptes bovis* (70). L'existence d'une réactivité croisée entre les antigènes de *P. ovis* et de la tique *Dermacentor variabilis* a aussi été bien documentée (50). De plus, il existe une réactivité croisée entre *P. ovis*, *P. cuniculi* et *D. pteronyssinus*. Ces trois espèces ont en effet huit antigènes communs dont le plus important a été identifié comme étant une lipoprotéine allergénique : Dpt 4 (109). *P. ovis* partage treize antigènes avec *S. suis* (colonne B2, figure 22), 9 avec *N. cati* (colonne B3, figure 22) et 8 avec *C. bovis* (colonne B4, figure 22) (70). Avec ces trois espèces, *P. ovis* possède en commun un antigène de 67 kDa auquel les anticorps sériques de moutons infestés par *P. ovis* se lient (sérums contrôles, colonnes B5, 6, 7 et 8, figure 22) (70). Enfin, *P. cuniculi*, *S. suis*, *C. bovis* et *P. ovis* possèdent un même antigène dominant de poids moléculaire égal à 170 kDa (panel B, colonnes 1, 2, 3 et 4, figure 22) (70). Cet antigène pourrait correspondre à l'antigène de haut poids moléculaire décrit par Boyce et Brown (23) chez quatre espèces de *Psoroptes* récoltées sur des hôtes différents (cerf mulet, lapin, bovin et mouflon).

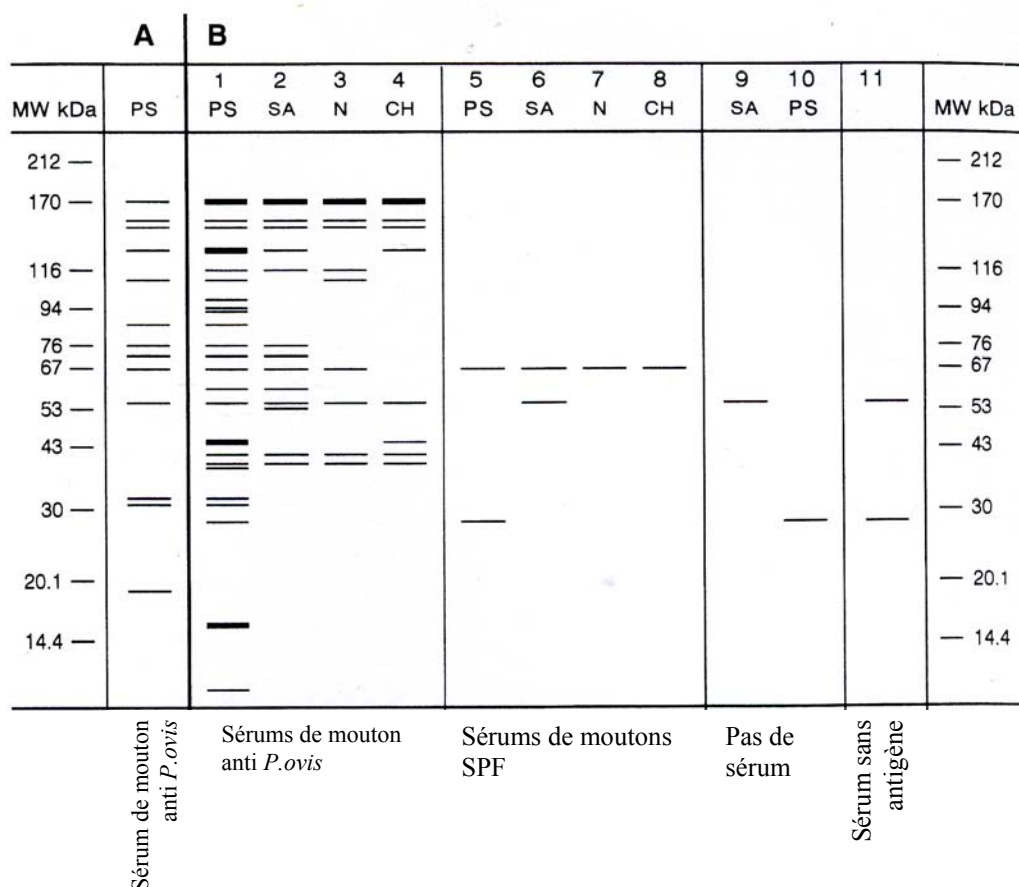


Figure 22 : Profil schématique des antigènes identifiés par Westernblot dans l'expérience de Matthes et coll. (70). Panel A, B, colonnes 1-10 : antigènes parasitaires liés sur une membrane de nitrocellulose (PS = antigènes de *P. ovis*, SA = antigènes de *S. suis*, N = antigènes de *N. cati*,

CH = antigènes de *C.bovis*). Panel A : les antigènes de *P.ovis* ont réagi avec les sérums anti-*P.ovis* de mouton (réaction révélée par ajout d'IgE monoclonales anti-mouton de souris et de l'IgG anti-souris de lapin conjuguée à une peroxydase). Panel B, colonne 1-4 : les antigènes ont réagi avec les sérums anti-*P.ovis* (réaction révélée par ajout des immunoglobulines anti-mouton de lapin conjuguées à une peroxydase) ; colonne 5-8 : sérums contrôles, les antigènes ont réagi avec le sérum de mouton SPF ("Specific Pathogen Free") (réaction révélée par ajout des immunoglobulines anti-mouton de lapin conjuguées à une peroxydase) ; colonne 9-10, contrôle de l'antigène : l'antigène a réagit avec les immunoglobulines anti-mouton de lapin conjuguées à une peroxydase (N et CH ne sont pas montrés car il n'y a pas de réaction) ; colonne 11 : les sérums anti-*P.ovis* de moutons séparés par SDS-PAGE et transférés sur une membrane de nitrocellulose, ont réagi avec les immunoglobulines anti-mouton de lapin conjuguées à une peroxydase (70).

Des extraits de différentes souches de *P.ovis* (collectées sur des espèces hôtes différentes), analysées par SDS-PAGE⁷ contiennent plus de 36 protéines, de poids moléculaire allant de 8-10 (23, 70) à plus de 200 kDa (70). Jayawardena et coll. (50) n'en ont dénombré que 22, avec des poids moléculaires s'étalant entre 12 et 183 kDa (la différence du nombre d'antigènes est associée à des différences dans la méthode employée et/ou à l'origine des souches parasitaires) (50, 70). Actuellement, seuls deux antigènes/allergènes de *P.ovis* ont été caractérisés :

□ Lee et coll. (57) ont démontré récemment, à partir d'une banque d'ADNc de *P.ovis*, que ce dernier contenait un homologue de Der p 1 de *D.pteronysinus*, nommé Pso o 1 (ou povDer p 1), de poids moléculaire égal à 36 kDa. Chez les acariens de poussière, l'allergène Der p 1 est considéré comme le plus immunodominant, contribuant à la réaction d'hypersensibilité de type I (dépendante des IgE ou hypersensibilité immédiate, voir infra) (57). Der p 1 est une protéase à cystéine qui appartient aux allergènes du groupe I⁸. Der p 1 rompt l'architecture épithéliale et augmente la perméabilité de la muqueuse bronchique. On pense aussi que cette protéine interfère avec la fonction des IgE en clivant spécifiquement le récepteur de faible affinité pour ces immunoglobulines (CD23) ; ce clivage permet la libération des IgE liées à la

⁷ SDS-PAGE : sodium dodecylsulfate-polyacrylamide agarose gel electrophoresis, voir description de la technique en annexe 3.

⁸ Environ 90% des patients "allergiques" aux acariens ont des IgE dirigées contre un groupe d'allergènes de 25-30 kDa, présentant de fortes homologues avec les protéases à cystéine et les protéases de la superfamille des

surface des cellules, interrompant ainsi le feedback négatif des IgE, tandis que la concentration en CD23 soluble augmente, stimulant davantage la synthèse d'IgE (118). Der p 1 est excrétée dans les boulettes fécales (48).

Lors d'infestation expérimentale, Pso o 1 induit une forte réponse IgG ainsi qu'une réponse IgE plus faible (57). Par rapport aux allergènes du groupe I, Pso o 1 possède 46 acides aminés supplémentaires à son extrémité C-terminale (57). La comparaison de la séquence de Pso o 1 avec celle de Der p 1, Der f 1 et Eur m 1 montre que les acides aminés reconnus pour avoir une activité enzymatique sont conservés dans la séquence Pso o 1. De plus, un site de N-glycosylation (Asn-X-Ser, où X est tout acide aminé sauf la proline) est aussi conservé dans la séquence Pso o 1 (57). Des modèles comparatifs ont suggéré qu'un épitope immunodominant de Der p 1 pour les IgE était très conservé dans les protéases à cystéine de différentes origines. Il l'est aussi dans la séquence Pso o 1 (57). Enfin, on sait que Der p 1, Der f 1 et Eur m 1 sont initialement synthétisés sous forme de pré/pro-molécules (elles subissent ultérieurement une réaction enzymatique qui les active). L'étude de la séquence de Pso o 1 montre que la protéine native doit subir elle aussi une activation (57).

La réponse anticorps au cours d'une infestation expérimentale chez des moutons suggère que Pso o 1 est un antigène important, probablement impliqué dans la pathogénie et/ou la réponse immunitaire contre *P.ovis* (57) (cependant, Pso o 1 n'est pas la seule protéase à cystéine chez *P.ovis* (voir I.2.2.4.) (118).

□ L'autre antigène/allergène de *P.ovis* caractérisé a été décrit par Pruett (89) qui, en travaillant sur l'espèce bovine, a mis en évidence un polypeptide de 143 acides aminés et 16 kDa, induisant une réponse d'hypersensibilité immédiate chez les bovins. Il a aussi montré que les 30 premiers acides aminés de cette molécule partagent des homologies avec les allergènes acariens de type II Lep d 2 de *L.destructor* et Der f 2 de *D.farinae*⁹ (57, 89, 116). Une autre étude a montré que la protéine mature compte 126 acides aminés (116) et qu'elle présente un site potentiel de O-glycosylation. Son poids moléculaire a été estimé à 13,468 kDa (ce qui ne correspond pas aux 16 kDa trouvés par Pruett et coll., mais la masse moléculaire des petits antigènes est très dépendante de la technique utilisée) (116). La fonction et l'origine (tissulaire, intestinale, fécale) de cette protéine de 16 kDa restent encore inconnues.

papaïnes. Elles sont connues sous le nom d'allergènes du groupe I et incluent Der p 1, Der f 1 et Eur m 1 de *D.pteronysinus*, *D.farinae* et *Euroglyphus maynei* (57).

⁹ Les allergènes du groupe II sont de petite taille ; ce sont des protéines neutres à basiques, contenant trois ponts dissulfures qui sont essentiels à leur immunogénicité.

Lee et coll. (55) ont aussi mis en évidence d'autres antigènes chez *P. ovis*. Ainsi, la séquence Pso o 2 de ce *Psoroptes* présente de fortes homologues avec l'antigène p Dp15 de *D. pteronyssinus*. Il s'agit d'une glutathion-S-transférase (GST) de classe μ , déjà isolée chez diverses espèces parasitaires et reconnue comme un des allergènes majeurs chez les acariens de poussière (elle provoque une réaction IgE chez les patients allergiques). Après clonage et expression de la protéine recombinante (rGST) chez *Escherichia coli* et sa purification, le poids moléculaire de cette GST a été déterminé à 30 kDa (56) (elle pourrait par conséquent correspondre à l'un des antigènes immunodominants, de poids moléculaire identique, découvert par Pruett chez *P. ovis*) (89). Les GST ont des rôles multiples (56) : elles permettent le métabolisme des substances toxiques, la protection des cellules contre les lésions oxydatives et possèdent aussi un rôle de ligand pour le transport intracellulaire de nombreux composés hydrophobes. Aucun anticorps contre cette protéine n'a pu être mis en évidence dans les sérums de moutons infestés (56).

Il est intéressant de noter qu'un des allergènes de *Blattella germanica*, Bla g 5, comme Pso o 2, est aussi une GST (8). De plus, un autre de ces antigènes, Bla g 6, comme Pso o 3 de *P. ovis*, est une troponine (8). Etant donné que *P. ovis* possède de nombreux antigènes homologues d'importants allergènes d'acariens de poussière (52, 118), des comparaisons avec l'allergie aux acariens de poussière en médecine humaine sont faites, permettant une meilleure compréhension de l'immunopathogénie des lésions galeuses (118).

D'autres antigènes de *P. ovis* sont en cours de caractérisation. Par exemple, Pso o 4, qui montre de fortes similitudes avec les gènes codant pour l'ARN 16s ribosomal mitochondrial de nombreuses tiques (*Boophilus* et *Ixodes* par exemple).

La technique du clonage a permis de découvrir un fragment d'ADNc de 330 paires de bases chez *P. ovis* correspondant à une séquence unique d'actine (55).

Enfin, dernièrement, Lekimme et coll. (58) ont détecté chez *P. ovis* l'existence d'une glycoprotéine-P (les glycoprotéines-P sont des protéines d'environ 170 kDa qui ont été bien conservées au cours de l'évolution. Elles appartiennent à la famille des transporteurs ATP-dépendants et joueraient probablement un rôle dans la résistance aux ivermectines) (58).

Notons qu'aucun anticorps anti-cuticule n'a pu être mis en évidence dans les sérums de moutons infestés (18), et il semble que la présence de parasites morts, de croûtes ou de lésions ne soit pas immunogène (60, 113).

Afin de décrire qualitativement les protéines de *P.ovis* auxquelles les ovins répondent, Matthes et coll. (70) ont utilisé une technique de Westernblot. Leurs résultats montrent qu'au moins 24 antigènes (sur les 35 recensés) sont reconnus par les anticorps sériques (immunoglobulines anti-*P.ovis*) des moutons infestés (souche allemande). Les antigènes dominants ont un poids moléculaire de 15, 44, 130 et 170 kDa (colonne B1, figure 22). Au moins 13 de ces antigènes sont reconnus par les IgE anti-*P.ovis* ovines (colonne A, figure 22). L'un d'eux, de 19 kDa, n'est reconnu que par les IgE anti-*P.ovis* (colonne A, figure 22), alors que les 12 autres le sont aussi par les autres isotypes (70). Il pourrait par conséquent constituer un allergène spécifique de *P.ovis*.

Ces observations recourent celles de Lee et coll. (57) qui ont révélé par Westernblot que, parmi les antigènes reconnus par les IgE sériques de moutons infestés, trois d'entre eux sont des antigènes majeurs de haut poids moléculaire (100-180 kDa), tandis que plusieurs autres, d'importance mineure, ont un poids moléculaire compris entre 14 et 100 kDa. Au sein des antigènes majeurs, les auteurs ont identifié des homologues de la vitellogenine/apoplipophorine (Der 14). Ces molécules possèdent un double rôle de transporteur de protéines, et de source nutritionnelle au cours de l'embryogenèse. Ils ne constituent donc probablement pas seulement des allergènes majeurs, mais pourraient aussi être importants dans la régulation et le contrôle de la réponse allergique vis-à-vis des acariens de poussière (118).

Jayawardena et coll. (50) ont dénombré six protéines antigéniques dominantes chez *P.ovis* (souche nord américaine), avec des poids moléculaires de 183 kDa, 143 kDa, 97 kDa, 41,8 kDa, 31,2 kDa et 12 kDa. Parmi ces antigènes, celui de 183 kDa n'avait jamais été décrit auparavant, bien qu'un antigène dominant de 170 kDa ait déjà été rapporté (70). L'antigène de 41,8 kDa identifié chez la souche nord américaine (50) correspond probablement à l'antigène de 41 kDa observé par Matthes et coll. (70) sur la souche allemande de *P.ovis* ainsi que chez *C. bovis*, *S. suis* et *S. scabiei*. Par contre l'antigène de 31,2 kDa, dominant chez la souche nord américaine (50) n'est pas mentionné comme un antigène dominant chez la souche allemande (70).

Boyce et coll. (24) ont obtenu des résultats similaires avec des sérums de mouflons infestés par *P.ovis* : les sérums réagissent avec au moins 7 antigènes différents (parfois plus de 20), allant de 12 à 164 kDa.

Partie 2 : Réaction immunitaire

Comme nous avons pu le voir, les antigènes exprimés par les acariens de poussière et *P.ovis* sont très proches. On peut alors penser que les pathogénies de ces maladies sont similaires, avec des antigènes allergisants induisant une réaction inflammatoire et une hypersensibilité. Cependant, à la différence des acariens de poussière, *P.ovis* est un ectoparasite obligatoire, qui s'est adapté au micro-environnement cutané ovin (118).

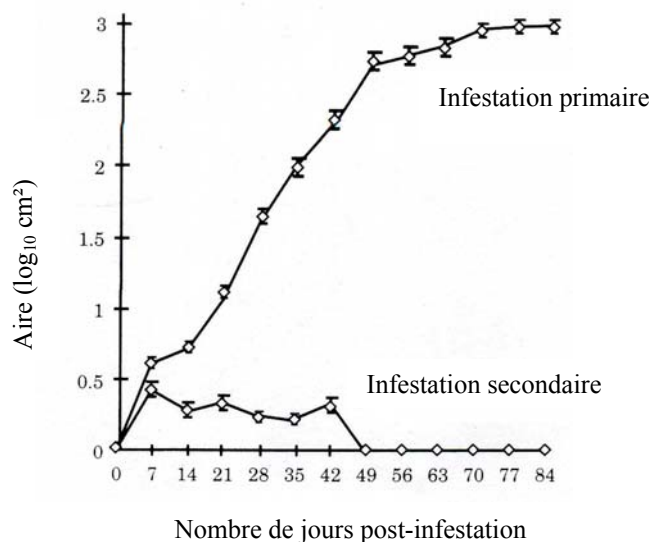
III.2.1. Manifestations de l'acquisition d'une immunité envers *Psoroptes ovis* chez le mouton

Une question importante dans le contexte de la recherche vaccinale ou de la mise au point d'un diagnostic sérologique, est de savoir si, oui ou non, le mouton peut acquérir une immunité contre *P.ovis*.

La réponse est clairement affirmative, comme l'illustrent les résultats d'expériences récentes (120). Dans l'une d'entre elles, un groupe de moutons de un an est infesté avec *P.ovis* sur une durée de 12 semaines. Les animaux sont ensuite traités avec un endectocide. Onze semaines plus tard, ces animaux sont de nouveau infestés (avec le même nombre de parasites) et un second groupe de moutons (groupe "contrôle"), indemne de la maladie, est infesté simultanément. Les changements dans les lésions et les paramètres immunologiques sont comparés avec les résultats de la première infestation (graphique 6). Après quelques semaines, les lésions cutanées s'étendent de façon exponentielle dans le groupe contrôle, mais pas chez les moutons en seconde infestation (mais une évolution identique au groupe contrôle a été observée chez eux lors de la primo-infestation) (14, 120).

Des observations similaires ont été effectuées dans d'autres expériences où, en plus, chez des animaux ayant subi plusieurs infestations, on a dénombré un nombre de parasites inférieur à celui des animaux infestés pour la première fois (14, 115).

Stromberg et Fisher (111) ont aussi montré, chez les bovins, que la réponse inflammatoire cutanée survient plus rapidement lors d'une seconde infestation que lors de l'infestation d'un animal naïf. L'existence de la réaction immunitaire n'est donc plus à prouver, mais ses modalités exactes restent encore peu connues.



Graphique 6 : Développement de l'aire lésionnelle cutanée chez le mouton, après une primo ou une seconde infestation par *P. ovis* (120).

III.2.2. Cellules présentes sur les sites lésionnels

Une infestation par *P. ovis* induit un afflux marqué de cellules au niveau de la peau (63). L'étiologie du fluide de la tuméfaction sous-cutanée est probablement multifactorielle. La dégranulation des mastocytes, suite à la stimulation antigénique par *P. ovis*, relargue des substances vasoactives entraînant une augmentation de la perméabilité de l'endothélium capillaire et un œdème du derme superficiel (99).

▣ Lymphocytes T

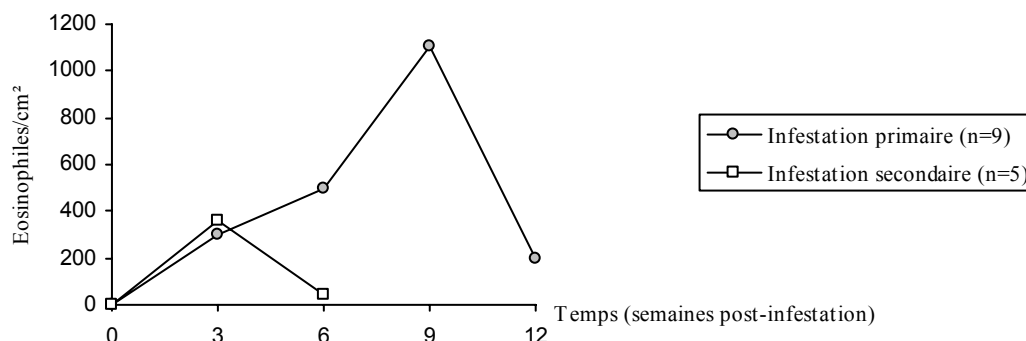
Un afflux important de LT CD4⁺, de cellules $\gamma\delta$, CD45RA⁺¹⁰ et CD1⁺ a été observé dans les lésions de gale. On sait que dans la peau saine, le ratio CD4⁺/CD8⁺ est de 1,9/1, mais, 7 semaines après une infestation par *P. ovis*, ce rapport atteint 70,5/1, ratio compatible avec un recrutement sélectif de cellules CD4⁺ dans la peau lésée (118). Le flux d'éosinophiles et de mastocytes qui l'accompagne indique que ces cellules CD4⁺ expriment des cytokines de type T_h2 (118).

¹⁰ Le marqueur cellulaire CD45 correspond à l'antigène leucocytaire commun. Le CD45RA est une forme particulière (de poids moléculaire élevé) de cet antigène leucocytaire commun.

■ Granulocytes éosinophiles

Au début de l'inflammation cutanée, l'exsudat inflammatoire ne contient que des cellules mononucléées (45, 106, 110). Six à huit heures après un contact avec l'antigène (106, 119) apparaissent des granulocytes éosinophiles qui sont la population cellulaire la plus représentée (29, 104, 110, 119, 120). Des pustules éosinophiles subcornéennes sont fréquemment observées et beaucoup de cellules éosinophiles sont aussi présentes dans les croûtes (120). La réponse cellulaire de la peau est suffisamment rapide pour penser que les *Psoroptes* sécrètent ou excrètent des antigènes chimiotactiques pour les granulocytes éosinophiles (phénomène démontré *in vitro*) (104, 118). Cependant, quel que soit le mécanisme, les granulocytes éosinophiles et/ou leurs produits n'empêchent pas l'extension des lésions ou la croissance de la population parasitaire (104).

Le graphique 7 montre que trois semaines après une ré-infestation, on observe un pic dans le nombre de granulocytes éosinophiles lésionnels, alors qu'il n'apparaît qu'à la neuvième semaine lors d'un premier contact (120). Par ailleurs, l'infiltrat lésionnel montre chez les moutons déjà sensibilisés un nombre d'éosinophiles supérieur à celui des sujets naïfs (119). Environ neuf semaines après l'infestation (120), on observe une réduction rapide du nombre d'éosinophiles lésionnels, tandis que le taux d'éosinophiles circulants continue d'augmenter (120). Ce phénomène peut être expliqué par une réduction de la perte cellulaire à travers l'épiderme, associée à un retard dans la normalisation de l'activité des cellules souches (110). Une chute identique du nombre d'éosinophiles lésionnels apparaît trois semaines après une ré-infestation, mais n'est pas accompagnée d'une augmentation de l'éosinophilie sanguine. Ces observations peuvent être le reflet des différences dans l'importance de la population parasitaire et donc du stimulus provoquant l'activation des éosinophiles (110).



Graphique 7 : Comptage des granulocytes éosinophiles lésionnels (120).

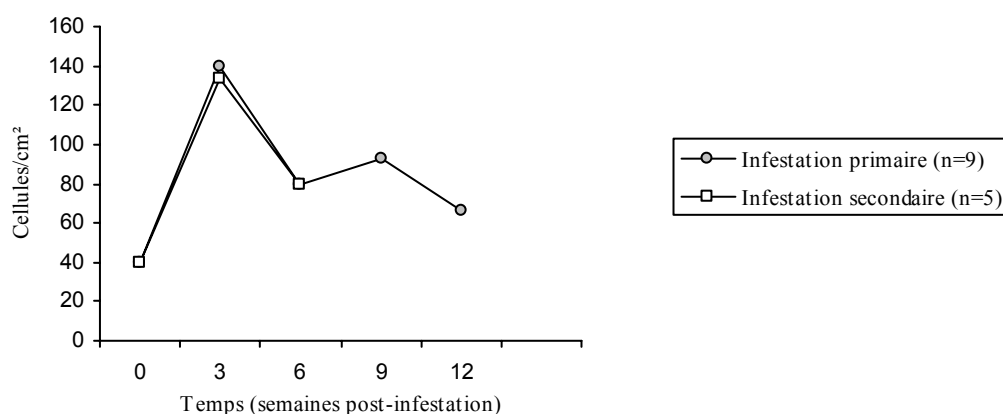
▣ Autres populations cellulaires

Les granulocytes éosinophiles sont accompagnés (en quantité inférieure) par des lymphocytes, des macrophages, des plasmocytes, des granulocytes neutrophiles et des mastocytes dégranulés (45, 104, 106, 110). Dans les lésions typiques de gale, il se produit un afflux cutané de granulocytes neutrophiles, stimulé par les facteurs bactériens chimiotactiques, les produits de dégradation de la fibrine, le complément, les mastocytes (99) et autres médiateurs de l'inflammation (29). Cette migration des granulocytes neutrophiles, variable selon les individus (29), limite les infections bactériennes secondaires au sein des lésions (99).

Une augmentation marquée du nombre de mastocytes et de basophiles (normalement absents dans la peau) apparaît. Le nombre de mastocytes est maximal 3 semaines après l'infestation et diminue entre la troisième et la sixième semaine (120) (graphique 8). Ces cellules se localisent alors surtout dans le derme superficiel (101) et les croûtes (120) ; elles présentent une dégranulation marquée (120).

Des érythrocytes extravasés sont invariablement retrouvés dans l'exsudat. Eux aussi se localisent surtout dans les croûtes (110).

Ces réactions cellulaires locales semblent augmentées par des phénomènes d'hypersensibilité générés ultérieurement par l'interaction des IgE et des mastocytes qui libèrent des médiateurs pro-inflammatoires (118).



Graphique 8 : Comptage des mastocytes et des basophiles lésionnels (120).

III.2.3. Immunité à médiation humorale

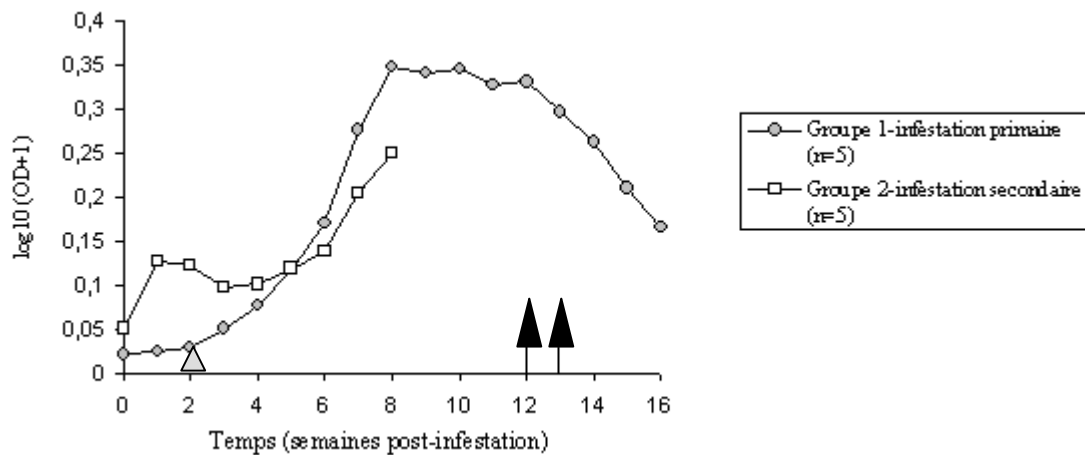
III.2.3.1. Concentration sérique en anticorps

En 1972, Fisher fut le premier à démontrer chez le mouton la présence d'anticorps en réponse à *P. ovis* (41). En 1987, le premier ELISA fut mis au point pour la détection de cet acarien chez le mouton (123). En 1991, c'est un ELISA cinétique qui fut développé pour le mouflon nord-américain (*Ovis canadensis*) (25) et en 1996, une méthode ELISA sandwich a pu être employée pour le diagnostic de la gale psoroptique chez les bovins (62). Ces avancées scientifiques ont permis, par la suite, d'obtenir des données plus précises sur l'évolution des taux d'anticorps sériques, témoins de la mise en place d'une immunité acquise chez les animaux galeux. En se liant aux antigènes parasitaires, les immunoglobulines permettent leur élimination. Ainsi, le développement de l'activité sérique en anticorps est corrélé avec le développement des lésions et l'évolution du nombre de parasites (42, 121). Par ailleurs, non seulement chaque individu développe son propre répertoire d'anticorps face au parasite, mais les caractéristiques de la réponse immunitaire varient en fonction de l'espèce hôte (25, 121).

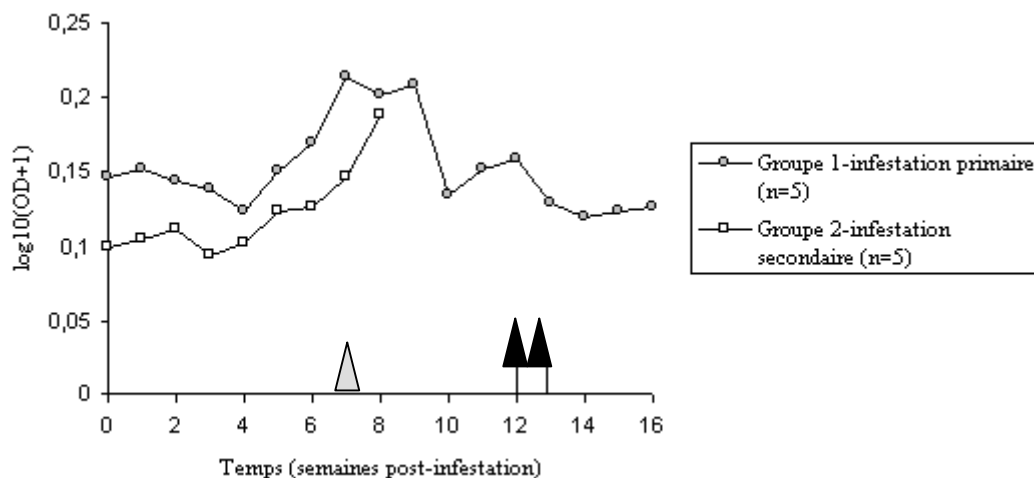
On sait que les sérums de moutons infestés reconnaissent environ 20 antigènes différents de *P. ovis* (23). La réponse humorale n'est détectable qu'après 20 à 25 jours de maladie (12) et on a montré par ELISA qu'un premier contact avec *P. ovis* induisait chez le mouton une augmentation significative des taux d'anticorps de types IgM, puis IgG et IgE (commutation de classe ou "switch") (121). Les études de Bates (12) et de Van den Broek et coll. (119, 121) n'ont pu prouver l'existence d'une réponse de type IgA, bien que certains résultats suggèrent qu'elle soit tout de même présente, mais à un faible niveau (par ailleurs, une réponse de type IgA envers un ectoparasite autre que *S. scabiei* n'a jamais été mise en évidence).

Le rôle des différents isotypes dans la défense de l'hôte n'est encore pas défini (121). Les IgG circulantes spécifiques de *P. ovis* sont les premières à apparaître. Une augmentation significative de la concentration moyenne en IgG peut être détectée à 2 (121) voire 3-4 semaines lors d'une infestation primaire (104, 118). Chez les animaux naïfs infestés, les taux sériques maximaux en IgG s'observent entre la 8^{ème} et la 12^{ème} semaine (121) (graphique 9). Lors d'une seconde infestation, la réponse IgG est brève (valeurs non significatives par rapport aux valeurs de référence) (121).

Suite à une primo infestation, une augmentation significative des IgM sanguines est observable après 7 semaines (121) (graphique 10).



Graphique 9 : Taux d'IgG spécifiques anti-*P.ovis* lors d'infestations primaire et secondaire¹¹. La flèche grise indique la première augmentation significative du taux d'anticorps au cours de la primo-infestation et les flèches noires indiquent les traitements avec un endectocide (d'après 121).



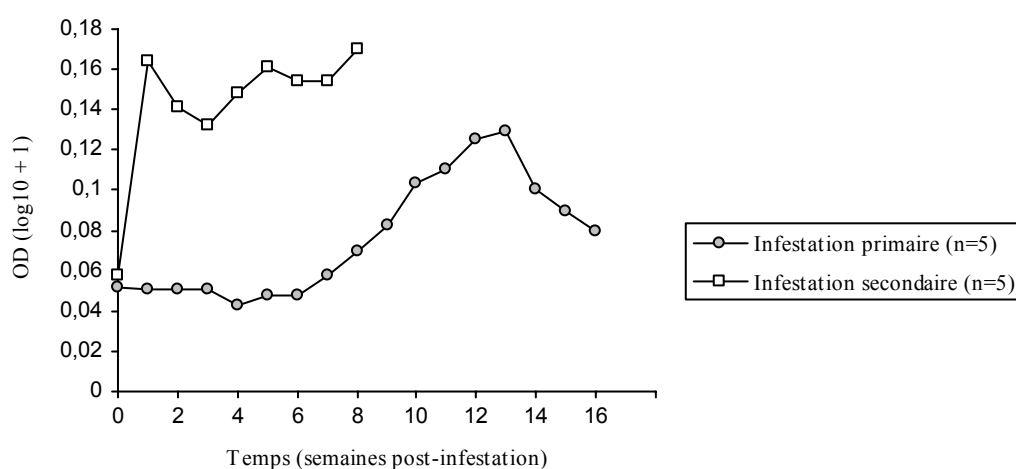
Graphique 10 : Taux d'IgM spécifiques anti-*P.ovis* lors d'infestations primaire et secondaire⁹ (121).

Aucune réponse mémoire impliquant les IgG ou les IgM n'a pu être mise en évidence de manière significative à la suite d'un nouveau contact avec le parasite (120, 121) (il en va de

¹¹ Dans cette étude (121), Van den Broek et coll. ont mesuré les différents paramètres périodiquement, de la semaine 0 à 16 pour l'infestation primaire, mais seulement jusqu'à la semaine 8 pour l'infestation secondaire, sans préciser les raisons de cette différence dans le protocole. Il est par conséquent difficile de comparer les réactions primaire et secondaire au-delà de la 8^{ème} semaine.

même chez les bovins) (42). Néanmoins, Van den Broek et coll. (121) ont détecté une réponse anamnesticque des anticorps IgG spécifiques, mais, les réponses individuelles variant fortement, cette réponse mémoire n'est pas statistiquement significative (121).

La réponse IgE spécifique est plus lente à se développer et la détection des IgE est tardive lors d'une première exposition au parasite (104, 120). En effet, la concentration en IgE sériques ne commence à augmenter qu'à partir de la 6^{ème} ou 7^{ème} semaine après la primo-infestation, avec un pic à la 13^{ème} semaine. Lors d'un second contact, le système immunitaire ovin répond plus rapidement (réponse mémoire) et le taux sanguin en IgE est supérieur à celui observé en primo-infestation (120) (graphique 11).



Graphique 11 : Evolution des titres en IgE sériques⁹ (d'après 120).

Des études sur des bovins, vaccinés (injection intradermique) contre *Dermatophilus congolensis*, ont montré une production locale d'IgA sécrétoires spécifiques des antigènes et leur sécrétion à la surface cutanée, en l'absence d'une augmentation des IgA sériques. Il est par conséquent possible que les IgA soient impliquées dans les défenses de l'hôte contre *P.ovis*, même si elles ne sont pas mises en évidence dans le sérum (121) (les IgA sériques et les IgA sécrétoires sont en effet différentes).

III.2.3.2. Evolution de la réponse humorale

Comme l'infestation progresse, les IgG et les IgE réagissent respectivement avec un plus grand nombre d'antigènes et d'allergènes (121) (tableaux 14 et 15). Cette variation de la réponse humorale est effective aussi bien lors d'une infestation primaire que secondaire. En effet, l'étude de Rossi et coll. (97) a établi que des sérums de lapins récemment infestés par

P.cuniculi et présentant une forme aiguë de gale, ne réagissent qu'avec des antigènes correspondant au matériel fécal et à la cuticule. Au contraire, les sérums de lapins résistants ou ceux des individus en infestation chronique réagissent, en plus (et avec une forte intensité), avec des antigènes de cellules du tractus digestif du *Psoroptes*. Ces cellules sont associées au ventricule, aux deux diverticules, au colon et aussi, chez les lapins résistants, au post-colon (97).

L'intensité de la liaison aux allergènes et le nombre d'allergènes identifiés sont donc plus élevés lors d'une seconde infestation qu'au cours de la première. Il y a aussi une augmentation de la liaison des IgG mais celle-ci se développe plus graduellement. La réponse immunitaire à *Psoroptes* varie donc au cours du temps et des infestations successives.

Wall et coll. (122) ont montré que si la réponse immunitaire réduisait la fécondité des femelles, le nombre relatif d'œufs, de larves, de nymphes et d'adultes s'en trouvera modifié dans les phases plus tardives de l'infestation primaire. Ce phénomène serait à l'origine des changements dans les profils antigénique et allergénique observés et donc de l'évolution de la réponse immunitaire dans le temps (121).

Tableau 14 : Antigènes majeurs réagissant avec les IgG lors d'une primo-infestation. Le tableau présente le nombre d'animaux chez lesquels on observe une liaison antigène-anticorps IgG au cours de la primo-infestation (les paramètres ont été mesurés sur 6 animaux) (d'après 121)

Poids moléculaire de l'antigène (kDa)	Contrôle (pré-infestation)	Semaines 4-6	Semaines 11-13
>100	-	4/6	6/6
90	-	-	-
80	-	-	-
70	-	-	-
65	-	-	-
54-57	1/6	3/6	4/6
50	-	-	-
45-47	1/6	3/6	4/6
40	-	-	-
28-34	1/6	4/6	4/6
>15	-	4/6	6/6

Tableau 15 : Antigènes majeurs réagissant avec les IgE lors d'une primo-infestation. Le tableau présente le nombre d'animaux chez lesquels on observe une liaison antigène-anticorps IgE au cours de la primo-infestation (les paramètres ont été mesurés sur 6 animaux) (d'après 121)

Poids moléculaire de l'antigène (kDa)	Contrôle (pré-infestation)	Semaines 4-6	Semaines 11-13
>100	-	6/6	6/6
90	-	-	-
80	-	-	-
70	1/6	1/6	6/6
65	1/6	1/6	5/6
54-57	-	2/6	6/6
50	2/6	4/6	5/6
45-47	2/6	2/6	5/6
40	-	-	-
28-34	5/6	6/6	6/6
>15	-	-	1/6

Van den Broek et coll. (121) ont aussi montré que 11 à 13 semaines après une primo-infestation, les IgG réagissent avec cinq antigènes majeurs, tandis que les IgE se lient à trois allergènes majeurs et cinq allergènes mineurs. D'autres antigènes et allergènes sont liés respectivement par les IgG (antigènes de 80, 65, 40 et 20 kDa) et les IgE (antigènes de 90 et 80 kDa), mais ces réactions sont faibles (121). Les antigènes immunodominants, c'est-à-dire ceux de poids moléculaire supérieur à 100 kDa ou inférieur à 15 kDa, sont les plus efficaces pour stimuler une réponse IgG. De même, les allergènes de plus de 100 kDa sont les plus efficaces pour stimuler une réponse IgE importante (121).

Lors d'une ré-infestation, les IgG sériques ovines réagissent (faiblement) avec au moins trois des antigènes majeurs identifiés lors de la primo-infestation. Les IgE ne reconnaissent, de manière constante, qu'un antigène majeur, mais jusqu'à quatre antigènes mineurs. Ces résultats sont présentés dans le tableau 16.

Tableau 16 : Variation de la réponse antigène-anticorps au cours de la réponse immunitaire primaire et secondaire ; comparaison de l'intensité des réactions antigène-IgG et antigène-IgE (d'après 121).

Poids moléculaire (kDa)	IgG		IgE	
	Primo-infestation	Seconde infestation	Primo-infestation	Seconde infestation
>100	+++	++	++++	++
90				+++
80				0 à ++
70			+	0 à ++
65			+	
54-57	0 à +++	+	+++	0 à ++
50			+	+++
45-47	0 à +++	+	++	+++
40				0 à ++
28-34	0 à +++	0 à +	++	+++
>15	++++	0 à +	+++	0 à ++++

Intensité de la liaison : 0 : pas de liaison (ou très faible) ; + : faible ; ++ : moyenne ; +++ : forte ; ++++ : très forte

III.2.3.3. Effet du traitement sur la réponse humorale et diminution des concentrations en anticorps

Après traitement, les concentrations sériques en anticorps diminuent lentement (42). Ce déclin débute assez tôt (en 7 à 14 jours dans l'espèce bovine) et correspond à la disparition des parasites vivants (60). La diminution est linéaire, mais la séronégativité est longue à apparaître (environ 4 mois chez les bovins) (60). De plus, quel que soit le niveau d'infestation des animaux (sévère ou léger), la diminution du taux d'anticorps est similaire (60).

Pour expliquer la longue persistance des anticorps dans le sang, Fisher (1986) suggère que les antigènes parasitaires, piégés dans la peau (parasites morts et leurs particules) (60, 76), ou les excréments liés aux croûtes séchées (12), sont responsables d'une stimulation soutenue du système immunitaire et donc de la longue demi-vie des IgG sériques. Cette stimulation persiste aussi longtemps que la croûte est en contact avec la peau de l'hôte (12). L'exposition aux antigènes de *P.ovis* semble donc stopper avec la fin de l'activité des parasites (60, 113).

III. 2.4. Réactions d'hypersensibilité (HS) intervenant dans l'immunopathogénie de la gale psoroptique ovine

L'HS est une réponse immune démesurée ou inappropriée envers un antigène (67). Trois types de phénomènes d'HS classiques sont décrits chez les moutons atteints de gale psoroptique : l'HS de type I ou immédiate, l'HS de type III, dépendante des complexes immuns (appelée réaction d'Arthus au niveau de la peau), et l'HS de type IV, ou retardée, qui correspond, dans le cadre de la maladie, soit à une réaction d'HS cutanée à basophile, soit à une HS de contact. Deux autres phénomènes allergiques indépendants des anticorps pourraient aussi intervenir.

III.2.4.1. HS de type I (immédiate)

III.2.4.1.1. Généralités

L'HS de type I survient dans les minutes qui suivent la rencontre avec l'antigène et dépend de l'activation des mastocytes, qui provoque la libération des médiateurs de l'inflammation aiguë (voir II.2.1.1). Au cours du processus de sensibilisation à un allergène, un individu susceptible développe une réponse de type IgE spécifique. Les mastocytes et les basophiles sont sensibilisés par la liaison des IgE avec leurs récepteurs spécifiques (FcεRI). L'agrégation de ces IgE par l'antigène induit un flux de calcium (Ca^{++}) à l'origine de la dégranulation des mastocytes, la libération d'amines vasoactives responsables de la réaction inflammatoire et l'activation de la phospholipase A2 qui produit l'acide arachidonique (figure 23). Suite au contact avec l'allergène, on observe donc une réaction immédiate causée par l'histamine, les prostaglandines et l'action du PAF sur les plaquettes (67, 117).

Solley et coll. (106) ont décrit cette phase de réaction immédiate chez l'homme : elle est caractérisée par une réponse inflammatoire prurigineuse qui apparaît rapidement après contact avec l'allergène, atteint un pic en 15-30 minutes et décline progressivement après 60 minutes. Dans de nombreux cas, une phase de réaction tardive (elle aussi dépendante des IgE) se met en place au même endroit. Elle est contrôlée par les prostaglandines, les leucotriènes (tous deux issus du métabolisme de l'acide arachidonique) et les cytokines. Ainsi, en 4 à 5 heures, un prurit moyen annonce l'exacerbation de l'inflammation dont le maximum s'observe entre 6 et 12 heures. Au sommet de la réponse, la lésion est caractérisée par un érythème, de la chaleur, un œdème, du prurit et/ou une sensibilité (106).

Au cours de la réponse immédiate, les mastocytes et les basophiles sont les cellules prédominantes. Typiquement, la phase de réaction tardive de l'HS de type I est caractérisée par une infiltration très importante des lymphocytes T qui constituent 50% des cellules de l'infiltrat lésionnel (avec une majorité de cellules CD4+) (44). L'accumulation des GNE constitue aussi un processus dominant (106). Ces cellules s'accumulent sur les sites réactionnels à partir de la 6^{ème} heure et leur nombre atteint un plateau entre 24 et 48 heures (44).

Des réactions d'HS de type I (phase immédiate et phase tardive) sont décrites très fréquemment en médecine humaine, dans les allergies cutanées aux excréments d'acariens de poussière (67). Chez les animaux, des phénomènes allergiques sont communément associés aux réponses contre les parasites arthropodes. Par exemple, lors de gale causée par *Sarcoptes scabiei* chez le chien ou *Otodectes cynotis* chez le chat, une réaction d'HS de type I semble contribuer au développement des lésions et une injection intradermique d'antigènes parasitaires conduit à une réponse inflammatoire immédiate (117). Par ailleurs, des observations font état d'une réaction d'HS immédiate chez les bovins infestés par *P. ovis* : lors de la primo-infestation, on observe le développement d'un léger prurit pendant plusieurs semaines, alors qu'à l'infestation suivante (avec un nombre de parasites identique), un prurit marqué se déclenche en quelques minutes au site de contact (63). Ce phénomène, appelé "phénomène de grooming", est un effecteur important de la réponse immunitaire puisqu'il contribue à l'élimination des parasites ("self cure") (42, 88, 89, 110) et permet une restriction importante de la surface corporelle touchée (63). Ce comportement n'a cependant jamais été décrit chez le mouton.

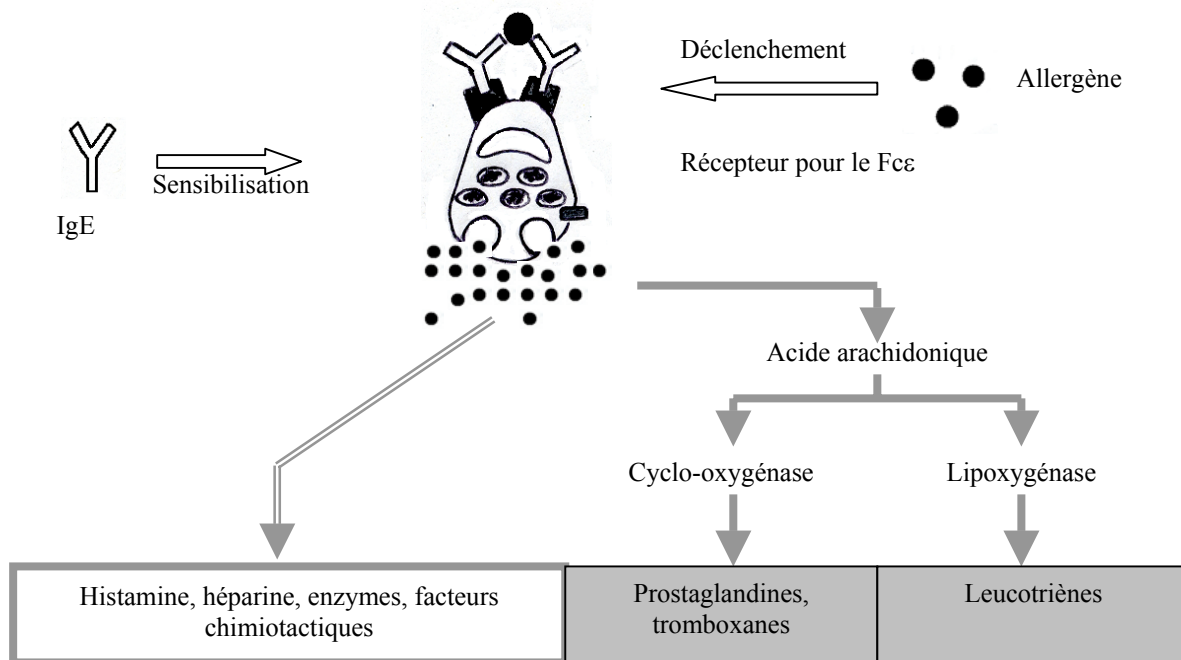


Figure 23 : L'hypersensibilité de type I (67).

III.2.4.1.2. Réaction d'HS de type I classique et gale psoroptique ovine

Les réactions décrites dans les mécanismes d'HS de type I semblent correspondre à celles observées au cours de la réponse immunitaire contre *P.ovis* chez le mouton (106). Cette réponse a, en effet, toutes les caractéristiques d'une dermatite allergique (104, 106) :

▣ Changements au niveau cutané

Stromberg et Fisher (110) ont montré chez des moutons galeux le développement d'une dermatite exsudative chronique (voir I.4.). Celle-ci est caractérisée par une inflammation cutanée profonde, la présence de LT CD4+ en forte quantité (106), un infiltrat éosinophile important (120) et une hyperplasie marquée des mastocytes et des basophiles (120) tout à fait compatibles avec un phénomène allergique (voir chapitre III, 2.2).

De plus, de récentes études se sont concentrées sur les réponses inflammatoire et cellulaire de moutons sensibilisés à *P.ovis* et soumis à une injection intradermique d'extraits totaux de ce parasite. Elles ont montré l'apparition immédiate d'une réaction inflammatoire, caractéristique d'une HS de type I (17, 88, 119). Cette réaction est maximale après 1 heure et décline ensuite avant d'évoluer après 6 heures vers une réaction de phase tardive qui persiste jusqu'à la 24^{ème} heure (118, 119).

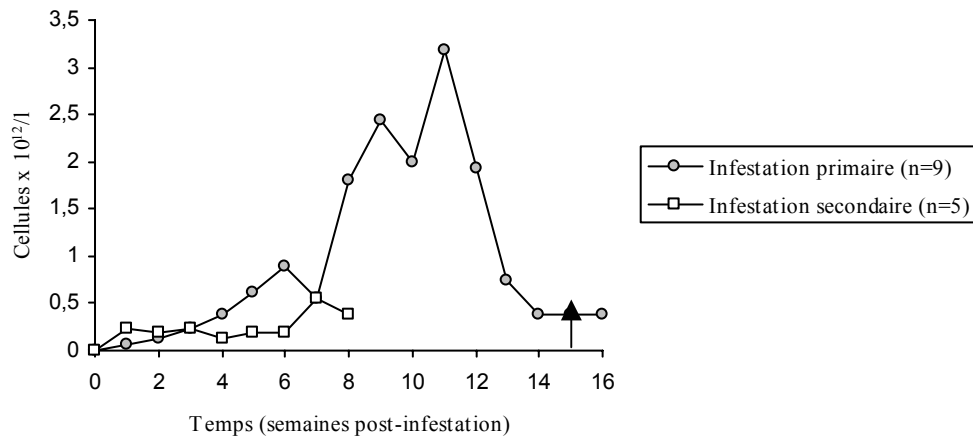
Ces données démontrent qu'au niveau de la peau, une réaction d'HS de type I contribue à la pathogénie de la gale ovine (A9). La phase précoce mais aussi la phase tardive semblent être dues à l'interaction IgE/allergènes à la surface des mastocytes ou des basophiles (106, 63), cellules indispensables à cette réaction et dont la dégranulation en constitue le mécanisme central (45).

▣ Changements hématologiques

Lors du premier contact avec le parasite, l'éosinophilie sanguine (élément caractéristique de l'HS de type I, 117) est tardive, avec un pic à 6 semaines chez les bovins (63) et à 10-12 semaines chez les moutons (120). La réponse est plus rapide lors d'une seconde rencontre avec le parasite avec un pic au dixième jour chez les bovins (63), à 7 semaines chez le mouton (120) (graphique 12). Deux mécanismes sont impliqués dans la mobilisation des granulocytes éosinophiles :

- 1) La synthèse des GNE dans la moelle osseuse est stimulée par l'IL-3 et l'IL-5, produites par les lymphocytes T_h2 et les mastocytes,
- 2) Les granulocytes éosinophiles sont spécifiquement attirés sur les sites de dégranulation des mastocytes par des "eosinophil chemotactic factors", le leucotriène B4, l'histamine, le PAF et le C5a (117).

L'hypothèse de l'intervention d'une HS de type I dans la gale psoroptique ovine est, du moins en partie, renforcée par le fait que la concentration sérique en granulocytes éosinophiles suit fidèlement l'évolution clinique de la maladie, avec un retour à la normale dans les deux semaines suivant le traitement (76).



Graphique 12 : Taux d'éosinophiles circulants chez des moutons en primo-infestation et en seconde infestation (la flèche indique que les animaux ont reçu un traitement à l'ivermectine) (d'après 120).

On a pu mettre en évidence une forte synthèse d'IgE sériques spécifiques des antigènes de *P. ovis* lors d'une infestation secondaire (120) (voir II.2.4) et l'induction de la phase tardive de la réaction d'HS de type I après l'injection d'anti-IgE (106). En outre, Matthes et coll. ont montré par SDS-PAGE qu'au moins treize antigènes de *P. ovis* étaient reconnus par les IgE ovines (70), et Van den Broek et coll. (119) ont montré que les allergènes de *P. ovis* se liaient aux IgE à la surface des mastocytes, entraînant leur dégranulation.

On remarquera que les IgG, par un phénomène de compétition avec les antigènes, amoindrissent les réactions immédiates et tardives de la réaction d'HS de type I (45) (les antigènes étant piégés par les IgG avant qu'ils n'aient pu se lier aux IgE fixées à la surface des mastocytes).

III.2.4.1.3. Anaphylaxie cutanée passive chez les moutons naïfs

Lors d'injection intradermique de l'antigène Der p 1, aucune différence n'est détectée dans les réponses inflammatoires de moutons naïfs et de moutons sensibilisés (119). Il semble que des protéases, comme Der p 1, provoquent la libération de cytokines à partir des mastocytes, en l'absence d'IgE (66). Par exemple, la dégranulation des mastocytes par les phospholipases et les protéases de nombreuses espèces parasitaires, la trypsine, la chymotrypsine ou la thrombine, est un phénomène établi. De plus, Machado et coll. (66) ont montré que chez l'Homme, des allergènes courants comme le venin d'abeille ou les émanations des acariens de poussière (riches en protéases et en phospholipases) induisent la dégranulation des mastocytes

et des basophiles et stimulent la synthèse et la sécrétion d'IL-4, en l'absence d'IgE spécifiques de l'antigène (66). Cette dégranulation non immunologique est étroitement dépendante de l'activité enzymatique de l'antigène (la dégranulation n'est effective que si les enzymes sont actives) (66).

Van den Broek et coll. (119) ont montré que chez les moutons naïfs, au-dessus d'une certaine concentration (>20 g/ml), les protéines de *P.ovis* provoquent une réaction inflammatoire non immunologique. Cet effet dose-dépendant est rapporté chez l'homme lors de réaction aux protéases des acariens de poussière (66).

L'IL-4 est une cytokine ayant un rôle prépondérant dans la réponse IgE et donc dans l'allergie (figure 24). Le seul stimulus actuellement reconnu pour induire la production d'IL-4 par ces cellules est l'agrégation des récepteurs FcεRI, *via* les IgE, par l'antigène (66, 67, 117). Der p 1 permettrait la libération de l'IL-4 (66). Or, l'IL-4 stimule le développement des cellules T_h2 qui agissent comme une source majeure de cette cytokine et stimulent les réponses IgE. La dégranulation des mastocytes libère aussi de l'IL-4 qui favorise encore plus ces réactions. La réponse IL-4 est inhibée par l'INF-γ et l'IL-12.

Ainsi, la libération de l'IL-4 a d'importantes conséquences : elle stimule la croissance et la différenciation des cellules B et, chez la souris et l'homme, les mastocytes et les basophiles sont capables de fournir (*via* le CD40L, ligand du CD40 présent sur les LB et les monocytes/macrophages) (67) les signaux minimaux essentiels pour induire la commutation de classe des cellules B vers la synthèse d'IgE (66,117). Il est très probable que son rôle soit similaire chez les animaux domestiques (117). Par conséquent, chez les moutons, une réaction d'HS de type I, indépendante des IgE, pourrait être induite face aux antigènes de *P.ovis* – que l'on sait très proches de ceux des acariens de poussière, dont Der p 1¹²).

¹² On rappelle que *P.ovis* possède un homologue de Der p 1 nommé Pso o 1 (voir III.1.2).

La réaction d'Arthus (figure 25) est une réaction cutanée qui se présente macroscopiquement sous la forme d'une zone rouge et gonflée et qui est maximale 5 à 6 heures après l'injection intradermique de l'antigène. Elle est causée par la liaison des IgG à l'antigène injecté et au déclenchement des mécanismes d'HS de type III précédemment décrits (67). Ce type de réaction cutanée a été observé chez les chiens infestés par *S. scabiei* et les chats infestés par *O. cynotis*. Outre la réaction d'HS immédiate exprimée (voir III.2.5.1.), le système immunitaire semble aussi synthétiser des précipitines envers les antigènes parasitaires, et il est prouvé que les complexes immuns contribuent au développement des lésions (117).

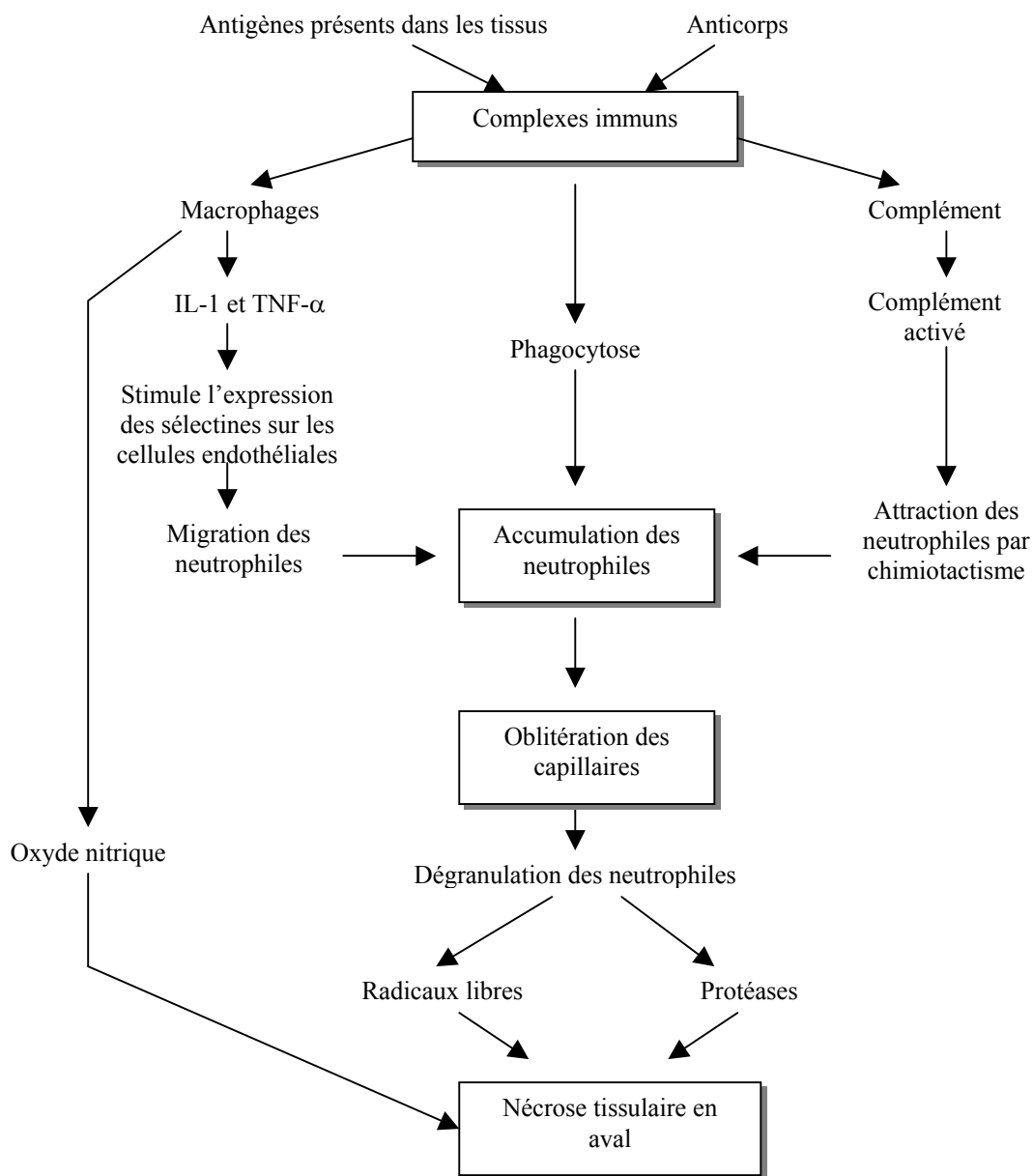


Figure 25 : Les mécanismes d'HS de type III impliqués dans la réaction d'Arthus (d'après 117).

III.2.4.2.2. Réaction d'HS de type III et gale psoroptique ovine

Chez les moutons galeux, au niveau de la peau, les réactions se traduisent par un dépôt d'IgG, IgM et C3, ainsi qu'un infiltrat tissulaire par des cellules (dont des granulocytes neutrophiles) (45, 119). De plus, l'injection intradermique de Der p 1 provoque une inflammation en 3 à 5 heures, et on observe une infiltration cellulaire riche en granulocytes neutrophiles dont le nombre est identique que les moutons soient naïfs ou déjà sensibilisés (cet afflux de neutrophiles décline après la sixième heure suivant le contact avec l'antigène) (119). Ces données histopathologiques pourraient désigner ce mécanisme inflammatoire comme une réaction d'Arthus (45). On sait aussi que Der p 3 (une protéinase à sérine appartenant à *D.pteronyssinus*, acarien phylogénétiquement proche de *P.ovis*) a la capacité d'activer le C3 et le C5 du complément (sans doute par la voie alterne), contribuant ainsi chez l'homme à la réponse allergique (48).

Toutefois, d'autres recherches ont montré que la réaction de la peau ne dépendait que des IgE et que sa progression ne nécessitait pas l'intervention d'autres anticorps (106). Par conséquent, l'activation du complément et la présence des IgG ne seraient pas essentielles (45, 106). Ces conclusions réfutent donc l'hypothèse de la mise en jeu d'une HS de type III dans la pathogénie de la gale ovine.

III.2.4.3. HS de type IV (retardée)

III.2.4.3.1. Généralités

Depuis longtemps, des travaux ont montré que chez les sujets allergiques, une exposition aux allergènes provoque non seulement une réponse immédiate, mais aussi une réaction retardée, évidente 24 à 48 heures après contact avec l'allergène (45, 74). Ce type de réaction a effectivement été observé chez certains animaux, qui ne répondent pas obligatoirement aux allergènes arthropodiques par une réaction d'HS de type I. Par exemple, la réponse à l'acarien *Demodex* est une réponse à médiation cellulaire (HS de type IV) (117).

La réaction d'HS de type IV comprend un certain nombre de réactions qui sont maximales après un délai d'au moins 12 heures suivant l'administration de l'antigène et qui sont dépendantes des cellules T spécifiques de l'antigène plutôt que des anticorps (figure 26). Les cellules responsables appartiennent à une sous-population de cellules T helpers (CD4+) (67,

117). La réaction d'HS cutanée (comme la réaction tuberculinique) est, chez les moutons comme chez les autres animaux, caractérisée tout d'abord par un infiltrat riche en granulocytes neutrophiles, invariablement présents à 7 heures et dont le nombre croît jusqu'à la 24^{ème} heure. Après 24 heures on observe un afflux de cellules mononucléées (cellules Tαβ : CD8+ dont le pic est atteint à 48 heures et CD4+ dont le maximum est atteint à 72 heures, histiocytes et fibroblastes) (90, 119). A 48 heures, on note une diminution des GNN et une augmentation du nombre des cellules lymphoïdes (90).

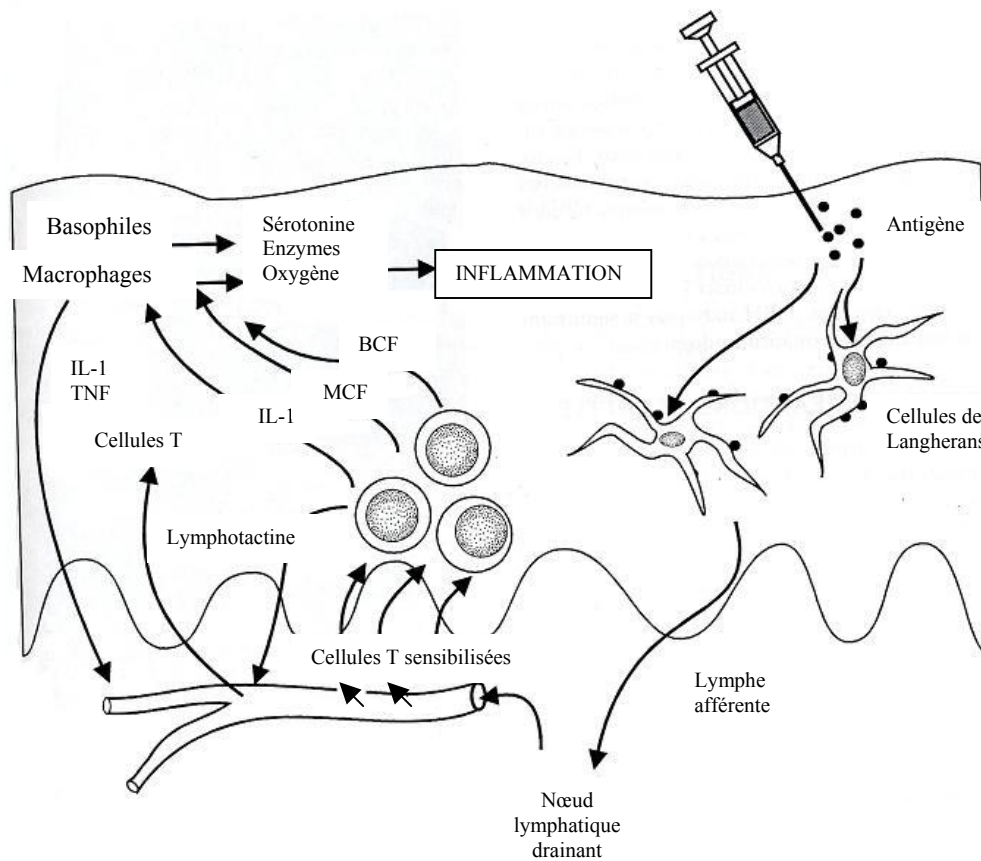


Figure 26 : Schéma décrivant la pathogénie de la réaction d'HS retardée (MCF, macrophage chemotactic factor ; BCF, basophil chemotactic factor) (d'après 117).

Les réactions d'HS immédiate et retardée sont très différentes et divers éléments permettent de différencier ces dermatites allergiques :

- Lors de la phase tardive de la réaction d'HS de type I et lors de l'HS retardée, la réponse est caractérisée par l'accumulation de lymphocytes T CD4+, mais il semble que l'infiltrat soit plus dense au cours de l'HS de type IV ;

- Dans l'HS de type IV, les cellules sont activement recrutées à 48 heures, alors que dans la phase tardive de l'HS de type I, le nombre de cellules atteint habituellement un plateau entre 24 et 48 heures (44) ;
- L'activation des éosinophiles a lieu dans les deux types de réponse, mais elle est plus prononcée dans la phase tardive de la réaction d'HS de type I. Elle se résout en 48 heures dans l'HS retardée (44).

Différentes réactions ont été décrites dans l'HS de type IV, toutes peuvent intervenir simultanément ou séquentiellement au cours de la réponse à un antigène particulier (67, 117). Trois d'entre elles nous intéressent dans le cadre de notre étude, il s'agit des réactions de Jones-Mote ou HS cutanée à basophiles, de l'HS de contact et de la réaction de type HS retardée médiée par les cellules éosinophiles.

III.2.4.3.2. HS de Jones-Mote ou HS cutanée à basophiles

▣ Généralités

L'HS cutanée à basophiles est une forme d'HS retardée qui apparaît dans les 24 heures suivant la stimulation par l'antigène. L'aire située sous l'épiderme est infiltrée par les basophiles et des cellules mononucléées dans les 1 à 6 jours, avec un gonflement maximal après 24 heures (36, 67). Ce type de réponse immunitaire peut être provoqué par différents antigènes, dont les antigènes salivaires des tiques. La cinétique de cette réaction est identique à celle de l'HS retardée, commençant plusieurs heures après le contact avec l'antigène et se caractérisant par une accumulation périvasculaire de lymphocytes (36). A la différence de la réaction tuberculique, des basophiles sont aussi présents, ils sont issus de la circulation sanguine et atteignent une concentration maximale entre 24 et 48 heures. La localisation des GNB correspondrait à la distribution de l'antigène dans la peau (soit une accumulation dans les couches superficielles du derme) (36). Des GNE peuvent aussi être présents (36).

▣ Réaction d'HS cutanée à basophiles et gale psoroptique ovine

Chez le mouton, la détection de granulocytes basophiles au sein des lésions et d'une basophilie sanguine suggère que les produits parasitaires sollicitent une réaction d'HS cutanée à basophiles (120). De plus, au cours d'un épisode de gale psoroptique, de nombreuses

réactions retardées dans le temps n'appartiennent pas à la réponse classique, et les granulocytes basophiles étant présents en proportion supérieure à la normale, ces réactions ont été nommées sous le terme d'hypersensibilité cutanée à basophiles (74). Par ailleurs, le nombre important de basophiles dans les vésicules lésionnelles implique que ces cellules sont absorbées par *P.ovis* et participent ainsi à son élimination (74). La réaction cutanée à basophiles contribuerait donc (avec l'HS de type I) à l'acquisition d'une résistance de l'hôte envers *P.ovis* (120).

Pourtant, considérant que les granulocytes basophiles ne sont jamais les cellules les plus représentées dans les biopsies, Deshazo et coll. (1979) ont conclu que ces réactions n'étaient pas la manifestation d'une hypersensibilité cutanée à basophiles (45, 119) (cette argumentation est critiquable car il ne suffit pas de constater que les effecteurs d'une réaction sont présents en quantité restreinte pour conclure à une absence de cette réaction).

III.2.4.3.3. HS de contact

▣ Généralités

L'HS de contact produit une réaction cutanée eczémateuse qui est maximale 48 heures après le contact avec l'allergène. Les cellules de Langerhans captent les antigènes et les présentent aux cellules T dans les noeuds lymphatiques régionaux. Après une seconde rencontre avec l'allergène, les cellules T sensibilisées migrent vers le site cutané, induisant une réaction caractérisée par un infiltrat de cellules mononucléées associé à un œdème et à la formation de microvésicules dans l'épiderme (figure 27). Le derme est habituellement infiltré par un nombre croissant de leucocytes (67, 117).

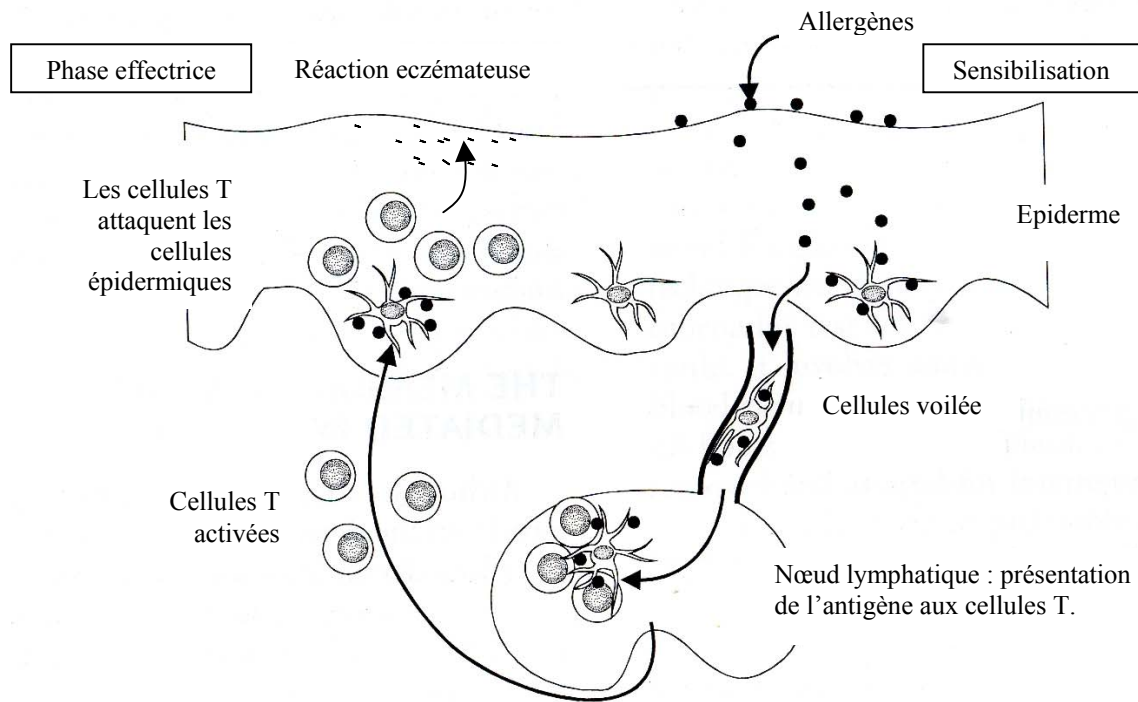


Figure 27 : La phase de sensibilisation et la phase effectrice dans la réaction d'HS de contact (d'après 67 et 117).

▣ Réaction d'HS de contact (type IV) et gale psoroptique ovine

La description de la réaction d'HS de contact rappelle les observations effectuées au cours d'un épisode de gale chez le mouton (importante quantité de lymphocytes T dans les plaies, présence de microvésicules). Cependant, les principaux allergènes de contact connus chez les animaux comprennent les insecticides, les cires pour le sol, des crèmes et laits dermatologiques, des plantes, des pollens et bien d'autres éléments encore (117), mais rien n'a encore été rapporté au sujet d'antigènes d'acariens.

III.2.4.3.4. Réponse de type HS retardée dépendante des cellules éosinophiles

Une étude de Van den Broek et coll. (119) montre que :

- Contrairement aux études qui associent l'inflammation cutanée observée à une réaction d'Arthus, 6 heures après l'injection intradermique d'antigènes de *P.ovis*, l'histologie des lésions de gale est typique d'une phase de réaction tardive d'HS de type I ;

- Une réaction retardée (HS de type IV) envers les antigènes de *P.ovis* se met en place dans les 24 heures suivant le contact avec l'antigène ;
- La réponse immunitaire est maximale après 30 heures et se maintient jusqu'à la 72^{ème} heure.

Or, normalement, les réactions inflammatoires de phase tardive de l'HS I et l'infiltration cellulaire qui leur est associée connaissent un pic d'intensité entre 6 et 12 heures et diminuent ensuite progressivement. Par conséquent, la cinétique des réactions décrites dans l'étude de Van den Broek et coll. est plutôt similaire à celle décrite lors de réaction d'HS cutanée à basophiles ou lors de la réaction tuberculique classique. Pourtant, l'histologie révèle qu'après 30 heures, cette réponse est dominée par les GNE (ce qui est très différent d'une HS de type IV, caractérisée par un infiltrat riche en cellules mononuclées et un nombre variable de neutrophiles).

Une infiltration retardée des GNE semblable a été décrite dans certaines infestations parasitaires ainsi que chez des ruminants sensibilisés, en réponse à l'injection intradermique d'extraits d'helminthes. Chez des moutons sensibilisés, la réponse immunitaire de la glande mammaire suite à une injection intramammaire de larves de nématodes a été étudiée : les observations indiquent qu'un afflux précoce (à 10 heures) de GNE et de GNN est suivi à 48 heures d'un afflux supplémentaire de GNE accompagné par des cellules T CD4+ (mais pas par des GNN).

Ce type de réponse semble correspondre à la réaction cutanée des moutons sensibilisés aux allergènes de *P.ovis* (119). Le déclin du nombre d'éosinophiles survenant 24 heures après une injection intradermique d'extraits parasitaires chez des animaux préalablement sensibilisés montre que l'arrivée retardée des GNE sur les sites lésionnels est indépendante des IgE (119). L'importance de cet afflux éosinophile dans la réaction de type HS retardée suggère que lors de gale psoroptique ovine, cette réponse, plus que celle d'HS immédiate, pourrait jouer un rôle majeur dans le recrutement des éosinophiles dominant l'infiltrat cutané et causant les dommages tissulaires (119).

On connaît assez bien les mécanismes de cytotoxicité cellulaire dépendante des cellules T, or les cellules possédant des récepteurs FcγRI¹³ ou FcγRII¹⁴ peuvent se lier à des cellules cibles étrangères par l'intermédiaire des anticorps spécifiques et ainsi devenir elles aussi

¹³ FcγRI ou CD64, récepteur de forte affinité pour les IgG et marqueur des phagocytes mononucléés, mais pouvant aussi être présent sur les neutrophiles activés.

cytotoxiques (117). Ces cellules incluent les monocytes, les granulocytes, les macrophages et les cellules NK. Cette cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (CCDA) est plus lente et moins efficace que la CCDA dépendante des LT ; elle apparaît en 6-8 heures. Ce délai correspond à l'arrivée des GNE sur les sites lésionnels (voir III.2.2.), par conséquent, un phénomène de CCDA médiée par les éosinophiles (67, 117) pourrait intervenir dans la pathogénie de la gale psoroptique. En effet, si les IgE peuvent déclencher la dégranulation des éosinophiles (par leur liaison au FcεRII), en l'absence d'IgE, les IgG pourraient se lier aux FcγRII à la surface des éosinophiles et induire aussi la dégranulation des GNE (67, 117). Cette dégranulation peut aussi être provoquée *in vitro* par des cytokines comme l'IL-5, le TNF-β et le PAF. Les granules libérés contiennent des molécules de l'explosion respiratoire (voir II.2.1.4.). La figure 28 présente les facteurs d'activation des GNE.

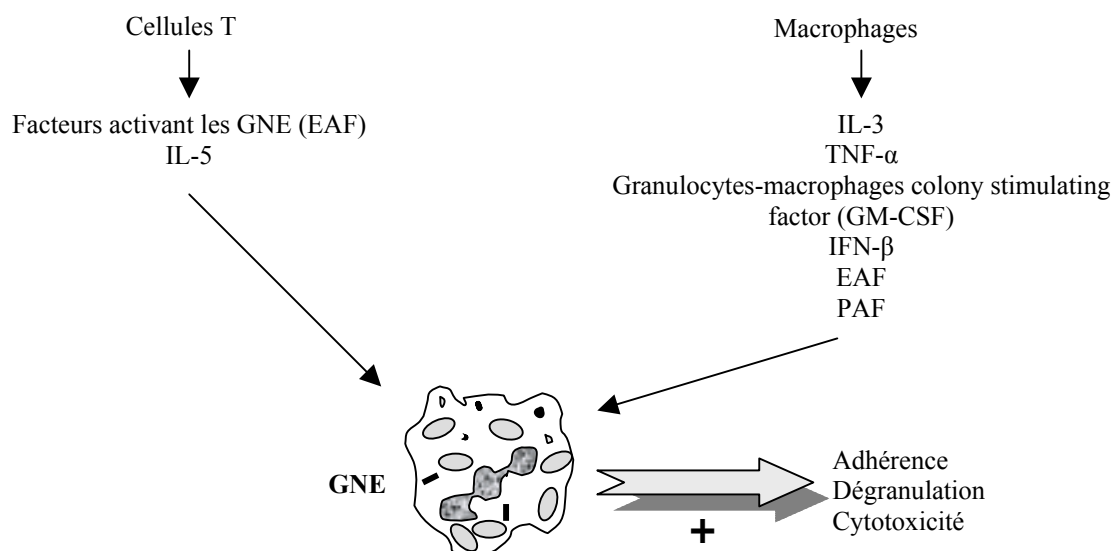


Figure 28 : Les facteurs impliqués dans l'activation des éosinophiles (d'après 117).

III.2.5. Conclusion

Différentes études ont conclu que la réponse à une injection d'antigènes de *P. ovis* chez les bovins était de type T_h2 (88, 119), conclusion étayée par la production d'anticorps et l'apparition des réactions d'hypersensibilité (réactions immédiate et tardive, toutes deux dépendantes des anticorps fixés aux tissus) (106). De plus, Der p 1 (allergène des acariens de poussière) est connu pour initier une réponse IgE qui est exacerbée par les cytokines (IL-4 et IL-5) et les leucocytes associés à la réponse de type T_h2 (48). Cependant, ces éléments ne

¹⁴ FcγRII ou CD32, récepteur de faible affinité pour les IgG présent à la surface des phagocytes mononucléés,

permettent pas pour autant d'éliminer l'implication des immuns complexes et du complément dans une réaction d'Arthus ou la possibilité d'une réponse de type T_h1 (hypersensibilité cellulaire ou retardée) (88).

Il apparaît donc que chez les moutons parasités par *P.ovis*, une réponse d'HS immédiate dépendante des anticorps (type I) intervient en premier, dans les 30 minutes suivant la stimulation antigénique. Cette réaction est maximale après 1 heure, elle est suivie après 6 heures par la phase tardive de la réaction d'HS de type I, qui persiste jusqu'à la 24^{ème} heure. Ensuite se met en place une réponse de type HS retardée (type IV) non classique, orchestrée par les éosinophiles. Celle-ci atteint son maximum à 30 heures et persiste jusqu'à 72 heures après le contact avec l'antigène (119) (figure 29). Cependant, si la réaction d'HS de type I semble dominer l'immunopathogénie des lésions cutanées (120), la séquence précise des évènements reste obscure et il est possible que des médiateurs non encore découverts, et libérés par la dégranulation des mastocytes/basophiles, agissent aussi dans la cascade réactionnelle (106). Il semble que chez les animaux naïfs, seule une réaction d'HS immédiate se développe. Ce n'est que lors d'une ré-infestation, que cette réponse est suivie par une réaction d'HS retardée (après 24 heures) (63).

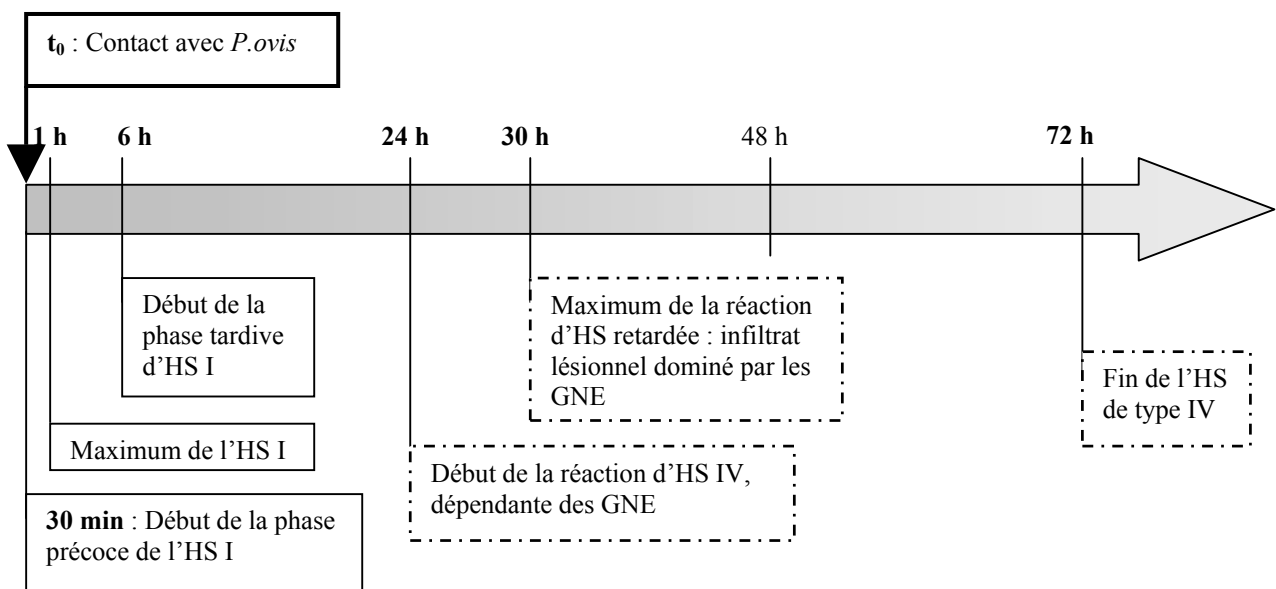


Figure 29 : Cinétique de la réponse immunitaire cutanée induite par les antigènes de *P.ovis*.

Partie 3 : Conséquences de ces réactions immunitaires

Les réactions immunitaires décrites précédemment ont des conséquences sur la physiologie des parasites, la croissance de leur population, leur fécondité, leur alimentation... Ces réactions influencent aussi l'évolution de la maladie chez l'hôte.

III.3.1. Réponse immunitaire et alimentation de *P. ovis*

Comme en témoignent les lourdes conséquences sur la qualité des cuirs (93), les modifications cutanées chez les ovins parasités par *P. ovis* sont importantes. Ces modifications histologiques au niveau de la peau peuvent affecter l'alimentation des parasites et favoriser l'expression d'une résistance de l'hôte envers l'acarien lors des infestations suivantes (14).

Les granulocytes éosinophiles dominent l'infiltrat lésionnel et les flux cellulaires transépidermiques. Or ces cellules, avec les granulocytes basophiles, ont été détectées dans l'intestin moyen de *P. ovis* prélevés sur des moutons parasités (120). Il est possible que ces effecteurs cellulaires créent des dommages au niveau de l'épithélium digestif et perturbent l'assimilation des nutriments (phénomène décrit chez les tiques) (120).

Les moutons atteints de gale synthétisent une vingtaine d'anticorps (23) contre différents antigènes parasitaires. Certains de ces antigènes tapissent le tube digestif de *P. ovis* sur toute sa longueur (18). *P. ovis* ingère du sérum contenu dans l'infiltrat lésionnel (12, 110), il n'est, par conséquent, pas surprenant de retrouver des IgG de moutons à la surface et dans le cytoplasme de cellules intestinales du parasite (85). On suppose qu'au cours de la réaction inflammatoire, les immunoglobulines ingérées précipitent les fluides digestifs et qu'avec les leucocytes, elles attaquent les cellules de l'intestin moyen du parasite (qui participent aussi à la formation de la membrane péritrophique). Les immunoglobulines peuvent aussi se lier directement à la membrane péritrophique et entraver le passage des molécules à travers la paroi du tube digestif. Ainsi, la digestion et l'efficacité des nutriments ingérés sont réduites, de même que le transfert des nutriments vers le système reproducteur (37, 38, 110). D'autres modes d'action des effecteurs de l'immunité contre la membrane péritrophique ont été proposés, ils incluent la perturbation de sa structure, l'interférence avec sa formation et l'inhibition des molécules fonctionnelles qui lui sont associées (12).

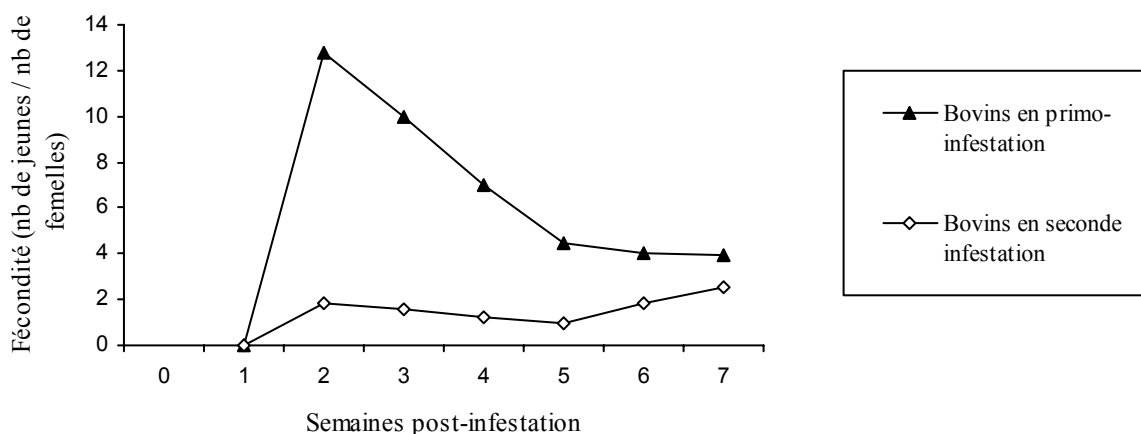
III.3.2. Réaction immunitaire, croissance de la population parasitaire et fécondité des *Psoroptes*

Suite à une primo-infestation, la population parasitaire établie sur le mouton suit une croissance exponentielle et montre une fécondité initialement élevée qui décline ensuite progressivement (110). Cette baisse de la fécondité chez les parasites peut commencer tôt, alors que la population est encore à un niveau bas, prévenant ainsi la constitution d'une importante concentration en antigènes (110). Lors d'une seconde infestation (ou plus), la fécondité est basse dès le début (110) (graphique 13). De plus, le nombre de femelles *P.ovis* adultes est inférieur (110, 120), le taux de croissance de la population est moindre et la densité parasitaire 100 à 1000 fois moins importante (110).

En primo-infestation, la diminution de la fécondité de *P.ovis* résulterait d'une diminution du nombre de parasites adultes, alors que lors d'une ré-infestation, la diminution précoce de la fécondité proviendrait de l'incapacité des parasites à s'établir sur l'hôte et à proliférer (120). En outre, on a observé chez des bovins résistants que le taux de ponte des femelles était inférieur de 50% à celui observé sur les animaux sensibles, indiquant que les mécanismes de résistance agissent sur la fécondité et contrôlent ainsi la densité de la population parasitaire (12, 113).

L'élimination des adultes est le premier mécanisme participant à la baisse de la ponte. Elle est le fait de la réaction immunitaire, mais aussi, chez les moutons sensibles, d'une élimination mécanique des parasites par le prurit (74). Le second mécanisme intervenant dans la diminution de la ponte est la réduction des réserves énergétiques de la femelle, *via* la diminution de l'absorption intestinale (voir supra). L'étude de Van den Broek et coll. (120) montre, trois semaines après une infestation secondaire, une augmentation significative des titres en IgE spécifiques des antigènes de *P.ovis* et une réduction de la surface corporelle touchée (par rapport à la première infestation). Le nombre de mastocytes et d'éosinophiles n'est alors pas différent, qu'il s'agisse du premier ou du second contact avec le parasite, ce qui peut indiquer qu'en plus d'être les médiateurs de la dégranulation mastocytaire, les IgE ont une influence directe ou indirecte sur la survie et la fécondité de *P.ovis* (120). Par exemple, en se liant aux cellules intestinales de *P.ovis*, les immunoglobulines de l'hôte entraînent un manque énergétique qui affecte la production d'œufs, donc le taux d'expansion de la population parasitaire (12, 110, 122).

Les mécanismes exacts de la diminution de la fécondité ne sont pas connus, il serait pourtant intéressant d'éclaircir ce point afin de pouvoir peut-être un jour utiliser ce phénomène pour infléchir le taux de l'infestation parasitaire. Il n'y a actuellement pas de preuve formelle que les médiateurs libérés par les mastocytes ont une influence directe sur la survie ou la fécondité de *P. ovis* (ils pourraient augmenter la perméabilité de l'épiderme et faciliter le passage de protéines plasmatiques comme celles du complément ou les immunoglobulines spécifiques des antigènes parasitaires qui peuvent alors exercer leur action anti-*P. ovis*) (120).



Graphique 13 : Comparaison de la fécondité moyenne des femelles *P. ovis* chez des bovins, lors d'infestation expérimentale (d'après 110).

III.3.3. Réponse immunitaire protectrice ou délétère ?

III.3.3.1. Réponse immunitaire délétère pour l'hôte

Même si les pièces buccales de *P. ovis* provoquent une abrasion du *stratum corneum*, il n'y a aucune preuve qu'elles pénètrent dans les couches plus profondes du derme. Ceci suggère que la pathologie des lésions et le prurit chez l'hôte sont principalement dus à sa réponse immuno-inflammatoire envers les produits parasitaires.

Lorsque l'hôte développe une réponse immunitaire, la liaison antigène-anticorps et/ou le développement d'une réaction d'HS, induisent des mécanismes qui exacerbent la réponse inflammatoire déjà en place au niveau du derme superficiel. Le prurit majore l'intensité de l'inflammation autour des lésions et les mastocytes libèrent le contenu de leurs granules qui stimule les sécrétions des glandes annexes. Ces mécanismes compromettent l'intégrité de la barrière épidermique. Il en résulte un exsudat sévère, avec une quantité de sérum inondant le micro-environnement parasitaire (110).

Pour certains auteurs, le micro-climat alors créé, chaud et humide, serait optimal à la croissance et à la survie de *P.ovis* (12, 21). D'autres auteurs estiment que l'environnement créé est hostile aux parasites, limitant les zones cutanées habitables et forçant alors les *Psoroptes* à quitter les sites lésionnels pour se disperser au hasard sur l'ensemble du corps, se réfugier dans les zones cutanées en périphérie des lésions et gagner les "sites cachés" (12, 120). Quoi qu'il en soit, dans les deux cas, on observe que les réactions cutanées favorisent la migration des parasites et leur dispersion sur la surface corporelle de l'hôte, assurant par conséquent une progression rapide de la dermatite clinique (103, 110, 120). Par ailleurs, on sait que le prurit est indispensable à la dispersion des parasites dans l'environnement (20, 21).

Il semble que la contribution de l'HS de type I dans la protection immune soit incertaine. Des essais d'infestation expérimentale sur des bovins (88) et des moutons (12) naïfs ont suggéré qu'après une phase initiale de "latence", caractérisée par une augmentation minimale de l'aire lésionnelle et de la population parasitaire, le développement d'une HS immédiate entraînait une extension accélérée de la surface corporelle atteinte. Chez des bovins parasités par *P.ovis*, Pruett et coll. (88) ont montré que dans la réaction d'HS de type I, la phase tardive stimulait le développement des lésions de gale, tandis que la phase précoce était protectrice (elle correspond à un phénomène de "self cure" chez les bovins).

Des infestations expérimentales démontrent que :

- la croissance des lésions est supérieure chez les moutons de race Dorset et les croisés Leicester×Swaledale (qui ont une laine fine) à celle observée chez les moutons Swaledale (ayant une laine plus épaisse)
- les antigènes de *P.ovis* entraînent une infiltration éosinophile plus importante chez les moutons Dorset que chez les Swaledales.

Ces considérations pourraient indiquer que l'induction d'une réaction inflammatoire dominée par les éosinophiles facilite l'établissement et le maintien des parasites, plus qu'elle ne sert la réponse immunitaire de l'hôte (118).

Il faut aussi prendre en compte que la sécrétion de multiples anticorps, le prurit et l'irritation engendrent un surmenage qui conduit à une immunodéficience chez les moutons parasités. L'immunité privilégierait-elle donc le parasite plutôt que l'hôte ?

III.3.3.2. Réponse immunitaire protectrice

La réponse immunitaire ne serait pas toujours délétère pour l'hôte. En outre, le prurit peut causer mécaniquement la mort des parasites ou la libération d'antigènes cachés (du tube digestif par exemple), autorisant leur présentation au système immunitaire de l'hôte (21). Par exemple, les lapins résistants à *Psoroptes* ou infestés de manière chronique possèdent des anticorps dirigés contre les antigènes digestifs de *P.ovis*. Ces antigènes intestinaux pourraient donc avoir un rôle dans l'acquisition de la résistance chez l'hôte (18, 97).

Van den Broek et coll. (120) ont montré que, lors d'une primo-infestation, l'augmentation de l'aire lésionnelle se faisait sur un mode exponentiel pendant les sept premières semaines d'infestation. Aucune évidence de l'existence d'une phase de "latence" ou d'une phase d'expansion rapide de la dermatite, attribuable au développement d'une HS de type I, n'a pu être démontrée. De plus, une augmentation significative de la concentration sérique en IgE spécifiques anti-*P.ovis* n'est pas détectée avant sept semaines (bien que leur activité puisse apparaître avant, par l'intermédiaire des IgE liées à la surface des mastocytes ou des basophiles). On peut donc supposer que l'HS de type I n'influence pas la croissance des lésions (118, 120).

Dans l'étude de Van den Broek et coll. (120), on note une restriction marquée de l'aire lésionnelle, associée à une réponse IgE prononcée chez les moutons en seconde infestation. Ces observations pourraient indiquer que la réponse d'HS immédiate est protectrice. Ainsi, la réponse IgE contribue à la pathologie cutanée au cours d'une primo-infestation alors qu'elle participe aux défenses de l'hôte lors d'infestations ultérieures (120).

L'acquisition d'une résistance envers *P.ovis* serait liée à l'augmentation rapide et précoce de la concentration en IgE circulantes (41, 61, 76, 105, 120, 121). Cette dernière, plus que la réponse IgG, paraît critique dans le développement d'une résistance chez le mouton (46, 121). Par ailleurs, des essais vaccinaux chez les bovins (injection intradermique d'antigènes de *P.ovis*) ont montré que le développement d'une résistance à *P.ovis* dépend du développement de la phase de réaction précoce de l'HS de type I. La résistance ne se développe pas si cette première réaction est suivie de la phase tardive de l'HS de type I (88).

Dans une étude sur la sensibilité des moutons aux morsures par les mouches, Colditz et coll. (29) ont montré que :

- chez les moutons sensibles, les lymphocytes T (cellules typiques de l'HS de type IV) sont les cellules les plus représentées au sein des lésions,

- chez les moutons résistants, les cellules IgE⁺ (caractéristiques de l'HS de type I) sont prépondérantes.

De plus, une injection intradermique d'antigènes parasitaires à des bovins infestés provoque une réaction d'HS immédiate chez les races résistantes, tandis qu'elle entraîne une réaction d'HS retardée (type IV) chez les animaux sensibles (65). Non seulement les réactions d'HS de type I semblent jouer un rôle important dans la résistance des moutons aux morsures/piqûres d'arthropodes (29), mais il semble que les réactions de type IV soient les témoins d'une sensibilité accrue des sujets aux infestations.

On sait que la mort de *P.ovis* résulte de la dégranulation des mastocytes et d'une libération supplémentaire simultanée de substances vasoactives (99). La contribution potentielle des cellules associées à l'HS de type I et à l'HS cutanée à basophiles dans la protection est suggérée par des études sur la résistance aux tiques. Celles-ci ont montré une résistance réduite chez le cochon d'Inde auquel on a administré des anticorps anti-basophiles, et l'impossibilité chez des souris déficientes en mastocytes d'acquérir une résistance aux ré-infestations par les tiques (120). Cependant, des recherches sur le rôle des mastocytes et des granulocytes éosinophiles dans la résistance au parasitisme par les nématodes présentent des résultats contradictoires, et, s'il est clair pour certains que les cellules mastocytaires sont un élément pivot dans la résistance à certains nématodes, pour d'autres, ils augmentent leur fécondité (120).

Il est possible que de nombreux facteurs influencent la résistance ou la sensibilité de l'hôte : phéromones, composants du complément, enzymes clés impliquées dans les processus inflammatoires ou inhibiteurs sériques des enzymes digestives parasitaires...(74) Des infestations multiples par *P.ovis* induisent une résistance de l'hôte, mais cette dernière n'est pas suffisante pour réduire les importantes pertes économiques (18). Par ailleurs, un animal ayant acquis une résistance due à des infestations répétées peut devenir porteur latent et source de contagion pour les autres animaux du troupeau (18). Quoiqu'il en soit, de nombreuses évidences montrent une adaptation réciproque de l'hôte et du parasite (74) et l'existence d'une mémoire immunitaire dirigée contre *P.ovis* ouvre la voie à la recherche vaccinale (14).

Chapitre IV : Applications pratiques de la connaissance des phénomènes immunologiques impliqués dans la gale psoroptique ovine

Partie 1 : Immunité et dépistage de la maladie

IV.1.1. Méthodes de diagnostic

Actuellement, le diagnostic de routine des infestations par *Psoroptes* sp. est orienté par le contexte épidémiologique associé ou non aux signes cliniques, et la confirmation consiste en un raclage cutané des lésions pour rechercher les parasites (121). L'élaboration d'un test sérologique simple et fiable permettant la détection des infestations par *P.ovis* chez les animaux de rente procurerait une méthode alternative au problème du diagnostic lors d'une infestation à expression discrète (42, 46, 123).

Lors d'un épisode de gale psoroptique, la réponse aux antigènes induit, en effet, une augmentation de la concentration sérique en globulines anti-*P.ovis*. On utilise ce paramètre comme indicateur de la maladie pour les tests sérodiagnostiques (76). Ce type de test pourrait être d'une aide considérable dans la lutte contre la maladie (123) et permettrait même d'en envisager l'éradication. Il pourrait aussi se révéler utile pour confirmer l'absence de maladie chez les animaux importés dans un pays, ou chez ceux destinés à l'exportation, avec, pourquoi pas, l'établissement d'un statut "indemne de gale psoroptique" (123). Par ailleurs, sachant que la concentration sérique en anticorps est corrélée positivement au nombre de parasites présents sur l'animal et aux signes cliniques (61, 111), l'évaluation de l'intensité de la réponse humorale permettrait d'apprécier la sévérité de la maladie à l'échelle individuelle ou à celle du troupeau, afin de mettre en œuvre la lutte la plus appropriée.

Différentes techniques basées sur des mécanismes immunologiques ont été élaborées pour le diagnostic de la gale psoroptique (42, 46, 62, 79, 121, 123) : la précipitation des anticorps, le test ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) qui est un procédé très étudié, le Westernblot (ou immunoblot) et l'intradermo-réaction. Tous les tests immunoenzymatiques peuvent être effectués sur du sérum frais ou congelé (25, 61, 130).

IV.1.1.1. Test de précipitation des anticorps

En 1972, Fisher (41) fut le premier à utiliser la réponse sérologique et la recherche des anticorps anti-*P.ovis* pour le diagnostic de la gale chez les moutons. Sa technique consistait en un test de précipitation des anticorps sur gel d'agar par la méthode de double diffusion d'Ouchterlony (annexe 3). La figure 30 présente le protocole établi par Fisher (41). Les résultats obtenus par Fisher indiquent que :

- 1) des anticorps précipitants sont présents dans les sérums de moutons infestés par *P.ovis* et des arcs de précipitation sont visibles sur le gel,
- 2) au moins trois antigènes, présents dans les extraits totaux parasitaires, réagissent avec des anticorps précipitants (41).

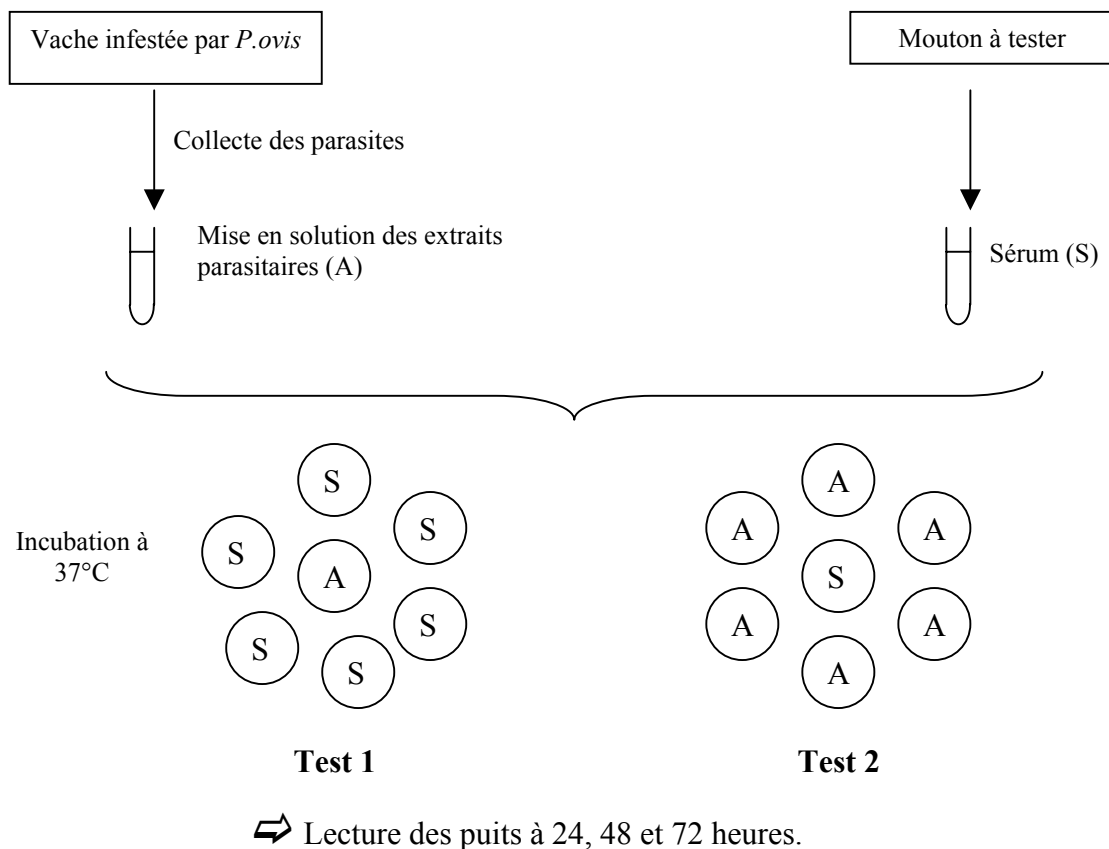


Figure 30 : Protocole de diagnostic établi par Fisher (1972) pour la gale psoroptique ovine (d'après 41).

IV.1.1.2. Test ELISA

IV.1.1.2.1 ELISA indirect

(Se reporter à l'annexe 3 pour la description de la technique générale)

En 1983, Fisher avait mis au point un test ELISA pour le diagnostic sérologique de la gale psoroptique chez les bovins (42). En 1987, Wassal et coll. (123) ont développé un test ELISA pour le diagnostic de la gale ovine. Ce test consiste à déposer séquentiellement dans le puit d'une plaque microtitrée :

- ① La solution d'antigènes parasitaires ;
- ② Le sérum du mouton à tester (qui contient ou pas les immunoglobulines anti-*P.ovis*) ;
- ③ Une solution d'IgG anti-mouton de lapin (ces immunoglobulines se lient aux immunoglobulines anti-*P.ovis* ovines si celles-ci ont été fixées) ;
- ④ Une solution d'IgG anti-lapin caprines conjuguées à une peroxydase de raifort (qui se lient aux IgG anti-mouton de lapin) ;
- ⑤ Le substrat chromogène de la peroxydase (acide 5-amino-salicylique).

Après 60 minutes, un réactif stoppant la réaction chromogène est ajouté (hydroxyde de sodium) et on procède à la lecture de la densité optique au spectrophotomètre.

Par rapport au test ELISA de Fisher¹⁵ (42), la technique de Wassal et coll. (123) nécessite une étape supplémentaire qui intervient entre l'application du sérum et celle du conjugué. Cette étape consiste en l'ajout d'une anti-globuline (ajout de l'IgG anti-mouton de lapin, étape ③). Même aux concentrations préconisées par Fisher pour son test chez les bovins, la technique de Wassal et coll. ne peut réussir sans cette étape intermédiaire (123).

Les antigènes utilisés dans l'expérience de Wassal et coll. proviennent de *P.ovis* élevés sur des bovins. Si les antigènes utilisés sont issus de parasites prélevés sur des moutons, ils

¹⁵ Concentration de la solution d'antigène à 5µg/ml et solution d'immunoglobulines anti-bovin conjuguée à une peroxydase diluée au 1/100 (42).

induisent un taux élevé de résultats faux positifs, car l'immunoglobuline anti-mouton de lapin se lie directement à l'antigène (de la même manière, Fisher utilisait des antigènes de parasites collectés dans les oreilles de lapins pour effectuer son test chez des bovins, 42).

Le test ELISA permet un diagnostic clair de la gale psoroptique ovine. Pourtant, Wassal et coll. ne précisent pas :

- la durée pendant laquelle, après l'infestation, les anticorps anti-*P.ovis* sont détectables dans le sérum des moutons parasités ;
- la durée pendant laquelle ces anticorps persistent après le traitement.

Ces données éviteraient, par exemple, qu'un animal traité efficacement, mais qui posséderait encore des anticorps sériques, soit considéré comme malade (123).

En 1991, Boyce et coll. (24) ont élaboré un test immuno-enzymatique (ELISA direct) pour le sérodiagnostic des infestations par *Psoroptes sp.* chez le mouflon (*Ovis canadensis*). Les résultats montrent que la réponse anticorps spécifique anti-*Psoroptes sp.* est présente pendant 16 mois. Si les mouflons sont traités efficacement, alors la réponse anticorps n'est plus détectable 8 mois après le traitement (61). En 1996, des travaux sur l'espèce ovine montrent que les anticorps spécifiques anti-*P.ovis* sont détectables deux semaines avant que l'expression clinique des symptômes ne devienne évidente (79) (comme l'avaient déjà remarqué Lonneux et coll. chez les bovins) (62). Après un traitement acaricide, la réponse anticorps décline lentement, de manière continue, et peut persister plus de quatre mois après le traitement (60, 79).

IV.1.1.2.2. La technique sandwich

(Se reporter à l'annexe 3 pour la description de la technique générale)

Pour rechercher des anticorps sériques anti-*P.ovis*, la technique ELISA sandwich peut aussi être utilisée (62, 79). Cette méthode est différente de l'ELISA indirect car elle nécessite une étape préalable de liaison de l'anticorps¹⁶ à la phase solide, afin de lier les molécules d'antigènes de la solution d'extraits parasitaires¹⁷. En 2001, Ochs et coll. (79) ont modifié le test ELISA sandwich élaboré par Lonneux et coll. pour le diagnostic de la gale psoroptique

¹⁶ Dans l'expérience de Lonneux et coll. (62), ce sont des anticorps sériques anti-*P.cuniculi* collectés sur lapins qui ont été employés.

¹⁷ Extraits solubles de *P.cuniculi*.

chez les bovins (62) afin de l'adapter au mouton. Le tableau 17 expose les différences entre les deux protocoles (62, 79). Les principales étapes de la réaction sont les suivantes (on se place au niveau d'une cupule de plaque microtitrée) :

- ① Dépôt du sérum de lapin contenant les anticorps anti-*Psoroptes sp.* (sérum prélevé sur des lapins infestés par *P.cuniculi*) qui s'adsorbent sur la phase solide de la plaque ;
- ② Ajout de la solution d'antigènes de *P.ovis* (les antigènes se fixent aux anticorps précédemment fixés) ;
- ③ Les autres étapes sont similaires à celles d'un ELISA classique (voir IV.1.1.2.2, étapes ② à ⑤).

La sensibilité¹⁸ de ce test, déterminée sur un échantillon de 191 moutons présentant des signes cliniques de gale, est de 93,7% (avec un intervalle de confiance à 95% de 90,3-97,2). Sa spécificité¹⁹, déterminée sur un échantillon de 254 moutons indemnes de gale psoroptique, est de 96,5% (intervalle de confiance à 95% : 94,2-98,7) (79).

Après traitement, les valeurs de l'ELISA déclinent progressivement mais peuvent rester positives au-delà de 17 semaines. De plus, les résultats de Ochs et coll. suggèrent que ce test sérologique permet de détecter les infestations asymptomatiques.

Ochs et coll. ont aussi comparé le test ELISA classique (ELISA direct, 24) à la technique sandwich pour la détection des anticorps anti-*P.ovis* chez les moutons (79). La moyenne des valeurs de densité optique obtenues pour les sérums positifs est deux fois supérieure dans l'ELISA sandwich qu'elle ne l'est dans l'ELISA direct (0,739 contre 0,383) alors que des valeurs comparables sont observées pour les deux tests chez des moutons sains (0,077 contre 0,083). En éliminant les antigènes inadéquats, la technique sandwich augmente donc la sensibilité (mais aussi la spécificité) du test ELISA. L'explication de ces observations pourrait résider dans une meilleure fixation de l'antigène (62).

¹⁸ La sensibilité d'un test de diagnostic est sa capacité à reconnaître les individus malades.

¹⁹ La spécificité d'un test de diagnostic est sa capacité à détecter les individus indemnes.

Tableau 17 : Comparaison des protocoles ELISA sandwich mis en œuvre dans le diagnostic de la gale psoroptique chez les bovins et chez les moutons (d'après 62 et 79).

	Technique ELISA sandwich pour les bovins (62)	Technique ELISA sandwich adaptée aux moutons (79)
Dilution des sérums prélevés sur les lapins infestés par <i>P.cuniculi</i>	1/100	1/200
Dilution de la solution d'extraits de <i>P.cuniculi</i>	10 mg/ml	5 µg/ml
Dilution des sérums à tester	1/400 (dilution retenue comme optimale parmi celles testées)	1/200
Dilution de la solution d'IgG anti-bovin (62)/ anti-ovin (79) de lapin, conjuguée à la peroxydase de raifort	1/1000	1/1000
Durée de l'incubation avant l'ajout du substrat chromogène	8 minutes	10 minutes
Réactif stoppant la réaction	50 µl de solution d'acide sulfurique à 6M	50 µl de NaOH à 3M
Mesure de la densité optique	à 490 nm	à 405 nm

IV.1.1.2.3. Test ELISA cinétique

(Se reporter à l'annexe 3 pour la description de la technique générale)

Un ELISA cinétique a été développé pour la détection d'une infestation par les acariens du genre *Psoroptes* chez le mouflon (25). Les antigènes utilisés sont ceux de *P.cuniculi*. Les conditions pour le test sont optimales avec :

- une dilution des sérums au 1/100,
- une dilution de la protéine G recombinante conjuguée à la peroxydase de raifort au 1/2000,
- une lecture de l'absorbance ($A_{405 \text{ nm}}$) toutes les 60 secondes, de la 5^{ème} à la 10^{ème} minutes après l'addition du substrat chromogène.

Notons que Ziccardi et coll. (130), travaillant sur l'élan nord américain (*Cervus elaphus*), ont obtenu les meilleures conditions de tests avec une dilution des sérums au 1/50 et une dilution de la protéine G recombinante conjuguée à la peroxydase de raifort au 1/3000.

L'intérêt d'un ELISA cinétique est que, contrairement à un test ELISA conventionnel, il ne nécessite pas de réactif pour stopper la réaction et les données qui en résultent sont linéaires (25). De plus, la technique ELISA cinétique montre de bonnes qualités intrinsèques : le test de Ziccardi et coll., par exemple, présente une sensibilité variant de 61 à 94 % et une spécificité comprise entre 91 et 100 % (variations selon la valeur seuil choisie) (130). Le test cinétique de Boyce et coll. (25) possède une sensibilité et une spécificité respectivement de 94,6-100 % et 97,7-100 %.

IV.1.1.2.4. Réactions croisées dans les tests ELISA

L'existence de réactivités croisées possibles devra être prise en compte dans le cadre du développement d'une méthode de diagnostic. Les différents tests ELISA présentés précédemment ne se positivent pas si le mouton testé est infesté par *Fasciola hepatica*, *Nematodirus battus*, *Ostertagia circumcincta* ou *Damalina bovis* (123) (malgré l'existence d'antigènes communs entre *P. ovis* et ces parasites) (70, 109). Certains auteurs ont montré que ces tests ne présentaient pas de réaction positive avec des sérums de moutons infestés par des poux mallophages, par *Melophagus ovinus*, ou encore par des tiques Ixodidés (*Dermacentor hunteri*) (24, 41, 61, 130).

Cependant, des réactions croisées de faible intensité apparaissent chez les moutons présentant des signes cliniques d'infestation par *Chorioptes sp.* (79). Ces observations résulteraient du fait qu'au moins huit antigènes de *Chorioptes bovis* sont reconnus par les sérums anti-*P. ovis* de moutons (70). Par conséquent, il faut retenir que dans les régions où les infestations par *Chorioptes sp.* sont fréquentes, la spécificité de l'ELISA doit être interprétée avec prudence (79). Néanmoins, certaines investigations ont montré que *P. ovis* possédait un profil antigénique suffisamment caractéristique pour le différencier de *Chorioptes*, *Notoedres* et *Sarcoptes* (24, 70), et le fait que certains antigènes dominants, particulièrement ceux de plus de 100 kDa, soient reconnus de manière plus constante que d'autres dans les tests ELISA, pourrait être utilisé pour le sérodiagnostic de la gale ovine (121).

IV.1.1.3. Technique Westernblot (ou immunoblot)

(Se reporter à l'annexe 3 pour la description de la technique générale)

La technique du Westernblot a été employée pour identifier les protéines de *P. ovis* (figure 31) (24, 46, 50). Les résultats montrent que les sérums de moutons infestés reconnaissent, de

manière spécifique, six antigènes parasitaires, dont les poids moléculaires sont (environ) de 183, 143, 97, 41,8, 31,2 et 12 kDa (46, 50). Les antigènes de 31,2 et 41,8 kDa sont reconnus par des sérums de moutons exprimant cliniquement la maladie : au niveau du Westernblot, en début d'infestation (soit après 15 jours), la liaison des anticorps sériques avec ces deux antigènes permet d'observer deux bandes nettement séparées et plus importantes que les autres. L'intensité de ces deux bandes diminue par la suite. Ces deux antigènes ne sont pas reconnus (ou très faiblement) par des sérums de moutons n'exprimant aucun symptôme de gale (46). Une tâche d'intensité faible à modérée au niveau des quatre autres bandes antigéniques (183, 143, 97 et 12 kDa) peut témoigner d'une infestation précocement avortée (46).

La détection des anticorps dirigés contre ces six antigènes pourrait par conséquent être utilisée dans le cadre d'un test diagnostique. En particulier, ceux dirigés contre les protéines de 31,2 et 41,8 kDa pourraient constituer des marqueurs précoces de la présence du parasite, avant même que les moutons ne présentent de signes cliniques (50). Cependant, l'utilisation de ces deux antigènes présente un intérêt diagnostique limité dans le temps (puisque l'intensité des bandes diminue) et conviendrait peu à la mise en évidence des infestations chroniques (50). En revanche, l'anticorps dirigé contre l'antigène de 12 kDa n'apparaît que tardivement (après environ 4 semaines de maladie), ce qui suppose que cet antigène nécessite une exposition particulièrement longue. Il pourrait donc permettre de repérer les individus en infestation chronique (50).

Jayawardena et coll. (50) ont aussi montré qu'il existait avec la technique ELISA une réaction croisée entre *P.ovis* et les antigènes natifs de *Bovicola ovis* et *Ixodes ricinus*, alors que le test de diagnostic par Westernblot permettait une discrimination entre ces différents parasites. Ceci suggère que lors d'infestations simultanées entre des acariens, des tiques et des poux, le Westernblot permet un diagnostic spécifique de la gale, dont l'ELISA n'est pas capable (50). Par ailleurs, une autre étude démontre que par SDS-PAGE/Westernblot un antigène de *P.ovis* de 19 kDa est reconnu par des IgE anti-*P.ovis* de mouton, mais non par les autres isotypes d'immunoglobulines ovines (70). Cet antigène spécifique n'existe pas chez les autres acariens parasites des genres *Chorioptes* et *Sarcoptes*, il pourrait par conséquent être utilisé pour le diagnostic différentiel des infestations par *Psoroptes* sp., *Chorioptes* sp. et *Sarcoptes* sp.

La comparaison de la méthode de diagnostic par ELISA avec celle par Westernblot a démontré que la technique par Westernblot était plus sensible, en établissant un diagnostic de gale dans les cas où les résultats par ELISA étaient négatifs (46). Les causes de ces

observations ne sont pas connues (il paraît néanmoins important de signaler que dans cette expérience, des antigènes natifs sont utilisés pour le test ELISA, tandis que l'immunoblot emploie des antigènes dénaturés) (46).

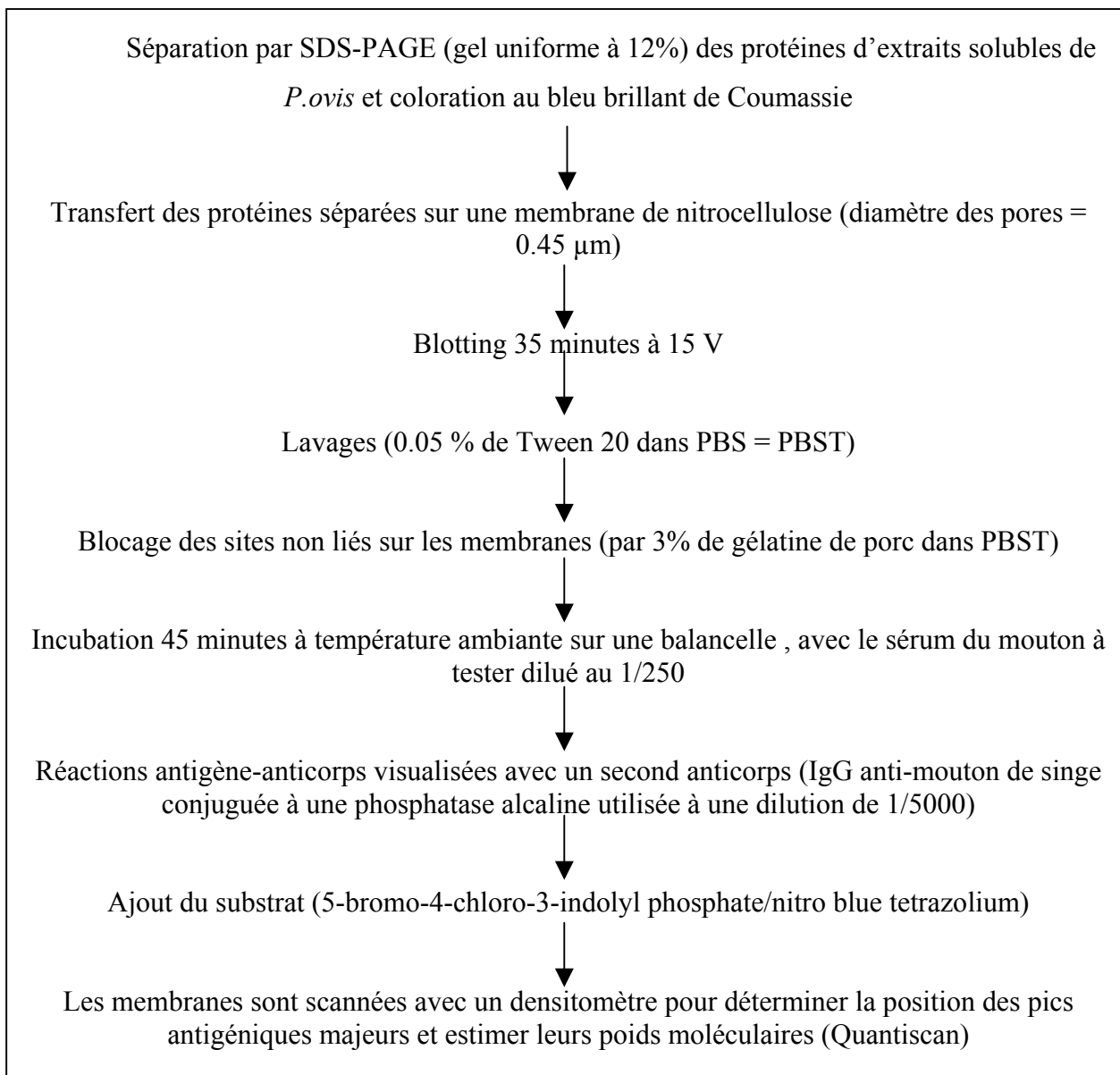


Figure 31 : Description de la technique SDS-PAGE/Westernblot développée par Jayawardena et coll. pour l'étude antigénique de *P. ovis* (1998) (d'après 50). Les anticorps des moutons infestés reconnaissent spécifiquement certains antigènes parasitaires et peuvent donc être utilisés pour le diagnostic de la gale psoroptique ovine.

IV.1.1.4. Intradermo-réactions

Pour établir un diagnostic de la gale, différents auteurs ont utilisé les intradermoréactions (17, 89, 119). Dans l'expérience de Beck et Hiepe par exemple, les parasites sont récoltés sur des

moutons et une injection de 0,1 ml d'extraits parasitaires est effectuée sur des moutons préalablement sensibilisés. Tous les animaux ont montré des changements cutanés de type allergique dans les 15 minutes suivant l'injection (17).

En 2003, Van den Broek et coll. (119) ont montré que chez des moutons sensibilisés, l'injection intradermique d'extraits totaux de *P.ovis* induisait une réponse d'HS immédiate en 30 minutes, suivie d'une réaction de phase tardive (HS de type I) après 6 heures et d'une réponse retardée (HS IV) à 24-30 heures. Cette réponse est moins importante chez les moutons naïfs (119). La réaction inflammatoire à l'injection intradermique de l'antigène purifié Der p 1 (dont Pso o 1 est proche) est moins prononcée que lorsque des extraits totaux de parasites sont injectés ; elle reste cependant plus importante chez les animaux sensibilisés que chez les animaux naïfs à 0,5 et 6 heures, mais à 24-30 heures, les réponses ne sont pas significativement différentes entre les deux lots d'animaux (119).

On peut en conclure que :

- 1) En fonction de l'antigène/allergène injecté, l'intensité de la réaction cutanée est différente ;
- 2) Par l'intradermo-réaction, on pourrait distinguer un animal en primo-infestation d'un animal ayant déjà rencontré le parasite auparavant.

Néanmoins, si l'intradermo-réaction peut constituer une méthode intéressante permettant d'établir un diagnostic de gale psoroptique et/ou de détecter une infestation subclinique, elle n'en reste pas moins difficile à mettre en œuvre car :

- les injections se font au niveau du flanc (119), ce qui, dans l'espèce ovine, impose de tondre la zone concernée, d'où une perte en laine ;
- la réaction cutanée variant avec la dose antigénique injectée (plus la solution est concentrée, plus la réponse inflammatoire est forte), il est impératif de déterminer la concentration optimale pour ce test et de l'appliquer uniformément à tous les animaux ;
- un délai pour la lecture de la réaction doit être fixé afin d'homogénéiser le test (une lecture à une heure, alors que la réaction immédiate est à son sommet, semble idéale, 119) ;
- l'interprétation de la réaction à l'antigène est subjective (c'est-à-dire dépendante du lecteur) car il faut comparer son intensité à celle du témoin positif (histamine) et du témoin négatif (diluant) (119) et apprécier un seuil de positivité.

IV.1.2. Précocité du diagnostic

Le test ELISA est parmi les tests les plus étudiés pour le diagnostic de la gale psoroptique ovine, mais cette méthode présente de larges variations dans le moment d'apparition de la séropositivité (qui coïncide généralement avec le début des signes cliniques). Alors que chez les bovins le test ELISA permet de poser un diagnostic de gale dès le septième jour d'infestation, ce n'est pas le cas chez les moutons, pour lesquels les anticorps circulants ne sont détectables par cette méthode qu'après 2 (76) voire 4 à 6 (12, 46) semaines environ (12, 46). Par contre, Grogono-Thomas et coll. (46) ont montré que la méthode diagnostique par Westernblot permettait une détection des anticorps plus précoce qu'avec la technique ELISA, avec une séropositivité déjà détectable 2 à 3 semaines après l'infestation des moutons (46).

IV.1.3. Production des antigènes parasitaires : contraintes et perspectives

Dans les différents tests de diagnostic (et notamment dans les tests ELISA), la récolte des parasites sur une espèce hôte différente du mouton (bovin ou lapin) permet d'obtenir des extraits antigéniques indemnes de contaminants d'origine ovine, qui pourraient être absorbés par le parasite lors du repas (79, 127), et pourraient lier directement les immunoglobulines anti-mouton de lapin, induisant un taux élevé de résultats faux positifs (123).

Par ailleurs, la production de *P.ovis* chez les bovins permet d'en récolter davantage et plus facilement que chez les moutons (123). De même, l'utilisation de *P.cuniculi* ou *P.ovis* récolté sur lapins pour fabriquer les extraits antigéniques ou pour obtenir du sérum anti-*Psoroptes* a plusieurs avantages : d'abord, ce sont des espèces facilement disponibles (il est aisé de maintenir des lapins infestés dans des conditions de laboratoire) et *P.ovis* peut s'établir et proliférer facilement dans les oreilles de lapins (80). Ensuite, on peut collecter des quantités importantes d'antigènes. Enfin, *P.ovis* et *P.cuniculi* possèdent de fortes homologues antigéniques (23, 61, 91) à l'origine d'une importante réactivité croisée entre ces espèces (23).

L'identification et l'isolement des antigènes spécifiques de *P.ovis* et leur expression comme protéines recombinantes pourraient augmenter la sensibilité des tests immunodiagnostiques et garantir leur reproductibilité. Ces tests fourniraient une méthode sensible pour le dépistage individuel ou de groupe et faciliteraient la mise en œuvre des programmes de contrôle. Ils pourraient aussi être utilisés pour des enquêtes épidémiologiques dans les troupeaux d'ovins domestiques ou en faune sauvage (voir chapitre IV, 1.6.) (25, 62).

IV.1.4. Primo-infestation *versus* infestation secondaire

En 2003, Van den Broek et coll. (121) ont étudié le profil de la réaction antigènes/allergènes avec les anticorps IgG et IgE (voir III.2.4.). Ils ont établi que la réponse primaire mettait majoritairement en jeu les isotypes spécifiques IgG et IgM, tandis que la réponse secondaire faisait intervenir de manière prépondérante les IgE. De plus, les anticorps (IgG et IgE) se lient à un nombre différents d'antigènes parasitaires selon que l'animal est en primo en en seconde infestation (121). Il semble par conséquent que les différences entre les réactions immunitaires primaire et secondaire pourraient être exploitées dans le contexte du diagnostic, afin de différencier un animal en primo-infestation d'un animal ayant déjà connu au moins un épisode de gale.

Plus précisément, en connaissant :

- la concentration moyenne en anticorps,
- la valeur du rapport IgG/IgE,
- le nombre d'antigènes reconnus par le sérum testé,

il serait théoriquement possible d'évaluer le stade d'évolution de la maladie.

IV.1.5. Choix d'une valeur seuil

Le choix d'une valeur seuil, au-delà de laquelle un sérum testé sera considéré comme positif, est primordial. Cependant, en fonction du contexte d'utilisation du test et des paramètres épidémiologiques, on privilégiera une forte spécificité plutôt qu'une sensibilité élevée, ou *vice versa*. Prenons pour exemple le test ELISA cinétique de Boyce et coll. (25) ; les auteurs ont calculé trois valeurs seuil correspondant à la moyenne des absorbances obtenues chez les animaux négatifs (x) plus 2, 3 ou 4 SD ("standard deviation") (25) (tableau 18). L'avantage d'utiliser la plus haute valeur seuil ($x + 4$ SD) est que le nombre de faux positifs est minimisé (spécificité de 100 %) tandis que la valeur prédictive positive du test (probabilité qu'un sujet soit malade sachant que le test est positif) est maximisée. Ceci peut être particulièrement intéressant car les tests ayant une faible valeur prédictive positive produisent plus de faux positifs que de vrais positifs lorsque dans les populations échantillonnées la prévalence de la maladie est faible. Par ailleurs, le problème, si le nombre de faux positifs est minimisé, est que les chances d'obtenir des faux négatifs sont augmentées (25). En conclusion, le test doit être choisi en fonction du contexte et de l'objectif visé.

Tableau 18 : Variations de la sensibilité et de la spécificité du test en fonction de la valeur seuil retenue (d'après 25).

Valeur seuil choisie	Sensibilité en % (95 % de l'intervalle de confiance)	Spécificité en % (95 % de l'intervalle de confiance)
x + 2 SD	100	97,7
x + 3 SD	94,6	97,7
x + 4 SD	94,6	100

IV.1.6. Intérêt pour les enquêtes épidémiologiques et le suivi sérologique des troupeaux

Différents tests immunologiques trouvent des applications sur le terrain. Certains ont déjà été employés dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques par exemple :

□ Boyce et coll. (25) estiment (sans toutefois le mettre en pratique) que leur test ELISA cinétique est utilisable pour déterminer la prévalence et la distribution de la gale psoroptique dans une population de moutons ainsi que pour évaluer les stratégies de gestion et de contrôle de la gale psoroptique dans cette espèce.

□ Le Westernblot et l'ELISA cinétique ont été utilisés avec succès pour caractériser et quantifier la prévalence des anticorps dirigés contre *Psoroptes* sp. chez des élans (*Cervus elaphus*) issus de différents troupeaux nord américains (130).

□ Falconi et coll. (40) ont récemment utilisé un test ELISA, de sensibilité et de spécificité respectivement égales à 93,7% et 96,5%, afin de déterminer la prévalence de la gale psoroptique chez les moutons en Suisse. Ils concluent en présentant le test ELISA comme une approche nouvelle pour le suivi sérologique de la maladie au sein d'une population ovine.

Ainsi, un test sérologique systématique des moutons permettrait de mieux connaître la répartition, la prévalence et l'évolution spatiale et temporelle de la maladie à une échelle locale ou nationale. Cependant, la mise en place d'un tel contrôle et d'un suivi des animaux nécessite des moyens humains (pour effectuer les prélèvements) et financiers (coût du test) importants.

En se basant sur la détection des anticorps anti-*P.ovis*, il serait possible de mettre en place un contrôle raisonné de la maladie. Une illustration nous est donnée par Ochs et coll. (78) qui, en 2002, ont testé en Suisse une nouvelle stratégie de contrôle de la gale psoroptique, basée sur un large sondage sérologique. L'enquête incluait 20331 moutons issus de 587 troupeaux, et, en mars-avril, 6 à 11 échantillons sanguins ont été collectés au hasard dans chaque troupeau. Les troupeaux séropositifs ont été traités (Dectomax[®]) alors que les troupeaux séronégatifs n'ont subi aucune chimioprophylaxie avant la transhumance dans les pâtures alpines. Pour ces derniers, des animaux "sentinelles" ont été testés sérologiquement au début (mois de juin), au milieu (mois de juillet-août) et à la fin (mois de septembre) de la période de pâturage. Aucune séroconversion n'a été détectée et aucun cas clinique n'a été recensé (78). Des analyses supplémentaires pour déterminer le rapport coûts/bénéfices d'une telle pratique doivent encore être effectuées, mais l'avantage majeur de cette stratégie de contrôle consiste surtout en la réduction des traitements chimiques administrés aux animaux et en une pollution moindre de l'environnement (pas de bain d'organophosphorés). Par ailleurs, étant donné que l'utilisation de la doramectine est restreinte de 90%, on minimise le risque de développement de résistance aux lactones macrocycliques chez les nématodes gastro-intestinaux (78).

Le suivi sérologique des troupeaux pourrait permettre l'obtention d'un statut indemne pour ceux dont deux sérologies effectuées à un intervalle défini seraient négatives. Cet intervalle devra être soit de 3 semaines, si on utilise la technique du Westernblot, soit de 6 semaines si on utilise la technique ELISA (temps nécessaire à l'apparition de la séropositivité des tests). Pour obtenir le statut "indemne" au niveau de l'élevage, le contrôle des intrants et sortants devra bien entendu être fait. Ainsi, seuls les troupeaux ayant obtenu une qualification auraient l'autorisation de se regrouper sur la même pâture pendant l'estive, rendant moindres, voire nuls, les risques d'infestation au cours de cette période. De plus, l'obtention du statut "indemne" pourrait constituer une plus-value qui, comme une sorte de label, augmenterait la valeur marchande des animaux et sécuriserait les échanges.

Partie 2 : Immunité et recherche vaccinale

L'acquisition d'une immunité envers un agent pathogène peut emprunter différentes voies, dont celle de la vaccination (figure 32). Deux critères majeurs doivent tout d'abord être remplis pour déterminer s'il est possible d'utiliser la vaccination dans le contrôle d'une maladie : d'abord, il doit être établi qu'une réponse immune peut être protectrice contre la

pathologie en question (voir partie III). Ensuite, avant d'utiliser un vaccin, il faut être sûr que le risque vaccinal n'excède pas celui associé à la probabilité de rencontrer la maladie elle-même. Chez le mouton, deux observations suggèrent que la vaccination est possible contre *P.ovis* :

- Tout d'abord, des moutons qui ont été infestés acquièrent une forte immunité envers le parasite (120),
- Deuxièmement, *P.ovis* ingère des immunoglobulines de l'hôte (contenues dans l'exsudat séreux) au cours de leur repas (85), ce qui peut rendre possible une stratégie vaccinale ayant pour cible la membrane intestinale du parasite (technique ayant fait ses preuves dans la lutte contre la tique du bétail *Boophilus microplus*).

La décision d'utiliser la vaccination pour le contrôle d'une maladie doit considérer non seulement la sévérité de la pathologie, mais aussi les possibilités de contrôle par d'autres moyens (afin d'établir un rapport coût/bénéfice) (117).

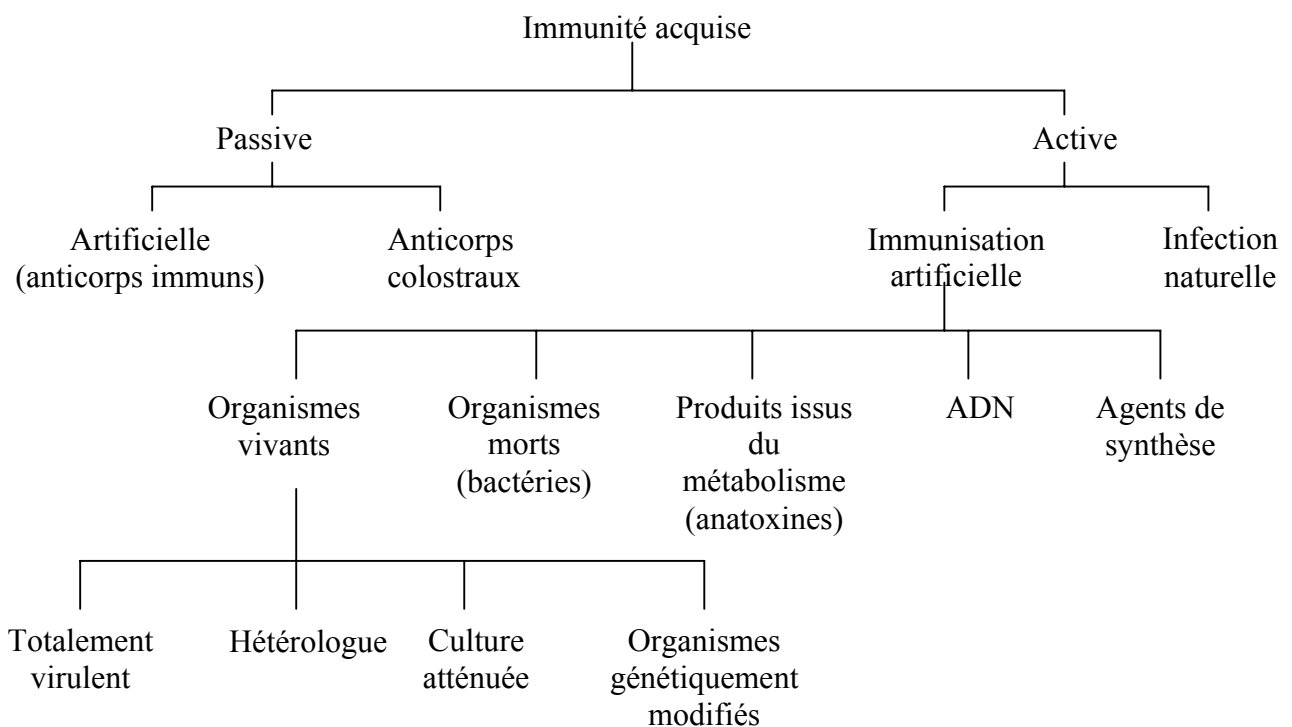


Figure 32 : Place de la vaccination parmi les différentes voies d'acquisition de l'immunité (d'après 117).

IV.2.1. Intérêts de la recherche vaccinale dans la lutte contre la gale psoroptique ovine

Les principaux critères qui poussent les scientifiques à rechercher un vaccin contre la gale psoroptique ovine sont :

- 1) Le développement, chez les parasites, de résistances face aux acaricides utilisés actuellement ;
- 2) Les considérations au sujet des effets néfastes possibles des produits chimiques sur l'homme (manipulateur des animaux ou consommateur de viande) et sur l'environnement ;
- 3) Les délais d'attente parfois longs, liés à l'utilisation des produits ;
- 4) L'importance économique de cette maladie.

IV.2.1.1. Développement inquiétant de résistance chez *P.ovis* envers les composés acaricides

L'utilisation intensive des acaricides peut conduire à l'acquisition d'une résistance chez les parasites. Bien qu'utilisés depuis longtemps, les organophosphorés connaissent relativement peu de cas de résistance. Des cas de résistance au propétamphos ont été rapportés (16, 28) et on sait, par ailleurs, que le gène Pso o 2 de *P.ovis* est assimilé à une glutathion-S-transférase (GST), enzyme qui, chez les insectes, est associée à une résistance aux insecticides dont les organophosphorés (55). Lekimme et coll. (58) attribuent à la GST de *P.ovis* un rôle probable dans la résistance du parasite aux ivermectines. De disponibilité pourtant plus récente que les organophosphorés pour le traitement de la gale, les pyréthriinoïdes de synthèse présentent déjà des cas de résistance : deux souches résistantes à la fluméthrine ont été détectées en 1994 dans deux régions différentes du Royaume-Uni (régions de Somerset et Caithness) (16, 114) et deux autres souches résistantes à ce produit ont été identifiées en 1995 (à Cumbria) (16). Aujourd'hui, les souches de *P.ovis* résistantes aux pyréthriinoïdes de synthèse sont assez répandues en Grande-Bretagne (16).

De plus, une étude a montré que 26 à 37% des moutons étaient baignés de façon inadéquate (118) : concentration trop faible en produit ou temps d'immersion non respecté, ce qui favorise l'apparition de résistances (78). L'utilisation des pyréthriinoïdes de synthèse en pour-on dans le traitement des autres maladies ectoparasitaires chez les moutons galeux, ou l'emploi des lactones macrocycliques pour le traitement des parasites intestinaux, peut

conduire à la sélection de souches résistantes (car les acariens ne la gale ne sont pas soumis à des doses létales). Enfin, l'utilisation des produits en dose unique peut potentiellement accélérer le développement de résistances (59).

IV.2.1.2. Effets potentiels des produits acaricides sur l'homme et l'environnement

Bien que l'impact écologique des produits chimiques soit pris en compte dans les dossiers d'autorisation de mise sur le marché, il y a un grand intérêt de l'opinion publique au sujet des effets de ces produits sur l'homme et sur l'environnement. Les ectoparasitaires ne sont bien entendu pas épargnés (55). Il y a trois facteurs impliqués dans la contamination potentielle de l'environnement par un des composés chimiques employés dans le traitement de la gale (115):

- 1) Le facteur temporel d'utilisation du produit (car les contaminations ont un effet différent en fonction de l'époque de l'année à laquelle elles surviennent) ;
- 2) Le comportement du mouton et la gestion du troupeau, qui peuvent influencer l'excrétion et la dispersion du produit ;
- 3) L'excrétion primaire du produit et son activité résiduelle sur divers aspects environnementaux.

Par exemple, après un traitement unique d'un mouton avec 300 µg/kg de doramectine, la concentration maximale en résidus totaux (c'est-à-dire en doramectine et tous ses métabolites) dans les excréments²⁰ est de 546 ppb quatre jours après l'injection. Cette concentration diminue jusqu'à 179 ppb après quatorze jours et atteint la valeur zéro environ 22,5 jours post injection (115). La doramectine a des effets probables sur la germination des graines et la pousse des racines, elle pourrait avoir des effets toxiques sur les arthropodes dont le coléoptère *Onthophagus gazella* vivant dans les excréments ou *Haematobia irritans*, la mouche des chevaux. Cependant, ces actions sont effectives à partir de concentrations de doramectine dans les fèces qui sont supérieures à celles préconisées dans le traitement de la gale (115).

Même si les effets sur l'environnement des avermectines sont assez faibles, ils n'en restent pas moins présents, l'espèce aquatique la plus sensible à l'ivermectine et à l'abamectine étant la daphné (*Daphnia magna*). Par ailleurs, des résidus des avermectines présents dans les excréments des animaux d'élevage ont un effet nocif sur les insectes saprophytes et

²⁰ En moyenne la doramectine compte pour 50% des résidus.

notamment sur leurs larves (47). Les conséquences environnementales de ces produits et leur action sur l'opérateur restent cependant bien moindres à celles des organophosphorés ou des pyréthrinoïdes de synthèse. De plus, leur période d'utilisation ne coïncide pas avec la période de reproduction de la majorité des arthropodes (47, 115).

Il faut aussi considérer qu'il y a un intérêt général grandissant à propos des implications à long terme des résidus chimiques dans la viande, et ce problème risque fort de prendre de l'importance dans les prochaines années. Par ailleurs, des résidus toxiques sont aussi susceptibles de se retrouver dans la laine (105). Le problème est conflictuel et oppose les éleveurs, désirant évidemment un produit acaricide à longue durée d'action, aux consommateurs, qui exigent un minimum de résidus dans leur viande (124).

IV.2.1.3. Difficultés à trouver des méthodes de lutte nouvelles

Les méthodes de lutte biologiques n'ont pas encore fait leurs preuves et restent difficiles à faire accepter. On sait par exemple que même si *Metarhizium anisopliae* (voir I.5.2.2) présente un risque faible pour l'homme et les vertébrés, son utilisation dans la lutte contre la gale ovine est compromise par le fait qu'il n'infeste pas en totalité la population d'acariens et qu'une petite population de *Psoroptes*, qui reste saine, peut persister et ré-infester l'hôte (26). Par ailleurs, il se pose aussi le problème de la production du *Metarhizium* et de son innocuité pour l'homme, mais aussi pour la faune et la flore présentes dans l'environnement des moutons.

De plus, la découverte d'agents actifs nouveaux semble de plus en plus dure. Traditionnellement, la découverte de nouveaux composés actifs s'est faite par criblage au hasard parmi un grand nombre de produits chimiques nouvellement synthétisés, mais le criblage est une procédure très longue, fastidieuse et très coûteuse (124).

IV.2.1.4. Intérêts économiques

Compte tenu de la forte prévalence de la gale, des coûts liés aux pertes en viande et en laine, compte tenu aussi du prix de la prophylaxie et des traitements, ainsi que des difficultés d'application de certaines formulations et du matériel parfois encombrant que cela nécessite, on comprend aisément l'avantage que présenterait un vaccin pour les éleveurs.

En effet, si le vaccin n'empêche pas l'infestation et l'expression clinique de la maladie, les animaux préalablement vaccinés et infestés par *P. ovis* développent des lésions cutanées moins

importantes que les animaux non vaccinés. Ils sont alors capables d'éliminer les parasites, diminuant un peu les coûts liés aux pertes (96, 108) (mais le traitement du troupeau reste nécessaire). Bien entendu ; l'idéal serait de disposer d'un vaccin permettant de prévenir la maladie.

Par ailleurs, les délais d'attente imposés aux éleveurs par les industriels du médicament sont une contrainte à prendre en compte, puisqu'elle empêche l'utilisation du lait ou retarde l'abattage des animaux traités, entraînant un manque à gagner pour les éleveurs.

Enfin, dans certains cas, la vaccination peut être moins onéreuse que les produits acaricides.

IV.2.2. Induction d'une immunité par la vaccination

Une des approches théoriques pour induire une immunité contre *P.ovis* chez le mouton est d'essayer de stimuler les éléments de la réponse immunologique mis en jeu lors d'une infestation. Or, on sait que dans le cas de la gale psoroptique, la vaccination induit des mécanismes de rejet différents de ceux mis en place lors d'infestation naturelle (125).

Etant donné qu'on ne sait pas si la réponse immunitaire est bénéfique ou non pour le mouton, la tactique opposée est d'empêcher la réponse en synthétisant des IgG spécifiques "bloquants" les allergènes parasitaires. Ces derniers ne se lieraient alors pas aux IgE, ce qui réduirait la décharge des mastocytes qui suit l'infestation (104) (technique de désensibilisation, couramment employée en médecine humaine).

Une troisième approche serait d'ignorer la réponse immunitaire naturelle et de provoquer une réponse humorale afin de neutraliser des protéines essentielles pour le parasite (c'est-à-dire des enzymes secrétées ou des protéines de la membrane intestinale) (104, 117).

IV.2.2.1. Antigènes immuns candidats

Une des approches pour la vaccination consiste à utiliser les antigènes auxquels l'hôte répond normalement lors d'une infestation naturelle. On pourrait penser que pour acquérir une immunité les antigènes les plus appropriés sont ceux impliqués dans la réaction immunitaire intervenant lors d'une infestation naturelle. Pourtant, dans le cas des ectoparasites, la plupart du temps l'hôte est incapable d'assurer une réponse immunitaire suffisante (comme cela peut être observé lors d'infestation par des tiques ou des mouches).

P.ovis présente des antigènes immunodominants (voir III.1.2) qui stimulent une séroconversion précoce lors d'infestation (121) et on sait aussi que certains antigènes

(antigènes de poids moléculaire supérieur à 100 kDa ou inférieur à 15 kDa) sont particulièrement aptes à stimuler une réponse anticorps (118). De plus, à l'heure actuelle, deux antigènes de *P. ovis* ont été caractérisés, il s'agit de povDer1 (57) et de l'antigène de 16 kDa mis en évidence par Pruett et coll. (89). Ces antigènes/allergènes pourraient être inclus dans des vaccins visant à moduler la réponse de l'hôte face à l'infestation (121).

Enfin, il semble que les animaux résistants aux parasites du genre *Psoroptes* synthétisent des anticorps contre des antigènes parasitaires spécifiques ; ces anticorps ne sont pas retrouvés chez les animaux sensibles (32). L'enrichissement des vaccins avec de tels antigènes/allergènes pourrait favoriser l'établissement d'une immunité forte et durable chez l'animal vacciné. Cependant, ces antigènes n'ont encore pour la plupart pas été identifiés précisément.

On sait que *P. ovis* possède au moins une GST, de 30 kDa, qui partage des homologies avec les GSTs allergéniques des acariens de poussière (56). Or, les GSTs des acariens de poussière, de *Blattella germanica* (Blattelle) (5) et de *Schistosoma mansoni*, stimulent des réponses allergiques. Des GSTs ont été incluses dans des vaccins contre *Fasciola hepatica* (100) et *Schistosoma japonicum* (56) et ont permis l'acquisition d'une immunité chez les animaux vaccinés (inversement, la GST purifiée de *Lucilia cuprina* ne montre aucune protection lors des essais de vaccination contre cette mouche) (55, 101).

Par Westernblot, aucune liaison entre les IgG ou les IgE ovines spécifiques anti-*P. ovis* et les GSTs recombinantes fabriquées n'a été détectée. Il est donc peu probable que les GSTs constituent des antigènes vaccinaux efficaces contre les *Psoroptes*, mais on ne peut pour l'instant en être totalement sûr. Il est en effet possible que la protéine native soit localisée dans les organes internes du parasite et qu'elle ne soit pas exposée à l'hôte, constituant alors un antigène caché potentiel (56).

En effet, une approche vaccinale alternative consiste en l'utilisation des antigènes cachés de *P. ovis*, appartenant aux organes internes du parasite. Cette méthode conduit à la synthèse de vaccins "nouveaux". Le terme de "nouveau" peut être appliqué à tous les vaccins qui agissent contre une cible immunologique qui n'est pas présente lors d'infestation naturelle : l'hôte est vacciné avec l'antigène nouveau (ou "caché") et c'est seulement après que le parasite ait pris son repas qu'il y a contact entre l'anticorps et les autres composants du système immunitaire de l'hôte, et l'antigène parasitaire, conduisant à des dommages chez le parasite (124).

Les antigènes du tractus digestif (75) de *P. ovis*, auxquels les anticorps spécifiques pourront se lier lors du repas du parasite, semblent prometteurs pour la mise au point d'un vaccin. De

plus, non seulement les ovins synthétisent des anticorps anti-système digestif de *P. ovis* (18), mais des IgG ont été immunolocalisées (voir la description de la technique d'immunohistochimie en annexe 3) à la surface ou dans le cytoplasme de cellules intestinales du parasite (85). Ces données supposent qu'une vaccination contre *P. ovis* serait réalisable grâce aux antigènes digestifs (97). Ce principe a été exploité avec succès dans le contrôle de certains ectoparasites: utilisation, dans un vaccin, de la protéine H11 des microvillosités intestinales de l'helminthe digestif *Haemonchus contortus* (73) ou vaccination contre la tique du bétail *Boophilus microplus*, en employant une préparation d'antigènes recombinants Bm86 (96) (protéine liée à la membrane des cellules intestinales) (82) ou les antigènes Bm85 ou Bm91 (94).

Néanmoins, dans l'expérience de Smith et coll., les essais vaccinaux utilisant des protéines de la membrane intestinale de *P. ovis* ont été un échec (105).

La membrane péritrophique présente des pores dont le diamètre maximal est de 10 nm. Sachant que les molécules d'IgG ont un diamètre d'environ 10 nm et que les composants du complément ont un poids moléculaire supérieur aux IgG, la taille des pores semble restreindre le passage des éléments du système immunitaire ingérés par le parasite. En considérant ces données, dans les portions du tube digestif recouvertes par la membrane péritrophique, les cibles potentielles du système immunitaire de l'hôte à l'intérieur du parasite seraient limitées à cette matrice péritrophique elle-même et aux enzymes digestives. Les modes d'action des effecteurs immunitaires contre la membrane péritrophique incluent (37) :

- la réduction de la perméabilité de la membrane péritrophique par liaison des molécules protéiques à sa surface,
- la destruction de sa structure,
- l'interférence avec sa formation,
- l'inhibition des molécules fonctionnelles qui lui sont associées.

Des essais prometteurs ont été obtenus avec des extraits de membrane péritrophique (protéine PM44) de larves de *Lucilia cuprina* (27, 37, 94, 124), suggérant que ce procédé pouvait être appliqué à des ectoparasites non hématophages.

Les fragments Fab des immunoglobulines ont un diamètre d'environ 6 nm et pourraient donc passer à travers la membrane péritrophique (peut-être accompagnés de fragments Fab₂) (38). Des recherches ont montré que des immunoglobulines (intactes ou non) ou des fragments Fab pouvaient pénétrer la membrane péritrophique et la paroi intestinale : par exemple, chez la mouche adulte *Sarcophaga falcipalata*, des anticorps ingérés ont été retrouvés liés aux muscles,

aux constituants de l'hémolymphe et au cerveau. D'autres études ont détecté des fragments Fab dans l'hémolymphe de la mouche tsé-tsé *Glossina morsitans morsitans* et, chez la larve de *Lucilia cuprina*, des immunoglobulines intactes ou fragmentées ont été trouvées dans l'hémolymphe. Dans toutes ces espèces, la membrane péritrophique est sécrétée avant que le repas ne commence, prévenant ainsi tout contact direct entre le repas ingéré et l'épithélium digestif (38) (à la différence des insectes Nématocères hématophages, chez lesquels la membrane péritrophique est sécrétée en réponse à l'ingestion du repas sanguin et seulement après un court temps de contact direct entre l'épithélium intestinal et le sang) (124).

Si l'on prouve que d'autres tissus sont aussi des cibles pour une attaque immunitaire efficace, le nombre d'antigènes vaccinaux potentiels augmente considérablement. En outre, les parasites sont moins susceptibles de développer une résistance envers les vaccins produits à partir d'antigènes cachés qu'envers ceux synthétisés à partir d'antigènes naturels (118). L'efficacité d'un vaccin utilisant des antigènes cachés paraît donc plus certaine à long terme.

La membrane péritrophique semble être non seulement une cible de choix pour la vaccination en vertu de sa localisation et de sa fonction essentielle, mais elle offre aussi l'avantage d'être de composition chimique relativement simple (37), facilitant l'isolement des antigènes protecteurs (38). Cependant, l'utilisation de la membrane péritrophique ou des antigènes du tube digestif du parasite comme cibles vaccinales peut poser quelques difficultés. En effet, chez la plupart des arthropodes, l'intestin est un site de protéolyse, donc les anticorps ingérés et les autres effecteurs immunitaires, moléculaires ou cellulaires, peuvent y être détruits avant ou pendant qu'ils agissent sur leurs cibles (12) (*P. ovis* possède des protéinases à cystéine et des métaloprotéinases qui jouent un rôle dans la dégradation des IgG au niveau de leurs chaînes lourdes et permettent au parasite d'échapper au système immunitaire de l'hôte) (52). Par ailleurs, si la membrane péritrophique est synthétisée de façon continue par l'épithélium digestif du parasite, il est nécessaire que le taux d'ingestion des effecteurs immunitaires soit suffisant pour agir contre la membrane nouvellement synthétisée (38). Enfin, l'inconvénient des antigènes cachés est qu'ils ne stimulent pas le système immunitaire lors d'infestation naturelle et les animaux nécessitent des vaccinations de rappel régulières pour assurer une mémoire immunologique et maintenir un taux d'anticorps suffisant pour une réponse rapide aux pathogènes (82, 118).

IV.2.2.2. Résultats d'essais vaccinaux

Peu d'équipes de recherche ont rapporté des résultats d'essais vaccinaux contre *P.ovis*. Nous en présenterons quatre :

▣ Pruett et coll. (88) ont immunisé des vaches avec une préparation d'antigènes solubles de *P.ovis* ayant ou non subi une purification. La préparation antigénique a été injectée par voie sous-cutanée (quatre injections, chacune à trois semaines d'intervalle) à deux groupes de vaches, tandis qu'un troisième groupe (groupe contrôle) ne recevait que l'adjuvant. Des intradermo-réactions utilisant l'allergène vaccinal ont été effectuées une semaine après la vaccination et des réactions de type HS immédiate ont été observées chez les animaux immunisés.

Quatre semaines après la vaccination, toutes les vaches ont été infestées avec approximativement 500 femelles *P.ovis* et la surface lésionnelle mesurée deux fois par semaine pendant huit semaines.

Chez les animaux vaccinés il semble que l'immunisation ait prévenu l'établissement des parasites et limité le développement des lésions corporelles. Les auteurs ont conclu que le comportement de grooming, suscité par une réaction allergique immédiate et prurigineuse chez les bovins, était un effecteur de la protection dans cette espèce (88).

L'expérience de Pruett et coll. (88) montre aussi qu'un vaccin obtenu à partir d'une préparation de protéines parasitaires brutes (broyage des parasites et mise en solution) a un rôle vaccinal plus faible que si on opère préalablement à une purification partielle de l'extrait parasitaire (centrifugations successives, filtration). Cette purification augmente le pouvoir immunogène de la solution injectée (88, 125).

En effet, pour obtenir une immunisation, une quantité importante de matières parasitaires brutes est nécessaire, alors qu'une dose inférieure d'un extrait purifié induit un résultat similaire. Plus la purification de la solution utilisée pour la vaccination est importante, plus l'effet vaccinal est grand. Il semble que les procédés de purification éliminent progressivement le matériel antigénique inutile ou peu actif (88, 125). De plus, en diminuant la quantité d'antigènes présents dans la solution vaccinale, on diminue aussi le nombre de valences du vaccin (la solution purifiée dans l'expérience de Pruett et coll. ne contenait plus que 6 antigènes majeurs). Or, on sait que plus un vaccin présente de valences, moins la réponse immunologique envers chaque valence est bonne. Ainsi, en réduisant le nombre d'antigènes vaccinaux, on améliore la réponse envers chaque antigène restant.

La réponse immunitaire induite par la vaccination a été étudiée grâce aux intradermoréactions (injections intradermiques d'antigènes parasitaires). Les résultats expérimentaux montrent qu'il existe aussi des différences qualitatives dans la réponse immune, en fonction de la concentration en protéines du vaccin :

- Des concentrations protéiques faibles induisent à l'intradermoréaction une réponse de phase tardive (HS I) prononcée et homogène au sein du groupe,
- Un vaccin très concentré stimulerait une réponse anticorps plus importante mais induirait une réaction de phase tardive moins intense et plus hétérogène et l'aire lésionnelle serait réduite (88).

La phase de réaction tardive étant fortement liée à la pathogénie de la gale et à l'émergence des lésions cutanées, le choix de la concentration du vaccin paraît primordial. Il est par ailleurs important dans un troupeau d'obtenir un statut vaccinal homogène entre les animaux. Enfin, on peut se demander s'il est intéressant de tenter d'induire une réaction de type grooming en tant que mécanisme protecteur chez le mouton. Comparé au mouton, les bovins sont plus efficaces pour éliminer *P.ovis* grâce au grooming, en partie parce qu'ils sont équipés d'une langue plus longue et préhensile et en partie parce qu'ils ne possèdent pas de laine. Même si un stimulus fort pouvait induire un comportement de grooming chez les ovins, l'alopécie et les lésions que les animaux s'infligeraient seraient difficilement compatibles avec une production de laine et de cuirs rentable (104).

▣ Un groupe argentin (108) a rapporté une réduction de l'aire lésionnelle et du nombre d'acariens lors d'une infestation expérimentale de moutons naïfs vaccinés avec des extraits bruts de *P.ovis*. Les animaux sont immunisés en trois fois (trois injections à deux semaines d'intervalle) avec 1 gramme de protéines issues soit :

- de l'extrait total (3 g d'un mélange de parasites, homogénéisés dans 1 ml de tampon salin et centrifugés 10 minutes à 250 g),
- de l'extrait parasitaire partiellement purifié (le surnageant, obtenu à partir de l'extrait total, est centrifugé à 12000 g pendant 20 minutes).

L'adjuvant de Freund est utilisé (adjuvant complet pour la première injection, puis adjuvant incomplet pour les suivantes). Des effets vaccinaux significatifs ne sont observés qu'avec les vaccins fabriqués à partir de l'extrait parasitaire partiellement purifié. Il est important de remarquer que les essais vaccinaux utilisant l'adjuvant de Freund restent purement expérimentaux et qu'il est absolument interdit d'utiliser cet adjuvant dans la pratique courante (voir IV.3.1.4.).

▣ Smith et coll. sont partis du principe que les protéines de la surface luminale du tube digestif de *P.ovis* sont celles qui ont le plus de chance d'entrer en contact avec les immunoglobulines de l'hôte, ingérées par le parasite. Ces protéines intestinales constitueraient donc de bons candidats pour la synthèse de vaccins. Dans différentes séries d'essais, ils ont tenté d'immuniser des moutons avec ces protéines de surface de la membrane intestinale, mais les résultats n'ont pas été encourageants (105).

Une portion du tractus digestif de *P.ovis* étant tapissée par la membrane péritrophique, Smith et coll. ont extrait des antigènes de cette matrice péritrophique et les ont testés en tant qu'antigènes vaccinaux. Les résultats ont encore été négatifs (105). Il semble par conséquent que les antigènes intestinaux ne constituent pas de bons antigènes vaccinaux contre *P.ovis* car, à la différence de *Boophilus microplus*, *P.ovis* n'est pas un parasite hématophage, et par conséquent, il ingère une quantité d'immunoglobulines trop faible pour observer un effet (105).

Plusieurs hypothèses peuvent être faites pour expliquer les échecs de ses essais vaccinaux (117) :

- les solutions vaccinales utilisées ne contenaient pas les antigènes immunogènes,
- la méthode d'extraction des protéines antigéniques a détruit les épitopes impliqués dans la protection immunitaire,
- la concentration en antigènes du vaccin était insuffisante.

▣ En 1999, Pruett et coll. (89) ont utilisé l'allergène dominant de 16 kDa pour induire une immunité chez des bovins. La vaccination consistait en 2 injections séparées de 3 semaines. Les tests intradermiques effectués 14 jours après la vaccination (consistant en deux injections à trois semaines d'intervalle) montrent une réaction d'HS cutanée immédiate n'incluant pas de phase de réaction tardive. Cette réponse immunitaire étant protectrice (88), l'allergène de 16 kDa pourrait être utilisé pour la vaccination des animaux.

Le tableau 19 synthétise les différents essais vaccinaux conduits contre *P.ovis*.

Le mécanisme d'action induit par la vaccination contre *P.ovis* n'est pas connu et on ne sait pas s'il est à médiation humorale. Il semble que la vaccination confère une immunité protectrice qui soit associée à une augmentation du nombre de mastocytes et d'éosinophiles dans l'infiltrat cellulaire du derme (mais cet effet n'est pas statistiquement significatif) (105).

Des travaux sont en cours pour fractionner des extraits parasitaires protecteurs, essayer d'identifier les antigènes responsables et déterminer leur mode d'action (88, 89, 105, 108).

Il est possible d'imaginer deux mécanismes par lesquels l'ingestion d'anticorps vaccinaux conduit éventuellement à des dommages sévères ou à la mort des ectoparasites :

- Il peut y avoir un effet "action de masse" dans lequel la liaison d'une grande quantité d'anticorps sur une surface altère suffisamment la fonction physiologique de cette surface pour être pathogène ;
- il peut y avoir une attaque plus spécifique par les anticorps, le complément et d'autres composants du système immunitaire, sur une des molécules d'une importance biochimique critique pour le parasite (124).

Par conséquent, il est important de connaître la localisation tissulaire de l'antigène pour comprendre le mode d'action de la vaccination. Par exemple, PM44 de *L. cuprina*, Bm86 de *B. microplus*, et H11 de *H. contortus*, sont tous des antigènes localisés dans des endroits où ils sont accessibles à de fortes concentrations en anticorps et en complément (94).

IV.2.2.3. Choix de l'adjuvant

Afin de rendre efficaces les vaccins utilisant des organismes inactivés, il est en général nécessaire de stimuler la réponse immunitaire en administrant un adjuvant avec l'antigène. Les adjuvants sont essentiels si une mémoire de longue durée doit être établie, ils favorisent le développement de la réponse immunitaire en piégeant les antigènes au niveau de sites accessibles pour les lymphocytes réactifs et ils incitent les cellules présentatrices de l'antigène à exprimer les molécules de co-stimulation (117).

Nous avons recensé quatre types d'adjuvant ayant été utilisé dans des essais vaccinaux contre *P. ovis*. Chacun présente des propriétés et des modes d'action différents (les caractéristiques et modes d'action de ces adjuvants sont schématisés et résumés dans les annexes 4 et 5):

□ L'adjuvant incomplet de Freund, très utilisé en expérimentation (et uniquement dans ce cadre) (88, 108), est une émulsion huile dans eau, dans laquelle sont incorporés les antigènes vaccinaux. Il permet la formation d'un dépôt au site d'injection et l'huile stimule une réponse inflammatoire, locale et chronique. Il en résulte la formation d'un granulome et l'antigène est

libéré lentement de la phase aqueuse de l'émulsion. Des gouttelettes d'émulsion peuvent aussi être transportées dans d'autres sites *via* le système lymphatique (117).

□ Lorsque des bacilles tuberculeux (*Mycobacterium tuberculosis*) sont incorporés dans l'émulsion, le mélange est nommé adjuvant complet de Freund (117). Celui-ci est aussi très employé dans les essais vaccinaux (et uniquement dans ce contexte) (88, 108) car il est très puissant (117). Non seulement il forme un dépôt, mais les bacilles tuberculeux contiennent un composé appelé dipeptide muramyl qui agit sur les macrophages pour stimuler la production d'IL-1 (stimulant la réponse des cellules T helpers et le développement de l'immunité). L'efficacité de l'adjuvant complet de Freund est maximale lorsqu'il est injecté par voie sous-cutanée ou par voie intradermique (117).

□ L'écorce de l'arbre sud américain *Quillaja saponaria Molina* (82, 117) contient un mélange complexe de saponines qui ont une activité toxique en même temps qu'adjuvant de l'immunité. Un traitement spécial permet l'isolement des saponines à fonction d'adjuvant et l'élimination de leur toxicité potentielle. Ce mélange de saponines est appelé QuilA (117), c'est un adjuvant efficace dans le vaccin contre la gale psoroptique (105).

□ Le dernier adjuvant que nous avons relevé est l'alhydrogel/amphigen (88, 89) (l'alhydrogel est une préparation standardisée d'hydroxyde d'aluminium, composé minéral très employé pour les vaccins à usage vétérinaire et le seul actuellement autorisé en médecine humaine). L'utilisation d'adjuvants à base d'aluminium est basée sur l'établissement d'un dépôt d'antigène et la libération lente de cet antigène au site d'injection, créant un foyer d'inflammation stérile qui attire les cellules immunitaires. L'activation du complément a lieu (par la voie alterne), conduisant à une réponse inflammatoire qui contribue à la mise en place d'une mémoire des cellules B. La réponse induit de forts titres en IgG et stimule aussi la synthèse d'IgE, conduisant par conséquent à la stimulation des cellules Th2 sécrétrices d'IL-5 (82).

Pruett et coll. (88) ont montré un effet de l'adjuvant sur l'intensité de la réponse immunitaire à l'antigène vaccinal. En effet, en utilisant la même préparation antigénique de base, les bovins vaccinés avec l'adjuvant alhydrogel/amphigen exprime une réponse uniforme alors que les animaux vaccinés avec l'adjuvant complet de Freund, bien qu'exprimant une réponse anticorps de même intensité, ne répondent pas aussi uniformément (88). Le choix de

l'adjuvant est donc primordial si l'on souhaite qu'un groupe d'animaux présente une immunité homogène face à un organisme pathogène.

Tableau 19 : Synthèse des essais vaccinaux conduits contre *P. ovis*.

Expérience	Espèce	Antigènes vaccinaux utilisés	Adjuvant	Protocole	Voie	Pouvoir immunogène
Pruett et coll., 1998 (88)	Bovine	Solution saline d'extraits parasitaires	Selon le groupe d'animaux : - adjuvant de Freund ²¹ (complet ou incomplet) - alhydrogel/amphigen	4 injections à 3 semaines d'intervalle	Sous-cutanée	+
Stella et coll., 1997 (108)	Ovine	Extrait parasitaire total	- Première injection : adjuvant complet de Freund ¹⁶ - Injections suivantes : adjuvant incomplet ¹⁶	3 injections à 2 semaines d'intervalle	Non précisée	-
		Extrait parasitaire soluble				+
Smith et coll., 2002 (105)	Ovine	Extrait parasitaire enrichi en protéines solubles	QuilA	3 injections à 3 semaines d'intervalle	Intra-musculaire (patte arrière)	-
		Extrait parasitaire enrichi en protéines intégrales de membrane				-
Pruett et coll., 1999 (89)	Bovine	Solution de l'antigène de 16 kDa (obtenu par purification de la solution parasitaire totale)	QuilA	2 injections à 3 semaines d'intervalle	Sous-cutanée	+

+ : Induction d'une immunité ; - : Pas d'induction de l'immunité.

²¹ Nous rappelons que l'adjuvant de Freund ne peut être utilisé pour des vaccinations à caractère expérimental et qu'il est absolument interdit en pratique courante.

Partie 3 : Limites et perspectives de ces techniques

IV.3.1. Limites

IV.3.1.1. Recherche d'antigènes immunogènes

Machado et coll. (66) suggèrent que la dégranulation des mastocytes et des basophiles en l'absence d'IgE spécifiques (voir III.2.5.1) serait prédictive du pouvoir allergène d'un antigène et pourrait être évaluée par des tests cellulaires. Ainsi, les antigènes vaccinaux éventuels pourraient être testés et seuls seraient choisis pour la vaccination ceux dont le pouvoir immunogène est le plus fort.

Sachant que chez les bovins la réaction d'HS cutanée immédiate seule est protectrice (89, 119), alors qu'elle ne l'est pas si une phase de réaction tardive la suit, le meilleur antigène vaccinal (c'est-à-dire, celui capable de diminuer la population parasitaire et de limiter la dermatite de l'hôte), devra susciter une réponse d'HS immédiate sans solliciter la phase tardive de la réaction (correspondant à l'accumulation et à la dégradation des GNE) (89).

En effet, la réponse IgE étant associée à l'acquisition d'une résistance chez l'hôte (comme l'induit l'antigène de 16 kDa dans l'expérience de Pruett et coll. par exemple) (89), l'antigène vaccinal choisi doit être capable de se lier aux IgE chez les sujets allergiques (129). Les tests intradermiques et l'observation des réactions cutanées pourraient alors constituer des outils simples pour évaluer si un antigène est susceptible d'induire une immunité protectrice ou pas (119).

Lee et coll. ont produit une banque d'ADNc de *P.ovis* qui permet une méthode alternative pour isoler les antigènes candidats à une utilisation vaccinale. Le criblage de la banque d'ADNc (identification des clones bactériens transformés et possédant un ADNc codant pour un antigène immunogène) peut se faire par (55) :

- screening avec des anticorps issus de sérums de moutons infestés par *P.ovis*,
- screening avec des anticorps issus d'antisérums de moutons vaccinés avec un homogénat de *P.ovis*.

IV.3.1.2. Production d'antigènes vaccinaux

La fabrication de vaccins nécessite une production massive d'antigènes vaccinaux. L'élevage *in vitro* des parasites peut constituer une méthode intéressante, comme le montre l'expérience de East et coll. dans laquelle des larves de *Lucilia cuprina* sont cultivées *in vitro*, autorisant la collecte d'une grande quantité de membrane péritrophique avec une manipulation minimale (37).

Les antigènes potentiellement immunogènes (donc susceptibles d'être utilisés dans les vaccins) peuvent être isolés de préparations parasitaires brutes. Par exemple, Smith et coll. (105) ont procédé à l'isolement des protéines de la membrane du tube digestif de *P. ovis* en utilisant un détergent non ionique (Triton X-100) ; puis, afin de concentrer les protéines de la surface luminale (qui sont glycosylées), ils ont employé des lectines (ConA). Ils obtiennent alors une solution riche en cellules de la surface luminale du tube digestif, utilisable dans leurs essais vaccinaux. Si le poids moléculaire des antigènes à isoler est connu, une chromatographie sur gel et séparation en fonction de leur point isoélectrique est possible. Une combinaison appropriée de ces techniques autorise un haut degré de purification (125). Un vaccin fabriqué à partir de matériel parasitaire purifié permet de réduire la quantité d'antigènes vaccinaux nécessaire, car si le matériel antigénique est éliminé, la dose d'antigènes permettant l'induction d'une immunité est alors bien inférieure à celle nécessaire si le vaccin est synthétisé à partir d'extraits parasitaires brutes (88, 125).

Evidemment, l'isolement du/des antigène(s) protecteur(s) est une étape essentielle avant qu'un vaccin ne puisse voir le jour. D'autre part, s'il est raisonnable de penser qu'un vaccin qui contiendrait plus d'un type d'antigènes protecteurs aurait une meilleure efficacité qu'un vaccin n'en contenant qu'un seul, il n'est pas évident qu'un mélange d'antigènes vaccinaux ait une action additive ou synergique (94).

Néanmoins, si la production des protéines antigéniques à partir des sources naturelles est souvent utile pour les études initiales, ce procédé ne produit pas assez d'antigènes pour des études plus extensives. Une expérience de fractionnement par centrifugations successives de l'extrait parasitaire total a réduit le nombre d'antigènes candidats à un petit nombre (104). Par conséquent, la stratégie la plus évidente serait de cribler une banque d'ADNc de *P. ovis* et d'isoler le/les gène(s) codant pour la/les protéine(s) d'intérêt vaccinal. Le criblage peut se faire par hybridation avec des oligonucléotides de la protéine cible du vaccin ou par hybridation avec un homologue de l'ADNc de la protéine cible (55). Ce/ces gène(s) pourraient ensuite être clonés dans un système à haut niveau d'expression tel que *E. coli*,

Aspergillus nidulans, *A.niger* ou la levure *Pichia pastoris* (96) et séquencés, afin d'être exprimés en tant que protéines recombinantes et utilisés dans un vaccin (104). La banque d'ADNc de *P.ovis* de Lee et coll. (55) pourrait alors constituer un outil précieux pour élaborer un vaccin contre la gale psoroptique.

Ce type de protocole a déjà été utilisé dans la lutte contre la tique du bétail *Boophilus microplus*. Un fort niveau d'expression et une bonne conservation de la structure protéique ont été obtenus après expression de l'antigène intestinal Bm86 chez *P. pastoris*. De plus, la protéine recombinante est glycosylée et induit une réponse protectrice chez les bovins vaccinés (96). Un autre exemple nous est donné par le protocole de Yuuki et coll. (129) qui ont produit à grande échelle l'allergène Der f 2 de *D.farinae* : la banque d'ADNc de l'acarien a été exprimée chez *Escherichia coli* et les protéines recombinantes ont été criblées grâce à un anticorps anti-Der f 2. Les séquences nucléotidiques des clones avec lesquelles l'anticorps s'est lié (c'est-à-dire, celles qui sont susceptibles de correspondre à Der f 2) ont été déterminées et la protéine Der f 2 a pu être produite.

Enfin, l'isolement des antigènes immunogènes peut être techniquement difficile (125) et il n'est pas aisé d'obtenir de grandes quantités d'extraits de *P.ovis* "propres" (c'est-à-dire non contaminés) comme matériel de départ, afin d'en extraire une fraction enrichie en antigènes vaccinaux potentiels (105). Il faudra, par conséquent, veiller à la qualité de la production des antigènes vaccinaux, c'est-à-dire s'assurer et prouver que ceux-ci ne sont pas des sources d'agents infectieux tels que des bactéries, des virus ou des prions.

IV.3.1.3. Spécificité de la réponse immunitaire envers *P.ovis*

Un autre problème concernant l'intérêt de la vaccination est la spécificité de la réponse immunologique. En effet, les molécules chimiques acaricides ont tendance à réagir avec différentes cibles dans une espèce et entre les espèces, alors qu'un anticorps est plus spécifique d'une espèce et même d'une protéine particulière (124). Ainsi, si les produits chimiques permettent, pour la plupart, une lutte large contre diverses parasitoses externes, un vaccin contre *P.ovis* ne permettrait de ne lutter que contre ce pathogène.

De plus, l'immunité naturelle contre *P.ovis* exprime des mécanismes différents de l'immunité vaccinale (125). Cette constatation prévaut aussi dans le cas d'une infestation par d'autres ectoparasites et on sait, par exemple, que pour *B. microplus* l'immunité naturelle est dirigée contre la forme larvaire du parasite, tandis que l'immunité induite par la vaccination (avec des

antigènes de tiques adultes) est dirigée contre le stade adulte (51, 125). Ces mécanismes précis n'ont pas encore été caractérisés pour l'agent de la gale.

En outre, la spécificité d'action des effecteurs de l'immunité peut être une limite au développement des vaccins. En effet, les essais de vaccination contre la gale psoroptique ovine ne peuvent être conduits que sur des moutons, le parasite et la réponse immunitaire qu'il provoque étant très spécifiques de l'hôte, les animaux de laboratoire ne constituent pas de bons modèles (125).

IV.3.1.4. Contraintes liées à l'adjuvant

Les contraintes liées à l'adjuvant concernent tout d'abord les risques de réactions locales : un gonflement au niveau du site d'injection (sous-cutané) est courant, il atteint un pic à 48 heures puis diminue graduellement. Une organisation granulomateuse peut apparaître et constituer un nodule ferme. Ce phénomène est souvent observé avec des vaccins combinés à un adjuvant permettant le dépôt de l'antigène (les sels d'aluminium par exemple).

Certains des protocoles de vaccination ayant fait l'objet de publication (voir supra) emploient les adjuvants de Freund (complet et incomplet) (88, 108). Or, ces adjuvants sont interdits en médecine vétérinaire (comme en médecine humaine) car ils provoquent une forte inflammation et persistent longtemps au site d'injection où ils peuvent entraîner la formation d'un granulome sévère ou d'un abcès au site d'injection (82). De plus, l'huile peut s'infiltrer à travers le fascia, détériorant la viande, ce qui rend l'utilisation de ces préparations huileuses inappropriée pour les animaux destinés à la consommation humaine (82, 117). Enfin, l'emploi de l'adjuvant complet de Freund est inacceptable chez les animaux de boucherie car les mycobactéries de l'adjuvant induisent une réaction tuberculique positive lors de l'intradermo-réaction, ce qui constitue un inconvénient majeur dans toutes les régions où le contrôle de la tuberculose se fait par des tests cutanés (117).

IV.3.1.5. Effets secondaires possibles de la vaccination

Les effets secondaires et les risques possibles de la vaccination sont liés :

- aux propriétés des vaccins (possibilités de contamination, composants toxiques ou allergéniques...),
- aux soins apportés à l'administration,
- à la persistance du vaccin chez l'hôte et dans l'environnement.

Ces effets secondaires peuvent être locaux (voir aussi chapitre IV, 3.1.4) ou systémiques. Ils peuvent apparaître lors de la vaccination, légèrement après ou être retardés de quelques heures (82) :

▣ Risques de réactions immédiates aux vaccins

Une douleur peut résulter d'une injection faite trop près d'un nerf. Cependant la douleur est le plus souvent la conséquence d'une osmolarité non isotonique ou d'un pH en-dehors de l'échelle 6,0-7,0 (82). Une HS immédiate (anaphylaxie) peut avoir lieu dans les quelques minutes à 3 heures. Les procédures de purification des vaccins ou l'utilisation de vaccins sous-unité peuvent réduire les risques d'HS (82).

On pourrait aussi tester le vaccin en injectant par voie intradermique une petite dose de la préparation vaccinale et garder l'animal en observation pour plusieurs heures. S'il n'y a pas de réaction, le reste de la dose peut être donné en sous-cutané (82).

▣ Risques de réactions systémiques tardives

Des réactions non spécifiques peuvent apparaître : fièvre, malaise, inappétence, diminution de la production laitière. Les facteurs impliqués peuvent être la toxicité de l'adjuvant ou la sensibilité du système immunitaire (82). Des réactions humorales peuvent aussi se manifester : une liaison anticorps-antigène excessive et formant des complexes macromoléculaires peut apparaître. Ces complexes peuvent être piégés dans de petits lits capillaires (par exemple dans le glomérule rénal), conduisant à une glomérulonéphrite, ou dans les articulations, causant une polyarthrite (82). D'autre part, les produits peuvent être contaminés par d'autres agents tels que des virus, des mycoplasmes ou des bactéries, permettant une large distribution de l'agent contaminant (82).

IV.3.1.6. Critères de choix d'un protocole vaccinal

Il existe un délai entre l'injection du vaccin et l'établissement d'un titre suffisant en anticorps, par conséquent, une stratégie vaccinale appropriée est essentielle. Chez les jeunes, le protocole vaccinal doit être planifié en fonction de la présence et de la persistance des anticorps maternels. Chez les ovins, ces derniers sont transmis par le colostrum dans lequel, comme chez tous les ruminants, l'IgG est l'anticorps dominant (82, 117) (sa concentration est

de 40 à 60 g/l) (117). Chez les agneaux, les anticorps maternels persistent 6-8 mois. Si des vaccins sont administrés avant la fin de cette période, ils doivent être répétés après, afin d'assurer la protection des individus chez qui les anticorps maternels persistent plus longtemps (82).

Chez le mouton adulte, le problème posé est celui de la fréquence des rappels de vaccination. Pour le résoudre, il est nécessaire de connaître la durée pendant laquelle les anticorps synthétisés suite à la stimulation par le(les) antigène(s) vaccinal(-aux) persistent chez l'animal en quantité suffisante pour le protéger. On comprend aisément qu'une fréquence de vaccination élevée constituera une contrainte physique et économique importante pour l'éleveur. Par ailleurs la gale étant une parasitose saisonnière sous nos climats tempérés, on peut se demander si l'induction d'une immunité ponctuelle (c'est-à-dire lors de la période à risque) ne pourrait pas constituer une protection suffisante.

Il est donc impératif, dans le cadre de la vaccination contre *P.ovis*, de déterminer l'âge de la première vaccination, la période de l'année à laquelle celle-ci doit être conduite (aussi bien chez les adultes que chez les jeunes), et la fréquence des rappels.

En pratique, le vaccin doit être intégré dans un programme global de lutte contre les parasites externes. Ainsi, il est recommandé de traiter avec un acaricide les animaux très infestés et de les vacciner simultanément afin de garder le nombre de parasites sous le seuil duquel le vaccin peut être efficace (voir infra : exemple de Tickgard®) (124).

Enfin, un des problèmes majeurs possiblement posé par la vaccination est l'interférence des anticorps vaccinaux avec les méthodes de diagnostic sérologiques susceptibles d'être mises en pratique dans les années à venir (la présence des anticorps vaccinaux positive le test). Il s'agit alors de pouvoir différencier, lors du diagnostic (ou du suivi) sérologique, les anticorps naturels (synthétisés suite à une infestation), des anticorps induits par la vaccination. Ceci serait possible en utilisant, par exemple, un antigène caché comme protéine vaccinale et en recherchant un antigène naturel au cours du diagnostic.

IV.3.2. Perspectives

IV.3.2.1. La vaccination contre les ectoparasites du bétail : données actuelles

Actuellement, le seul vaccin dirigé contre un acarien parasite qui soit disponible est le vaccin contre *B. microplus* : Tickgard®. Le vaccin est injecté par voie sous-cutanée, dans le cou, et

les injections de rappel, nécessaires pour maintenir un titre significatif en anticorps, sont effectuées tous les deux mois pendant la période d'activité des tiques (82). Il s'agit d'un vaccin sous-unité dont le principal composant est la protéine recombinante Bm86 (glycoprotéine de la membrane des cellules digestives), dans un adjuvant huileux (82, 124). Les anticorps bovins se lient à cette protéine et causent la lyse des cellules de l'épithélium digestif. Tickgard[®] a été commercialisé en Australie en 1994 (un vaccin proche de Tickgard[®] est aussi utilisé à Cuba) (124). Il permet de réduire le développement de la tique sur les pâtures : les tiques se nourrissant sur les bovins vaccinés sont fortement affectées par l'action du vaccin, elles peuvent mourir, ou, si elles survivent, leur capacité de reproduction est très réduite. Ce vaccin est utilisé en combinaison avec les pratiques habituelles de lutte contre les tiques et le premier résultat pour les éleveurs utilisant le vaccin est une réduction de la fréquence des bains acaricides. En Australie, après la première saison de vaccination, un sondage a montré que les éleveurs avaient adopté Tickgard[®] et, en 1996, le vaccin a été reformulé avec un adjuvant différent et nommé Tickgard[®] Plus. Ce dernier produit induit chez les bovins un taux moyen d'anticorps qui est deux à trois fois supérieur à celui de son prédécesseur et provoque un effet plus fort et plus prolongé chez les tiques (124). Cet exemple montre l'importance des éleveurs en aval, sans le soutien desquels la recherche vaccinale n'aurait pas lieu d'être.

Les récentes découvertes prouvent que le mouton a la capacité d'acquérir une immunité forte contre *P.ovis* et qu'une protection partielle peut être induite par l'inoculation d'extraits parasitaires dans un adjuvant. Ces résultats sont très encourageants pour la recherche vaccinale. Il semble que les extraits purifiés du parasite sont des sources plus fructueuses d'antigènes permettant l'établissement d'une immunité de niveau supérieur à celle induite les préparations parasitaires brutes. De plus, il est probable qu'une vaccination par les protéines de membrane intestinale soit une approche inappropriée dans la lutte contre ce parasite (104). Pour le moment, aucun des antigènes responsables du mécanisme de protection n'est connu, mais il semble que des mécanismes différents interviennent dans l'acquisition de l'immunité naturelle et dans celle induite par l'antigène vaccinal.

IV.3.2.2. Qualités du vaccin idéal

Le choix d'un vaccin dépend de différents critères. Premièrement, l'immunité active doit permettre (à la différence de l'immunité passive) d'induire une période de protection

prolongée et une amplification de cette protection grâce à des injections répétées d'antigènes ou par exposition à l'agent infestant/infectieux. Ainsi, un vaccin idéal doit induire une immunité de longue durée, il doit être bon marché, stable, adapté à la vaccination de masse et il doit stimuler une réponse immunitaire différenciable de celle due à l'infestation/infection naturelle (117).

Ensuite, la vaccination doit permettre la protection de l'animal lui-même, mais elle doit aussi pouvoir, lorsqu'il s'agit d'une femelle, assurer la protection du nouveau-né. Les anticorps protecteurs doivent être sécrétés par la glande mammaire de la femelle vaccinée et ainsi être transférés au jeune par le colostrum.

Il faut aussi s'assurer de l'innocuité du vaccin et de l'absence de réactions secondaires indésirables pour l'animal vacciné.

Concernant les mécanismes immunologiques d'action, les vaccins doivent posséder quatre propriétés essentielles :

- ① Les cellules présentatrices d'antigènes doivent être stimulées afin qu'elles présentent l'antigène efficacement et synthétisent les interleukines appropriées ;
- ② Les cellules T et B doivent aussi être stimulées afin qu'elles génèrent un grand nombre de cellules mémoire ;
- ③ Les cellules T helpers et cytotoxiques doivent être sensibilisées à plusieurs épitopes vaccinaux, afin de maîtriser le polymorphisme du CMH de classe II et les variations des propriétés des épitopes ;
- ④ L'antigène doit perdurer dans les tissus lymphoïdes pour que les cellules produisant les anticorps soient sensibilisées sur une longue période et que la protection persiste aussi longtemps que possible (117).

La plupart des échecs vaccinaux sont dus à un non respect de l'une ou de plusieurs de ces exigences (117). Le profil du vaccin "idéal" est résumé dans le tableau 20.

IV.3.2.3. Synthèse des interrogations actuelles

Les questions qui se posent quant à la recherche vaccinale dans la lutte contre *P.ovis* sont multiples (82), elles concernent :

- 1) Le coût financier du développement du vaccin, par rapport au bénéfice qu'il permettrait,
- 2) La nature des antigènes les plus aptes à stimuler la réponse immunitaire,
- 3) La concentration optimale en antigènes de la solution vaccinale,
- 4) L'adjuvant à employer,
- 5) La voie à utiliser,
- 6) Le nombre d'injection(s) nécessaire(s) pour la primo-vaccination,
- 7) Le protocole des rappels,
- 8) L'âge auquel il faudrait effectuer la première vaccination,
- 9) La méthode de production à employer pour la fabrication du vaccin à grande échelle.

Des recherches sont en cours pour solutionner ces divers problèmes. Vont-elles conduire à l'élaboration et à la production industrielle d'un vaccin contre la gale psoroptique ou montreront-elles, au contraire, les limites de la vaccination contre les parasites externes ?

Tableau 20 : Caractéristiques du vaccin "idéal" (d'après 82).

Propriétés	Facteurs influençant les propriétés du vaccin
<u>Sécurité</u>	<ul style="list-style-type: none"> - la mort du parasite n'induit pas un danger supérieur à sa survie - absence de risque pour les individus immunodéprimés - absence de toxicité - adjuvant non toxique et non dangereux - élimination rapide de l'adjuvant après la vaccination - vaccin sans danger pour les femelles gestantes et quel que soit l'âge des animaux vaccinés - le vaccin n'induit pas de complexes immuns - absence de propriétés anaphylactogènes
<u>Efficacité</u>	<ul style="list-style-type: none"> - réponse immunitaire protectrice à 100% chez les hôtes dont le système immunitaire est compétent - l'immunité résiste à toutes les infestations - immunité de longue durée - induction rapide de l'immunité - le vaccin doit permettre de dépasser le taux d'anticorps maternels
<u>Commodités</u>	<ul style="list-style-type: none"> - une seule dose suffit pour induire une efficacité - combinaison avec d'autres vaccins possibles (vaccin multivalent) : une seule injection - vaccin adapté à la vaccination de masse - recommandations vaccinales compatibles avec les méthodes d'élevage - format des doses vaccinales pratique - vaccin déjà prêt dans son conditionnement (pas de mélange à effectuer avant l'injection) - vaccin stable dans des conditions d'utilisation normales
<u>Disponibilité</u>	<ul style="list-style-type: none"> - prix total de la vaccination inférieur aux bénéfices

Conclusion

La gale psoroptique ovine est une maladie parasitaire dont l'agent a été beaucoup étudié et dont la symptomatologie est aujourd'hui bien connue. C'est, en partie, l'importance économique de cette pathologie qui motive la recherche scientifique, cette dernière ayant permis la mise au point de divers produits acaricides efficaces pour le traitement et la prévention de la gale chez les moutons.

Diverses études tendent à établir clairement la nature des cellules et des molécules qui interviennent dans les interactions parasite-hôte, et c'est uniquement sur les bases de l'immunologie que reposent les outils de diagnostic lors des enquêtes épidémiologiques. Grâce à des données plus précises sur les phénomènes immunitaires impliqués, des méthodes s'appuyant sur les outils de la biologie moléculaire pourraient permettre un diagnostic plus précoce et mieux daté dans le temps que les méthodes antérieures.

L'utilisation d'un vaccin anti-*P. ovis* éviterait l'utilisation de produits chimiques, satisfaisant ainsi les attentes des éleveurs et des consommateurs. La connaissance des antigènes psoroptiques impliqués dans la pathogénie de la gale, de même que celle des systèmes de défense immunologiques du mouton sont des pré-requis indispensables avant l'élaboration d'un vaccin. Toutefois, il reste clairement un long chemin à parcourir avant qu'un vaccin ne soit disponible, et il est même possible que le niveau de protection induit par la vaccination ne soit jamais suffisamment élevé pour que celui-ci soit commercialisé (104).

Bibliographie

- 1- COLLEGE OF VETERINARY MEDECINE. (Page consultée le 15.08.2003). Adresse URL : <http://www.cvm.missouri.edu/cvm/courses/vm556/Taxonomy/Taxarthr.htm>
- 2- AMERICAN DORPER SHEEP BREEDERS' SOCIETY (ADSBS) MEMBER - CRANE CREEK DORPERS AND WHITE DORPERS (Page consultée le 04.03.2004). Adresse URL : <http://showcase.netins.net/web/sam/adsbs.htm>
- 3- (Page consultée le 15.09.2003). Adresse URL : <http://merops.sanger.ac.uk/speccards/peptidase/SPOO2559.htm>
- 4- (Page consultée le 24.09.2003). Adresse URL : <http://membres.lycos.fr/smathieu/convertisseurdevises.htm>
- 5- COMMONWEALTH SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH ORGANISATION (CSIRO). (Page consultée le 24.09.2003). Adresse URL : www.ento.csiro.au/aicn/system/psoropti.htm
- 6- (Page consultée le 24.09.2003). Adresse URL : www.uq.edu.au/entomology/museum/mites/acarifso.html
- 7- ARRUDA, L.K., VAILES, L.D., BENJAMIN, D.C., M.L., CHAPMAN, M.D.
Molecular cloning of German cockroach (*Blatella germanica*) allergens.
Int. Arch. Allergy and Immunology, 1995, **107**, 295-297.
- 8- ARRUDA, L.K., VAILES, L.D., PLATTS-MILLS, T.A.E., HAYDEN, M.L., CHAPMAN, M.D.
Induction of IgE antibody responses by glutathione-S-transferase from the German cockroach (*Blatella germanica*).
J. Biol. Chem., 1997, **272**, 20907-20912.
- 9- BABO, D.
Races ovines et caprines françaises. Editions France Agricole, 2000, pp 79-82.
- 10- BANKS, W.J.
Applied veterinary histology. Second edition.
Editions Williams and Wilkins, Baltimore, USA, 1986.
- 11- BATES, P.G.
Epidemiology of subclinical ovine psoroptic otacariasis in Great Britain.
Vet. Rec., 1996, **138**, 388-393.
- 12- BATES, P.G.
The pathogenesis and ageing of sheep scab lesions - Part 1.
The State Veterinary Journal, 1997, **7**, 3, 11-15.

13- BATES, P.G.

Inter- and intra-specific variation within *Psoroptes* (Acari : Psoroptidae).
Vet. Parasitol., 1999, **83**, 201-217.

14- BATES, P.G.

Differences between primary and secondary infestation with the sheep scab mite, *Psoroptes ovis*.

Vet. Rec., 2000, **146**, 528-529.

15- BATES, P.G., RANKIN, M., GROVES, B., TAYLOR, M.

The effects of sheep breed on the progress of sheep scab.

In: GOOD, M., HALL, M.J., LOSSON, B., O'BRIEN, D., PITHAN, K., SOL, J. Cost action 833. Agriculture and biotechnology. Mange and myiasis of the livestock. European cooperation in the field of scientific and technical research. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, France, 3-6 octobre 2001.

European commission, Luxembourg : 2002, 78-81.

16- BATES, P., RANKIN, M., LEASK, S.

Acaricide resistance in the sheep scab mite (*Psoroptes ovis*) : a comparison between *in-vivo* and *in-vitro* methods of detection.

In : In: GOOD, M., HALL, M.J., LOSSON, B., O'BRIEN, D., PITHAN, K., SOL, J. Cost action 833. Agriculture and biotechnology. Mange and myiasis of the livestock. European cooperation in the field of scientific and technical research. Proceedings of the final held at the university of Bari, Italie, 19-22 septembre 2002.

European commission, Bruxelles, Belgique : 2003, 92-94.

17- BECK, W., HIEPE, T.

Investigations to allergenicity as well as protein profiles of mange mites *Chorioptes bovis*, *Psoroptes ovis*, *Sarcoptes suis* and *Notoedres cati* by SDS-PAGE and immunoblotting.

Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr., 1997, **110**, 4, 128-133.

18- BEETHAM, P.K.

Sheep scab mite (Acari : Psoroptidae) : General morphology and immunocytochemistry using serum from infested animals.

Ann. Entomol. Soc. Am., 1997, **90**, 2, 202-207.

19- BERRAUD, J.

Le technicien d'analyses biologiques - Guide théorique et pratique.

Londres, Paris, New York : Editions Médicales Internationales, 2001. 2080 p.

20- BERRIATUA, E., FRENCH, N.P., WALL, R., SMITH, K.E., MORGAN, K.L.

Within-flock transmission of sheep scab in naive sheep housed with single infested sheep.

Vet. Parasitol., 1999, **83**, 277-289.

21- BERRIATUA, E., FRENCH, N.P., BROSTER, C.E., MORGAN, K.L., WALT, R.

Effect of infestation with *Psoroptes ovis* on the nocturnal rubbing and lying behaviour of housed sheep.

Appl. Anim. Behav. Sci., 2001, **71**, 43-55.

- 22- BOYCE, W.M., ELLIOTT, L., CLARK, R., JESSUP, D.
Morphometric analysis of *Psoroptes* spp. Mites from bighorn sheep, mule deer, cattle and rabbits.
J. Parasitol., 1990, **76**, 6, 823-828.
- 23- BOYCE, W.M., BROWN, R.N.
Antigenic characterization of *Psoroptes* spp. (Acari : Psoroptidae) mites from different hosts.
J. Parasitol., 1991, **77**, 5, 675-679.
- 24- BOYCE, W.M., JESSUP, D.A., CLARK, R.K.
Serodiagnostic antibody responses to *Psoroptes* sp. infestations in bighorn sheep.
J. Wildl. Dis., 1991, **27**, 10-15.
- 25- BOYCE, W.M., MAZET, J.A.K., MELLIES, J., GARDNER, I., CLARK, R.K., JESSUP, D.A.
Kinetic ELISA for detection of antibodies to *Psoroptes* sp. (Acari : Psoroptidae) in bighorn sheep (*Ovis canadensis*).
J. Parasitol., 1991, **77**, 5, 692-696.
- 26- BROOKS, A.J., WALL, R.
The use of *Metarhizium anisopliae* for the potential control of the scab mite *Psoroptes ovis* (Hering).
In : In: GOOD, M., HALL, M.J., LOSSON, B., O'BRIEN, D., PITHAN, K., SOL, J. Cost action 833. Agriculture and biotechnology. Mange and myiasis of the livestock. European cooperation in the field of scientific and technical research. Proceedings of the final held at the university of Bari, Italie, 19-22 septembre 2002.
European commission, Bruxelles, Belgique : 2003, 95-105.
- 27- CASU, R., EISEMANN, C., PEARSON, R., RIDING, G., EAST, I., DONALDSON, A., CADOGAN, L., TELLAM, R.
Antibody-mediated inhibition of the growth of larvae from an insect causing cutaneous myiasis in mammalian host.
Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 1997, **94**, 8939-8944.
- 28- CLARK, A.M., STEPHEN, F.B., CAWLEY, G.D., BELLWORTHY, S.J., GROVES, B.A.
Resistance of the sheep scab mite *Psoroptes ovis* to propetempfos.
Vet. Rec., 1996, **139**, 18, 451.
- 29- COLDITZ, I.G., LAX, J., MORTIMER, S.I., CLARKE, R.A., BEH, K.J.
Cellular inflammatory responses in skin of sheep selected for resistance and susceptibility to fleece rot and fly strike.
Parasite Immunol., 1994, **16**, 289-296.
- 30- COLE, N.A., GUILLOT, F.S.
Influence of *Psoroptes ovis* on the energy metabolism of heifer calves.
Vet. Parasitol., 1987, **23**, 285-295.
- 31- CORKE, M.J., BROOM, D.M.
The behaviour of sheep with scab, *Psoroptes ovis* infestation.
Vet. Parasitol., 1999, **83**, 291-300.

- 32- DONADIO, E., PERRUCCI, S., MACCHIONI, G., FELICIOLO, A., NANNETTI, C., PODESTÀ, A.
2-D immunoblotting detection of protein antigens of mites of the genus *Psoroptes* isolated from infested rabbits.
In : In: GOOD, M., HALL, M.J., LOSSON, B., O'BRIEN, D., PITHAN, K., SOL, J. Cost action 833. Agriculture and biotechnology. Mange and myiasis of the livestock. European cooperation in the field of scientific and technical research. Proceedings of the final held at the university of Bari, Italie, 19-22 septembre 2002.
European commission, Bruxelles, Belgique : 2003,106-110.
- 33- DOWNING, W.
The life history of the scab mite in relation to control measures.
Vet. Rec., 1936, **48**, 37, 1065-1067.
- 34- DOWNING, W.
The life history of *Psoroptes communis* var. *ovis* with particular reference to latent or suppressed scab.
J. Comp. Pathol. Ther., 1936, **49**, 163-180.
- 35- DOWNING, W.
The life-history of *Psoroptes communis* var. *ovis* with particular reference to latent or suppressed scab.
J. Comp. Pathol. Ther., 1936, XLIX(3), 183-209.
- 36- DVORAK, H.F.
Cutaneous basophil hypersensitivity.
J. Allergy Clin. Immunol., 1976, **58**, 1, 229-240.
- 37- EAST, I.J., FITZGERALD, C.J., PEARSON, R.D., DONALDSON, R.A., VUOCOLO, T., CADOGAN, L. C., TELLAM, R.L., EISEMANN, C.H.
Lucilia cuprina : inhibitor of larval growth induced by immunization of host sheep with extracts of larval peritrophic membrane.
Int. J. Parasitol., 1993, **23**, 2, 221-229.
- 38- EISEMANN, C.H., BINNINGTON, K.C.
The peritrophic membrane : its formation, structure, chemical composition and permeability in relation to vaccination against ectoparasitic arthropods.
Int. J. Parasitol., 1994, **24**, 1, 15-16.
- 39- EVANS, R.P., KIRKWOOD, A.C.
Sheep scab = cattle scab ?
Vet Rec., 1984, **114**, 459.
- 40- FALCONI, F., OCHS, H., DEPLAZES, P.
Serological cross-sectional survey of psoroptic sheep scab in Switzerland.
Vet. Parasitol., 2002, **109**, 119-127.
- 41- FISHER, W.F.
Precipitating antibodies in sheep infested with *Psoroptes ovis* (Acarina : psoroptidae), the sheep scab mite.
J. Parasitol., 1972, **58**, 6, 1218-1219.

- 42- FISHER, W.F.
Development of a serum antibody activity as determined by enzyme-linked immunosorbent assay to *Psoroptes ovis* (Acarina : Psoroptidae) antigens in cattle infested with *P. ovis*.
Vet. Parasitol., 1983, **13**, 363-373.
- 43- FRANC, M.
Le traitement des ectoparasites du mouton.
Rev. Med. Vet., 1988, **139**, 1, 13-20.
- 44- GAGA, M., FREW, A.J., VARNEY, V.A., KAY, A.B.
Eosinophil activation and T lymphocyte infiltration in allergen-induced late phase skin reactions and classical delayed-type hypersensitivity.
J. Immunol., 1991, **147**, 3, 816-822.
- 45- GLEICH G. J.
The late phase of the immunoglobulin E-mediated reaction : a link between anaphylaxis and common allergic disease?
J. Allergy Clin. Immunol., 1982, **70**, 3, 160-169.
- 46- GROGONO-THOMAS, R., JAYAWARDENA, K.G.I., HELLER-HAUPT, A., VARMA, M.G.R., WOODLAND, R.M.
Immunoblot technique for early diagnosis of sheep scab.
Vet. Rec., 1999, **145**, 254-256.
- 47- HALLEY, B.A., VANDENHEUVEL, J.A., WISLOCKI, P.G.
Environmental effects of the usage of avermectins in livestock.
Vet. Parasitol., 1993, **48**, 109-125.
- 48- HAMILTON, K.A., NISBET, A.J., LEHANE, M.J., TAYLOR, M.A., BILLINSLEY, P.F.
A physiological and biochemical model for digestion in the ectoparasite mite, *Psoroptes ovis* (Acari : Psoroptidae).
Int. J. Parasitol., 2003, **33**, 8, 773-785.
- 49- HUNTLEY, J.F., NEWLANDS, G., MILLER, H.R.P.
The isolement and characterization of globule leucocytes : their derivation from mucosal mast cells in parasitised sheep.
Parasite Immunol, 1984, **6**, 371-390.
- 50- JAYAWARDENA, K.G.I., HELLER-HAUPT, A., WOODLAND, R.M., VARMA, M.G.R.
Antigens of the sheep scab mite *Psoroptes ovis*.
Folia Parasitologica, 1998, **45**, 239-244.
- 51- KEMP, D.H., AGBEDE, R.I.S., JOHNSTON, L.A.Y., GOUGH, J.M.
Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks : feeding and survival of the parasite on vaccinated cattle.
Int. J. Parasitol., 1986, **16**, 2, 115-120.

- 52- KENYON, F., KNOX, D.
The proteinases of *Psoroptes ovis*, the sheep scab mite-their diversity and substrate specificity.
Vet. Parasitol., 2002, **105**, 317-325.
- 53- KERLIN, R.L., HUGUES, S.
Enzymes in saliva from four arthropods
In : KERLIN, R.L., HUGUES, S.
Medical and veterinary entomology, D.S. Keetle.
Wallingford, Oxon, C.A.B International, 1990, 366-370.
- 54- KIRKWOOD, A.C.
Effect of *Psoroptes ovis* on the weight of sheep.
Vet. Rec., 1980, **107**, 469-470.
- 55- LEE, A.J., ISAAC, R.E., COATES, D.
The construction of a cDNA expression library for the sheep scab mite *Psoroptes ovis*.
Vet. Parasitol., 1999, **83**, 241-252.
- 56- LEE, A.J., HUNTLEY, J., VAN DEN BROEK, A., COATES, D., ISAAC, R.E.
Expression and characterisation of a *Psoroptes ovis* glutathione-S-transferase.
Vet. Parasitol., 2002, **105**, 49-63.
- 57- LEE, A.J., MACHELL, J., VAN DEN BROEK A.H.M., NISBET, A.J., MILLER, H.R.P., ISAAC, R.E., HUNTLEY, J.F.
Identification of an antigen from the sheep scab mite, *Psoroptes ovis*, homologous with house dust mite group I allergens.
Parasite Immunol., 2002, **24**, 413-422.
- 58- LEKIMME, M., HERPELIN, F., POUMARY, Y., LOSSON, B., LECLIPTEUX, T.
Detection of a P-glycoprotein in *Psoroptes* sp.
In: GOOD, M., HALL, M.J., LOSSON, B., O'BRIEN, D., PITHAN, K., SOL, J. Cost action 833. Agriculture and biotechnology. Mange and myasis of the livestock. European cooperation in the field of scientific and technical research. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, France, 3-6 octobre 2001.
European commission, Luxembourg : 2002, 82-87.
- 59- LEWIS, C.
Update on sheep scab.
Practice, 1997, **19**, 10, 558-564.
- 60- LONNEUX, J.F., NGUYEN, T.Q., DELHEZ, M., LOSSON, B.J.
Antibody response after treatment in cattle infected with *Psoroptes ovis*.
Res. Vet. Sci., 1997, **63**, 57-60.
- 61- LONNEUX, J.F., NGUYEN, T.Q., DETRY, J., FARNIR, F., LOSSON, B.J.
The relationship between parasite counts, lesions, antibody titres and daily weight gains in *Psoroptes ovis* infested cattle.
Vet. Parasitol., 1998, **76**, 137-148.

- 62- LONNEUX, J.F., NGUYEN, T.Q., HOLLANDERS, W., LOSSON, B.J.
A sandwich enzyme-linked immunosorbent assay to study the antibody response against *Psoroptes ovis* in cattle.
Vet. Parasitol., 1996, **64**, 299-314.
- 63- LOSSON, B., DETRY-POUPLARD M., POUPLARD, L.
Haematological and immunological response of unrestrained cattle to *Psoroptes ovis*, the sheep scab mite.
Res. Vet. Sci., 1988, **44**, 197-201.
- 64- LOSSON, B., JEMLI, M.H., LONNEUX, J.F.
Gales et démodécies.
In: LEFEVRE, J.P., BLANCOU, J., CHERMETTE, R.
Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail -Europe et régions chaudes- Tome 2 : Maladies bactériennes – Mycoses – Maladies parasitaires.
Londres, Paris, New York : Editions TEC et Doc. Editions Médicales Internationales, 2003, 1255-1269.
- 65- LOSSON, B.J., LONNEUX, J.F., LEKIMME, M.
The pathology of *Psoroptes ovis* infestation in cattle with a special emphasis on breed difference.
Vet. Parasitol., 1999, **83**, 219-229.
- 66- MACHADO, D.C., HORTON, D., HARROP, R., PEACHELL, P.T., HELM, B.A.
Potential allergens stimulate the release of mediators of the allergic response from cells of mast cell lineage in the absence of sensitization with antigen-specific IgE.
Eur. J. Immunol., 1996, **26**, 2972-2980.
- 67- MALE D. 1999. Immunologie, aide-mémoire illustré. DeBoeck Université.
- 68- MATHIESON, B.R.F., LEHANE, M.J.
Isolation of the Gram-negative bacterium, *Serratia marcescens*, from the sheep scab mite, *Psoroptes ovis*.
Vet. Rec., 1996, **138**, 210-211.
- 69- MATHIESON, B.R.F., LEHANE, M.J.
Ultrastructure of the alimentary canal of the sheep scab mite, *Psoroptes ovis* (Acari : Psoroptidae).
Vet. Parasitol., 2002, **104**, 151-166.
- 70- MATTHES, H.F., HARRISON, G.B.L., SHAW, R.J., HEATH, A.C.G., PFEFFER, A., HIEPE, T.H.
Cross-reacting antibodies to *Sarcoptes suis*, *Chorioptes bovis* and *Notoedres cati* and anti-*P. ovis* IgE in sera from sheep infested naturally with *Psoroptes ovis*.
Int. J. Parasitol., 1996, **26**, 4, 437-444.
- 71- MEINTIES, T., FOURRIE, L.J., HORAK, I.G. 2002. Effects of the scab mite *Psoroptes ovis* on the haematology and live mass of Merino and Dorper sheep.
Onderstepoort J. Vet. Res., 2002, **69**, 4, 285-293.

- 72- MOULINIER, C.
Parasitologie et mycologie médicales – Eléments de morphologie et de biologie.
Cachan : Editions Médicales Internationales, 2003, 796p.
- 73- MUNN, E.A., SMITH, T.S., GRAHAM, M., TAVERNOR, A., GREENWOOD, C.A.
The potential value of integral membrane proteins in the vaccination of lambs against *Haemonchus contortus*.
Int. J. Parasitol., 1993, **23**, 2, 261-269.
- 74- NELSON, W.A., BELL, J.F., CLIFFORD, C.M., KEIRANS, J.E.
Interaction of ectoparasites and their hosts.
Journal of Medical Entomology, 1977, **13**, 4-5, 389-428.
- 75- NISBET, A.J., BILLINGSLEY, P.F.
Immunological control of scab mites : digestive enzymes as candidate compounds.
Vet. Parasitol., 1999, **83**, 231-239.
- 76- O'BRIEN, D.J., ROBINSON, A.B., GRAY, J.S., O'REILLY, P.F.
Haematology and blood biochemistry during the course of psoroptic scabies in sheep.
Vet. Res. Commun., 1995, **19**, 39-48.
- 77- O'BRIEN, D.J.
Treatment of psoroptic mange with reference to epidemiology and history.
Vet. Parasitol., 1999, **83**, 177-185.
- 78- OCHS, H., JACOBBER, P., RISI, J., DEPLAZES, P.
Evaluation of a new control strategy for psoroptic sheep scab based on an overall serological survey : preliminary results.
In: GOOD, M., HALL, M.J., LOSSON, B., O'BRIEN, D., PITHAN, K., SOL, J. Cost action 833. Agriculture and biotechnology. Mange and myasis of the livestock. European cooperation in the field of scientific and technical research. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, France, 3-6 octobre 2001.
European commission, Luxembourg : 2002, 88-89.
- 79- OCHS, H., LONNEUX, J.F., LOSSON, B.J., DEPLAZES, P.
Diagnosis of psoroptic sheep scab with an improved enzyme-linked immunosorbent assay.
Vet. Parasitol., 2001, **96**, 233-242.
- 80- OCHS, H., SIEGFRIED, E., DEPLAZES, P.
Differences in host immune response and behaviour of mites in experimental cross infestations of sheep and rabbits with *P.ovis* and *P.cuniculi*.
In : In: GOOD, M., HALL, M.J., LOSSON, B., O'BRIEN, D., PITHAN, K., SOL, J. Cost action 833. Agriculture and biotechnology. Mange and myasis of the livestock. European cooperation in the field of scientific and technical research. Proceedings of the final held at the university of Bari, Italie, 19-22 septembre 2002.
European commission, Bruxelles, Belgique : 2003, 120-127.
- 81- PANGUI, L.J.
Gales des animaux domestiques et méthodes de lutte.
Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 1994, **13**, 4, 1227-1247.

- 82- PASTORET, P.P., BLANCOU, J., VANNIER, P., VERSCHUEREN, C.
 Veterinary vaccinology.
 Amsterdam, Lausanne, New York, Oxford, Shannon, Tokyo : Elsevier. 1997. 853 p.
- 83- PASTORET P-P., GRIEBEL, P., BAZIN, H., GOVAERTS A.
 Chapitre XIV, Sheep Immunology and Goat Particularities.
In : PASTORET P-P., GRIEBEL, P., BAZIN, H., GOVAERTS A.
 Handbook of Vertebrate Immunology.
 San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto : Academic Press, 1998,
 485-533.
- 84- PETIT, S.
 Dictionnaire des médicaments vétérinaires – 12^{ème} éditions.
 Maisons-Alfort : Editions du Point Vétérinaire, 2003. 1761 p.
- 85- PETTIT, D., SMITH, W.D., RICHARDSON, J., MUNN, E.A.
 Localisation and characterisation of ovine immunoglobulin within the sheep scab mite,
Psoroptes ovis.
Vet. Parasitol., 2000, **89**, 231-239.
- 86- PERRUCCI, S., ROSSI, G., MACCHIONI, G., O'BRIEN, D.J.
 The influence of bacterial flora on the virulence of *Psoroptes cuniculi*.
In: GOOD, M., HALL, M.J., LOSSON, B., O'BRIEN, D., PITHAN, K., SOL, J. Cost action
 833. Agriculture and biotechnology. Mange and myasis of the livestock. European
 cooperation in the field of scientific and technical research. Ecole nationale vétérinaire de
 Toulouse, France, 3-6 octobre 2001.
 European commission, Luxembourg : 2002, 90-98.
- 87- PERRUCCI, S., ZINI, A., GALUPPI, R., DONADIO, E., MANCIANTI, F.,
 MACCHIONI, G.
 Pathogenicity of *Scopulariopsis* spp. fungi to *Psoroptes* mites isolated from infested rabbits.
In : In: GOOD, M., HALL, M.J., LOSSON, B., O'BRIEN, D., PITHAN, K., SOL, J. Cost
 action 833. Agriculture and biotechnology. Mange and myasis of the livestock. European
 cooperation in the field of scientific and technical research. Proceedings of the final held at
 the university of Bari, Italie, 19-22 septembre 2002.
 European commission, Bruxelles, Belgique : 2003, 128-131.
- 88- PRUETT, J.H., TEMEYER, K.B., FISHER, W.F., BEETHAM, P.K., KUNZ, S.E.
 Evaluation of natural *Psoroptes ovis* (Acarina : Psoroptidae) soluble proteins as candidate
 vaccine immunogens.
J. Med. Entomol., 1998, **35**, 5, 861-871.
- 89- PRUETT, J.H.
 Identification and purification of a 16-kDa allergen from *Psoroptes ovis* (Acarina :
 Psoroptidae).
J. Med. Entomol., 1999, **36**, 5, 544-550.
- 90- PYRAH, I.T.G., WATT, N.J.
 Immunohistological study of the cutaneous delayed type hypersensitivity reaction in sheep.
Vet. Immunol. Immunopathol., 1995, **48**, 299-312.

- 91- RAFFERTY, D.E., Gray, J.S.
The feeding behaviour of *Psoroptes spp.* mites on rabbits and sheep.
J. Parasitol., 1987, **73**, 5, 901-906.
- 92- REHBEIN, S., BARTH, D., VISSER, M., WINTER, R., CRAMER, L.G., LANGHOLFF, W.K.
Effects of *Psoroptes ovis* infection and its control with an ivermectin controlled-released capsule on growing sheep, 1. Evaluation of weight gain, feed consumption and carcasse value. *Vet. Parasitol.*, 2000, **91**, 107-118.
- 93- REHBEIN, S., OERTEL, H., BARTH, D., VISSER, M., WINTER, R., CRAMER, L.G., LANGHOLFF, W.K.
Effects of *Psoroptes ovis* infection and its control with an ivermectin controlled-released capsule on growing sheep, 2. Evaluation of wool production and leather value.
Vet. Parasitol., 2000, **91**, 119-128.
- 94- RIDING, G.A., JARMEY, J., MCKENNA, R.V., PEARSON, R., COBON, G., WILLADSEN, P.
A protective "concealed" antigen from *Boophilus microplus*- Purification, localisation and possible function.
J. Immunol., 1994, **153**, 5158-5166.
- 95- ROBERTS, I.H., MELENEY, W.P.
Variations among strains of *Psoroptes ovis* (Acarina: Psoroptidae) on sheep and cattle.
Ann. Entomol. Soc. Am., 1971, **64**, 1, 109-116.
- 96- RODRIGUEZ, M., PENICHER, M.L., MOURIS, A.E., LABARTA, V., LORENZO LUACES, L., RUBIERA, R., CORDOVÉ, C., SÁNCHEZ, P.A., RAMOS, E., SOTO, A., CANALES, M., PALENZUELA, D., TRIGUERO, A., LLEONART, R., HERRERA, L., DE LA FUENTE, J.
Control of *Boophilus microplus* populations in grazing cattle vaccinated with a recombinant Bm86 antigen preparation.
Vet. Parasitol., 1995, **57**, 339-349.
- 97- ROSSI, G., PERRUCCI, S., MACCHIONI, G.
Serological responses of experimentally infected rabbits to different antigens of *Psoroptes cuniculi*.
In: GOOD, M., HALL, M.J., LOSSON, B., O'BRIEN, D., PITHAN, K., SOL, J. Cost action 833. Agriculture and biotechnology. Mange and myasis of the livestock. European cooperation in the field of scientific and technical research. Workshops held at the Institute of entomology (Academy of sciences), Ceske, Budejovice, Czech Republic, 28-30 september 2000.
European commission, Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2001, 95-98.
- 98- SARGISSON, N.D., SCOTT, P.R., PENNY, C.D., PIRIE, R.S.
Effect of an outbreak of sheep scab (*Psoroptes ovis* infestation) during mid-pregnancy on ewe body condition and lamb birthweight.
Vet. Rec., 1995, **136**, 287-289.

- 99- SARGISSON, N.D., SCOTT, P.R., CLARKE, C.J., PENNY, C.D., PIRIE, R.S.
Severe post-dipping dermatitis and subcutaneous fluid swelling associated with two outbreaks of sheep scab (*Psoroptes ovis* infestation).
Vet. Rec., 1995, **136**, 217-220.
- 100- SEXTON, J.L., MILNER, A.R., PANACCIO, M., WADDINGTON, J., WIJFFELS, G., CHANDLER, D., THOMPSON, C., WILSON, L., SPITHILL, T.W., MITCHELL, G.F., CAMPBELL, N.J.
Glutathione S-transferase- Novel vaccine against *Fasciola hepatica* infection in sheep.
J. Immunol., 1990, **145**, 11, 3905-3910.
- 101- SHARP, P.J., SMITH, D.R.J., BACH, W., WAGLAND, B.M., COBON, G.S.
Purified Glutathione S-transferase from parasites as candidate protective antigens.
Int. J. Parasitol., 1991, **21**, 7, 839-846.
- 102- SINCLAIR, A.N., KIRKWOOD, A.G.
Feeding behaviour of *Psoroptes ovis*.
Vet. Rec., 1983, **15**, 65.
- 103- SINCLAIR, A.N., FILAN, S.J.
Confirmation of degenerative effects on psoroptic mites from scab lesions.
Vet. Rec., 1991, **30**, 492.
- 104- SMITH, W.D., VAN DEN BROEK, A., HUNTLEY, J., PETTIT, D., MACHELL, J., MILLER, H.R.P., BATES, P., TAYLOR, M.
Approaches to vaccines for *Psoroptes ovis* (sheep scab).
Res. Vet. Sci., 2001, **70**, 87-91.
- 105- SMITH, W.D., BATES, P., PETTIT, D.M., VAN DEN BROEK, A., TAYLOR, M.A.
Attempts to immunize sheep against the scab mite, *Psoroptes ovis*.
Parasite Immunol, 2002, **24**, 303-310.
- 106- SOLLEY, G.O., GLEICH, G.J., JORDON, R.E., SCHROETER, A.I.
The late phase of the immediate wheal and flare skin reaction, its dependence upon IgE antibodies.
J Clin Invest, 1976, **58**, 408-420.
- 107- SPENCE, T.
The latest phase of sheep scab : its nature and relation to the eradication of the disease.
J. Comp. Pathol., 1949, **59**, 305-318.
- 108- STELLA, M., BRAUN, M., NUÑEZ, J.L.
Effect of pre-immunisation with *Psoroptes ovis* extracts on experimental mange. 16th International conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology.
Sun City, South Africa, 10-15 August 1997.
- 109- STEWART, G.A., FISHER, W.F.
Cross-reactivity between the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* and the mange mites *Psoroptes cuniculi* and *P. ovis*. I. Demonstration of antibodies to the house dust mite allergen Dpt 12 in sera from *P. cuniculi*-infested rabbits.
J. Allergy Clin. Immunol., 1986, **78**, 2, 293-299.

- 110- STROMBERG, P.C., FISHER, W.F.
Dermatopathology and immunity in experimental *Psoroptes ovis* (Acari: Psoroptidae) infestation of naive and previously exposed Hereford cattle.
Am. J. Vet. Res., 1986, **47**, 7, 1551-1560.
- 111- STROMBERG, P.C., FISHER, W.F., GUILLOT, F.S., PRUETT, J.H., PRICE, R.E., GREEN, R.A.
Systemic pathologic response in experimental *Psoroptes ovis* infestation of Hereford calves.,
Am. J. Vet. Res., 1986, **47**, 1326-1331.
- 112- STROMBERG, P.C., GUILLOT, F.S.
Bone marrow response in cattle with chronic dermatitis caused by *Psoroptes ovis*.
Vet. Pathol., 1987, **24**, 365-370.
- 113- STROMBERG, P.C., GUILLOT, F.S.
Hematology in the regressive phase of bovine psoroptic scabies.
Vet. Pathol., 1987, **24**, 371-377.
- 114- SYNGE, B.A., BATES, P.G., CLARK, A.M., STEPHEN, F.B.
Apparent resistance of *P. ovis* to flumethrine.
Vet. Rec., 1995, **137**, 51.
- 115- TAYLOR, S.M.
Sheep scab—environmental considerations of treatment with doramectin.
Vet. Parasitol., 1999, **83**, 309-317.
- 116- TEMEYER, K.B., SOILEAU, L.C., PRUETT, J.H.
Cloning and sequence analysis of a cDNA encoding Pso o II, a mite group II allergen of the sheep scab mite (Acari : Psoroptidae).
J. Med. Entomol., 2002, **39**, 2, 384-391.
- 117- TIZARD, I.R.
Veterinary Immunology. An Introduction, fifth edition.
Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo : W.B. Saunders Company. 1996.
531 p.
- 118- VAN DEN BROEK, A.H.M., HUNTLEY, J.F.
Sheep scab : the disease, pathogenesis and control.
J. Comp. Pathol., 2003, **128**, 2-3, 79-91.
- 119- VAN DEN BROEK, A.H.M., HUNTLEY, J.F., HALLIWELL, R.E.W., MACHELL, J., TAYLOR, M., MILLER, H.R.P.
Cutaneous hypersensibility reactions to *Psoroptes ovis* and Der p I in sheep previously infested with *Psoroptes ovis*- the sheep scab mite.
Vet. Immunol. Immunopathol., 2003, **91**, 2, 105-117.
- 120- VAN DEN BROEK, A.H.M., HUNTLEY, J.F., MACHELL, J., TAYLOR, M., BATES, P., GROVES, B., MILLER, H.R.P.
Cutaneous and systemic responses during primary and challenge infestations of sheep with the sheep scab mite, *Psoroptes ovis*.
Parasite Immunol., 2000, **22**, 407-414.

- 121- VAN DEN BROEK, A.H.M., HUNTLEY, J.F., MACHELL, J., TAYLOR, M.A., MILLER, H.R.P.
Temporal pattern of isotype-specific antibody responses in primary and challenge infestations of sheep with *Psoroptes ovis*- the sheep scab mite.
Vet. Parasitol., 2003, **111**, 2-3, 217-230.
- 122- WALL, R., SMITH, K.E., BERRIATUA, E., FRENCH, N.P.
Simulation analysis of the population dynamics of the mite, *Psoroptes ovis*, infesting sheep.
Vet. Parasitol., 1999, **83**, 253-264.
- 123- WASSAL, D.A., KIRKWOOD, A.C., BATES, P.G., SINCLAIR, I.J.
Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to the sheep scab mite *Psoroptes ovis*.
Res. Vet. Sci., 1987, **43**, 34-35.
- 124- WILLADSEN, P.
Novel vaccines for ectoparasites.
Vet. Parasitol., 1997, **71**, 209-222.
- 125- WILLADSEN, P., MCKENNA, R.V., RIDING, G.A.
Isolement from the cattle tick, *Boophilus microplus*, of antigenic material capable of eliciting a protective immunological response in the bovine host.
Int. J. Parasitol., 1988, **18**, 2, 183-189.
- 126- WILLADSEN, P., RIDING, G.A., MCKENNA, R.V., KEMP, D.H., TELLAM, R.L., NIELSEN, J.N., LAHNSTEIN, J., COBON, G.S., GOUGH, J.M.
Immunologic control of a parasitic arthropod- Identification of a protective antigen from *Boophilus microplus*.
J. Immunol., 1989, **143**, 1346-1351.
- 127- WRIGHT, C., DELOACH, J.R.
Feeding of *Psoroptes ovis* (Acari : Psoroptidae) on cattle.
J. Med. Entomol., 1981, **18**, 4, 349-350.
- 128- YERUHAM, I., HADANI, A., ELAD, D., PERI, S., SAMIR, Y.
Staphylococcal furunculosis in sheep severely infested by psoroptic mange.
Aust. Vet. J., 2002, **80**, 6, 349.
- 129- YUUKI, T., OKUMURA, Y., ANDO, T., YAMAKAWA, H., SUKO, M., HAIDA, M., OKUDAIRA, H.
Cloning and expression of cDNA coding for the major house dust mite allergen *Der f II* in *Escherichia coli*.
Agric. Biol. Chem., 1991, **55**, 5, 1233-1238.
- 130- ZICCARDI, M.H., BOYCE, W.M., GARDNER, I.A.
Seroprevalence of *Psoroptes* sp. mites in free-ranging elk (*Cervus elaphus*) as determined by kinetic ELISA.
J. Wildl. Dis., 1996, **32**, 1, 51-56.

Annexes



Annexe 1 : Propriétés et fonction des macrophages/monocytes, cellules natural killer (NK) et cellules dendritiques ovins

(d'après 83)

Types cellulaires	Propriétés	Fonction
Monocytes et macrophages	Hétérogénéité phénotypique et biochimique dans les tissus. Phénotype : CMH de classe I et II, CD45, CD11a, CD11b, CD11c, CD44.	Phagocytose. Développement à partir de précurseurs hématopoïétiques, stimulé par le GM-CSF, le M-CSF, l'IL-3 et des facteurs sériques. Les macrophages alvéolaires répondent aux infections ou au LPS en produisant l'IL-1 β , le TNF- α , l'IL-6, le GM-CSF, le G-CSF et répondent aux mitogènes en produisant des prostaglandines, des thromboxanes, des leucotriènes et des acides hydroxy-écosatétranoïques.
Cellules NK	Lymphocytes à gros granules	Expriment les molécules conservées, associées aux fonctions NK. Activées par l'interféron de type 1. Inhibées par les protéines endométriales serpin-like. Actives lors de variole ovine.
Cellules dendritiques (CD)	Quatre phénotypes représentés dans la peau : les cellules de Langerhans, les CD dermiques dont les CD migrante afférant par la lymphe. Toutes expriment le CMH de classe II.	Les CD transportées par la lymphe ont pour fonction la capture et la présentation de l'antigène. Les CD dermiques sont recrutées dans la peau par le GM-CSF et le TNF- α ; elles sont inhibées par l'INF- γ . Les CD migrantes ont des récepteurs pour l'IL-1 β et lient les IgM et les IgG.

Annexe 2 : Propriétés des granulocytes et mastocytes ovins

(d'après 83)

Types cellulaires	Médiateurs contenus dans les granules	Propriétés
Granulocytes neutrophiles	Granules azurophiles et spécifiques. Elastase ; phosphatases acides ; myéloperoxydase ; phosphatase alcaline ; superoxyde ; lactoferrine ; β -glucuronidase	Phagocytose. Augmentation de leur nombre lors d'infections bactériennes. La production de superoxyde est inférieure à celle des neutrophiles humains et bovins. Absence de lysozyme. Absence de larges granules comme ceux observés dans les neutrophiles bovins. Migration médiée par le C5a et l'IL-8. Recrutés par l'IL-1- β , l'IL-8, le GM-CSF, le TNF- α .
Granulocytes éosinophiles	Protéine basique majeure ; protéine éosinophile cationique ; peroxydase ; arylsulphatase	Augmentation de leur nombre lors d'helminthose. Beaucoup de précurseurs et de cellules matures dans la moelle osseuse comparé à l'homme et aux rongeurs. Expriment l' α 4-intégrine (VLA-4). Répondent à l'IL-5, au PAF, à l'IL-3 et GM-CSF.
Granulocytes basophiles	Aucun médiateurs décrits. Taille inférieure aux éosinophiles et mastocytes	Leurs réponses à des stimuli variés sont pauvres chez le mouton par rapport à celles observées chez le cochon d'Inde.
Mastocytes (muqueux et du tissu conjonctif)	Protéase mastocytaire ovine (sheep mast cell protease ou SMCP) ; histamine ; β -hexosaminidase ; arylsulphatase ; leucotriènes (LTC ₄) ; Fc ϵ R1 ⁺ . Peu d'antigènes de surface communs avec les autres leucocytes.	La SMCP a une activité tryptase et chymase. Activité régulée par l'héparine. Impliqué dans la protection contre certains nématodes. Les globules leucocytaires (mastocytes dégranulés) sont prédominants dans l'intestin parasité. Développement dépendant de l'IL-3 à partir des précurseurs hématopoïétiques.

Annexe 3 : Techniques de biologie moléculaire.

▣ ELISA ("enzyme linked immunosorbent assay")

L'ELISA est un des tests immunologiques les plus employés en médecine vétérinaire, il est utilisé pour détecter et quantifier des anticorps ou des antigènes.

Dans l'ELISA indirect, pour la recherche d'anticorps (figure 33), les puits d'une plaque de polystyrène sont tout d'abord remplis avec une solution d'antigènes. Les protéines s'adsorbent sur le polystyrène et les antigènes non liés sont éliminés par un rinçage. Le sérum à tester est ajouté aux tubes de manière à ce que les anticorps présents dans le sérum puissent se lier à l'antigène fixé sur la paroi du tube. Les tubes sont mis en incubation et lavés pour éliminer les anticorps encore libres. La détection des anticorps liés s'effectue par addition d'une anti-globuline chimiquement liée à une enzyme. Ce complexe se lie à l'anticorps, et, après incubation et lavage, il peut être détecté et mesuré par addition du substrat enzymatique chromogène. L'intensité de la couleur qui se développe est proportionnelle à la quantité d'anti-globulines liées aux enzymes, qui elle-même est proportionnelle à la quantité d'anticorps présents dans le sérum testé. L'intensité de la coloration peut être estimée visuellement ou par spectrophotométrie (67, 117).

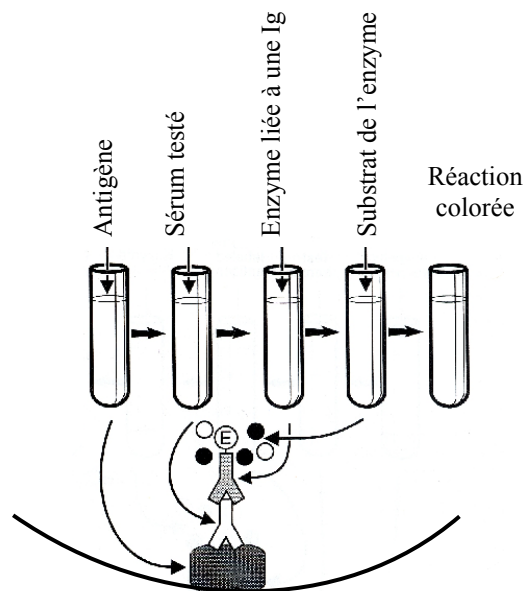


Figure 33 : La recherche d'anticorps par la technique ELISA indirect (d'après 117).

▣ ELISA sandwich (67, 117)

Une modification de la technique précédente permet de détecter les antigènes (figure 34). L'anticorps spécifique (anticorps de capture) est tout d'abord adsorbé sur les tubes de polystyrène, puis, la solution d'antigène est ajoutée et l'antigène est alors lié par l'anticorps de capture. Après lavage, l'anti-globuline couplée à une enzyme est ajoutée, puis, le substrat chromogène permet de révéler la présence des antigènes.

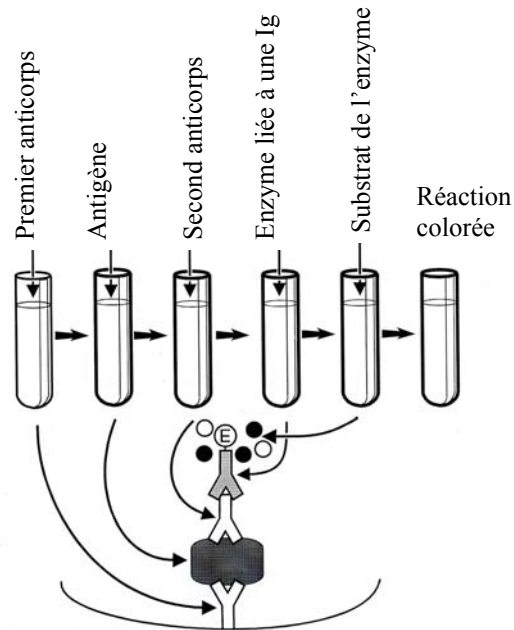


Figure 34 : La recherche d'anticorps par la technique ELISA sandwich (d'après 67).

▣ Technique des immunoempreintes (Westernblot)

La technique du Western blot permet d'identifier des antigènes parmi d'autres protéines. Elle comporte trois étapes (figure 35) :

- 1) séparation du mélange de protéines par une électrophorèse en gel, afin que chaque composant soit représenté par une bande unique ;
- 2) transfert de ces protéines sur une membrane de nitrocellulose (« blot »). Ce transfert peut être un transfert passif ou un potentiel électrique peut être utilisé pour accélérer le processus ;

3) incubation de la membrane avec des anticorps radiomarqués, ou conjugués avec une enzyme. Les réactifs fixés sur les antigènes reconnus sont localisés en utilisant un second anticorps radiomarqué, ou un conjugué enzymatique (voir ELISA) (67, 117).

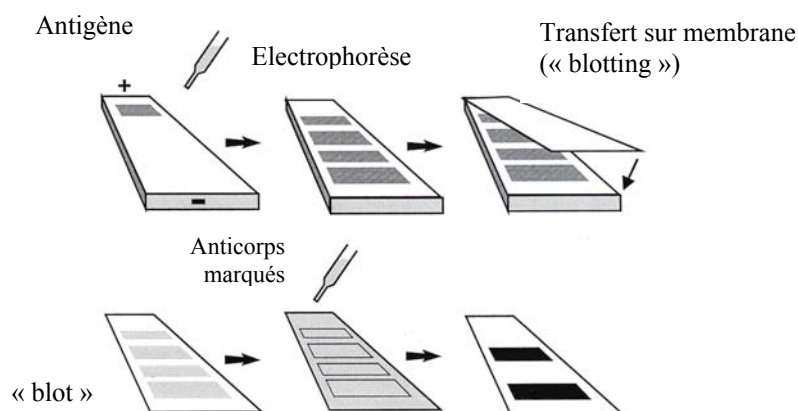


Figure 35 : La technique de Westernblot (d'après 67).

▣ Immunohistochimie (67, 117)

L'immunohistochimie est une méthode permettant d'identifier des antigènes dans les sections de tissus ou sur les cellules, ou d'identifier les anticorps dirigés contre les antigènes. Cette technique est similaire à l'immunofluorescence, mais des conjugués enzymatiques et leurs substrats chromogènes sont utilisés à la place des conjugués fluorescents. Les sections peuvent être visualisées au microscope optique.

▣ La méthode d'immunodiffusion double (méthode d'Ouchterlony) (67, 117)

L'immunodiffusion est une méthode utilisée pour démontrer la précipitation des antigènes par les anticorps. Deux puits circulaires d'environ 5 mm de diamètre sont faits à environ 1 cm de distance dans une couche d'agar. L'un des puits est rempli avec le (ou les) antigène(s) soluble(s), l'autre avec l'antisérum. Les réactifs vont diffuser à l'extérieur de leur puit respectif. Dans la zone où les réactifs se rencontrent dans des proportions optimales, une ligne blanche opaque apparaît.

Si les solutions utilisées contiennent plusieurs antigènes et anticorps différents, chacun des composants n'atteindra pas les proportions optimales exactement dans la même zone. Par conséquent, un arc de précipitation séparé est produit pour chaque couple d'interaction antigène-anticorps. Les arcs de précipitation peuvent être de trois types (figure 36) :

- 1) deux arcs qui fusionnent indiquent une identité entre les antigènes ;
- 2) si les arcs sont indépendants, les antigènes reconnus sont complètement différents;
- 3) si les arcs fusionnent mais en formant un éperon, les antigènes sont partiellement identiques, l'un d'eux présentant des épitopes absents sur l'autre (67, 117).

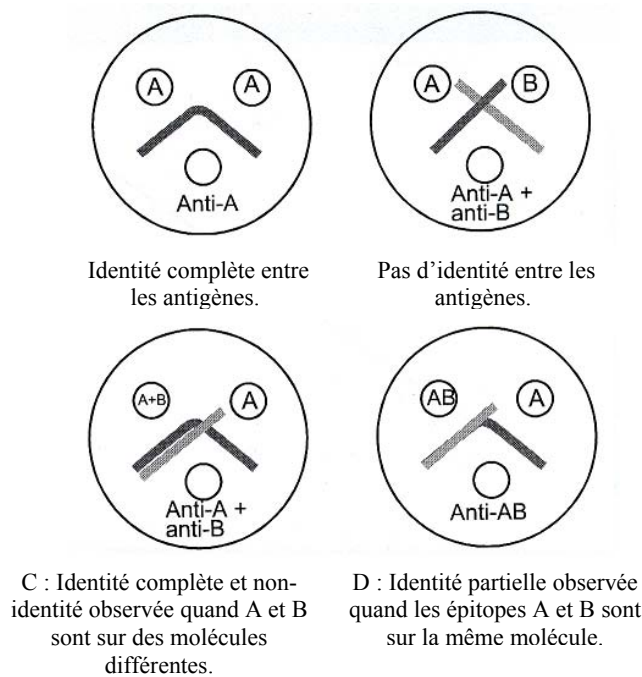


Figure 36 : Principe d'utilisation de la technique de diffusion sur gel pour déterminer la relation entre deux antigènes (d'après 117).

▣ Electrophorèse (19)

L'électrophorèse est une technique très utilisée en laboratoire pour l'analyse des isoenzymes et des protéines du sérum, de l'urine, du liquide céphalo-rachidien et autres liquides biologiques. A pH alcalin, les protéines se chargent négativement et migrent en direction de l'anode (+) à des vitesses différentes en fonction de leur charge nette globale, de leur forme et du support utilisé. Après migration, un colorant est fixé sur les protéines.

* L'électrophorèse simple

Les protéines sont déposées sur un gel à pH voisin de 9 et sont séparés essentiellement en fonction de leur charge. Dans le sérum par exemple, on obtient cinq fraction : l'albumine, qui

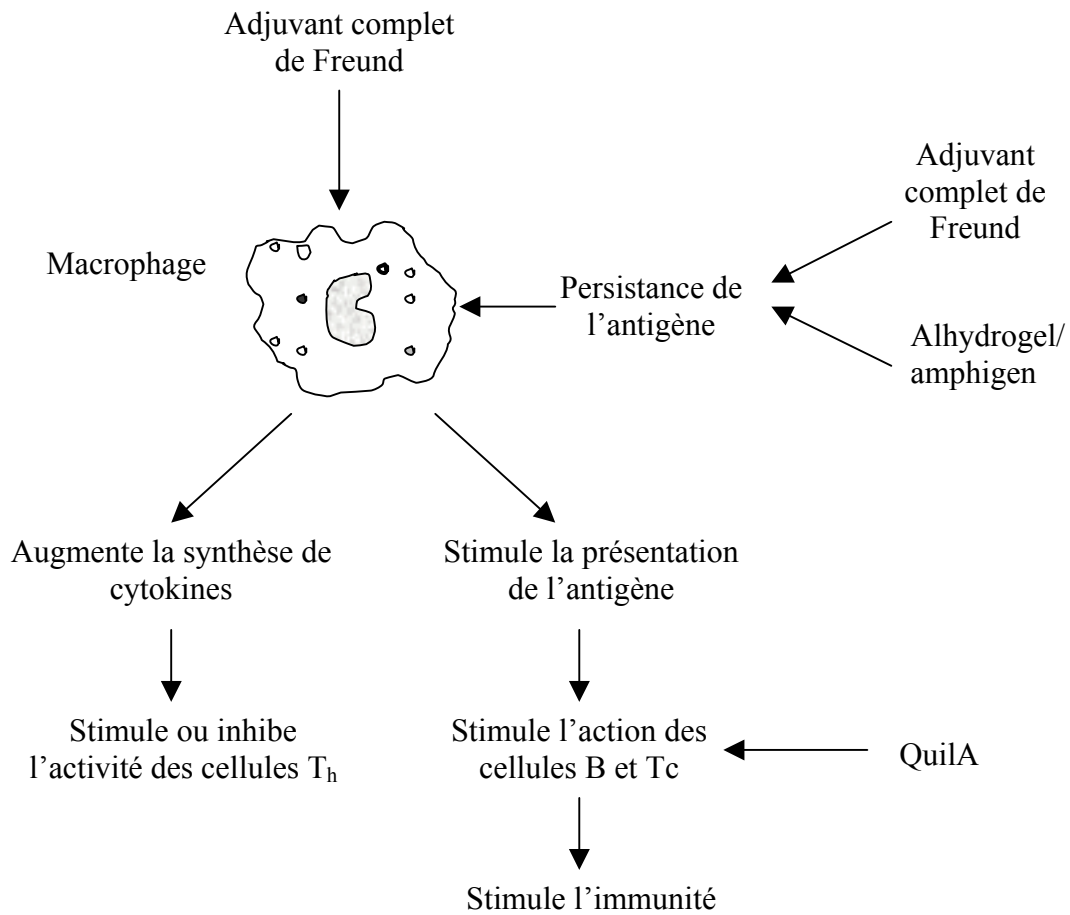
migre le plus, puis les α_1 , α_2 , β et γ globulines. Les principaux supports utilisés sont l'acétate de cellulose et de plus en plus l'agarose. La coloration est effectuée au rouge ponceau, à l'amidoschwarz ou au bleu de Coumassie, et l'analyse est effectuée par densitométrie.

* *Electrophorèse et tamisage moléculaire*

C'est la technique PAGE (polyacrylamide gel electrophoresis) qui se pratique sur gel de polyacrylamide (obtenu par polymérisation d'acrylamide et de N,N'-méthylènebisacrylamide dans un tampon). Selon la proportion de polyacrylamide formé (entre 3 et 15 % en général) on obtient un réseau de mailles plus ou moins grandes qui retardent les protéines de masse moléculaire élevée. Les protéines sont donc séparées en fonction de leur charge et de leur taille.

La technique SDS-PAGE est une électrophorèse sur gel de polyacrylamide qui se pratique après traitement du milieu au dodécyl sulfate de sodium (SDS).

Annexe 4 : Mode d'action des adjuvants de l'immunité employés dans les essais vaccinaux contre *P.ovis* (d'après 117)



Annexe 5 : Caractéristiques des adjuvants employés dans les essais vaccinaux contre *P.ovis* et modes d'action

(d'après 83 et 117)

Adjuvants	Type d'adjuvant	Voie(s) d'injection possible(s)	Type de réponse induite	Effets secondaires possibles	Mode d'action
Hydroxyde d'aluminium	Emulsion eau dans huile	Parentérale	- Anticorps : surtout IgG1 (quelques IgE) - Lymphocytes Th2 (sécréteurs d'IL-5) - Pas de cytotoxicité cellulaire	En général peu sévères, HS de contact, érythème, inflammation granulomateuse	Forme un dépôt d'antigènes qui seront libérés lentement
Adjuvant complet de Freund	Emulsion eau dans huile + mycobactéries	Parentérale	- Anticorps - Lymphocytes Th1 - Cytotoxicité cellulaire	Abcès, granulome, fièvre, maladie auto-immune, arthrite, action carcinogène possible	Stimule les macrophages et les cellules T
Adjuvant incomplet de Freund	Agent actif de surface	Parentérale	- Anticorps - Lymphocytes Th1 - Cytotoxicité cellulaire	Abcès, granulome, action carcinogène possible	Stimule le traitement de l'antigène par les effecteurs de l'immunité
QuilA	Sels d'aluminium	Orale / Parentérale	- Anticorps locaux/systémiques : IgA, IgG (IgG2a, b) - Cytotoxicité cellulaire	Réactions locales, hémolyse	Forme un dépôt d'antigènes qui seront libérés lentement

