

DEDICACES

A Monsieur le Professeur Jean-Louis FONVIEILLE

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Zoologie – Parasitologie

A Monsieur le Docteur Philippe JACQUIET

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Parasitologie et maladies parasitaires

A Monsieur le Professeur Philippe DORCHIES

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Parasitologie et maladies parasitaires

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Docteur Marc Desquesnes, pour m'avoir accueillie dans son équipe, pour ses conseils et son soutien.

A Messieurs Jean-Louis Fonvieille, Philippe Dorchie et Philippe Jacquiet pour avoir accepté de faire partie du jury de cette thèse.

A toute l'équipe du CIRDES, pour leur bonne humeur et leur gentillesse. Merci notamment à Simon KABORE et Sylla SOULEYMANE pour m'avoir assistée dans mes manipulations, ainsi qu'à Bila CENE, Simon KABORE et Wilfried YONI pour leur difficile travail de dissection des glossines.

A ma mère et à mon père. A mes grands-parents et à toute ma famille. A mon grand-père paternel que je n'aurai pas la chance de voir assister à la présentation de ce travail...

A Alexis, pour tout...

A mes amis nantais : Laurie, Aude, Adel, Sad, Vinciane, Lovely, Jap, Pub, Penet, Pell, Ejack, Géraldine, Pili, Marianne, Christian, Cif, Suzon, Tchoum, Emilie, Alice, LN, Oui-Oui, Gigi, Wesh, Jarno, Vincent ; dans le désordre et en en oubliant (désolée)...

A mes amis de Montpellier : Béa, Max, Druns, Cédric, Bruno, Rémi, Paula, Anne-Flore et tous les autres...

A mes amis de Bobo-Dioulasso : Morgane, Astou, Ruth, Moussa, Noura et Lamia...

A mes amis de Londres : David, Ricardo, Vanessa, Javier, Christina, Raquel, Angela, Albert, Dolors, Patrick, Chris and the others...

SOMMAIRE

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....	8
1. LES TRYPANOSOMOSES ANIMALES AFRICAINES.....	9
1.1. Définition.....	9
1.2. Historique.....	10
1.3. Importance économique.....	10
1.4. Etiologie.....	11
1.5. Transmission.....	11
1.6. Spectre d'hôtes.....	13
1.7. Pathogénie.....	13
1.8. Symptômes et lésions.....	13
1.9. Diagnostic.....	14
1.10. Epidémiologie.....	15
1.11. Contrôle.....	16
1.11.1. Chimiothérapie et chimioprophylaxie.....	16
1.11.2. Bétail trypanotolérant.....	16
1.11.3. Lutte contre le vecteur.....	16
2. ESSAIS D'IMMUNISATION CONTRE LES PARASITES.....	18
2.1. Travaux d'immunisation menés sur les tiques.....	19
2.1.1. Essais d'immunisation à partir de glandes salivaires.....	19
2.1.2. Essais d'immunisation à partir d'autres tissus de tiques.....	20
2.1.3. Mise au point du vaccin contre <i>B. microplus</i>	23
2.1.3.1. Etape 1.....	23
2.1.3.2. Etape 2.....	24
2.1.3.3. Etape 3.....	25
2.1.3.4. Etape 4.....	26
2.1.3.5. Et après ?.....	27
2.2. TRAVAUX D'IMMUNISATION MENES SUR LES INSECTES.....	27
2.2.1. Essais d'immunisation contre les moustiques.....	28
2.2.2. Essais d'immunisation contre les agents de myiases.....	30
2.2.3. Essais d'immunisation contre les poux.....	31
2.2.4. Essais d'immunisation contre les puces.....	31
2.2.5. Essais d'immunisation contre les mouches piqueuses.....	32
2.3. TRAVAUX D'IMMUNISATION MENES SUR <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i>	33
3. CONCLUSION.....	36
PARTIE EXPERIMENTALE.....	37
1. MATERIELS ET METHODES.....	38
1.1. Objectifs.....	38
1.2. Mouches.....	38
1.3. Bovins.....	41
1.4. Vaccins.....	42
1.4.1. Dissection des glossines :.....	42
1.4.2. Préparation des antigènes :.....	42
1.5. Protocole d'immunisation.....	43
1.5.1. Challenge 0 des mouches, J0-J30.....	43
1.5.2. Immunisation des bovins, J35-J65.....	43
1.5.3. Challenges des mouches, J70-J125.....	43
1.5.3.1. J70-J105.....	43
1.5.3.2. J90-J125.....	43

1.6.	<i>Réalisation de serologie elisa</i>	44
1.7.	<i>Méthodes statistiques d'exploitation des résultats</i>	44
1.7.1.	Test de l'écart réduit.....	44
1.7.2.	Test de Student	45
2.	RESULTATS	46
2.1.	<i>Challenge 0</i>	46
2.1.1.	Performances des 19 lots de mouches.....	46
2.1.2.	Elimination de 5 bovins en fonction des performances des lots de mouches 48	
2.1.2.1	Bovin n° 5689	48
2.1.2.2	Bovin n° 5688	48
2.1.2.3	Bovin n° 5697	48
2.1.2.4	Bovin n° 1378	48
2.1.2.5	Bovin n° 1394	48
2.1.3.	Constitution des quatre groupes JJP, IJ, IP et T	48
2.1.3.1	Groupe Témoin :	48
2.1.3.2	Groupe JJP :	49
2.1.3.3	Groupe IJ :	49
2.1.3.4	Groupe IP :	49
2.1.4.	Résultats des différents groupes du challenge 0.....	49
2.1.4.1	Suivi du groupe T0	49
2.1.4.2	Suivi du groupe JJP0	49
2.1.4.3	Suivi du groupe IJ0	49
2.1.4.4	Suivi du groupe IP0.....	50
2.1.4.5	Comparaison des moyennes des groupes du challenge 0.....	50
2.1.5.	Taux de mortalité	51
2.1.5.1	Groupe T0	51
2.1.5.2	Groupe JJP0.....	51
2.1.5.3	Groupe IJ0	52
2.1.5.4	Groupe IP0	52
2.1.5.5	Comparaison des taux de mortalités des groupes du challenge 0	52
2.1.6.	Cumul de ponte	53
2.1.7.	Taux de ponte	53
2.1.8.	Poids des pupes	53
2.2.	<i>Challenge 1</i>	54
2.2.1.	Résultats	54
2.2.1.1	Suivi du groupe T1	54
2.2.1.2	Suivi du groupe JJP1	54
2.2.1.3	Suivi du groupe IJ1	54
2.2.1.4	Suivi du groupe IP1	55
2.2.1.5	Comparaison des moyennes des groupes du challenge 1.....	55
2.2.2.	Taux de mortalité	56
2.2.2.1	Groupe T1	56
2.2.2.2	Groupe JJP1.....	56
2.2.2.3	Groupe IJ1	57
2.2.2.4	Groupe IP1	57
2.2.2.5	Comparaison des taux de mortalités des groupes du challenge 1	58
2.2.3.	Cumul de ponte	59
2.2.3.1	Groupe T1	59
2.2.3.2	Groupe JJP1.....	59
2.2.3.3	Groupe IJ1	60
2.3.1.1	Groupe IP1	60

2.2.3.4	Comparaison des moyennes des cumuls de pontes des groupes du challenge 1.....	61
2.2.4.	Taux de ponte.....	61
2.2.5.	Poids des pupes.....	61
2.3.	<i>Challenge 2</i>	62
2.3.1.	Résultats.....	62
2.3.1.2	Suivi du groupe T2.....	62
2.3.1.3	Suivi du groupe JJP2.....	62
2.3.1.4	Suivi du groupe IJ2.....	62
2.3.1.5	Suivi du groupe IP2.....	63
2.3.1.6	Comparaison des moyennes des groupes du challenge 2.....	63
2.3.2.	Taux de mortalité.....	64
2.3.2.1	Groupe T2.....	64
2.3.2.2	Groupe JJP2.....	64
2.3.2.3	Groupe IJ2.....	65
2.3.2.4	Groupe IP2.....	65
2.3.2.5	Comparaison des taux de mortalités des groupes du challenge 2.....	66
2.3.3.	Cumul de ponte.....	67
2.3.3.1	Groupe T2.....	67
2.3.3.2	Groupe JJP2.....	67
2.3.3.3	Groupe IJ2.....	68
2.3.3.4	Groupe IP2.....	68
2.3.3.5	Comparaison des moyennes des cumuls de ponte des groupes du challenge 2.....	69
2.3.4.	Taux de ponte.....	69
2.3.5.	Poids des pupes.....	69
2.4.	<i>Challenge horizontal</i>	70
2.4.1.	Taux de mortalité à J30.....	70
2.4.1.1	Groupe T.....	70
2.4.1.2	Groupe JJP.....	70
2.4.1.3	Groupe IJ.....	71
2.4.1.4	Groupe IP.....	71
2.4.2.	Cumul de ponte.....	71
2.4.2.1	Groupe T.....	72
2.4.2.2	Groupe JJP.....	72
2.4.2.3	Groupe IJ.....	72
2.4.2.4	Groupe IP.....	73
2.4.3.	Taux de ponte.....	73
2.4.3.1	Groupe T.....	74
2.4.3.2	Groupe JJP.....	74
2.4.3.3	Groupe IJ.....	74
2.4.3.4	Groupe IP.....	75
2.4.4.	Poids des pupes.....	75
2.4.4.1	Groupe T.....	75
2.4.4.2	Groupe JJP.....	76
2.4.4.3	Groupe IJ.....	76
2.4.4.4	Groupe IP.....	76
2.5.	<i>Sérologies ELISA</i>	77
3.	DISCUSSION.....	78
	BIBLIOGRAPHIE	82
	ANNEXES	92

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIG.1	CARTE DE REPARTITION DE LA TRYPANOSOMOSE ANIMALE AFRICAINE	9
FIG.2	EXEMPLE DE CYCLE PARASITAIRE DE TRYPANOSOME.....	12
FIG.3	CYCLE DE TRANSMISSION DE LA TRYPANOSOMOSE ANIMALE AFRICAINE	15
PHOTO 1	CAGE CONTENANT UN LOT DE GLOSSINES.....	38
PHOTO 2	REPAS DE SANG DES MOUCHES	39
PHOTO 3	CAGE SUR PONDOIR.	40
PHOTO 4	RECOLTE DE LA PRODUCTION QUOTIDIENNE DE PUPES.....	40
PHOTO 5	ENREGISTREMENT QUOTIDIEN DE LA MORTALITE	41
PHOTO 6	PESEE DES PUPES.	41
GRAPH. 1	COURBES DE SURVIE DES LOTS DE MOUCHES DU CHALLENGE 0	47
GRAPH. 2	CUMULS DE PONTE DES LOTS DU CHALLENGE 0	47
GRAPH. 3	COURBES DE SURVIE DU GROUPE TEMOIN LORS DU CHALLENGE 0	51
GRAPH. 4	COURBES DE SURVIE DU GROUPE JJP LORS DU CHALLENGE 0	51
GRAPH. 5	COURBES DE SURVIE DU GROUPE IJ LORS DU CHALLENGE 0.....	52
GRAPH. 6	COURBES DE SURVIE DU GROUPE IP LORS DU CHALLENGE 0.....	52
GRAPH. 7	COURBES DE SURVIE DU LOT TEMOIN POUR LE CHALLENGE 1	56
GRAPH. 8	COURBES DE SURVIE DU LOT JJP POUR LE CHALLENGE 1	56
GRAPH. 9	COURBES DE SURVIE DU LOT IJ POUR LE CHALLENGE 1.....	57
GRAPH. 10	COURBES DE SURVIE DU LOT IP POUR LE CHALLENGE 1.....	57
GRAPH. 11	COURBES DES MOYENNES DE SURVIE DES DIFFERENTS GROUPES DU CHALLENGE 1	58
GRAPH. 12	CUMUL DE PONTE DU GROUPE TEMOIN, LORS DU CHALLENGE 1.....	59
GRAPH. 13	CUMUL DE PONTE DU GROUPE JJP, LORS DU CHALLENGE 1.....	59
GRAPH. 14	CUMUL DE PONTE DU GROUPE IJ, LORS DU CHALLENGE 1	60
GRAPH. 15	CUMUL DE PONTE DU GROUPE IP, LORS DU CHALLENGE 1	60
GRAPH. 16	MOYENNES DES CUMULS DE PONTE DES DIFFERENTS GROUPES DU CHALLENGE 1	61
GRAPH. 17	COURBES DE SURVIE DU GROUPE TEMOIN LORS DU CHALLENGE 2	64
GRAPH. 18	COURBES DE SURVIE DU GROUPE JJP LORS DU CHALLENGE 2	64
GRAPH. 19	COURBES DE SURVIE DU GROUPE IJ LORS DU CHALLENGE 2.....	65
GRAPH. 20	COURBES DE SURVIE DU GROUPE IP LORS DU CHALLENGE 2	65
GRAPH. 21	COURBES MOYENNES DE SURVIE DES DIFFERENTS GROUPES DU CHALLENGE 2 66	66
GRAPH. 22	CUMUL DE PONTE DU GROUPE TEMOIN POUR LE CHALLENGE 2.....	67
GRAPH. 23	CUMUL DE PONTE DU GROUPE JJP POUR LE CHALLENGE 2.....	67
GRAPH. 24	CUMUL DE PONTE DU GROUPE IJ POUR LE CHALLENGE 2	68
GRAPH. 25	CUMUL DE PONTE DU GROUPE IP POUR LE CHALLENGE 2.....	68
GRAPH. 26	MOYENNES DE CUMULS DE PONTE DES DIFFERENTS GROUPES DU CHALLENGE 2 69	69
GRAPH. 27	MOYENNES DES TAUX DE MORTALITES DES DIFFERENTS GROUPES AU COURS DES CHALLENGES 0, 1 ET 2	70
GRAPH. 28	MOYENNES DES CUMULS DE PONTE DES DIFFERENTS GROUPES AU COURS DES CHALLENGES 0, 1 ET 2	71
GRAPH. 29	MOYENNES DES TAUX DE PONTE DES DIFFERENTS GROUPES AU COURS DES CHALLENGES 0, 1 ET 2	73
GRAPH. 30	MOYENNES DES POIDS DES PUPES DES DIFFERENTS GROUPES AU COURS DES CHALLENGES 0, 1 ET 2	75
GRAPH. 31	PROFILS DES REPONSES EN ANTICORPS ANTI-FRACTION IP DES 14 BOVINS	77

Les trypanosomoses animales africaines sont des maladies parasitaires dues à des protozoaires flagellés du genre *Trypanosoma*, parasites du sang.

La transmission du parasite à l'hôte définitif est assurée en général par un insecte hématophage, suite à un cycle plus ou moins complexe. En Afrique tropicale, les vecteurs principaux des trypanosomoses sont les glossines.

Les trypanosomoses touchent de nombreux mammifères, dont le bétail.

Les conséquences médicales et économiques de ces maladies sont particulièrement importantes. Les glossines constituent un facteur limitant de l'élevage en Afrique tropicale, dans des zones offrant pourtant un fort potentiel fourrager.

Le contrôle des trypanosomoses permettrait d'augmenter de manière conséquente les productions animales dans ces zones et de faire face au besoin alimentaire croissant en Afrique.

Actuellement, la stratégie privilégiée dans la lutte contre les trypanosomoses animales est d'associer le contrôle des vecteurs à une gestion raisonnée de la maladie. Dans ce cadre, les insecticides et les trypanocides restent à ce jour les moyens de lutte les plus utilisés.

Cependant, plusieurs arguments poussent les chercheurs à développer de nouvelles méthodes de lutte, non chimiques.

En premier lieu, l'association de différentes méthodes de lutte est a priori la garantie d'une plus grande efficacité.

Ensuite, le risque d'apparition de résistance des mouches tsé-tsé aux insecticides nécessite le développement de méthodes de lutte alternatives.

Enfin, les problèmes de rémanence de ces produits chimiques dans l'environnement ainsi que la présence de résidus dans les produits alimentaires d'origine animale sont de plus en plus pris en compte.

Parmi les techniques de lutte non chimiques, les possibilités d'exploiter les réponses immunologiques de l'hôte représentent un potentiel prometteur.

Des travaux de recherche sur le développement de vaccins contre les parasites doivent être menés. L'avancée de ces expérimentations dans d'autres modèles animaux permet d'espérer le succès d'une telle démarche.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1. LES TRYPANOSOMOSES ANIMALES AFRICAINES

1.1.DEFINITION

La trypanosomose animale africaine est une maladie parasitaire due à des protozoaires flagellés de la famille des Trypanosomatidés et du genre *Trypanosoma*. Les trypanosomes sont des parasites du sang, de la lymphe ou de divers tissus.

Ces trypanosomoses sont des maladies infectieuses inoculables, non contagieuses. Elles sont transmises par des vecteurs, principalement les glossines en Afrique. Elles peuvent se présenter sous forme chronique (cas le plus fréquent chez le bétail) ou aiguë, et leur issue peut être fatale en l'absence de thérapeutique. Elles sont appelées Nagana chez le bétail africain.

La trypanosomose animale africaine sévit en Afrique sub-saharienne, où elle est responsable d'importantes pertes économiques. Son aire de répartition correspond à celle des glossines.

Fig.1 carte de répartition de la trypanosomose animale africaine



La trypanosomose animale africaine est présente en Afrique sub-saharienne et centrale, où les glossines tiennent le rôle de vecteur biologique (CIRDES).

1.2.HISTORIQUE

Les trypanosomoses constituent un fléau majeur en zone tropicale, et ceci depuis très longtemps.

Des écrits anciens d'Ibn Khaldoun (1374-1375), concernant l'Empire du Mali, relatent des cas fatals de maladie du sommeil dans la cour du Sultan Mari Djata II.

Entre le XV^{ème} et le XIX^{ème} siècles, de nombreuses conquêtes et expéditions en zone humide sont freinées ou échouent, les chevaux des explorateurs succombant aux trypanosomoses transmises par les glossines présentes dans ces régions.

Il faut cependant attendre le XIX^{ème} siècle pour que les parasites responsables de cette maladie ainsi que le rôle de vecteur des glossines soient découverts.

La première glossine (*Glossina longipalpis*), récoltée en Sierra Leone, est décrite en 1830 par Christian Rudolph W. Wiedemann.

En 1880, Griffith Evans, officier vétérinaire de l'Armée des Indes, met en évidence *T. evansi* chez les chevaux et les chameaux du Pendjab.

En 1894, David Bruce, chirurgien major de l'Armée britannique, identifie *T. brucei* à la fois dans l'intestin des glossines et dans le sang des bovins malades et met ainsi en évidence le rôle de vecteur des glossines.

En 1908, le cycle détaillé du trypanosome chez la glossine est décrit par Roubaud.

A partir de 1916, le docteur Jamot développe des méthodes de lutte contre la maladie du sommeil.

1.3.IMPORTANCE ECONOMIQUE

La trypanosomose du bétail africain constitue une importante contrainte économique. En effet, sur les 8,7 millions de km² infestés par glossines, au moins 48 millions de bovins sont exposés au risque trypanosomien, ainsi que des millions d'ovins, de caprins et d'équins. Dans les zones à glossines, la densité des bovins est de 8,9/ km², alors qu'elle est de 14,4 bovins/ km² dans les zones non infestées.

Environ 35 millions de traitements curatifs ou préventifs sont administrés chaque année. Cela correspond au traitement de 38% des animaux à risque, et représente un coût approximatif de 35 millions de dollars US.

En plus des traitements, il faut ajouter les autres conséquences de la maladie sur les systèmes de production : morbidité et mortalité, réduction de la fertilité, baisse de l'efficacité alimentaire, diminution du pouvoir de traction, réduction des productions de lait et de viande...

Les trypanosomoses animales réduisent considérablement le nombre de têtes de bétail : de 37% en zone subhumide à 70% en zone humide. La production de viande est réduite de 5 à 30%, la production laitière de 10 à 40%. Le coût de ces pertes est estimé à 1338 millions de dollars US. La production de travail pour les bœufs de trait est réduite de 33%. Les pertes dues à la morbidité (amaigrissement, baisse des performances de reproduction, aggravation des maladies intercurrentes...) sont plus difficiles à évaluer. La production agricole totale serait réduite de 2 à 10% en zone à risque.

Un modèle permettant d'évaluer les bénéfices potentiels de la lutte contre les glossines a été développé récemment (Kristjanson et al., 1999).

L'impact d'un contrôle partiel de la maladie a été modélisé sur une période de 10 ans et montre que les bénéfices seraient nombreux. La prévalence serait diminuée de 25% et le

nombre de traitements nécessaires serait également considérablement réduit. On observerait par ailleurs une réduction de la mortalité des veaux et une augmentation du poids des carcasses. Les coûts de production seraient réduits et les productions de lait et de viande seraient améliorées de 50% sur 10 ans. En tout, les gains potentiels ont été estimés à 702 millions de dollars US annuels.

La maîtrise de ce fléau permettrait ainsi de mieux exploiter près de 9 millions de kilomètres carrés offrant de fortes potentialités fourragères, et d'élever 33 à 95 millions de bovins supplémentaires pour faire face à l'augmentation rapide des besoins alimentaires de la population africaine.

1.4. ETIOLOGIE

Trois espèces de trypanosomes sont responsables de la trypanosomose animale africaine : *T. congolense*, *T. vivax* et *T. brucei*. En Afrique, ces trois parasites sont transmis aux mammifères essentiellement par les glossines.

T. congolense appartient au sous-genre *Nannomonas*. C'est sans doute l'espèce la plus pathogène. Elle est l'agent quasi-unique du Nagana en Afrique de l'Est, et est une cause majeure de la maladie des bovins en Afrique de l'Ouest.

Le sous-genre *Duttonella* comprend *T. vivax*. Ce trypanosome est réputé moins pathogène que *T. congolense*, il n'en n'est pas moins le principal agent du Nagana chez le bétail de l'Afrique de l'Ouest. De plus, il peut être transmis mécaniquement, et est donc présent dans d'autres zones que l'aire de répartition des glossines.

T. brucei brucei appartient quant à lui au sous-genre *Trypanozoon*. Ce parasite très polymorphe est relativement peu pathogène : chez les bovins, les ovins et les caprins, il est à l'origine de formes chroniques ou sub-cliniques.

1.5. TRANSMISSION

Comme nous l'avons évoqué ci-dessus, les glossines sont les principaux vecteurs de la trypanosomose animale africaine. Cependant, seul un petit groupe d'espèces assure la majeure partie de la transmission aux animaux.

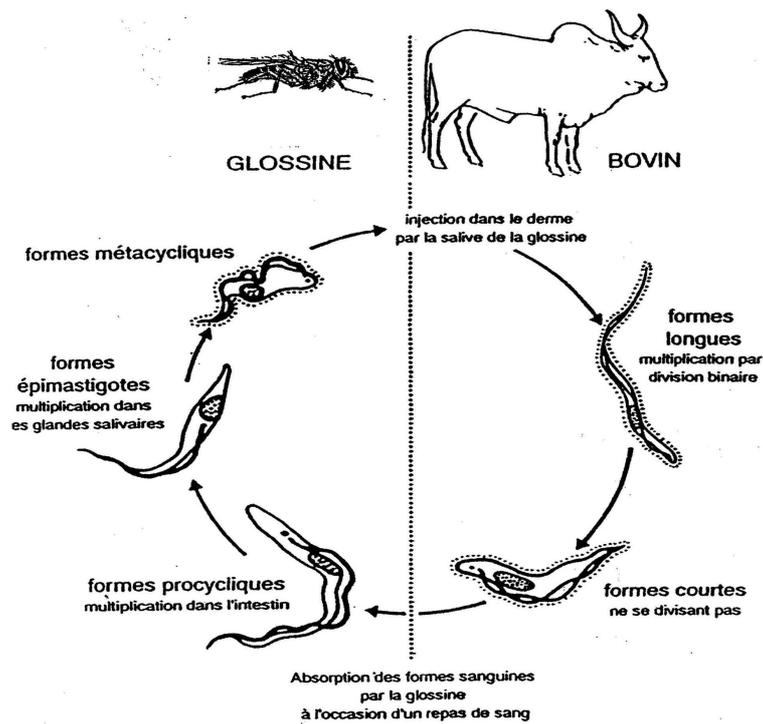
Les glossines de savane du groupe *Glossina morsitans* sont des vecteurs majeurs des trypanosomoses du bétail.

Le groupe *palpalis* comprend des glossines de galeries forestières et d'habitat péri-domestique. Ces glossines sont de plus en plus impliquées dans la transmission des trypanosomoses animales.

Les glossines du groupe *fusca* rassemble des espèces de forêt, en régression à cause de l'anthropisation de ces zones. Ces glossines ont rarement un rôle important dans la transmission du Nagana.

Les glossines, ou mouches tsé-tsé, sont des vecteurs biologiques. Les parasites accomplissent un cycle plus ou moins complexe dans l'organisme des glossines avant d'être à nouveau transmis à un mammifère, lors d'un repas de sang.

Fig.2 Exemple de cycle parasitaire de trypanosome



Cycle parasitaire de *Trypanosoma brucei* (E. Authié, 1993)

Dans la glossine, les trypanosomes vont se multiplier et subir différentes transformations permettant d'aboutir à des formes infectantes. Ces dernières sont présentes dans la salive et transmises aux hôtes définitifs lorsque les glossines prennent leur repas de sang.

Pour *T. congolense*, ce cycle chez la glossine dure une quinzaine de jours. Les trypanosomes sont absorbés au cours d'un repas de sang. Ils passent dans le canal alimentaire, le pharynx, l'œsophage et le jabot. La vidange jabot permet aux parasites d'accéder à l'intestin, où un certain nombre de transformations et de multiplications s'opèrent dans l'espace endopéritrophique. Les trypanosomes transitent ensuite dans l'oesophage, le pharynx puis le canal alimentaire. Une autre transformation morphologique des parasites a lieu alors que ceux-ci sont fixés sur les parois du labre. Enfin, les parasites pénètrent l'hypopharynx où ils se transforment en métatrypanosomes infectants.

La totalité du cycle de développement de *T. vivax* a lieu dans le proboscis de la glossine, et dure en moyenne 10 jours. Les parasites se multiplient dans le labre puis transitent dans l'hypopharynx où ils se transforment en formes infectantes.

T. brucei possède le cycle de développement le plus complexe, d'une durée moyenne de 30 jours. Les trypanosomes absorbés par la glossine passent par le canal alimentaire, le pharynx, l'œsophage et le jabot avant de rejoindre l'intestin. Les trypanosomes migrent dans l'espace ectopéritrophique de l'intestin moyen pour y subir une série de transformations et de multiplications. Ils vont ensuite dans l'intestin antérieur et le proboscis où ils prennent une autre forme morphologique, puis colonisent les glandes salivaires où ils évoluent en formes infectantes.

1.6.SPECTRE D'HOTES

De nombreuses espèces animales sont sensibles à la trypanosomose animale africaine. Bovins, caprins, ovins, porcs, équins, camélidés, chiens et chats ainsi que singes sont sensibles et présentent des syndromes aigus à chroniques.

Plus de trente espèces d'animaux sauvages peuvent être infectés et rester porteurs des trypanosomes.

1.7.PATHOGENIE

Les trypanosomes sont injectés dans la peau du mammifère lors du repas de sang de la glossine. Une phase de réplication initiale a lieu au site d'introduction, qui évolue en chancre d'inoculation d'aspect furonculoïde.

Les parasites envahissent ensuite les systèmes sanguin et lymphatique, où d'autres réplifications se produisent. Les phases de multiplication dans le sang se traduisent par des périodes d'hyperthermie et une évolution de la parasitémie. La colonisation des nœuds lymphatiques est à l'origine d'une hypertrophie ganglionnaire.

Des anticorps dirigés contre manteau antigénique des trypanosomes permettent d'éliminer une partie des parasites. Il se forme des immuns complexes, probablement responsables d'une partie des lésions observées lors de trypanosomose animale africaine.

Le phénomène de variation antigénique des antigènes de surface des trypanosomes leur permet d'échapper au système immunitaire de l'hôte. Ceci conduit à une infection persistante avec vagues successives : réplication des trypanosomes, production d'anticorps, formation de complexes antigènes-anticorps, changement des antigènes de surface des parasites et échappement au système immunitaire.

Les parasites peuvent aussi passer la barrière méningée et gagner le liquide céphalorachidien. Cette colonisation se traduit alors par des signes d'encéphalomyélite.

1.8.SYMPTOMES ET LESIONS

De nombreux symptômes peuvent apparaître au cours de la trypanosomose animale africaine, mais aucun d'entre eux n'est pathognomonique. Leur association et leur séquence peut varier, et nous allons décrire ci-dessous les principaux d'entre eux.

Après une incubation variant de une à quelques semaines, une première phase de la trypanosomose se manifeste par les symptômes suivants. Une fièvre intermittente et une anémie sont présentes de manière invariable. Un amaigrissement rapide, des oedèmes des parties déclives du thorax et de l'abdomen et un abattement sont également observés de manière constante. Une splénomégalie et une polyadénite sont fréquemment retrouvées.

Des avortements et un tarissement de la production laitière peuvent avoir des conséquences importantes pour les propriétaires des animaux atteints.

D'autres symptômes correspondent à la seconde phase de la maladie, lorsque les parasites sont localisés dans le liquide céphalorachidien : prostration, pica, larmoiement, ataxie ou parésie locomotrice, somnolence.

Les animaux évoluent vers la cachexie, le décubitus puis la mort.

Différentes formes de la maladie sont rencontrées. La forme suraiguë provoque la mort de l'animal en une semaine. La forme aiguë évolue sous forme d'accès de 3 à 6 jours séparés par des périodes de rémission d'une semaine, et son issue est fatale en deux mois. La forme chronique se traduit par des accès légers, de longues périodes de rémission et une issue fatale en quelques mois.

La sévérité de la maladie dépend de l'espèce et de la race des mammifères, ainsi que de la virulence de la souche de trypanosome et de la dose inoculée. La condition des animaux joue aussi un rôle important, tout stress rendant les animaux plus sensibles.

L'immunodépression provoquée par la trypanosomose animale africaine rend par ailleurs les animaux plus sensibles à d'autres infections. On assiste alors à une complication du tableau clinique des animaux malades.

Les lésions de la trypanosomose sont inconstantes et peu spécifiques, essentiellement liées aux troubles du compartiment sanguin. Des lésions de type inflammatoire, accompagnées de dégénérescence et de nécrose, peuvent être observées dans les organes profonds.

L'anémie est due d'une part à une érythrophagocytose par les macrophages, et d'autre part à une hémolyse par les métabolites des trypanosomes ou par des immuns-complexes. Les lésions vasculaires provoquent des foyers de nécrose touchant les artérioles, ainsi que des oedèmes déclives. Du fait d'un défaut de vascularisation, le pelage des animaux malades est souvent en mauvais état. Dans les formes chroniques, des myocardites congestives, parfois associées à de l'hydropériardite, peuvent être observées.

L'hypertrophie des nœuds lymphatiques s'accompagne parfois de pétéchies sous-capsulaires.

L'atrophie de la masse graisseuse peut être très importante.

Les poumons, la rate, le foie, les reins et même d'autres organes peuvent présenter des lésions de congestion et d'hypertrophie. Certaines de ces lésions évoluent vers l'atrophie lors de formes chroniques.

1.9.DIAGNOSTIC

Le diagnostic de la trypanosomose animale africaine peut se faire de différentes manières.

Le diagnostic clinique de la maladie est très difficile, en raison de l'absence de signes pathognomoniques. Dans une zone endémique, une anémie associée à un mauvais état général constitue une forte suspicion, qui doit ensuite être confirmée par une des techniques citées ci-après.

Le diagnostic parasitologique a longtemps été le seul possible. Des méthodes d'observation directe peuvent être utilisées, surtout lors des phases précoces de la maladie. L'examen du sang à l'état frais, un frottis sanguin suivi d'une coloration, ou l'examen d'une goutte épaisse permettent ainsi de mettre en évidence les parasites dans le sang. Les méthodes de centrifugation en tubes à hématocrite permettent quant à elles de concentrer les parasites et sont donc plus sensibles. Ces méthodes sont peu chères et facilement utilisables sur le terrain.

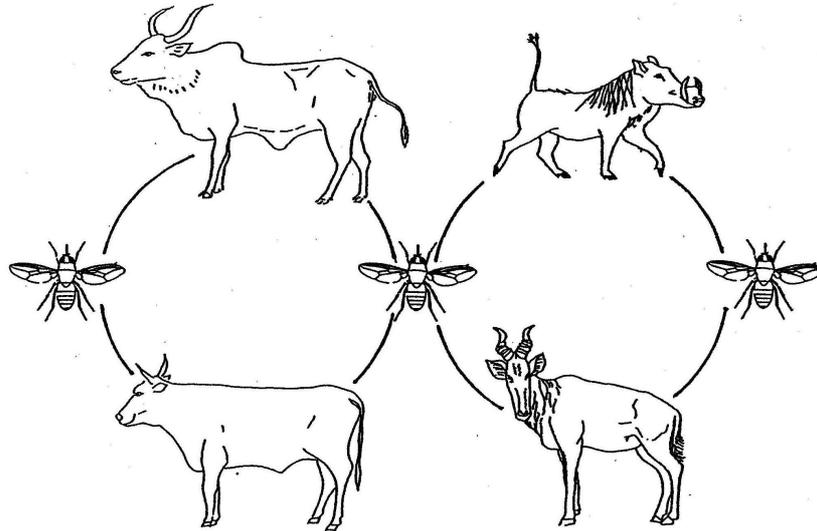
Plus récemment, des techniques séro-immunologiques ont été mises au point. Des méthodes ELISA, d'immunofluorescence indirecte, ou des tests d'agglutination sur carte (CATT) peuvent désormais être utilisés. Le principal inconvénient est de savoir si les anticorps détectés sont ceux d'un animal malade, ou ceux d'un animal qui a juste été en contact avec des trypanosomes.

Enfin, un diagnostic moléculaire est désormais possible. L'utilisation de la PCR, ou de sondes ADN, permettent de détecter les antigènes des trypanosomes. Ces méthodes sont cependant chères et inutilisables pour le diagnostic de terrain.

1.10. EPIDEMIOLOGIE

Chez les animaux, les cycles de transmission de la trypanosomose africaine sont variés. Il existe un cycle domestique (bétail–glossine–bétail), un cycle sauvage (faune–glossine–faune), et un cycle intermédiaire (faune–glossine–bétail).

Fig.3 Cycle de transmission de la trypanosomose animale africaine



Cycles de *T. vivax*, *T. congolense* et *T. b. brucei* (D.Cuisance)

De manière générale, le Nagana évolue sous forme d'enzootie diffuse. Des épizooties apparaissent parfois, lors de périodes de stress des hôtes, ou lors de fortes densités de glossines.

L'épidémiologie de la trypanosomose animale africaine est compliquée par le fait que la maladie implique régulièrement la faune de mammifères sauvages. Cette faune constitue un réservoir immense et incontrôlable des trois principaux trypanosomes. A l'heure actuelle, la faune est en régression dramatique dans toute l'Afrique, ce qui a plusieurs conséquences.

Les parcs et réserves naturelles sont devenus des zones très sensibles en raison des fortes populations de glossines et de trypanosomes qu'elles entretiennent, et car il est difficile d'y intervenir lors des campagnes de lutte du fait de la nécessité de protéger ce précieux patrimoine.

Par ailleurs, du fait de la disparition des animaux sauvages, les glossines réorientent dans certaines situations leurs préférences trophiques vers le bétail et les hommes. Cette adaptation peut engendrer de fortes populations de glossines en zone péri-domestique.

Les bouleversements de l'occupation des sols ont eux aussi eu d'importantes conséquences sur l'épidémiologie des trypanosomoses. L'accroissement démographique de la population africaine, les déplacements massifs de populations ou encore la sécheresse font que des régions entières se vident ou sont habitées très rapidement. Ces mouvements de population modifient la nature des contacts entre l'homme, le bétail et les vecteurs. La distribution des vecteurs change elle aussi, les glossines du groupe *palpalis* s'adaptant bien aux situations péri-domestiques, tandis que les glossines des groupes *morsitans* et *fusca* ont tendance à régresser avec l'occupation humaine.

L'épidémiologie complexe de la trypanosomose animale africaine a une forte influence sur les possibilités de méthodes de lutte, comme nous allons le voir maintenant.

1.11. CONTROLE

Dans le cas de la trypanosomose animale africaine, nous venons de voir que le réservoir domestique et sauvage est immense et incontrôlable. La stratégie de lutte est donc basée sur une action sur le vecteur, associée à une chimiothérapie à la demande et à une chimioprophylaxie du bétail, ainsi qu'à l'élevage de bétail trypanotolérant.

Une méthode ne peut à elle seule garantir une lutte efficace. Il s'agit d'utiliser conjointement plusieurs techniques, en essayant d'adapter cette association à chaque situation. Le choix d'un programme de lutte est difficile et doit prendre en compte de nombreux facteurs, dont entre autres les espèces de glossines impliquées et leur répartition, les conditions bioclimatiques et le type de végétation, aussi bien que la motivation et la capacité de financement des populations.

Dans cette optique, les scientifiques s'orientent vers la lutte intégrée, qui met en œuvre un ensemble de méthodes et techniques de lutte satisfaisant aux exigences à la fois économiques, écologiques et toxicologiques, en réservant la priorité aux éléments naturels de limitation des populations et en respectant les seuils de tolérance.

1.11.1. Chimiothérapie et chimioprophylaxie

L'utilisation de médicaments trypanocides et trypanopréventifs est largement répandu.

Parmi eux, le plus utilisé est sans doute l'isométymidium (Trypamidium®). Cette molécule a une action curative et préventive et est relativement bon marché. Cependant, le développement de résistances à ce médicament a déjà été observé en Afrique de l'Ouest comme en Afrique de l'Est. Le bromure d'homidium (Ethidium®) est une autre molécule à bonne activité préventive et curative.

D'autres molécules ont prouvé leur efficacité curative, comme le diminazène (Bérénil®) ou la mélarsomine (Cymélarsan®).

Bien que d'usage largement répandu, ces médicaments sont chers et ne doivent pas constituer l'élément essentiel de la lutte contre la trypanosomose animale africaine.

De plus, les chimioprophylaxie et -thérapie sont rendues délicates en raison du peu de produits chimiques disponibles et de l'apparition de résistances des parasites. Cette constatation doit encourager la mise en application de méthodes de lutte alternatives.

1.11.2. Bétail trypanotolérant

Certaines races d'animaux peuvent survivre, se développer et produire en milieu infesté de glossines. Elles sont dites trypanotolérantes. Certains caractères génétiques confèrent à ces animaux l'aptitude à contrôler la parasitémie, à contrôler l'anémie, à développer une réponse immunitaire efficace et à s'adapter au milieu.

Parmi les différentes races bovines africaines, les taurins de race N'dama, Baoulé, Muturu ou Lagune sont trypanotolérants. D'autres animaux domestiques comme la chèvre naine du Sénégal ou les moutons Djallonké présentent également ce caractère.

L'élevage de telles races permet donc de lutter contre le Nagana et de limiter les pertes économiques des producteurs. Cependant, ces animaux peuvent constituer des réservoirs de trypanosomes et menacer le bétail trypanosensible élevé à proximité.

1.11.3. Lutte contre le vecteur

Beaucoup de travaux ont été menés dans le cadre de la lutte contre les mouches tsé-tsé. Les opérations de contrôle sont désormais très structurées, et des enquêtes sont menées avant

de mettre en place les campagnes de lutte. Les efforts sont dirigés sur les régions à fortes potentialités de développement, et où la contrainte trypanosomienne est importante. De nouveaux outils, utilisant notamment des analyses spatiales, facilitent l'identification des zones prioritaires d'intervention (Robinson et al., 1998).

Les méthodes de pulvérisation chimiques ont longtemps été utilisées, à plus ou moins grande échelle. Les applications d'insecticide par voie terrestre, par avion ou par hélicoptère sont efficaces mais chères, et nécessitent une grande organisation. De plus, la communauté scientifique et l'opinion publique s'inquiètent de plus en plus de la pollution causée par ces traitements chimiques. La rémanence des produits dans l'environnement, la destruction d'une partie de la faune sauvage et la présence de résidus dans les produits alimentaires d'origine animale constituent des préoccupations importantes, du moins dans les pays développés. Parallèlement, la réglementation relative au développement et à l'utilisation d'insecticides s'est durcie et freine la mise sur le marché de nouveaux produits.

Des progrès certains ont été réalisés en matière de lutte contre le vecteur. Bien qu'actuellement les insecticides restent les moyens de luttés les plus utilisés, d'autres techniques ont été développées ou sont en cours d'expérimentation. Ces méthodes ont pour but d'empêcher le développement des glossines par action directe ou indirecte sur leur natalité ou leur mortalité.

La lutte mécanique est basée sur l'utilisation de pièges à glossines (Cuisance, 1989). De nombreux modèles de pièges ont été développés, les plus récents étant adaptés aux facteurs attractifs visuels et olfactifs des glossines. Ces pièges sont placés dans des zones infestées par les glossines et permettent de diminuer les densités de vecteurs de manière importante (jusqu'à plus de 95%). C'est une méthode simple et efficace mais qui nécessite un important travail de sensibilisation auprès de la population, chargée d'entretenir ces pièges.

Une méthode alternative utilise des écrans ou du bétail imprégnés avec des pyréthriinoïdes, dont l'action immédiate tue les glossines qui entrent en contact avec le produit.

La lutte écologique a pour principe de modifier le biotope des glossines afin d'en réduire la population. Il s'agit d'éclaircir la végétation, aménager les cultures, assécher les zones de marécages, construire des barrages, etc.

Les méthodes de lutte biologique sont encore au stade expérimental. Des prédateurs tels que des fourmis, des oiseaux, des araignées ou des guêpes pourraient être exploités. L'élimination des glossines par des champignons (*Metarhizium anisopliae*), des parasites (guêpes *Nesolynx* spp) ou des virus est testée en laboratoire, mais aucune étude sur le terrain n'a encore été envisagée. Des régulateurs de croissance tels que le triflumuron ou le diflubenzuron peuvent être associés à l'usage de pièges pour réduire les populations de vecteurs. Les essais sur le terrain ont donné des résultats encourageants.

La lutte génétique par lâchers de mâles stériles a également été testée sur le terrain. La méthode est sélective mais nécessite des élevages de masse de glossines, dont les mâles sont irradiés avant d'être lâchés.

Enfin, les méthodes exploitant les réponses immunologiques de l'hôte, comme les vaccins anti-parasite ou anti-maladie, en sont encore à leurs prémices alors qu'elles sont prometteuses. Il est en effet tentant d'appliquer le principe d'immunisation des mammifères contre les arthropodes à la lutte contre les trypanosomoses. La vaccination du bétail contre les glossines, principaux vecteurs des trypanosomoses en Afrique tropicale, permettrait indirectement, et en association avec d'autres techniques de lutte, de diminuer la prévalence du Nagana. Les travaux à entreprendre dans ce domaine doivent s'inspirer de ce qui a déjà été réalisé avec d'autres systèmes hôtes-parasites, et que nous allons évoquer à présent.

2. ESSAIS D'IMMUNISATION CONTRE LES PARASITES

Les méthodes immunologiques de lutte contre les vecteurs sont séduisantes.

L'emploi d'un vaccin anti-parasite a deux effets complémentaires. Il permet tout d'abord de diminuer les effets directs liés à l'infestation par le parasite. De plus, la transmission des maladies dont le parasite est le vecteur est enrayée par le maintien de la population de vecteurs à un seuil insuffisant pour assurer cette transmission de manière efficace.

Un vaccin anti-arthropode présente de nombreux avantages.

C'est une méthode alternative à l'emploi des insecticides ne présentant pas de risque pour l'environnement, et évitant la présence de résidus dans les produits alimentaires. La spécificité des espèces ciblées par un tel vaccin est également un bon atout, tout comme le risque limité de voir apparaître des résistances. Sa durée d'action potentielle est longue, son coût de fabrication ainsi que sa facilité d'administration sont des aspects importants à considérer en vue de la commercialisation d'un tel produit.

Le but d'un vaccin anti-parasite est de diriger la réponse immunitaire de l'hôte contre des antigènes parasitaires. Il existe deux sources potentielles d'antigènes vaccinaux : les antigènes conventionnels et les antigènes cachés.

Dans le premier cas, la cible est un antigène naturellement exposé aux effecteurs du système immunitaire de l'hôte, et il s'agit de mimer la réponse immunitaire intervenant lors d'une infestation parasitaire. Mais du fait des capacités d'adaptation des parasites à la réponse immunitaire de l'hôte, il se peut que cette réponse reste insuffisante.

La deuxième solution est de diriger la réponse immunitaire contre un antigène qui n'intervient normalement pas dans la réponse immunitaire, et qui correspond à une fonction physiologique importante. Dans le cas des parasites hématophages, les effecteurs du système immunitaire de l'hôte sont absorbés lors du repas sanguin et peuvent agir sur l'organisme du parasite. Les perturbations engendrées doivent avoir des conséquences suffisamment délétères pour qu'une telle approche soit possible.

L'évaluation du potentiel vaccinal des antigènes peut être réalisée grâce au suivi de la mortalité et des performances de reproduction des parasites, et éventuellement par l'observation d'effets délétères directs sur leurs tissus.

L'identification d'un antigène vaccinal efficace est le point de départ de la mise au point de ce type de vaccin. Les travaux menés par différentes équipes de recherche sur des parasites variés en sont à des stades très différents.

Les recherches les plus abouties à l'heure actuelle concernent les tiques. Les travaux indépendants des équipes de Davidson, Johnston, Kemp et Willadsen d'une part, et Rodriguez, de la Fuente et Garcia-Garcia d'autre part a permis la commercialisation de vaccins contre *Boophilus microplus*, basés sur un antigène du tube digestif de la tique.

Les essais réalisés chez les insectes se sont révélés moins fructueux, ce qui ne signifie pas pour autant qu'il n'y ait pas d'espoir de vaccin pour eux. Les essais de mise au point d'un vaccin dirigé contre *Lucilia cuprina* sont prometteurs. Dans le cas des insectes hématophages, il faut accentuer les efforts sur l'emploi d'antigènes intestinaux et d'autres tissus internes comme cibles vaccinales.

Enfin, la démarche utilisée pour le développement d'un vaccin contre un nématode hématophage, *Haemonchus contortus*, est similaire et intéressante de considérer.

La liste des travaux présentés ci-après n'est pas exhaustive, mais permet d'illustrer les différentes démarches utilisées.

2.1. TRAVAUX D'IMMUNISATION MENES SUR LES TIQUES

Les travaux de recherche sur les vaccins anti-tiques ont commencé dès 1939 avec l'injection sous-cutanée d'extraits larvaires de *Dermacentor variabilis* à des cobayes (Trager, 1939). La résistance à l'infestation résultante a montré qu'une immunisation était possible, à partir de divers organes internes : glandes céphaliques, tube digestif, glandes salivaires.

De nombreux essais d'immunisation ont suivi, notamment à partir d'extraits de glandes salivaires. Mais des problèmes récurrents ont poussé les chercheurs à se tourner vers d'autres sources d'antigènes protecteurs. Cette nouvelle approche a permis le développement et la commercialisation du premier vaccin anti-parasite, TickGARD®.

2.1.1. Essais d'immunisation à partir de glandes salivaires

La vaccination avec des antigènes dérivés des glandes salivaires correspond à une tentative d'induction de résistance mimant la réponse immunitaire naturelle, acquise au cours d'infestations par les tiques. Plusieurs expériences utilisant les glandes salivaires comme source potentielle d'antigènes ont été réalisées, et la purification de ces antigènes a été plus rapide que pour les autres tissus.

Deux veaux de 1 jour ont été immunisés avec des antigènes de glandes salivaires de *Boophilus microplus*. Cette immunisation a induit une production d'anticorps ainsi qu'une résistance à l'infestation (Brossard, 1976).

Des antigènes préparés à partir des glandes salivaires de femelles gorgées de *Dermacentor andersoni*, injectés par voie intradermique à des cobayes, ont provoqué une réponse immunitaire. Lors d'infestation expérimentale avec des tiques de la même espèce, une réduction significative du poids des tiques après gorgement ainsi que du nombre de larves ont été observées (Wikel, 1981).

Des veaux croisés *Bos taurus* X *Bos indicus* ont été immunisés par injection sous-cutanée d'antigènes de glandes salivaires de *Hyalomma anatolicum anatolicum*. Trois fractions antigéniques ont été distinguées. La fraction I, fraction antigénique de glande salivaire totale, correspondait au surnageant de glandes homogénéisées et centrifugées. La fraction II était constituée du surnageant de glandes salivaires ayant subi des cycles de congélation - décongélation, puis homogénéisées et centrifugées. La dernière fraction antigénique, III, a été obtenue en resolubilisant le pellet de la fraction II. Les bovins immunisés ont subi des infestations expérimentales avec des tiques adultes de la même espèce. Des réponses immunitaires humorales et cellulaires ont été mises en évidence à la fois *in vivo* et *in vitro*. Les bovins ayant reçu la fraction I ont développé une réponse immunitaire à l'origine d'une augmentation significative du temps de gorgement, d'une diminution du poids des tiques gorgées, d'un allongement de la période pré-oviposition, d'une réduction du poids moyen des œufs et du nombre d'œufs pondus. Les tiques nourries sur les animaux immunisés avec la fraction II ont présenté un poids après gorgement plus faible que ceux des lots contrôles, leur période pré-oviposition a été allongée et le poids des œufs diminué. Les performances des tiques nourries sur les bovins inoculés avec la fraction III étaient comparables à celles des tiques nourries sur les animaux contrôle (Banerjee et al., 1990).

Ces essais ont montré que l'immunisation à partir d'antigènes salivaires est possible.

Cependant, la protection conférée par ces antigènes n'a jamais très importante. Par ailleurs, deux problèmes majeurs sont retrouvés systématiquement : une grande variabilité de la réponse individuelle des animaux aux injections d'antigènes, et l'apparition de réactions d'hypersensibilité cutanée aux sites d'attachement des tiques.

Ces différents problèmes ont orienté les travaux vers la recherche d'un nouveau type d'antigènes protecteurs.

2.1.2. Essais d'immunisation à partir d'autres tissus de tiques

Les molécules qui ne sont pas introduites dans l'organisme de l'hôte lors du repas sanguin sont des candidats vaccinaux très séduisants. Un immunogène vaccinal doit pour autant être accessible aux effecteurs du système immunitaire de l'hôte. Une source évidente d'antigènes de ce type est le tractus digestif des tiques, puisqu'il entre en contact avec les éléments du système immunitaire de l'hôte ingérés lors du repas de sang. Cependant, les autres tissus de tiques ne doivent pas être éliminés, car les anticorps de l'hôte peuvent franchir la barrière digestive et sont détectables dans l'hémolymphe (Ackerman et al., 1981 ; Ben-Yakir, 1989, Wang et Nuttal, 1994)

Une immunité anti-tiques d'un bon niveau a été obtenue chez des cobayes immunisés à partir d'organes internes de *D. andersoni*. Le tube digestif et les organes reproducteurs de femelles gorgées de 5 jours ont constitué l'Antigène I. Tous les organes internes de tiques de même stade ont servi à la préparation de l'antigène II. Les cobayes ont reçu deux injections par voie sous-cutanée à 15 jours d'intervalle, puis ont été infestés expérimentalement par des tiques de la même espèce. L'immunisation avec l'Antigène I a provoqué une chute de ponte, et n'a pas permis l'éclosion de larves viables, celle avec l'Antigène II a empêché le gorgement des tiques et la production d'œufs (Brian et David, 1994). En revanche, la vaccination de bovins avec des immunogènes du tube digestif et d'organes reproducteurs de *D. andersoni* n'a pas induit une bonne immunité : le nombre de tiques gorgées n'a pas varié entre le lot témoin et les animaux vaccinés. Cependant, les tiques recueillies sur les bovins vaccinés sont plus petites, produisent moins d'œufs et moins de larves.

Deux extraits de *Dermacentor variabilis* ont été utilisés pour immuniser des rats, ensuite soumis à un challenge parasitaire. Une partie des rats a reçu un extrait dérivé de tiques entières, tandis qu'un autre groupe a été inoculé avec un extrait de tube digestif de tiques. Les tiques infestant les animaux immunisés avec l'extrait de tube digestif ont montré les effets suivants : attachement retardé, baisse du poids des tiques gorgées, allongement de la période pré-oviposition, diminution du taux d'éclosion. En revanche, ces effets n'ont pas été retrouvés chez les tiques nourries sur les rats traités avec l'extrait de tiques entières. (Ackerman et al., 1980).

L'immunisation de bovins avec un homogénat d'adultes entiers de *Amblyomma americanum* à 3 et 18 mg/kg a provoqué une baisse du poids des femelles *A. americanum* gorgées. Lors d'une seconde infestation expérimentale, cette baisse a été accentuée. La possibilité d'une action synergique entre immunité vaccinale et immunité naturelle n'a pas été explorée. L'effet d'augmentation de l'immunité engendrée par une infestation serait pourtant bénéfique pour un vaccin anti-tiques (McGowan et al., 1981).

Des antigènes de femelles entières de *Rhipicephalus appendiculatus* ont été utilisés pour immuniser des lapins, provoquant une résistance à l'infestation par *R. appendiculatus*. La durée du repas de sang des adultes a été augmentée et la viabilité des œufs a été diminuée. Les anticorps des hôtes résistants à l'infestation ont ensuite permis la détection de nombreux

candidats immunogènes présents dans l'homogénat de tiques. Il a semblé que la synthèse des différents antigènes varie en fonction du stade de gorgement de la tique (Mongi et al., 1986).

Des cobayes ont été immunisés à partir de fragments de la bordure en brosse d'intestins d'*A. americanum*. Un challenge avec des tiques adultes de la même espèce a ensuite été effectué. Les résultats montrent un poids des femelles gorgées réduit jusqu'à 69,8%, et la mortalité des tiques effectuant leur repas de sang sur des animaux vaccinés varie de 37,5 à 71,5%. Il a été remarqué que le nombre de morsures de tiques était apparemment identiques chez les cobayes vaccinés et non-vaccinés. L'absence de signe d'hypersensibilité cutanée a également été spécifiée (Wikel, 1987).

Des homogénats de nymphes de *Amblyomma hebraeum* et *A. marmoreum* ont été obtenus par broyage, sonication, centrifugation et filtrage des tiques, et ont servi à immuniser des lapins. Les niveaux de résistance à l'infestation homospécifique ont été significatifs et ont montré une réduction du temps de gorgement ainsi que du poids des tiques gorgées. Chez les lapins inoculés, les niveaux de beta et gamma globulines ont significativement augmenté, tout comme le nombre d'éosinophiles et de neutrophiles. Ces résultats ont indiqué le développement d'une immunité humorale et probablement cellulaire (Tembo et Rechav, 1992).

Une résistance significative à l'infestation par tous les stades de *R. appendiculatus* a été induite par immunisation de bovins à partir d'immunogènes solubles et partiellement purifiés de la membrane du tube digestif de *R. appendiculatus*. Le poids des tiques gorgées a été réduit et la viabilité des œufs diminuée. Cependant, le nombre de tiques se nourrissant sur les animaux vaccinés n'est pas affecté, et la mortalité des femelles adultes a été expliquée par le grattage dû à une irritation dermique excessive chez les bovins vaccinés (Essuman et al., 1991).

Les travaux de recherche menés par Opdebeeck et ses collègues sur *B. microplus* sont intéressants.

Plusieurs études ont testé le potentiel de différents tissus comme source d'antigènes protecteurs.

L'immunisation de bovins avec des antigènes du tractus digestif de *B. microplus* ou une combinaison d'antigènes du tube digestif et du synganglion (ganglion nerveux rostral) a permis une réduction de l'infestation de 87 et 80% respectivement. La production d'œufs a été diminuée de 95 et 91%. En revanche, l'immunisation à partir du synganglion seul n'a pas été efficace. Bien que diminuant au cours du temps, la protection induite par la vaccination est restée détectable pendant au moins 7 mois (Opdebeeck et al., 1988).

Des épitopes associés aux membranes larvaires de *B. microplus* se sont avérés protecteurs suite à un essai d'immunisation sur des bovins. En effet, la production d'œufs de tiques nourries sur les animaux vaccinés avec des extraits de membrane larvaire a été réduite de 78% par rapport aux lots de contrôle. Les membranes larvaires solubilisées et les sera de bovins vaccinés avec des membranes de tubes digestifs ont été utilisés pour purifier par immunoaffinité des immunogènes potentiellement protecteurs. Les bovins immunisés avec ces derniers ont présenté une protection de 80 et 89%, dans deux expériences différentes (Wong et Opdebeeck, 1990).

Un autre essai a cherché à évaluer le potentiel vaccinal d'extraits de membrane vitelline ou du tube digestif de *B. microplus*. Des bovins ont été inoculés avec une des deux fractions avant de subir un challenge parasite. Les antigènes de la membrane des œufs n'ont pas induit de protection anti-tique, malgré une production importante d'anticorps anti-œufs - mesurés par sérologie ELISA dans les sérums des bovins vaccinés. En revanche, les antigènes du tube digestif ont provoqué une résistance à l'infestation, associée à des taux

élevés en anticorps anti-tube digestif. Des analyses supplémentaires ont montré un certain niveau de réactions croisées entre les deux types d'anticorps (Kimaro et Opdebeeck, 1994).

Il semble que les antigènes du tube digestifs de *B. microplus* soient ceux qui procurent les plus importants niveaux de protection. Plusieurs des travaux menés par Opdebeeck et ses collègues y ont été consacrés.

Des bovins et ovins ont été immunisés avec différentes concentrations d'antigènes de la membrane du tube digestif de *B. microplus*, et les réponses en anticorps correspondantes ont été évaluées par ELISA. Les quantités totales d'immunogènes administrés variaient de 0,05 à 5000µg. Les bovins ont présenté une résistance à l'infestation après 2 injections de 500µg ou 3 injections de 50µg ou 500µg d'antigène de la membrane du tube digestif. La protection, mesurée par la réduction du poids des œufs, était alors respectivement de 89%, 80% ou 95% pour ces trois groupes (Jackson et Opdebeeck, 1989).

Des extraits de tractus digestif de *B. microplus* ont servi à immuniser des bovins, ensuite soumis à des infestations expérimentales ou en milieu naturel. Après une injection vaccinale, la production d'œufs a été réduite de 75 et 54% respectivement, en comparaison avec un groupe contrôle. Un rappel suivi d'une deuxième infestation a permis de réduire la ponte de 80 et 52%. Il a été noté que les niveaux d'immunité acquise variaient considérablement, aussi bien chez les animaux vaccinés que non vaccinés (Wong et Opdebeeck, 1993).

Une expérience basée sur des anticorps monoclonaux a permis d'isoler des antigènes protecteurs au niveau de la membrane du tube digestif de *B. microplus*. Une série d'anticorps monoclonaux dirigés contre la membrane digestive des tiques a été isotypée, et les caractéristiques des différents isotypes ont été établies. Des antigènes solubles du tube digestif ont été précipité par l'anticorps monoclonal QU13. Ces précipités, injectés à des bovins soumis à une infestation parasitaire, ont réduit la ponte des tiques de 62% ou 99%, en fonction de la dose inoculée. Les antigènes solubles complexés par QU13 ont ensuite été séparés par électrophorèse (Lee et Opdebeeck, 1991).

Une autre étude a montré que les antigènes protecteurs issus du tube digestif de *B. microplus* sont conservés entre plusieurs souches de tiques ainsi qu'entre différents stades de la tique. Des antigènes extraits du tractus digestif de 10 isolats de *B. microplus* ont été testés par des anticorps monoclonaux et des sérums de bovins. Les sérums ont été obtenus à partir d'animaux vaccinés avec des extraits larvaires et du tube digestif ayant procuré des niveaux de protection importants. Parmi les anticorps monoclonaux, QU13 est connu pour sa capacité à précipiter les antigènes protecteurs du tube digestif de *B. microplus*. Les profils de réactions obtenus avec les sérums bovins et les anticorps monoclonaux étaient similaires pour tous les isolats. De plus, la réaction des antigènes larvaires avec QU13 a indiqué que les antigènes protecteurs sont communs aux stades larvaire et adulte de *B. microplus*. Ces caractéristiques constituent un atout majeur pour des antigènes à visée vaccinale (Knowles and Opdebeeck, 1996).

Les travaux de cette équipe de chercheurs n'ont malheureusement pas abouti à l'heure actuelle. Ils ont cependant fourni des informations intéressantes sur les possibilités d'immunisation à partir de tissus de tiques.

Les expériences menées à partir d'antigènes provenant de différents organes internes de tiques ont donné des résultats variables. Les antigènes à l'origine des meilleures protections anti-tiques sont les antigènes du tractus digestif, suivis par ceux des organes reproducteurs et les protéines vitellines. L'immunisation à partir de ces antigènes est à l'origine d'une certaine mortalité, mais surtout d'une baisse des performances de reproduction des tiques.

Il y a eu peu de publications sur la purification et l'identification d'antigènes protecteurs, si l'on excepte le cas de *B. microplus*. C'est d'autant plus surprenant que les tiques constituent un groupe assez homogène, et que *B. microplus* ne doit pas être la seule

espèce à pouvoir être sensible à ce type de vaccin. Cependant, les caractères monoxène et monotrope de cette espèce favorisent les contacts répétés entre l'hôte et le parasite et rassemblent ainsi des conditions plus propices pour le vaccin que dans les espèces de tiques possédant plusieurs hôtes.

Des efforts importants ont été consacrés à *B. microplus* et ont permis le développement de deux vaccins commerciaux, comme nous allons maintenant le voir. Ces efforts doivent désormais être orientés vers les autres espèces de tiques ayant des conséquences économiques non négligeables.

2.1.3. Mise au point du vaccin contre *B. microplus*

Le vaccin contre *B. microplus* tel qu'il est commercialisé à l'heure actuelle (TickGARD®) contient un unique antigène recombinant en suspension dans un adjuvant huileux. L'antigène protecteur, Bm86 est une glycoprotéine membranaire localisée à la surface des cellules du tube digestif de la tique.

L'ingestion d'anticorps anti-Bm86, produits par les bovins vaccinés, a lieu au cours du repas de sang. La fixation de ces anticorps sur la surface des cellules digestives de la tique est suivie par la lyse de ces cellules et la fuite de matériel du tube digestif dans l'hémolymphe. Le mécanisme de cette lyse n'est pas encore élucidé. Ces séries de réactions provoquent une certaine mortalité au moment du gorgement mais surtout entre le repas de sang et l'oviposition, ce qui est à l'origine d'une réduction de la population parasitaire.

Il a fallu 13 ans pour développer ce nouveau produit. En résumé, on peut distinguer 4 étapes principales :

- 1) démonstration de la faisabilité du vaccin en conditions contrôlées (immunisation contre les tiques, identification de l'antigène protecteur, production d'une protéine recombinante efficace).
- 2) démonstration de l'efficacité du vaccin sur le terrain.
- 3) enregistrement du produit (efficacité, sécurité, innocuité, propriétés du produit).
- 4) introduction du nouveau produit dans la filière bovine.

2.1.3.1 Etape 1

Des expériences menées en 1986 ont abouti à la production d'anticorps ayant des conséquences délétères sur les organes internes du parasite.

La vaccination de bovin *Bos taurus* et *Bos taurus* X *Bos indicus* avec des extraits de femelles adultes semi-gorgées de *B. microplus* a induit une immunité, mais avec une grande variabilité individuelle. La résistance induite par l'immunisation était encore évidente après 14 jours de challenge quotidien avec 1000 larves. La charge parasitaire sur les bovins vaccinés a été réduite en moyenne de 70% par rapport aux contrôles (Johnston et al, 1986).

Les effets d'une vaccination à base d'extraits du tube digestif de *B. microplus* ont été observés in vivo et in vitro. Les tiques nourries sur des bovins vaccinés ont présenté les signes suivants : mort progressive de tiques femelles adultes lors du repas de sang, et présence de lésions intestinales chez 60% des femelles. Les femelles présentant ces lésions ne se sont pas gorgées, ou sont mortes avant d'avoir pondu. Les anomalies digestives ont été retrouvées lors des expériences in vitro. Aucune hypersensibilité cutanée ou exsudation importante n'a été constatée, ce qui tend à montrer que les mécanismes mis en jeu lors de la vaccination sont différents de ceux intervenant au cours de l'immunité acquise suite à des infestations répétées (Kemp et al., 1986).

Suite à une série de fractionnements, vaccinations et challenges parasitaires, un composant mineur de la membrane de *B. microplus* a été identifié comme protecteur. Il a été

appelé Bm86. Il s'agit d'un antigène caché, autrement dit un immunogène normalement non introduit dans l'hôte au cours du repas de sang. Cependant, il est exposé aux effecteurs du système immunitaire de l'hôte ingérés lors du repas de sang (Willadsen and Kemp, 1988).

L'antigène protecteur, Bm86, a été purifié et caractérisé comme une glycoprotéine de poids moléculaire de 89kDa et de point isoélectrique de 5,1 à 5,6. Cette molécule a été immunolocalisée au niveau de la surface des cellules digestives. La séquençage et la description de la structure de cet antigène ont également été effectués (Willadsen et al., 1989). Des techniques d'immunohistochimie ont permis de montrer que l'antigène Bm86 est conservé dans de nombreuses souches de *B. microplus*, ce qui a renforcé l'hypothèse selon laquelle il pouvait être à la base d'un vaccin (Penichet et al., 1994).

Plusieurs systèmes d'expression ont été testés pour produire une protéine recombinante protectrice : systèmes bactériens, fongiques et de cellules d'insectes. Les 1ers essais de protéines recombinantes ont conféré une protection, mais beaucoup moins bonne qu'avec la protéine native (Rand et al., 1989). On a ensuite assisté au développement de systèmes d'expression basés sur *E.coli* et des baculovirus, et de modifications post-transcriptionnelles. Les produits finaux obtenus par ces méthodes ont présenté une efficacité comparable à celle de l'antigène natif (Richardson et al., 1993 ; Valle et al., 1993).

L'évaluation de l'efficacité du vaccin a été faite grâce à un modèle standardisé : des bovins naïfs, jamais exposés aux tiques, ont été infestés avec 1000 larves de *B. microplus* par jour. Les effets ont été mesurés expérimentalement 21 jours plus tard par la réduction de la charge parasitaire et du poids des tiques gorgées, ainsi qu'une forte inhibition de la ponte chez les femelles adultes gorgées qui ont survécu. L'effet cumulé de la vaccination a été mesuré en pratique par la réduction du taux de ponte suivant un challenge larvaire standardisé, et cela résume les effets du vaccin sur le cycle de vie du parasite.

Les résultats obtenus avec les antigènes produits par *E. coli* lors d'essais en milieu contrôlé sont les suivants. Le nombre de tiques gorgées a été réduit de 20 à 30%, le poids des tiques gorgées de 30%, le poids des œufs pondus par gramme de femelle gorgée de 60 à 80%. Si l'impact du vaccin est mesuré par son effet sur les capacités de reproduction d'une génération de tiques, depuis les larves jusqu'aux œufs pondus par femelles adultes survivantes, alors les paramètres cités donnent un effet global de 90% (Tellam et al., 1992).

2.1.3.2 Etape 2

Les premiers essais en conditions naturelles ont été réalisés en 1990-1991.

Les animaux immunisés étaient des bovins Hereford de 10 à 12 mois, ayant préalablement été exposés aux tiques et possédant donc une immunité naturelle acquise. Ces bovins ont subi des infestations artificielles avec 20 000 larves. Le comptage des femelles gorgées a permis de classer les bovins en fonction de leur niveau d'immunité naturelle acquise. Quatre lots comparables ont été constitués par tirage au sort aléatoire, et ont été placés sur 4 pâtures sur lesquelles le nombre de larve de tiques était comparable.

Un premier groupe n'a pas été vacciné, un groupe a reçu une première injection et un rappel à la 7^{ème} semaine, deux groupes ont reçu une injection suivie de deux rappels, aux 7^{ème} et 17^{ème} semaines.

Les conditions et le poids des bovins ont été contrôlés. La charge parasitaire des animaux a été suivie, et des prélèvements réguliers de tiques ont été effectués pour mesurer leurs capacités de reproduction.

Les résultats ont témoigné du potentiel du vaccin pour contrôler les populations de tiques. Cette expérience a également mis en évidence la difficulté de réaliser des expériences de terrain, car de nombreux événements non contrôlés ont constitué des biais. Ainsi, la

météorologie et son impact sur les populations de tiques ou le retrait des animaux contrôlés trop affectés ont influencé les résultats de cet essai. Cependant, la capacité du vaccin de réduire de manière significative la charge parasitaire est restée nette. La mesure du poids des bovins a permis d'illustrer le bénéfice résultant du contrôle des tiques (Willadsen et al., 1992)

D'autres essais en milieu naturel ont été réalisés par des scientifiques cubains. La vaccination a réduit la charge parasitaire de plus de 55%, et a également limité la transmission de la babésiose bovine. Une analyse coûts-bénéfices a montré que le nombre de traitements acaricides était réduit de 60%. Ceci, associé au contrôle de l'infestation par les tiques et de la transmission de la babésiose, permettait aux producteurs d'économiser 23,4\$ par animal et par an. Ces résultats démontrent clairement les avantages de la vaccination à l'aide de l'antigène Bm86 (de la Fuente et al., 1999).

2.1.3.3 Etape 3

Cette étape correspond à l'enregistrement du produit en vue de sa commercialisation (Willadsen, 1997).

L'équipe de chercheurs qui a travaillé sur le vaccin anti-*B. microplus* a rencontré des difficultés pour définir ses effets et les bénéfices pour la production bovine.

En effet, le principal effet du vaccin est la réduction du rendement de la population de tiques. Les bénéfices à l'échelle individuelle sont donc faibles pour les bovins. A l'échelle du troupeau, ils sont liés à la réduction de la population de larves capables d'infester les troupeaux, et n'apparaissent qu'après une génération de tiques. Cela implique de plus que l'ensemble du troupeau soit vacciné et qu'il n'y ait pas introduction de nouveaux individus non immunisés. Ces différents éléments ont été importants à considérer lors du processus d'enregistrement du produit.

Le produit n'a pas pu être enregistré comme un vaccin réduisant la population de tiques sur les bovins de manière significative au cours d'une saison. Les essais demandés pour apporter la preuve de ces effets auraient été trop nombreux et beaucoup trop coûteux. La description du produit a donc été transformée en vaccin basé sur une réduction progressive de la population de tiques, en conséquence de la baisse de fécondité qu'il entraîne, un vaccin pour bovins permettant d'aider au contrôle des tiques du bétail sur les pâtures. Les effets ont pu être évalués grâce au nombre d'œufs pondus par femelle ayant survécu, à partir d'échantillons prélevés sur des bovins. De plus, la corrélation inverse entre le poids des œufs pondus et le titre en anticorps anti-Bm86 a également pu être exploitée.

L'efficacité générale de la vaccination, seule ou combinée à des traitements acaricides raisonnés, a été mesurée par 16 essais sur plus de 3500 bovins. Ces essais ont démontré qu'un programme de vaccination correctement établi permettait d'augmenter les bénéfices des producteurs bovins.

La durée minimale de protection a été évaluée à 2 mois. Dans de nombreux troupeaux, des titres en anticorps ont persisté plus longtemps.

Le vaccin a été testé sur plusieurs souches de *B. microplus*, provenant de différentes régions, et avec des résistances aux pesticides variables. Il a été montré qu'il n'y a pas de corrélation entre la sensibilité des tiques aux vaccins et l'origine géographique de la souche ou son niveau de résistance aux acaricides.

D'autres propriétés du vaccin ont été vérifiées.

Le vaccin peut être conservé entre 2 et 8°C pendant au moins 3 ans sans être altéré.

Le vaccin est constitué d'une protéine stérile hautement purifiée dans un adjuvant huileux. Il a été vérifié que la vaccination des jeunes animaux n'entraînait pas d'effet indésirable. L'absence d'effet négatif sur la reproduction lors de vaccination de génisses ou de vaches gestantes a été confirmée. L'administration de plus de 20 fois la dose recommandée

n'a pas eu de conséquence néfaste. On n'a pas observé d'interaction avec d'autres produits utilisés en production animale, notamment avec les pesticides.

Il a été remarqué que des réactions au site d'injection pouvaient être observées et étaient dues à l'adjuvant huileux. Ces réactions étaient transitoires et n'affectaient pas la croissance de l'animal, la carcasse de l'animal n'était pas dévaluée non plus. Ces réactions sont apparues chez moins de 1% des bovins vaccinés. Il existe une corrélation positive entre la taille de la réaction observée et le titre en anticorps anti-Bm86. Le mode d'administration recommandé est l'injection sous-cutanée dans le cou.

2.1.3.4 Etape 4

Le vaccin TickGARD® a été commercialisé en Australie en 1994. Son usage a été encouragé par de nombreuses organisations de producteurs, notamment les groupements laitiers. Son introduction a été accompagnée d'un intense effort de formation pour s'assurer que les capacités et modes d'action du vaccin avaient été bien compris.

Tout traitement en vue du contrôle des tiques est plus efficace s'il est employé de manière stratégique, pour éviter la constitution de fortes populations de tiques sur les pâtures. Ceci est vrai pour l'usage des produits chimiques, et encore plus dans le cas de vaccins anti-tiques.

En effet, le principal effet de ce vaccin est de réduire la capacité de reproduction des femelles gorgées, et donc réduire la population de tiques sur plusieurs générations. De plus, il faut un certain délai après la vaccination pour générer un pic de production d'anticorps. Ces deux raisons expliquent combien la stratégie vaccinale est essentielle. Pour les mêmes raisons, l'introduction continue de tiques ou de bovins infestés dans un troupeau d'animaux vaccinés est hautement indésirable.

Il a été montré sur le terrain que lorsque la vaccination est faite de manière appropriée et les animaux protégés contre une ré-infestation continue, alors une longue et efficace période de contrôle des tiques peut être obtenue.

En pratique, l'emploi du vaccin doit être adapté aux autres pratiques d'élevages. Il n'est pas toujours possible de vacciner les animaux au moment le plus opportun. C'est pourquoi il est recommandé que des animaux fortement infestés devant recevoir le vaccin soient traités simultanément avec un acaricide. Ceci de manière à maintenir la population de tiques sous contrôle jusqu'à ce que la vaccination soit effective, tout en permettant un usage réduit de produits chimiques (Willadsen et al., 1995).

Après plusieurs années d'utilisation en Australie, les producteurs ont adopté ce mode de contrôle, qu'ils trouvent intéressant. Un sondage auprès des producteurs, après la première saison d'utilisation, a indiqué un pourcentage important d'acceptation du vaccin. Les industries laitières du Queensland ont même mis en place un programme de lutte contre les tiques, TickCON, associant la vaccination à un usage limité des acaricides (Bock et al., 1995).

En 1996, une nouvelle version du vaccin est sortie, avec un produit amélioré grâce à des modifications de la formulation de l'adjuvant, sous le nom TickGARD Plus®. Ce produit entraîne des titres en anticorps 2 à 3 fois plus élevés dans les troupeaux et a un effet plus fort et plus durable sur le contrôle des tiques (Jonsson et al., 2000).

La publication des travaux des équipes australiennes a permis le développement et la commercialisation d'une version cubaine du vaccin anti-*B. microplus*, dénommée Gavac® (Fuente de la et al., 1999).

2.1.3.5 Et après ?...

Les chercheurs ont poursuivi leurs travaux pour améliorer leur produit.

Certains isolats de tiques se sont révélés résistants à la vaccination à l'aide de l'antigène Bm86. Un antigène, Bm95, a pu être isolé, cloné et le potentiel vaccinal de la protéine recombinante produite a été testé. L'antigène Bm95 s'est révélé capable de protéger les bovins contre les infestations par des isolats aussi bien sensibles que résistants à l'antigène Bm86. Ces résultats suggèrent que l'antigène Bm95 pourrait être plus universel, et donc mieux adapté pour protéger le bétail contre différentes souches de tiques *B. microplus* (Garcia-Garcia et al., 2000).

D'autres antigènes ont été identifiés à partir de *B. microplus* et peuvent être associés à Bm86 pour augmenter l'efficacité du vaccin. C'est le cas de Bm91, une glycoprotéine de 86kDa, de point isoélectrique 4,8 à 5,2, localisée de manière prédominante dans les glandes salivaires et le tube digestif de *B. microplus* (Riding et al, 1994). Des expériences ont ensuite permis de comparer l'efficacité vaccinale de Bm86 seul ou combiné à Bm91, et les résultats ont montré que l'addition de Bm91 permettait d'augmenter la protection induite chez les bovins (Willadsen et al., 1996).

Il est tentant d'étendre ce vaccin à d'autres tiques.

Comme nous l'avons vu, de nombreuses expériences ont montré que l'immunisation contre les parasites est possible. Mais les chercheurs rencontrent des difficultés à purifier les antigènes, et le coût des expériences menées sur des animaux domestiques est important. C'est pourquoi il serait intéressant de développer de nouveaux vaccins non pas à partir de nouvelles molécules mais par extension à partir d'antigènes protecteurs connus dans d'autres espèces. Il s'agit alors d'identifier des antigènes provoquant des réactions immunologiques croisées, des antigènes avec des fonctions homologues ou encore des antigènes présentant des séquences d'ADN ou d'acides aminés identiques.

Mais là encore, les équipes de recherches se heurtent à des problèmes.

Les réactions croisées entre des antigènes sont fréquemment rapportées, mais la protection croisée est beaucoup moins fréquente. Les réactions croisées observées sont probablement dues à des épitopes communs non protecteurs.

Il faut connaître la fonction biochimique des antigènes pour 2^{ème} approche, ce qui est rarement le cas. A l'heure actuelle, la fonction de Bm86 n'a pas été élucidée mais des travaux sont en cours (Hamilton et al., 1991).

Il reste l'exploitation de séquences conservées entre espèces. Dans le cas de Bm86, un segment d'environ 450pb montre 85% d'homologie entre *B. microplus* et *R. appendiculatus*. C'est sans doute un bon candidat, et des études approfondies doivent être entreprises en ce sens.

2.2. TRAVAUX D'IMMUNISATION MENES SUR LES INSECTES

Un certain nombre d'essais d'immunisation ont été menés sur différentes espèces d'insectes. Dans ces tests, les antigènes utilisés ont été préparés à partir d'extraits d'insectes entiers ou d'organes (glandes salivaires, tube digestif...), après dissection et/ou macération. La plupart des essais ont été réalisés sur des animaux de laboratoire, parfois éloignés des espèces impliquées dans le système hôte - parasite naturel.

Les immunisations confèrent dans la plupart des cas une protection comprise entre 0 et 50%. Cela se traduit par une augmentation de la mortalité ou une diminution des capacités de reproduction.

Plusieurs arguments peuvent expliquer ces résultats moindres par rapport à ceux obtenus chez les tiques.

Il a été supposé dans un premier temps que ces échecs relatifs étaient dus à la nature du parasitisme des insectes, les contacts intermittents réduisant les possibilités d'immunisation des hôtes.

Une autre théorie a ensuite été proposée. Chez les insectes, la digestion a lieu dans la lumière du tube digestif, alors qu'elle est intracellulaire chez les tiques. De plus, les enzymes digestives secrétées sont soit neutres, soit acides, et le pH intestinal doit probablement être à l'origine d'une partie de la destruction des anticorps. Enfin, la membrane péritrophique des insectes préserve les cellules de l'épithélium digestif du contact direct avec le contenu du tube digestif. Ces différences de physiologie de la digestion laissent croire que chez les Insectes, les antigènes vaccinaux entrent moins facilement en contact avec l'organisme de l'hôte et donc induisent moins facilement une réponse immunitaire.

2.2.1. Essais d'immunisation contre les moustiques

C'est sur les moustiques que le plus d'expériences ont été tentées. Les résultats obtenus sont variables, les effets concernent soit la mortalité soit les performances de reproduction, et les niveaux de protection induits ne sont pas aussi importants qu'on aurait pu l'espérer.

Des homogénats d'*Anopheles quadrimaculatus* ont été administrés par voie sous-cutanée à des lapins. Deux fractions antigéniques ont été distinguées. L'antigène I est constitué d'un homogénat de femelles entières de moustiques. L'antigène II correspond lui à un extrait du premier antigène obtenu après une série de congélations - décongélations et filtrage. Les lapins ont ensuite été soumis à des challenges parasitaires de 5 minutes. Les moustiques ont été tués après avoir été récupérés sur les hôtes, et observés au microscope (Dubin et al., 1948). Il n'a malheureusement pas été fait d'évaluation de la viabilité post-gorgement, pas plus que de la fécondité. On peut penser que l'influence des anticorps anti-moustiques est sans doute négligeable après seulement quelques minutes de repas sanguin.

Une expérience menée par Alger et Cabrera (1972) montre qu'une certaine immunité anti-moustique peut être induite. Des lapins ont été immunisés avec des broyats de tissus d'*Anopheles stephensi*. Trois fractions antigéniques ont été utilisées : (i) surnageant de moustiques entiers broyés et centrifugés ; (ii) pellet de moustiques entiers broyés et centrifugés ; (iii) intestins de moustiques homogénéisés. Ces trois fractions ont été préparées à partir de femelles de moustiques de 7 à 10j, nourries sur dextrose. Après infestation expérimentale, il a été constaté que le taux de mortalité des moustiques nourris sur les lapins immunisés avec l'antigène (iii) a été significativement augmenté par rapport aux autres groupes (contrôle, i et ii).

Une immunisation de lapins et de cobayes a été tentée avec un homogénat de *Aedes aegypti* nourris sur sucre. Des challenges parasitaires avec *A. aegypti* et *Culex tarsalis* ont ensuite été effectués. Les observations faites sur les animaux immunisés sont les suivantes : abreuvement, alimentation, miction et défécation ont été interrompus dans les 48h qui ont suivi la première injection, et le sont restés pendant 6 à 10j. Les lapins ont guéri, 1 cobaye est mort avant le challenge parasitaire, le 2^{ème} après. Les animaux du lot contrôle n'ont pas été affectés. L'influence de ces réactions sur les tests qui ont suivi n'a pas été déterminée. La fécondité de *A. aegypti* a été réduite de 24% pour les lots nourris sur cobayes et de 31% pour ceux gorgés sur des lapins. La mortalité n'a pas été affectée.

Deux lapins ont subi un rappel vaccinal et ont été soumis à une nouvelle infestation expérimentale. La production d'œufs des moustiques nourris sur ces animaux a été réduite.

La réponse anti-moustique n'était plus évidente 10 jours plus tard. La fécondité des moustiques nourris sur les lapins immunisés était meilleure que celle des lots contrôles. Cette absence de réponse a été attribuée à une baisse des titres en anticorps anti-moustiques, descendant sous leur seuil d'efficacité.

Aucune immunité croisée n'a été obtenue : la fécondité et la viabilité de *C. tarsalis* n'ont pas été affectées par les anticorps anti-*Aedes aegypti* (Sutherland et Ewen, 1974).

Des immunogènes de moustiques ont induit une production d'anticorps anti-moustiques, réduisant la fécondité et la viabilité des lots d'*A. aegypti* nourris sur les lapins vaccinés. Des moustiques ont été nourris pendant 24h avant d'être disséqués pour fabriquer 3 fractions antigéniques. Les organes utilisés sont : pour l'antigène(i), la tête et le thorax ; pour l'antigène (ii), les intestins ; et pour l'antigène (iii), le reste de l'abdomen. Les lapins ont été immunisés par 8 injections à 3 ou 4 semaines d'intervalle. Les anticorps anti-moustiques des sérums ont été détectés par immunodiffusion 10 jours après la 5^{ème} immunisation. Il est probable qu'une méthode plus sensible aurait permis une détection plus rapide.

La fécondité a été réduite chez les moustiques nourris sur un des lapins immunisés avec (i), 2 lapins immunisés avec (ii) et 1 lapin immunisé avec (iii). Aucune différence de mortalité n'a été observée entre les lots immunisés et les lots contrôles.

Une technique d'immunofluorescence a permis de localiser des anticorps ou fragments d'anticorps associés aux oocytes, chez les moustiques nourris sur les lapins immunisés (Ramasamy et al., 1988).

La même équipe a réalisé un autre essai sur deux autres espèces de moustiques. Les mêmes organes que dans l'expérience précédente ont été prélevés sur *Anopheles tessellatus* pour constituer trois fractions antigéniques similaires. Quatre injections intramusculaires à 3 ou 4 semaines d'intervalle ont permis le développement de titres en anticorps élevés chez des lapins.

Les résultats n'ont pas montré de différence significative de mortalité entre les différents lots 48h après repas de sang. Les chercheurs ont ensuite noté une augmentation de la mortalité de *C. quinquefasciatus*, pour les lots nourris sur des animaux immunisés avec les fractions (i) et (ii).

La production d'œufs de *A. tessellatus* a été significativement réduite après exposition aux anticorps anti-moustiques. Des baisses de fécondité de 15% pour (i), 20% pour (ii) et 23% pour (iii), ont été constatées après ingestion de sang contenant des anticorps dirigés contre les antigènes de moustiques (Ramasamy et al., 1992).

Des équipes de chercheurs se sont consacrées à l'influence des anticorps dirigés contre le tractus digestif de moustiques sur le développement d'agents pathogènes dans le moustique.

Des anticorps anti-homogénat d'intestins de *An. stephensi* ont été testés pour leur capacité à altérer le développement de *Plasmodium berghei*, lorsque les anticorps et les parasites sont ingérés au cours du même repas de sang. Le taux d'infestation et le nombre d'oocytes de *P. berghei* ont été significativement réduits chez les moustiques nourris sur les animaux immunisés. Le taux d'infestation des glandes salivaires est de 42,9% sur les lots contrôles, entre J17 et J21 post infestation. En revanche, aucun sporozoïte n'a été détecté jusqu'à J29 dans les glandes salivaires de moustiques ayant ingéré des anticorps anti-intestins de moustiques (Lal et al., 1994).

Des anticorps anti-moustiques ont réduit le taux d'infestation de *An. farauti* par les stades oocytes de *P. berghei* (Ramasamy et Ramasamy, 1990). De plus, les anticorps anti-

intestins de moustiques ont réduit la sensibilité de *A. aegypti* aux arboviroses (Ramasamy et Ramasamy, 1990).

Plus récemment, des travaux menés par Lal (2001) ont confirmé cette tendance. Le principe de l'étude était d'immuniser les animaux avec des antigènes intestinaux auxquels les parasites sont exposés lors du développement sporogonique dans l'organisme de l'insecte. Des lysats de tube digestif de *A. gambiae* ont été inoculés et ont entraîné la production d'anticorps anti-intestin de moustique. Ces anticorps ont bloqué le développement de *P. falciparum* et de *P. vivax* dans 5 espèces différentes d'anophèles vectrices de paludisme, en réduisant considérablement la production d'oocytes et de sporozoïtes. Par ailleurs, le taux de ponte et la durée moyenne de survie des moustiques ont été diminués de manière significative.

L'intérêt d'une telle immunisation est double puisqu'elle permet à la fois de réduire la compétence vectorielle et l'abondance du parasite vecteur de maladie.

Les immunogènes spécifiques et les modes d'actions par lesquels les anticorps anti-intestins de moustiques entravent le développement des pathogènes n'ont pas été identifiés. Cependant, ces résultats sont intéressants de considérer lorsque l'on envisage la lutte contre les arthropodes vecteurs de maladies. Un vaccin dirigé uniquement contre le vecteur ou un composant anti-vecteur introduit dans un vaccin dirigé contre un ou plusieurs pathogènes transmis par un arthropode donné, représente une nouvelle approche du contrôle des maladies transmises par arthropodes.

2.2.2. Essais d'immunisation contre les agents de myiases

Gingrich (1982) a montré que les bovins acquièrent une résistance lors d'infestations par *Hypoderma spp.* Cette résistance n'est pas corrélée aux anticorps anti-mouches, mais elle l'est à l'immunité à médiation cellulaire.

Plusieurs protéines purifiées de *Hypoderma lineatum* ont été testées pour leur capacité à induire une production d'anticorps et à protéger les bovins contre l'infestation par les larves. L'Hypodermine A, purifiée à partir de larves L1 de la mouche, a induit le meilleur niveau de protection. Cette molécule est un bon candidat vaccinal, induisant des réponses humorale et cellulaire efficaces, et semblant maintenir des niveaux de résistance supérieurs pendant plus d'un an (Pruett et al., 1987).

Plusieurs enzymes secrétées par les larves de *H. lineatum*, dont l'hypodermine A, ont été séquencées et clonées. Il a également été montré que l'hypodermine A est une sérine protéase jouant un rôle immunosuppresseur lors d'infestation larvaire (Moiré et al., 1994). Très récemment, une hypodermine recombinante a été produite, ouvrant la voie à l'usage de ces molécules comme immunogènes vaccinaux (Khaznadji et al., 2003).

Plusieurs équipes ont travaillé sur *Lucilia cuprina*, espérant développer un vaccin contre cet important agent de myiase des ovins.

Le principe exploité dans ces travaux était que si les immunoglobulines ne pouvaient pas passer la membrane péritrophique, il fallait utiliser les protéines de cette dernière comme cibles d'une réponse immunitaire protectrice.

Une série de protéines ont été isolées à partir de la membrane péritrophique et ont induit une protection. Entre autres, les péritrophines 48 et 44 ont été étudiées précisément, en vue d'essais vaccinaux. Ces antigènes auraient un rôle dans la maintenance de la structure de la membrane péritrophique, ainsi que dans son degré de porosité. Leur fonction semblait importante dans la physiologie des larves de *L. cuprina*, les péritrophines pourraient constituer des cibles vaccinales intéressantes (Elvin et al., 1996).

Des travaux publiés en 1997 ont conclu que des ovins vaccinés à l'aide d'une péritrophine ont produit des anticorps. Ces derniers ont inhibé la croissance des larves L1 de

L. cuprina, aussi bien *in vitro* qu' *in vivo* (Casu et al., 1997). D'autres essais vaccinaux ont montré que l'immunisation des ovins par voie intradermique permettait d'obtenir de plus grandes concentrations en anticorps dans la peau, et donc une meilleure protection contre les larves de la mouche (Colditz et al., 2002)

Plus récemment (Tellam et al., 2003), une autre protéine, la péritrophine 55, a été isolée et purifiée à partir de la membrane péritrophique de larves de *L. cuprina*. Cet antigène injecté à des ovins a induit une réponse immunitaire, inhibant la croissance larvaire de 51 à 66% chez les larves nourries sur les sérums des animaux vaccinés. L'étude des propriétés de la péritrophine 55, et son séquençage, sont en cours, et permettront éventuellement la production d'une protéine recombinante.

Dans ces différentes expériences, l'effet de la vaccination est anticorps-dépendante. Il semble que la fixation des anticorps sur les antigènes de la membrane péritrophique forme une couche épaisse, amorphe et à peu près imperméable. Cela gênerait l'excrétion d'enzymes protéolytiques et l'absorption des produits de la digestion. L'effet résultant est un relatif état d'inanition, qui se traduit par un taux de croissance très réduit chez les larves nourries sur animaux vaccinés. L'effet de la vaccination est donc le résultat d'un compromis entre l'inhibition de la croissance due à la réponse immune, et les effets neutralisants de la production continue de membrane péritrophique et de la dégradation des anticorps par les protéinases secrétées (East et Eisemann, 1993). C'est pour cela, et en raison de l'absence de progrès en matière de production de protéine recombinante, qu'un vaccin efficace ne peut être envisagé à l'heure actuelle.

2.2.3. Essais d'immunisation contre les poux

Des souris des souches Cox/Swiss et C3H/HeSN ont acquis une résistance à *Polyplax serrata* au bout de 50j d'infestation. La charge parasitaire lors d'une seconde infestation a été réduite de 78% et 98%, pour C3H/HeSN et Cox/Swiss, respectivement.

La résistance murine à l'infestation par *P. serrata* a ensuite été induite par vaccination. Les souris ont subi des injections sous-cutanées d'immunogènes de poux, à la base de la queue, pendant 6 jours. Les deux groupes contrôle ont reçu soit de l'albumine bovine, soit du PBS.

Le rapport charge parasitaire/ poids de l'hôte a été réduit de 62% chez les souris vaccinées avec l'immunogène de poux. La faible réduction de charge parasitaire dans le groupe vacciné avec l'albumine bovine est non significative. Les souris non immunisées ont exprimé leur résistance acquise en diminuant de 94% leur charge parasitaire lors d'une seconde infestation (Ratzlaff et Wikel, 1990).

2.2.4. Essais d'immunisation contre les puces

Les puces sont d'importants vecteurs de maladies et leurs piqûres provoquent des réactions d'hypersensibilité cutanée, c'est pourquoi leur contrôle immunologique serait intéressant.

Cherney et al. (1939) rapportent que des personnes vaccinées avec préparation à base de puces entières ont été protégées contre les piqûres de puces.

Des immunogènes préparés à partir d'intestins de *Ctenocephalides felis felis* à jeun ont été utilisés pour vacciner des chats par voie sous-cutanée. Les chats vaccinés ont produit des anticorps anti-puces. Cependant, les résultats de cette expérience sont négatifs puisque aucune différence de charge parasitaire ou de fécondité des puces n'a été observée entre les lots vaccinés et les témoins, suite aux six infestations expérimentales effectuées (Opdebeeck et Slacek, 1993).

2.2.5. Essais d'immunisation contre les mouches piqueuses

Des travaux ont été réalisés sur des espèces importantes sur le plan économique et sanitaire chez le bétail. Malheureusement, les résultats obtenus n'ont pas été très convaincants.

Des lapins ont été immunisés avec différents tissus de *Stomoxys calcitrans* (Schlein et Lewis, 1976). Les 4 fractions antigéniques ont été obtenues par isolement et homogénéisation de (i) la cuticule et les cellules de l'hypoderme adhérentes, (ii) les muscles thoraciques, (iii) les tissus de l'abdomen et (iv) les bourgeons des ailes. Les lapins ont reçu 2 injections sous-cutanées à une semaine d'intervalle.

Après challenge parasitaire, il a été constaté que la mortalité était augmentée dans tous les lots de mouches nourris sur les groupes immunisés. La mortalité la plus forte est associée aux animaux immunisés avec l'extrait de muscles thoraciques.

Des paralysies des membres ou des ailes, ainsi que des difficultés à se nourrir ont été observées. Cet effet a été plus particulièrement remarqué sur les mouches nourries sur les lapins immunisés avec l'antigène (iv).

Des mouches de l'espèce *Glossina morsitans* ont été nourries sur des lapins immunisés avec les fractions antigéniques de *Stomoxys calcitrans* décrites ci-dessus (Schlein et Lewis, 1976). La mortalité s'est trouvée augmentée pour les mouches nourries sur les animaux immunisés avec (i) et (iv). Il est à noter que l'homogénat de bourgeons ailiers était majoritairement constitué de cuticule et de cellules hypodermiques.

Les anticorps ingérés lors du repas de sang ont apparemment profondément perturbé certains processus physiologiques des mouches.

Des travaux ont permis de conclure que les immunoglobulines des sérums franchissent la barrière digestive de *Sarcophaga falculata* et de certaines espèces de moustiques, gagnant l'hémolymphes d'où elles peuvent rejoindre et affecter leurs tissus cibles. Ceci a permis d'envisager d'employer des tissus internes comme cibles vaccinales (Schlein et al., 1975, Vaughan et Azad, 1988).

Otieno, Vundla et Mongi (1984) ont travaillé sur des mouches de l'espèce *Glossina morsitans morsitans*. Quatre lapins ont été immunisés avec des extraits bruts de protéases du tube digestif de tsé-tsé.

Les lots de mouches nourris sur les animaux vaccinés ont affiché une activité trypsine/protéase VI diminuée. Des problèmes de digestion du repas de sang ont été remarqués chez certaines mouches nourries sur les lapins immunisés : 6% des mouches n'arrivaient pas à vider leur jabot aussi facilement que les contrôles, et 7,8% sont restées jusqu'à 11j avec leur repas de sang non digéré. En revanche, il n'a pas été noté d'augmentation de la mortalité.

Kaaya et Alemu ont réalisé deux séries d'expériences sur des mouches tsé-tsé de la même espèce.

En 1982, ils ont décrit une baisse de fécondité et une augmentation de la mortalité des pupes, chez des *Glossina morsitans morsitans* maintenues sur des lapins immunisés avec différents antigènes de tsé-tsé.

En 1984, ils ont immunisé des lapins avec de la trypsine de tsé-tsé ou bovine. Ils ont constaté une augmentation significative de la mortalité chez les *Glossina morsitans morsitans* nourries pendant 45j sur les lapins vaccinés.

La baisse significative de la fécondité chez les mouches nourries sur les animaux immunisés avec trypsine bovine n'a pas été retrouvée dans les lots nourris sur les lapins vaccinés avec la trypsine de tsé-tsé, peut-être en raison de la différence de quantités

d'antigènes injectées. Le poids des pupes des mouches nourries sur les lapins immunisés avec la trypsine de tsé-tsé ou bovine a été significativement diminué. Une technique d'immunodiffusion a mis en évidence des réactions croisées entre ces deux tryptines.

Des lapins ont été immunisés à partir d'éléments du tube digestif de *Glossina fuscipes fuscipes* (Desquesnes, 1990). Deux fractions antigéniques, obtenues à partir d'intestins ou de jabots homogénéisés de la glossine, ont été utilisées.

Le seul effet constaté a été une augmentation statistiquement significative de la mortalité hebdomadaire. L'immunisation des lapins n'a pas eu de conséquences sur les performances de reproduction des mouches.

Une étude a également été menée sur les tabanides (Desquesnes, 1997). Des broyats d'intestins moyens de taons à jeun (*T. occidentalis dorsovittatus*, *T. importunus*, *T. olivaceiventris*) ont été utilisés pour immuniser des bovins. De manière paradoxale, les résultats ont montré que l'immunisation a provoqué une augmentation de la durée moyenne de survie des femelles gorgées. L'hypothèse expliquant cet effet est que l'immunisation entraînerait un retard de digestion, permettant aux taons de disposer plus longtemps de nutriments, et donc allongerait leur durée moyenne de survie.

Ces résultats mitigés laissent peu d'espoir d'une lutte vaccinale contre les mouches piqueuses.

Les différentes expériences évoquées montrent bien que jusqu'ici, les tentatives d'immunisations contre les insectes ont eu assez peu de succès. Lorsqu'une immunité a pu être conférée, ses effets sont souvent insuffisants pour pouvoir envisager une lutte vaccinale. Si les recherches sur le sujet ne doivent pas être abandonnées, de nouvelles approches doivent être élaborées.

Des recherches prenant en compte l'expression différentielle de protéines au cours du repas de sang pourraient peut-être permettre d'identifier des candidats vaccinaux.

Il est par ailleurs nécessaire de mieux comprendre la réponse immunitaire de l'hôte lors d'infestation. Les antigènes induisant une forte réponse en anticorps ne sont pas forcément de bons candidats, et certaines des expériences illustrent ce problème. En revanche, les anticorps produits au cours d'une réponse immunitaire provoquant une nette diminution de l'infestation sont les témoins de la présence d'un antigène à fort potentiel vaccinal. En effet, cet antigène est présenté au système immunitaire et induit une réponse de l'organisme efficace.

2.3. TRAVAUX D'IMMUNISATION MENES SUR *HAEMONCHUS CONTORTUS*

Les recherches menées sur *Haemonchus contortus* sont basées sur le même principe que les essais d'immunisation effectués sur les arthropodes, c'est pourquoi nous allons les évoquer ici.

En 1987, Munn et al. ont réalisé des essais d'immunisation avec une protéine de la surface des cellules du tube digestif d'*Haemonchus contortus*, appelée contortine. La protection induite chez les ovins vaccinés a permis de réduire de 78% la charge parasitaire et la production d'œufs de nématodes.

En 1993, Munn et al. ont utilisé d'autres immunogènes. L'extrait préparé a été obtenu à partir de nématodes adultes et enrichi en protéine H11 et en autres protéines de la membrane intestinale, mais exempt de contortine.

Son potentiel vaccinal a été évalué sur deux troupeaux d'ovins. Les injections ont été suivies par une infestation expérimentale avec 25000 larves infestantes. Dans un des troupeaux, le poids de vers retrouvés sur les animaux vaccinés a été réduit de 89%, et dans l'autre troupeau il a été diminué de 72%. Dans les deux cas, la réduction du nombre de femelles (92 et 72% respectivement) est plus importante que celle des mâles (86,5 et 46%). L'hypothèse avancée pour expliquer ce fait est que les femelles ingèrent une plus grande quantité de sang et donc d'anticorps. La quantité d'œufs pondus, évaluée seulement dans un des troupeaux, a été réduite de 92%.

La protection s'est révélée corrélée au titre en anticorps. La plupart de ces anticorps étaient dirigés contre la protéine H11. Il en a été déduit que l'effet protecteur était principalement dû à cet antigène.

Les niveaux de protection obtenus avec H11 ont été meilleurs que ceux obtenus avec la contortine. Que ce soit avec l'un ou l'autre de ces antigènes, la réduction du nombre d'œufs pondus est suffisante pour réduire significativement la contamination des pâtures.

Dans chaque troupeau, des variations individuelles de la réponse à l'infestation, et de niveau d'immunité induit par vaccination ont été constatés.

D'autres travaux menés la même année sur H11 ont permis d'approfondir ces premiers essais (Munn et al., 1993 ; Smith et al., 1993).

Ces travaux ont montré qu'une protection efficace pouvait être induite chez de jeunes animaux. C'est un constat intéressant car l'immunité acquise au cours d'infestations naturelles est longue à s'établir et une telle vaccination pourrait permettre de protéger les agneaux en attendant que leur immunité acquise se mette en place.

De plus, une certaine immunité peut être transmise des brebis vaccinées aux agneaux, grâce aux anticorps présents dans le colostrum. Enfin, des femelles gestantes immunisées ont subi un challenge parasitaire alors qu'elles étaient en état d'immunodépression physiologique. Leur excrétion fécale en œufs d'*H. contortus* a été réduite de 98%, témoignant d'un fort niveau de protection (Andrews et al., 1995)

Une expérience de transfert de sérum et une technique d'immunohistochimie ont mis en évidence le mécanisme effecteur de H11. Les anticorps du sérum se fixent sur la bordure en brosse des cellules du tube digestif, mais aucune lésion de la membrane intestinale n'a été observée. Il semble que l'accumulation des anticorps affecte le métabolisme digestif des vers, provoquant une réduction de la ponte. Cette hypothèse est appuyée par le fait que la protection est étroitement corrélée aux titres en anticorps (Smith, 1993).

Par ailleurs, les animaux ayant acquis une immunité au cours d'infestations naturelles ne possèdent pas d'anticorps dirigés contre les protéines de la membrane intestinale, ce qui prouve que ces dernières n'entrent normalement pas en contact avec l'hôte. H11, et la contortine, sont des antigènes cachés (Smith, 1993)

Des essais suivants ont permis d'identifier un antigène intéressant, appelé complexe H-gal-GP et distinguable des précédentes molécules identifiées. Après immunisation d'ovins, il permet une réduction de la charge parasitaire de 72% et du nombre moyen d'œufs par gramme de fèces de plus de 93% (Smith et al., 1994).

La surface intestinale des vers récupérés sur les animaux immunisés était recouverte d'immunoglobulines ovines, suggérant qu'ici aussi l'effet protecteur soit lié aux anticorps interférant avec les fonctions intestinales. Les molécules du complexe responsables de l'induction de la protection n'ont pas été identifiées.

D'autres molécules, induisant des niveaux variables de protection, ont été identifiées (Jasmer et al., 1993, Newton et Munn, 1999, Knox et Smith, 2001). Cependant H11 reste à ce jour l'antigène conférant la meilleure immunité aux animaux vaccinés.

Une nouvelle étape vers la mise au point d'un vaccin commercial a été l'étude de l'efficacité d'un vaccin expérimental en milieu naturel (Smith et al., 2001).

Un essai de 11 mois a été conduit en Afrique du Sud, sur des pâtures naturellement infestées par *H. contortus*. La mise en culture des populations larvaire a montré que plus de 97% de la contamination des pâtures était due à *H. contortus*.

Seize ovins ont été immunisés avec un vaccin expérimental enrichi en H11 et H-gal-GP. Sur 2 parcelles adjacentes, 2 lots constitués de 8 animaux vaccinés et de 8 témoins ont été suivis. Le comptage du nombre d'œufs de vers contenus dans les fèces et l'hématocrite ont permis d'estimer leur niveau d'infestation par *H. contortus*.

Les résultats montrent une bonne protection contre l'infestation en milieu naturel : la population parasitaire a été réduite jusqu'à 82%, et la gravité des signes cliniques a été moindre chez les animaux immunisés (hématocrites plus élevés, pas d'haemonchose aiguë potentiellement fatale).

Cependant, de nombreux défauts empêchent encore d'envisager un développement commercial. De nombreuses injections (J7, J27, J51 et J72) sont nécessaires pour obtenir une protection, et l'immunité conférée est de courte durée (7 mois environ). Ceci écarte le vaccin d'un usage à grande échelle, du fait des nombreuses manipulations nécessaires et du coût important des injections répétées.

Un autre obstacle au développement d'un vaccin est, à l'heure actuelle, l'absence de systèmes d'expression de protéines recombinantes efficaces. Les protéines H11 et H-gal-GP produites par *E.coli* se sont avérées beaucoup moins protectrices. Une version recombinante de H11 a été obtenue grâce à un système baculovirus. De nos jours, des travaux sont menés sur un nématode libre, *Caenorhabditis elegans*. L'insertion du gène codant pour H-gal-GP devrait permettre de produire une protéine très proche de la protéine native (Redmond et al., 2001). La culture de ces vers étant aisée, cela pourrait être une bonne méthode pour obtenir l'antigène vaccinal en grandes quantités, en vue d'une commercialisation.

Les résultats obtenus laissent penser qu'en l'état, l'emploi d'un tel vaccin seul est insuffisant pour protéger efficacement des troupeaux. Cependant, il peut être intéressant d'envisager son emploi à certaines période de forte sensibilité (jeunes, avant que l'immunité naturelle soit acquise, femelles gestantes physiologiquement immunodéprimées...).

Du fait du faible marché que représente la lutte contre *H. contortus*, il est souhaitable d'étendre la protection vaccinale à d'autres espèces de nématodes affectant le bétail. Des essais d'immunisation à partir d'homologues de H11, H-gal-GP et un autre antigène protecteur ont été suivis par des challenges parasitaires avec *Ostertagia ostertagi* et *Teladorsagia circumcincta*. Les résultats ont été positifs, mais le niveau de protection induit est inférieur à celui obtenu contre *H. contortus* (Smith et al, 2000, Knox et al., 2001).

3. CONCLUSION

La revue faite sur les travaux d'immunisation montre que le principe d'un vaccin anti-parasite a intéressé de nombreuses équipes de chercheurs, travaillant sur divers systèmes hôtes-parasites.

A l'heure actuelle, l'état d'avancement de ces différents travaux de recherche est très variable. Certains ont déjà permis de commercialiser des vaccins anti-tiques. D'autres ont abouti à l'identification d'antigènes protecteurs, mais il reste encore à trouver des moyens de production de protéines recombinantes, à tester l'efficacité du vaccin sur le système hôte-parasite naturel, ou encore à vérifier le potentiel vaccinal en conditions naturelles. Enfin, les travaux menés sur certains parasites n'ont pas encore permis d'identifier d'antigène protecteurs.

Parmi tous ces essais d'immunisation, les résultats les plus décevants concernent les insectes. Plusieurs expériences permettent de penser qu'une immunisation des mammifères contre les insectes parasites est possible, mais en dehors des travaux menés sur les agents de myiase, aucun immunogène majeur n'a pu être mis en évidence.

L'analyse des travaux menés sur les mouches piqueuses montre que les résultats obtenus sont très nuancés. Si des niveaux de protection ont été obtenus, ils s'avèrent très variables d'une expérience à une autre, mais aussi d'un animal à un autre. De plus, les antigènes utilisés n'ont pas été purifiés, il s'agissait de simples extraits de mouches ou de larves.

Ces problèmes concernent entre autres la recherche d'un vaccin anti-glossines et la lutte contre la trypanosomose animale africaine.

L'essentiel des travaux menés sur ces insectes ont utilisé des animaux de laboratoire. Ces animaux ne sont pas ceux normalement impliqués dans le système hôte-parasite, et il est possible que les réactions immunitaires mises en jeu ne soient pas les mêmes. Les échecs relatifs constatés jusqu'ici pourraient être expliqués en partie de cette manière.

Afin d'explorer cette hypothèse, un essai basé sur le système bovin-glossine a été envisagé. La même source d'antigène est utilisée, à savoir des extraits de tubes digestifs de glossines. L'obtention de résultats positifs conforterait l'hypothèse avancée et signifierait que des efforts sont à poursuivre dans cette voie pour identifier un ou des antigènes vaccinaux. En revanche, si les extraits utilisés sur les bovins n'avaient pas d'effet délétère majeur, il serait délicat de conclure. Peut-être la source d'antigène utilisée dans les différentes expériences ne convient-elle pas, ou peut-être cette stratégie vaccinale n'est pas applicable à la lutte contre les glossines.

L'essai présenté dans la partie expérimentale exploite cette idée de système hôte-parasite naturel. Nous allons maintenant le détailler.

PARTIE EXPERIMENTALE

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. OBJECTIFS

Cette expérience a pour but d'évaluer la possibilité d'immunisation contre les glossines, à partir d'antigènes cachés.

Le système hôte – parasite étudié est le système « naturel », autrement dit Bovin – Glossine. Les antigènes vaccinaux sont ici des antigènes du tube digestif des glossines, inoculés par voie intra-musculaire. L'efficacité vaccinale est estimée grâce au suivi de la mortalité et des performances de reproduction de lots de glossines nourries sur les bovins immunisés.

1.2. MOUCHES

L'élevage de *Glossina palpalis gambiensis* est réalisé en insectarium climatisé à 26°C et 70 à 80% d'humidité relative. Les détails de l'élevage des glossines ont été décrits par Itard et Bauer (1984).

Dès l'éclosion, des lots de 110 femelles sont répartis dans des cages en moustiquaire de 20x40x5cm. Après leur premier repas, ces femelles sont triées : les morts et les individus non gorgés sont éliminés, et le nombre de femelles par cage est ramené à 100.

Des mâles, environ 70 par lot de femelles, sont introduits dans les cages au 5^{ème} jour, pour réaliser l'accouplement.

Photo 1 cage contenant un lot de glossines.



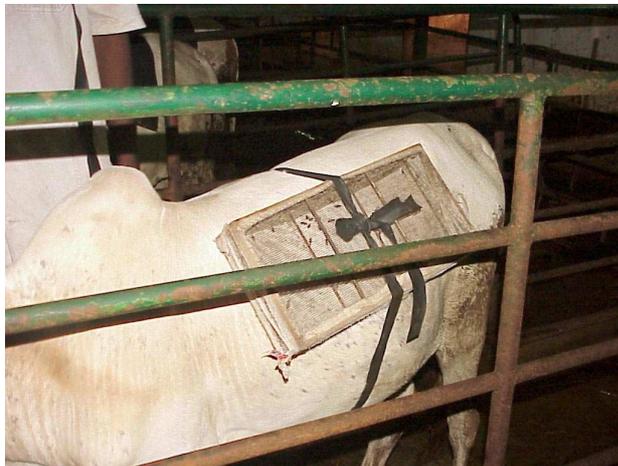
Les cages sont identifiées avec le numéro du bovin sur lequel les mouches sont nourries, le nom de la fraction avec laquelle le bovin a été vacciné et le numéro du challenge (CIRDES, 2003).

Tous les 1 à 2 jours, les cages sont fixées sur les flancs des bovins de l'expérience. Ce dispositif permet aux mouches d'effectuer leur repas de sang, pendant 10 à 20 minutes.

Photo 2 Repas de sang des mouches



2a) Une sangle est attachée autour de l'abdomen du bovin



2b) La cage est ensuite fixée sur le flanc du bovin à l'aide de la sangle



2c) Un tissu noir recouvre la cage afin de favoriser le gorgement des mouches (CIRDES, 2003).

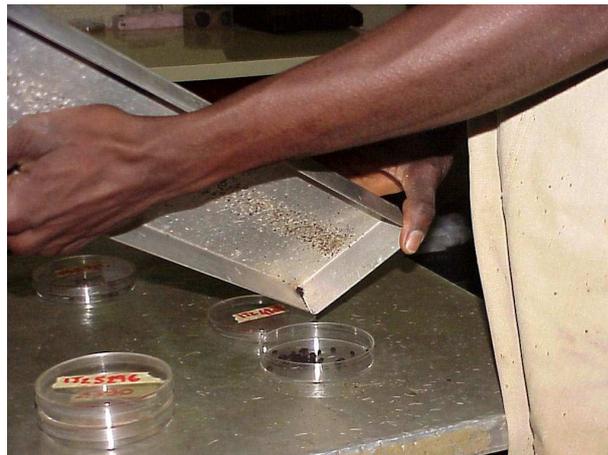
En dehors des repas, les cages sont maintenues dans les conditions optimales précédemment décrites, sur des pondoirs. Ce système permet de récupérer la production de pupes de chaque lot de mouches.

Photo 3 cage sur pondoir.



Chaque cage est disposée sur un pondoir identifié à l'aide du même numéro de lot. Les cages sont maintenues à 26°C et 70 à 80% d'humidité relative . Les pupes tombent dans le tiroir du pondoir (CIRDES, 2003).

Photo 4 récolte de la production quotidienne de pupes.



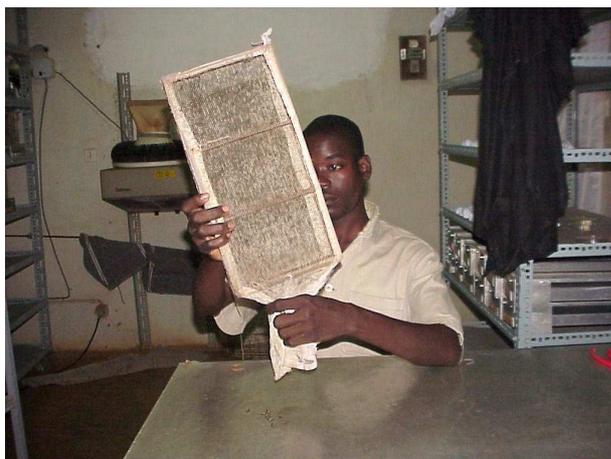
4a) Les tiroirs contenant les pupes sont vidés chaque jour dans des boîtes de Petri



4b) Les boîtes de Pétri sont identifiées à l'aide du numéro de lot de glossines.

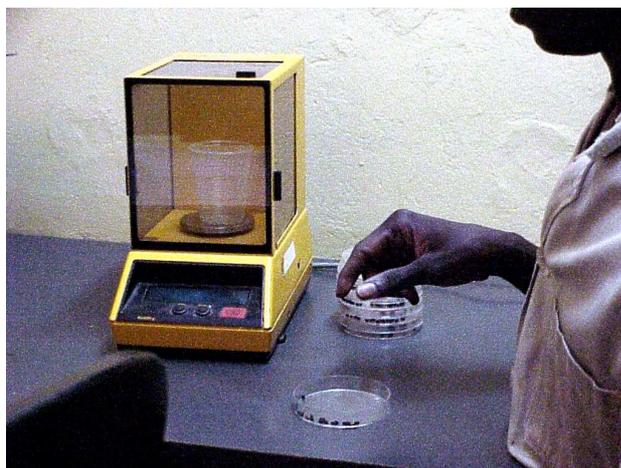
La mortalité et les performances de reproduction sont enregistrées quotidiennement.

Photo 5 enregistrement quotidien de la mortalité



Chaque jour, les glossines mortes sont retirées des cages. La mortalité des femelles est enregistrée.

Photo 6 pesée des pupes.



Le nombre quotidien de pupes pondues par lot est compté. Une pesée de la production permet ensuite d'établir le poids moyen des pupes pour chaque lot de glossines

1.3. BOVINS

Des bovins de races croisées, âgés d'environ 1 an et demi à 2 ans, ont été utilisés pour cette expérience d'immunisation. Ces animaux sont élevés sous moustiquaires.

Les 19 bovins choisis ont été traités aux trypanocides avant le début de l'expérience. Des contrôles sérologiques et un suivi sanitaire ont été effectués, et les animaux n'ont subi aucun traitement chimique pendant toute la durée de l'expérimentation.

Le suivi de la mortalité et des performances de reproduction des glossines sur une génération a permis de sélectionner 14 bovins pour la phase de vaccination.

Ces bovins ont été divisés en 4 groupes (T, IJ, IP, JJP) de 2 à 4 animaux, en fonction de la fraction antigénique qui leur a été inoculée.

1.4. VACCINS

1.4.1. Dissection des glossines :

La préparation des antigènes est faite à partir de :

- 2000 intestins moyens de *Glossina palpalis gambiensis* ténérales, âgées de 2 jours et à jeun
- 1400 intestins moyens de *Glossina palpalis gambiensis* 3 jours après leur premier repas de sang
- 6000 jabots issus des deux lots précédents (3400) et 2600 jabots à jeun supplémentaires.

Après dissection, les organes sont récoltés dans du liquide physiologique, et, en fin de séance, transférés dans un nouveau milieu contenant un cocktail d'antienzymes, à raison de :

- 50 intestins à jeun par ml (au final 40ml à environ 13,5 mg/ml)
- 50 intestins post-prandiaux par ml (au final 28 ml à environ 19,3 mg/ml)
- 200 jabots par ml (au final 30 ml à environ 9 mg/ml).

Les trois fractions sont libellées IJ (intestins à jeun), IP (intestins post-prandiaux) et JJP (jabots à jeun et post-prandiaux), puis congelés à -80°C .

1.4.2. Préparation des antigènes :

Les 3 fractions sont décongelées au bain-marie à 25°C et étendues aux volumes suivants :

- 40 ml d'IJ + 20 ml d'eau = 60 ml à environ 9 mg/ml
- 28 ml d'IP + 37 ml d'eau = 60 ml à environ 9 mg/ml
- 30 ml de JJP à environ 9 mg/ml (non étendu).

Chaque fraction est traitée de la manière suivante :

- Placée dans des seringues de 20ml pour broyage par 20 passages successifs entre deux seringues
- Placée dans des cryotubes pour subir 5 cycles de congélation-décongélation en azote liquide et bain-marie à 25°C
- Exposée à sonification 6 fois 1 minute sur glace
- Placée dans un potter pour broyage minutieux des organes sur glace (prendre beaucoup de précautions pour ne pas briser le potter ou perdre l'antigène).

Un volume de 0,5 ml est prélevé de chaque fraction pour le dosage des protéines. Ce dosage est réalisé avant puis après centrifugation. Le pellet est séché et pesé. Après dosage, le volume prélevé est replacé dans la fraction initiale dont le volume est vérifié avant d'étendre chaque fraction à la concentration sérique de 7 mg/ml pour les fractions IP et IJ, et à 3,5 mg/ml pour la fraction JJP.

Les fractions sont ensuite aliquotées en 12 aliquotes de 5 ml (le reliquat en aliquotes de 2,5 ml) et congelées à -80°C jusqu'à l'inoculation aux bovins. En principe on doit disposer d'au moins 12 aliquotes d'IJ et d'IP pour immunisation de 4 bovins, et de 6 à 7 aliquotes de JJP pour immunisation de 2 bovins.

1.5. PROTOCOLE D'IMMUNISATION

1.5.1. Challenge 0 des mouches, J0-J30

Cette phase a pour but de sélectionner les 14 bovins à immuniser.

Les 19 bovins sont utilisés pour cette épreuve zéro. A chaque bovin correspond un lot de 100 femelles *Glossina palpalis gambiensis*, dont le numéro est celui du bovin. Après le deuxième repas de sang, 50 mâles sont introduits dans chaque lot de mouches pour accouplement.

Les lots de mouches sont nourris sur les bovins non immunisés tous les deux jours, pendant 30 jours.

Pour chaque lot de mouche sont enregistrés :

- Les mortalités journalières et cumulées sur 30 jours
- Le cumul des pontes, le taux de ponte et le poids des pupes.

Les bovins dont les résultats, en terme de performance des mouches, s'éloignent de la moyenne sont sortis du protocole.

1.5.2. Immunisation des bovins, J35-J65

Les lots de bovins sont constitués ainsi :

- 4 bovins sont immunisés avec la fraction IJ
- 4 bovins le sont avec la fraction IP
- 4 bovins reçoivent de l'eau physiologique additionnée d'adjuvant
- 2 bovins sont immunisés avec la fraction JJP.

Chaque animal reçoit trois injections :

- A J35, 5ml de fraction + 5 ml d'adjuvant complet de Freund en IM profonde
- A J55, 5 ml de fraction + 5 ml d'adjuvant incomplet de Freund en IM profonde
- A J65, 5ml de fraction + 5 ml d'adjuvant incomplet de Freund en IM profonde.

1.5.3. Challenges des mouches, J70-J125

1.5.3.1 J70-J105

Le challenge 1 commence 5 jours après la dernière injection immunisante.

Les 14 lots de mouches sont dénommés comme suit : IJ1, IP1, JJP1, T1, suivi du numéro de boucle du bovin.

1.5.3.2 J90-J125

Le challenge 2 commence 3 semaines après le début du premier challenge.

Les lots de mouches sont dénommés comme suit : IJ2, IP2, JJP2, T2, suivi du numéro de boucle du bovin.

Pendant 5 semaines, les lots de mouches sont nourris tous les 1 à 2 jours sur les bovins immunisés

Lors des deux challenges successifs, la mortalité et les performances de reproduction sont suivis pour chaque lot de mouche :

- Enregistrement quotidien de la mortalité et calcul du taux de mortalité à J35
- Enregistrement du nombre et du poids des pupes, calcul du taux de ponte.

1.6. REALISATION DE SEROLOGIE ELISA

Une collecte de sérum est effectuée de manière hebdomadaire, à partir du début du protocole d'immunisation. Les sérums individuels sont ensuite stockés à -80°C .

Des sérologies ELISA sont réalisées sur les sérums individuels des bovins, pour chacune des différentes dates de prélèvement. La densité optique mesurée en sérologie ELISA est proportionnelle au taux d'anticorps contenu dans le sérum.

Cette technique permet ainsi de savoir si les injections des différentes fractions antigéniques ont entraîné la production d'anticorps spécifiques. La répétition de cette manipulation pour les différentes dates de prélèvement permet d'obtenir, pour chaque bovin, un profil de la production d'anticorps anti-fraction immunisante.

Le protocole utilisé est le suivant :

- Dans une plaque à 96 puits, le plastique des puits est recouvert avec la fraction antigénique (IJ, IP ou JJP)
- L'excès d'antigène est lavé
- Les sérums individuels sont dilués et mis à incuber. En présence d'anticorps spécifiques, des complexes antigènes-anticorps se forment
- L'excès d'anticorps est lavé
- Un ligand est mis à incuber. Il s'agit d'une immunoglobuline anti-anticorps bovin, couplé à une enzyme de type peroxydase
- L'excès de ligand est lavé
- Le substrat de l'enzyme est mis en présence de cette dernière
- La réaction entre l'enzyme et son substrat permet d'obtenir une coloration, dont l'intensité est une mesure du taux d'anticorps du sérum
- L'absorbance est mesurée, les résultats du dosage de la quantité d'anticorps sont obtenus en densité optique
- Les résultats individuels sont enregistrés à différentes dates et permettent de tracer un graphique de la réponse en anticorps aux différentes fractions antigéniques.

1.7. METHODES STATISTIQUES D'EXPLOITATION DES RESULTATS

Pour analyser les observations faites au cours de cette expérience, les outils statistiques employés sont le test de l'écart réduit et la comparaison de moyennes.

1.7.1. Test de l'écart réduit

Il permet de comparer deux pourcentages, et est donc utilisé pour comparer les taux de mortalité.

Sa formule est :

$$\varepsilon = \frac{P_a - P_b}{\sqrt{\frac{P_a * Q_a}{n_a} + \frac{P_b * Q_b}{n_b}}}$$

Où P_A et P_B sont les pourcentages observés sur les échantillons n_A et n_B .

Si $\varepsilon < 1,96$, la différence n'est pas significative à 5%.

Si $\varepsilon > 1,96$, la différence est significative, et le risque correspondant à ε , lu dans la table de l'écart réduit, détermine le niveau de signification.

1.7.2. Test de Student

Dans le cas de petits effectifs inégaux, aux variances différentes, la comparaison entre deux moyennes m_1 et m_2 observées sur deux échantillons n_1 et n_2 se fait grâce à la formule suivante :

$$t'0 = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\frac{s^2_1}{n_1} + \frac{s^2_2}{n_2}}}$$

Où S^2 désigne la variance.

La valeur $t'0$ doit être comparée à un T dont le nombre de degrés de liberté k' est l'entier le plus proche de :

$$k = \frac{\left[\frac{s^2_1}{n_1} + \frac{s^2_2}{n_2} \right]^2}{\frac{1}{n_1 - 1} \left[\frac{s^2_1}{n_1} \right]^2 + \frac{1}{n_2 - 1} \left[\frac{s^2_2}{n_2} \right]^2}$$

Si $t'0 < T_{k, 0,05}$, la différence n'est pas significative au seuil de 5%.

Si $t'0 > T_{k, 0,05}$, la différence est significative, et le risque $t'0$ lu dans la table de Student détermine le niveau de signification.

Cette formule est utilisée pour comparer les moyennes des poids des pupes, les moyennes des taux et des cumuls de pontes.

2. RESULTATS

2.1. CHALLENGE 0

2.1.1. Performances des 19 lots de mouches

Comme nous l'avons vu précédemment, le challenge 0 a pour but de sélectionner 14 bovins pour les essais d'immunisation, à partir des performances des lots de mouches nourris sur ces animaux.

Les résultats enregistrés au cours de ce suivi sont regroupés dans le tableau suivant.

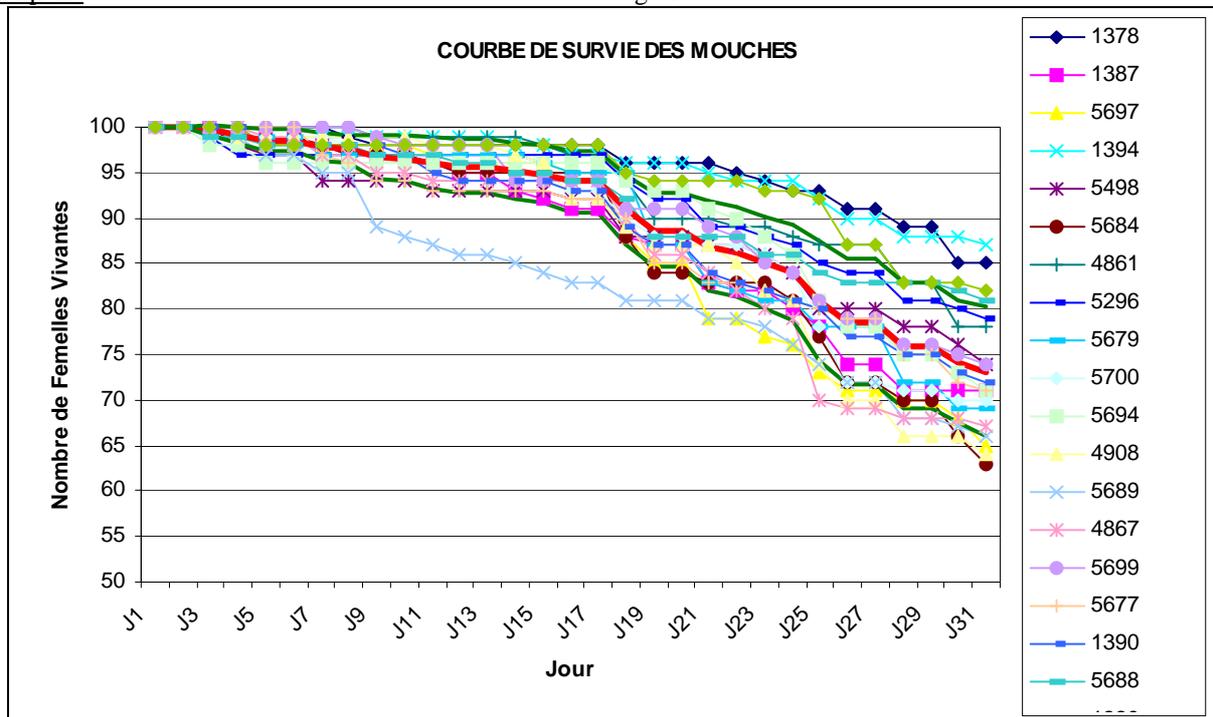
Tableau 1 résultats du challenge 0.

Numéro du lot de mouches	Taux de mortalité (%) à J30	Nombre de pupes pondues/ 100 femelles gorgées au départ	Poids moyen des pupes
1378	15	193	24,2
1387	29	158	24,7
5697	35	140	23,3
1394	13	170	25,5
5498	26	164	23,5
5684	37	144	23,5
4861	22	172	23,6
5296	21	159	23
5679	31	143	23,3
5700	30	130	22,6
5694	29	158	23,6
4908	36	172	25,2
5689	34	97	22,9
4867	33	141	23,4
5699	26	176	24,5
5677	29	144	23,8
1390	28	155	23,9
5688	19	116	23,6
1380	18	178	24,6
MOYENNE	26,9	153,2	23,8

Pour chaque lot de mouche, la mortalité et les caractéristiques de la ponte ont été enregistrées.

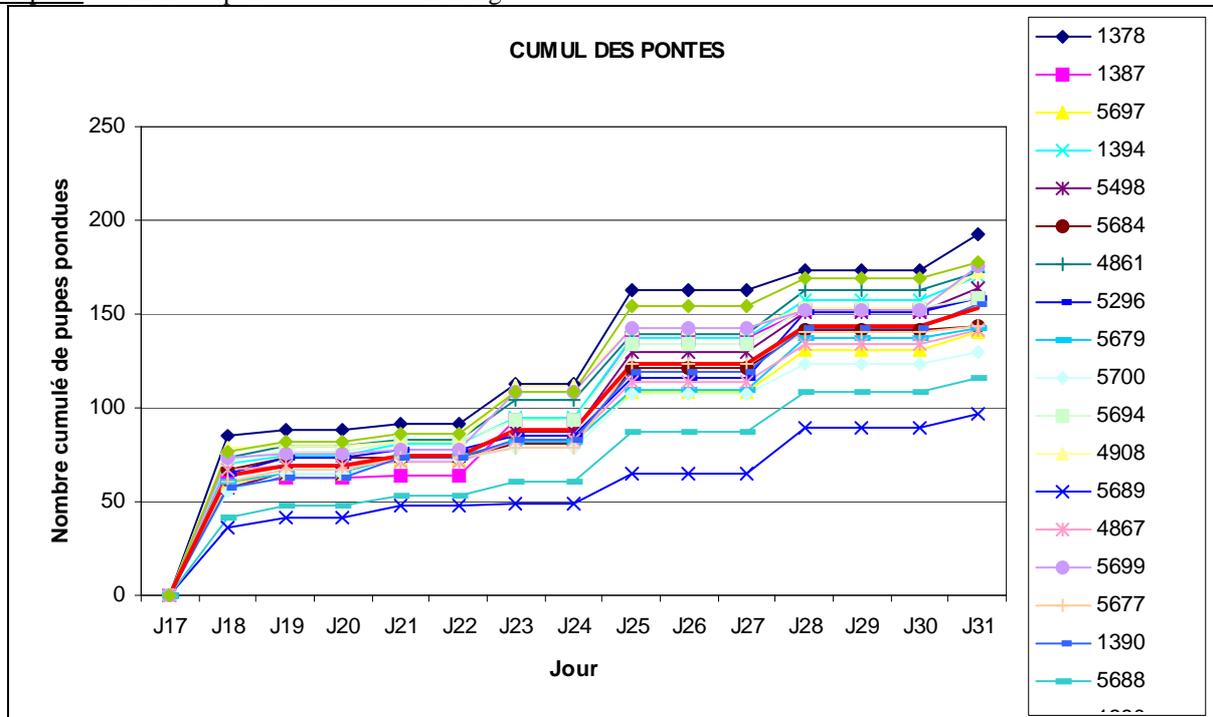
Les représentations graphiques des courbes de survie des mouches et des cumuls de ponte permettent de mieux visualiser la répartition des performances des différents lots de mouches.

Graph. 1 courbes de survie des lots de mouches du challenge 0



Le nombre de femelles vivantes est reporté quotidiennement, pour chacun des lots dont les numéros d'identification sont précisés à droite du graphique. J0 correspond au jour d'éclosion des mouches de ces lots.

Graph. 2 cumuls de ponte des lots du challenge 0



Le nombre cumulé de pupes pondues par lot de mouches a été reporté quotidiennement. Les jours sont indiqués en nombre de jours depuis l'éclosion des mouches des lots du challenge 0.

2.1.2. Elimination de 5 bovins en fonction des performances des lots de mouches

Les résultats présentés ci-dessus nous ont permis d'écarter 5 bovins, pour lesquels les performances des lots de mouches étaient éloignées de la moyenne.

Pour chacun de ces animaux, nous allons brièvement évoquer les raisons de son éviction.

2.1.2.1 Bovin n° 5689

Le lot de mouches nourries sur cet animal présente une courbe de mortalité dont le profil diffère des autres lots. De plus, l'effectif de mouches vivantes après 30 jours est plus faible que la moyenne.

Les performances de reproductions sont également faibles : nombre total de pupes pondues inférieur à celui des autres groupes et pupes de faible poids.

2.1.2.2 Bovin n° 5688

Le nombre total de pupes pondues par ce lot de mouches est nettement inférieur à la moyenne de l'ensemble des lots.

De plus, la mortalité du lot de mouche nourri sur ce bovin est assez importante.

2.1.2.3 Bovin n° 5697

La mortalité observée sur le lot de mouches nourri sur le bovin n° 5697 est supérieure à la moyenne de l'ensemble des lots.

2.1.2.4 Bovin n° 1378

L'effectif de mouches vivantes après 30 jours de suivi est largement supérieur à la moyenne, pour les mouches nourries sur ce bovin.

De plus, le nombre total de pupes pondues par ce lot est bien plus grand que la moyenne.

2.1.2.5 Bovin n° 1394

La mortalité du lot de mouches nourries sur le bovin n°1394 est inférieure à la moyenne des 19 lots.

Le poids des pupes pondues par ce même lot de mouches est beaucoup plus grand que le poids moyen des pupes de la totalité des lots.

2.1.3. Constitution des quatre groupes JJP, IJ, IP et T

Les animaux gardés pour l'essai d'immunisation ont été répartis de manière aléatoire en quatre groupes.

Des tests statistiques ont permis de vérifier que les lots ainsi constitués sont homogènes et qu'il n'existe pas de différence significative entre chacun des groupes vaccinés avec les fractions JJP, IJ et IP d'une part et le groupe témoin d'autre part.

2.1.3.1 Groupe Témoin :

Bovins n° 1380, 5684, 5679, 5498

2.1.3.2 Groupe JJP :
Bovins n° 5699 et 5677

2.1.3.3 Groupe IJ :
Bovins n° 5296, 5700, 5694 et 4908

2.1.3.4 Groupe IP :
Bovins n° 4861, 1390, 1387 et 4867

2.1.4. Résultats des différents groupes du challenge 0

2.1.4.1 Suivi du groupe T0

Tableau 2 performances du groupe témoin pour le challenge 0

Lot de mouches	Taux de mortalité (%)	Nombre de pupes pondues/ 100 femelles	Taux de ponte (%)	Poids moyen des pupes
T0 5679	31	143	160	23,3
T0 5498	26	164	183,5	23,5
T0 5684	37	144	163,6	23,5
T0 1380	18	178	188,5	24,6
Moyenne du groupe T	28	157,3	174,1	23,8

Les résultats individuels des lots sont indiqués, ainsi que les performances moyennes du lot témoin.

2.1.4.2 Suivi du groupe JJPO

Tableau 3 performances du groupe JJP pour le challenge 0

Lot de mouches	Taux de mortalité (%)	Nombre de pupes pondues/ 100 femelles	Taux de ponte (%)	Poids moyen des pupes
JJP0 5699	26	176	193,1	24,5
JJP0 5677	29	144	162,3	23,8
Moyenne du groupe JJP	27,5	160	177,9	24,1

2.1.4.3 Suivi du groupe IJ0

Tableau 4 performances du groupe IJ pour le challenge 0

Lot de mouches	Taux de mortalité (%)	Nombre de pupes pondues/ 100 femelles	Taux de ponte (%)	Poids moyen des pupes
IJ0 5694	29	158	174,3	23,6
IJ0 5700	30	130	145,6	22,6
IJ0 4908	36	172	194,7	25,2
IJ0 5296	21	159	172,2	23
Moyenne du groupe IJ	29	154,8	171,7	23,6

2.1.4.4 Suivi du groupe IP0

Tableau 5 performances du groupe IP pour le challenge 0

Lot de mouches	Taux de mortalité (%)	Nombre de pupes pondues/ 100 femelles	Taux de ponte (%)	Poids moyen des pupes
IP0 1390	28	155	173,7	23,9
IP0 4861	22	172	183,9	23,6
IP0 1387	29	158	178,9	24,7
IP0 4867	33	141	161,5	23,4
Moyenne du groupe IP	28	156,5	174,7	23,9

2.1.4.5 Comparaison des moyennes des groupes du challenge 0

Tableau 6 moyennes des différents groupes du challenge 0

Lot de mouches	Taux de mortalité (%)	Nombre de pupes pondues/ 100 femelles	Taux de ponte (%)	Poids moyen des pupes
Moyenne JJP0	27,5	160	177,9	24,1
Moyenne LJ0	29	154,8	171,7	23,6
Moyenne IP0	28	156,5	174,7	23,9
Moyenne T0	28	157,3	174,1	23,8

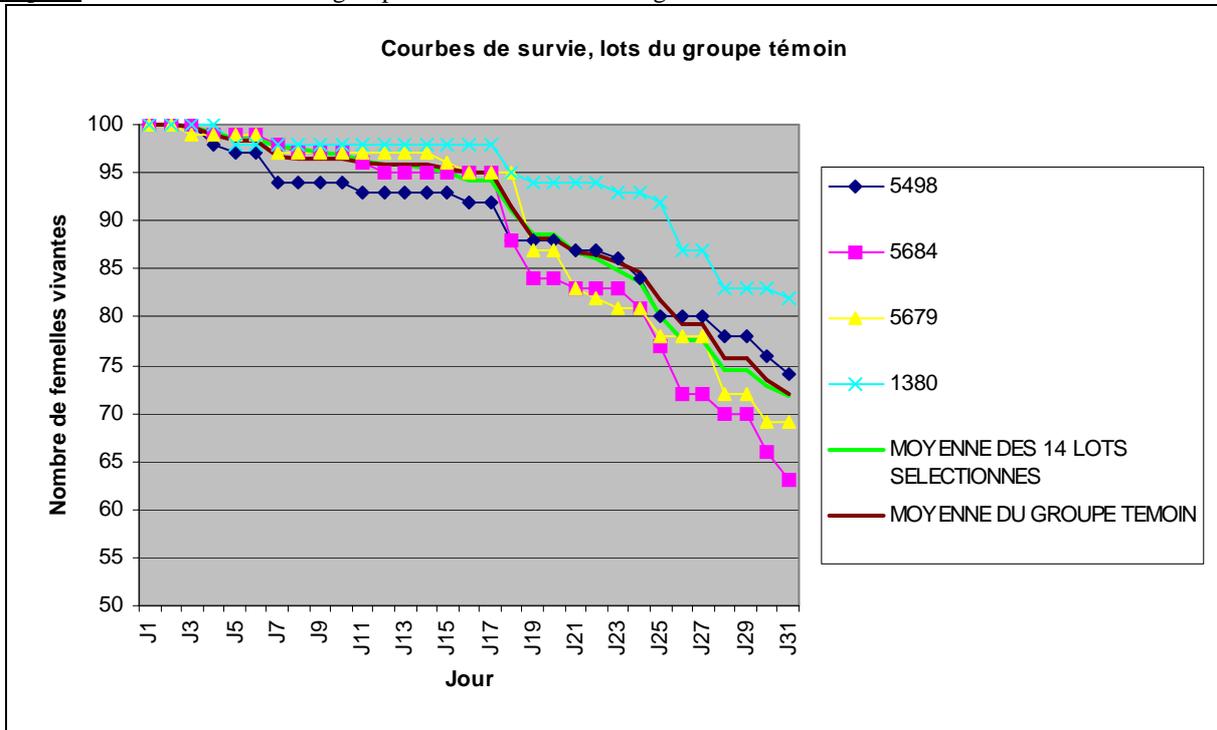
Ce tableau récapitule les performances moyennes des lots nourris sur chacun des groupes de bovins, au cours du challenge 0.

2.1.5. Taux de mortalité

Les courbes de survie des différents groupes sont présentées ci-dessous.

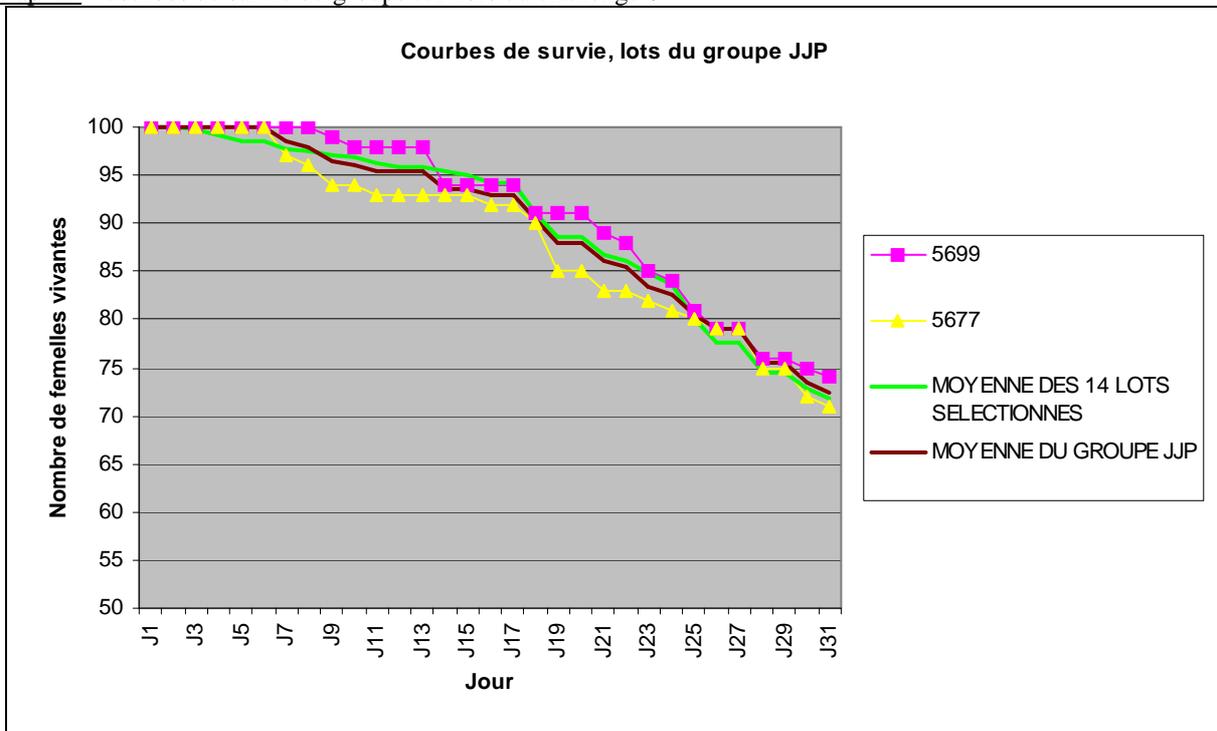
2.1.5.1 Groupe T0

Graph. 3 courbes de survie du groupe témoin lors du challenge 0



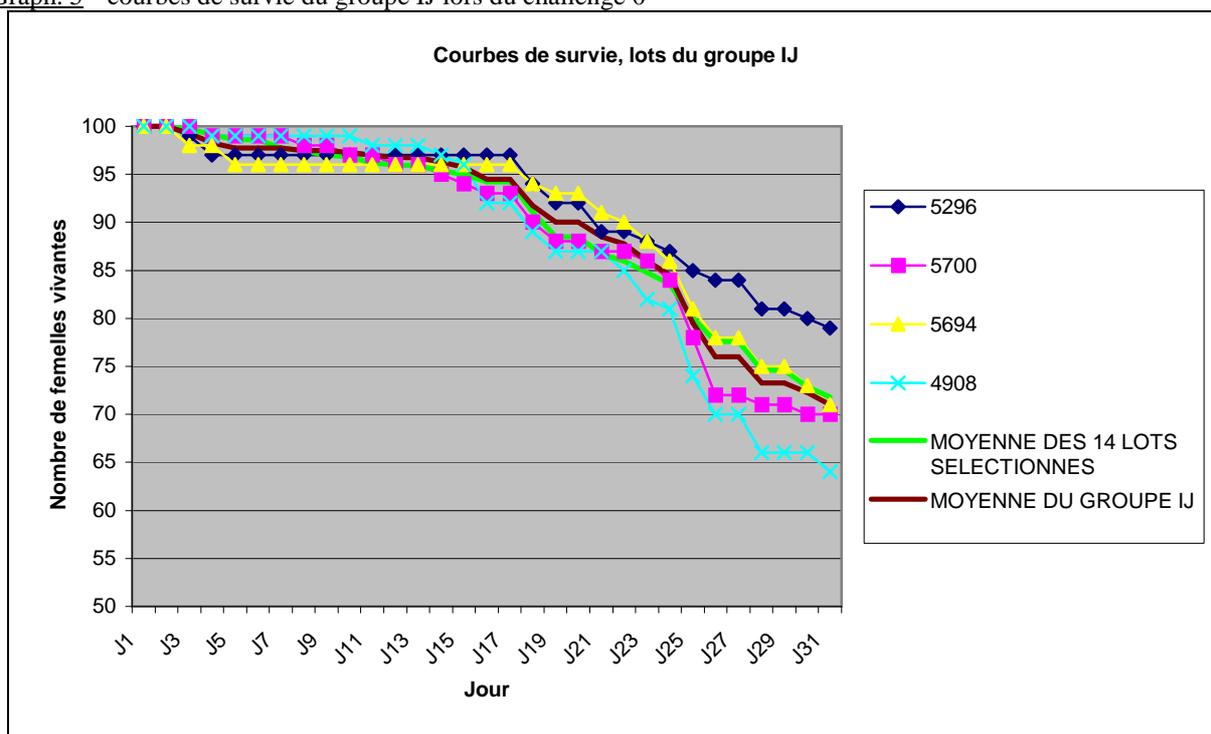
2.1.5.2 Groupe JJP0

Graph. 4 courbes de survie du groupe JJP lors du challenge 0



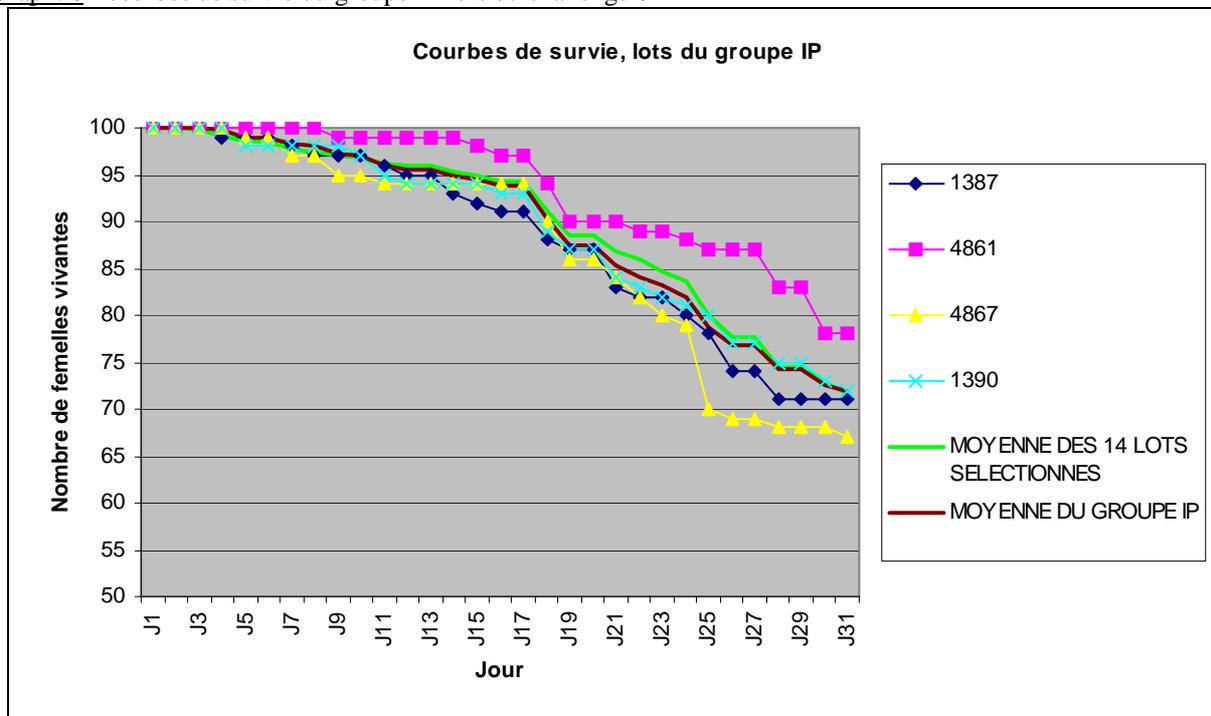
2.1.5.3 Groupe IJ0

Graph. 5 courbes de survie du groupe IJ lors du challenge 0



2.1.5.4 Groupe IP0

Graph. 6 courbes de survie du groupe IP lors du challenge 0



2.1.5.5 Comparaison des taux de mortalités des groupes du challenge 0

Les taux de mortalité des lots de mouches appartenant aux groupes JJP0, IJ0 et IP0 ont été comparés à celui des lots nourris sur les animaux témoins.

Le test utilisé pour faire cette comparaison de pourcentages est le Test de l'écart réduit.

L'analyse statistique des résultats a révélé qu'il n'existe pas de différence significative au seuil de 5% entre les taux de mortalité des différents groupes.

2.1.6. Cumul de ponte

Le cumul de ponte correspond au nombre total de pupes pondues par lot de 100 femelles gorgées à J0.

Les moyennes des taux de pontes des lots des groupes JJP0, IJ0 et IP0 ont été comparées à celle des lots du groupe T0, à l'aide de la formule détaillée dans la partie Matériels et Méthodes de ce rapport.

Après analyse statistique, il s'avère que les différences observées ne sont pas significatives à 5%.

2.1.7. Taux de ponte

Le taux de ponte correspond au rapport suivant :

$$\frac{\text{Cumul de ponte}}{\text{Nombre de femelles en ponte/jour}} \times 100$$

Les taux de ponte des groupes JJP0, IJ0 et IP0 ont été comparés au taux de ponte du groupe témoin.

Les différences constatées entre les différents groupes ne sont statistiquement pas significatives.

2.1.8. Poids des pupes

Les moyennes des poids des pupes des lots des groupes JJP0, IJ0 et IP0 ont été comparées à celle des lots du groupe T0 avec la même formule que celle utilisée pour comparer les moyennes des cumuls de ponte.

L'analyse statistique a révélé que la différence observée entre respectivement, les lots JJP0 et T0, les lots IJ0 et T0, et les lots IP0 et T0, n'est pas significative au seuil de 5%.

2.2. CHALLENGE 1

2.2.1. Résultats

Le challenge 1 a commencé 5 jours après la dernière injection immunisante et a duré 5 semaines.

Les résultats enregistrés au cours de cette période sont présentés ci-dessous.

2.2.1.1 Suivi du groupe T1

Tableau 7 performances du groupe témoin pour le challenge 1

Lot de mouches	Taux de mortalité (%) à J35	Nombre de pupes pondues/ 100 femelles gorgées au départ	Taux de ponte (%)	Poids moyen des pupes
T1 5679	24	187	203,2	23,8
T1 5498	27	208	223,2	25,3
T1 5684	17	215	226,6	25,4
T1 1380	22	234	250,2	25,6
Moyenne du groupe T	22,5	211	225,9	25

2.2.1.2 Suivi du groupe JJP1

Tableau 8 performances du groupe JJP pour le challenge 1

Lot de mouches	Taux de mortalité (%) à J35	Nombre de pupes pondues/ 100 femelles gorgées au départ	Taux de ponte (%)	Poids moyen des pupes
JJP1 5699	44	157	179,6	23,4
JJP1 5677	17	226	238,2	25
Moyenne du groupe JJP	30,5	191,5	210,1	24,2

2.2.1.3 Suivi du groupe IJ1

Tableau 9 performances du groupe IJ pour le challenge 1

Lot de mouches	Taux de mortalité (%) à J35	Nombre de pupes pondues/ 100 femelles gorgées au départ	Taux de ponte (%)	Poids moyen des pupes
IJ1 5694	25	117	128	23,8
IJ1 5700	39	152	182,3	23,5
IJ1 4908	13	232	239,5	25,5
IJ1 5296	17	209	220,3	23,9
Moyenne du groupe IJ	23,5	177,5	193,7	24,2

2.2.1.4 Suivi du groupe IP1

Tableau 10 performances du group IP lors du challenge 1

Lot de mouches	Taux de mortalité (%) à J35	Nombre de pupes pondues/ 100 femelles gorgées au départ	Taux de ponte (%)	Poids moyen des pupes
IP1 1390	14	230	240,7	25,2
IP1 4861	23	153	161,4	23,2
IP1 1387	20	218	230,4	24,7
IP1 4867	34	168	191,7	24,9
Moyenne du groupe IP	22,8	192,3	206,4	24,5

2.2.1.5 Comparaison des moyennes des groupes du challenge 1

Tableau 11 moyennes des différents groupes du challenge 1

Lot de mouches	Taux de mortalité (%) à J35	Nombre de pupes pondues/ 100 femelles gorgées au départ	Taux de ponte (%)	Poids moyen des pupes
Moyenne JJP1	30,5	191,5	210,1	24,2
Moyenne IJ1	23,5	177,5	193,7	24,2
Moyenne IP1	22,8	192,3	206,4	24,5
Moyenne T1	22,5	211	225,9	25

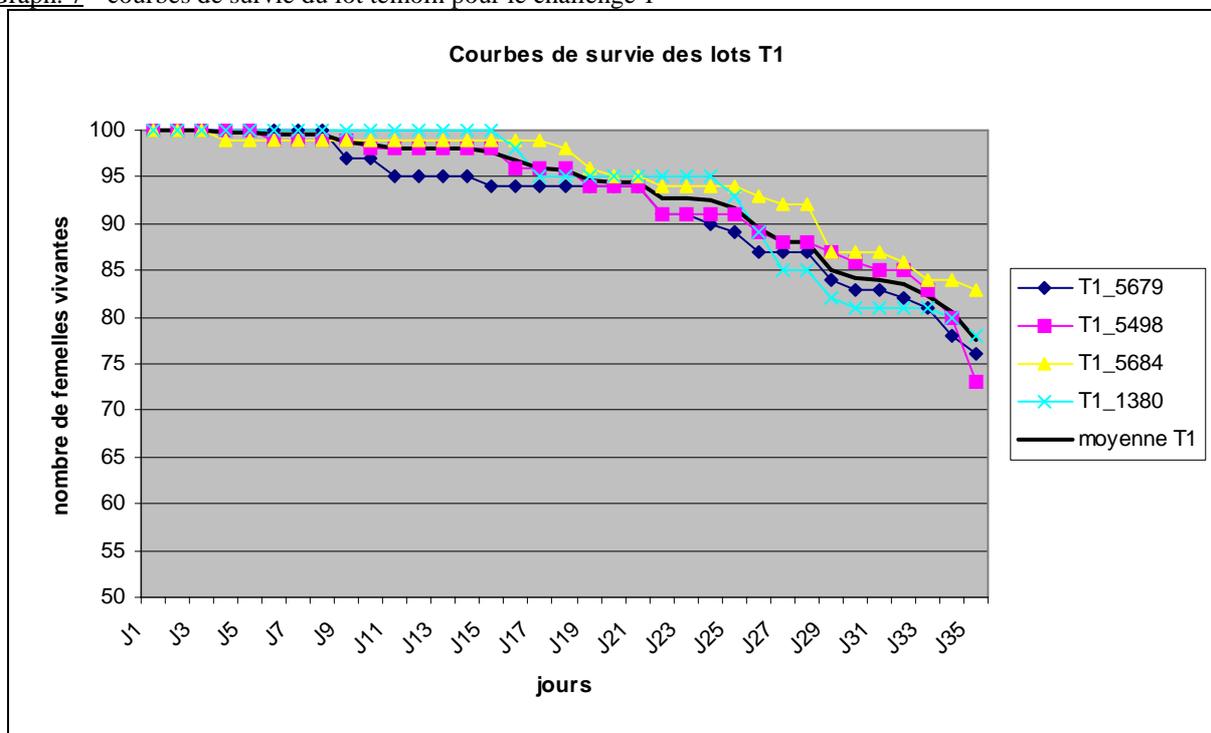
Ce tableau récapitule les performances moyennes des lots nourris sur chacun des groupes de bovins, au cours du challenge 1.

2.2.2. Taux de mortalité

Les courbes de survie des différents groupes sont décrites ci-après.

2.2.2.1 Groupe T1

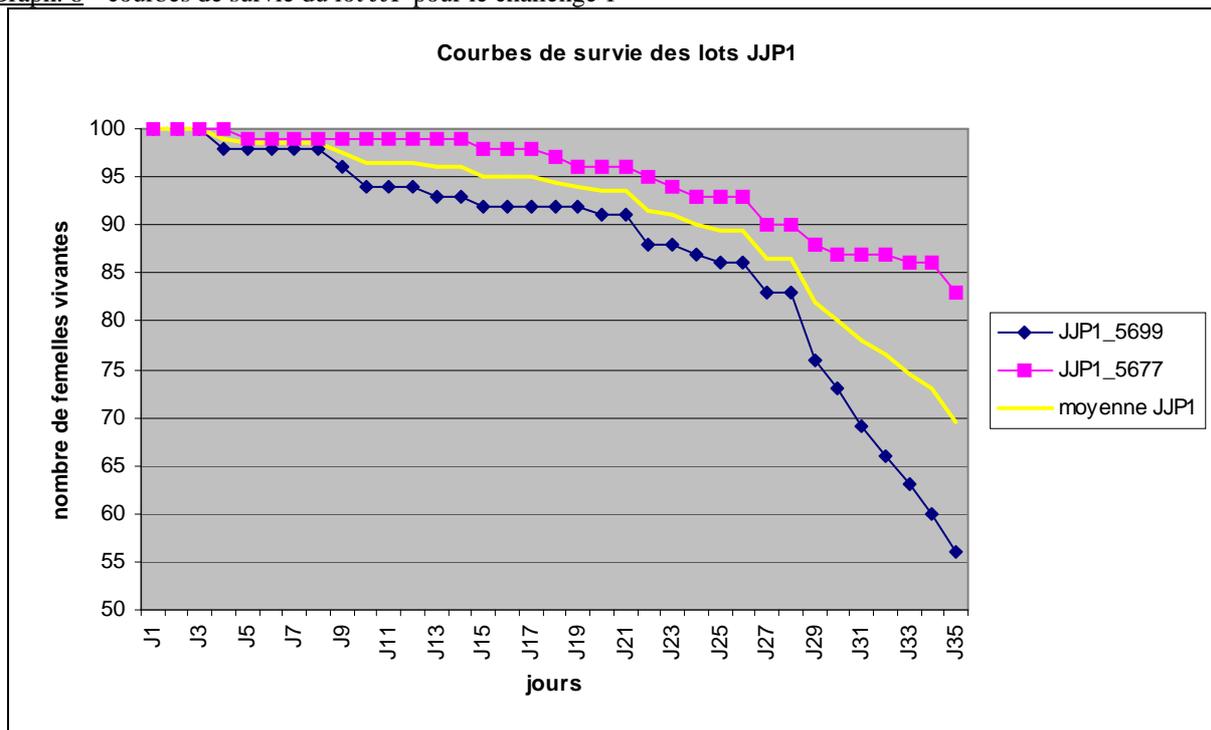
Graph. 7 courbes de survie du lot témoin pour le challenge 1



Le groupe T1 est assez homogène.

2.2.2.2 Groupe JJP1

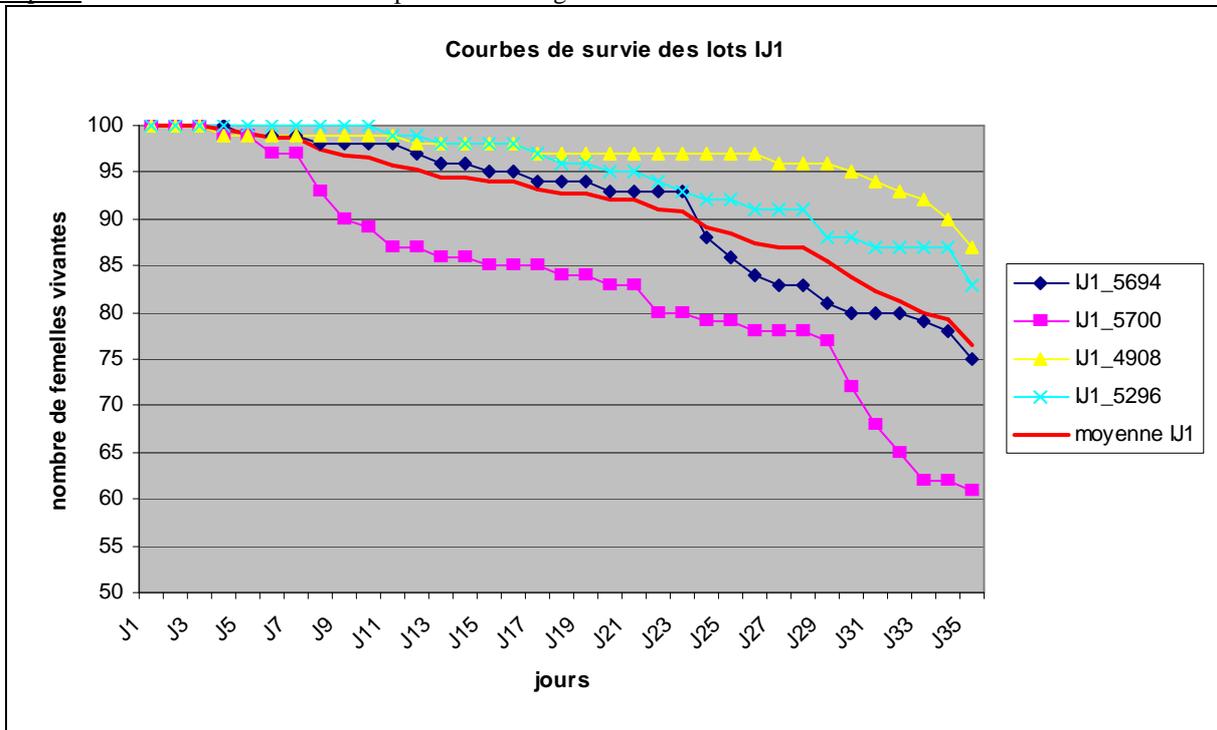
Graph. 8 courbes de survie du lot JJP pour le challenge 1



Les courbes de survie des deux lots du groupe JJP1 sont très différentes : la mortalité a été beaucoup plus importante dans le lot JJP1_5699 que dans le lot JJP1_5677.

2.2.2.3 Groupe IJ1

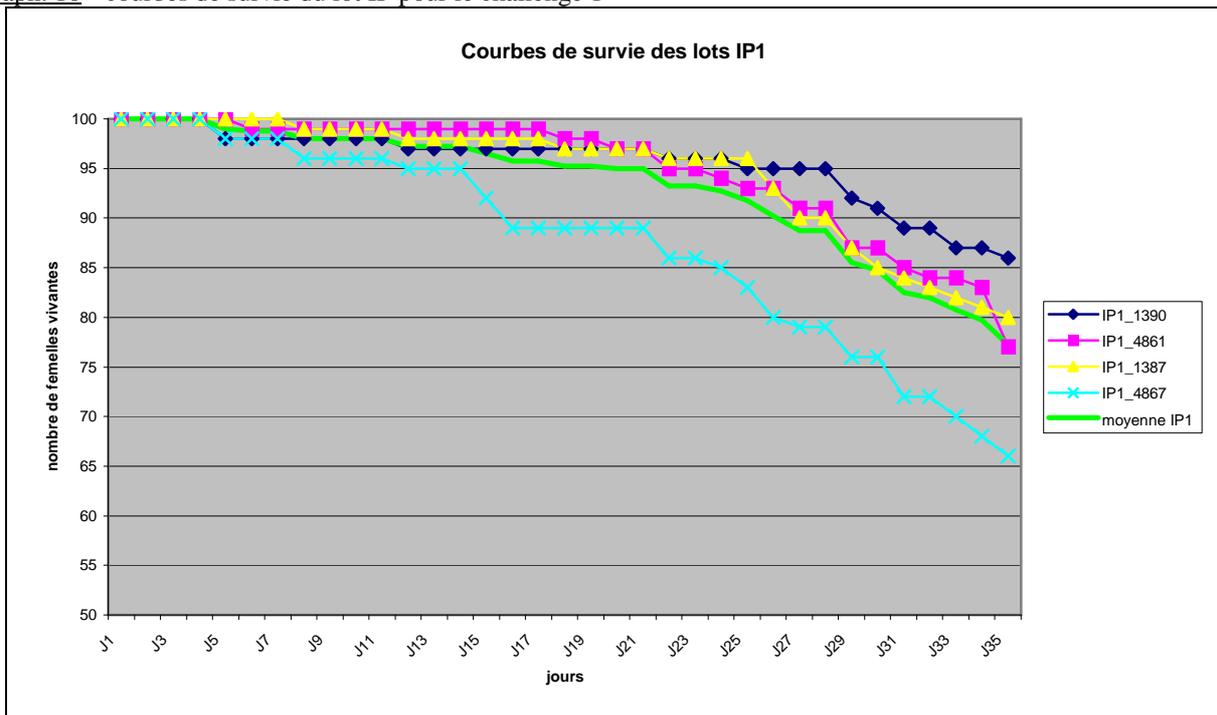
Graph. 9 courbes de survie du lot IJ pour le challenge 1



La variabilité intragroupe est également importante entre les lots du groupe IJ1. Le lot IJ1_5700 notamment présente une forte mortalité.

2.2.2.4 Groupe IP1

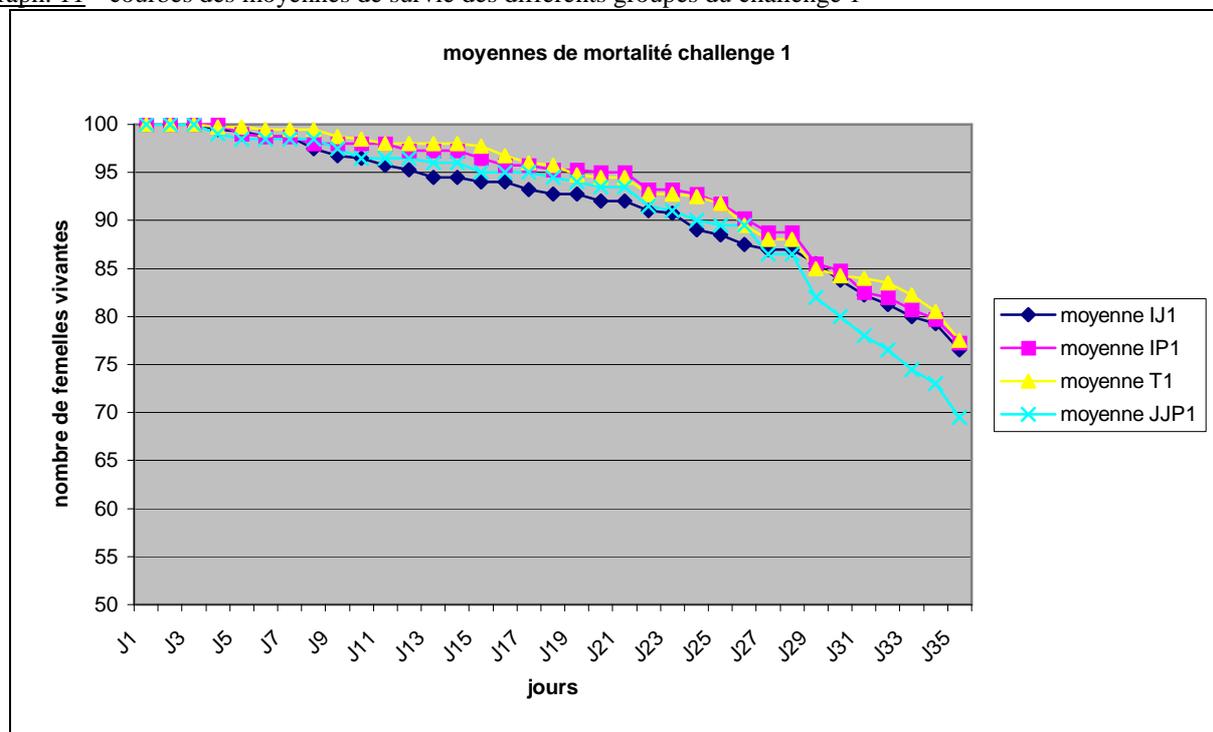
Graph. 10 courbes de survie du lot IP pour le challenge 1



Au sein du groupe IP1, la mortalité du lot IP1_4867 apparaît plus importante que la mortalité des trois autres lots.

2.2.2.5 Comparaison des taux de mortalités des groupes du challenge 1

Graph. 11 courbes des moyennes de survie des différents groupes du challenge 1



Les taux de mortalités des lots de mouches nourries sur les bovins des différents groupes immunisés ont été comparés à celui des lots nourris sur les animaux témoins.

Le test utilisé pour faire cette comparaison de pourcentages est le Test de l'écart réduit.

L'analyse statistique des résultats a révélé que :

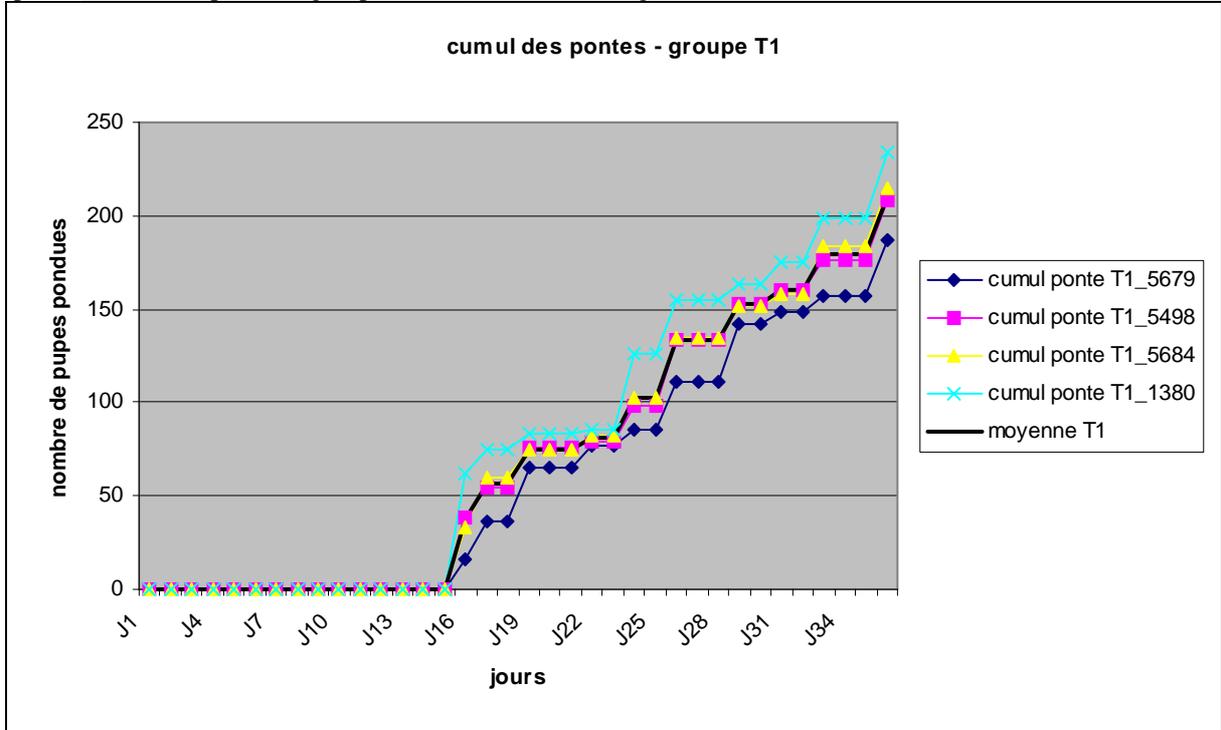
- La différence entre le taux de mortalité moyen des lots JJP1 et celui des lots T1 n'est pas significative au seuil de 5%
- La différence entre le taux de mortalité moyen des lots IJ1 et celui des lots T1 n'est pas significative au seuil de 5%
- La différence entre le taux de mortalité moyen des lots IP1 et celui des lots T1 n'est pas significative au seuil de 5%

2.2.3. Cumul de ponte

Les représentations graphiques des cumuls de pontes sont les suivantes.

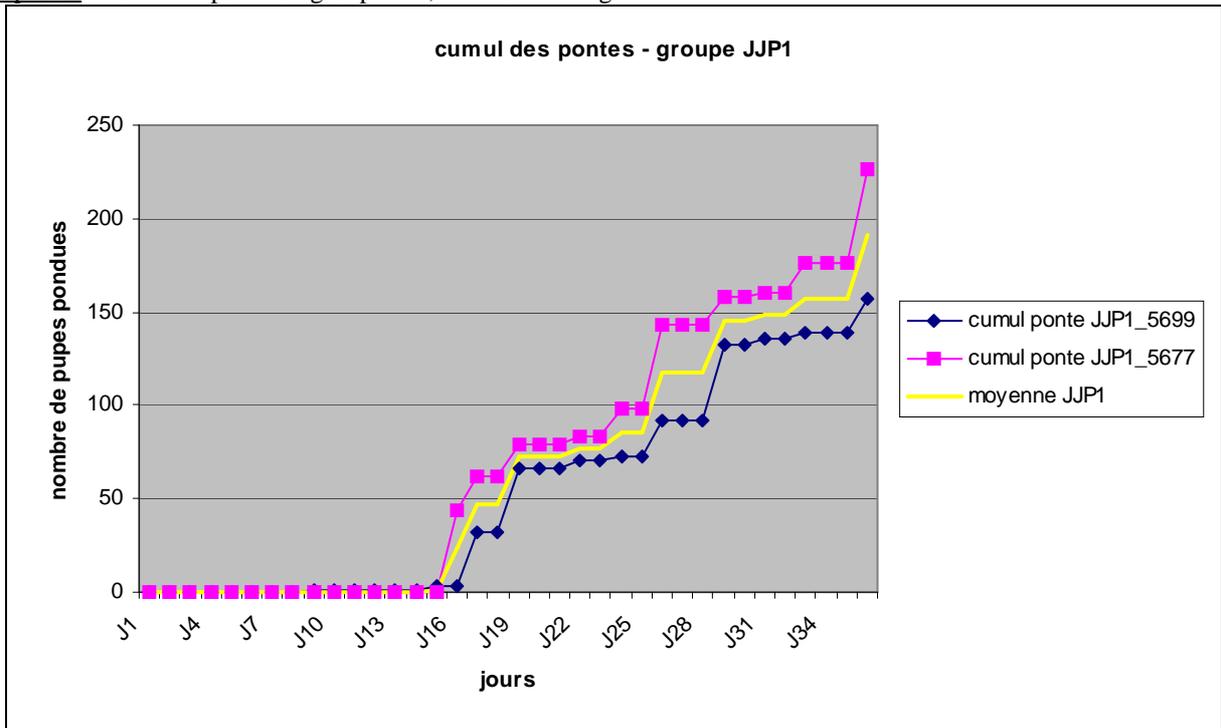
2.2.3.1 Groupe T1

Graph. 12 cumul de ponte du groupe témoin, lors du challenge 1



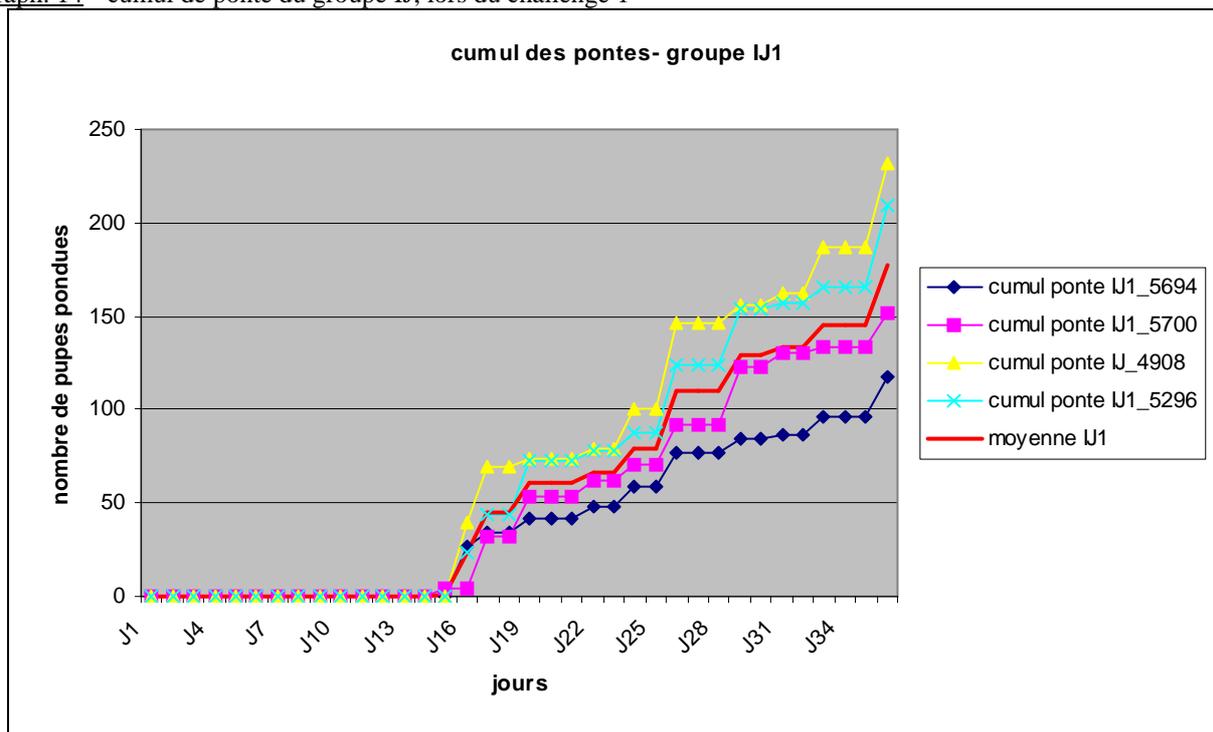
2.2.3.2 Groupe JJP1

Graph. 13 cumul de ponte du groupe JJP, lors du challenge 1



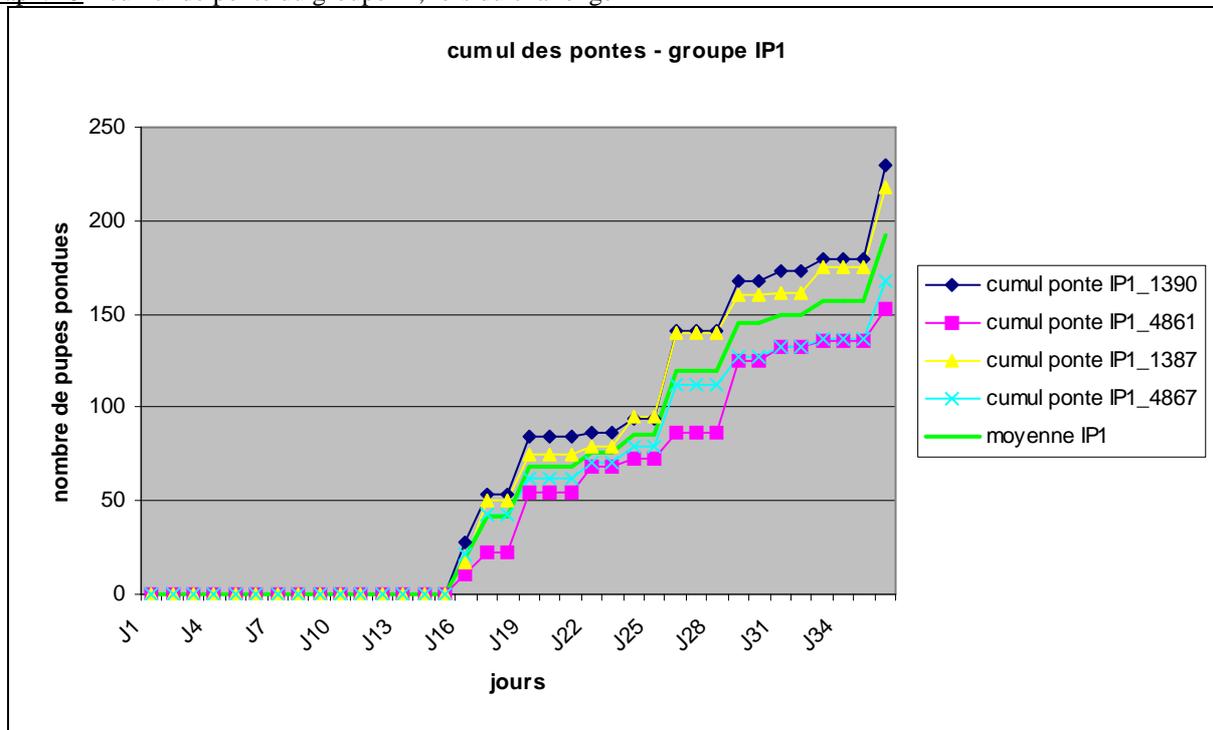
2.2.3.3 Groupe IJ1

Graph. 14 cumul de ponte du groupe IJ, lors du challenge 1



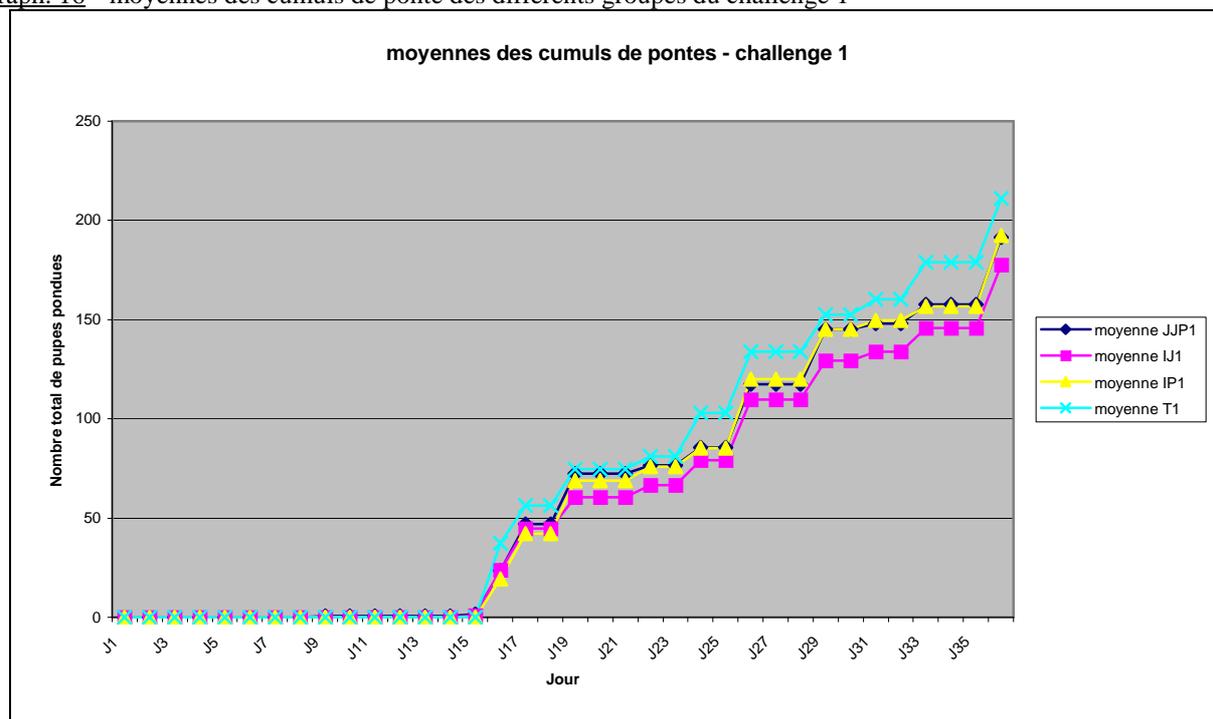
2.3.1.1 Groupe IP1

Graph. 15 cumul de ponte du groupe IP, lors du challenge 1



2.2.3.4 Comparaison des moyennes des cumuls de pontes des groupes du challenge 1

Graph. 16 moyennes des cumuls de ponte des différents groupes du challenge 1



Les moyennes des cumuls de pontes des lots des groupes JJP1, IJ1 et IP1 ont été comparées à celle des lots du groupe T1 grâce à la formule détaillée dans la partie Matériels et Méthode.

Après analyse statistique, il s'avère que la différence observée n'est pas significative à 5% entre, respectivement, les lots JJP1 et T1, les lots IJ1 et T1, et les lots IP1 et T1.

2.2.4. Taux de ponte

La comparaison statistique des taux de ponte des groupes nourris sur les bovins immunisés, avec celui du groupe témoin, ne révèle pas de différence significative au seuil de 5%.

2.2.5. Poids des pupes

Les moyennes des taux de pontes des lots des groupes JJP1, IJ1 et IP1 ont été comparées à celle des lots du groupe T1.

L'analyse statistique a révélé que la différence observée entre respectivement, les lots JJP1 et T1, les lots IJ1 et T1, et les lots IP1 et T1, n'est pas significative à 5%.

2.3. CHALLENGE 2

2.3.1. Résultats

Le challenge 2 a commencé 25 jours après la dernière injection immunisante et a duré 5 semaines. Les résultats enregistrés au cours de cette période sont présentés ci-dessous.

2.3.1.2 Suivi du groupe T2

Tableau 12 performances du groupe témoin au cours du challenge 2

Lot de mouches	Taux de mortalité (%) à J35	Nombre de pupes pondues/ 100 femelles gorgées au départ	Taux de ponte (%)	Poids moyen des pupes
T2 5679	43	149	177,3	25,0
T2 5498	32	188	212,3	24,3
T2 5684	25	232	248,1	26,1
T2 1380	16	238	250,8	25,0
Moyenne du groupe T	29	201,8	223,5	25,1

2.3.1.3 Suivi du groupe JJP2

Tableau 13 performances du groupe JJP pour le challenge 2

Lot de mouches	Taux de mortalité (%) à J35	Nombre de pupes pondues / 100 femelles gorgées au départ	Taux de ponte (%)	Poids moyen des pupes
JJP2 5699	47	177	195,4	23,3
JJP2 5677	13	192	203,2	25,0
Moyenne du groupe JJP	30	184,5	199,4	24,1

2.3.1.4 Suivi du groupe IJ2

Tableau 14 performances du groupe IJ pour le challenge 2

Lot de mouches	Taux de mortalité (%) à J35	Nombre de pupes pondues/ 100 femelles gorgées au départ	Taux de ponte (%)	Poids moyen des pupes
IJ2 5694	47	109	123,7	21,9
IJ2 5700	38	183	211,1	24,2
IJ2 4908	20	232	247	25,6
IJ2 5296	32	198	219,6	24,9
Moyenne du groupe IJ	34,3	180,5	201,2	24,2

2.3.1.5 Suivi du groupe IP2

Tableau 15 performances du groupe IP pour le challenge 2

Lot de mouches	Taux de mortalité (%) à J35	Nombre de pupes pondues/ 100 femelles gorgées au départ	Taux de ponte (%)	Poids moyen des pupes
IP2 1390	36	179	205,3	25,0
IP2 4861	47	104	125,8	22,1
IP2 1387	24	197	208,1	26,1
IP2 4867	37	196	219,5	24,6
Moyenne du groupe IP	36	169	191,1	24,4

2.3.1.6 Comparaison des moyennes des groupes du challenge 2

Tableau 16 moyennes des différents groupes du challenge 2

Lot de mouches	Taux de mortalité (%) à J35	Nombre de pupes pondues/ 100 femelles gorgées au départ	Taux de ponte (%)	Poids moyen des pupes
Moyenne JJP2	30	184,5	199,4	24,1
Moyenne IJ2	34,3	180,5	201,2	24,2
Moyenne IP2	36	169	191,1	24,4
Moyenne T2	29	201,8	223,5	25,1

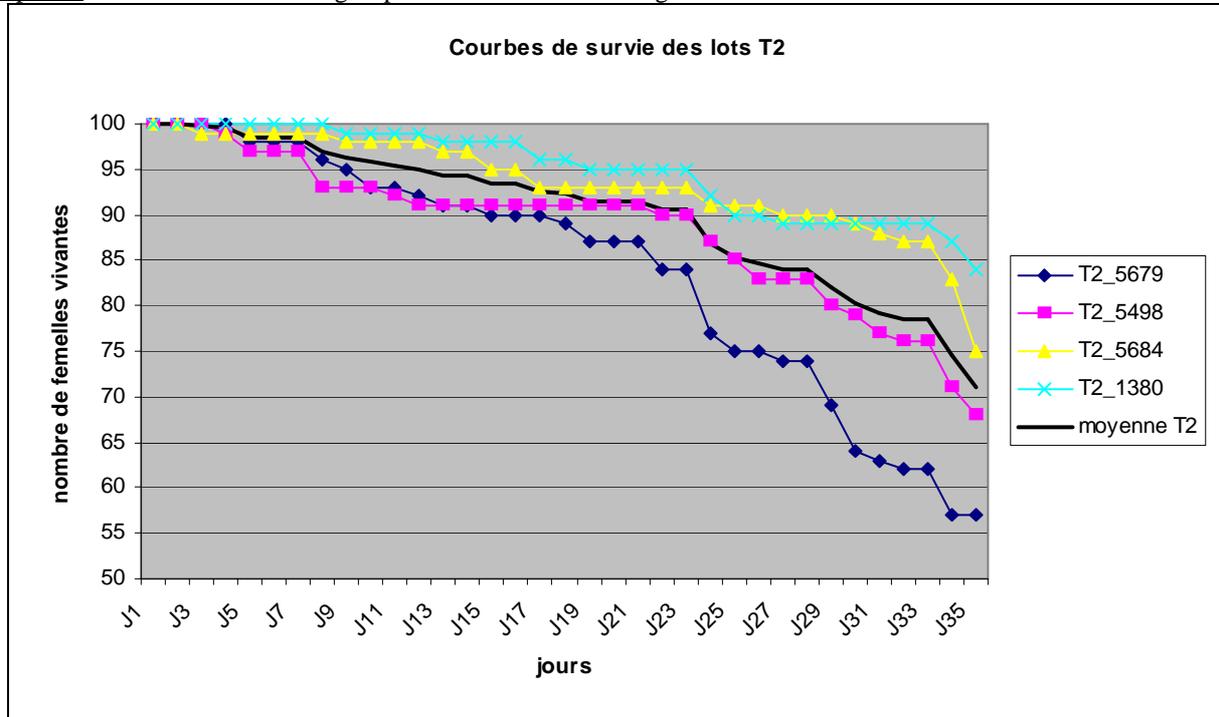
Ce tableau récapitule les performances moyennes des lots nourris sur chacun des groupes de bovins, au cours du challenge 2.

2.3.2. Taux de mortalité

Les courbes de survie des différents groupes sont les suivantes.

2.3.2.1 Groupe T2

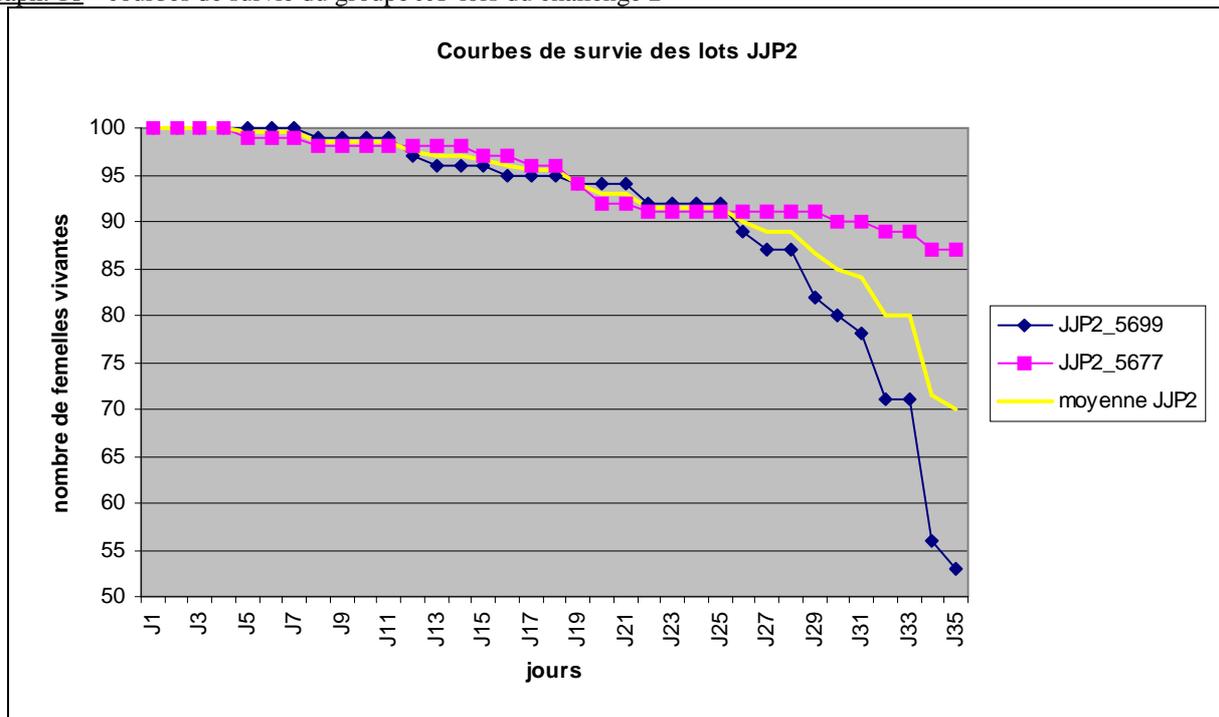
Graph. 17 courbes de survie du groupe témoin lors du challenge 2



Les taux de mortalité des lots du groupe T2 sont beaucoup moins homogènes que ceux des lots témoins du premier challenge.

2.3.2.2 Groupe JJP2

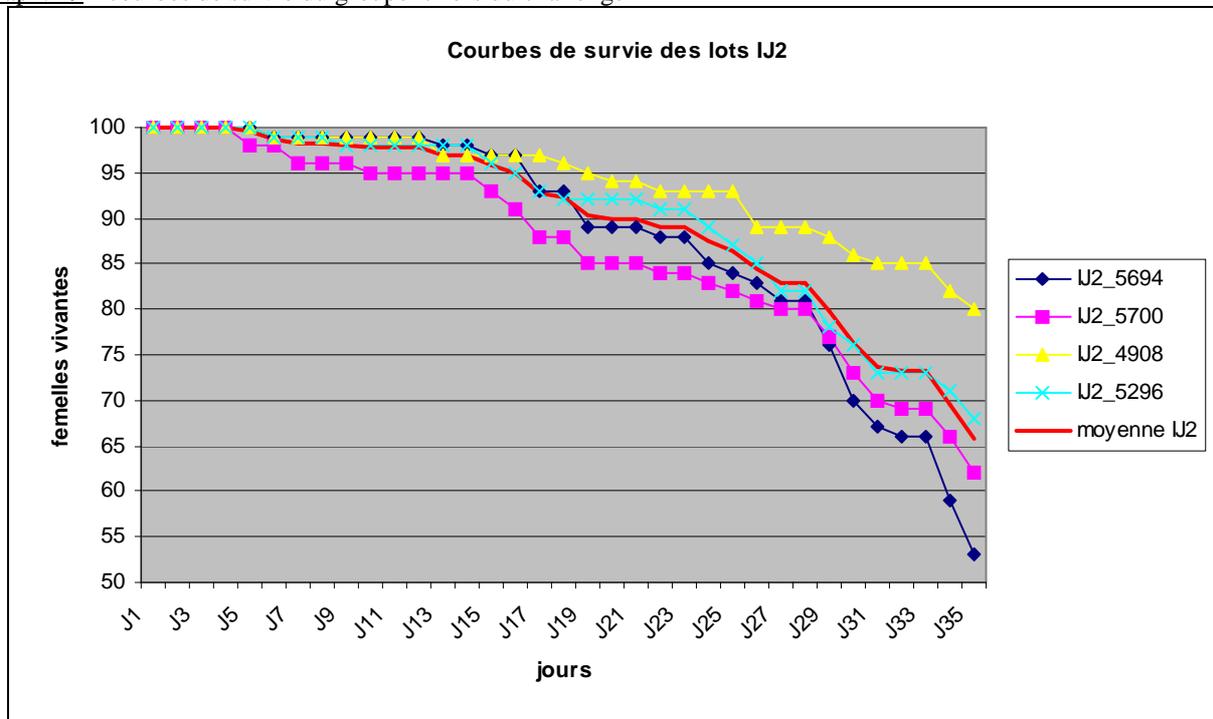
Graph. 18 courbes de survie du groupe JJP lors du challenge 2



Les taux de mortalité observés dans les deux lots du groupe JJP2 sont très différents. Les courbes de survie montrent que la différence est surtout importante à la fin du challenge 2, à partir de J25.

2.3.2.3 Groupe IJ2

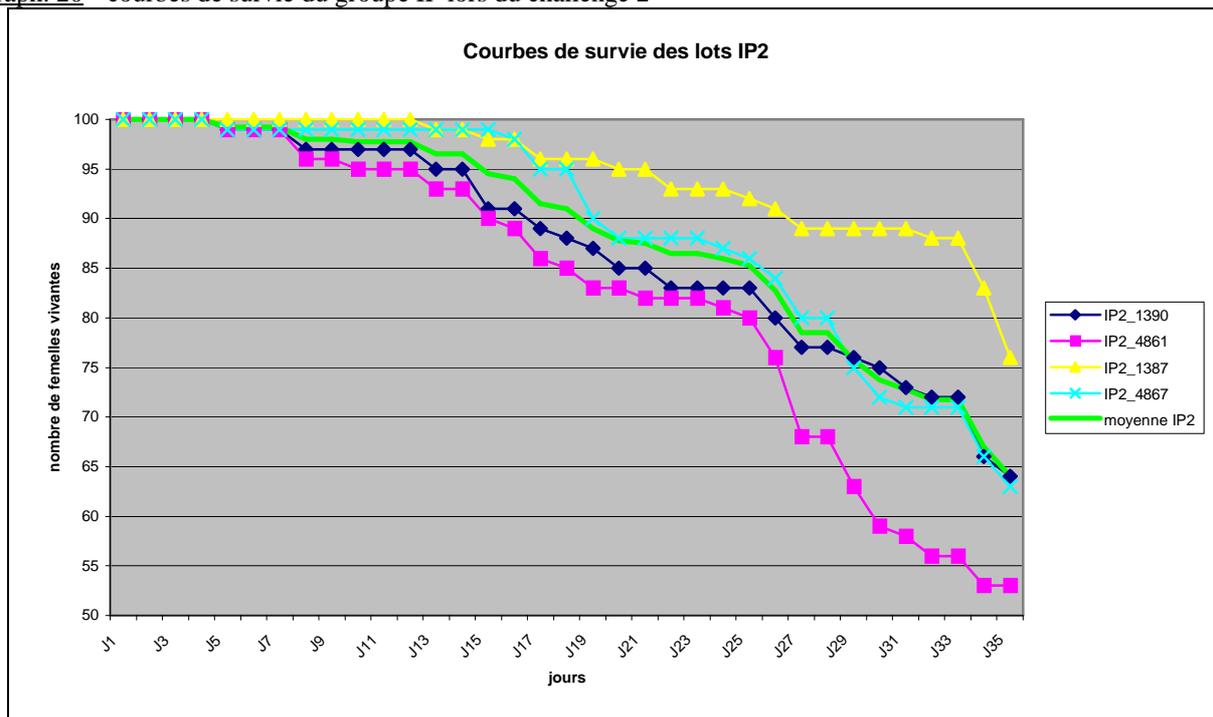
Graph. 19 courbes de survie du groupe IJ lors du challenge 2



Dans le groupe IJ2, la variabilité entre les lots est grande. La mortalité du lot IJ2_4908 est inférieure à la moyenne de mortalité des 4 lots.

2.3.2.4 Groupe IP2

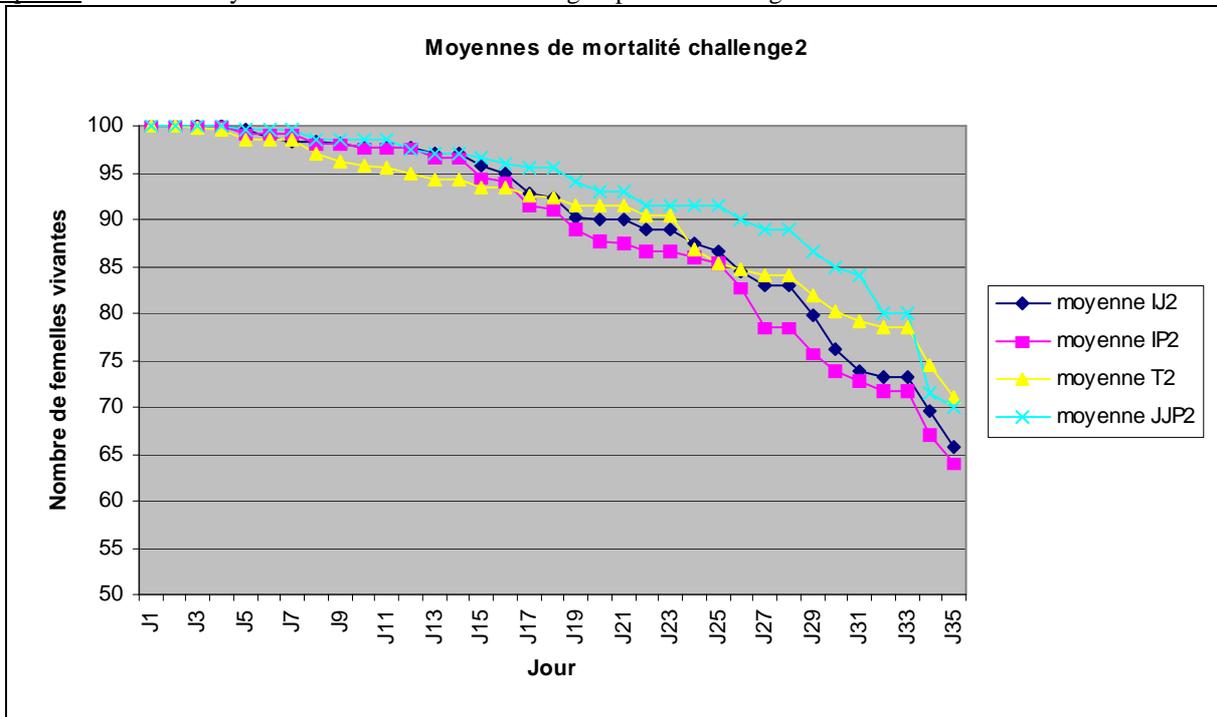
Graph. 20 courbes de survie du groupe IP lors du challenge 2



Parmi les lots du groupe IP2, il est à noter que la mortalité du lot IP2_1387 est faible, tandis que celle du lot IP2_4861 est importante, ceci par rapport à la moyenne du groupe.

2.3.2.5 Comparaison des taux de mortalités des groupes du challenge 2

Graph. 21 courbes moyennes de survie des différents groupes du challenge 2



Les taux de mortalité des lots de mouches nourries sur les bovins des différents groupes immunisés ont été comparés à celui des lots nourris sur les animaux du groupe témoin.

Le test utilisé pour faire cette comparaison de pourcentages est le Test de l'écart réduit.

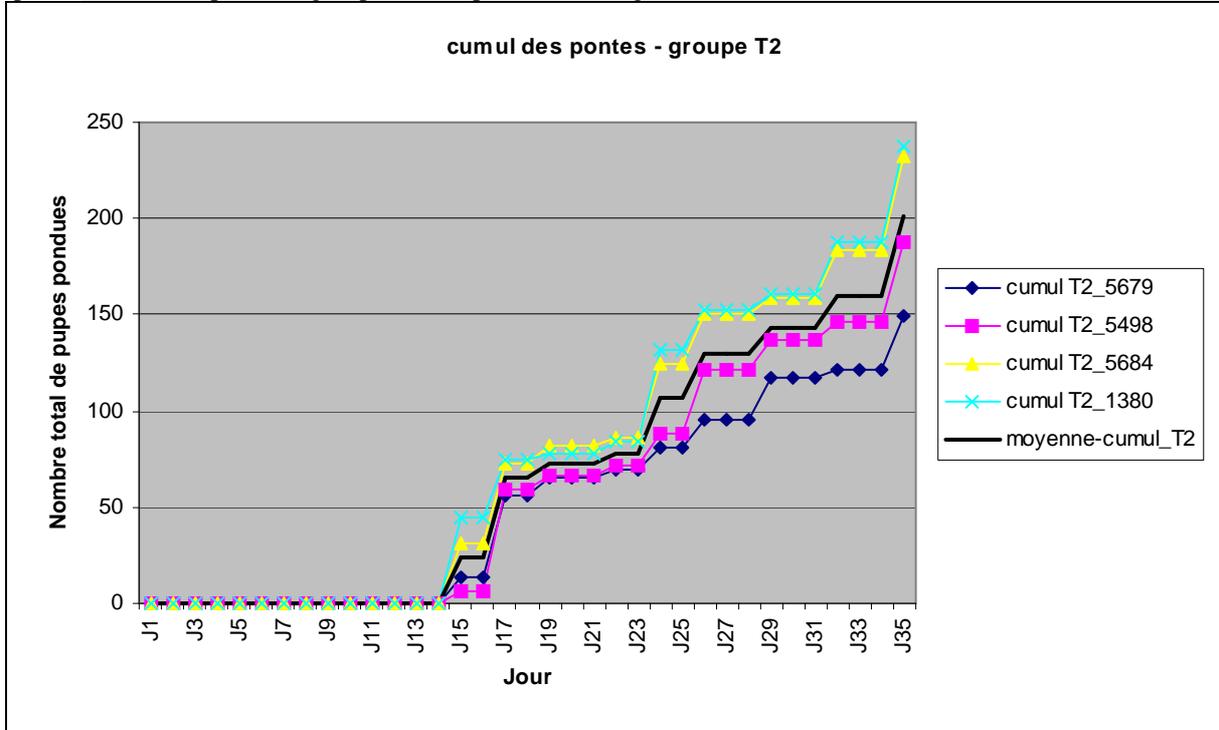
L'analyse statistique des résultats a révélé que les différences observées entre les différents lots des groupes immunisés et ceux du groupe témoin ne sont pas significatives à 5%.

2.3.3. Cumul de ponte

Les représentations graphiques des cumuls de pontes sont présentées ci-dessous.

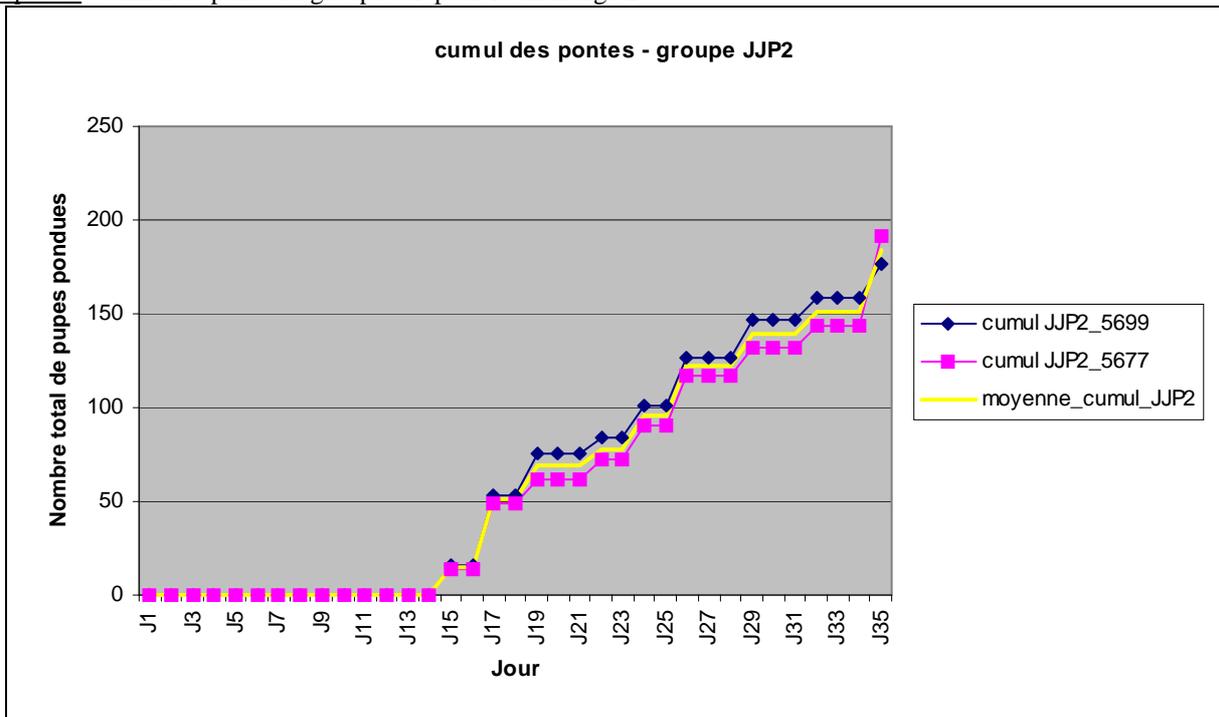
2.3.3.1 Groupe T2

Graph. 22 cumul de ponte du groupe témoin pour le challenge 2



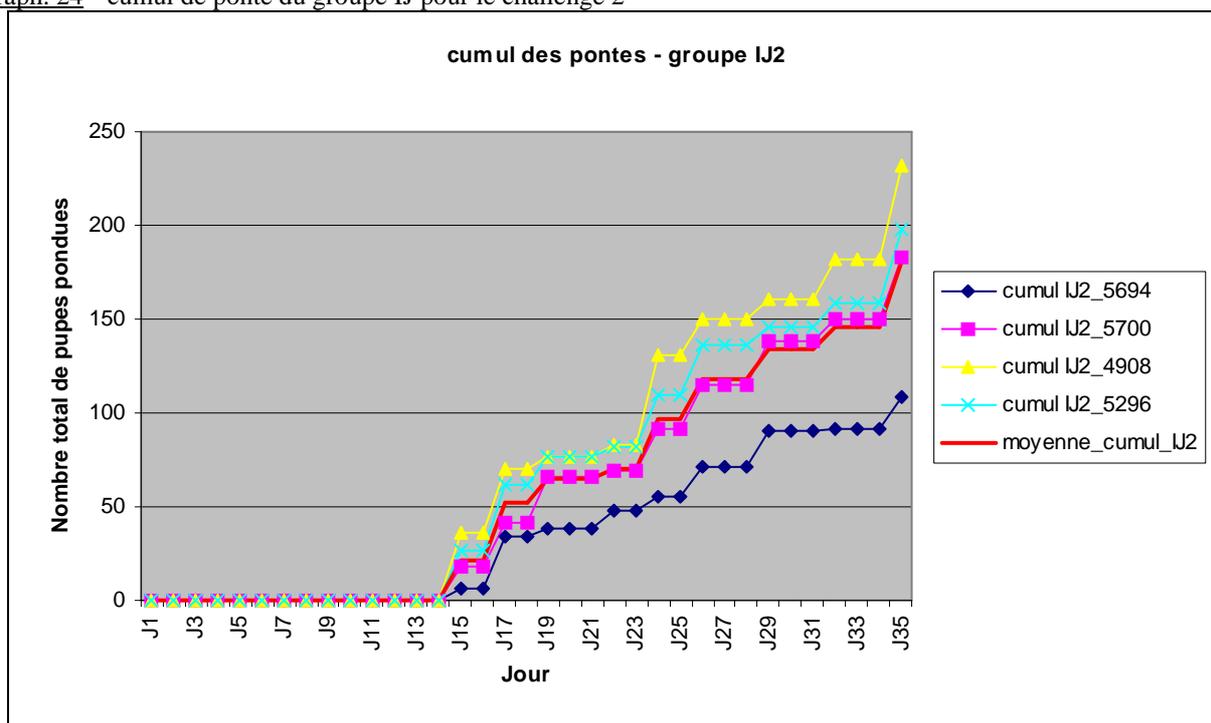
2.3.3.2 Groupe JJP2

Graph. 23 cumul de ponte du groupe JJP pour le challenge 2



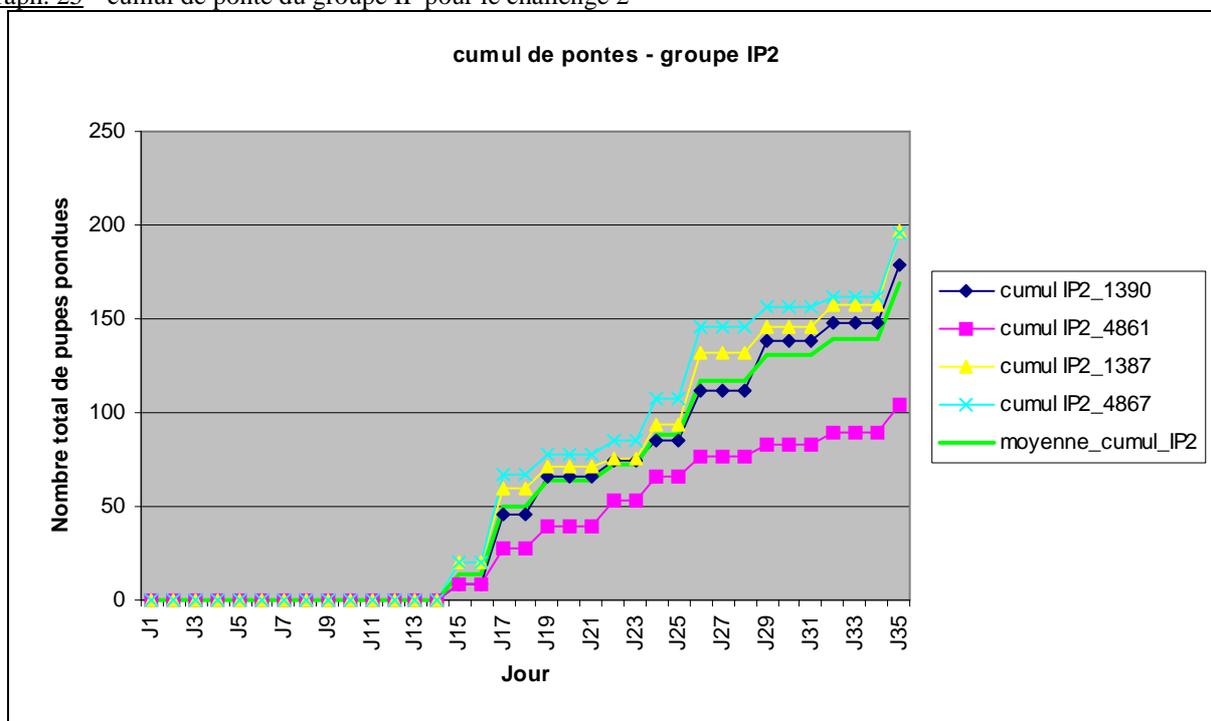
2.3.3.3 Groupe IJ2

Graph. 24 cumul de ponte du groupe IJ pour le challenge 2



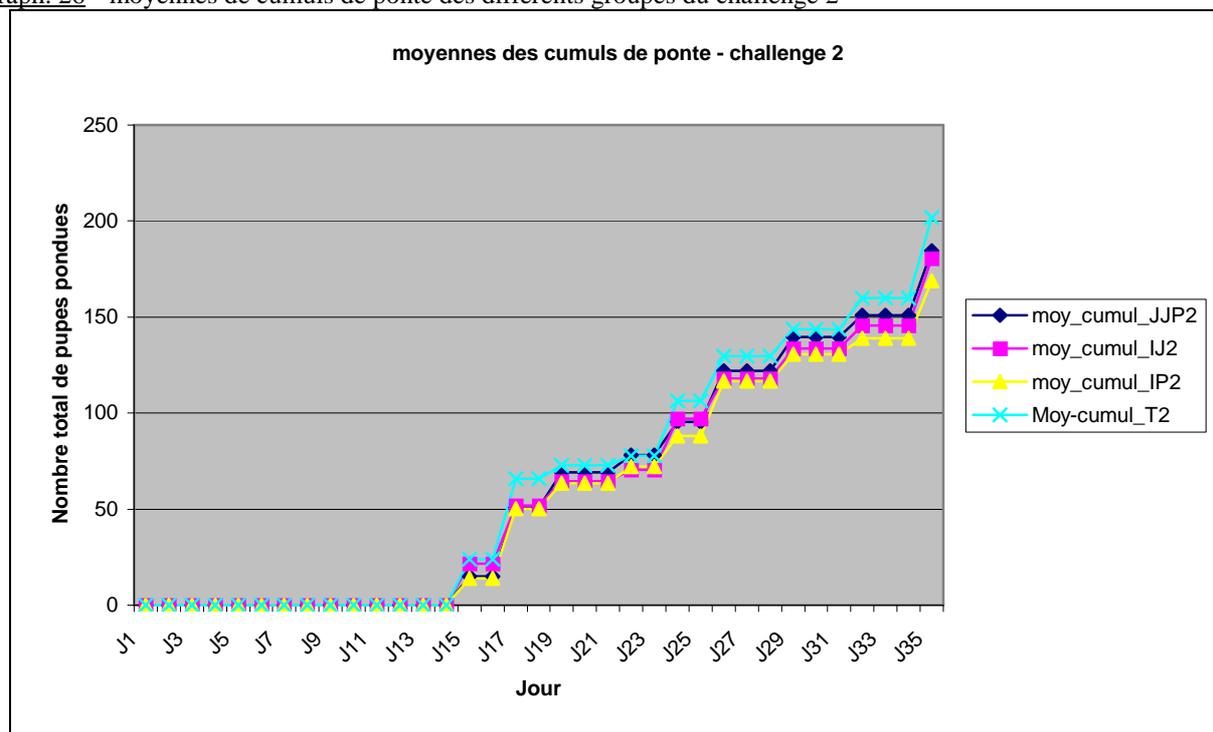
2.3.3.4 Groupe IP2

Graph. 25 cumul de ponte du groupe IP pour le challenge 2



2.3.3.5 Comparaison des moyennes des cumuls de ponte des groupes du challenge 2

Graph. 26 moyennes de cumuls de ponte des différents groupes du challenge 2



Les moyennes des cumuls de pontes des lots des groupes JJP2, IJ2 et IP2 ont été comparées à celle des lots du groupe T2.

Après analyse statistique, il s'avère que les différences observées ne sont pas significatives à 5% entre, respectivement, les lots JJP2 et T2, les lots IJ2 et T2, et les lots IP2 et T2.

2.3.4. Taux de ponte

Les taux de ponte des groupes JJP2, IJ2 et IP2 ont été comparés à celui du groupe T2.

L'analyse statistique révèle qu'il n'existe pas de différence significative au seuil de 5% entre les différents groupes du challenge 2.

2.3.5. Poids des pupes

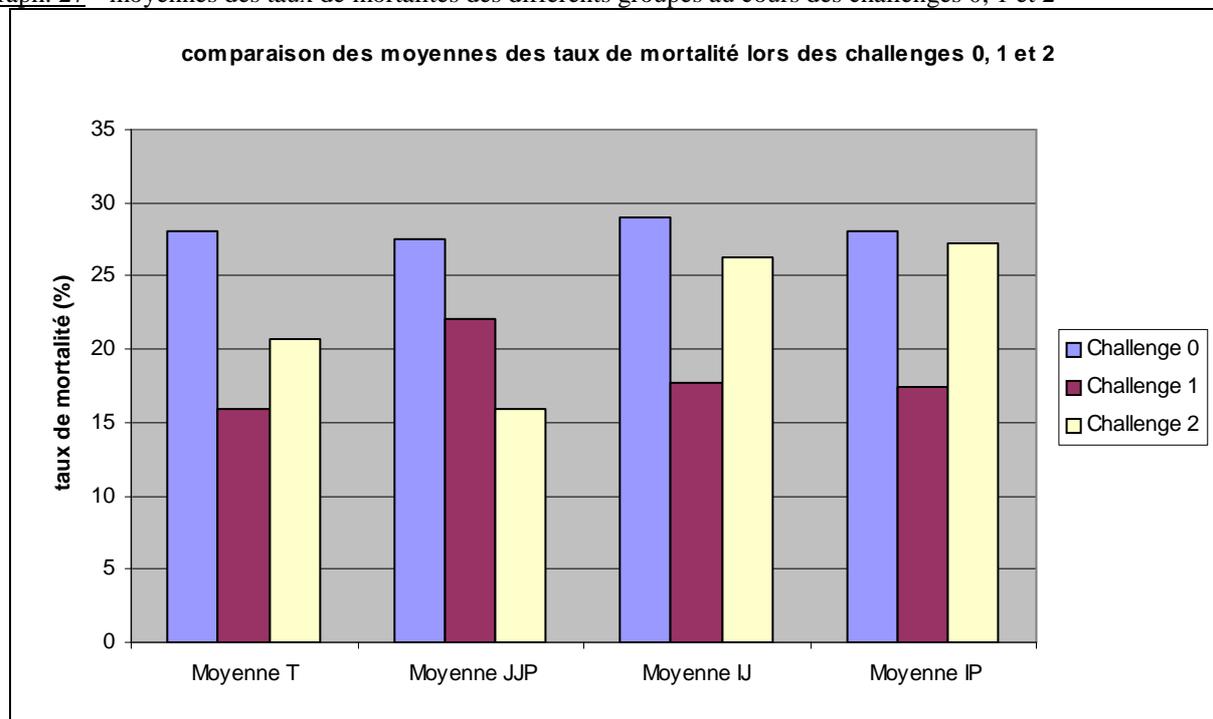
Les poids moyens des pupes des groupes JJP, IJ et IP du challenge 2 ont été comparés à celle des lots du groupe T2.

L'analyse statistique a révélé que les différences observées entre les lots JJP2, IJ2 et IP2 d'une part, et T2 d'autre part, ne sont pas significatives à 5%.

2.4. CHALLENGE HORIZONTAL

2.4.1. Taux de mortalité à J30

Graph. 27 moyennes des taux de mortalités des différents groupes au cours des challenges 0, 1 et 2



2.4.1.1 Groupe T

Tableau 17 taux de mortalité du groupe témoin au cours des challenges 0, 1 et 2

Numéro du lot	Challenge 0	Challenge 1	Challenge 2
T_5679	31	17	37
T_5498	26	15	23
T_5684	37	13	12
T_1380	18	19	11
Moyenne du groupe T	28	16	20,8

L'analyse statistique a révélé qu'il n'existe pas de différence significative au seuil de 5% entre les taux de mortalité du groupe T des challenges 0, 1 et 2.

2.4.1.2 Groupe JJP

Tableau 18 taux de mortalité du groupe JJP au cours des challenges 0, 1 et 2

Numéro du lot	Challenge 0	Challenge 1	Challenge 2
JJP_5699	26	31	22
JJP_5677	29	13	10
Moyenne du groupe JJP	27,5	22	16

Les différences observées entre les taux de mortalité du groupe JJP lors des challenges 0, 1 et 2 ne sont pas significatives au seuil de 5%.

2.4.1.3 Groupe IJ

Tableau 19 taux de mortalité du groupe IJ au cours des challenges 0, 1 et 2

Numéro du lot	Challenge 0	Challenge 1	Challenge 2
IJ_5694	29	20	33
IJ_5700	30	32	30
IJ_4908	36	6	15
IJ_5296	21	13	27
Mortalité du groupe IJ	29	17,8	26,3

Après analyse statistique, il s'avère que les différences entre les taux de mortalité observés lors des challenges 0, 1 et 2 ne sont pas significatives, au sein du groupe IJ.

2.4.1.4 Groupe IP

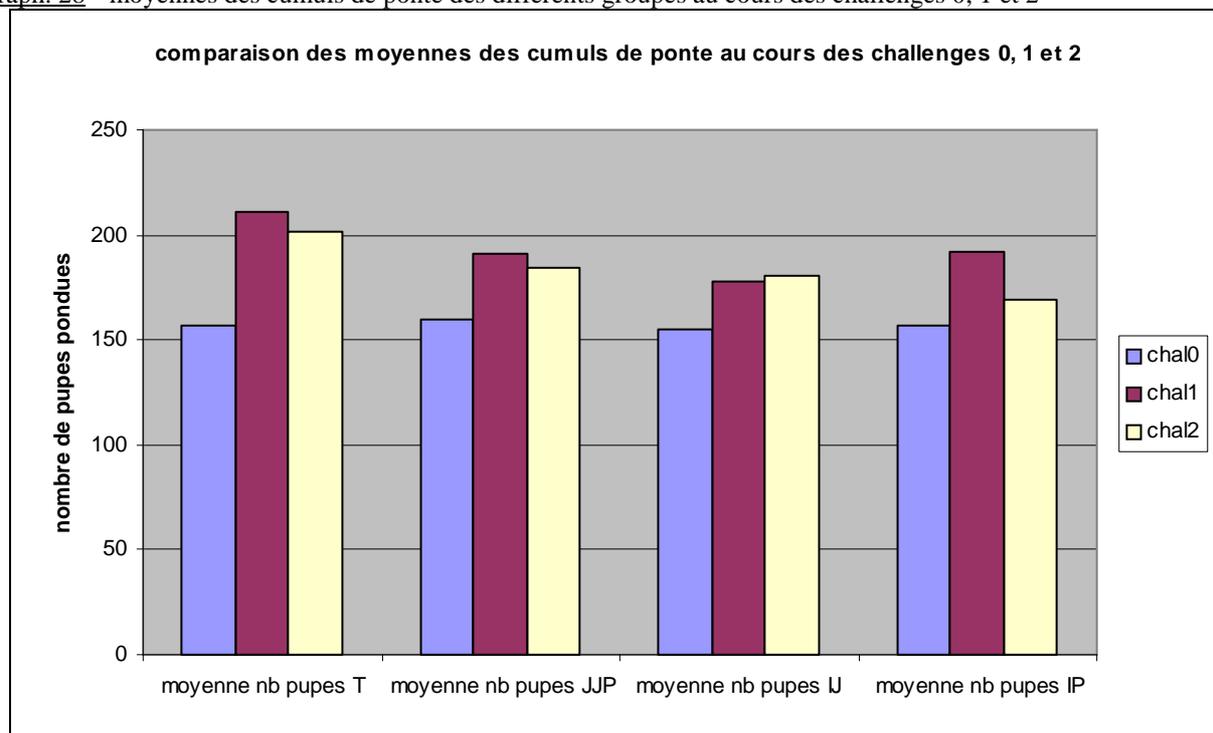
Tableau 20 taux de mortalité du groupe IP au cours des challenges 0, 1 et 2

Numéro du lot	Challenge 0	Challenge 1	Challenge 2
IP_1390	28	11	27
IP_4861	22	15	42
IP_1387	29	16	11
IP_4867	33	28	29
Moyenne du groupe IP	28	17,5	27,3

Il n'existe pas de différence statistiquement significative au seuil de 5% entre les taux de mortalité du groupe IP observés lors des challenges 0, 1 et 2.

2.4.2. Cumul de ponte

Graph. 28 moyennes des cumuls de ponte des différents groupes au cours des challenges 0, 1 et 2



2.4.2.1 Groupe T

Tableau 21 cumuls de ponte du groupe témoin lors des challenges 0, 1 et 2

Numéro du lot	Nombre de pupes pondues / 100 femelles gorgées au départ - challenge 0 -	Nombre de pupes pondues / 100 femelles gorgées au départ - challenge 1 -	Nombre de pupes pondues / 100 femelles gorgées au départ - challenge 2 -
T_5679	143	187	149
T_5498	164	208	188
T_5684	144	215	232
T_1380	178	234	238
Moyenne du groupe T	157,3	211	201,8

L'analyse statistique révèle qu'il existe au sein du groupe témoin une augmentation significative du nombre de pupes pondues par 100 femelles gorgées au départ entre le challenge 0 et le challenge 1.

Il n'y a en revanche pas de différence statistiquement significative entre les résultats des challenges 0 et 2, ainsi qu'1 et 2.

2.4.2.2 Groupe JJP

Tableau 22 cumuls de ponte du groupe JJP lors des challenges 0, 1 et 2

Numéro du lot	Nombre de pupes pondues / 100 femelles gorgées au départ - challenge 0 -	Nombre de pupes pondues / 100 femelles gorgées au départ - challenge 1 -	Nombre de pupes pondues / 100 femelles gorgées au départ - challenge 2 -
JJP_5699	176	157	177
JJP_5677	144	226	192
Moyenne du groupe JJP	160	191,5	184,5

D'après l'analyse statistique, il n'existe pas de différence significative au seuil de 5% entre les observations des challenges 0, 1 et 2 pour le groupe JJP. Ce résultat diffère de celui obtenu pour le lot témoin.

2.4.2.3 Groupe IJ

Tableau 23 cumuls de ponte du groupe IJ lors des challenges 0, 1 et 2

Numéro du lot	Nombre de pupes pondues / 100 femelles gorgées au départ - challenge 0 -	Nombre de pupes pondues / 100 femelles gorgées au départ - challenge 1 -	Nombre de pupes pondues / 100 femelles gorgées au départ - challenge 2 -
IJ_5694	158	117	109
IJ_5700	130	152	183
IJ_4908	172	232	232
IJ_5296	159	209	198
Moyenne du groupe IJ	154,8	177,5	180,5

A la différence du groupe témoin, il n'existe pas de différence statistiquement significative au seuil de 5% entre les observations faites au cours des challenges 0, 1 et 2 pour le groupe IJ.

2.4.2.4 Groupe IP

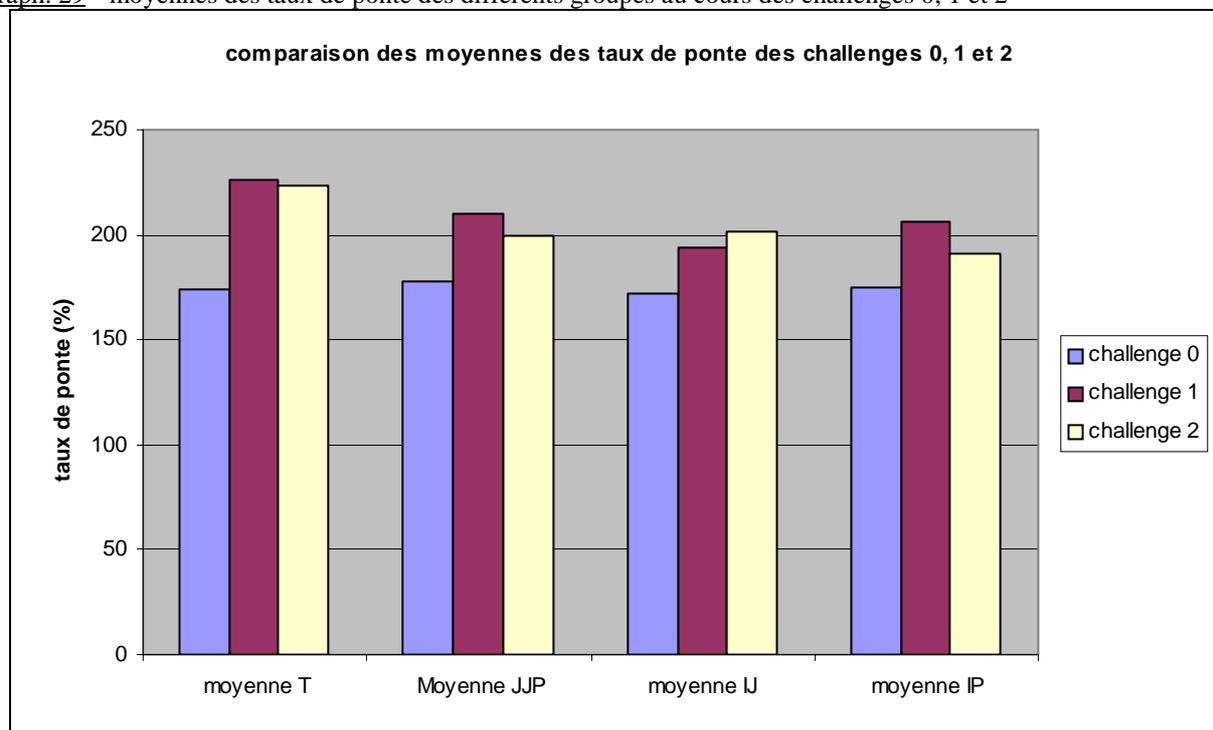
Tableau 24 cumuls de ponte du groupe IP lors des challenges 0, 1 et 2

Numéro du lot	Nombre de pupes pondues / 100 femelles gorgées au départ - challenge 0 -	Nombre de pupes pondues / 100 femelles gorgées au départ - challenge 1 -	Nombre de pupes pondues / 100 femelles gorgées au départ - challenge 2 -
IP_1390	155	230	179
IP_4861	172	153	104
IP_1387	158	218	197
IP_4867	141	168	196
Moyenne du groupe IP	156,5	192,3	169

L'analyse statistique montre qu'il n'existe pas de différence significative au seuil de 5% entre les résultats des challenges 0, 1 et 2 du groupe IP. Ce résultat diffère de celui du groupe témoin.

2.4.3. Taux de ponte

Graph. 29 moyennes des taux de ponte des différents groupes au cours des challenges 0, 1 et 2



2.4.3.1 Groupe T

Tableau 25 taux de ponte du groupe témoin au cours des challenges 0, 1 et 2

Numéro du lot	Taux de ponte - challenge 0-	Taux de ponte - challenge 1-	Taux de ponte - challenge 2-
T_5679	160	203,2	177,3
T_5498	183,5	223,2	212,3
T_5684	163,6	226,6	248,1
T_1380	188,5	250,2	250,8
Moyenne du groupe T	174,1	225,9	223,5

La comparaison des différents taux de ponte du groupe T révèle qu'il existe une augmentation significative du taux de ponte entre le challenge 0 et le challenge 1.

Les différences observées entre les taux de ponte des challenges 0 et 2, ainsi que 1 et 2 ne sont en revanche pas significatives au seuil de 5%.

2.4.3.2 Groupe JJP

Tableau 26 taux de ponte du groupe JJP au cours des challenges 0, 1 et 2

Numéro du lot	Taux de ponte - challenge 0-	Taux de ponte - challenge 1-	Taux de ponte - challenge 2-
JJP_5699	193,1	179,6	195,4
JJP_5677	162,3	238,2	203,2
Moyenne du groupe JJP	177,9	210,1	199,4

L'analyse statistique montre que les différences observées lors des 3 challenges ne sont statistiquement pas significatives.

Le résultat du groupe JJP diffère donc de celui du groupe témoin.

2.4.3.3 Groupe IJ

Tableau 27 taux de ponte du groupe IJ au cours des challenges 0, 1 et 2

Numéro du lot	Taux de ponte - challenge 0-	Taux de ponte - challenge 1-	Taux de ponte - challenge 2-
IJ_5694	174,3	128	123,7
IJ_5700	145,6	182,3	211,1
IJ_4908	194,7	239,5	247
IJ_5296	172,2	220,3	219,6
Moyenne du groupe IJ	171,7	193,7	201,2

D'après l'analyse statistique, les différences observées entre les taux de ponte du groupe IJ au cours des 3 challenges ne sont pas significatives au seuil de 5%.

2.4.3.4 Groupe IP

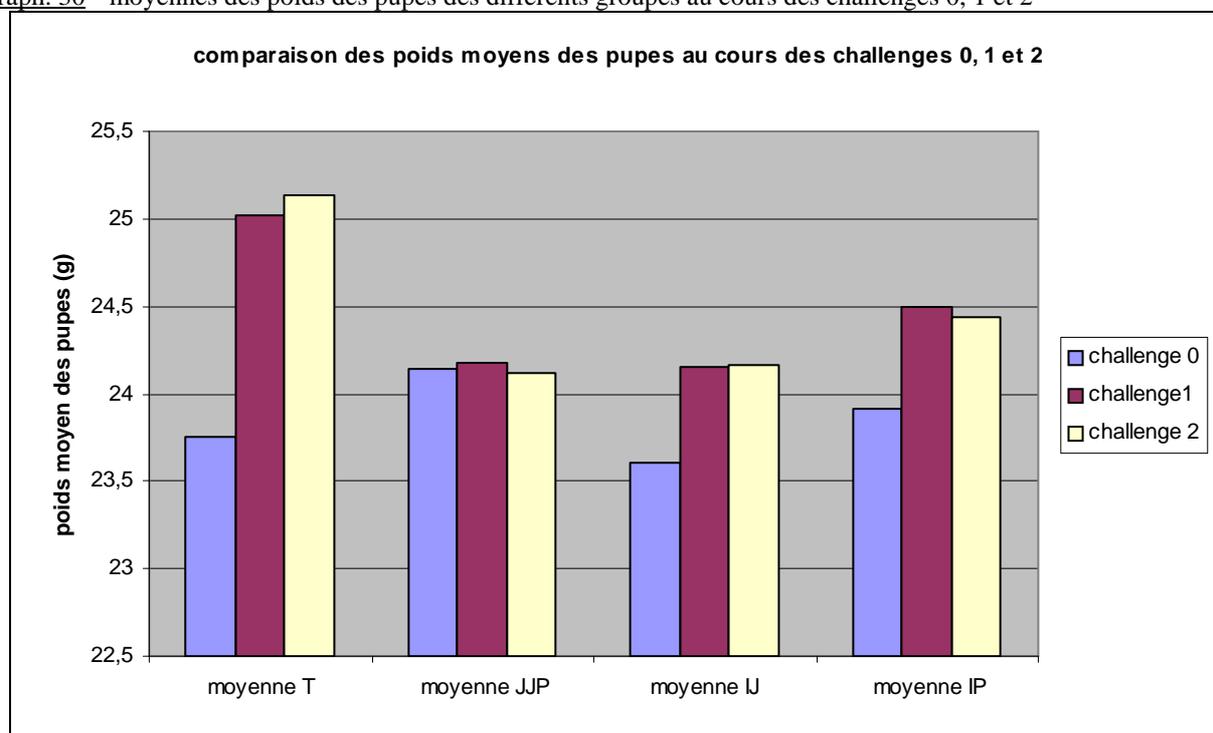
Tableau 28 taux de ponte du groupe IP au cours des challenges 0, 1 et 2

Numéro du lot	Taux de ponte - challenge 0-	Taux de ponte - challenge 1-	Taux de ponte - challenge 2-
IP_1390	160	240,7	205,3
IP_4861	183,5	161,4	125,8
IP_1387	163,6	230,4	208,1
IP_4867	188,5	191,7	219,5
Moyenne du groupe IP	174,1	206,4	191,1

A la différence du groupe témoin, les écarts observés entre les taux de ponte du groupe IP lors des challenges 0, 1 et 2 ne sont statistiquement pas significatives.

2.4.4. Poids des pupes

Graph. 30 moyennes des poids des pupes des différents groupes au cours des challenges 0, 1 et 2



2.4.4.1 Groupe T

Tableau 29 poids moyens des pupes du groupe témoin au cours des challenges 0, 1 et 2

Numéro du lot	Poids moyen des pupes - challenge 0 -	Poids moyen des pupes - challenge 1 -	Poids moyen des pupes - challenge 2 -
T_5679	23,3	23,8	25
T_5498	23,5	25,3	24,3
T_5684	23,5	25,4	26,1
T_1380	24,6	25,6	25
Moyenne du groupe T	23,8	25	25,1

L'analyse statistique révèle qu'il existe, au sein du groupe témoin, une augmentation significative du poids des pupes entre le challenge 0 et le challenge 2.

Les différences observées entre les challenges 0 et 1, et 1 et 2 ne sont pas significatives au seuil de 5%.

2.4.4.2 Groupe JJP

Tableau 30 poids moyens des pupes du groupe JJP au cours des challenges 0, 1 et 2

Numéro du lot	Poids moyen des pupes – challenge 0 -	Poids moyen des pupes – challenge 1 -	Poids moyen des pupes – challenge 2 -
JJP_5699	24,5	23,4	23,3
JJP_5677	23,8	25	25
Moyenne du groupe JJP	24,1	24,2	24,1

Les différences observées entre les poids moyens des pupes du groupe JJP, lors des challenges 0, 1 et 2, ne sont pas significatives au seuil de 5%. Ceci diffère de ce qui est constaté pour le groupe témoin.

2.4.4.3 Groupe IJ

Tableau 31 poids moyens des pupes du groupe IJ au cours des challenges 0, 1 et 2

Numéro du lot	Poids moyen des pupes – challenge 0 -	Poids moyen des pupes – challenge 1 -	Poids moyen des pupes – challenge 2 -
IJ_5694	23,6	23,8	21,9
IJ_5700	22,6	23,5	24,2
IJ_4908	25,2	25,5	25,6
IJ_5296	23	23,9	24,9
Moyenne du groupe IJ	23,6	24,2	24,2

A la différence de ce qui est observé pour le groupe témoin, il n'existe pas de différence statistiquement significative entre les poids moyens des pupes du groupe IJ, au cours des challenges 0, 1 et 2.

2.4.4.4 Groupe IP

Tableau 32 poids moyens des pupes du groupe IP au cours des challenges 0, 1 et 2

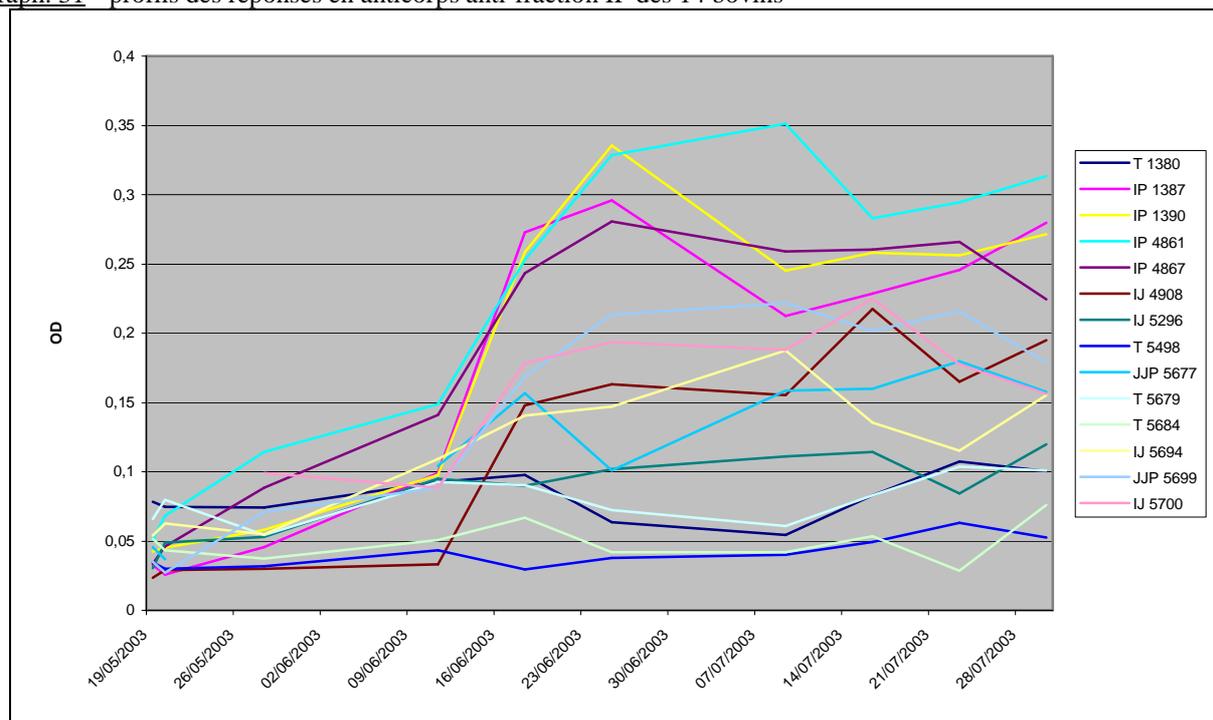
Numéro du lot	Poids moyen des pupes – challenge 0 -	Poids moyen des pupes – challenge 1 -	Poids moyen des pupes – challenge 2 -
IP_1390	23,9	25,2	25
IP_4861	23,6	23,2	22,1
IP_1387	24,7	24,7	26,1
IP_4867	23,4	24,9	24,6
Moyenne du groupe IP	23,9	24,5	24,4

Les différences observées au sein du groupe IP, lors des challenges 0, 1 et 2 ne sont statistiquement pas significatives au seuil de 5%. Ce résultat diffère de celui obtenu pour le groupe témoin.

2.5. SEROLOGIES ELISA

Les réponses des bovins à l'immunisation ont été obtenus grâce à la technique sérologique ELISA. Le graphique ci-dessous représente les profils sérologiques des animaux pour la fraction IP.

Graph. 31 profils des réponses en anticorps anti-fraction IP des 14 bovins



La densité optique figurant en ordonnée est une mesure du taux en anticorps contenu dans les sérums individuels des bovins. Les sérologies ELISA effectuées pour les différentes dates de prélèvement permettent de tracer des profils de la réponse en anticorps à la fraction IP pour chacun des 14 bovins de l'expérience.

D'après le graphique 31, la répartition des réponses humorales pour la fraction IP est logique. Les 4 bovins vaccinés avec cette même fraction antigénique présentent les plus forts taux d'immunoglobulines. Les animaux témoins présentent les taux d'immunoglobulines les plus faibles, tandis que les bovins immunisés avec les fractions IJ et JJP présentent des taux intermédiaires.

Sur cette même figure, il apparaît que l'animal présentant le plus fort taux d'immunoglobulines anti-antigène IP est le bovin 4861. Les lots de mouches nourris sur cet animal sont ceux pour lesquels les effets sont les plus importants, en terme d'augmentation de mortalité et de baisse des performances de reproduction.

Ceci permet de penser que c'est bien l'antigène IP qui a provoqué la production d'anticorps anti-antigène IP, et que ces anticorps ont provoqué des effets délétères sur les glossines.

Les résultats obtenus pour les autres fractions antigéniques sont incohérents.

3. DISCUSSION

Au cours de l'essai d'immunisation, trois challenges successifs ont été réalisés. Le challenge 0 s'est déroulé avant que les animaux soient immunisés avec des fractions intestinales de glossines. Les challenges 1 et 2 ont été réalisés à la suite de l'immunisation, avec pour but d'enregistrer les effets provoqués sur les mouches.

L'analyse des résultats du challenge 0 montre qu'il n'existe pas de différence entre les différents groupes T0, JJP0, IJ0 et IP0.

Ce résultat est satisfaisant car il montre qu'avant immunisation, les performances des groupes sont comparables.

Les résultats des différents groupes obtenus lors du challenge 1 ont été comparés entre eux par une analyse verticale. Aucune différence significative n'a pu être constatée.

De même, l'analyse des résultats du challenge 2 n'a pas permis de mettre en évidence de différence entre les quatre groupes.

Il semble donc que l'immunisation des bovins, que ce soit avec la fraction IP, IJ ou JJP, n'a pas eu d'effet notable sur la population de mouches.

Les résultats enregistrés pour chaque groupe au cours des challenges successifs ont été comparés entre eux.

Les observations faites sur le groupe témoin montrent qu'il existe une augmentation significative des performances de reproduction, entre le challenge 0 et les challenges 1 et/ou 2. Cette augmentation concerne le cumul de ponte ainsi que le taux de ponte, et le poids moyen des pupes. En revanche, les écarts de mortalité enregistrés ne sont statistiquement pas significatifs. Cette constatation indique que les conditions se sont améliorées et ont permis aux mouches nourries sur les animaux non immunisés d'accroître leur reproductivité.

Cette augmentation des performances de reproduction n'a pas été retrouvée pour les groupes IP, IJ et JJP.

Ceci peut laisser penser, par comparaison avec le groupe témoin, que l'immunisation aurait contrecarré l'amélioration des conditions et entravé l'augmentation des performances de reproduction. Cependant aucune conclusion ne peut être affirmée.

Les conclusions des analyses verticales et horizontales diffèrent. Dans le premier cas, aucun effet n'est mis en évidence. Dans le second cas, une éventuelle baisse des performances de reproduction est proposée pour chacun des groupes IP, IJ et JJP.

Du fait de la petite taille des échantillons, et de la grande variabilité individuelle au sein de chaque groupe, la puissance des tests statistiques employée est faible et dans cette expérience, on se trouve en limite de significativité.

Il existe peut-être un effet de la vaccination sur les performances de reproduction, mais celui-ci serait faible et n'aurait pas pu être mis en évidence dans la présente expérience. Deux explications peuvent être proposées. La première est que l'immunisation induirait la protection d'anticorps, mais que ceux-ci n'aurait pas d'effet protecteur majeur. La seconde est que l'immunisation induirait la protection d'anticorps protecteurs, mais que la stimulation du système immunitaire ne serait pas suffisante et les immunoglobulines seraient produites en trop faible quantité.

Les résultats des différents challenges et des différents groupes révèlent une grande variabilité individuelle.

Certains lots de mouches présentent des performances plus altérées que celles de la moyenne de leur groupe. Au sein du groupe JJP par exemple, les performances de reproduction du lot JJP_5699 sont nettement en deçà de la moyenne.

Cette constatation suggère que certains bovins auraient mieux répondu à l'inoculation de la fraction immunisante. Pour ceux-ci, les effets enregistrés sur les lots de mouches sont plus importants.

Dans notre expérience, la proportion d'animaux bons répondeurs serait faible, dans chacun des groupes immunisés.

Les profils sérologiques obtenus avec la fraction IP montrent que les animaux vaccinés avec cette fraction présentent des anticorps anti-antigène IP. Il semblerait donc que la fraction vaccinale ait provoqué la production d'immunoglobulines.

De plus, le bovin IP_4861, présentant le plus fort taux d'immunoglobulines, est celui pour lequel les performances des mouches ont été les plus diminuées. Ceci suggère que les anticorps produits auraient un effet protecteur, et conforte par ailleurs l'hypothèse selon laquelle certains animaux répondraient mieux à la vaccination. Pour ceux-ci, les immunoglobulines produites suite à la vaccination sont en quantité suffisante pour être responsables des effets délétères observés sur les glossines.

Des paramètres non contrôlés ont certainement influencé les résultats de l'essai d'immunisation.

Les conditions météorologiques notamment ont eu un effet sur les repas de sang. Ces repas ont été effectués dans la station d'élevage, dans laquelle la température et le degré d'hygrométrie ne sont pas contrôlés. Il a été remarqué que les jours de pluie, la durée du repas de sang se trouvait augmentée. De plus, les lots nourris sur des animaux plus exposés aux courants d'air se gorgeaient moins bien ces jours-là. En conséquence, une plus forte mortalité était enregistrée pour ces groupes dans les jours qui suivaient.

En résumé, ce qui ressort des différentes observations est qu'il existe peut-être un effet de la vaccination sur les performances des mouches. Cependant, cet effet serait faible et ne concernerait que les performances de reproduction des mouches. En aucun cas il n'a été observé d'augmentation directe de la mortalité des mouches.

Par ailleurs, la forte variabilité individuelle de la réponse à l'injection immunisante est à souligner. Certains animaux répondraient mieux à la vaccination que d'autres. Ceci peut s'expliquer par une plus grande efficacité du système immunitaire ou pour d'autres raisons qui n'ont pas été élucidées. Toutefois, seule une faible proportion des animaux immunisés semble réagir de manière notable. Les effets observés sont donc peu reproductibles.

Dans le cas présent, et en considérant que l'immunisation est effective, il y a donc peu d'espoir d'application. En effet, cette vaccination provoquerait un faible effet sur la reproduction des mouches, et ceci seulement sur une partie de la population vaccinée. Or pour être efficace, il faudrait que l'antigène employé entraîne une forte réduction de la population de mouches nourries sur les animaux vaccinés, et ceci sur une forte proportion des animaux immunisés.

Les essais d'immunisation de lapins à partir d'éléments du tube digestif de *Glossina fuscipes fuscipes* (Desquesnes, 1990) avaient eux aussi donné des résultats peu encourageants. Le seul effet constaté avait été une augmentation statistiquement significative de la mortalité hebdomadaire, et aucune conséquence sur les performances de reproduction des mouches n'avait été observée.

D'autres essais d'immunisation contre les glossines ont été réalisés sur des animaux de laboratoire, avec différentes fractions immunisantes (Schlein et Lewis, 1976 ; Kaaya et

Alemu, 1982 et 1984). Les résultats obtenus lors de ces expériences sont variables, mais aucun de ces travaux n'a donné de suite.

Ces échecs relatifs d'immunisation contre les glossines à partir de différentes fractions antigéniques rendent cette approche de la lutte contre la trypanosomose animale peu encourageante.

D'autres méthodes, comme la lutte biologique - régulateurs de croissance - ou la lutte génétique - lâchers de mâles stériles -, sont en cours d'étude à l'heure actuelle. Certaines de ces techniques ont déjà été mises en application et donnent des résultats plus prometteurs.

Les résultats obtenus dans cet essai d'immunisation se sont révélés très décevants, et remettent en cause l'approche vaccinale dans le cadre de la lutte contre la trypanosomose animale africaine. Ce n'est cependant pas la première fois que des expériences de vaccination contre des arthropodes échouent.

En effet, les nombreux espoirs de développement de vaccin anti-arthropodes ont été fondés sur les récents progrès en biologie moléculaire. De nombreux outils ont été exploités dans la recherche d'antigènes vaccinaux. Des techniques d'électrophorèse, d'immunoblotting ont permis d'isoler les molécules réagissant avec les anticorps des hôtes immunisés. D'autres outils ont permis d'obtenir des informations sur la taille, les sites actifs, la solubilité, la conformation, les modifications post-translacionnelles et bien d'autres caractéristiques des antigènes sélectionnés. Des techniques d'isolation de gène, de clonage, de séquençage et des systèmes d'expressions ont permis d'obtenir des protéines recombinantes.

Dans un cas, l'application de ces outils de biologie moléculaire a abouti au développement commercial de deux vaccins anti-arthropode, TickGARD® et Gavac®. Quelques autres travaux de recherche sont en bonne voie, comme ceux menés sur *Haemonchus contortus* ou *Lucilia cuprina*.

Cependant, la majeure partie des expériences d'immunisation n'a pas eu de suite. De nombreux problèmes ont empêché l'avancement des travaux de recherche.

C'est parfois dès l'étape d'identification d'antigènes protecteurs que les chercheurs ont échoué. Par exemple, lorsque les extraits utilisés n'ont pas conféré des niveaux de protection suffisants pour espérer une lutte vaccinale efficace. Un manque de connaissances sur les relations entre hôtes et parasites peut en partie expliquer ceci. Des études sur les mécanismes de la réponse immunitaires intervenant lors d'infestations pourraient fournir des informations utiles.

Dans d'autres cas, l'identification des antigènes protecteurs parmi les nombreuses protéines présentes dans les extraits bruts s'est avérée délicate.

Par ailleurs, les hôtes utilisés dans les essais d'immunisation sont souvent des animaux de laboratoires. Ces espèces sont éloignées de celles impliquées dans les systèmes hôtes - parasites ciblés, et il est possible que les mécanismes immunitaires mis en jeu par ces animaux soient différents de ceux des hôtes naturels. Cela pourrait signifier que les résultats obtenus lors de ces essais, qu'ils soient positifs ou négatifs, ne sont pas forcément un bon indicateur de la faisabilité du vaccin.

Une fois qu'un candidat vaccinal a été identifié, la production d'une protéine recombinante est nécessaire pour envisager un usage à grande échelle. Plusieurs équipes n'ont pas réussi à développer des systèmes d'expression permettant d'obtenir une protéine recombinante efficace. Il est possible que les différences de modifications post-translacionnelles soient au moins en partie à l'origine de ces échecs.

Quelques expériences d'essais en conditions naturelles ont pu être menés. Cela implique d'avoir réussi à identifier un antigène protecteur et d'avoir pu produire une protéine recombinante efficace. Cela implique également d'avoir vérifié l'efficacité vaccinale en milieu contrôlé sur l'hôte naturel du parasite à partir duquel l'antigène a été isolé. La protection obtenue en conditions réelles est plus faible que celle en milieu contrôlé, car de nombreux autres facteurs interviennent. Il est possible que certains immunogènes protecteurs

lors d'infestations contrôlées confèrent lors de ces essais en conditions naturelles une immunité insuffisante pour espérer l'employer sur le terrain.

Certains scientifiques considèrent que l'approche évoquée ci-dessus représente un coût et une perte de temps considérable. De nouvelles approches ont été proposées, pour tenter de contrer ces difficultés (Dalton et Mulcahy, 2001, Willadsen, 2001).

Plutôt que de tenter d'identifier des protéines pour lesquelles des expériences ont montré leur potentiel protecteur, il pourrait être plus judicieux de s'intéresser aux protéines reliées à une fonction physiologique importante. Les outils de biologie moléculaire peuvent être employés pour chercher les gènes correspondants. La démarche inverse peut aussi être mise en œuvre : identification et isolement de gènes impliqués dans des fonctions vitales puis caractérisation de son produit.

Une autre stratégie possible est d'exploiter les acquis concernant certaines espèces, et de les étendre à d'autres. Les tentatives d'immunisation croisées ont jusqu'ici donné peu de résultats, et il est sans doute plus prometteur d'identifier des antigènes homologues que d'espérer isoler un seul antigène permettant d'immuniser les hôtes contre plusieurs arthropodes.

Deux possibilités sont à explorer : l'utilisation des fonctions homologues ou bien celle des séquences homologues.

Il faut dans un premier temps déterminer les fonctions biochimiques des antigènes protecteurs connus. On suppose que c'est le dysfonctionnement d'une fonction physiologique importante qui est à l'origine de l'effet délétère. Il s'agit donc ensuite de rechercher les protéines reliées à des fonctions homologues dans d'autres espèces.

En se basant sur le même principe, l'exploitation de séquences conservées entre espèces pourrait peut-être permettre d'isoler de bons candidats vaccinaux.

Malheureusement, à l'heure actuelle, les fonctions biochimiques des antigènes vaccinaux sont rarement connues, et peu d'études sur les séquences d'ADN homologues ont été menées.

Le développement de vaccins anti-arthropodes est-il aussi prometteur qu'il semblait l'être il y a quelques années ? Les difficultés rencontrées par les équipes de recherche, et les nombreuses incertitudes qui persistent permettent d'en douter.

BIBLIOGRAPHIE

- ACKERMAN, S., CLARE, F. B., MCGILL, T. W., SONENSHINE, D. E.
Passage of host serum components, including antibodies, across the digestive tract of *Dermacentor variabilis*.
Journal of Parasitology, 1981, **67**, 5, 737-740.
- ACKERMAN, S., FLOYD, M., SONENSHINE, D. E.
Artificial immunity to *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae): vaccination using tick antigens.
Journal of Medical Entomology, 1980, **17**, 5, 391-397.
- ANDREWS, S. J., HOLE, N. J. K., MUNN, E. A., ROLPH, T. P.
Vaccination of sheep against haemonchosis with H11, a gut membrane-derived protective antigen from the adult parasite: prevention of the periparturient rise and colostral transfer of protective immunity.
International Journal for Parasitology, 1995, **25**, 7, 839-846.
- BANERJEE, D. P., MOMIN, R. R., SAMANTARAY, S.
Immunization of cattle (*Bos indicus* x *Bos taurus*) against *Hyalomma anatolicum anatolicum* using antigens derived from tick salivary gland extracts.
International Journal for Parasitology, 1990, **20**, 7, 969-972.
- BEN-YAKIR, D.
Quantitative studies of host immunoglobulin in the haemolymph of ticks.
Journal of Medical Entomology, 1989, **26**, 243-246.
- BOCK, R.E., BLIGHT, G.W., KINGSTON, T.G., DE VOS, A.J.
A survey of cattle producers in the *Boophilus microplus* endemic area of Queensland to determine attitudes to the control of and vaccination against tick fever.
Aust Vet J., 1995, **72**, 3, 88-92.
- BRIAN, H.K., DAVID, H.K.
Vaccines against arthropods.
Am.J.Trop.Med.Hyg., 1994, **50**, 6, 87-96.
- BROSSARD, M.
Relations immunologiques entre bovins et tiques, plus particulièrement entre bovins et *Boophilus microplus*.
Acta Tropica, 1976, **33**, 1, 15-36.
- 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 a mammalian host.
Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1997, **94**, 17, 8939-8944.
- COLDITZ, I.G., WATSON, D.L., EISEMANN, C.H., TELLAM, R.L.
Production of antibodies to recombinant antigens from *Lucilia cuprina* following cutaneous immunisation of sheep.
Veterinary Parasitology, 2002, **104**, 4, 345-350.

CUISANCE, D.

Le piégeage des Tsé-Tsé.

Etudes et synthèses de l'I.E.M.V.T., 1989, **32**, 172p .

DALTON, J.P., MULCAHY, G.

Parasite vaccines - a reality?

Veterinary Parasitology, 2001, **98**, 149-167.

DE LA FUENTE, J., RODRIGUEZ, M., MONTERO, C., REDONDO, M., GARCIA-GARCIA, J.C., MENDEZ, L., SERRANO, E., VALDES, M., ENRIQUEZ, A., CANALES, M., RAMOS, E., BOUE, O., MACHADO, H., LLEONART, R.

Vaccination against ticks (*Boophilus spp.*): the experience with the Bm86-based vaccine Gavac.

Genet Anal., 1999, **15**, 3-5, 143-8.

DESQUESNES, M.

Note sur les essais d'immunisation de lapins contre les tsé-tsé, *Glossina fuscipes fuscipes* (Diptera : Glossinidae).

Revue Elev. Méd. Vét. Pays trop., 1990, **43**, 4, 511-513.

DESQUESNES, M.

Les trypanosomoses du bétail en Amérique Latine, étude spéciale dans le Plateau des Guyanes.

Th.D. , 1997. 234-237.

EAST, I.J., EISEMANN, C.H.

Vaccination against *Lucilia cuprina* : the causative agent of sheep blowfly strike.

Immunology and Cell Biology, 1993, **71**, 5, 453-462.

ELVIN, C.M., VUOCOLO, T., PEARSON, R.D., EAST, I.J., RIDING, G.A., EISEMANN, C.H., TELLAM, R.L.

Characterization of a major peritrophic membran protein, peritrophin-44, from the larvae of *Lucilia cuprina*. cDNA and deduced amino acid sequences.

Journal of Biological Chemistry, 1996, **271**, 15, 8925-8935.

ESSUMAN, S., DIPEOLU, O. O., ODHIAMBO, T. R.

Immunization against ticks: use of salivary gland antigens and infestations with *Rhipicephalus appendiculatus* (Acari: Ixodidae) in rabbits.

Journal of Medical Entomology, 1991, **26**, 5, 430-434.

DE LA FUENTE, J. et al.

Vaccination against ticks (*Boophilus spp.*) : the experience with the Bm86-based vaccine Gavac.

Genetic Analysis : Biomolecular Engineering, 1999, **15**, 143-148.

GARCIA-GARCIA, J.C. et al.

Control of ticks resistant to immunization with Bm86 in cattle vaccinated with the recombinant antigen Bm95 isolated from the cattle tick, *Boophilus microplus*.

Vaccine, 2000, **18**, 21, 2275-2287.

GINGRICH, R. E.

Acquired resistance to *Hypoderma lineatum*: comparative immune response of resistant and susceptible cattle.

Veterinary Parasitology, 1982, **9**, 3-4, 233-242.

HAMILTON, S.E., KEMP, D.H., MCKENNA, R.V., WILLADSEN, P.

Gut cell of the tick *Boophilus microplus* : the effects of vaccination on digest cells and experiments on blood meal absorption by these cells.

Modern Acarology, 1991, **1**, 341-351.

ITARD, J., BAUER, B.

Elevages de glossines. Synthèse.

Revue Elev. Méd.vét. Pays trop., 1985, **37**, 143-175.

JACKSON, L. A., OPDEBEECK, J. P.

The effect of antigen concentration and vaccine regimen on the immunity induced by membrane antigens from the midgut of *Boophilus microplus*.

Immunology, 1989, **68**, 2, 272-276.

JASMER, D. P., PERRYMAN, L. E., CONDER, G. A., CROW, S., MCGUIRE, T.

Protective immunity to *Haemonchus contortus* induced by immunoaffinity isolated antigens that share a phylogenetically conserved carbohydrate gut surface epitope.

Journal of Immunology, 1993, **151**, 10, 5450-5460.

JOHNSTON, L.A.Y., KEMP, D.H., PEARSON, R.D.

Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks : effects of induced immunity on tick populations.

International Journal for Parasitology, 1986, **16**, 1, 27-34.

JONSSON, N.N., MATSCHOSS, A.L., PEPPER, P., GREEN, P.E., ALBRECHT, M.S., HUNGERFORD, J., ANSELL J.

Evaluation of TickGARD(PLUS), a novel vaccine against *Boophilus microplus*, in lactating Holstein-Friesian cows.

Veterinary Parasitology, 2000, **88**, 3-4, 275-85.

KAAYA, G. P., ALEMU, P.

Fecundity and survival of tsetse maintained on immunized rabbits.

Insect Science and its Application, 1982, **3**, 2-3, 237-241.

KAAYA, G. P., ALEMU, P.

Further observations on survival and fertility of *Glossina morsitans morsitans* maintained on immunized rabbits.

Insect Science and its Application, 1984, **5**, 5, 443-446.

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.

International Journal for Parasitology, 1986, **16**, 2, 115-120.

KHAZNADJI, E., BOULARD, C., MOIRÉ, N.

Expression of functional hypodermin A, a serine protease from *Hypoderma lineatum* (Diptera, Oestridae), in Schneider 2 cells.

Experimental Parasitology, 2003, **104**, 1-2, 33-39.

KIMARO, E.E., OPDEBEECK, J.P.

Tick infestation on cattle vaccinated with extracts from the eggs and the gut of *Boophilus microplus*.

Veterinary Parasitology, 1994, **52**, 1-2, 61-70.

KNOWLES, A.G., OPDEBEECK, J.P.

Uniformity of protective antigens among isolates of the cattle tick, *Boophilus microplus*.

Medical and Veterinary Entomology, 1996, **10**, 4, 301-304.

KNOX, D.P., SMITH, W.D.

Vaccination against gastrointestinal nematode parasites of ruminants using gut-expressed antigens.

Veterinary Parasitology, 2001, **100**, 21-32.

KRISTJANSON, P.M., SWALLOW, B.M., ROWLANDS, G.J., KRUSKA, R.L., DE LEEUW, P.N.

Measuring the costs of African animal trypanosomiasis, the potential benefits of control and returns to research.

Agricultural Systems, 1999, **59**, 79-98.

LAL, A. A., PATTERSON, P. S., SACCI, J. B., VAUGHAN, J. A., PAUL, C., COLLINS, W. E., WIRTZ, R. A., AZAD, A. F.

Anti-mosquito midgut antibodies block development of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in multiple species of Anopheles mosquitoes and reduce vector fecundity and survivorship.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, **98**, 9, 5228-5233.

LAL, A. A., SCHRIEFER, M. E., SACCI, J. B., GOLDMAN, I. F., LOUIS-WILEMAN, V., COLLINS, W. E., AZAD, A. F.

Inhibition of malaria parasite development in mosquitoes by anti-mosquito-midgut antibodies.

Infection and Immunity, 1994, **62**, 1, 316-318.

LEE, R.P., OPDEBEECK, J.P.

Isolation of protective antigens from the gut of *Boophilus microplus* using monoclonal antibodies.

Immunology, 1991, **72**, 1, 121-126.

MCGOWAN, M. J., BARKER, R. W., HOMER, J. T., MCNEW, R. W., HOLSCHER, K. H.

Success of tick feeding on calves immunized with *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) extract.

Journal of Medical Entomology, 1981, **18**, 4, 328-332.

MOIRE, N., BIGOT, Y., PERIQUET, G., BOULARD, C.

Sequencing and gene expression of hypodermins A, B, C in larval stages of *Hypoderma lineatum*.

Molecular and Biochemical Parasitology, 1994, **66**, 2, 233-240.

MONGI, A. O., SHAPIRO, S. Z., DOYLE, J. J., CUNNINGHAM, M. P.

Characterization of antigens from extracts of fed ticks using sera from rabbits immunized with extracted tick antigen and by successive tick infestation.
Insect Science and its Application, 1986, **7**, 4, 479-487.

MUNN, E.A., SMITH, T.S., GRAHAM, M., TAVERNOR, A.S., GREENWOOD, C.A.
The potential value of integral membrane proteins in the vaccination of lambs against *Haemonchus contortus*.
International Journal of Parasitology, 1993, **23**, 2, 261-269.

MUNN, E.A., SMITH, T.S., GRAHAM, M., TAVERNOR, A.S., GREENWOOD, C.A., COETZEE, G.
Vaccination of merino lambs against the haemonchosis with membrane-associated proteins from the adult parasite.
Parasitology, 1993, **106**, 1, 63-66.

MUNN, E. A., GREENWOOD, C. A., COADWELL, W. J.
Vaccination of young lambs by means of a protein fraction extracted from adult *Haemonchus contortus*.
Parasitology, 1987, **94**, 2, 385-397.

NEWTON, S. E., MUNN, E. A.
The development of vaccines against gastrointestinal nematode parasites, particularly *Haemonchus contortus*.
Parasitology Today, 1999, **15**, 3, 116-122.

OPDEBEECK, J. P., SLACEK, B.
An attempt to protect cats against infestation with *Ctenocephalides felis felis* using gut membrane antigens as a vaccine.
International Journal of Parasitology, 1993, **23**, 8, 1063-1067.

OPDEBEECK, J. P., WONG, J. Y. M., JACKSON, L. A., DOBSON, C.
Vaccines to protect Hereford cattle against the cattle tick, *Boophilus microplus*.
Immunology, 1988, **63**, 3, 363-367.

OTIENO, L. H., VUNDLA, R. M. W., MONGI, A.
Observations on *Glossina morsitans morsitans* maintained on rabbits immunized with crude tsetse midgut proteases.
Insect Science and its Application, 1984, **5**, 4, 297-302.

PENICHET, M., RODRIGUEZ, M., CASTELLANO, O., MANDADO, S., ROJAS, Y., RUBIERA, R., SANCHEZ, P., LLEONART, R., DE LA FUENTE, J.
Detection of Bm86 antigen in different strains of *Boophilus microplus* and effectiveness of immunization with recombinant Bm86.
Parasite Immunology, 1994, **16**, 9, 493-500.

PRUETT, J. H., BARRETT, C. C., FISHER, W. F.
Kinetic development of serum antibody to purified *Hypoderma lineatum* proteins in vaccinated and nonvaccinated cattle.
Southwestern Entomologist, 1987, **12**, 2, 79-88.

RAMASAMY, M. S., RAMASAMY, R.

- Effect of anti-mosquito antibodies on the infectivity of the rodent malaria parasite *Plasmodium berghei* to *Anopheles farauti*.
Medical and Veterinary Entomology, 1990, **4**, 2, 161-166.
- RAMASAMY, M. S., RAMASAMY, R., KAY, B. H., KIDSON, C.
Anti-mosquito antibodies decrease the reproductive capacity of *Aedes aegypti*.
Medical and Veterinary Entomology, 1988, **2**, 1, 87-93.
- RAMASAMY, M. S., SANDS, M., KAY, B. H., FANNING, I. D., LAWRENCE, G. W., RAMASAMY, R.
Anti-mosquito antibodies reduce the susceptibility of *Aedes aegypti* to arbovirus infection.
Medical and Veterinary Entomology, 1990, **4**, 1, 49-55.
- RAMASAMY, M. S., SRIKRISHNARAJ, K. A., WIJEKOONE, S., JESUTHASAN, L. S. B., RAMASAMY, R.
Host immunity to mosquitoes: effect of antimosquito antibodies on *Anopheles tessellatus* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae).
Journal of Medical Entomology, 1992, **29**, 6, 934-938.
- RAND, K. N., MOORE, T., SRISKANTHA, A., SPRING, K., TELLAM, R., WILLADSEN, P., COBON, G. S.
Cloning and expression of a protective antigen from the cattle tick *Boophilus microplus*.
Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1989, **86**, 24, 9657-9661.
- RATZLAFF, R. E., WIKEL, S. K.
Murine immune responses and immunization against *Polyplax serrata* (Anoplura: Polyplacidae).
Journal of Medical Entomology, 1990, **27**, 6, 1002-1007.
- REDMOND, D. L., CLUCAS, C., JOHNSTONE, I. L., KNOX, D. P.
Expression of *Haemonchus contortus* pepsinogen in *Caenorhabditis elegans*.
Molecular and Biochemical Parasitology, 2001, **112**, 1, 125-131.
- RICHARDSON, M. A., SMITH, D. R. J., KEMP, D. H., TELLAM, R. L.
Native and baculovirus-expressed forms of the immunoprotective protein Bm86 from *Boophilus microplus* are anchored to the cell membrane by a glycosylphosphatidyl inositol linkage.
Insect Molecular Biology, 1993, **1**, 3, 139-147.
- RIDING, G.A., JARMEY, J., MCKENNA, R.V., PEARSON, R., COBON, G.S., WILLADSEN, P.
A protective "concealed" antigen from *Boophilus microplus*. Purification, localization, and possible function.
Journal of Immunology, 1994, **153**, 11, 5158-5166.
- ROBINSON, T.P. et al.
Geographic Information Systems and the selection of priority areas for control of tsetse-transmitted trypanosomiasis in Africa.
Parasitology Today, 1998, **14**, 11, 457-461.
- SCHLEIN, Y., LEWIS, C. T.

Lesions in haematophagous flies after feeding on rabbits immunized with fly tissues.
Physiological Entomology, 1976, **1**, 1, 55-59.

SCHLEIN, Y., SPIRA, D. T., JACOBSON, R. L.
The passage of serum immunoglobulins through the gut of *Sarcophaga falculata*.
Annals of Tropical Medicine and Parasitology, 1975, **70**, 2, 227-230.

SMITH, T.S., MUNN, E.A., GRAHAM, M., TAVERNOR, A.S., GREENWOOD, C.A.
Purification and evaluation of the integral membrane protein H11 as a protective antigen against *Haemonchus contortus*.
International Journal of Parasitology, 1993, **23**, 2, 271-280.

SMITH, W.D.
Protection in lambs immunised with *Haemonchus contortus* gut membrane proteins.
Research in Veterinary Science, 1993, **54**, 1, 94-101.

SMITH, W.D., SMITH, S.K., MURRAY, J.M.
Protection studies with integral membrane fractions of *Haemonchus contortus*.
Parasite Immunology, 1994, **16**, 231-241.

SMITH, W. D., SMITH, S. K., PETTIT, D.
Evaluation of immunization with gut membrane glycoproteins of *Ostertagia ostertagi* against homologous challenge in calves and against *Haemonchus contortus* in sheep.
Parasite Immunology, 2000, **22**, 5, 239-247.

SMITH, W. D., VAN WYK, J. A., VAN STRIJP, M. F.
Preliminary observations on the potential of gut membrane proteins of *Haemonchus contortus* as candidate vaccine antigens in sheep on naturally infected pasture.
Veterinary Parasitology, 2001, **98**, 4, 285-297.

SUTHERLAND, G. B., EWEN, A. B.
Fecundity decrease in mosquitoes ingesting blood from specifically sensitized mammals.
Journal of Insect Physiology, 1974, **20**, 4, 655-660.

TELLAM, R.L., SMITH, D., KEMP, D.H., WILLADSEN, P.
Vaccination against ticks.
In : YONG W.K.
Animal Parasite Control Utilising Biotechnology.
CRC Press, Boca Raton, Florida, 1992, 303-331

TELLAM, R.L., VUOCOLO, T., EISEMANN, C., BRISCOE, S., RIDING, G., ELVIN, C., PEARSON, R.
Identification of an immuno-protective mucin-like protein, peritrophin-55, from the peritrophic matrix of *Lucilia cuprina*.
Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2003, **33**, 2, 239-252.

TEMBO, S. D., REHAV, Y.
Immunization of rabbits against nymphs of *Amblyomma hebraeum* and *A. marmoreum* (Acari: Ixodidae).
Journal of Medical Entomology, 1992, **29**, 5, 757-760.

TRAGER, W.

Further observation on acquired immunity to the tick *Dermatocentor variabilis*.
Journal of Parasitology, 1939, **25**, 137-139.

TRAGER, W.

Acquired immunity to ticks.

Journal of Entomology, 1939, **25**, 235-264.

VALLE, M. R., RUBIERA, R., PENICHER, M., MONTESINOS, R., CREMATA, J., FALCON, V., SANCHEZ, G., BRINGAS, R., CORDOVES, C., VALDES, M., LLEONART, R., HERRERA, L., DE LA FUENTE, J.

High level expression of a protective Bm86 antigen from the cattle tick *Boophilus microplus* in the yeast *Pichia pastoris*.

In: TALWAR, G.P., RAO, K.V.S., CHAUHAN, V.S.

Recombinant and synthetic vaccines.

1994,39-44.

VAUGHAN, J. A., AZAD, A. F.

Passage of host immunoglobulin G from blood meal into hemolymph of selected mosquito species (Diptera: Culicidae).

Journal of Medical Entomology, 1988, **25**, 6, 472-474.

WANG, H., NUTTALL, P. A.

Comparison of the proteins in salivary glands, saliva and haemolymph of *Rhipicephalus appendiculatus* female ticks during feeding.

Parasitology, 1994, **109**, 4, 517-523.

WIKEL, S.K.

The induction of host resistance to tick infestation with a salivary gland antigen.

American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 1981, **30**, 1, 284-288.

WIKEL, S. K., OLSEN, F. W.JR., RICHARDSON, L. K.

Immunization induced resistance to *Amblyomma americanum* infestation: tick gut derived antigens.

Medical Science Research, 1987, **15**, 543-544.

WILLADSEN, P., KEMP, D.H., COBON, G.S., WRIGHT, I.G.

Successful vaccination against *Boophilus microplus* and *Babesia bovis* using recombinant antigens.

Mem Inst Oswaldo Cruz., 1992, **87**, Suppl 3, 289-94.

WILLADSEN, P., SMITH, D., COBON, G.S., MCKENNA, R.V.

Comparative vaccination of cattle against *Boophilus microplus* with recombinant antigen Bm86 alone or in combination with recombinant Bm91.

Parasite Immunology, 1996, **18**, 5, 241-246.

WILLADSEN, P.

Novel vaccines for ectoparasites.

Veterinary Parasitology, 1997, **71**, 209-222.

WILLADSEN, P.

The molecular revolution in the development of vaccines against ectoparasites.

Veterinary Parasitology, 2001, **101**, 353-367.

WILLADSEN, P., BIRD, P., COBON, G. S., HUNGERFORD, J.
Commercialisation of a recombinant vaccine against *Boophilus microplus*.
Parasitology, 1995, **110**, S43-S50.

Willadsen, P.; McKenna, R. V.; Riding, G. A.
Isolation from the cattle tick, *Boophilus microplus*, of antigenic material capable of eliciting a protective immunological response in the bovine host.
International Journal of Parasitology, 1988, **18**, 2, 183-189.

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.
Journal of Immunology, 1989, **143**, 4, 1346-1351.

WONG, J. Y. M., OPDEBEECK, J. P.
Larval membrane antigens protect Hereford cattle against infestation with *Boophilus microplus*.
Parasite Immunology, 1990, **12**, 1, 75-83.

WONG, J. Y. M., OPDEBEECK, J. P.
Immunity in vaccinated cattle exposed to experimental and natural infestations with
Boophilus microplus.
International Journal of Parasitology, 1993, **23**, 5, 689-692 .

ANNEXES

Annexe 1 : phylogénie des Trypanosomes

GENRE	Trypasonoma						
SECTION	Stercoraria			Salivaria			
SOUS-GENRE	<i>Megatrypanum</i>	<i>Herpetosoma</i>	<i>Schizotrypanum</i>	<i>Duttonella</i>	<i>Nannomonas</i>	<i>Trypanozoon</i>	<i>Pycnomonas</i>
ESPECES	<i>T.(M.) theileri</i>	<i>T.(H.) lewisi</i> <i>T.(H.) musculi</i> <i>T.(H.) rangeli</i>	<i>T.(S.) cruzi</i>	<i>T.(D.) vivax</i>	<i>T.(N.) congolense</i> <i>T.(N.) simiae</i>	<i>T.(T.) brucei</i> <i>T.(T.) b. brucei</i> <i>T.(T.) b. rhodesiense</i> <i>T.(T.) b. gambiense</i> <i>T.(T.) equiperdum</i> <i>T.(T.) evansi</i>	<i>T.(P.) suis</i>

(D. Cuisance)

Annexe 2 : cycles de développement des trypanosomes dans l'organisme des glossines

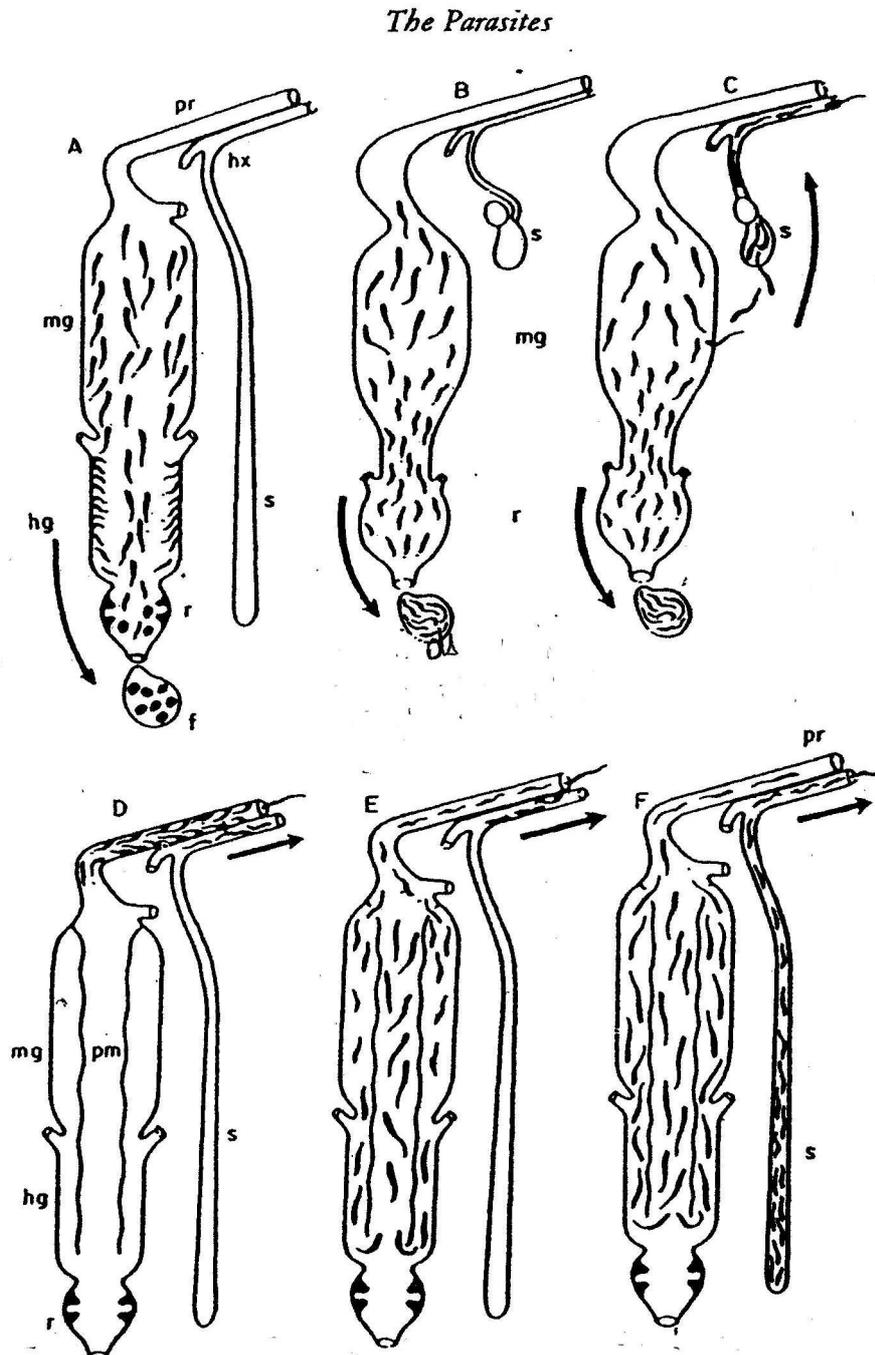


Figure 12. Patterns of life cycles of trypanosomatid flagellates in insect hosts, illustrating their evolution. Arrows indicate sites of development and the release of final infective stages: posterior station in A-C, anterior station in C-F (cysts in A, metatrypanosomes in B-F). A, *Blastocnithidia*, specific insect parasite. Stercoraria: B, *Trypanosoma cruzi*; C, *T. rangeli*. Salivaria: D, *T. vivax*; E, *T. congolense*, F, *T. brucei*.

Abbreviations: f = drop of faeces containing infective stages (cysts/metatrypanosomes); hg = hindgut; hx = hypopharynx; mg = midgut; pm = peritrophic membrane; pr = proboscis; r = rectum; s = salivary glands.

Courtesy of Academic Press, from Hoare, 1967, *Advances in Parasitology*, Volume 5.

Annexe 3 : trypanocides et trypanopréventifs vétérinaires

Produit	Dénominations commerciales	Activité : C=curatif P=préventif	Trypanosomes sensibles	Animaux traités	Solutions (p.100)	Doses	Voies d'administration	Remarques
Mélarsonine	Cymélarсан	C	T. brucei	Camélidés Equidés Canidés	0,5	0,25 mg/kg	SC ou IM	Soluble dans l'eau froide
Bromure d'homidium	Ethidium	C/P	<i>T. vivax</i> <i>T. congolense</i>	Bovidés et petits ruminants Equidés	2,5	1 mg/kg	IM	Soluble dans l'eau tiède
Chlorure d'homidium	Novidium	C	<i>T. vivax</i> <i>T. congolense</i>	Bovidés Petits ruminants	2,5	1 mg/kg	IM	Soluble dans l'eau tiède
Isoméamidium	Trypamidium Samorin Veridium	C/P	<i>T. vivax</i> <i>T. congolense</i> <i>T. brucei</i>	Bovidés et petits ruminants Equidés Canidés Camélidés	1	0,25 à 1 mg/kg	IM ou IV	Aux doses prophylactiques (0,5 à 1 mg/kg): protection de 2 à 4 mois
Diminazène	Berenil Veriben Trypazène Ganaseg Trypan	C	<i>T. congolense</i> <i>T. vivax</i> <i>T. brucei</i>	Bovidés et petits ruminants Equidés Bovidés	7	3,5 mg/kg 7 mg/kg	SC ou IM IM	Soluble dans l'eau froide
Sulfate de quinapyramine	Antrycide (sulfate) Trypacide (sulfate)	C	<i>T. vivax</i> <i>T. brucei</i> <i>T. congolense</i>	Bovidés Petits ruminants Canidés Camélidés	10	5 mg/kg	SC	Soluble dans l'eau froide Résistances
Quinapyramine (sulfate + chlorure)	Antrycide prosalt Trypacide prosalt	P	<i>T. vivax</i> <i>T. brucei</i> <i>T. congolense</i>	Bovidés Petits ruminants Equidés Camélidés	10	0,5 ml/10kg	SC	Protection de 2 à 3 mois Résistances

(CIRAD, 2003)

Annexe 4 : tableau récapitulatif des essais d'immunisation présentés en première partie

Equipe de chercheurs	Espèce immunisée	Parasite cible	Extrait utilisé pour l'immunisation	Résultats
Trager, 1939	Cobaye	<i>Dermacentor variabilis</i>	Extraits larvaires	Résistance à l'infestation
Alger et Cabrera, 1972	Lapin	<i>Anopheles stephensi</i>	Intestins de moustiques homogénéisés	Augmentation de la mortalité
Sutherland et Ewen, 1974	Lapin	<i>Aedes aegypti</i>	Homogénat d'adultes entiers de moustiques	Fécondité réduite de 31%, mortalité non affectée
Brossard, 1976	Bovin	<i>Boophilus microplus</i>	Antigènes de glandes salivaires	Production d'anticorps, résistance à l'infestation
Schlein et Lewis, 1976	Lapin	<i>Stomoxys calcitrans</i> (A), <i>Glossina morsitans</i> (B)	(i)cuticule et cellules adhérentes de l'hypoderme, (ii)muscles thoraciques, (iii)tissus abdominaux, (iv) bourgeons ailiers de <i>S.calcitrans</i> .	(A)Mortalité augmentée, paralysies des membres ou des ailes, difficultés à se nourrir (B)Mortalité augmentée pour (i), (iv)
Allen et Humphreys, 1979	Cobaye	<i>Dermacentor andersoni</i>	Tube digestif et organes reproducteurs Tous les organes internes	Chute de ponte, pas d'éclosion de larves viables Gorgement et oviposition impossibles
Ackerman et al., 1980	Rat	<i>Dermacentor variabilis</i>	Extraits de tissus d'appareils digestifs	Attachement retardé, baisse du poids des tiques gorgées, baisse des performances de reproduction
Wikel, 1981	Cobaye	<i>Dermacentor andersoni</i>	Antigènes de glandes salivaires	Réduction significative du poids des tiques après gorgement, réduction du nombre de larves
McGowan et al., 1981	Bovin	<i>Amblyomma americanum</i>	Homogénat d'adultes entiers de tiques	Baisse du poids des femelles gorgées
Kaaya et Alemu, 1982	Lapin	<i>Glossina morsitans morsitans</i>	Extraits bruts de mouches	Baisse de fécondité et augmentation de la mortalité des pupes
Kaaya et Alemu, 1984	Lapin	<i>Glossina morsitans morsitans</i>	Trypsine de tsé-tsé	Augmentation significative de la mortalité, diminution du poids des pupes
Otieno, Vundla et Mongi, 1984	Lapin	<i>Glossina morsitans morsitans</i>	Extraits bruts de protéases du tube digestif	Activité trypsine/protéase VI diminuée. Problèmes de digestion du repas de sang chez certaines mouches. Pas d'augmentation de la mortalité.
Mongi et al., 1986	Lapin	<i>Rhipicephalus appendiculatus</i>	Antigènes de femelles entières	Durée du repas de sang augmentée, mais poids final non modifié
Johnston et al., 1986	Bovin	<i>Boophilus microplus</i>	Extraits de femelles adultes	Charge parasitaire réduite de 70%
Desquesnes et Vion, 1987	Bovin	<i>Boophilus microplus</i>	Antigènes intestinaux	Augmentation de la mortalité, gorgement incomplet, rupture du tube digestif
Pruett et al., 1987	Bovin	<i>Hypoderma spp</i>	Hypodermine A	Augmentation de la mortalité
Munn et al., 1987	Ovin	<i>Haemonchus contortus</i>	Contortine	réduction de 78% de la charge parasitaire et de la production d'œufs
Wikel, 1987	Cobaye	<i>Amblyomma americanum</i> .	Fragments de la bordure en brosse des intestins	Poids des femelles gorgées réduit jusqu'à 69,8%,

				mortalité des tiques de 37,5 à 71,5%.
Opdebeeck et al., 1988	Bovin	<i>Boophilus microplus</i>	Immunogènes du tractus digestif ou combinaison d'antigènes du tube digestif et du ganglion nerveux céphalique	Réduction de l'infestation de 87 et 80%, production d'œufs diminuée de 95 et 91% respectivement
Ramasamy et al., 1988	Lapin	<i>Aedes aegypti</i>	(i) tête et thorax ; (ii) intestins ; (iii), reste de l'abdomen.	Fécondité réduite, pas de modification de la mortalité
Willadsen et al., 1989	Bovin	<i>Boophilus microplus</i>	Bm86	Réduction de la charge parasitaire, réduction considérable des performances de reproduction
Banerjee et al., 1990	Bovin	<i>Hyalomma anatolicum anatolicum</i>	Antigènes de glandes salivaires	Augmentation significative du temps de gorgement et diminution du poids des tiques gorgées, diminution des performances de reproduction
Wong et Opdebeeck, 1990	Bovin	<i>Boophilus microplus</i>	Extraits de membrane larvaire	Production d'œufs réduite de 78%
Desquesnes, 1990	Lapin	<i>Glossina fuscipes fuscipes</i>	Intestins ou jabots homogénéisés	Augmentation statistiquement significative de la mortalité hebdomadaire
Ratzlaff et Wikel, 1990	Souris	<i>Polyplax serrata</i>	Immunogènes de poux	charge parasitaire/ poids de l'hôte réduit de 62%
Essuman et al., 1991	Bovin	<i>Rhipicephalus appendiculatus</i>	Immunogènes solubles et partiellement purifiés de la membrane du tube digestif de femelles	Poids des tiques gorgées réduit, viabilité des œufs diminuée
Tembo et Rechav, 1992	Lapin	<i>Amblyomma. hebraeum et A. marmoreum</i>	Homogénats de nymphes	Résistance à l'infestation
Tellam et al., 1992	Bovin	<i>Boophilus microplus</i>	Bm 86	Réduction de la population parasitaire de 90% sur une génération
Ramasamy et al., 1992	Lapin	<i>Anopheles tessellatus, Cx.quinquefasciatus</i>	(i) tête et thorax ; (ii) intestins ; (iii), reste de l'abdomen d' <i>Anopheles tessellatus</i>	Augmentation de la mortalité de <i>Cx.quinquefasciatus</i> , pour les fractions(i) et (ii). Production d'œufs de <i>A.tessellatus</i> réduite. Baisse de fécondité de 15% pour(i), 20% pour (ii) et 23% pour (iii)
East et Eisemann, 1993	Ovin	<i>Lucilia cuprina</i>	Péritrophines 95, 48, 44 et 30	Inhibition de la croissance larvaire <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> mais pas d'augmentation de la mortalité des larves <i>in vivo</i> .
Opdebeeck et Slacek, 1993	Chat	<i>Ctenocephalides felis felis</i>	Intestins de puces	Aucune différence de charge parasitaire ou de fécondité, malgré titres en Ac élevés
Munn et al., 1993	Ovin	<i>Haemonchus contortus</i>	H11	Réduction du poids de la charge parasitaire de 72 à 89%, production d'œufs réduite de 92%.
Kimaro et Opdebeeck, 1994	Bovin	<i>Boophilus microplus</i>	Immunogènes du tractus digestif	Réduction de la charge parasitaire de 82% à 91%
Smith et al., 1994	Ovin	<i>Haemonchus contortus</i>	H-gal-GP	Réduction de la charge parasitaire de 72% et du nombre moyen d'œufs par

				gramme de fécès de plus de 93%
Desquesnes, 1997	Bovin	<i>Tabanus importunus</i>	Broyat d'intestins moyens de taons à jeun	Augmentation de la durée moyenne de survie
Lal et al., 2001	Cobaye	<i>Aedes gambiae</i>	Lysats intestinaux	Réduction de la fécondité et de la durée moyenne de survie
Tellam et al., 2003	Ovin	<i>Lucilia cuprina</i>	Péritrophine 55	Inhibition de la croissance larvaire de 51 à 66%

Annexe 5 : analyses statistiques du challenge 0

Taux de mortalité

	JJP0/T0	IJ0/T0	IP0/T0
ϵ	0,012906181	0,03133042	0

Cumul de ponte

	JJP0/T0	IJ0/T0	IP0/T0
m1	160	154,8	156,5
m2	157,3	157,3	157,3
s ² 1	512	312,9	161,7
s ² 2	284,9	284,9	284,9
t'0	0,149	0,204	0,075
k'	1,592	5,986	5,575
k	2	6	6
T	4,303	2,447	2,447

Taux de ponte

	JJP0/T0	IJ0/T0	IP0/T0
m1	174,1	174,1	174,1
m2	177,9	171,7	174,7
s ² 1	201,5	201,5	201,5
s ² 2	474,3	405,7	92,4
t'0	0,224	0,194	0,069
k'	1,448	5,390	5,273
k	1	5	5
T	12,706	2,571	2,571

Poids moyen des pupes

	JJP0/T0	IJ0/T0	IP0/T0
m1	23,8	23,8	23,8
m2	24,1	23,6	23,9
s ² 1	0,3	0,3	0,3
s ² 2	0,2	1,3	0,3
t'0	0,654	0,310	0,243
k'	0,703	0,299	0,749
k	1	1	1
T	12,706	12,706	12,706

Annexe 6 : analyses statistiques du challenge 1

Taux de mortalité

	JJP1/T1	IJ1/T1	IP1/T1
ϵ	0,206848039	0,033607513	0,010136191

Cumul de ponte

	JJP1/T1	IJ1/T1	IP1/T1
m1	191,5	177,5	192,3
m2	211	211	211
s ² 1	2380,5	2757,7	1405,6
s ² 2	376,7	376,7	376,7
t'0	0,544	1,196	0,885
k'	1,162	3,804	4,500
k	1	4	5
T	12,706	2,776	2,571

Taux de ponte

	JJP1/T1	IJ1/T1	IP1/T1
m1	225,9	225,9	225,9
m2	210,1	193,7	206,4
s ² 1	371,2	371,2	371,2
s ² 2	1717	2415,4	1331,0
t'0	0,512	1,219	0,945
k'	1,223	3,900	4,552
k	1	4	5
T	12,706	2,776	2,571

Poids moyen des pupes

	JJP1/T1	IJ1/T1	IP1/T1
m1	24,2	24,2	24,5
m2	25	25	25
s ² 1	1,3	0,8	0,8
s ² 2	0,7	0,7	0,7
t'0	0,916	1,391	0,864
k'	1,567	5,957	5,966
k	2	6	6
T	4,303	2,447	2,447

Annexe 7 : analyses statistiques du challenge 2

Taux de mortalité

	JJP2/T2	IJ2/T2	IP2/T2
ϵ	0,025280026	0,161413854	0,21195098

Cumul de ponte

	JJP2/T2	IJ2/T2	IP2/T2
m1	184,5	180,5	169
m2	201,8	201,8	201,8
s ² 1	112,5	2692,3	1946
s ² 2	1733,6	1733,6	1733,6
t'0	0,781	0,640	1,081
k'	3,645	5,731	5,980
k	4	6	6
T	2,776	2,447	2,447

Taux de ponte

	JJP2/T2	IJ2/T2	IP2/T2
m1	223,5	223,5	223,5
m2	199,4	201,2	191,1
s ² 1	1200,9	1200,9	1200,9
s ² 2	30,4	2845,9	1851,1
t'0	1,356	0,701	1,172
k'	3,286	5,149	5,739
k	3	5	6
T	3,182	2,571	2,447

Poids moyen des pupes

	JJP2/T2	IJ2/T2	IP2/T2
m1	24,1	24,2	24,4
m2	25,1	25,1	25,1
s ² 1	1,5	2,6	2,9
s ² 2	0,6	0,6	0,6
t'0	1,023	1,073	0,703
k'	1,402	4,231	4,120
k	1	4	4
T	12,706	2,776	2,776

Annexe 8 : analyses statistiques du challenge horizontal

Taux de mortalité

	IJ0/IJ1	IJ0/IJ2	IJ1/IJ2	IP0/IP1	IP0/IP2	IP1/IP2	T0/T1	T0/T2	T1/T2	JJP0/JJP1	JJP0/JJP2	JJP1/JJP2
ε	0,377	0,085	0,291	0,357	0,022	0,334	0,414	0,237	0,175	0,127	0,281	0,153

Cumul de ponte

	IJ0/IJ1	IJ0/IJ2	IJ1/IJ2	IP0/IP1	IP0/IP2	IP1/IP2	T0/T1	T0/T2	T1/T2	JJP0/JJP1	JJP0/JJP2	JJP1/JJP2
m1	177,5	180,5	180,5	192,25	169	192,25	211	201,75	211	191,5	160	191,5
m2	154,75	154,75	177,5	156,5	156,5	169	157,25	157,25	201,75	160	184,5	184,5
s ¹	2757,7	2692,3	2692,3	1405,6	1946	1405,6	376,7	1733,6	376,7	2380,5	512	2380,5
s ²	312,9	312,9	2757,7	161,7	161,7	1946	284,9	284,9	1733,6	512	112,5	112,5
t'0	0,821	0,939	0,081	1,806	0,544	0,803	4,179	1,980	0,402	0,828	1,386	0,198
k'	3,653	3,193	36,912	1,661	5,509	3,735	0,717	1,514	7,449	1,207	0,721	5,043
k	4	4	6	4	3	6	6	4	4	1	1	1
T	2,776	2,776	2,447	2,776	3,182	2,447	2,447	2,776	2,776	12,706	12,706	12,706

Taux de ponte

	IJ0/IJ1	IJ0/IJ2	IJ1/IJ2	IP0/IP'1	IP0/IP2	IP1/IP2	T0/T1	T0/T2	T1/T2	JJP0/JJP1	JJP0/JJP2	JJP1/JJP2
m1	192,5	200,4	200,4	206,1	189,7	206,1	225,8	222,1	225,8	208,9	199,3	208,9
m2	171,7	171,7	192,5	174,5	174,5	189,7	173,9	173,9	222,1	177,7	177,7	199,3
s ¹	2414,1	2844,5	2844,5	1329,4	1849,8	1329,4	370,5	1202,3	370,5	1717,3	30,3	1717,3
s ²	405,6	405,6	2414,1	92,3	92,3	1849,8	200,4	200,4	1202,3	472,4	472,4	30,3
t'0	0,783	1,004	0,216	1,673	0,687	0,581	4,342	2,575	0,184	0,942	1,363	0,323
k'	3,829	2,986	13,877	1,792	4,362	5,157	0,690	1,164	16,287	1,061	0,733	3,091
k	4	4	6	4	3	6	6	4	5	2	1	1
T	2,776	2,776	2,447	2,776	3,182	2,447	2,447	2,776	2,571	4,303	1,96	1,96

Poids moyen des pupes

	IJ0/IJ1	IJ0/IJ2	IJ1/IJ2	IP0/IP1	IP0/IP2	IP1/IP2	T0/T1	T0/T2	T1/T2	JJP0/JJP1	JJP0/JJP2	JJP1/JJP2
m1	24,2	24,2	24,2	24,5	24,4	24,5	25,0	25,1	25,1	24,2	24,2	24,2
m2	23,6	23,6	24,2	23,9	23,9	24,4	23,8	23,8	25,0	24,1	24,1	24,1
s ¹	0,8	2,6	2,5	0,8	2,8	0,8	0,7	0,6	0,6	1,2	0,3	1,2
s ²	1,3	1,3	0,8	0,3	0,3	2,8	0,4	0,4	0,7	0,3	1,5	1,5
t'0	0,760	0,578	0,019	1,074	0,591	0,055	2,502	2,833	0,183	0,046	0,010	0,043
k'	3,942	5,183	155,936	2,791	5,073	54,219	1,198	1,058	16,328	21,416	92,965	23,079
k	6	5	5	5	4	5	4	6	6	1	1	2
T	2,447	2,571	2,571	2,571	2,776	2,571	2,776	2,447	2,447	12,706	12,706	4,303