



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints> ID : 5174

To cite this version :

Chrétien, Aline. *Cinétique comparée des phénomènes physiopathologiques et de la réponse immune chez des ovins résistants (Martinik Black Belly) ou sensibles (Lacaune) au cours d'une primo-infestation par haemonchus contortus* . Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2011, 157 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

CINÉTIQUE COMPARÉE DES PHÉNOMÈNES PHYSIOPATHOLOGIQUES ET DE LA RÉPONSE IMMUNE CHEZ DES OVINS RÉSISTANTS (Martinik Black Belly) OU SENSIBLES (Lacaune) AU COURS D'UNE PRIMO-INFESTATION PAR *HAEMONCHUS CONTORTUS*

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

CHRETIEN Aline, Céline

Née, le 30 Octobre 1986 à PAU (Pyrénées Atlantiques)

Directeur de thèse : M. Philippe JACQUIET

JURY

PRESIDENT :
M. Alexis VALENTIN

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
M. Philippe JACQUIET
M. Emmanuel LIENARD

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de la Pêche
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : M. A. MILON

Directeurs honoraires M. G. VAN HAVERBEKE.
M. P. DESNOYERS

Professeurs honoraires :

NEGRE	M. L. FALIU	M. J. CHANTAL	M. BODIN ROZAT DE MENDRES
	M. C. LABIE	M. JF. GUELFY	M. DORCHIES
	M. C. PAVAU	M. ECKHOUTTE	
	M. F. LESCURE	M. D.GRIESS	
	M. A. RICO	M. CABANIE	
	M. A. CAZIEUX	M. DARRE	
	Mme V. BURGAT	M. HENROTEAUX	

**PROFESSEURS CLASSE
EXCEPTIONNELLE**

M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 1°
CLASSE**

M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

**PROFESSEURS 2°
CLASSE**

Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*

- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
 Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
 M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
 Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
 M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
 M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
 M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
 M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
 M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
 Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE
--

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
 M **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE
--

- Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
 Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
 M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
 Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
 M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
 M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
 Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
 M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
 M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
 Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
 Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
 Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
 M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
 M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
 M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
 M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
 Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
 M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
 M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
 Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
 Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
 M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
 M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
 M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
 M. **MAGNE Laurent**, *Urgences soins-intensifs*
 M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
 M **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants.*
 Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
 M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
 M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
 Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
 Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
 Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
 M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*
 M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

M. **SOUBIES Sébastien**, *Microbiologie et infectiologie*

**ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
CONTRACTUELS**

Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*

M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie*

Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*

Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*

M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*

Mlle **TREVENNEC Karen**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*

M **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

A notre Président de thèse,

Monsieur le Professeur Alexis VALENTIN

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Zoologie-Parasitologie

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

A notre Jury de thèse,

Monsieur le Professeur Philippe JACQUIET

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Parasitologie et Maladies parasitaires

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

Monsieur le Docteur Emmanuel LIENARD

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Parasitologie et Maladies parasitaires

Qui a participé à ce travail et nous a fait l'honneur d'assister à notre présentation orale.

A ma mère, qui a toujours été là pour moi, avec qui j'ai toujours le sentiment que rien ne peut m'arriver. Tu mérites vraiment d'être heureuse.

A mon père, qui a été le meilleur père dont on puisse rêver. Même si certains points nous opposent, je te respecte sincèrement, et j'espère aussi que tu sauras être heureux.

A ma sœur, que j'aimerais connaître mieux. En espérant que l'avenir nous rapprochera et nous permettra de mieux nous comprendre, même si à mon avis on se ressemble bien plus qu'on ne le croit.

A ma grand-mère que j'aimerais voir plus souvent, comme toute ma famille Ch'ti

A Quentin, qui m'a soutenue et supportée pendant la rédaction de cette thèse. Merci d'être là pour moi, malgré mon caractère pas toujours facile. Déjà 6 ans ensemble, et j'espère qu'il y en aura bien d'autres...

A Sisley et Marie, pour nos après midi passées au CEB, à rire, à peindre, à pleurer, à critiquer la manière de monter de tout le monde. Ces années sont sans doute les plus belles de ma vie. Merci aussi de m'avoir suivie au Quick pour me permettre d'assouvir mon addiction ! J'espère que d'autres soirées cinéma, boîte de nuit, papotage sur le canap' nous attendent !

A Gaëlle, avec qui j'ai grandi. J'espère que la vie t'apportera tout ce que tu souhaites. En tout cas je t'admire pour ce beau projet entrepris avec Renaud, et je suis sûre que le résultat sera magnifique !

A Manon et Morgane, pour tous nos délires lévriers afghanonesques, nos luttes contre le portage des polaires Vétoquinol, nos soirées Grey's en compagnie des Dr Mamour et Glamour. J'espère bien qu'on se reverra, si Manon daigne revenir en France !!

A Pierre, pour nos balades le long du Touch, bercées par les « Kiiikiiiiiii !!! » et les « Ciiiiid, vient ici !! », même si Caïd nage mieux !!

A TDJ, Golden et Diane, pour nos si bons moments passés en équine... hein Golden ?! ah ah !!

A Lauriol et Orel, avec qui j'ai fait mes premiers pas au sein des cliniques. Et surtout : Blink 182 ça déchire !!

A Michou et FX, qui se sont bien battus pour m'avoir dans leur trinôme... J'espère que vous ne le regrettez pas trop !

A tous les autres, que j'ai connu plus tard, Aurélie, Emilie, Laurie, Elise(s) F. et B., Julie, Gueydon, Mumu, Martin, Jérôme (ou Harry comme on l'appelait dans le temps !), Audrey, Hélène ...

A Françoise PREVOT, Christelle GRISEZ, Jean-Paul BERGEAUD, Mohammed BENGUESMIA, qui ont participé à ce travail et m'ont bien aidé lors de mes expérimentations

TABLE DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES

<u>FIGURE 1 : H. CONTORTUS A LA SURFACE DE L'ABOMASUM D'UNE CHEVRE (HTTP://SCIENCEWATCH.COM)</u>	20
<u>FIGURE 2 : FEMELLE H. CONTORTUS, ASPECT EN "VERS MRLITON" (HTTP://WWW.ANTILLES.INRA.FR)</u>	20
<u>FIGURE 3 : EXTREMITÉ ANTERIEURE DE H. CONTORTUS MUNIE D'UNE LANCETTE (ME A BALAYAGE) (HTTP://SCIENCEWATCH.COM/)</u>	21
<u>FIGURE 4 : LANGUETTE SUPRA-VULVAIRE DES FEMELLES</u>	22
<u>FIGURE 5 : BOURSE COPULATRICE DES MALES MUNIE DES DEUX SPICULES (EN MARRON) ET DE LA COTE EN Y (PHOTO A. CHRETIEN)</u>	22
<u>FIGURE 7 : DEVELOPPEMENT DE NODULES DANS LA MUQUEUSE ABOMASALE D'UN MOUTON AYANT SUBI DES INFESTATIONS SUCCESSIVES PAR H. CONTORTUS (D'APRÈS GETACHEW, 2007)</u>	29
<u>FIGURE 8 : OEDEME DE L'AUGE DU A L'HAEMONCHOSE AÏGUE OU "SIGNE DE LA BOUTEILLE" (= BOTTLE JAW)SOURCE DE LA PHOTO ?</u>	31
<u>FIGURE 9 : IMMOBILISATION IN VITRO D'UNE LARVE D'H. CONTORTUS PAR LES GRANULOCYTES EOSINOPHILES (ME A BALAYAGE)(TEREFE ET AL., 2007A)</u>	35
<u>FIGURE 10 : PATTERN-RECOGNITION RECEPTORS ET LEUR PARTICIPATION DANS LES INTERACTIONS AVEC LES PATHOGENES (VASTA G.R., 2009)</u>	37
<u>FIGURE 11 : BREBIS DE RACE LACAUNE (HTTP://FR.ACADEMIC.RU/PICTURES/FRWIKI/66/BREBIS_LACAUNE.JPG)</u>	50
<u>FIGURE 12 : BELIERS DE RACE MARTINIK BLACK BELLY (PHOTO C. LACROUX, 2006)</u>	51
<u>FIGURE 14 : METHODE DE MAC MASTER MODIFIEE PAR RAYNAUD (DELTOUR, 2000)</u>	56
<u>FIGURE 15 : COUPES HISTOLOGIQUES DE CAILLETTE D'OVINS INFESTES PAR H. CONTORTUS, METTANT EN EVIDENCE DES POLYNUCLEAIRES EOSINOPHILES (LACROUX, 2006)</u>	59
<u>FIGURE 16 : SCHEMA D'UN PROFIL TYPE DE PCR EN TEMPS REEL</u>	62
<u>FIGURE 17 : PHOTOGRAPHIE D'UN INSERT (PHOTO A. CHRETIEN)</u>	64
<u>FIGURE 18 : PHOTOGRAPHIE D'UN TUBE OU L'INSERT A ETE DEPOSE (PHOTO A. CHRETIEN)</u>	65
<u>FIGURE 20 : INTENSITES D'EXCRETION DES ŒUFS DE STRONGLES AU COURS D'UNE PRIMO INFESTATION PAR HAEMONCHUS CONTORTUS ABBREVIATION : OPG = ŒUFS PAR GRAMME</u>	70
<u>FIGURE 23 : CINETIQUE DE L'EOSINOPHILIE SANGUINE AU COURS D'UNE PRIMO INFESTATION PAR H. CONTORTUS CHEZ LES LACAUNE ET CHEZ LES BLACK BELLY</u>	73
<u>FIGURE 24 : NOMBRE MOYEN DES EOSINOPHILES DANS LA REGION DU FUNDUS</u>	74
<u>FIGURE 25 : NOMBRE MOYEN DES EOSINOPHILES DANS LA REGION INTERMEDIAIRE</u>	75
<u>FIGURE 26 : NOMBRE MOYEN DES EOSINOPHILES DANS LA REGION DU PYLORE</u>	75
<u>FIGURE 27 : CINETIQUE DE L'HEMATOCRITE CHEZ LES LACAUNE ET LES BLACK BELLY</u>	76
<u>FIGURE 28 : CINETIQUE DU NOMBRE TOTAL D'HEMATIES CHEZ LES LACAUNE ET LES BLACK BELLY</u>	76
<u>FIGURE 29 : CINETIQUE DU TAUX DE RETICULOCYTES CHEZ LES LACAUNE ET LES BLACK BELLY</u>	77
<u>FIGURE 30 : CINETIQUE DE L'HEMOGLOBINE CHEZ LES LACAUNE ET LES BLACK BELLY</u>	78
<u>FIGURE 31 : CINETIQUE DE LA CCMH CHEZ LES LACAUNE ET LES BLACK BELLY</u>	79
<u>FIGURE 32 : CINETIQUE DU PEPSINOGENE CHEZ LES LACAUNE ET LES BLACK BELLY</u>	79
<u>FIGURE 33 : EXPRESSION DU GENE DE LA GALECTINE 15 DANS LA MUQUEUSE ABOMASALE DES AGNEAUX LACAUNE</u>	

<i>(GAUCHE) ET MARTINIK BLACK BELLY (DROITE)</i>	80
<i>FIGURE 34 : ABSENCE DE LA PROTEINE GALECTINE 15 CHEZ LES ANIMAUX NON INFESTES (J0)</i>	81
<i>FIGURE 35 : MISE EN EVIDENCE DE LA PROTEINE GALECTINE 15 DANS LE MUCUS DES ANIMAUX INFESTES ET ABATTUS A</i> <i>J8 ABREVIATIONS : BB = BLACK BELLY ; L = LACAUNE ; T+ = TEMOIN POSITIF</i>	82
<i>FIGURE 36 : INHIBITION DE MIGRATION LARVAIRE AU COURS DE L'INFESTATION PAR H. CONTORTUS</i>	83

LISTE DES TABLEAUX

<i>TABLEAU 1 : ETAPES DU DEVELOPPEMENT D'H. CONTORTUS CHEZ SON HOTE (D'APRES LACROUX, 2006)</i>	24
<i>TABLEAU 2 : TABLEAU CLINIQUE D'UNE HAEMONCHOSE AIGUE (CHERMETTE, 1982)</i>	30
<i>TABLEAU 3 : CLASSIFICATION DES LECTINES ANIMALES (VASTA G. R., 2009)</i>	37
<i>TABLEAU 4 : LOTS DES AGNEAUX LACAUNE, PATERNITES INCONNUES</i>	52
<i>TABLEAU 5 : LOTS DES AGNEAUX BLACK BELLY, PATERNITES CONNUES = UNE COULEUR CORRESPOND A UN PERE</i>	52
<i>TABLEAU 6 : REPARTITION DES OVINS EN SIX LOTS (CHAQUE COULEUR CORRESPOND A UN PERE MBB)</i>	53
<i>TABLEAU 7 : LONGUEUR MOYENNE DES FEMELLES ADULTES A J21 ET J30 : COMPARAISON ENTRE LES DEUX RACES</i> ...	72

TABLE DES MATIERES

<u>INTRODUCTION</u>	14
<u>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</u>	18
<u>1. HAEMONCHUS CONTORTUS</u>	20
<u>1.1. PRESENTATION DU PARASITE</u>	20
<u>1.1.1. Aspect macroscopique</u>	20
<u>1.1.2. Aspect microscopique</u>	21
<u>1.2. CYCLE EVOLUTIF DU PARASITE</u>	22
<u>1.3. LES SOURCES DE PARASITES</u>	24
<u>1.4. SURVIE DU PARASITE</u>	25
<u>2. L'HAEMONCHOSE OVINE</u>	27
<u>2.1. PARTICULARITES EPIDEMIOLOGIQUES</u>	27
<u>2.1.1. Répartition géographique</u>	27
<u>2.1.2. Réceptivité à l'haemonchose</u>	27
<u>2.2. SYMPTOMES</u>	28
<u>2.2.1. Pathogénie</u>	28
<u>2.2.2. Tableau clinique</u>	29
<u>2.3. LESIONS</u>	31
<u>2.4. DIAGNOSTIC</u>	31
<u>2.4.1. Diagnostic épidémio-clinique</u>	31
<u>2.4.2. Diagnostic nécropsique</u>	31
<u>2.4.3. Diagnostic de laboratoire</u>	31

3.	<u>LA REPOSE IMMUNITAIRE DES OVINS FACE A L'INFESTATION PAR DES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX</u>	33
3.1.	<u>LA REPOSE IMMUNITAIRE INNEE</u>	33
3.2.	<u>LA REPOSE IMMUNITAIRE ACQUISE</u>	34
3.3.	<u>LES EOSINOPHILES</u>	35
3.4.	<u>CAS PARTICULIER DES LECTINES</u>	36
3.4.1.	<i>Présentation générale</i>	36
3.4.2.	<i>Une sous famille des lectines : les galectines</i>	38
3.4.3.	<i>Les galectines en tant que Pattern Recognition Receptors (PRR) lors des infestations par des parasites gastro-intestinaux</i>	38
3.5.	<u>EFFETS DE LA REPOSE IMMUNITAIRE SUR LES POPULATIONS PARASITAIRES D'<i>H. CONTORTUS</i></u>	39
4.	<u>LA LUTTE CHIMIQUE CONTRE <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i></u>	40
4.1.	<u>LES ANTHELMINTHIQUES ET LEUR MODE D'ACTION</u>	40
4.1.1.	<i>Les benzimidazoles et pro-benzimidazoles</i>	40
4.1.2.	<i>Le lévamisole</i>	40
4.1.3.	<i>Les salicylanilides (closantel) et les phénols halogénés (nitroxinil)</i>	40
4.1.4.	<i>Les lactones macrocycliques</i>	40
4.2.	<u>LA RESISTANCE AUX ANTHELMINTHIQUES</u>	41
4.2.1.	<i>Définition</i>	41
4.2.2.	<i>Prévalence de la résistance aux anthelminthiques</i>	41
4.2.3.	<i>Conduite à tenir</i>	42
5.	<u>LES METHODES ALTERNATIVES DE LUTTE CONTRE <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i></u>	44
5.1.	<u>TARIR LES SOURCES DE CONTAMINATION</u>	44
5.1.1.	<i>La gestion raisonnée des pâturages</i>	44
5.1.2.	<i>Les champignons nématophages</i>	44

5.2.	<u>AUGMENTER LA RESISTANCE DE L'HOTE</u>	45
5.2.1.	<i>Influence de l'alimentation</i>	45
5.2.2.	<i>La vaccination</i>	45
5.3.	<u>SELECTION D'OVINS RESISTANTS AUX NEMATODES GASTRO-INTESTINAUX</u>	45
5.3.1.	<i>Définitions</i>	46
5.3.2.	<i>Les bases de la résistance</i>	46
5.3.3.	<i>Les races résistantes aux strongles gastro-intestinaux</i>	46
	<u>OBJECTIFS DES TRAVAUX DE THESE</u>	47
	<u>ETUDE EXPERIMENTALE : MATERIEL ET METHODES</u>	48
1.	<u>MODELES EXPERIMENTAUX</u>	50
1.1.	<u>LES OVINS</u>	50
1.1.1.	<i>Ovins de race Lacaune</i>	50
1.1.2.	<i>Ovins de race Martinik Black Belly</i>	50
1.1.3.	<i>Age et genre des ovins</i>	51
1.2.	<u>LES PARASITES</u>	52
2.	<u>DISPOSITIF EXPERIMENTAL</u>	53
3.	<u>ETUDE DES PARAMETRES PARASITAIRES</u>	55
3.1.	<u>EXCRETION FECALE DES ŒUFS DE STRONGLES PAR L'HOTE</u>	55
3.2.	<u>ETUDES QUANTITATIVE ET QUALITATIVE DES POPULATIONS PARASITAIRES</u>	56
3.2.1.	<i>Comptage du nombre total de vers après abattage (charge parasitaire)</i>	56
3.2.2.	<i>Etude qualitative de la population parasitaire</i>	57
4.	<u>ETUDE DES PARAMETRES PHYSIOPATHOLOGIQUES CHEZ L'HOTE</u>	58
4.1.	<u>ETUDE DE LA REPONSE EOSINOPHIQUE</u>	58
4.1.1.	<i>Cinétique de l'éosinophilie sanguine</i>	58

4.1.2.	<i>Cinétique de l'infiltration éosinophilique de la paroi abomasale</i>	58
4.2.	<u>CINETIQUE DU TAUX D'HEMATOCRITE</u>	59
4.3.	<u>CINETIQUE DU NOMBRE TOTAL D'HEMATIES ET DU TAUX DE RETICULOCYTES</u>	59
4.4.	<u>CINETIQUE DE L'HEMOGLOBINEMIE ET DE LA CONCENTRATION CORPUSCULAIRE MOYENNE EN HEMOGLOBINE (CCMH)</u>	60
4.5.	<u>CINETIQUE DU PEPSINOGENE SANGUIN</u>	60
5.	<u>ETUDE DE L'EXPRESSION DE LA GALECTINE 15 DANS LE TISSU ABOMASAL</u>	61
5.1.	<u>MISE EN EVIDENCE DE LA GALECTINE 15 DANS LE MUCUS</u>	61
5.2.	<u>MISE EN EVIDENCE DE L'EXPRESSION DU GENE OV-GAL 15 DANS LES CELLULES ABOMASALES</u>	61
5.3.	<u>MISE EN EVIDENCE DE L'ACTION DE LA GALECTINE 15 DU MUCUS ABOMASAL SUR LA MOBILITE DES LARVES D'<i>H. CONTORTUS</i></u>	63
6.	<u>ANALYSES STATISTIQUES</u>	66
	<u>ETUDE EXPERIMENTALE : RESULTATS</u>	68
1.	<u>ETUDE DES POPULATIONS PARASITAIRES</u>	70
1.1.	<u>EXCRETION FECALE DES ŒUFS DE STRONGLES</u>	70
1.2.	<u>ETUDES QUANTITATIVE ET QUALITATIVE DES POPULATIONS PARASITAIRES</u>	70
1.2.1.	<i>Comptage du nombre total de vers après abattage (charge parasitaire)</i>	70
1.2.2.	<i>Etude qualitative de la population parasitaire</i>	71
2.	<u>ETUDE DES PARAMETRES PHYSIOPATHOLOGIQUES CHEZ L'HOTE</u>	73
2.1.	<u>ETUDE DE LA REPONSE EOSINOPHIQUE</u>	73
2.1.1.	<i>Cinétique de l'éosinophilie sanguine</i>	73
2.1.2.	<i>Cinétique de l'infiltration éosinophilique de la paroi abomasale</i>	73
2.2.	<u>CINETIQUE DU TAUX D'HEMATOCRITE</u>	75
2.3.	<u>CINETIQUE DU NOMBRE TOTAL D'HEMATIES ET DU TAUX DE RETICULOCYTES</u>	76
2.3.1.	<i>Cinétique du nombre total d'hématies</i>	76

2.3.2.	<i>Cinétique du taux de réticulocytes</i>	77
2.4.	<u>CINETIQUE DE L'HEMOGLOBINEMIE ET DE LA CONCENTRATION CORPUSCULAIRE MOYENNE EN HEMOGLOBINE (CCMH)</u>	77
2.4.1.	<i>Cinétique de l'hémoglobinémie</i>	77
2.4.2.	<i>Cinétique de la Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH)</i>	78
2.5.	<u>CINETIQUE DU PEPSINOGENE SANGUIN</u>	79
3.	<u>MISE EN EVIDENCE DE LA GALECTINE 15 DANS LE TISSU ABOMASAL</u>	80
3.1.	<u>MISE EN EVIDENCE DE L'EXPRESSION DU GENE OV-GAL 15 DANS LES CELLULES ABOMASALES</u>	80
3.2.	<u>MISE EN EVIDENCE DE LA PROTEINE GALECTINE 15 DANS LE MUCUS PAR WESTERN BLOT</u>	80
3.3.	<u>GALECTINE 15 DU MUCUS ABOMASAL ET INHIBITION DE LA MIGRATION LARVAIRE DES LARVES D'<i>H. CONTORTUS</i></u>	82
4.	<u>DISCUSSION</u>	84
4.1.	<u>PROTOCOLE EXPERIMENTAL</u>	84
4.2.	<u>RESULTATS</u>	84
4.2.1.	<i>Une résistance plus importante des Martinik Black Belly</i>	84
4.2.2.	<i>Une réponse éosinophilique plus marquée, associée à des lésions inflammatoires plus importantes ?</i>	85
4.2.3.	<i>Une production plus importante de galectine 15 chez les Black Belly</i>	86
	<u>CONCLUSION</u>	88

Introduction

La France est le troisième pays producteur de petits ruminants de l'Union Européenne.

Les pertes économiques liées à l'infestation par des strongles gastro-intestinaux pour un éleveur sont considérables. Elles rassemblent les pertes en nature, directement par mortalité, mais surtout les pertes insidieuses par amaigrissement, retard de croissance, baisse des performances reproductrices et enfin les pertes dues à l'engagement de moyens matériels et humains pour leur prévention.

L'Haemonchose est une des principales espèces de strongles gastro-intestinaux chez les ovins et les caprins. Son contrôle est pour l'instant permis par l'utilisation d'anthelminthiques. Cependant, le recours à des substances chimiques présente deux inconvénients, qui conduisent les scientifiques à chercher activement d'autres moyens de lutte. Le premier problème repose sur l'intérêt grandissant de l'opinion publique pour l'emploi de produits chimiques en agriculture, avec les risques associés à la présence de résidus dans les produits d'origine animale, la contamination des pâturages, ou l'exposition à des toxiques pour les agriculteurs. Le deuxième inconvénient est l'émergence d'une résistance aux anthelminthiques. Des résistances multiples (à plusieurs familles d'anthelminthiques de mode d'action différent) ont été décrites en Australie, au Brésil et en Afrique du Sud. Il existe de nos jours des souches d'*H. contortus* résistantes à toutes les classes de molécules anthelminthiques connues.

C'est pour ces raisons que de nombreux groupes de recherche tentent de trouver des alternatives dans la lutte contre les strongles digestifs. Il est maintenant établi que les moutons peuvent graduellement développer une résistance à *H. contortus* lors d'infestations répétées. Un certain degré de contrôle génétique est universellement accepté (Woolaston et Baker, 1996a) : la mise en évidence, à travers le monde, de différences entre races ou entre individus d'une même race l'atteste. Toutefois, les mécanismes qui sous tendent cette résistance sont encore mal connus. L'immunité acquise adaptative y joue un rôle important (Lacroux et al., 2006), mais il semblerait que certaines races présentent une grande résistance à *H. contortus* dès la première exposition à ce parasite : l'implication de mécanismes immunitaires innés ne doit donc pas être écartée.

de nous intéresser à une lectine produite par les cellules épithéliales de la muqueuse de la caillette, la galectine 15, dont l'expression semble augmenter lors d'une infestation par *H. contortus*. Nous avons comparé sa production, son expression et son rôle entre deux races ovines, l'une réputée sensible au parasite : la race Lacaune, et l'autre connue pour être résistante : la race Martinik Black Belly (Terefe et al., 2007). Parallèlement à l'étude de la galectine 15, nous avons décrit et comparé l'évolution des paramètres physiopathologiques (taux d'hématocrite, taux de réticulocytes circulants, hémoglobininémie, concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, nombre d'hématies circulantes, éosinophilie et infiltration éosinophilique de la paroi abomasale) entre les deux races. Ensuite, les paramètres liés aux traits de vie d'*H. contortus* ont été analysés (excrétion d'œufs de strongles, charge parasitaire, taille des larves femelles, quantification des stades larvaires). Enfin,

l'analyse des corrélations entre l'expression de la galectine 15 et les paramètres parasitologiques a été effectuée afin de préciser l'implication de cette protéine dans la réponse immunitaire contre *H. contortus* chez les Lacaune et les Martinik Black Belly.

Etude Bibliographique

Haemonchus contortus

La majorité des strongles gastro-intestinaux des ruminants appartient à la famille des Trichostrongylidae. Le genre *Haemonchus* fait partie de la sous-famille des Haemonchinae et comporte quatre espèces chez les ruminants domestiques : *H. contortus* (chez les ovins et les caprins), *H. placei* et *H. similis* (chez les bovins), *H. longistipes* (chez les dromadaires) et au moins sept autres espèces chez les antilopes africaines

Présentation du parasite

Aspect macroscopique

Un ver adulte de l'espèce *Haemonchus contortus* est facilement reconnaissable à l'œil nu. Il présente une coloration brun-rosé, du fait de son mode de nutrition hématoophage, et mesure entre 15-35 mm de longueur pour 0,4-0,6 mm de largeur.

La femelle est plus longue que le mâle, et possède deux cordons génitaux blancs, spiralés, s'enroulant autour du tube digestif rougeâtre, lui donnant un aspect en « ver mirliton ».



Figure 1 : *H. contortus* à la surface de l'abomasum d'une chèvre (<http://sciencewatch.com>)



Figure 2 : Femelle *H. contortus*, aspect en "vers mirliton" (<http://www.antilles.inra.fr>)

Aspect microscopique

L'extrémité antérieure est composée d'une ébauche de capsule buccale en entonnoir, renfermant une petite lancette dans le fond, qui permet aux parasites d'atteindre la lumière des capillaires sanguins de la muqueuse abomasale.

Les mâles sont caractérisés par une bourse copulatrice formée de deux grands lobes latéraux, d'un petit lobe dorsal asymétrique soutenu par une côte en Y et deux spicules (0,5 mm),.

Chez les femelles, la vulve est localisée au quart de la longueur du corps en avant de l'extrémité caudale, et est en général surmontée d'une languette supra-vulvaire (Bussi ras and Chermette, 1988 ; Chermette, 1982).

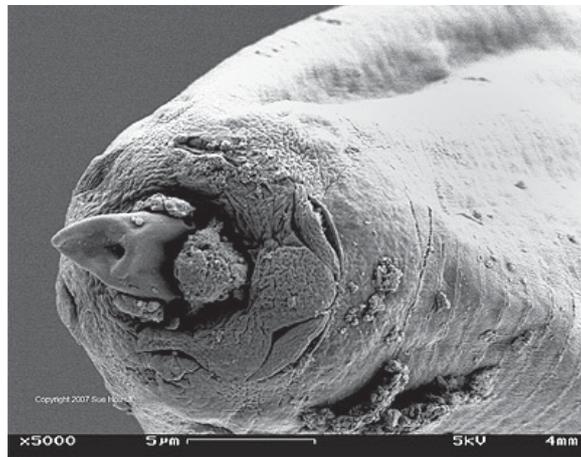


Figure 3 : Extrémité antérieure de H. contortus munie d'une lancette (ME   balayage)
(<http://sciencewatch.com/>)



Figure 4 : Languette supra-vulvaire des femelles (Photo A. Chrétien)

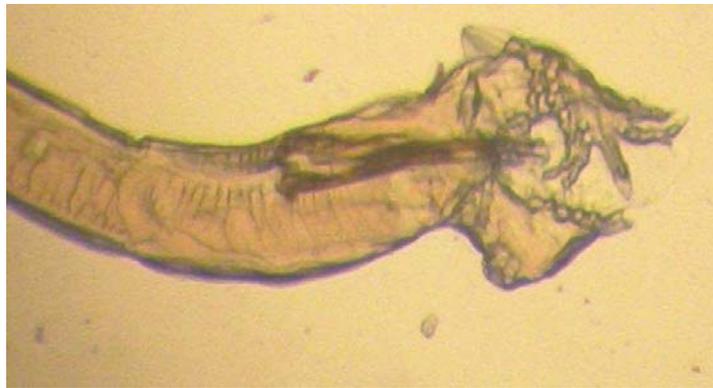


Figure 5 : Bourse copulatrice des mâles munie des deux spicules (en marron) et de la côte en Y (Photo A. Chrétien)

Cycle évolutif du parasite

Le cycle évolutif de *H. contortus* est un cycle monoxène (absence d'hôte intermédiaire) qui se divise en deux phases : la phase libre, se déroulant dans l'environnement, et la phase parasitaire, chez l'hôte.

La phase libre débute avec l'élimination d'œufs pondus par les vers femelles dans les matières fécales de l'hôte. Ces œufs éclosent et donnent des larves L1 qui muent en larves L2. Ces deux premiers stades se nourrissent de matières organiques et de micro-organismes des matières fécales. Ils sont peu résistants dans le milieu extérieur ce qui explique un taux de mortalité très élevé.

Les larves L2 évoluent ensuite en larves infestantes L3 au cours d'une deuxième mue, dite incomplète car la larve reste à l'intérieur de la gaine ou exuvie, de la L2. Les larves de stade 3 sont très résistantes dans l'environnement puisqu'elles sont protégées par cette exuvie. Elles peuvent ainsi survivre plusieurs mois sur une pâture grâce à leurs réserves lipidiques. Ces larves de troisième stade constituent le stade infestant.

La durée nécessaire à leur développement varie selon la température et l'humidité de l'environnement.

Lors de conditions optimales (forte humidité et température comprise entre 25 et 30°C), le processus prend environ 7 à 10 jours, alors que des températures plus basses le ralentissent.

La phase parasitaire débute lorsque l'hôte ingère les larves L₃ au pâturage. Celles-ci vont perdre leur exuvie lors du passage dans le rumen. Elles pénètrent dans les sacs glandulaires abomasaux où elles muent en larves L₄. A ce stade, il est fréquent en fin d'automne ou en hiver que les larves s'enkystent dans la muqueuse digestive et retardent leur développement (phénomène d' « hypobiose larvaire » ou de « développement retardé » des larves). Puis elles regagnent la lumière de l'organe. Une dernière mue permettra ensuite aux larves L₄ d'atteindre le stade juvénile (parfois appelé stade 5) puis le stade adulte. Après fécondation, les femelles pondent des oeufs qui sont excrétés dans les matières fécales de l'hôte et deviennent une nouvelle source de contamination du pâturage.

La durée comprise entre l'ingestion des larves infestantes et la ponte par les femelles se définit comme la période prépatente : en l'absence d'hypobiose au stade L₄, celle-ci est d'environ 3 semaines. (Jacquet, 2000 ; Bowman, 1999).

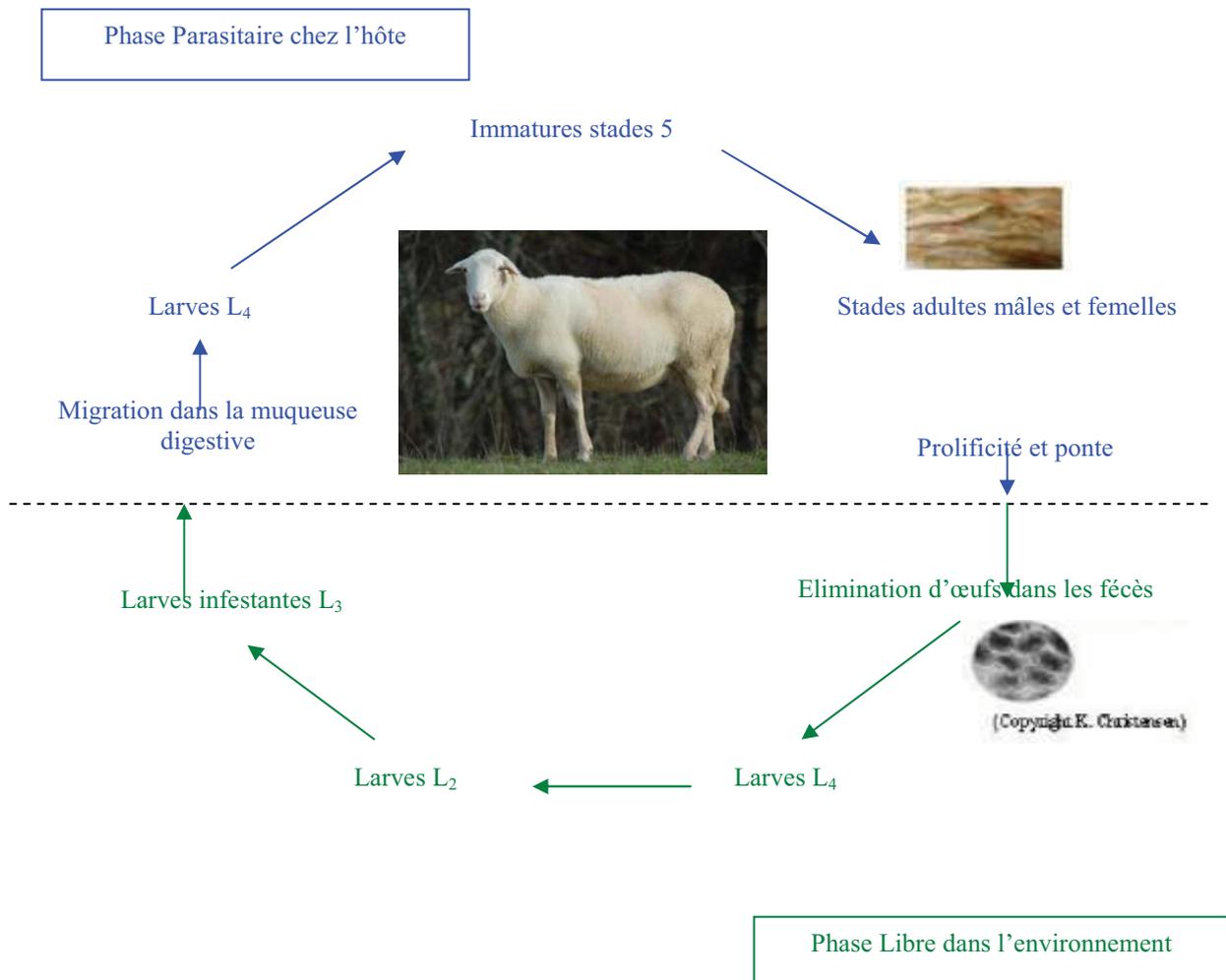


Figure 6 : Cycle biologique d'*H. contortus* chez les ovins

	<i>Haemonchus contortus</i>
Présence des lares L ₃ dans l'organe cible après ingestion	2 ^{ème} jour
Mue des larves L ₃ en larves L ₄	4 ^{ème} – 5 ^{ème} jours
Evolution des larves L ₄ en stade 5 juvénile	9 ^{ème} – 11 ^{ème} jours
Apparition des premiers stades adultes	18 ^{ème} jour

Tableau 1 : Etapes du développement d'*H. contortus* chez son hôte (d'après Lacroux, 2006)

Les sources de parasites

Les animaux qui rejettent des œufs sur les pâturages sont bien sûr les animaux malades, mais aussi les infectés latents, faiblement parasités, chez qui les signes cliniques passent inaperçus. Ils sont d'autant plus dangereux, sur le plan épidémiologique, que les femelles *H. contortus* sont très prolifiques. Chacune d'elle peut pondre 5 000 à 10 000 œufs par jour (Coyne *et al.*, 1991a & b) et plusieurs milliers de parasites sont parfois présents dans la caillette d'un mouton.

Par ailleurs, la prolificité des femelles parasites est influencée par la physiologie des larves L₃. Ainsi, des larves L₃ âgées, à pouvoir infestant faible, donneront par contre des adultes très prolifiques (Kerboeuf, 1979).

L'excrétion d'œufs peut donc être considérable, et un parasitisme relativement faible conduit néanmoins à de fortes infestations des pâturages.

Parmi les facteurs modifiant la ponte des femelles parasites, on retrouve le phénomène du « péri-parturient rise », c'est-à-dire l'élévation de l'intensité d'excrétion d'œufs chez les brebis au moment du part et de la lactation, particulièrement net chez les animaux infestés par *H. contortus*. Mais contrairement à d'autres parasites, pour *H. contortus* le processus n'est très marqué qu'après la première mise bas, quelque soit l'âge de la brebis. Lors des gestations suivantes, il y a souvent acquisition d'une résistance suffisante pour modifier l'excrétion d'œufs qui devient alors moins importante (Jansen, 1981).

L'infestation résiduelle des brebis au début du printemps génère une forte contamination des pâtures

en L₃ en fin de printemps. Les agneaux qui pâturent avec leurs mères recyclent alors très fortement les parasites (Dorchies et al., 2003). C'est de juin à septembre que les larves L₃ sont en plus grand nombre sur les prairies, avec une évolution qui peut être très rapide (3 à 4 jours en conditions climatiques optimales). Ceci explique l'apparition brutale et imprévisible de la maladie (Mage, 1991).

Survie du parasite

Le développement du parasite est influencé par la température, le taux d'humidité, le niveau de précipitation et le type de végétation (Tembely et al., 1997 ; Coyne et al., 1992 ; Krecek et al., 1992).

Pour la plupart des parasites, la température idéale se situe aux alentours de 22-26°C tandis que le taux d'hygrométrie parfait est proche de 100% (Krecek et al., 1992).

Concernant *H. contortus*, les larves sont facilement inhibées ou détruites, notamment par le froid et la dessiccation. Aucun développement ne s'effectue en dessous de 9°C, et en général, le parasite ne survit ni aux périodes de gel prononcé, ni à une sécheresse trop longue.

très froids Les œufs et les larves sont rapidement détruits par le dessèchement (Onyali et al., 1990). En dessous de 5°C, les mouvements et le métabolisme des L₃ sont réduits au minimum, prolongeant la survie de ces larves engainées, incapables de renouveler leurs réserves énergétiques (Urquhart et al., 1996).

Dans les régions peu favorables aux formes larvaires libres dans le milieu extérieur le ver est capable d'entrer en hypobiose pour survivre. Il prend une forme L₄ dont le développement est inhibé, et qui demeurent en vie ralentie, en attente pendant plusieurs mois, dans la muqueuse de la caillette.

Ce phénomène est complexe, et pour *H. contortus*, les causes sont multiples et mal connues. Il dépend à la fois de la physiologie du parasite et de l'hôte, mais aussi des phénomènes immunitaires. Il est induit en partie par l'action de divers facteurs de l'environnement sur les larves infestantes L₃ dans les pâturages, tels que la température ou la photopériode.

Le froid peut induire ce phénomène, mais moins nettement que pour *Ostertagia ostertagi* ; et le fait que des *Haemonchus* entrent en hypobiose dès le mois de juillet en Grande-Bretagne par exemple (Waller et Thomas, 1975) montre que d'autres facteurs interviennent. En fait, il semble que certaines « souches » d'*H. contortus* soient aptes à entrer en inhibition et d'autres non. L'hypobiose est donc une étape d'un cycle évolutif normal. Ce conditionnement de l'inhibition serait propre à chaque « souche » du parasite de chaque région, et il y aurait adaptation en permanence aux situations locales climatiques d'élevage.

La reprise du développement s'effectue quelques mois plus tard, au début de la belle saison, dans un laps de temps très court, quelques jours, ou de façon beaucoup plus étalée, un mois, chez d'autres individus (Connan, 1978).

Cette hypobiose explique que, malgré un hiver rigoureux ou une longue sécheresse, des pâturages

puissent être contaminés à la fin du printemps par des larves d'*Haemonchus contortus* en nombre suffisant pour provoquer une strongylose grave, surtout chez les jeunes ovins (Chermette, 1982).

L'haemonchose ovine

Particularités épidémiologiques

Répartition géographique

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

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

Réceptivité à l'haemonchose

Bien qu'*H. contortus* soit essentiellement un parasite des ovins, les caprins et les bovins sont aussi réceptifs.

- Race de l'hôte : Même si les mécanismes ne sont pas encore connus, certaines races de moutons sont moins sensibles aux infestations par des parasites gastro-intestinaux. Ainsi, les Santa Inès (Amarante *et al.*, 2004), les Martinik Black Belly (Aumont *et al.*, 2003; Gruner *et al.*, 2003) et les Texel (Good *et al.*, 2006) sont connues pour être plus résistantes aux infestations à *H. contortus* que les Suffolk, les Ile-de-France ou les Romane. Ceci est mis en évidence par une réduction de l'intensité de l'excrétion fécale des œufs de parasite exprimée en nombre d'œufs par gramme de fèces (OPG) et/ou un ralentissement du développement ainsi qu'une réduction de la fécondité.
- Age, sexe et statut reproductif de l'hôte : En plus des facteurs génétiques, les animaux d'âge et de sexe différents ne répondent pas de la même manière aux infestations parasitaires.

au fait qu'ils n'ont pas été encore suffisamment exposés aux pathogènes mais aussi à une capacité immunitaire plus faible (Colditz *et al.*, 1996; Manton *et al.*, 1962).

Dans certains cas, l'immunité innée peut influencer la variation de réponse immunitaire. Cela pourrait s'expliquer par des différences physico-chimiques du milieu digestif entre adultes et jeunes (Mulcahy *et al.*, 2004). Le stress dû au sevrage, chez l'agneau, semble aussi retarder la mise en place d'une réponse immunitaire protectrice contre *H. contortus* et *Trichostrongylus colubriformis* (Watson et Gill, 1991).

D'autre part, une première infestation à *H. contortus* permettrait une meilleure résistance aux infestations suivantes. Une résistance accrue contre *H. contortus* a été reportée lors de secondes infestations chez les agneaux Rhön et Mérinos (Gauly *et al.*, 2002), Black Belly et Romane (Aumont *et al.*, 2003) et chez les agneaux St Croix et Dorset (Gamble and Zajac, 1992).

Enfin, dans une étude récente, il a été montré que les agneaux mâles présentaient des excréments d'oeufs, des charges parasitaires et une anémie plus importantes que les femelles (Gauly *et al.*, 2006).

- Alimentation : Il a été montré que le plan statut nutritionnel joue un rôle important dans la résilience ou la résistance des hôtes aux infections du gros intestin par des nématodes. Il peut, par exemple, augmenter la capacité de l'hôte à faire face aux conséquences du parasitisme (résilience) ou encore permettre à l'hôte de limiter l'installation, le développement et la fécondité des parasites (résistance) ou enfin affecter la digestion de certains composés antiparasitaires. Un régime à base de protéines hautement métabolisables augmenterait la résistance des agneaux Ile-de-France et Santa Inès contre *H. contortus* (Bricarello *et al.*, 2005). Les animaux bien nourris résistent mieux aux effets secondaires du parasitisme, restent relativement productifs et nécessitent moins de traitements anthelminthiques que des animaux dénutris (Knox *et al.*, 2006).

Le problème majeur est que la prévalence de l'haemonchose est plus élevée dans les régions où les sources de nourriture sont rares et/ou mal gérées, c'est à dire là où les besoins des animaux ne sont pas couverts tout au long de l'année.

Symptômes

Pathogénie

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

L'infestation parasitaire entraîne aussi une perturbation des fonctions digestives abomasales à l'origine d'une réduction de la dégradation des protéines alimentaires et d'une malabsorption qui peuvent favoriser la survenue d'infections secondaires par modification de la flore bactérienne (Chermette, 1982; Bueno, 1982).

La caillette (ou abomasum) est le compartiment glandulaire de l'estomac des ruminants. Sa paroi se divise en quatre couches successives : la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse.

La muqueuse abomasale n'est pas homogène et elle est formée par trois différents types d'épithéliums, dont le développement présente de grandes variations interspécifiques : les épithéliums cardiaque, fundique et pylorique.

L'épithélium de la zone cardiaque sécrète du mucus et du bicarbonate. L'épithélium fundique sécrète de l'acide chlorhydrique et du pepsinogène (qui est transformé en pepsine en milieu acide et permet de dégrader les protéines alimentaires), via les glandes pariétales. Il est ponctué de millions de cryptes gastriques ou puits. Enfin, l'épithélium pylorique sécrète le mucus.

Des études menées sur des infestations naturelles et des infestations expérimentales ont permis d'identifier les effets morphologiques et physiologiques des parasites abomasaux.

En présence de parasites adultes dans la caillette, on observe une modification de la paroi de l'organe : épaississement de la muqueuse fundique dû à l'accumulation de cellules inflammatoires telles que les mastocytes, les lymphocytes et les éosinophiles (Scott *et al.*, 2000 ; Lacroux *et al.*, 2006), se traduisant par le développement de nodules à la surface de la muqueuse.



Figure 7 : Développement de nodules dans la muqueuse abomasale d'un mouton ayant subi des infestations successives par H. contortus (d'après Getachew, 2007)

Les dommages infligés à la paroi de la caillette altèrent la fonction sécrétoire et celle de barrière entre la lumière abomasale et la circulation sanguine. On observe d'une part une diminution des sécrétions gastriques acides, d'où une élévation du pH abomasal, et d'autre part le passage de substances intraluminales dans le sang, telles que la gastrine et le pepsinogène, d'où une hausse des concentrations sériques en gastrine et en pepsinogène (Simson, 2000 ; Fox, 1997).

Tableau clinique

L'haemonchose ovine est connue sous trois formes :

- **Haemonchose suraiguë** : peu fréquente, elle est liée à des infestations massives avec plus de 30 000 vers, chez des animaux apparemment en bonne santé. Ils meurent de façon subite d'une gastrite hémorragique sévère.

- **Haemonchose aiguë** : forme typique, elle se caractérise par une anémie avec une chute progressive et sévère de l'hématocrite.. Par la suite, l'hématocrite se stabilise à un bas niveau. Cependant, la fuite continue de fer et de protéines dans le tractus digestif, ainsi que la baisse de digestibilité des aliments, affaiblissent l'animal. De plus, malgré une stimulation compensatrice de l'érythropoïèse, la moelle osseuse est rapidement dépassée et l'hématocrite chute jusqu'à la mort de l'animal.

Symptômes généraux	Faiblesse ("les animaux n'ont plus de jarret"), essouffement, amaigrissement, chute de laine	
Symptômes locaux	Pâleur intense des muqueuses conjonctive, buccale, vulvo-vaginale qui deviennent blanc-porcelaine, également visible sur les régions à peau fine qui sont décolorées; apparition d'oedèmes en régions déclives ("signe de la bouteille", pour l'œdème de l'auge)	
Signes sanguins	Chute spectaculaire du taux d'hématies ; anémie hypochrome et microcytaire, diminution de 30% à 50% du taux d'hémoglobine et d'hémosidérine	
Evolution	Variable :	<ul style="list-style-type: none"> * chez les animaux les plus faibles, elle est fatale en 1 à 6 semaines * chez d'autres, des phénomènes immunitaires et d'auto-guérison peuvent apporter une amélioration temporaire * par ailleurs, les brebis allaitantes infestées sont alors en agalaxie, ce qui entraîne la mort des agneaux par malnutrition sans même que ceux-ci soient parasités

Tableau 2 : Tableau clinique d'une haemonchose aigue (Chermette, 1982)

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

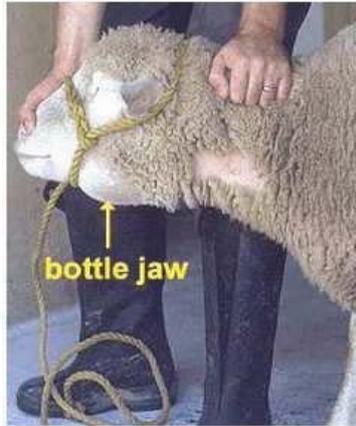


Figure 8 : Oedème de l'auge dû à l'haemonchose aigue ou "signe de la bouteille" (= bottle jaw)(<http://www.danekeclublambs.com>)

Lésions

- *Carcasse* : cachexie et anémie diffuse.

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

Diagnostic

Diagnostic épidémio-clinique

En élevage ovin, l'apparition entre juin et septembre de signes cliniques comme l'anémie, l'oedème sous-glossien, la perte d'appétit, la prostration associés à de la mortalité, sont des signes d'appel de l'haemonchose. Les agneaux sont atteints avant les adultes.

Diagnostic nécropsique

Lorsque l'on est en présence de mortalité, le recours à l'autopsie est d'un grand intérêt. Elle doit être pratiquée le plus tôt possible après la mort. L'examen de la caillette permet la mise en évidence des parasites et des lésions caractéristiques (congestion exsudative et foyers hémorragiques sur la muqueuse abomasale).

Diagnostic de laboratoire

La coproscopie : Cette méthode permet la mise en évidence des oeufs d'*H. contortus* et leur

numération exprimée en nombre d'oeufs par gramme de fécès (OPG). Deux méthodes quantitatives sont utilisées : la méthode d'enrichissement par flottation en lame de Mac Master et la méthode d'enrichissement par flottation en Ovassay. La méthode de Baermann peut être utilisée pour rechercher les larves après évolution en coproculture.

La coproculture : Ce procédé consiste à faire évoluer les oeufs récoltés dans les fécès en larves infestantes qui permettent ensuite l'identification du genre de strongle. Il faut que les fécès soient suffisamment riches en oeufs, prélevés sur plusieurs animaux et en quantité assez importante (Brard et Chartier, 1997).

La réponse immunitaire des ovins face à l'infestation par des strongles gastro-intestinaux

La réponse immunitaire se divise en deux grandes composantes :

- l'immunité innée : ensemble des phénomènes non spécifiques rapidement mis en place pour lutter contre un pathogène. Ils sont parfois insuffisants pour éliminer le pathogène.

- l'immunité acquise : réponses plus tardives et spécifiques du pathogène.

La réponse immunitaire innée

L'immunité innée constitue la première ligne de défense en détectant la présence et la nature de l'infection. Elle agit sur trois fronts distincts : mécanique, chimique et cellulaire.

Composante mécanique :

Au niveau du tractus gastro-intestinal, l'épithélium représente une barrière physique. L'expulsion des pathogènes est entreprise par la desquamation épithéliale, la sécrétion de mucus, ainsi que par le péristaltisme intestinal (Basset et al., 2003 ; Onah et Nawa, 2000).

Composante chimique :

Les éléments chimiques peuvent être subdivisés en trois catégories : les récepteurs qui reconnaissent des motifs moléculaires particuliers, les protéines ou peptides antimicrobiens, et enfin, les cytokines et chémokines qui orchestrent la réponse immunitaire (Basset et al., 2003).

Composante cellulaire :

La composante cellulaire est représentée par les cellules épithéliales, les mastocytes, les cellules dendritiques, les phagocytes (macrophages et granulocytes neutrophiles) et les cellules Natural Killer (NK) (Basset et al., 2003).

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

dendritiques. Du fait que les PAMPs ne sont produits que par des micro-organismes et non par l'hôte, leur reconnaissance par les PRRs signale la présence de pathogènes. (Basset et al., 2003).

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

La réponse immunitaire acquise

L'immunité acquise ou spécifique repose sur des mécanismes dont la mise en place nécessitent du temps et qui, souvent, ne démontrent leur pleine efficacité que lors d'un second contact avec l'antigène (Ag). Elle est qualifiée de spécifique car les cellules qui interviennent portent des récepteurs membranaires permettant une reconnaissance extrêmement précise des antigènes. Cette capacité de reconnaissance conduit à l'établissement d'une mémoire immunitaire : si le même antigène pénètre à nouveau dans l'organisme, la réponse immunitaire est plus rapide et plus efficace. En conséquence, la caractéristique essentielle de l'immunité acquise est la reconnaissance spécifique.

Dans une réponse immunitaire acquise, les antigènes sont reconnus par trois grands types de récepteurs : les récepteurs des lymphocytes T (TcR), ceux des immunoglobulines présentes à la surface des lymphocytes B (BcR), et ceux des cellules présentatrices d'antigènes (CPA). Alors que les lymphocytes B sont capables de fixer directement un antigène circulant, les lymphocytes T ne reconnaissent les antigènes qu'après leur apprêtement et présentation par une CPA.

Une partie des antigènes va être prise en charge par les CPA (par exemple les macrophages) et être présentée aux lymphocytes T, induisant ainsi leur spécialisation.

Quand l'antigène est un pathogène intracellulaire (virus, bactérie intracellulaire...), les lymphocytes T vont se spécialiser vers une réponse dite Th-1, et produire de l'interféron γ entraînant une réponse cellulaire. Un ensemble de cellules de l'immunité, comme les macrophages ou les lymphocytes T cytotoxiques, va s'activer dans le but de phagocyter et détruire la cellule infectée.

En revanche, quand l'antigène est un pathogène extracellulaire (bactérie extracellulaire, champignons, vers intestinaux...), comme c'est le cas dans notre étude, la présentation de ses antigènes par les CPA aux lymphocytes T induit une spécialisation vers une réponse dite Th-2 et entraîner la sécrétion d'interleukines (IL 4, 5, 13). Ce sont cette fois les lymphocytes B spécifiques qui vont s'activer et subir une expansion clonale avant de se transformer en plasmocytes sécréteurs, et produire des immunoglobulines (ou anticorps) spécifiques de l'antigène en jeu.

Ces 2 types de réactions peuvent coexister. Par exemple, lors d'une infestation par les nématodes, l'orientation immunitaire est majoritairement Th-2, cependant, des mécanismes appartenant à la réponse Th-1 peuvent intervenir dans le but de neutraliser le parasite (par exemple en se fixant sur sa cuticule et en empêchant tout mouvement).

Dans le cas d'une infestation par *H. contortus* c'est donc une réponse immunitaire acquise Th-2 qui se met en place (Lacroux et al., 2006), associée à une forte excrétion d'IL-5 entraînant une infiltration massive par les granulocytes éosinophiles dans les muqueuses infestées.

En parallèle de cette réponse, certains lymphocytes T et B spécifiques vont devenir des cellules « mémoires », dont la durée de vie est très allongée, permettant une reconnaissance et une réponse plus rapide lors d'un nouveau contact avec l'antigène.

Les éosinophiles

L'augmentation du nombre de polynucléaires éosinophiles circulants ou présents dans les muqueuses digestives est une caractéristique constante des infestations par les nématodes gastro-intestinaux.

Leurs fonctions effectrices *in vivo* font encore l'objet de débats, en dépit de leur capacité à tuer des larves d'helminthes *in vitro* : schistosomules de *S. mansoni* en présence d'anticorps de classe IgG (Butterworth et al., 1975) ou larves infestantes d'*H. contortus* (Rainbird et al., 1998 ; Meeusen et Balic, 2000, Terefe et al., 2007a).



Figure 9 : Immobilisation *in vitro* d'une larve d'*H. contortus* par les granulocytes éosinophiles (ME à balayage)(Terefe et al., 2007a)

Le mécanisme en cause serait une cytotoxicité cellulaire anticorps dépendante (ADCC : antibody dependant cellular cytotoxicity) dans lequel la fraction constante des anticorps (IgG, IgE et IgA) fixés à la surface des helminthes est reconnue par des récepteurs Fc de la surface des polynucléaires éosinophiles. Immédiatement après cette fixation se produit la libération des protéines cationiques contenues dans les granulations cytoplasmiques de l'éosinophile. Celles-ci auraient un effet cytolytique sur le tégument des parasites, induisant une immobilisation puis la mort des larves (Figure

9) (Capron, 1993 ; Weller, 1994).

Bien que ce mécanisme n'ait pas été démontré *in vivo*, le polynucléaire éosinophile est considéré comme une cellule protectrice pour l'hôte lors d'infestation parasitaire. Cette hypothèse est notamment étayée par l'observation histologique de parasites dans les tissus de l'hôte : de nombreux polynucléaires éosinophiles sont mis en évidence en association avec des parasites intacts ou endommagés et semblent dégranuler à proximité de ceux-ci *in vivo* (Butterworth, 1984 ; Balic et al., 2006). De même, il existerait une corrélation entre les variations individuelles de résistance à l'infestation et l'intensité de la réponse éosinophilique (Meeusen et Balic, 2000) : une résistance accrue face à l'infestation par un strongle digestif serait associée à une réponse éosinophilique très intense (Terefe et al., 2007b).

Cependant, à l'heure actuelle, le dogme « polynucléaire éosinophile / cellule protectrice » *in vivo* commence toutefois à être remis en question. Tout d'abord, les polynucléaires éosinophiles sont la cause de dommages tissulaires, comme ceux que l'on peut observer dans le parenchyme pulmonaire lors d'asthme allergique (Walsh, 1999). Lors d'infestation par les nématodes, il n'est pas exclu que les parasites puissent favoriser l'hyperéosinophilie tissulaire et ainsi contribuer à la pathogénie et aux lésions tissulaires. Les dommages induits par les polynucléaires éosinophiles sur les muqueuses pourraient fournir un micro-environnement bénéfique au parasite (Klion et Nutman, 2004 ; Wildblood et al., 2005). Cette hypothèse pourrait être confortée par la démonstration récente que des extraits totaux de stades larvaires ainsi que les produits d'excrétion-sécrétion de parasites gastro-intestinaux des ovins (*T. circumcincta* et *H. contortus*) ont une puissante activité chimio-attractrice pour les polynucléaires éosinophiles *in vitro*, alors que ces mêmes produits issus d'un nématode libre non parasite, *Caenorhabditis elegans*, n'en sont pas capables (Wildblood et al., 2005).

Cas particulier des lectines.

Présentation générale

Les lectines sont des protéines possédant un domaine de reconnaissance des dérivés carbohydratés (CRD), présentes à la surface des cellules de l'hôte (lectines associées aux membranes) mais que l'on retrouve aussi dans le plasma sanguin (lectines solubles). Elles assurent l'échange d'informations entre cellules et interviennent dans de multiples mécanismes : relations symbiotique entre bactéries de la flore commensale intestinale et l'individu qui les héberge, régulation des populations cellulaires, ou encore reconnaissance directe de pathogènes (immunité innée) (Vasta, 2009).

Elles appartiennent au groupe des Pattern Recognition Receptors (PRR) capables de reconnaître les Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMP)

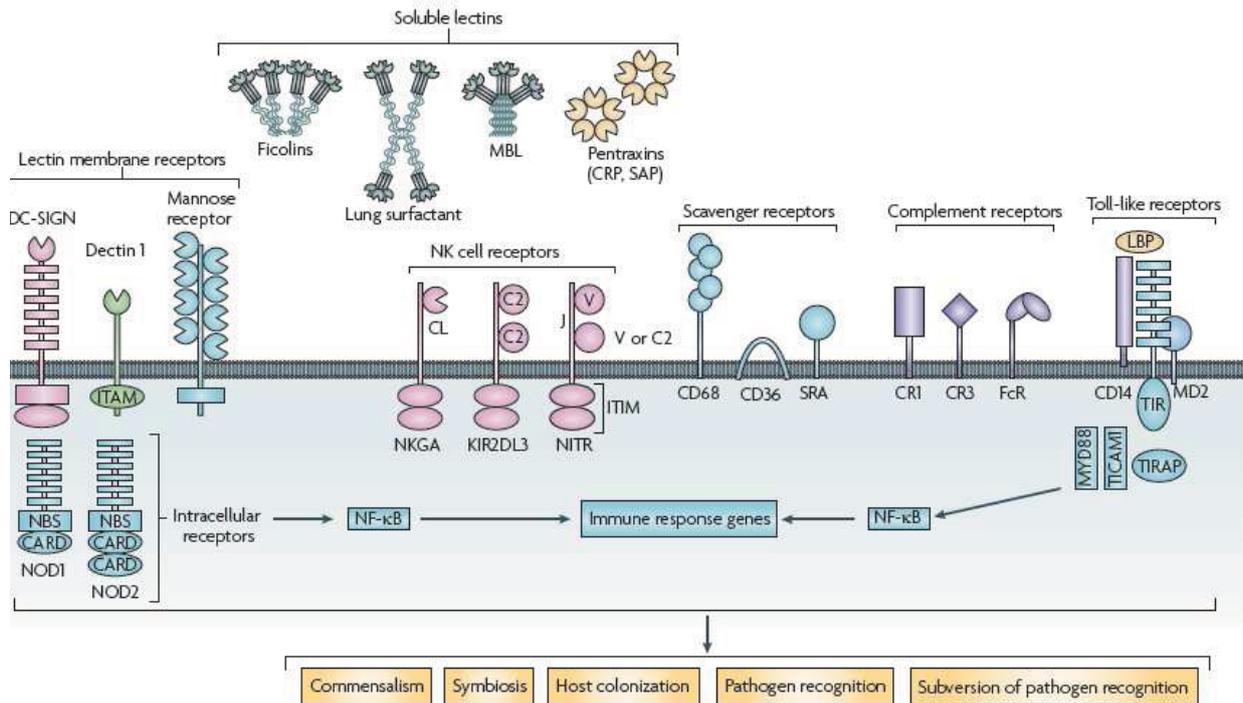


Figure 10 : Pattern-Recognition Receptors et leur participation dans les interactions avec les pathogènes (Vasta G.R., 2009)

De nombreuses études ont permis de diviser la famille des lectines en différentes sous familles. Celle qui nous intéresse est la sous famille des galectines.

Lectin family	Ca ²⁺ use	Specificity	Defining features	Localization
C type	Yes	Variable	C-type sequence motif	Cell membrane; extracellular
Calnexin and calreticulin	Yes	Glc ₁ Man ₃₋₉	Calnexin sequence motif	ER
Chilectins	No	Chitooligosaccharides	TIMβ or TIMα barrel fold	Extracellular
F box	No	GlcNAc ₂	F-box sequence motif	Cytoplasm
F type	Variable	L-fucose	F-type sequence motif and F-type fold	Extracellular
Ficolin	Yes	GlcNAc and GalNAc	Ficolin sequence motif	Cell membrane; extracellular
Galectins	No	β-galactosides	S-type sequence motif	Cytoplasm and nucleus; extracellular
Heparin-binding type	No	Heparin or Heparan-SO ₄ ²⁻	Basic amino acid clusters	Cytoplasm and nucleus; extracellular
Siglecs (I type)	No	Variable	Immunoglobulin-like domains	Cell membrane
L type	Yes	Variable	L-type sequence motif	ER, ERGICs and Golgi
M type	Yes	Man ₆	M-type sequence motif	ER
P type (M-6-P R)	Variable	Man-6-P	P-type sequence motif	Cell membrane
Pentraxins	Most	Phosphocholine and galactosides	Multimeric binding motif	Extracellular
R type	No	Variable	R-type sequence motif	Golgi and cell membrane
Intelectins (X type)	Yes	Gal, galactofuranose and pentoses	Intelectin sequence motif	Cell membrane; extracellular

ER, endoplasmic reticulum; ERGIC, ER-Golgi intermediate compartment; Gal, galactose; GalNAc, N-acetylgalactosamine; GlcNAc, N-acetylglucosamine; Man, mannose.

Tableau 3 : Classification des Lectines animales (Vasta G. R., 2009)

Une sous famille des lectines : les galectines

Les galectines sont des lectines possédant une organisation particulière, avec une affinité pour les dérivés β -galactosides. La plupart des galectines sont solubles (dans le milieu extracellulaire mais aussi dans le cytosol et le nucléus), même si des études ont montré l'existence de galectines associées aux membranes.

Ces galectines sont présentes chez certains parasites, comme l'Apicomplexa *Toxoplasma gondii*, ce qui prouve leur apparition précoce et leur très grande conservation tout au long de l'évolution.

Elles sont distribuées dans de nombreux tissus, incluant la plupart des cellules de l'immunité innée (cellules dendritiques, macrophages, mastocytes, NK) et acquise (lymphocytes B et T activés). Leur rôle dans le développement et la régulation du système immunitaire, ainsi que dans les réactions infectieuses et allergiques ont été récemment découvertes.

Lors d'un processus infectieux, les galectines ont différents effets sur les cellules de l'immunité innée, comme les macrophages, les cellules dendritiques, les neutrophiles et les éosinophiles. Ainsi, la galectine 1 assure un rôle anti-inflammatoire, en atténuant ou en bloquant les signaux induisant le recrutement des leucocytes ; alors qu'à l'inverse, les galectines 3 et 9 assurent un rôle pro-inflammatoire en induisant le recrutement de macrophages et la dégranulation des éosinophiles (Vasta, 2009).

En ce qui concerne l'immunité acquise, les galectines peuvent moduler la maturation et la différenciation des lymphocytes B au niveau des compartiments immunitaires central et périphérique.

Les galectines en tant que Pattern Recognition Receptors (PRR) lors des infestations par des parasites gastro-intestinaux

Récemment, des études ont montré que les galectines assuraient un rôle de PRR, lors des infections par les virus, les bactéries, les champignons mais aussi les helminthes (Vasta, 2009 ; Artis, 2006)(références). Nous nous limiterons ici à ce dernier groupe d'agents pathogènes.

Les glycans sont présents sur l'épicuticule des helminthes, et sont reconnus comme des PAMPs par les galectines sécrétées par certaines cellules de l'hôte comme les macrophages et les cellules dendritiques. Il s'ensuit une modulation de la production de cytokines par les macrophages, la maturation des cellules dendritiques et l'initiation de la réponse immunitaire acquise.

Il semblerait d'autre part que les galectines soient capables de se fixer directement sur la cuticule du parasite, formant un ciment glycoprotéique, limitant ainsi les mouvements du ver et entraînant son expulsion (Artis, 2006).

Chez le mouton, une lectine spécifique, la galectine 15 (ovGal-15) ou encore appelée ovGal11 a été récemment décrite dans la muqueuse de la caillette (Dunphy et al., 2000). Elle est sécrétée par les cellules épithéliales en réponse à l'agression par *H. contortus* et se fixerait sur les résidus galactose de l'épicuticule des larves de ce nématode. Son rôle exact n'est pas connu, mais elle pourrait former une

barrière physique contre les stades invasifs ou en développement du parasite, et participer à la reconnaissance immunitaire initiale de celui-ci (de Veer *et al.*, 2007 ; Vasta, 2009). Enfin, il faut noter que l'expression du gène de Gal-15 n'a été retrouvée que dans des muqueuses présentant une forte infiltration par des éosinophiles (Dunphy *et al.*, 2000). Les raisons de cette association éosinophiles / galectine-15 ne sont pas connues.

La sécrétion de grandes quantités de galectine-15 est une des hypothèses actuelles pour expliquer la plus grande résistance de certaines races de moutons originaires des régions tropicales humides du globe comme les Martinik Black Belly (MBB) et ce, dès la primo-infestation par *H. contortus*. En effet, des travaux récents de l'équipe de parasitologie de l'UMR INRA/ENVT 1225 « Interactions Hôtes Agents Pathogènes » ont montré que l'expression du gène de la galectine 15 dans la muqueuse abomasale est très augmentée 8 jours après une primo-infestation par *H. contortus*, alors qu'elle est nulle chez les animaux témoins (non infestés). D'autre part, le gène de cette galectine semble plus fortement exprimé chez les animaux résistants (race Martinik Black Belly) que chez les animaux sensibles (race Romane)(Liénard *et al.*, 2011 ; Jacquet *et al.*, 2011).

Effets de la réponse immunitaire sur les populations parasitaires d'*H.*

contortus

Les effets de la réponse immunitaire de l'hôte peuvent s'observer :

- contre les parasites adultes :

- expulsion des vers, deux à trois semaines après l'infestation (Barger *et al.*, 1985b)
- réduction de la taille des vers (Coyne et Smith, 1992b)
- diminution de la fécondité des femelles (Dineen et Wagland, 1966) révélée par une diminution de l'intensité de l'excrétion d'œufs dans les matières fécales

- contre les stades larvaires:

- arrêt du développement des larves ou hypobiose (Barger *et al.*, 1985)
- résistance à l'établissement de nouvelles larves (Miller *et al.*, 1983 ; Adams, 1982)

La lutte chimique contre *Haemonchus contortus*

Les anthelminthiques et leur mode d'action

L'utilisation des anthelminthiques permet d'avoir une action sur la phase parasitaire. Ce moyen de contrôle est actuellement le plus répandu chez les éleveurs. Il existe trois grandes familles de molécules anthelminthiques à large spectre efficaces contre les strongles gastro-intestinaux des ovins : les benzimidazoles, les imidazothiazoles et les lactones macrocycliques, auxquels s'ajoute la famille des salicylanilides actifs contre les strongles hématophages. Une cinquième famille d'anthelminthiques a été récemment mise sur le marché, les AADs (dérivés de l'acide acéto-nitrile) avec le monépantel. Son utilisation en France est encore limitée.

Les benzimidazoles et pro-benzimidazoles

Ils agissent spécifiquement par fixation sur la β -tubuline inhibant ainsi la formation des microtubules du cytosquelette sans altérer ceux de l'hôte (Martin, 1997). Ils induisent des lésions des cellules intestinales et donc un arrêt de l'alimentation des vers. Toute multiplication cellulaire étant bloquée, la ponte est arrêtée. En réponse à une solubilité limitée dans l'eau et à une absorption médiocre des benzimidazoles, différentes prodrogues ont été élaborées dont le fébantel et le nétovimin.

Le lévamisole

De la famille des imidazothiazoles, il agit sélectivement comme agoniste des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine au niveau des synapses des cellules musculaires des nématodes. Il induit une dépolarisation membranaire aboutissant à une contraction musculaire par ouverture des canaux à ions non spécifiques, perméables au Na^+ et au K^+ . Il en résulte donc une paralysie spastique létale pour le parasite (Martin, 1997; Kohler, 2001). Cette molécule n'a par contre aucun effet sur les larves inhibées.

Les salicylanilides (closantel) et les phénols halogénés (nitroxinil)

Ils sont actifs contre les strongles hématophages. Ce sont des ionophores de protons découplant spécifiquement la phosphorylation oxydative des mitochondries des parasites. Les systèmes enzymatiques sont perturbés, ce qui entraîne une déplétion énergétique et la mort des parasites (Martin, 1997).

Les lactones macrocycliques

Pour les Ruminants, elles comprennent les avermectines (ivermectine, éprinomectine et doramectine) et les milbémycines (moxidectine). Elles provoquent une paralysie du parasite liée à une augmentation de la perméabilité des cellules musculaires aux ions chlorures. Ces ions entraînent une paralysie

flasque des muscles somatiques des vers et inhibent l'ingestion alimentaire par blocage du muscle pharyngé. L'effet thérapeutique sélectif s'explique par une action sur les canaux à ions GluCl^- qui sont présents chez les nématodes parasites mais pas chez les animaux à sang chaud (Martin, 1997).

La résistance aux anthelminthiques

Définition

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

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

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

Prévalence de la résistance aux anthelminthiques

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

Concernant *Haemonchus contortus* chez le mouton, des résistances multiples sont présentes à travers le monde : Australie (benzimidazoles, lévamisole, ivermectine, closantel), Amérique du Nord (benzimidazoles, lévamisole) et du Sud (benzimidazoles, ivermectines) (Bjørn, 1994). Ces résistances sont aussi largement répandues en Afrique du Sud, certaines populations d'*H. contortus* étant devenues multirésistantes et ne pouvant plus être maîtrisées par la voie chimique (Van Wyk et al., 1999). Le continent européen n'est pas épargné, même si l'on considère que la résistance y est moins importante et les multirésistances encore rares. Les résistances se cantonnent aux benzimidazoles et ont notamment été détectées en Grande-Bretagne, Suisse, Pays-Bas, Belgique, Allemagne et Suède (Bjørn, 1994). Au Royaume-Uni et en Italie, la résistance aux avermectines a même été détectée (Paraud, 2010). En France, la résistance d'*H. contortus* aux benzimidazoles chez

les petits ruminants est bien réelle, même si elle est difficile à estimer en raison du faible nombre d'enquêtes réalisées. Elle a été mise en évidence dans le Val de Loire (Kerboeuf et al., 1988), le Limousin (Hubert et al., 1991), l'ouest lyonnais (Beugnet, 1992) et les Deux-Sèvres (Chartier et al., 1998).

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

Le mode d'élevage : Les jeunes contaminés au pâturage recyclent massivement et rapidement les larves infestantes. L'intensité de la pression parasitaire est donc augmentée dans les systèmes d'élevage d'agneaux à l'herbe et les éleveurs traitent plus souvent leurs animaux que dans les systèmes « agneaux de bergerie ».

L'introduction de strongles résistants dans l'élevage : Lors d'achat, de pâturage commun à plusieurs élevages ou lors de la constitution d'un troupeau avec sélection d'animaux porteurs de vers résistants.

L'administration d'anthelminthiques :

- l'usage fréquent et à intervalles rapprochés du même type de molécule augmente la pression de sélection. Le risque maximal est représenté par une utilisation égale à la période prépatente des parasites, chaque génération étant soumise à un traitement. Le phénomène est d'autant plus accru dans le cadre de l'utilisation de diffuseurs intra-ruminaux.

- le sous dosage, surtout s'il est systématique et appliqué sur une longue période, permet la survie d'individus hétérozygotes portant un allèle de résistance.

- seule la partie de la population de nématodes présente chez l'hôte est soumise à la pression de sélection. La part de la population de nématodes sur le pâturage n'est pas soumise à cette pression, on dit qu'elle est dans un « refuge ». La résistance aux anthelminthiques est favorisée lorsque les traitements sont réalisés quand la population de nématodes située dans un « refuge » est minimale. Plus cette population en « refuge » est faible, plus la contribution des allèles de résistance à la génération suivante sera importante.

Conduite à tenir

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

Mesures offensives : utilisation d'un produit alternatif ou d'une association d'antiparasitaires.

Mesures défensives :

- éviter l'introduction de nématodes résistants en traitant les animaux avec plus d'un type d'anthelminthiques lors d'achat

- administrer une molécule encore active avec la posologie adaptée

- effectuer les traitements avec une fréquence minimale, notamment en développant des

mesures zootechniques et agronomiques (conduite du troupeau par classes d'âge, gestion des pâturages)

- traiter à des périodes où l'infestation est maximale
- faire une rotation lente (annuelle) des antiparasitaires
- préserver un « refuge » pour les parasites sensibles dans la population d'helminthes (ex. : conservation d'animaux non traités au sein du troupeau).

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

Les méthodes alternatives de lutte contre *Haemonchus contortus*

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

Éliminer les strongles gastro-intestinaux par l'emploi raisonné des anthelminthiques

Tarir les sources de contamination :

- avec une gestion raisonnée des pâturages
- en utilisant des champignons nématophages

Augmenter la résistance de l'hôte :

- à travers l'alimentation des animaux et notamment de la ration protéique
- par la vaccination
- par la sélection de races ou d'individus génétiquement résistants

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

Tarir les sources de contamination

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

La gestion raisonnée des pâturages

➤ Le pâturage mixte ou alterné, entre espèces différentes (petits ruminants et bovins ou petits ruminants et chevaux) contribue à « diluer » le caractère infestant d'une parcelle.

La spécificité relativement étroite des nématodes pour chaque espèce hôte explique la décontamination des pâtures (Hoste et al., 2003).

➤ La mise au repos prolongé des parcelles, ainsi que le retournement par labour permettent, s'ils sont bien conduits, un assainissement des terres (Hoste et al., 2004).

Les champignons nématophages

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

Augmenter la résistance de l'hôte

Influence de l'alimentation

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

La vaccination

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

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

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

Sélection d'ovins résistants aux nématodes gastro-intestinaux

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

chimiorésistance au sein des populations de nématodes.

Définitions

La résistance des ovins aux nématodes gastro-intestinaux se définit comme le développement et le maintien des réponses immunitaires de l'hôte pour limiter l'implantation et le développement des parasites, la fertilité des vers femelles et/ou provoquer l'expulsion des parasites déjà implantés.

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

Les bases de la résistance

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

Les races résistantes aux strongles gastro-intestinaux

Plusieurs études ont comparé différentes races ovines et ont mis en évidence que certaines d'entre elles, souvent des races de milieux tropicaux, ont des capacités accrues à résister aux infestations à *Haemonchus contortus*. Pour ce qui intéresse notre étude, les travaux de Gruner et al. (2003) ont montré que les agneaux Martinik Black Belly, élevés en Guadeloupe, sont beaucoup plus résistants que les agneaux Romane (encore appelés INRA 401) élevés en France. Les résultats obtenus par Aumont et al. (2003) corroborent les précédents en prouvant que les Black Belly sont plus résistants à des souches guadeloupéenne et française d' *Haemonchus contortus* que les Romane.

Objectifs des travaux de thèse

Terefe et al., 2007 ont démontré que les animaux de la race tropicale Martinik Black Belly étaient plus résistants à *H. contortus* que les individus d'une race européenne, la race Romane. Chez les animaux de race résistante, la réponse éosinophilique semble plus intense et plus précoce que chez les animaux sensibles. Enfin, le gène de la galectine 15 semble surexprimé dès 8 jours post infestation (Liénard et al., 2011). La galectine 15 est elle impliquée dans cette résistance des animaux Martinik Black Belly ? Et si oui, de quelle manière ?

L'étude que nous avons réalisée a pour but de suivre les modifications physiopathologiques et l'expression de la galectine 15 dans le mois qui suit une primo-infestation expérimentale par *H. contortus* chez une race d'ovins sensibles (Lacaune) et une race d'ovins résistants (Martinik Black Belly).

**Etude
expérimentale :
Matériel et méthodes**

Modèles expérimentaux

Les ovins

Ovins de race Lacaune

La race Lacaune est largement présente sur le territoire français, puisque son cheptel s'élève à 1,3 millions de brebis. Cette race tire son nom du chef lieu de canton situé au milieu des monts de Lacaune dans le Tarn, à la limite de l'Aveyron et de l'Hérault. De format moyen à lourd, la brebis Lacaune pèse de 70 à 80 kg pour une hauteur au garrot de 70 à 80 centimètres. Les mâles pèsent de 95 à 110 kg. La race se caractérise par une tête fine au profil légèrement busqué et l'absence de cornes. La laine forme une toison fine de 1,5 à 2 kg (2,5 kg pour les béliers) laissant à découvert la tête, le cou, les pattes et le ventre, toutes parties recouvertes de fins poils blancs. Il existe deux rameaux en race Lacaune : l'un spécialisé pour produire du lait, et l'autre pour produire de la viande.

Dans notre travail, les ovins Lacaune constituent l'exemple d'ovins sensibles au parasitisme gastro-intestinal et, en particulier, à *Haemonchus contortus*. Le travail de Traore et al., 2008 a en effet démontré que les agneaux de race Lacaune sont très sensibles à l'infestation expérimentale par ce parasite.



Figure 11 : Brebis de race Lacaune (http://fr.academic.ru/pictures/frwiki/66/Brebis_lacaune.jpg)

Ovins de race Martinik Black Belly

Les ovins Martinik Black Belly (MBB) représentent l'une des races ovines dites "à poils ou sans laine" rencontrées aux petites Antilles et doivent leur nom à leur robe fauve acajou avec un ventre, des extrémités et des sourcils noirs. Ces ovins ont été introduits aux Antilles à partir du XV^{ème} siècle ; leur origine la plus probable serait la côte du golfe de Guinée en Afrique noire (Mahieu et al., 1997 ; Naves et al., 2001), des croisements avec des races européennes ayant eu lieu par la suite.

Un noyau Black Belly en métropole, entretenu et multiplié sur le domaine INRA de la Sapinière (Osmoy, Cher), a été importé sous la forme d'embryons d'un élevage INRA de Guadeloupe dans le but initial d'études sur la saisonnalité de la reproduction. Toutefois, la résistance de ce type d'ovins au

parasitisme gastro-intestinal en fait un excellent modèle d'étude de la réponse immunitaire et de la régulation des populations de strongles, par comparaison avec une race sensible comme les Lacaune.



Figure 12 : Béliers de race Martinik Black Belly (Photo C. Lacroux, 2006)

Age et genre des ovins

L'étude expérimentale a porté sur des agneaux de 6 mois d'âge ; 16 agneaux de race Martinik Black Belly (8 mâles / 8 femelles) fournis par la station expérimentale INRA de la Sapinière, de paternités connues et 12 agneaux de race Lacaune (8 mâles / 4 femelles) nés à l'ENVT dont les paternités multiples n'étaient pas connues. De leur naissance à l'autopsie, ils ont été maintenus à l'intérieur de bâtiments et alimentés avec du foin à volonté et du concentré afin d'éviter toute infestation accidentelle. Un traitement anthelminthique par voie orale (Ivermectine ORAMEC® Ovin 0.2 mg/kg) a été administré à ces agneaux, 15 jours avant la primo-infestation pour s'assurer de l'absence de toute contamination.

L'objectif de notre étude étant de réaliser une cinétique des réponses immunitaires, nous avons réparti les animaux en différents lots, chacun correspondant à une date d'abattage. Pour cela, nous avons pris en compte : le sexe et la paternité. Nous avons essayé de distribuer les animaux de même père dans des lots différents, pour éviter l'effet père, et de faire des lots mixtes, pour éviter un biais lié au sexe des animaux.

Les dates d'abattage ont été choisies de manière à couvrir toute la période de développement des nématodes de l'espèce *H. contortus* lors d'une primo-infestation chez le mouton, à savoir : quatre jours post-infestation (J_4), période où toutes les larves implantées sont au stade L_4 ; J_8 , à ce moment les premiers vers immatures apparaissent ; J_{15} , la majorité des vers est au stade immature ; J_{21} , une grande partie des vers est au stade adulte, enfin, J_{30} , où tous les vers présents sont généralement au stade adulte.

Le nombre d'animaux par lot a été déterminé en fonction des résultats des études précédentes ; en effet, certaines dates semblaient plus intéressantes, comme J_8 où le gène de la galectine 15 était

fortement exprimé (Liénard et al., 2011), J₁₅ où la charge parasitaire est encore assez élevée et où les différences race résistante et race sensible sont nettes (Terefe et al., 2009) et J₃₀ pour confirmer que les femelles sont plus petites chez les MBB que chez la race sensible (Terefe et al., 2007).

N° agneau	genre	lot
93481	♀	J0
94242	♀	J0
91181	♂	J4
91381	♂	J4
92981	♂	J8
93071	♂	J8
92441	♂	J15
91071	♀	J15
93482	♀	J21
91741	♂	J21
91182	♂	J30
91611	♂	J30

Tableau 4 : Lots des agneaux Lacaune, paternités inconnues

N° agneau	genre	lot
98060	♀	J0
98021	♀	J0
98111	♀	J4
98013	♂	J4
98006	♂	J8
98053	♂	J8
98017	♀	J8
98097	♀	J8
98010	♂	J15
98075	♂	J15
98005	♂	J15
98102	♂	J21
98064	♀	J21
98009	♂	J30
98089	♂	J30
98012	♀	J30

Tableau 5 : Lots des agneaux Black Belly, paternités connues = une couleur correspond à un père

Les parasites

Les larves d'*H. contortus* utilisées proviennent de la souche « Humeau », isolée d'un élevage caprin dans la région du Quercy. Les larves infestantes sont récoltées à partir de coprocultures des matières fécales d'ovins infestés expérimentalement dans les locaux du laboratoire de parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Les larves utilisées dans l'expérimentation ont toutes le même âge (2 mois de stockage à 8°C après émergence).

Dispositif expérimental

Les ovins ont été infestés par voie orale, avec une seule dose de 10 000 L₃. Une telle dose est suffisante pour entraîner une réponse chez l'hôte, mais n'entraîne pas de signes cliniques extrêmes voire la mort des animaux au cours de l'expérimentation (Lacroux et al., 2006).

Ces animaux ont été divisés en 6 lots et le protocole expérimental suivant a été respecté :

Infestation à J₀ de tous les lots sauf le lot témoin ;

Abattages à : J₀ (lot témoin), J₄ (lot 1), J₈ (lot 2), J₁₅ (lot 3), J₂₁ (lot 4), J₃₀ (lot 5) post inoculation ;

Prises de sang à : J₀-J₄-J₈-J₁₅-J₂₁-J₃₀ ;

Examens coproscopiques à : J₀-J₁₅-J₁₈-J₂₁-J₂₃-J₂₆-J₃₀.

Abattage	J ₀ (lot témoin)	J ₄ (lot 1)	J ₈ (lot 2)	J ₁₅ (lot 3)	J ₂₁ (lot 4)	J ₃₀ (lot 5)
Lacaune	93481	91181	92981	92441	93482	91182
	94242	91381	93071	91071	91741	91611
MBB	98060	98111	98006	98010	98102	98009
	98021	98013	98097	98075	98064	98089
			98017	98005		98012
			98053			

Tableau 6 : Répartition des ovins en six lots (chaque couleur correspond à un père MBB)

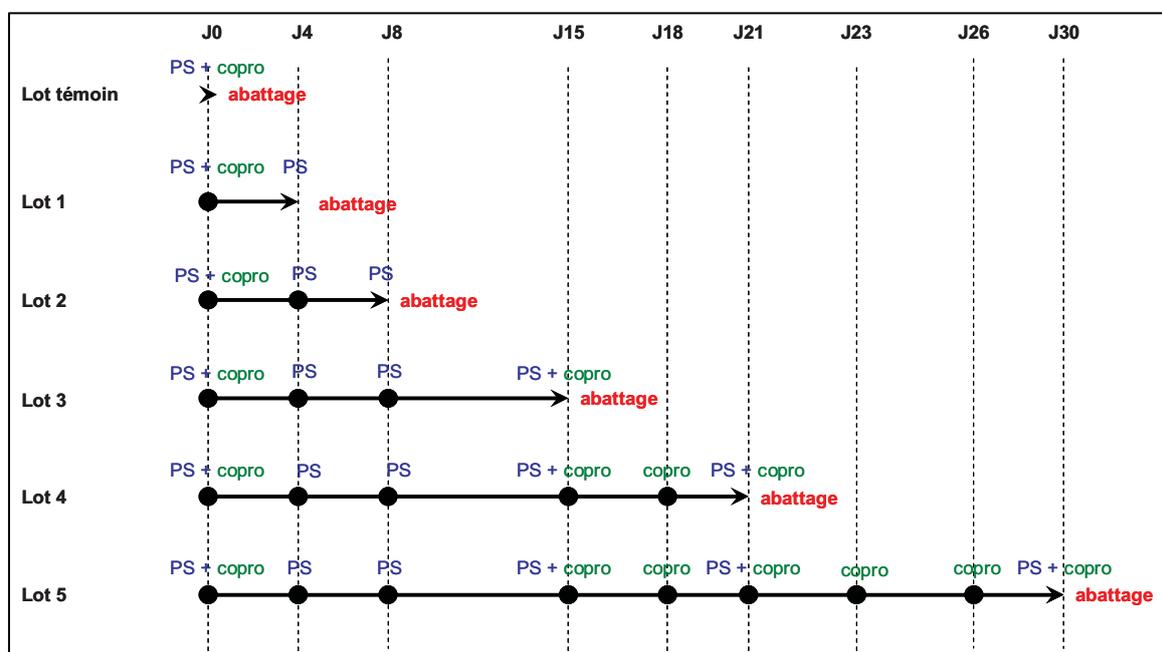


Figure 13 : Protocole expérimental

Abréviations : PS = Prise de sang ; copro = examen coproscopique ;

Etude des paramètres parasitaires

Excrétion fécale des œufs de strongles par l'hôte

de Mc Master, modifiée par Raynaud (1970) (ANNEXE 1). Elle permet de suivre l'excrétion des œufs par l'hôte, pendant la période de ponte des vers femelles, qui fait généralement suite à une période dite prépatente, soit 17 à 21 jours après infestation. L'excrétion fécale d'œufs de strongles traduit relativement bien le nombre total de vers adultes de l'espèce *H. contortus* installés chez l'hôte (Cabaret et al., 1998).

Les matières fécales sont directement prélevées dans le rectum des ovins et sont pesées. Un volume de 42 mL de NaCl (d=1,19) est ajouté à une quantité de 3 grammes de fèces (obtention d'une suspension de matières fécales diluées au 1/15ème) ; l'ensemble est homogénéisé à l'aide d'un agitateur puis filtré dans une passoire à thé. Cette solution saline est d'une densité supérieure à celle des oeufs de nématodes (d=1,19), permettant leur flottation, tout en laissant couler les débris fécaux.

Un échantillon du surnageant ainsi obtenu permet de remplir les deux cellules de la lame de Mc Master. Dans chaque cellule se trouve un réseau quadrillé correspondant à un volume de 0.15 mL.

Le comptage des oeufs est réalisé dans l'ensemble du réseau.

Le nombre d'oeufs par gramme (OPG) est alors donné par la formule :

$$\text{OPG} = (\text{nombre d'oeufs/volume total du réseau}) * (\text{volume de NaCl} + \text{poids des fèces}) / \text{poids des fèces}$$

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

$$\text{OPG} = \text{Nombre d'oeufs dans les deux cellules de la lame de Mc Master} \times 50$$

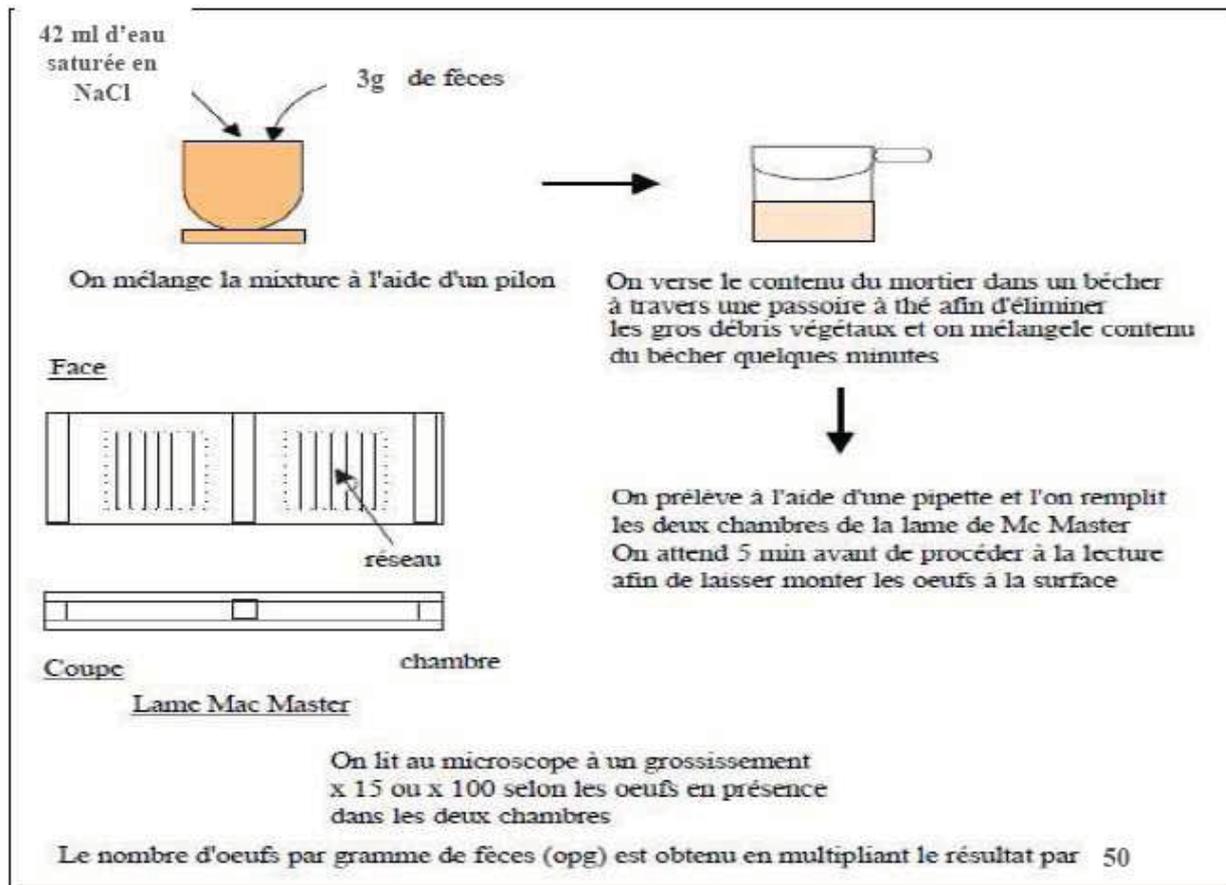


Figure 14 : Méthode de Mac Master modifiée par Raynaud (Deltour, 2000)

Etudes quantitative et qualitative des populations parasitaires

Comptage du nombre total de vers après abattage (charge parasitaire)

L'analyse quantitative de la population de strongles chez l'hôte permet de calculer le taux d'installation des larves infestantes, grâce au nombre total de vers recueillis dans l'organe cible, et donc de comparer l'installation entre races résistante et sensible.

A l'autopsie, la caillette (organe cible de l'infestation par *H. contortus*) est isolée par deux ligatures à la jonction feuillet - caillette et caillette - intestin grêle.

Les vers sont recherchés :

dans le contenu de l'organe (ainsi que dans les lavages des parois de celui-ci),

dans la paroi de l'organe, afin de récupérer et de dénombrer les stades parasitaires immatures dans la muqueuse. Pour cela, la caillette est digérée dans une solution d'acide chlorhydrique / pepsine pendant 6 heures à 37°C.

Ces différentes fractions sont filtrées dans un tamis à mailles de 40 µm, afin d'éliminer les débris alimentaires, puis préservées par addition d'un large volume d'éthanol absolu jusqu'à l'analyse. Leur volume est ensuite ajusté à 2 litres et le nombre total de vers est estimé dans un aliquote de 10% (ANNEXE 2).

Etude qualitative de la population parasitaire

En parallèle du comptage du nombre de vers présents, une analyse qualitative de la population de strongles est réalisée en dénombrant les différents stades parasitaires : larves L₄, vers immatures mâles et femelles, vers adultes mâles et femelles et longueur des femelles.

Cette analyse, lorsqu'elle est effectuée sur des prélèvements en cinétique, permet d'apprécier le développement des vers sur la période considérée, ainsi que la concordance ou non avec le schéma habituel de développement du parasite (ANNEXE 2).

Etude des paramètres physiopathologiques chez l'hôte

Etude de la réponse éosinophilique

La réponse d'un hôte face à une infestation par un helminthe se manifeste à différents niveaux, et notamment par une hyperéosinophilie sanguine suivie d'une infiltration éosinophilique de la muqueuse de l'organe infesté. Le suivi de cette éosinophilie permet :

de vérifier l'efficacité de l'infestation des larves administrées chez l'hôte et ce, dès le 7^{ème} jour d'étudier l'intensité et la précocité de la réponse de l'hôte et de la comparer entre différents groupes expérimentaux ou différentes races ovines.

Cinétique de l'éosinophilie sanguine

L'éosinophilie sanguine (ou nombre de polynucléaires éosinophiles par mL de sang total) a été déterminée par le service de Biologie Clinique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Le sang est récupéré sur tube EDTA à la jugulaire. L'analyse est faite par un automate de cytométrie de flux (Appareil SYSMEX Inst. ID. XT-2000iV-1), dont la fiabilité pour les analyses sanguines des ovins a été vérifiée (ANNEXE 4).

Cinétique de l'infiltration éosinophilique de la paroi abomasale

A l'autopsie, des fragments de la paroi de la caillette dans les régions fundique (partie sécrétoire), antrale et pylorique sont immédiatement plongés dans une solution tamponnée de formaldéhyde à 10% jusqu'à fixation complète de l'échantillon.

Après déshydratation dans des bains successifs d'alcool de degrés croissants et de toluène (cycle automatisé complet de 18 heures), les échantillons sont inclus en paraffine. Des coupes de 3 µm d'épaisseur sont réalisées à partir des blocs à l'aide d'un microtome (Microm, France) et récupérées sur des lames prétraitées (lames Superfrost Plus, Labonord, France).

Pour le dénombrement des polynucléaires éosinophiles, les lames sont colorées selon un protocole classique Hémalun-éosine. Les polynucléaires sont alors aisément reconnaissables grâce à leur noyau généralement bilobé et leur cytoplasme hébergeant de nombreuses granulations éosinophiles de petite taille (ANNEXE 3).

Les éosinophiles ont été comptés au grossissement x400 et les résultats ont été exprimés par la somme du nombre d'éosinophiles observés dans 5 champs microscopiques, sélectionnés de manière aléatoire, par couche histologique (sous muqueuse, lamina propria et position intraépithéliale) et pour chaque région anatomique de la caillette (région fundique, antrale et pylorique).

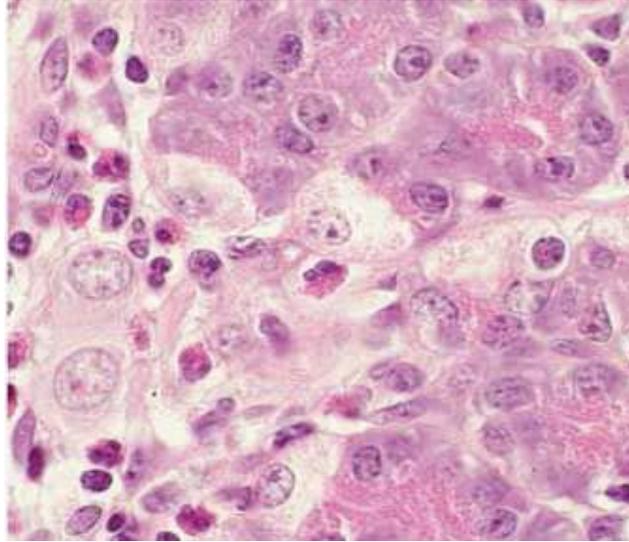


Figure 15 : Coupes histologiques de caillette d'ovins infestés par *H. contortus*, mettant en évidence des polynucléaires éosinophiles (Lacroux, 2006)

Cinétique du taux d'hématocrite

Haemonchus contortus est un parasite hématophage capable d'entraîner chez son hôte une anémie plus ou moins sévère, parfois létale. Cet impact négatif du parasite sur son hôte peut être estimé grâce à la mesure de l'hématocrite (ou pourcentage d'hématies dans le sang). Les valeurs physiologiques de l'hématocrite chez les ovins varient de 30 à 35%.

Le sang est récupéré sur tube EDTA par ponction de la veine jugulaire (le tube servant à estimer l'éosinophilie sanguine peut également permettre la mesure de l'hématocrite). L'analyse doit cependant être réalisée dans la demi-journée suivant le prélèvement afin d'éviter l'hémolyse. L'analyse est faite par un automate de cytométrie de flux (Appareil SYSMEX Inst. ID. XT-2000iV-1) (ANNEXE 4).

Cinétique du nombre total d'hématies et du taux de réticulocytes

La numération des hématies s'exprime en nombre de cellules par litre de sang (ou en nb/mm³). Une diminution du nombre d'hématies révèle une anémie. Le nombre d'hématies physiologique d'un mouton est de $10-12 \times 10^3$ hématies/ μ L de sang.

Le réticulocyte est une jeune hématie, possédant encore des résidus d'ARN ribosomiaux. En cas d'anémie, quand la moelle osseuse est stimulée pour produire de nouveaux globules rouges, on parle alors d'anémie régénérative ou anémie périphérique où le taux de réticulocytes est supérieur aux valeurs usuelles. Il est donc intéressant, dans toute anémie, de suivre le taux de réticulocytes, révélateur de la capacité de l'animal à réagir à l'intensité de l'anémie.

Comme précédemment, le sang est récupéré sur tube EDTA par ponction de la veine jugulaire et l'analyse est faite par un automate de cytométrie de flux (Appareil SYSMEX Inst. ID. XT-2000iV-1)

(ANNEXE 4).

Cinétique de l'hémoglobinémié et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)

L'hémoglobinémié est la concentration en hémoglobine dans le sang qui s'exprime en g/L. C'est le premier paramètre à surveiller lors d'une anémie.

La CCMH représente le poids en hémoglobine contenue dans une hématie, elle s'exprime en g/L et permet de caractériser sa teneur en hémoglobine. Si la CCMH se situe dans les valeurs usuelles, on dit que la population des hématies est normochrome, tandis qu'on parle de population hypochrome quand la CCMH est inférieure aux valeurs usuelles.

Toujours de la même façon, le sang est récupéré sur tube EDTA par ponction de la veine jugulaire et l'analyse est faite par un automate de cytométrie de flux (Appareil SYSMEX Inst. ID. XT-2000iV-1) (ANNEXE 4).

Cinétique du pepsinogène sanguin

Les dommages infligés à la muqueuse de la caillette par le développement et la présence des nématodes altèrent ses fonctions sécrétoire et de barrière entre la lumière abomasale et la circulation sanguine. On observe d'une part une diminution des sécrétions gastriques acides, d'où une élévation du pH abomasal, et d'autre part le passage de substances intraluminales vers le sang, telles que la gastrine et le pepsinogène, d'où une hausse des concentrations sériques en gastrine et en pepsinogène lors d'infestation par *H. contortus* (Simson, 2000 ; Fox, 1997).

Les concentrations de pepsinogène sérique ont été évaluées selon la méthode décrite par Dorny et Vercruysse (1998). Cette méthode consiste à évaluer l'activité de la pepsine présente dans les échantillons de sérum. Pour cela, le pepsinogène contenu dans le sérum des ovins est tout d'abord transformé en pepsine, en ajoutant de l'acide chlorydrique. Puis on ajoute une protéine, l'Albumine Sérique Bovine (BSA), en concentration connue, qu'on laisse incuber une nuit entière avec la pepsine des échantillons (cette dernière va donc dégrader la BSA). Après l'incubation, la réaction est arrêtée avec de l'acide trichloracétique (TCA) à 4%, et le mélange est centrifugé à 1400 tours/minute pendant 5 minutes.

Dans le surnageant, on va doser la quantité de protéine BSA dégradée, en estimant la quantité de résidus Tyrosine présents (la tyrosine est libérée lors de la dégradation de BSA par la pepsine). Une partie du surnageant est ajoutée à 0,25 M de NaOH, et laissée à incuber à température ambiante avec le réactif de Folin pendant 30 minutes. La quantité de tyrosine libérée est estimée par la densité optique déterminée dans un lecteur de plaque ELISA (Dynatech ImmunoAssay System) à 680 nm en utilisant une courbe standard de tyrosine. Les valeurs sont exprimées en unité (U) ou milli unité (MU) tyrosine / litre de sérum (ANNEXE 5).

Etude de l'expression de la galectine 15 dans le tissu abomasal

Mise en évidence de la galectine 15 dans le mucus

A l'autopsie, le mucus de la région fundique est récupéré en grattant délicatement la surface de l'organe avec une lame de scalpel. Le produit de grattage est mélangé à du PBS (Phosphate Buffer Saline) (2 mL) auquel ont été ajoutés des antibiotiques / antifongiques (Nystatine, Pénicilline, Streptomycine), puis stocké à -20°C. Les concentrations en protéines totales des différents échantillons sont évaluées à l'aide du test Bicinchoninic Protein Assay (Pierce, Rockford, Illinois, USA). Les concentrations sont toutes ajustées à $500 \pm 50 \mu\text{g}/\text{mL}$ (ANNEXE 6).

Les protéines des échantillons de mucus sont séparées sur gel de polyacrylamide en conditions non dénaturantes (électrophorèse à 120 Volt pendant 1h 45 minutes). Par la suite, une partie des gels est colorée avec le bleu de Coomassie afin de visualiser les protéines majeures du mucus pour chaque animal. Une autre partie des gels fait l'objet d'un transfert de protéines sur membranes de PVDF (électrotransfert à 250 mA pendant 40 minutes). Les membranes sont ensuite incubées avec un anticorps primaire pendant 90 minutes (anticorps polyclonal anti-sheep GAL-15 fourni gracieusement par le Dr. E. Meeusen de l'Université de Melbourne) puis avec un anticorps secondaire (anti-rabbit IgG peroxydase conjuguée, Sigma) dilués au $1/50^{\text{ème}}$ pendant 60 minutes. La révélation est faite avec le substrat Opti-4CNTM Substrate Kit (BIO-RAD) (ANNEXE 7)

Mise en évidence de l'expression du gène ov-gal 15 dans les cellules abomasales

Pour suivre plus précisément la cinétique de la galectine 15 lors d'une infestation par *H. contortus*, il est utile d'étudier l'expression du gène codant pour la galectine 15 (ov-gal 15) dans les cellules abomasales. Celle-ci peut être quantifiée grâce à une réaction de PCR en temps réel (Poitras, 2002).

La PCR en temps réel consiste à suivre en continu le processus d'amplification par la PCR, en détectant la fluorescence émise par les produits de PCR néo-formés.

Le profil d'une réaction PCR classique peut se décomposer en 3 étapes :

- une première étape dite de bruit de fond
- une seconde étape de phase exponentielle de croissance
- une dernière étape de phase de plateau

La phase de bruit de fond s'achève lorsque le nombre de produits PCR néo formés dépasse la valeur seuil de la technique de détection utilisée.

Puis on assiste, durant la phase exponentielle, au doublement du nombre de produits PCR à chaque cycle.

Enfin, la phase de plateau débute lorsque les constituants de la PCR (en particulier la Taq polymérase) deviennent limitants.

Le profil d'une réaction PCR en temps réel suit exactement le même profil : on enregistre une augmentation de fluorescence (en fait du nombre de produits PCR) au cours du temps.

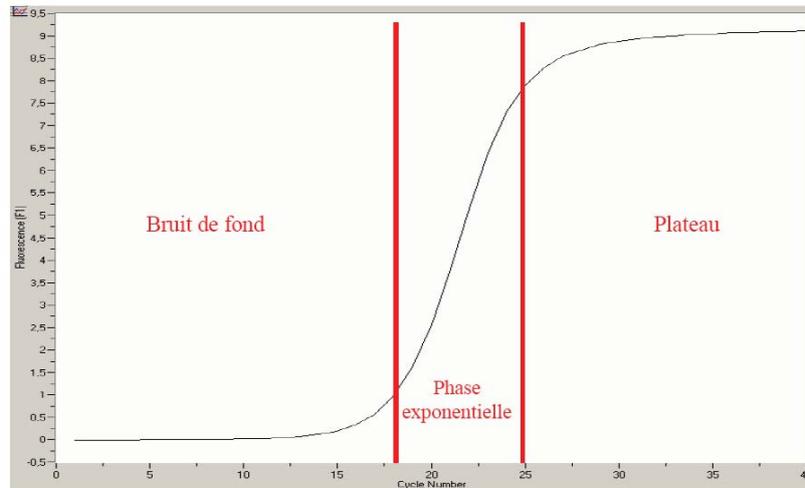


Figure 16 : Schéma d'un profil type de PCR en temps réel

(<http://cochin.inserm.fr/research/technical-services/genome-sequencing-studies/pcr-quantitative/la-theorie-de-la-pcr-quantitative/files/Introduction-a-la-PCR-quantitative.pdf>)

Lors de l'abattage, des fragments de muqueuse abomasale, ont été récupérés, et plongés dans une solution de RNA Later.. Les ARN totaux de 100 milligrammes de la partie fundique de la muqueuse de la caillette ont été extraits chez chaque animal à l'aide du kit RNeasy purification (Qiagen). Le contrôle de la qualité des ARN extraits a été réalisé dans un premier temps par spectrophotométrie à l'aide d'un appareil NanoDrop TM. Sept gènes de référence ont été testés pour la normalisation des résultats de PCR quantitative du gène de la galectine 15. Nous avons retenus cinq gènes de référence pour la muqueuse abomasale (S26q, HPRT, SDH, Tyq, β -actine) à l'aide du logiciel geNorm ver. 3.5 (Vandesompele et al., 2002) : ces gènes ont été choisis car leur expression ne varie pas dans la muqueuse abomasale au cours d'une primo-infestation par *H. contortus* ni entre les races et les tissus. Les ARN ont été transformés en ADNc à l'aide du kit Superscript III. Les amorces du gène d'intérêt (ovGal15) ont été déterminées grâce au logiciel Primer Express (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France). La PCR quantitative en temps réel a été réalisée à l'aide de l'appareil GeneAmp 5700 (Applied Biosystems) avec un marquage SYBR green. La PCR en temps réel couple une PCR classique à une méthode de quantification fluorescente (ici le SYBR green). La cinétique de quantification est basée sur la détection « en temps réel » du signal fluorescent dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de produit PCR généré au cours de l'amplification. La PCR quantitative en temps réel exploite une propriété inhérente à la PCR : plus il y a de molécules cibles à l'origine, plus le nombre de cycles d'amplification nécessaire pour atteindre un nombre déterminé de molécules amplifiées sera réduit. Autrement dit, le nombre de cycles nécessaires pour que la fluorescence atteigne une valeur seuil est inversement corrélé au nombre de molécules cibles à l'origine. La

quantification du signal repose sur le concept de cycle-seuil (threshold cycle, en anglais, abréviation Ct) où le Ct correspond au plus petit nombre de cycles pour lequel l'intensité du signal fluorescent est supérieure au bruit de fond. En résumé, plus la valeur du Ct est faible, plus il y a initialement de transcrits produits du gène ciblé par l'individu à l'instant donné et suivant ici les conditions de race, d'état infesté ou non et de tissus. Les Ct sont déterminés individuellement pour chaque gène d'intérêt et chaque gène de contrôle pour chaque individu et chacune des conditions. Les Ct sont mesurés trois fois (triplicate). Nous obtenons un Ct moyen du gène cible qui est comparé avec le Ct moyen de l'ensemble des gènes de contrôle pour chaque individu permettant la détermination d'une abondance relative en unités arbitraires des gènes cibles. Pour cela, nous calculons $2^{-\Delta CT}$ pour chaque échantillon (avec $\Delta CT = CT_{\text{moyen de la cible}} - CT_{\text{moyenne des gènes de contrôle}}$). La signification de l'expression différentielle de chaque gène d'intérêt entre les quatre groupes (BB témoins/ Lacaune témoins/ BB infestés/ Lacaune infestés) est estimée par un test ANOVA, méthode de Monte Carlo à l'aide du logiciel StatXact ver 3.1 et au seuil $p \leq 0,05$ (ANNEXE 8).

Mise en évidence de l'action de la galectine 15 du mucus abomasal sur la mobilité des larves d'*H. contortus*

Une fois la galectine 15 mise en évidence dans le mucus par western blot, il est intéressant d'étudier son action sur la mobilité des larves d'*H. contortus*. En effet, une des hypothèses d'action des lectines sur les nématodes gastro-intestinaux (Artis, 2006) est leur fixation sur l'épicuticule des larves, formant ainsi un « ciment » qui bloquerait leur mobilité, leur installation ou leur développement chez l'hôte. Si la galectine 15 est présente en grande quantité dans les mucus abomasal d'un ovin abattu, on peut faire l'hypothèse que la mobilité des larves sera significativement réduite après un contact avec le mucus de cet animal. Nous avons réalisé des tests d'inhibition de la migration larvaire d'après Rabel (1994). Les larves sont déposées sur des tubes munis d'inserts (tamis de 20 μ m), et le pourcentage de larves ayant réussi à traverser l'insert est compté. Le diamètre du tamis a été choisi pour permettre le passage actif des larves, tout en évitant qu'elles ne tombent passivement à travers le maillage : seules les larves bien vivantes, dont la mobilité est conservée, le traversent.

Pour estimer l'action du mucus sur les larves, nous réalisons en parallèle des témoins positif, où les larves ne sont pas mises en contact avec du mucus mais avec du PBS, et un témoin négatif, où les larves sont mises au préalable en contact avec du lévamisole qui a pour effet de les paralyser. Le témoin positif nous permet d'évaluer la mobilité optimale des larves tandis que le témoin négatif nous permet de nous assurer que les larves ne traversent pas l'insert passivement.

Les larves d'*H. contortus* sont récoltées à partir de coprocultures des matières fécales d'ovins infestés expérimentalement et conservées à 8°C. Quand les larves atteignent l'abomasum où elles vont s'installer, elles ont au préalable perdu leur gaine dans le rumen (c'est à dire l'exuvie de la larve 2). Pour se rapprocher au maximum des conditions physiologiques d'une infestation par *H. contortus*, nous travaillons donc sur des larves dégainées pour réaliser le test de migration larvaire. Les larves

récoltées sont mises en contact avec une solution à 2% w/v d'hypochlorite de sodium et 16% w/v de chlorure de sodium (Milton® Pharmaceutical LTD, Thouars, France) pendant 20 minutes à 20°C, afin de provoquer leur dégainement. Elles sont ensuite centrifugées et lavées au sérum physiologique. La perte de l'exuvie de la larve 2 et la mobilité sont vérifiées à la loupe binoculaire avant chaque test.

Par ailleurs, les mucus des ovins recueillis lors des abattages successifs sont tous ramenés à une concentration totale en protéines égale à $500 \pm 50 \mu\text{g/mL}$ (voir supra 5.1.).

. Chaque mélange « mucus + larves », contenant mille larves, est déposé sur les tubes munis de tamis et laissés 3h à 37°C. Les tamis sont retirés, et le nombre de larves présentes dans la chambre inférieure, c'est-à-dire ayant traversé le tamis, est compté. Si toutes les larves déposées dans la chambre supérieure ont franchi l'insert, on considère qu'il n'y a pas eu d'inhibition de la migration larvaire. Le pourcentage d'Inhibition de Migration Larvaire est calculé pour chaque mucus, et comparé aux résultats obtenus pour la mise en évidence de la protéine galectine 15 par Western Blot (ANNEXE 9).

$$\text{LMI} = (A-B)/A*100$$

Avec LMI = Larval Migration Inhibition

A = nombre de larves ayant migrées dans le puit positif

B = nombre de larves ayant migrées dans les puits tests

Pour augmenter la fiabilité du test, chaque mucus est testé en triplicate.

Tamis 20 μm de diamètre



Figure 17 : Photographie d'un insert (Photo A. Chrétien)

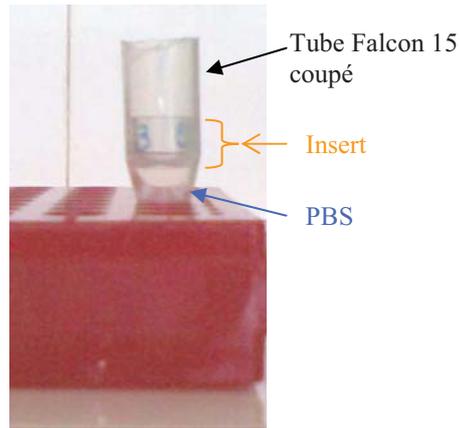


Figure 18 : Photographie d'un tube où l'insert a été déposé (Photo A. Chrétien)

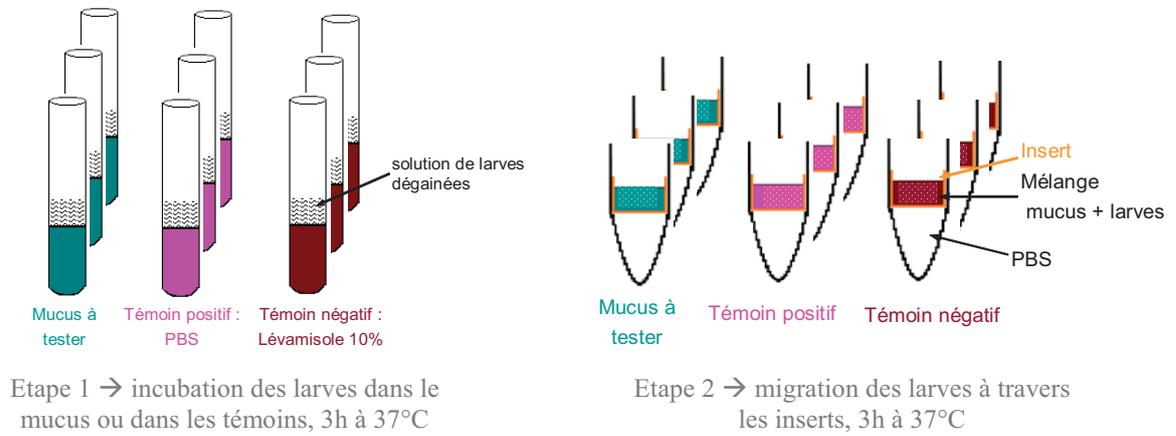


Figure 19 : Protocole de migration larvaire

Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec l'aide du Pr Faouzi Lyazrhi (Unité d'enseignement de Biostatistiques de l'Ecole Nationale vétérinaire de Toulouse). Le très petit nombre d'individus par groupe et par date ne permet pas d'effectuer toutes les comparaisons souhaitées. Dans certains cas, l'information obtenue doit être considérée comme simplement qualitative.

Nous avons travaillé sur le logiciel R-Commander®, pour réaliser des modèles d'Anova à deux facteurs croisés (temps et groupe).

En ce qui concerne les résultats d'hématologie, nous avons réalisé des tests de Bonferroni pour les comparaisons multiples. Nous avons travaillé sur les logarithmes des variables, afin de stabiliser les variances.

**Etude
expérimentale :
Résultats**

Etude des populations parasitaires

Excrétion fécale des œufs de strongles

L'excrétion d'œufs débute plus tôt et avec une intensité plus élevée chez les animaux de race Lacaune (J₁₈) que chez les agneaux Black Belly (J₂₃).

À J₃₀, l'excrétion des œufs chez les Lacaune est 17 fois plus élevée que chez les Black Belly (ANNEXE 1).

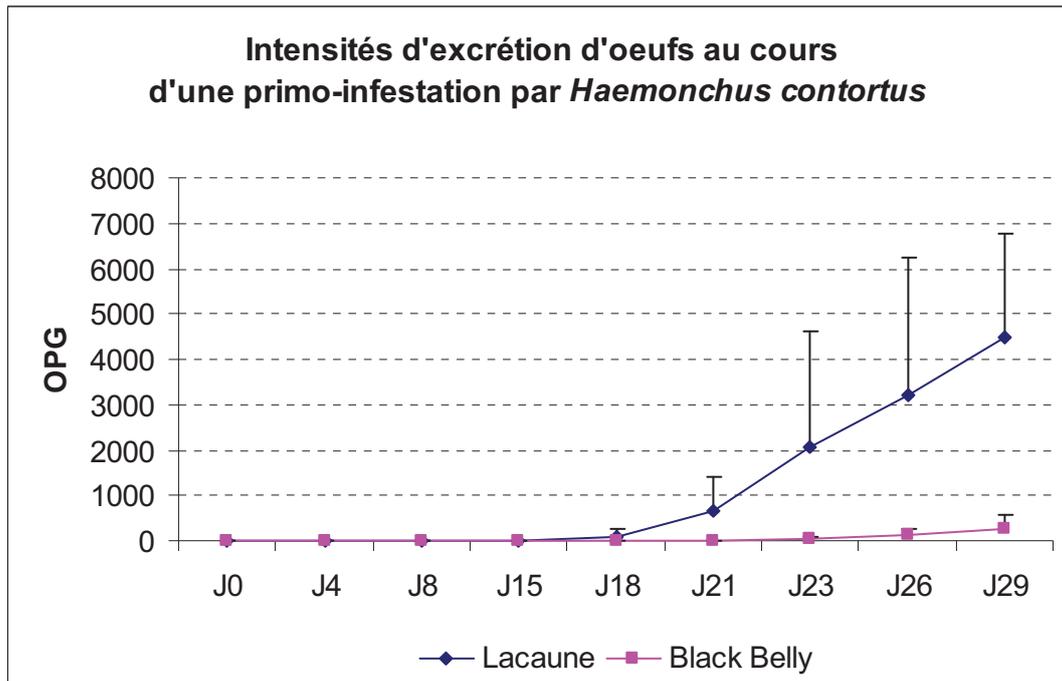


Figure 20 : Intensités d'excrétion des œufs de strongles au cours d'une primo infestation par *Haemonchus contortus* Abréviation : OPG = Œufs Par Gramme

Etudes quantitative et qualitative des populations parasitaires

Comptage du nombre total de vers après abattage (charge parasitaire)

a été retrouvé dans les lots témoins. En moyenne sur toute l'étude, le pourcentage d'installation d'*H. contortus* a été de 28,1 % chez les agneaux Lacaune et de 9,3% chez les Black Belly. Un modèle d'Anova à deux facteurs croisés révèle qu'il n'y a pas d'interaction : la différence observée entre les deux races est constante en fonction du temps. L'effet race est très marqué puisque p est proche de 0 (ANNEXE 2).

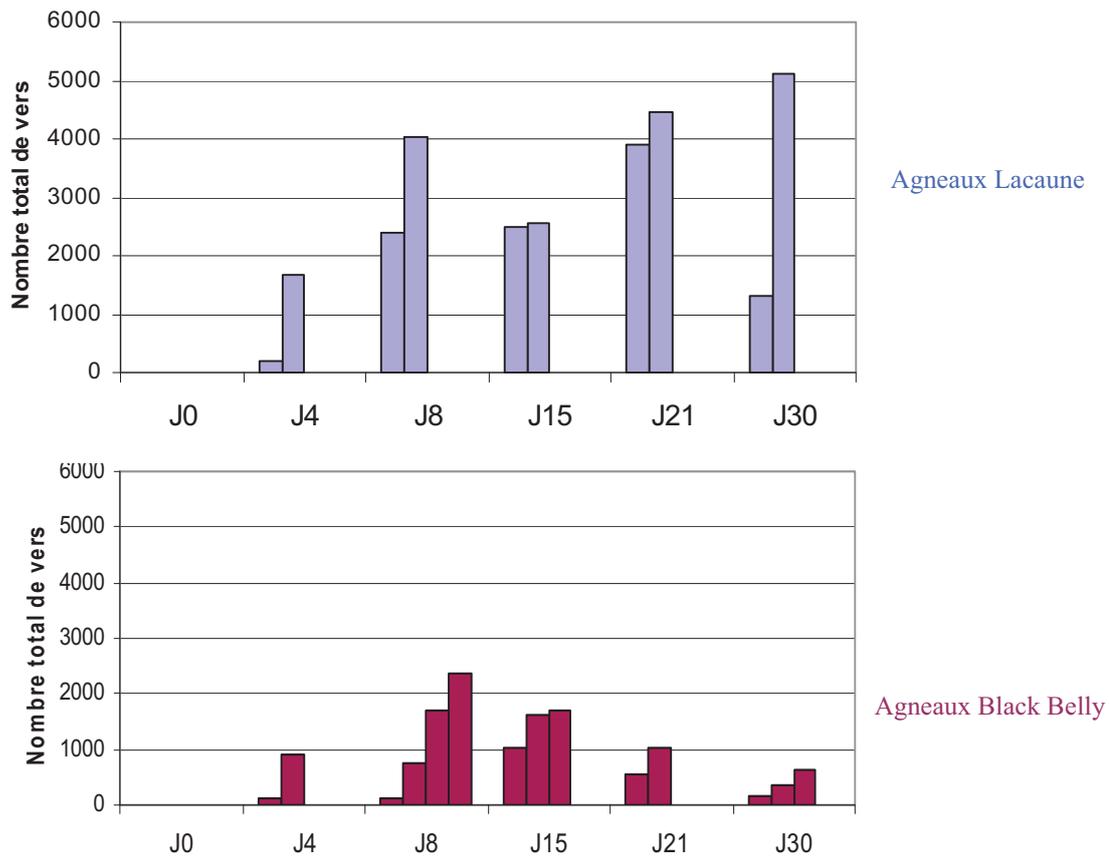


Figure 21 : Nombre total de vers retrouvé à l'autopsie par animal

Etude qualitative de la population parasitaire

4, on ne trouve que des L₄. 8, on trouve une proportion d'immatures légèrement supérieure chez les Lacaune (40%) par rapport aux Black Belly (20%). 15, les proportions des différents stades sont rigoureusement identiques dans les deux races. En revanche, à J₂₁, une plus grande proportion de vers adultes est observée chez les Lacaune (95% contre 41 % seulement chez les Black Belly).

ToutefoisEnfin, à J₃₀, les proportions de vers adultes ne diffèrent plus entre les deux races (ANNEXE 2).

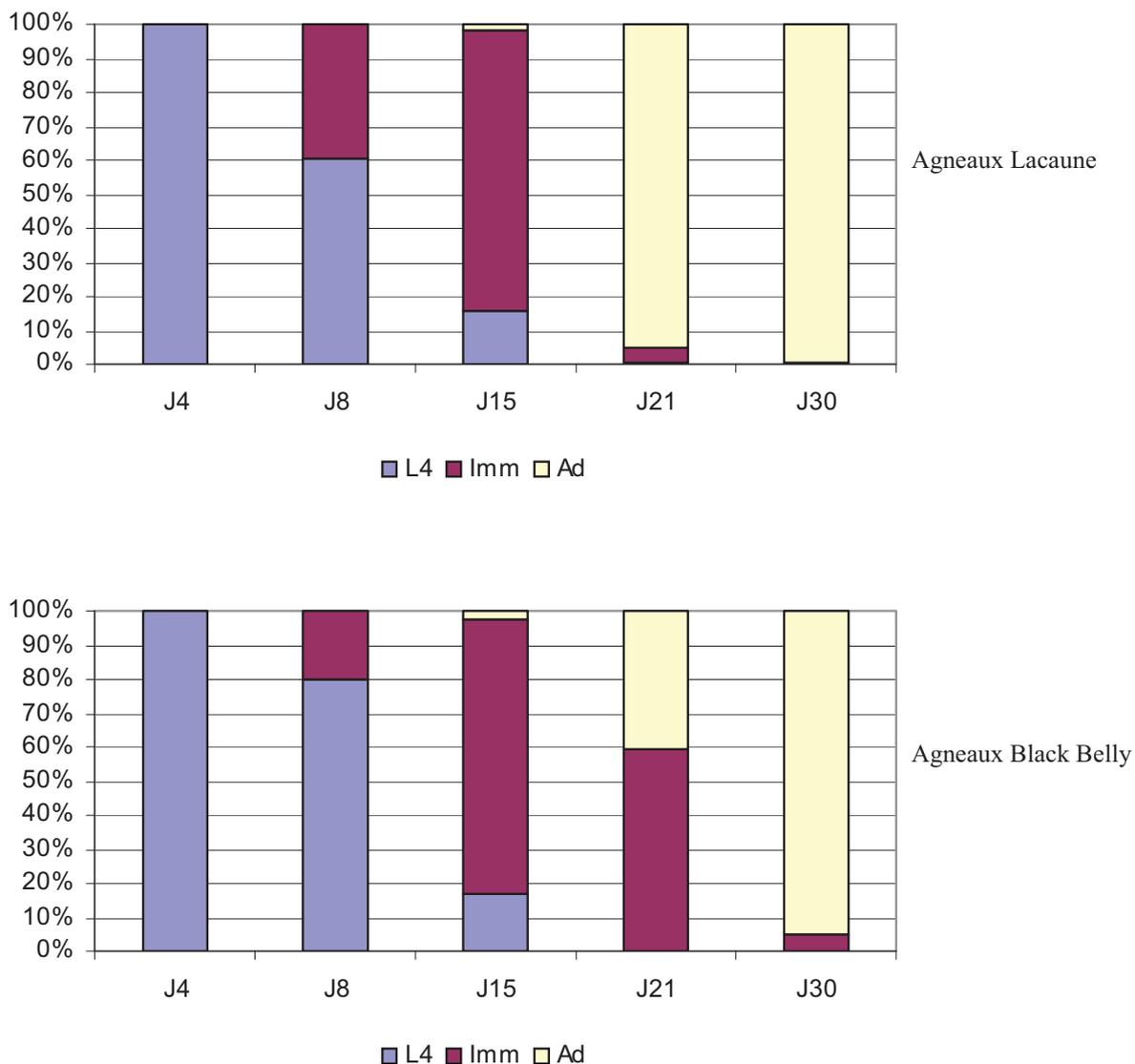


Figure 22 : Proportions des différents stades du parasite au cours d'une primo infestation par *H. contortus*

Les femelles *H. contortus* récoltées à 21 et 30 jours post-inoculation sont plus petites chez les animaux Black Belly que celles récoltées chez les agneaux de race Lacaune (une taille inférieure de 26% à J₂₁ et de 32% à J₃₀).

Race	J21	J30
Lacaune	14,5 mm +/- 2,8 (N = 64)a	17,85 mm +/- 2 (N = 51)b
Black Belly	9,7 mm +/- 1,9 (N = 53)c	12,36 mm +/- 3,1 (N = 40)d

Tableau 7 : Longueur moyenne des femelles adultes à J21 et J30 : comparaison entre les deux races

Etude des paramètres physiopathologiques chez l'hôte

Etude de la réponse éosinophilique

Cinétique de l'éosinophilie sanguine

augmentation chez les Black Belly dès J₄, avec un pic à J₁₅ (800 éosinophiles/ μ L soit 4,5 fois le niveau initial). Chez les Lacaune, l'augmentation n'est constatée qu'à J₈ (valeur maximale à 230 éosinophiles/ μ L soit seulement 1,9 fois le niveau initial).

A partir de J₁₅, il y a une nette diminution de l'éosinophilie dans les deux races. Celle-ci atteint des valeurs inférieures au seuil initial à J₂₁ et J₃₀ chez les Lacaune tandis qu'elle se maintient à des niveaux supérieurs au niveau initial chez les Black Belly jusqu'à J₃₀ (ANNEXE 4).

Un modèle d'Anova à deux facteurs croisés révèle que l'effet groupe est très significatif ($p = 0,002$) : il y a bien une différence entre les deux races. Cependant, la comparaison des résultats date à date ne permet pas d'obtenir des résultats significatifs, en raison du nombre trop peu important d'animaux à chaque temps : on ne peut dire précisément à quelle date la différence entre les deux races s'exprime.

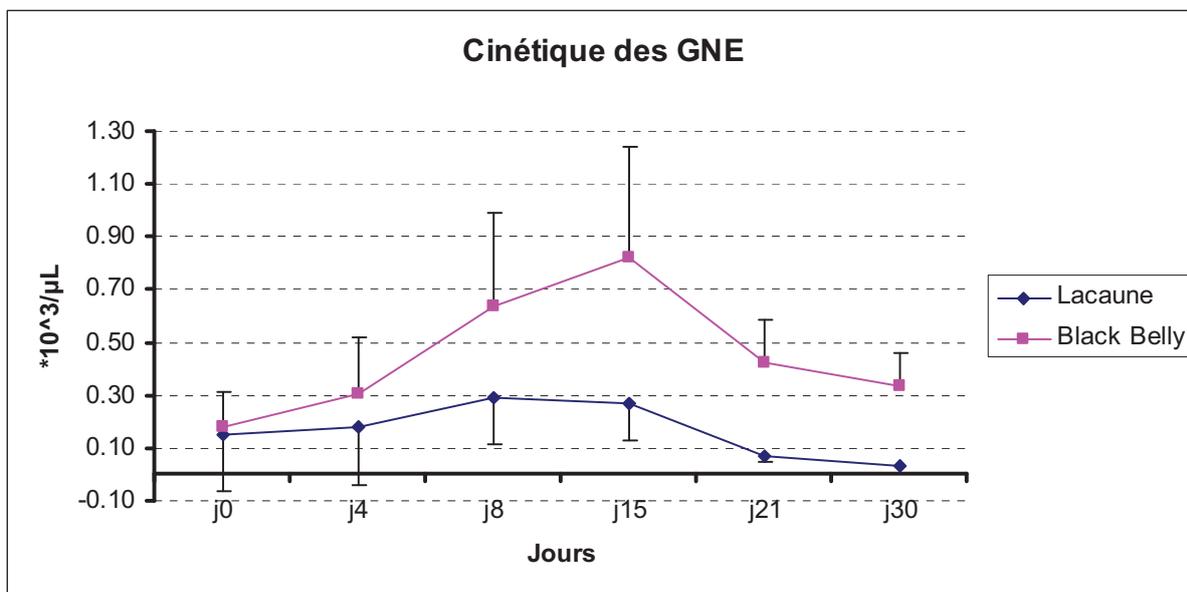


Figure 23 : Cinétique de l'éosinophilie sanguine au cours d'une primo infestation par *H. contortus* chez les Lacaune et chez les Black Belly

Cinétique de l'infiltration éosinophilique de la paroi abomasale

A J₀, de très rares éosinophiles ont été observés dans les muqueuses des caillottes d'animaux témoins et ce, quelque soit la race ou la région anatomique de l'organe.

Dans la région du **fundus**, le recrutement des éosinophiles débute dès J₄ chez les Black Belly, il est retardé à J₈ chez les agneaux Lacaune. Par la suite et durant toute la période d'étude, l'infiltration

éosinophilique semble plus prononcée chez les Black Belly que chez les Lacaune, la différence étant particulièrement nette à J₈. La présence d'éosinophiles en position intra épithéliale n'est prononcée qu'à J₁₅.

Dans la région **intermédiaire**, on retrouve des résultats similaires entre les deux races, si ce n'est que le recrutement éosinophilique semble plus prononcé dès J₄ chez les Black Belly.

Dans la région du **pylore**, très peu d'éosinophiles sont observés précocement (J₄ et J₈) tandis qu'ils sont nombreux, y compris en position intra épithéliale, à J₁₅, dans les deux races. A J₂₁ et J₃₀, une forte diminution du nombre d'éosinophiles est notée chez les Lacaune tandis que leur nombre s'accroît à J₂₁ chez les Black Belly et se maintient à des niveaux élevés à J₃₀ dans cette race (ANNEXE 3).

Un modèle d'Anova à deux facteurs croisés révèle que l'effet race est très marqué (p proche de 0). Cependant il n'y a pas d'interaction : la différence observée entre les deux races est constante en fonction du temps.

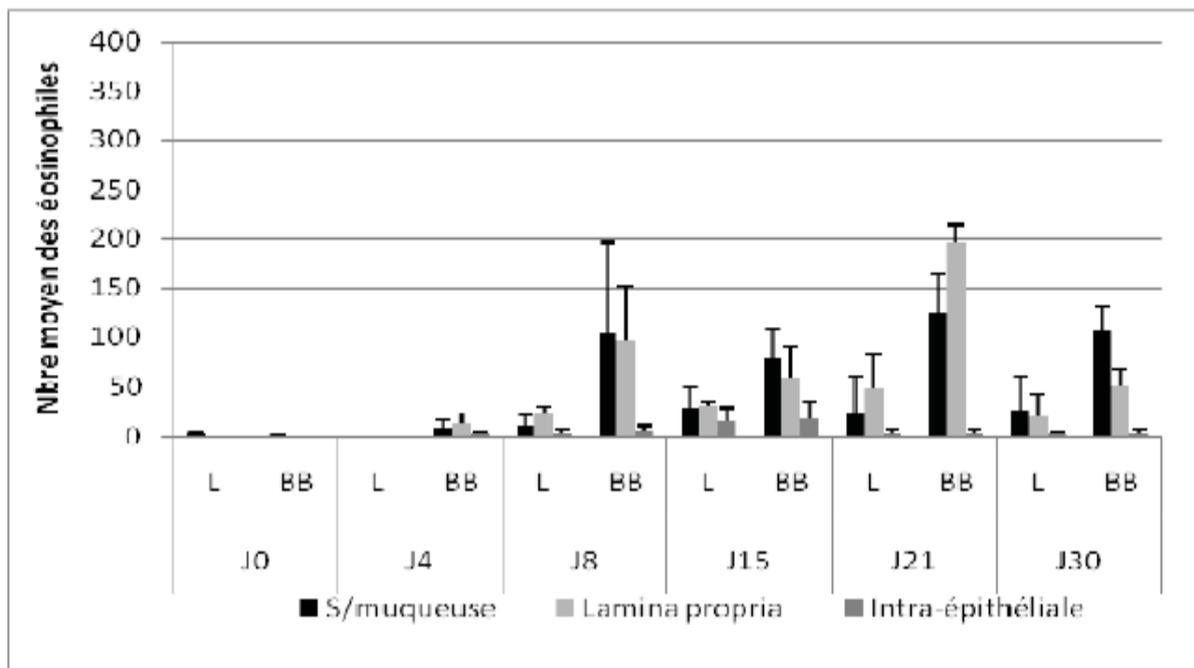


Figure 24 : Nombre moyen des éosinophiles dans la région du fundus

Abréviations : L = Lacaune ; BB = Black Belly

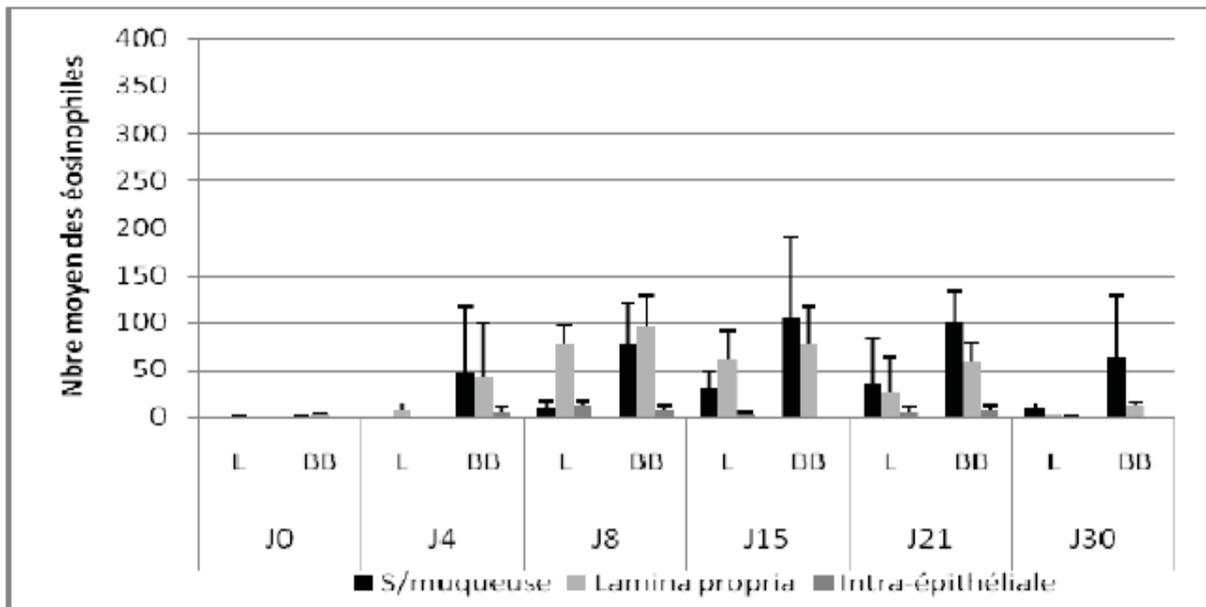


Figure 25 : Nombre moyen des éosinophiles dans la région intermédiaire

Abréviations : L = Lacaune ; BB = Black Belly

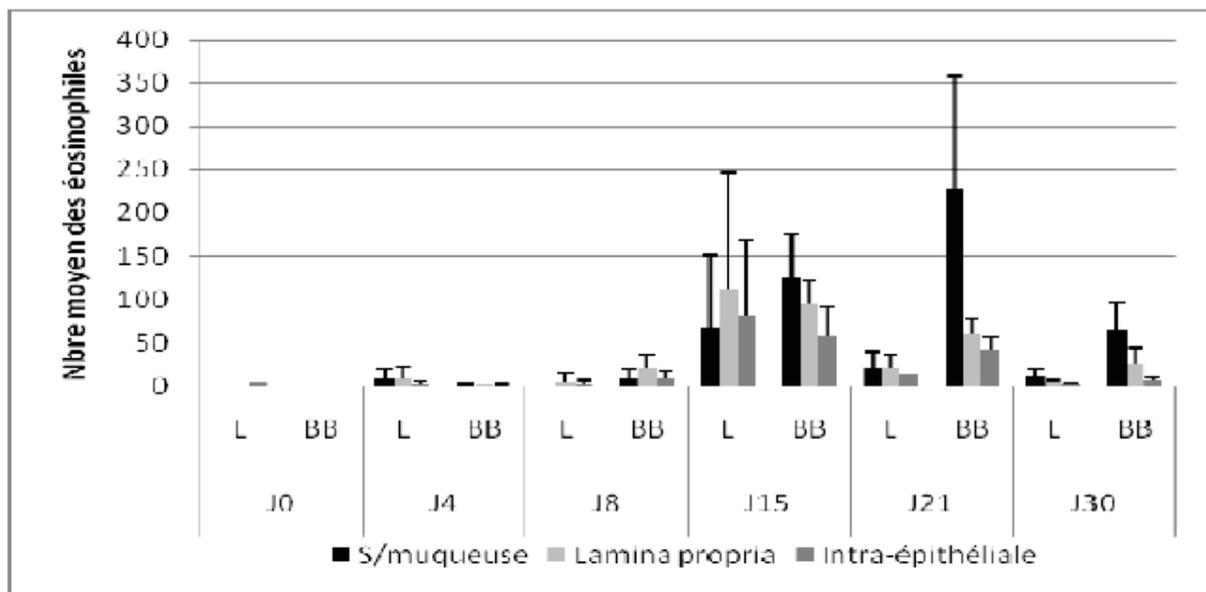


Figure 26 : Nombre moyen des éosinophiles dans la région du pylore

Abréviations : L = Lacaune ; BB = Black Belly

Cinétique du taux d'hématocrite

Chez les animaux de race Black Belly, le taux d'hématocrite est inférieur à celui des Lacaune avant l'infestation. Dans les deux races, une baisse est enregistrée dès J₁₅, et semble être plus marquée chez les Lacaune (diminution de 24 %) que chez les Black Belly (diminution de 19 %). A partir de J₂₁, les hématocrites sont presque similaires dans les deux races (ANNEXE 4).

La différence observée entre les deux races est très significative ($p = 4 \times 10^{-5}$).

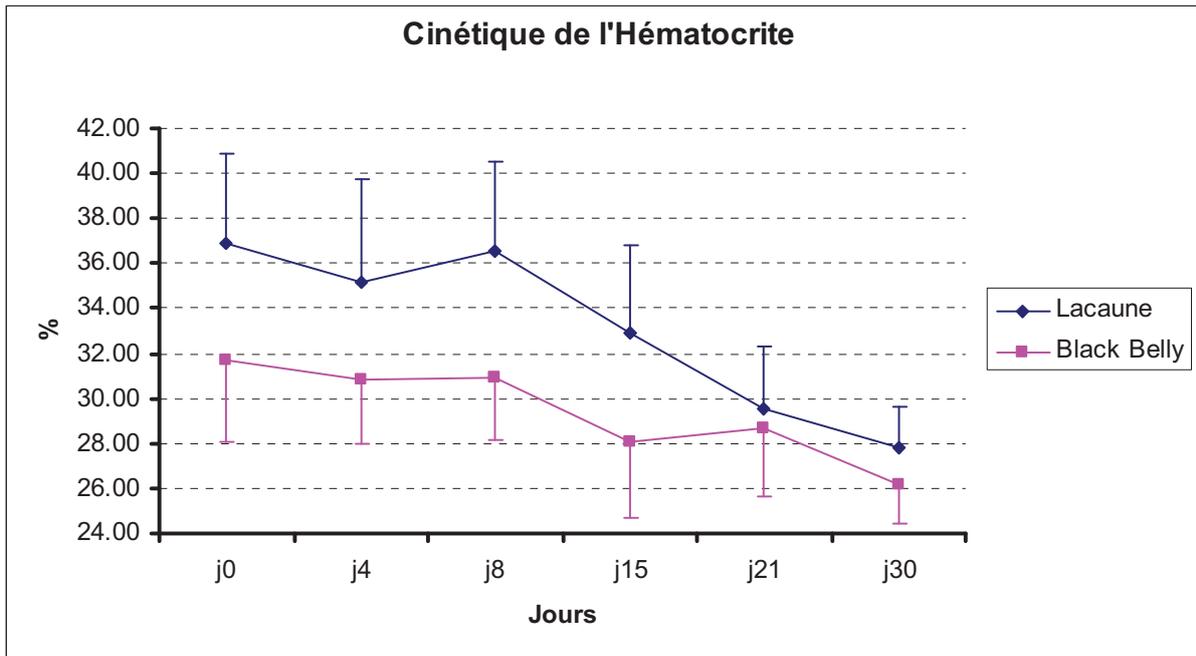


Figure 27 : Cinétique de l'hématocrite chez les Lacaune et les Black Belly

Cinétique du nombre total d'hématies et du taux de réticulocytes

Cinétique du nombre total d'hématies

Le nombre total d'hématies diminue dans les deux races dès J₁₅. La baisse entre J₀ et J₃₀ est plus importante chez les Lacaune que chez les Black Belly avec respectivement -33% et -20% (ANNEXE 4).

La différence observée entre les deux races est très significative ($p = 6 \times 10^{-6}$).

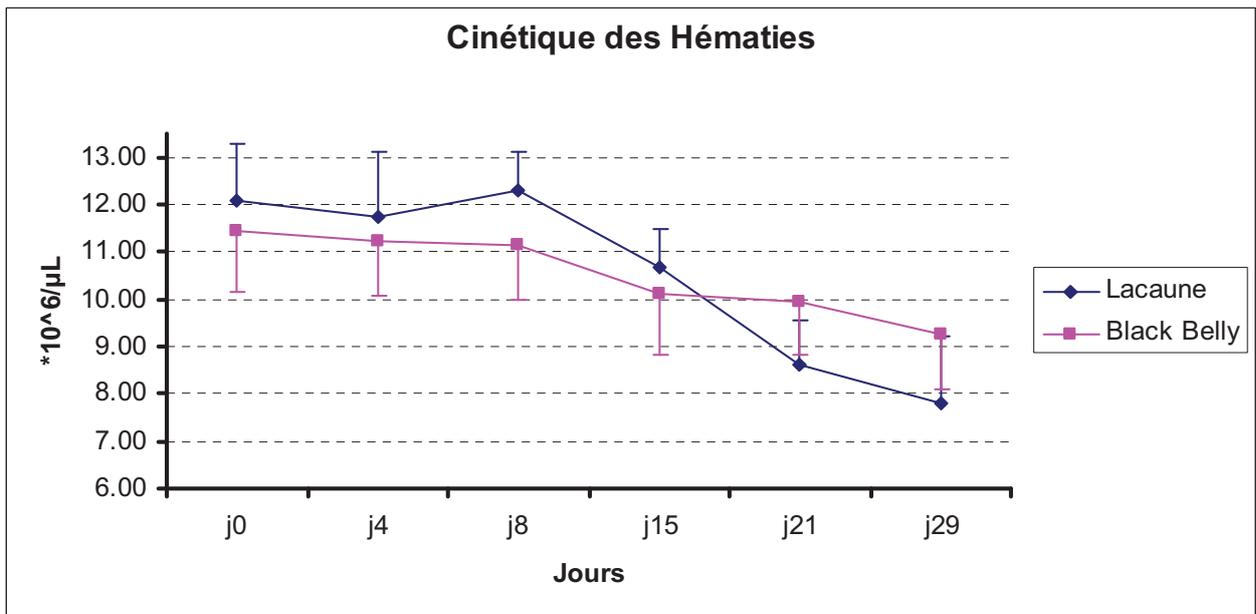


Figure 28 : Cinétique du nombre total d'hématies chez les Lacaune et les Black Belly

Cinétique du taux de réticulocytes

La figure 29 montre que le taux de réticulocytes entre J_0 et J_{15} chez les Black Belly est très légèrement supérieur à celui des Lacaune.

²¹, on constate une très importante hausse du taux moyen de réticulocytes chez les Lacaune mais un seul individu est responsable de cette augmentation. La différence observée entre les deux races est très significative ($p = 0,002$).

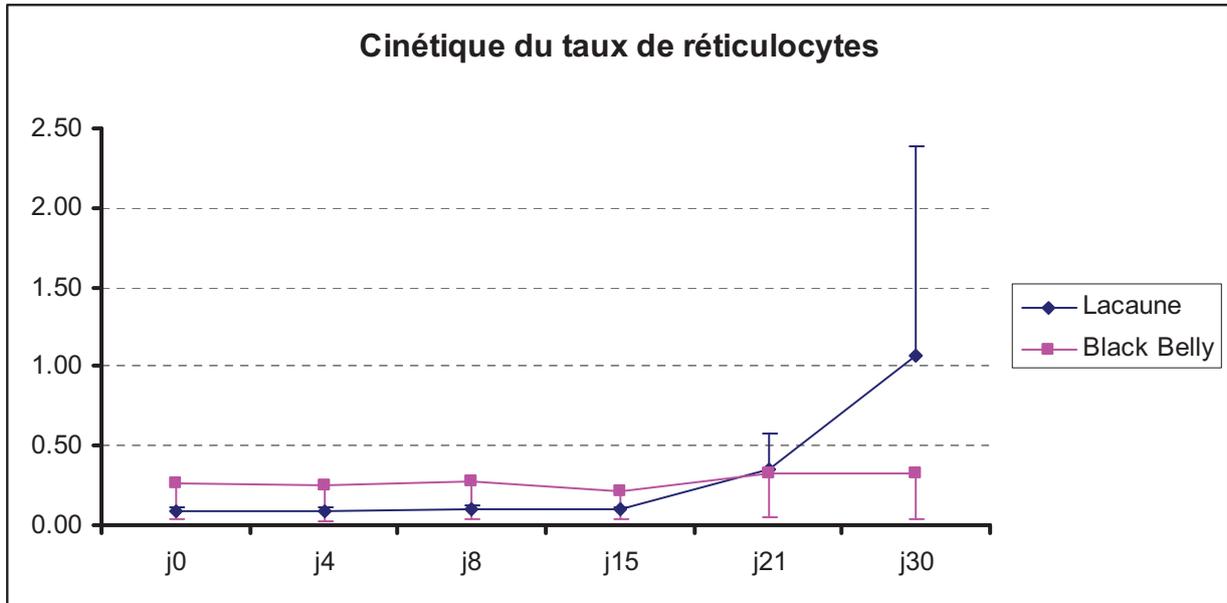


Figure 29 : Cinétique du taux de réticulocytes chez les Lacaune et les Black Belly

Cinétique de l'hémoglobinémie et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)

Cinétique de l'hémoglobinémie

L'hémoglobinémie diminue dans les deux races dès J_{15} . La baisse entre J_0 et J_{30} semble plus importante chez les Lacaune que chez les Black Belly respectivement -30% et -18% (ANNEXE 4).

La différence observée entre les deux races est très significative ($p = 3 \times 10^{-6}$).

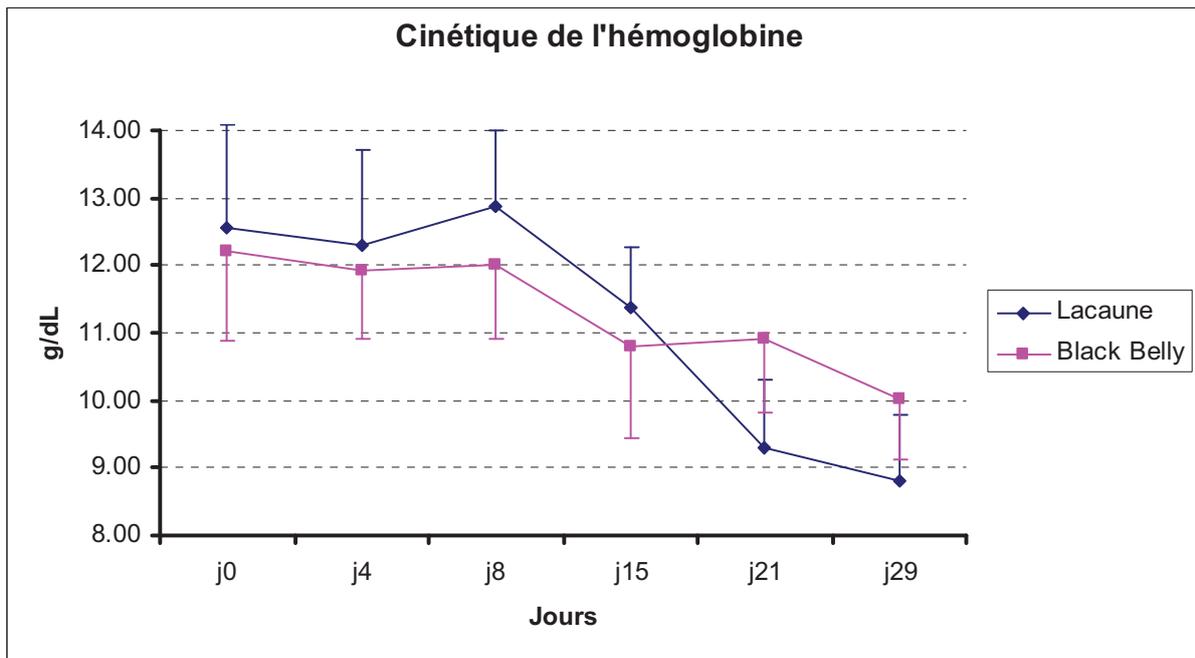


Figure 30 : Cinétique de l'hémoglobine chez les Lacaune et les Black Belly

Cinétique de la Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH)

La CCMH semble plus élevée chez les Black Belly que chez les Lacaune, tout au long de l'expérimentation, et elle reste stable (autour de 38 g/dL). Chez les Lacaune, la CCMH est stable (autour de 35 g/dL) jusqu'à J₁₅, puis diminue fortement (jusqu'à 32 g/dL) vers J₂₁. Il y a donc une hypochromie chez les Lacaune seulement, de J₂₁ à J₂₉. La différence entre les deux races est très significative ($p = 3,7 \times 10^{-8}$).

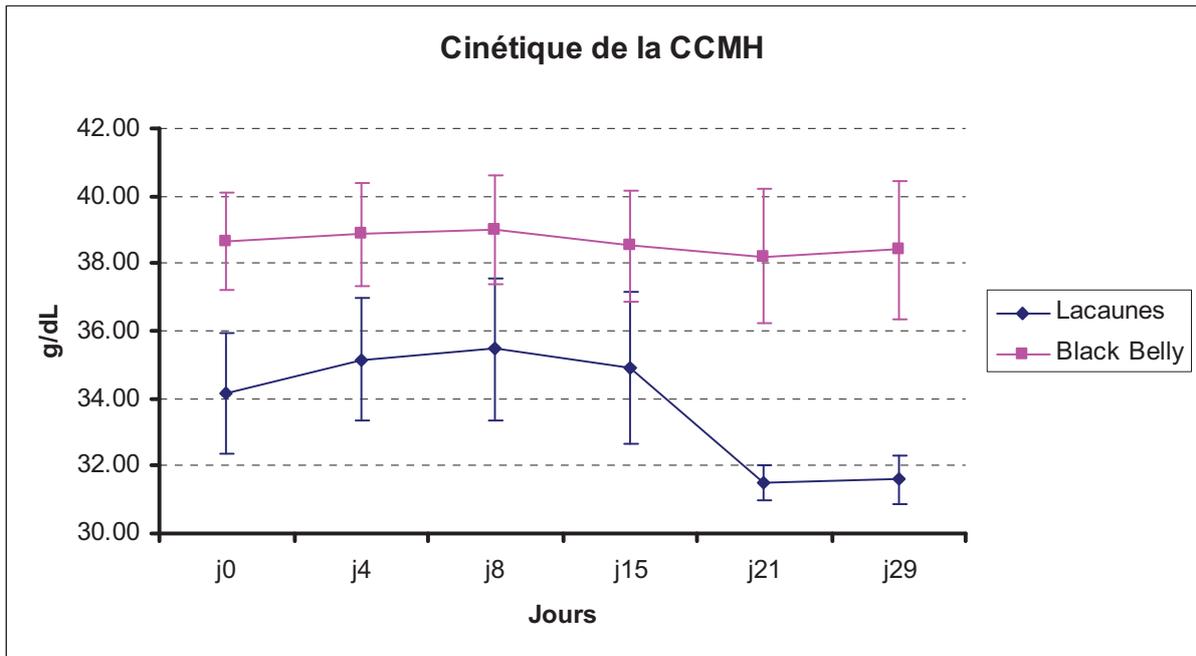


Figure 31 : Cinétique de la CCMH chez les Lacaune et les Black Belly

Cinétique du pepsinogène sanguin

Les valeurs du pepsinogène sanguin chez les Black Belly sont toujours plus élevées que celles des Lacaune entre J₄ et J₃₀ avec un pic enregistré dans les deux races à J₈ (ANNEXE 5).

La différence observée entre les deux races est très significative ($p = 0,0001$).

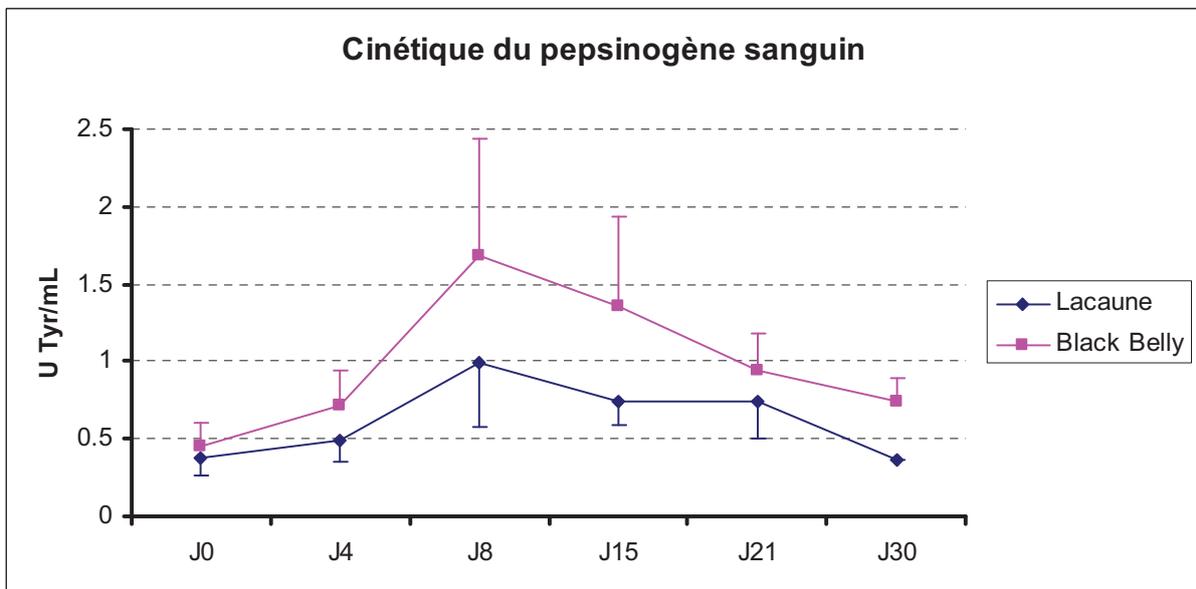


Figure 32 : Cinétique du pepsinogène chez les Lacaune et les Black Belly

Etude de l'expression Mise en évidence de la galectine 15 dans le tissu abomasal

Mise en évidence de l'expression du gène ov-gal 15 dans les cellules abomasales

La figure 33 présente la cinétique comparée de l'expression du gène de la galectine 15 dans la muqueuse abomasale chez les agneaux Lacaune et Black Belly. Dans la race Lacaune, aucune expression n'est observée avant J₁₅. Cette expression semble transitoire car seul un animal à J₃₀ présente encore un très faible niveau d'expression du gène. En revanche, chez les agneaux de race Black Belly, l'expression du gène de la galectine 15 semble bien plus précoce (J₈) et semble se maintenir chez une moitié des animaux infestés jusqu'à J₃₀.

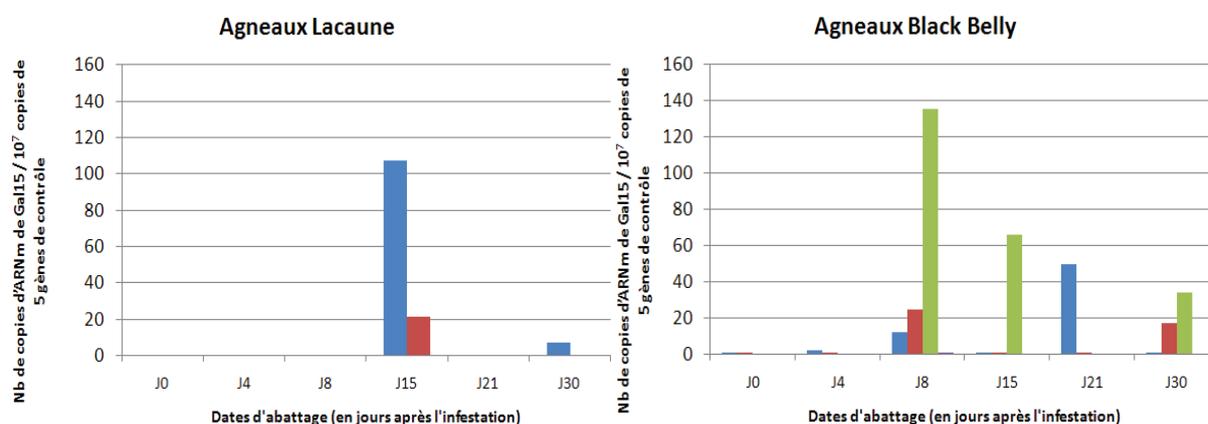


Figure 33 : expression du gène de la galectine 15 dans la muqueuse abomasale des agneaux Lacaune (gauche) et Martinik Black Belly (droite)

Mise en évidence de la protéine galectine 15 dans le mucus par western blot

Chez les animaux non infestés (J₀), le gel coloré au bleu de Coomassie fait apparaître une seule bande à 66 kDa qui correspond au poids moléculaire de la mucine ovine. Aucune bande n'est révélée par Western Blot chez les Lacaune comme chez les Black Belly témoins.

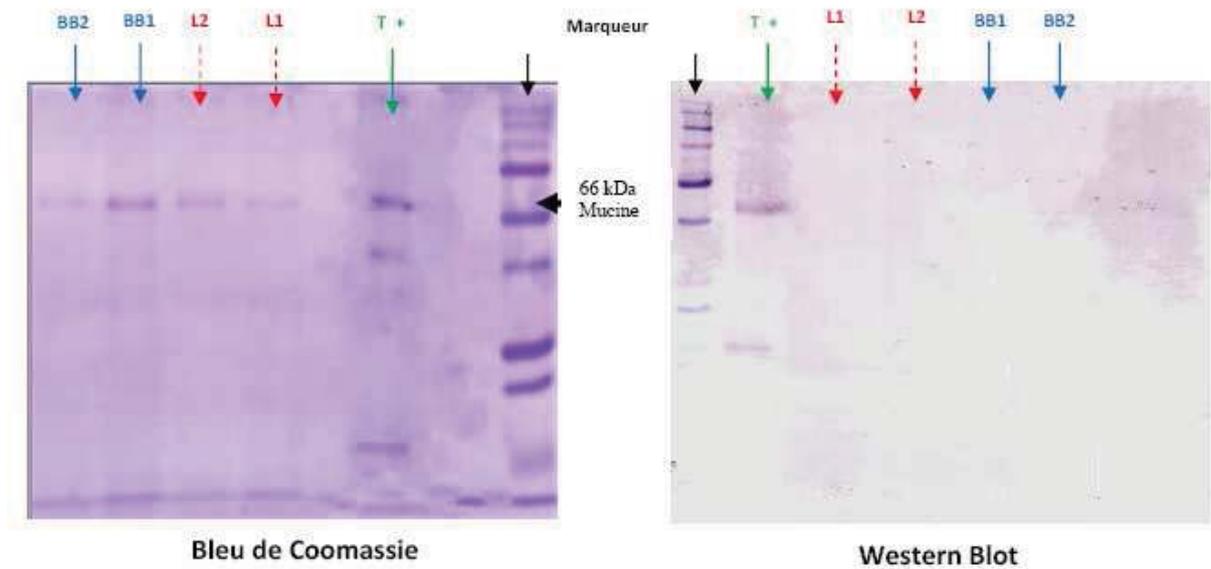


Figure 34 : Absence de la protéine galectine 15 chez les animaux non infestés (J0)

Abréviations : BB = Black Belly ; L = Lacaune ; T+ = témoin positif

A J₈ après l'infestation, on remarque la présence de deux bandes supplémentaires sur le gel coloré au Bleu de Coomassie.

La première se situe à 45 kDa environ, et apparaît chez tous les animaux (deux Lacaune et quatre Black Belly). En Western Blot, cette bande est révélée chez tous les animaux, sauf chez l'agneau Lacaune L1.

La seconde se situe à 15 kDa environ, et apparaît uniquement chez trois Black Belly (BB1, BB2, BB3). En Western Blot, cette bande est révélée chez les trois Black Belly positifs en bleu de Coomassie, mais aussi chez un Lacaune, L2, même si la bande correspondante est moins prononcée. L'un des Black Belly (BB4) ne présente aucune bande en Western Blot.

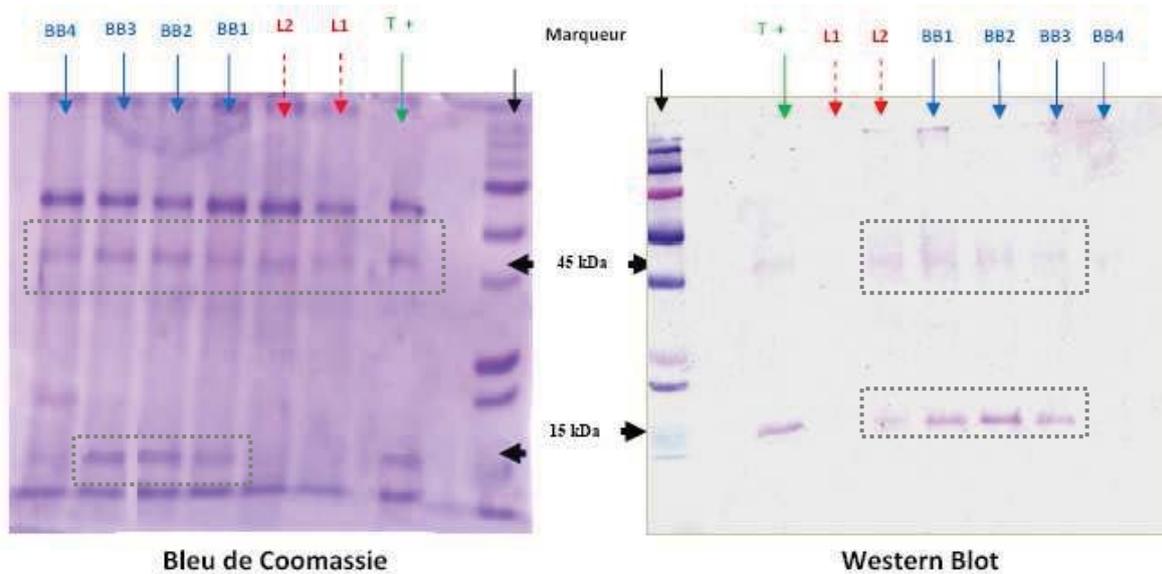


Figure 35 : Mise en évidence de la protéine galectine 15 dans le mucus des animaux infestés et abattus à J₈
 Abréviations : BB = Black Belly ; L = Lacaune ; T+ = témoin positif

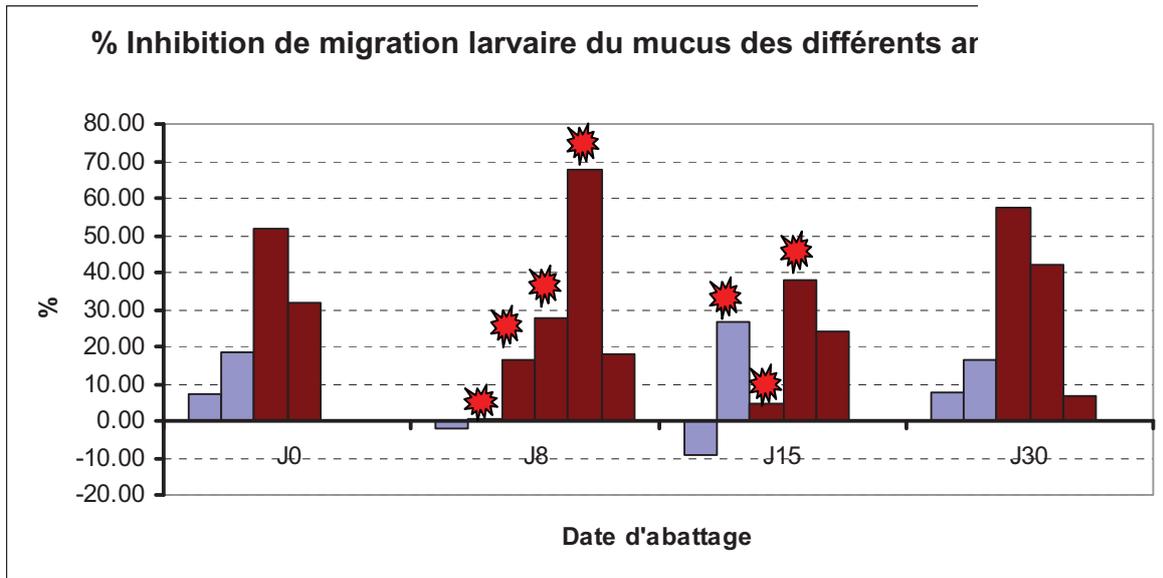
15, le Western Blot révèle la présence des deux bandes à 15 et 45 kDa chez tous les animaux des deux races. 21 et J₃₀, les deux bandes révélées en Western Blot sont beaucoup moins nettes et s'estompent complètement chez certains animaux. 4, le western blot montre un très faible signal à 45 kDa chez tous les animaux (ANNEXE 7).(ANNEXE 8)

3.3. Galectine 15 du mucus abomasal et inhibition de la migration larvaire des larves d'*H. contortus*

En nous basant sur les résultats des Western Blot, nous avons décidé de ne tester que les mucus des animaux abattus à J₀, J₈, J₁₅ et J₃₀. Le mucus des animaux Lacaune présente un faible niveau d'inhibition de la migration larvaire (environ 10%) quelle que soit la date de prélèvement. On constate une plus grande capacité d'inhibition de la migration larvaire pour les mucus des agneaux de race Black Belly. Toutefois, cette inhibition est présente chez les animaux témoins suggérant ainsi qu'elle n'est pas induite par l'infestation. De plus, si on compare les niveaux d'inhibition de migration larvaire et la présence de galectine 15 dans le mucus par western blot (marquée d'une * dans la figure 36), on constate qu'il n'y a pas de concordance entre présence significative de galectine 15 (western blot) et intensité de l'inhibition de la migration larvaire. (ANNEXE 9).

■ : Lacaune

■ : Black B...



★ = Présence de galectine 15 mise en évidence par western blot

Figure 36 : Inhibition de Migration Larvaire au cours de l'infestation par *H. contortus*

Discussion

Protocole expérimental

Notre étude avait pour but de réaliser une cinétique des paramètres physiopathologiques et de la production de galectine 15 au cours d'une primo-infestation par *H. contortus*. Nous voulions comparer ces résultats entre deux races : l'une réputée sensible au parasite, la race Lacaune, et l'autre réputée résistante, la race Martinik Black Belly. Pour cela, nous avons infesté expérimentalement, par voie orale, 28 ovins âgés de 6 mois (12 Lacaune et 16 Black Belly) avec 10 000 larves L₃ d'*H. contortus*, de la souche « Humeau ». Les animaux avaient reçus un traitement anthelminthique 15 jours avant l'expérimentation afin d'assurer leur statut indemne de tout parasite. De même, ils étaient logés à l'intérieur de bâtiments, pour éviter toute infestation accidentelle. correspondantes aux grandes étapes du développement d'*H. contortus* chez l'hôte (Veglia, 1915) : J₀, J₄, J₈, J₁₅, J₁₈, J₂₁, J₂₄ et J₃₀. Lors de l'abattage, nous avons prélevé du mucus et des fragments de paroi abomasale de chaque animal.

H. contortus. La priorité à la cinétique explique le nombre limité d'individus par date (J₀, J₄, J₈, J₁₅, J₂₁ et J₃₀) dans les deux races, ce qui a bien évidemment limité nos possibilités d'analyse statistique (tests non significatifs pour les comparaisons date à date). Par ailleurs, le petit noyau Martinik Black Belly de l'Unité expérimentale de la Sapinière du Département de Génétique Animale de l'INRA ne permet pas de fournir de gros effectifs d'agneaux de pères différents pour les expérimentations. En réalité, le but était donc de mettre en évidence des différences très nettes entre les deux races rendant ainsi interprétables des comparaisons entre lots de très petite taille.

Résultats

Une résistance plus importante des Martinik Black Belly

L'excrétion des œufs de strongles est plus précoce (J₁₈ pour les Lacaune et J₂₃ pour les Black Belly) et plus intense (17 fois plus élevée à J₃₀ chez les Lacaune que chez les Black Belly)(Figure 20). A partir de J₁₅, la charge parasitaire au moment de l'abattage semble bien plus importante chez les Lacaune que chez les Black Belly (Figure 21). En ce qui concerne les larvesDe plus, le développement des vers apparaît plus lent chez les Black Belly que chez les Lacaune (Figure 22) et les femelles sont plus petites (Tableau 7) chez les Black Belly que les femelles récoltées chez les agneaux Lacaune à la même date (J₂₁ ou J₃₀). Il semble donc que la plus grande résistance des Martinik Black Belly, attestée par une moindre excrétion d'œufs lors de cette primo-infestation, soit la résultante d'un nombre plus réduit de vers présents au moment où la période prépatente s'achève, d'un retard de développement et d'une plus petite taille des vers femelles ce qui induit une moindre prolificité *per capita* (Terefe et al., 2007).

par dL de sang (Figure 27, Figure 28, Figure 30), sont plus élevés chez les Lacaune avant l'infestation, mais ces paramètres diminuent plus nettement chez les Lacaune que chez les Black Belly au cours de celle ci. Ceci dénote une meilleure résistance des Black Belly face à l'infestation contre *H. contortus*.

En ce qui concerne la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) (Figure 31) est plus élevée chez les Black Belly que chez les Lacaune avant et après infestation. Elle reste stable au cours de l'expérimentation chez les Black Belly attestant une remarquable capacité à produire des hématies normochromes tout au long du premier mois d'infestation, tandis que la CCMH chute vers J_{21} chez les Lacaune. Ceci traduit une concentration insuffisante en hémoglobine des hématies, probablement en raison d'une anémie ferriprive. Les Black Belly semblent plus résilientes à *H. contortus* que les Lacaune

Enfin, le taux de réticulocytes est stable chez les deux races jusqu'à J_{21} , mais il augmente assez fortement chez les Lacaune (Figure 29). Cette hausse est expliquée par la valeur à J_{30} d'un seul individu de race Lacaune, nous pouvons donc nous poser la question de savoir si le résultat que nous obtenons est représentatif de ce qui se passe pour le reste des individus de cette race. Pour répondre à cette interrogation, il serait intéressant de réaliser un suivi cinétique après J_{30} des réticulocytes. En effet, si l'anémie est plus marquée chez les Lacaune, il paraîtrait normal que la moelle osseuse soit davantage stimulée pour compenser les pertes.

Une réponse éosinophilique plus marquée, associée à des lésions inflammatoires plus importantes ?

La mesure de l'éosinophilie sanguine a montré une hausse plus intense et plus précoce (dès J_4) chez les Black Belly que chez les Lacaune (Figure 23). Ce caractère avait déjà été retrouvé dans les études antérieures sur Black Belly (Terefe et al., 2007b ; 2009) mais également dans d'autres races résistantes européenne (Gonzalez et al., 2008) ou tropicale (Shakya et al., 2009).

L'hyperéosinophilie sanguine est suivie par une infiltration éosinophilique de la paroi abomasale plus précoce et plus intense chez les Black Belly, huit jours après l'infestation, dans la région du fundus, là où les larves 3 s'implantent avant de muer en larves 4 (Figure 24). Ce résultat est particulièrement intéressant car il n'avait jamais été retrouvé dans les études antérieures (Terefe et al., 2007b ; 2009) ni dans d'autres modèles d'étude de la résistance, dans lesquels les animaux sont abattus bien plus tard (Amarante et al., 2005). Dans la région pylorique (Figure 26), le recrutement des éosinophiles apparaît de façon retardée car les larves se développent dans un premier temps dans le fundus, région riche en glandes dans lesquelles s'effectuent les mues L_3 - L_4 , tandis que les vers immatures migrent progressivement sur toute la surface de l'organe à partir de J_8 . Le comptage des éosinophiles dans la muqueuse montre également des valeurs légèrement plus élevées dans le pylore que dans les autres régions de la caillette (fundus et région intermédiaire). Terefe et al. (2009) ont trouvé des résultats similaires à J_{15} .

Le dosage du pepsinogène sanguin montre des élévations importantes dans les deux races et ce, dès J_4 pour les Black Belly avec un pic de J_8 à J_{15} (Figure 32) soit au moment où l'essentiel des vers a mué du stade 4 au stade immature et quitté les glandes de la caillette. Cette mesure est un reflet de l'intensité des lésions occasionnées par la présence de nématodes dans la région fundique de la

caillette des ruminants (Dorny et Vercruyse, 1998), on peut donc faire l'hypothèse que ces lésions inflammatoires sont plus prononcées chez les Black Belly que chez les Lacaune à une même date (J₈ ou J₁₅). Cette observation va dans le même sens que le comptage des éosinophiles dans la muqueuse : tout se passe comme si l'environnement de la caillette des Black Belly était plus hostile au parasite que celui des Lacaune. On peut envisager également que l'intensité supérieure des lésions de la muqueuse chez les Black Belly soit la conséquence d'un recrutement plus précoce et plus intense en éosinophiles, ces derniers libérant alors plus de médiateurs inflammatoires (radicaux libres et leucotriènes) toxiques pour les cellules de la muqueuse abomasale (Jacobsen et *al.*, 2007).

Une production plus importante de galectine 15 chez les Black Belly

Dans une expérimentation précédente, l'expression du gène de la galectine 15 dans la muqueuse abomasale avait été comparée entre individus de race résistante (Black Belly) et individus de race sensible (Romane), huit jours après une primo-infestation, à l'aide d'une technique de microarray (Puce d'expression 16K d'Agilent, spécifique de l'espèce ovine) et de RT-PCR (Liénard et *al.*, 2011). Cette comparaison avait montré une expression plus importante de ce gène chez des Black Belly infestés que chez des Romane infestés. Aucune expression de ce gène n'avait été mise en évidence chez les animaux non infestés (Black Belly et Romane). Auparavant, la protéine n'avait été détectée que dans le mucus de moutons Merinos infestés expérimentalement par l'inoculation intra-abomasale de 10⁶ larves infestantes (Dunphy et *al.*, 2000). Dans notre étude, nous avons retrouvé une expression du gène de la galectine 15 à la fois plus précoce et plus soutenue dans le temps chez les Black Belly que chez les Lacaune en PCR quantitative (Figure 33). Cette étude confirme que la production de cette protéine est induite par l'infestation par le nématode car l'expression du gène, comme les Western Blots à J₀ (Figure 34), ne montrent aucun signal chez les animaux témoins. L'induction est progressive, la présence de la protéine est bien établie à J₈ et à J₁₅ mais semble diminuer de J₂₁ à J₃₀ (western blots). A J₈, un agneau Black Belly sur quatre et un agneau Lacaune sur deux ne présentent aucune bande spécifique pour la galectine 15 (Figure 35), soulignant ainsi l'existence de variations individuelles. A J₁₅, tous les agneaux (MBB comme Lacaune) présentent des bandes spécifiques de Gal-15 en western blot. L'intensité des bandes en western blot est plus importante chez les MBB que chez les Lacaune à J₈ et à J₁₅ suggérant que la protéine pourrait être produite en plus grande quantité chez les animaux de race résistante, résultat qui serait en accord avec les données d'expression du gène. On sait, grâce aux données du modèle Mérinos que la galectine 15 est sécrétée en grandes quantités dans le mucus des animaux infestés (Dunphy et *al.*, 2000), c'est pourquoi, il est vraisemblable que les bandes à 15 et 45 kDa que l'on observe au bleu de Coomassie soient constituées de Gal-15. La bande à 45 kDa pourrait être un polymère (trimère) de galectine 15 sachant que les conditions de l'électrophorèse étaient non dénaturantes.

C'est la première fois que l'on démontre la présence de la protéine Galectine -15 dans le mucus d'animaux de notre modèle (MBB / Lacaune) lors d'une primo-infestation.

Harrison et al. (2009) ont montré que le mucus de moutons immunisés contre les strongles gastro-intestinaux contient des facteurs affectant la mobilité des larves qui pourraient participer à leur expulsion mais ces facteurs n'avaient jamais été clairement identifiés. Selon Young et Meeusen (2004), il pourrait s'agir de lectines (comme la galectine-15) qui se fixeraient sur les résidus galactose de l'épicuticule des larves de nématodes (Sato et *al.*, 2009), les entourant d'un véritable ciment avant leur expulsion.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons réalisé des tests d'inhibition de la migration larvaire (LMI) : celle-ci devrait augmenter en présence de grandes quantités de galectine 15 dans le mucus. D'après les Western Blot, la protéine n'est présente qu'à partir de J₈, et commence à disparaître à partir de J₁₅ - J₂₁. Les résultats attendus étaient donc : i) une LMI nulle à J₀, maximale à J₈, puis une diminution progressive à partir de J₁₅ jusqu'à des valeurs très faibles à J₃₀ ; ii) une LMI plus marquée chez les Black Belly que chez les Lacaune. Les résultats obtenus révèlent une LMI élevée dès J₀, chez les Black Belly comme chez les Lacaune (Figure 36) ; qui reste relativement constante entre les différentes dates d'abattage sans lien évident avec la richesse du mucus en Galectine 15 évaluée en western blot. Plusieurs possibilités peuvent expliquer ces résultats. D'une part, le dispositif expérimental était peu précis, avec une répétabilité assez limitée (par exemple, pour l'animal 93071, la LMI mesurée est de 10% lors de la première mesure et de 31% lors de la deuxième mesure). Toutefois, c'est actuellement le seul moyen de quantifier la mobilité des larves. D'autre part, il est possible que les conditions (température, perte des gaines des larves...) choisies dans le protocole ne soient pas optimales pour la galectine 15. Enfin, il se peut que l'action de la galectine 15 ne soit pas celle attendue : son mode d'action n'est peut être pas d'inhiber la migration larvaire en dépit de sa fixation sur les larves mais plutôt de faciliter la reconnaissance de celles-ci par le système immunitaire.

Conclusion

Nos travaux ont contribué à la caractérisation de la réponse immunitaire précoce lors d'infestation expérimentale d'agneaux par *H. contortus* dans deux races ovines, Martinik Black Belly et Lacaune.

La cinétique comparée des paramètres hématologiques entre ces deux races a pu être établie, ainsi que l'évolution comparée des populations parasitaires. La plus grande résistance des Black Belly semble être la résultante d'une plus grande capacité à limiter le nombre de parasites présents (notamment en phase patente), leur développement et la fécondité des femelles. Notre travail a permis également de mettre en évidence, pour la première fois, la présence de la protéine Gal-15 dans le mucus abomasal de moutons Martinik Black Belly et Lacaune primo-infestés par *Haemonchus contortus*. Il conviendrait d'extraire les protéines à 15 et 45 kDa des gels de polyacrylamide afin de séquencer leurs parties N-terminales et s'assurer ainsi définitivement de leur identité comme Galectine-15. De plus, il serait intéressant de réaliser les électrophorèses en conditions dénaturantes afin de vérifier si les polymères de 45 kDa sont bien tous réduits à 15 kDa. C'est aussi la première fois que l'expression du gène *ov-gal15* est suivie tout au long d'une primo-infestation par *H. contortus*.

Nous ne sommes pas parvenus à démontrer l'action directe de la galectine 15 sur la mobilité des larves. Il serait intéressant de refaire ces tests, pour confirmer ou infirmer ces résultats.

Il est doncOn sait maintenant que la galectine 15 n'est pas exprimée chez les animaux non infestés et qu'elle est bien présente dans le mucus abomasal des animaux lors d'une infestation expérimentale par *H. contortus*. Nous savons aussi que cette galectine est en quantité plus importante chez les animaux résistants au parasite. Il conviendrait maintenant de définir exactement son mode d'action.

Bibliographie

AMARANTE A.F., CRAIG T.M., RAMSEY W.S., EL-SAYED N. M., DESOUKI A. Y., BAZER F. W. (1999), Comparison of naturally acquired parasite burdens among Florida Native, Rambouillet and crossbreed ewes. *Veterinary Parasitology*, 85 : 61-69

AMARANTE A.F.T., BRICARELLO P.A., HUNTLEY J.F., MAZZOLIN L.P., GOMES J.C. (2005). Relationship of abomasal histology and parasite-specific immunoglobulin-A with the resistance to *Haemonchus contortus* infection in three breeds of sheep. *Veterinary Parasitology*, 128: 99-107.

ANDRONICOS N., HUNT P., WINDON R. (2010), Expression of genes in gastrointestinal and lymphatic tissues during parasite infection in sheep genetically resistant or susceptible to *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus contortus*. *International Journal for Parasitology*, 40 : 417-429.

ANGULO-CUBILLAN F. J., GARCIA-COIRADAS L., ALUNDA J. M., CUQUERELLA M., DE LA FUENTE C. (2010), Biological characterization and pathogenicity of three *Haemonchus contortus* isolates in primary infections in lambs. *Veterinary Parasitology*, 171 : 99-105.

ANTHONY R.M., RUTITZKY L.I., URBAN J.F., STADECKER M.J., GAUSE W.C. (2007). Protective immune mechanisms in helminth infection. *Nature Review Immunology*, 7(12) : 975-987.

ARTIS D. (2006). New weapons in the war on worms: identification of putative mechanisms of immune-mediated expulsion of gastro-intestinal nematodes. *International Journal for Parasitology*, 36(6): 723-733.

ASHMAN K., MATHER J., WILTSHIRE C., JACOBS H. J., MEEUSEN E. (1995), Isolation of a larval surface glycoprotein from *Haemonchus contortus* and its possible role in evading host immunity. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 70 : 175-179.

AUMONT G., GRUNER L., HOSTACHE G. (2003), Comparison of the resistance to sympatric and allopatric isolates of *Haemonchus contortus* of Black Belly sheep in Guadeloupe (FWI) and of INRA 401 sheep in France. *Veterinary Parasitology*, 116 : 139-150.

AUMONT G., POUILLOT R., SIMON R., HOSTACHE G., VARO H., BARRE N. (1997), Parasitisme digestif des petits ruminants Antilles Françaises *INRA Productions Animales*, 10 (1) : 79-89

AUTEF P. (2006). L'haemonchose ovine. *Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires (SNGTV)*. Fiche n° 108.

BALIC A., CUNNINGHAM C.P., MEEUSEN E.N.T. (2006). Eosinophil interactions with *Haemonchus contortus* larvae in the ovine gastrointestinal tract. *Parasite Immunology*, 28: 107-115.

BARTLEY D.J., JACKSON E., JOHNSTON K., COOP R.L., MITCHELL G., SALES J., JACKSON F. (2003), A survey of anthelmintic resistant nematode parasites in Scottish sheep flocks. *Veterinary Parasitology*, 117 : 61-71.

BASSET, C., HOLTON, J., O'MAHONY, R., ROITT, I. (2003). Innate immunity and pathogenhost interaction. *Vaccine 21 Suppl 2*, S12-23.

BEHM, C.A. et OVINGTON, K.S. (2000). The role of eosinophils in parasitic helminth infections: insights from genetically modified mice. *Parasitology Today* 16, 202-209.

BENE, M.C., FAURE, G.C. (2000). Immunité innée et cognitive aux interfaces muqueuses. *Revue française des laboratoires* 327, 49-55.

BENGUESMIA M., (2010). Cinétiques des populations de parasites et des réponses de l'hôte au cours d'une primo-infestation par *Haemonchus contortus* : comparaison des races Lacaune et Martinik Black Belly. *Rapport de stage Master 2nd année Mention Sciences pour l'environnement – Spécialité biodiversité des interactions microbiennes et parasitaires*.

BISSET S. A., MORRIS C. A. (1996). Feasibility and Implications of Breeding Sheep for Resilience to nematode challenge. *International Journal for Parasitology*, 26 : 857-868.

BISHOP S.C. et MORRIS C.A. (2007). Genetics of disease resistance in sheep and goats. *Small ruminant research*, 48-59.

BLOUIN M. S., Molecular prospecting for cryptic species of nematodes : mitochondrial DNA versus internal transcribed spacer (2002). *International Journal for Parasitology*, 32 : 527-531.

BORGSTEED F. H. M., ROOS M. H., SMITH G., PRICHARD R. K., Workshop summary : Anthelmintic resistance (1996). *Veterinary Parasitology*, 64 : 129-132

BOUIX J., KRUPINSKI J., RZEPECKI R. et al. Genetic resistance to gastrointestinal nematode parasites in polish long-wool sheep (1998). *International Journal for Parasitology*, 28 : 1797-1804

BOWMAN D.D. (1999). Georgis' Parasitology for Veterinarians. 7^e edition. Philadelphia: W. B. Saunders company. 414 p.

BOYLE J. P., YOSHINO T. P. Gene manipulation in parasitic helminths (2003). *International Journal for Parasitology*, 33 : 1259-1268.

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

BRUNET S. (2008). Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestif des ruminants. *Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse* BUSSIERAS J. et CHERMETTE R. (1991). Abrégé de Parasitologie vétérinaire – Helminthologie – Fascicule IV Informations techniques de services vétérinaires. *Service de parasitologie de l'ENV de Maisons-Alfort*.

BUSSIERAS J. et CHERMETTE R. (1995). Helminthologie vétérinaire (Fasc. III). 2nd ed. *Service de parasitologie de l'ENV de Maisons-Alfort*, 299 p.

CABARET, J. (2004). Parasitisme helminthique en élevage biologique ovin : *réalités et moyens de contrôle*. INRA Productions Animales 17.

CABARET J., BAUDET H.M., DEVOS J., HUBERT J., CORTET J., SAUVE C., (1995), Studies on multispecific resistance of gastrointestinal nematodes to benzimidazoles on dairy-goat farms, *Veterinary Parasitology*, 60:331-337.

CABARET J., GASNIER N., JACQUIET P.(1998), Faecal egg counts are representative of digestive-tract strongyle worm burdens in sheep and goats, *Parasite*, 5:137-142.

CABARET J., MAGE C., BOUILHOL M. (2002). Helminth intensity and diversity in organic meat sheep farms in centre of France. *Veterinary Parasitology*, 105 (1): 33-47

CHARTIER C., ITARD J., MOREL P.C., TRONCY P.M. (2000). Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. *Ed. Tec & Doc*, Paris, 774p.

CHARTIER C., PORS I. (1994), Efficacy of four broad spectrum anthelmintics against gastrointestinal nematodes in goats. *Veterinary Records* 134:523-524.

CHARTIER C., PORS I., HUBERT J., ROCHETEAU D., BENOIT C., BERNARD N. (1998), Prevalence of anthelmintic resistant nematodes in sheep and goats in western France. *Small Ruminant Research*, 29:33-41.

CHARTIER C., SOUBIRAC F., PORS I., SILVESTRE A., HUBERT J., COUQUET C., CABARET J., (2001) Prevalence of anthelmintic resistance in gastro-intestinal nematodes of dairy goats under extensive management conditions in southwestern France, *Journal of Helminthology*, 75:325-330.

CHARTIER C., PORS I., REHBY L., KERBOEUF D., (2007), Anthelmintic resistance survey in French dairy goat nematodes in four main breeding areas. *Proceedings of the 21st International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology*, 19-23 August, 2007, Gent, Belgium, p. 213.

COOP R.L. et HOLMES P.H. (1996). Nutrition and parasite interaction. *International Journal for Parasitology*, 26(8-9): 951-962.

COOPER D. N. W., Galectinomics : finding themes in complexity (2002). *Biochimica et Biophysica acta*, 1572 : 209-231.

CRAIG N.M., MILLER H.R.P., SMITH W.D., KNIGHT P.A. (2007). Cytokine expression in naïve and previously infected lambs after challenge with *Teladorsagia circumcincta*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 120(1-2): 47-54.

DELTOUR A., P. (2000). Etude du parasitisme digestif des bovins et du porc dans le Guangxi, Chine : *Enquête coproscopique réalisée en 1998*. Thèse de Doctorat Vétérinaire. ENVA.

DE VEER M.J., KEMP J.M., MEEUSEN E.N.T. (2007). The innate host defence against nematode parasites. *Parasite Immunology*, 29: 1-9.

DOENHOFF M.J. (2000). The immune system. *In*: AXFORD R.F.E., BISHOP S.C., NICHOLAS F.N., OWEN J.B. Breeding for disease resistance in farm animals, 2nd Edition Wallingford, UK: CAB international, 47-65

DOKNY P. et VERCRUYSSSE J. (1998). Evaluation of a micro method for the routine pepsinogen in cattle. *Research in Veterinary Science*, 65, 259-262

DOMINIK S. (2004). Quantitative trait loci for internal nematode resistance in sheep : a review. *Genetics Selection Evolution*, 37 (suppl.1) S83-S96.

DOUCH P.G., MORUM P.E., RABEL B., Secretion of anti-parasite substances and leukotrienes from ovine gastrointestinal tissues and isolated mucosal mast cells (1996). *International Journal for Parasitology*, 26 : 205-211.

DOUCH P.G.C., GREEN R.S., MORRIS C.A., McEWAN J.C., WINDON R.G., Phenotypic Markers for Selection of Nematode-resistant sheep (1996). *International Journal for Parasitology*, 26 : 899-911.

DUNPHY J.L., BALIC A., BARCHAM G.J., HORVATH A.J., NASH A.D., MEEUSEN E.N.T. (2000). Isolation and characterization of a novel inducible Mammalian Galectin. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(41): 32106-32113.

DURETTE-DESSET, M.C.et CHABAUD, A.G.(1993). Nomenclature of Strongylidae above the family group. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* 68, 111-112.

EADY S.J., WOOLASTON R.R., BARGER I.A., (2003). Comparison of genetic and nongenetic strategies for control of gastrointestinal nematodes of sheep. *Livestock Production Science*, 81 : 11-23.

ELSE K.J., FINKELMAN F.D, (1998). Intestinal nematode parasites, cytokines and effector mechanisms. *International Journal for Parasitology*, 28 : 1145-1158.

FABRE V. BEITING D.P., BLISS S.K., GEBRESELASSIE N.G., GAGLIARDO L.F., LEE N.A., LEE J.J. APPLETON J.A. (2009). Eosinophil deficiency compromises parasite survival in chronic nematode infection. *Journal of Immunology*, 182: 1577-1583.

FINKELMAN, F.D., SHEA-DONOHUE, T., GOLDHILL, J., SULLIVAN, C.A., MORRIS, S.C., MADDEN, K.B., GAUSE, W.C., URBAN, J.F., JR. (1997). Cytokine regulation of host defense against parasitic gastrointestinal nematodes: *lessons from studies with rodent models*. *Annual Review of Immunology*, 15: 505-533.

GASSER R. G., (2001). Molecular taxonomic, diagnostic and genetic studies of parasitic helminths. *International Journal for Parasitology*, 31: 860-864.

GATONGI P.M., PRICHARD R.K., RANJAN S., (1998). Hypobiosis of *Haemonchus contortus* in natural infections of sheep and goats in a semi-arid area of Kenya. *International Journal for Parasitology*, 77 : 49-61.

GAUSE W.C., URBAN J.F., STADECKER M.J., (2003). The immune response to parasitic helminths : insights from murine models. *Trends in Immunology*, 24 : 269-276.

GILLEARD J.S., (2006). Understanding anthelmintic resistance : The need for genomics and genetics. *International Journal for Parasitology*, 36 : 1227-1239.

GOLDSBY, R.A., KINDT, T.J., OSBORNE, B.A. (2003). Immunologie - Le cours de Janis Kuby. *Dunod, Paris*, 660 p.

GONZALEZ J.F., HERNANDEZ A., MOLINA J.M., FERNANDEZ A., RAADSMA H.W., MEEUSEN E.N.T., PIEDRAFITA D. (2008). Comparative experimental *Haemonchus contortus* infection of two sheep breeds native to the Canary Islands. *Veterinary Parasitology*, 153(3-4): 374- 378.

GRAY G.D., (1997). The use of genetically resistant sheep to control nematode parasitism *Veterinary Parasitology* 72 : 345-366.

GRUNER, L., AUMONT, G., GETACHEW, T., BRUNEL, J.C., PERY, C., COGNIE, Y., GUERIN, Y. (2003). Experimental infection of Black Belly and INRA 401 straight and crossbred sheep with trichostrongyle nematode parasites. *Veterinary Parasitology* 116, 239-249.

HARRISON G.B., PULFORD H.D., GATEHOUSE T.K., SHAW R.J., PFEFFER A., SHOEMAKER C.B. (1999). Studies on the role of mucus and mucosal hypersensitivity reactions during rejection of *Trichostrongylus colubriformis* from the intestine of immune sheep using an experimental challenge model. *International Journal for Parasitology*, 29: 459-468.

HECKENDORN, F. (2007). The control of gastrointestinal sheep nematodes with tanniferous forage plants. *Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, Suisse*.

HOHENHAUS M.A., OUTERIDGE P.M., (1995). The immunogenetics of resistance to *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus contortus* parasites in sheep. *British Veterinary Journal*, 151,119.

HOSTE H. et CHARTIER C. (1997). Perspectives de lutte contre les strongyloses gastro-intestinales des ruminants domestiques. *Le Point Vétérinaire, Numéro spécial parasitologie des ruminants*, 28 : 1963-1969 (p.181-187)

HOSTE, H., HUBY, F. ET MALLET, S. (1997). Strongyloses gastro-intestinales des ruminants : conséquences physiopathologiques et mécanismes pathogéniques. *Le Point Vétérinaire, Numéro spécial parasitologie des ruminants*, 28, 53-59.

HOSTE, H., PAOLINI, V., PARAUD, C. ET CHARTIER, C. (2004). Gestion non-chimique du parasitisme par les nématodes chez les petits ruminants. *Bulletin G.T.V. (Hors série Parasitologie des ruminants laitiers)*, 131-135.

JACQUIET P., BARILLET F., BOUIX J., FRANCOIS D., MORENO C. et TEREFE G. (2009). La résistance génétique des ovins aux strongles gastro-intestinaux. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire, France, Tome 162 - N°1*.

JACOBS H.J., WILTSHIRE C., ASHMAN K., MEEUSEN E.N., (1999). Vaccination against the gastrointestinal nematode, *Haemonchus contortus*, using a purified larval surface antigen. *Vaccine*, 17 : 362-368.

JACOBSEN E.A., TARANOVA A .G., LEE N.A., Lee J.J. (2007). Eosinophils: singularly destructive effector cells or purveyors of immunoregulation ? *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 119(6): 1313-1320.

JANEWAY, C.A., JR. (2001). How the immune system works to protect the host from infection: a personal view. *Proceedings of the National Academy of Sciences of U S A*, 98: 7461-7468.

KELSALL B.L. (2008). Innate and adaptive mechanisms to control of pathological intestinal inflammation. *Journal of Pathology*, 214: 242-259.

KEMP J.M. , ROBINSON N.A., MEEUSEN E.M.T., PIEDRAFITA D.M., (2009). The relationship between the rapid rejection of *Haemonchus contortus* larvae with cells and mediators in abomasal tissues in immune sheep. *International Journal for Parasitology*, 39: 1589-1594.

KERBOEUF D., BEAUMONT-SCHWARTZ C., HUBERT J., MAILLON M., (1988) Résistance des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques chez les petits ruminants. Résultats d'une enquête dans le Val de Loire. *Recherche. Médecine Vétérinaire*, 164(12) : 1001-1006.

KILPATRICK D.C., (2002). Animal lectins : a historical introduction and overview. *Byophysica et Biochimica acta*, 1572 : 187-197.

KNOX D.P., REDMOND D.L., NEWLANDS G.F., (2003). The nature and prospects for gut membrane proteins as vaccine candidates for *Haemonchus contortus* and other ruminant trichostrongyloids. *International Journal for Parasitology*, 33 : 1129-1137.

KOHLER P., (2001). The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *International Journal for Parasitology*, 31 : 336-345.

KOURILSKY P., TRUFFA-BACHI P., (2001). Cytokine fields and the polarization of the immune response. *Trends in Immunology*, 22 : 502-509.

LACROUX C. (2006a). Régulation des populations de Nématodes gastro-intestinaux (*Haemonchus contortus* et *Trichostrongylus colubriformis*) dans deux races ovines, INRA 401 et Barbados Black Belly. *Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse*.

LACROUX C., NGUYEN T.H., ANDREOLETTI O., PREVOT F., GRISEZ C., BERGEAUD J.P., GRUNER L., BRUNEL J.C., FRANCOIS D., DORCHIES P., JACQUIET P. (2006b). *Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongylidae) infection in lambs elicits an unequivocal Th2 immune response. *Veterinary Research*, 37(4): 607-622.

LARSEN M., (1999). Biological control of helminths. *International Journal for Parasitology*, 29 : 139-146.

LAWTON D.E.B., REYNOLDS G.W., HODGKINSON S.M., (1996). Infection of sheep with adult and larval *Ostertagia circumcincta* : Effects on abomasal pH and serum gastrin and pepsinogen. *International Journal for Parasitology*, 26 : 1063-1074.

LIENARD E., FOUCRAS G., PREVOST F., GRISEZ C., BERGEAUD J.P., FRANCOIS D., BOUVIER F., JACQUIET P., (2011), Comparison of gene expression profiling between resistant and susceptible sheep breeds to *Haemonchus contortus*, *Proceedings of the 23rd World Association for the Advancement for the Veterinary Parasitology*, 21-25 August 2011, Buenos Aires, Argentina.

LOUVANDINI H., VELOSO C.F., PALUDO G.R., DELL'PORTO A., GENNARI S.M., McMANUS C.M. (2006). Influence of protein supplementation in the resistance and resilience on young hair sheep naturally infected with gastrointestinal nematodes during rainy and dry season. *Veterinary Parasitology*, 137(1-2): 103-11

MAGE C. (1991). L'haemonchose ovine: *actualités épidémiologique, thérapeutique et préventive*. *Bulletin des GTV*, 98 (3): 75-89.

MAHIEU, M., AUMONT, G., ALEXANDRE, G., (1997). Elevage intensif des ovins tropicaux à la Martinique. *INRA. Productions Animales* 10, 21-32.

MEEUSEN E.N.T., BALIC A., BOWLES V., (2005). Cells, cytokines and other molecules associated with rejection of gastrointestinal nematode parasites. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 108 : 121-125

MILLER H.R.P., (1996). Prospects for the Immunological Control of ruminant gastrointestinal nematodes : natural immunity can it be harnessed ? *International Journal for Parasitology*, 26 : 801-811.

MEEUSEN, E.N.T.AND BALIC, A. (2000). Do eosinophils have a role in the killing of helminth parasites ?. *Parasitology Today* 16, 95-101.

NAVES, M., ALEXANDRE, G., LEIMBACHER, F., MANDONNET, N., MENENDEZBUXADERA, A., (2001). Les ruminants domestiques de la Caraïbe : le point sur les ressources génétiques et leur exploitation. *INRA. Productions Animales* 14, 181-192.

NIEZEN J.H., CHARLESTON W.A.G., HODGSON J., (1996). Controlling Internal Parasites in Grazing ruminants without recourse to anthelmintics : approaches, experiences, prospects. *International Journal for Parasitology*, 26 : 983-992.

PAOLINI, V. (2004). Effets des tanins condensés sur le parasitisme par les nématodes gastrointestinaux chez la chèvre. *Thèse de l'Université de Perpignan*, Perpignan.

PARAUD C., PORS I, REHBY L., CHARTIER C., (2010), Absence of ivermectin resistance in a survey on dairy goat nematodes in France, *Parasitology Research*, 106(6):1475-9.

PARAUD C., KULO A., PORS I., CHARTIER C., (2009), Resistance of goat nematodes to multiple anthelmintics on a farm in France, *Veterinary Records*, 164:563-564.

PEMBERTON A.D., KNIGHT P.A., GAMBLE J., COLLEDGE W.A., LEE J., PIERCE M., MILLER H.R.P., (2004). Innate BALB/c enteric epithelial responses to *Trichinella spiralis* : inducible expression of a novel goblet cell lectin, intelectin-2, and its natural deletion in C57BL/10 mice. *Journal of Immunology*, 173 : 1894-1901.

PENICAUD J. (2007). Comparaison de la réponse anticorps systémique des ovins Barbados Black Belly et INRA 401 lors d'infestations expérimentales par *Haemonchus contortus* (Nematoda : Trichostrongylidae). *Thèse de Doctorat Vétérinaire. ENVT*.

PERNTHANER A., COLE S.A., MORRISON L., HEIN W.R. (2005). Increased expression of Il-5, Il-13 and tumor necrosis factor alpha genes in intestinal lymph cells of sheep selected for enhanced resistance to nematodes during infection with *Trichostrongylus colubriformis*. *Infection and Immunity*, 73: 2175-2183.

POITRAS E., HOUDE A. (2002). La PCR en temps réel : principes et applications. *Reviews in Biology and Biotechnology*, 2 : 2-11.

RABEL B., MCGREGOR R., DOUCH P. G. C. (1993). Improved bioassay for estimation of inhibitory effects of ovine gastrointestinal mucus and anthelmintics on nematode larval migration. *International Journal for Parasitology*, 24 : 671-676.

RAYNAUD J.P. (1970). Etude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le contrôle des infestations parasitaires des bovins, équins et porcins. *Annales de Parasitologie (Paris)* 45, n°3, pp 321-342.

ROMJALI E., PANDEY V.S., BATUBARA A., GATENBY R.M., VERHULST A., (1996). Comparison of resistance of four genotypes of rams to experimental infection with *Haemonchus contortus*, *Veterinary Parasitology* 65 : 127-137.

ROTHENBERG M.E., HOGAN S.P. (2006). The eosinophil. *Annual Review of Immunology*, 24: 147-174.

ROWE A., GONDRO C., EMERY D., SANGSTER N., (2008). Genomic analyses of *Haemonchus contortus* infection in sheep : Abomasal fistulation and two *Haemonchus* strains do not substantially confound host gene expression in microarrays. *Veterinary Parasitology*. 154, Issues 1-2, 71-81.

ROWE A., GONDRO C., EMERY D., SANGSTER N., (2009). Sequential microarray to identify timing of molecular responses to *Haemonchus contortus* infection in sheep. *Veterinary Parasitology*, 161 : 76-87.

ROWE A., MCMASTER K., EMERY D., SANGSTER N., (2008). *Haemonchus contortus* infection in sheep : Parasite fecundity correlates with worm size and host lymphocyte counts. *Veterinary Parasitology*, 153 : 285-293.

SANSONETTI, P.J. (2004). War and peace at mucosal surfaces. *Nature Reviews of Immunology*, 4: 953-964.

SATO S., SAINT-PIERRE C., BHAUMIK P., NIEMINEN J. (2009). Galectins in innate immunity: dual functions of host soluble α -galactoside-binding lectins as damage-associated

molecular patterns (DAMPs) and as receptors for pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). Immunological Reviews, 230: 172-187.

SHAKYA K.P., MILLER J.E., HOROHOV D.W. (2009). A Th2 type of immune response is associated with increased resistance to *Haemonchus contortus* in naturally infected Gulf Coast Native lambs. *Veterinary Parasitology, 163(1-2): 57-66.*

SCHALLIG H.D.F.H., VAN LEEUWEN M.A.W., HENDRIKX W.M.L., (1995). Isotype-specific antibody responses of sheep to *Haemonchus contortus* antigens. *Veterinary Parasitology, 56 : 149-162.*

SCOTT I., DICK A., IRVINE J., STEAR M.J., MCKELLAR Q.A., (1999). The distribution of pepsinogen within the abomasa of cattle and sheep infected with *Ostertagia* spp. and sheep infected with *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology, 82 : 145-159.*

SIMPSON H.V., LAWTON D.E.B., SIMCOCK D.C., REYNOLDS G.W., POMROY W.E., (1997). Effects of adult and larval *Haemonchus contortus* on abomasal secretion. *International Journal for Parasitology, 21 : 825-831.*

STEAR M.J., STRAIN S., BISHOP S.C. (1999). Mechanisms underlying resistance to nematode infection. *International Journal for Parasitology, 29: 51-56.*

TEREFE G.M. (2007). Rôle des éosinophiles dans la régulation des populations d'*Haemonchus contortus* chez le mouton. *Thèse d'état. Institut National Polytechnique de Toulouse.*

TEREFE G., GRISEZ C., PREVOT F., BERGEAUD J.P., DORCHIES P., BRUNEL J.C., FRANCOIS D., FOURQUEAUX I., JACQUIET P. (2007a). In vitro pre-exposure of *Haemonchus contortus* L3 to blood eosinophils reduces their establishment potential in sheep. *Veterinary Research, 38(4):647-54.*

TEREFE G., LACROUX C., ANDREOLETTI O., GRISEZ C., PREVOT F., BERGEAUD J.P., PENICAUD J., ROUILLON V., GRUNER L., BRUNEL J.C., FRANCOIS D., BOUIX J., DORCHIES P., JACQUIET P. (2007b). Immune response to *Haemonchus contortus* infection in susceptible (INRA 401) and resistant (Barbados Black Belly) breeds of lambs. *Parasite Immunology, 29(8):415-24.*

TEREFE G., NGUYEN K.C., JACQUIET P., BERGEAUD J.P., GRISEZ C., PREVOT F., BRUNEL J.C., DORCHIES PH. (2007c). Daily sodium cromoglycate treatment decreased mast cell and blood eosinophilic responses in *Haemonchus contortus* resistant Black Belly sheep. *Revue de Médecine Vétérinaire, 2007, 158, 02,82-85.*

TEREFE G., LACROUX C., PREVOT F., GRISEZ C., BERGEAUD J.P., BLEUART C., DORCHIES P., FOUCRAS G., JACQUIET P. (2009). Eosinophils in *Haemonchus contortus* – infected resistant and susceptible breeds of sheep: *Abomasal tissue recruitment and in vitro functional state. Veterinary Parasitology, 165: 161-164.*

TOSI, M.F. (2005). Innate immune responses to infection. *Journal of Allergy and Clinical Immunology, 116: 241-249.*

TRAORE I., PFEIFFER H., PREVOT F., GRISEZ C., BERGEAUD J.P., RUPP R., FOUCRAS G., JACQUIET P., Effect of genetic selection for mastitis resistance in the Lacaune breed of sheep on the response to *Haemonchus contortus* infection, *European Multicolloquium of Parasitology*, Paris, 24-29 August 2008.

URQUHART, G.M., ARMOUR, J., DUNCAN, J.L., DUNN, A.M., JENNINGS, F.W. (1996). *Veterinary Parasitology, 2nd Ed. Blackwell Science* .pp 19-164.

VASTA G.R. (2009). Roles of galectins in infection. *Nature Reviews Microbiology*, 7: 424-438.

VANDESOMPELE J., DE PRETER K., PATTYN F., POPPE B., VAN ROY N., DE PAEPE A., SPELEMAN F. (2002), Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes, *Genome Biology*, 3(7): research 0034.1-0034.11.

WILDBLOOD L.A., KERR K., CLARK D.A.S., CAMERON A., TURNER D.G., JONES D.G., (2005). Production of eosinophil chemottractant activity by ovine gastrointestinal nematodes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 107 : 57–65.

WOOLASTON R., BAKER R., (1996) Prospects of Breeding Small Ruminants for Resistance to Internal Parasites, *International Journal for Parasitology*, Vol. 26. No. 8/9. pp. 845 855.

YOUNG A.R., MEEUSEN E.N.T. (2004). Galectins in parasitic infection and allergic inflammation. *Glycoconjugate Journal*, 19: 601-606.

SITES INTERNET CONSULTES

<http://cochin.inserm.fr/research/technical-services/genome-sequencing-studies/pcr-quantitative/la-theorie-de-la-pcr-quantitative/files/Introduction-a-la-PCR-quantitative.pdf>, consulté le 15/12/10.

Annexes

ANNEXE 1

COMPTAGE DES ŒUFS D'*HAEMONCHUS CONTORTUS* DANS LES MATIÈRES FÉCALES DES OVINS

Protocole :

- Peser 3 g de matières fécales
- Les diluer dans 42 mL de NaCl (d=1,19) ; bien homogénéiser grâce à un agitateur magnétique (solution de NaCl homogénéisée avec agitateur)
- Filtrer le tout dans une passoire à thé
- Remplir deux cellules de Mc Master (0,15 mL / cellules) et compter le nombre d'œufs présents dans le réseau quadrillé.

OPG = Nombre d'œufs dans les deux cellules de la lame de Mc Master x 50

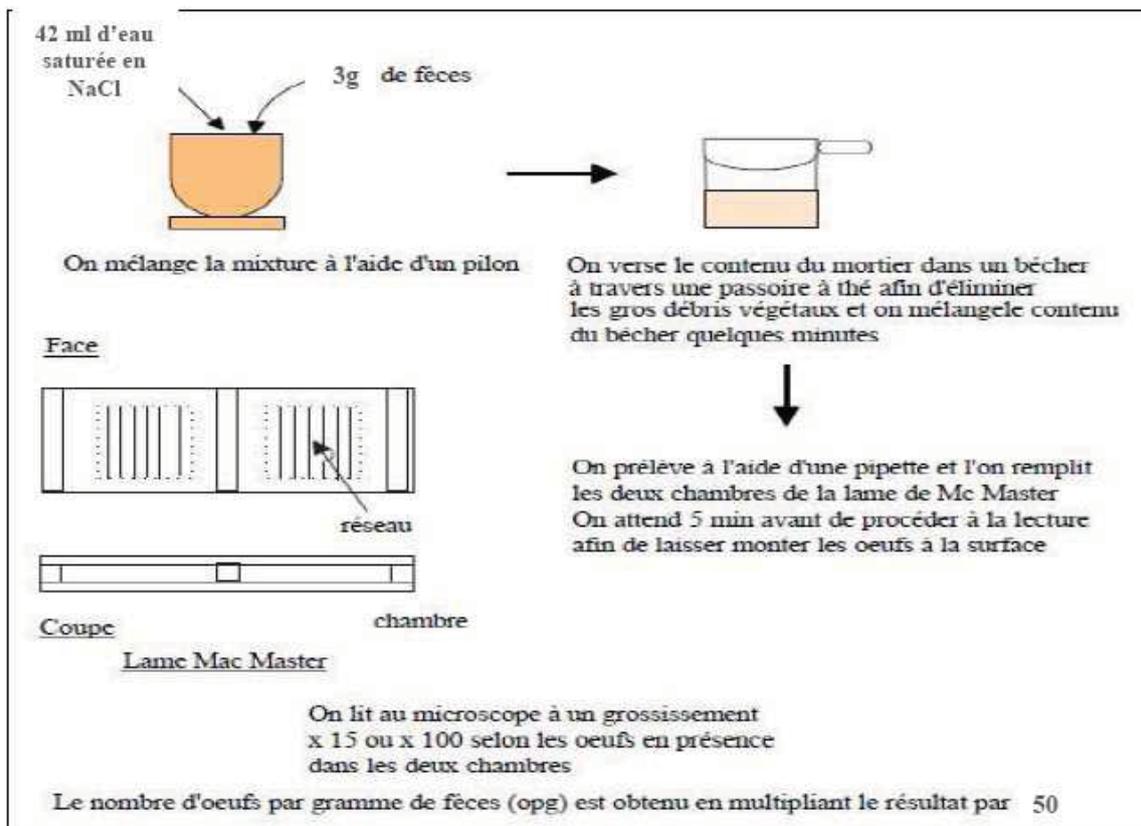


Figure 1 : Méthode de Mac Master modifiée par Raynaud (Deltour, 2000)

Résultats :

Lacaune									
N° animal	J0	J4	J8	J15	J18	J21	J23	J26	J29
93481	0								
94242	0								
91181	0	0							
91381	0	0							
92981	0		0						
93071	0		0						
91071	0			0					
92441	0			0					
91741	0				0	500			
93482	0				0	300			
91611	0				0	0	250	1050	2250
91182	0				350	1750	3850	5350	6750
Moyenne	0.00	0.00	0.00	0.00	87.50	637.50	2050.00	3200.00	4500.00
ET	0.00	0.00	0.00	0.00	175.00	769.60	2545.58	3040.56	2250.00

Black Belly									
N° animal	J0	J4	J8	J15	J18	J21	J23	J26	J29
98060	0								
98021	0								
98111	0	0							
98013	0	0							
98097	0		0						
98017	0		0						
98053	0		0						
98006	0		0						
98075	0			0					
98010	0			0					
98005	0			0					
98102	0				0	0			
98064	0				0	0			
98089	0				0	0	0	150	600
98009	0				0	0	100	250	200
98012	0				0	0	0	0	0
Moyenne	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	33.33	133.33	266.67
ET	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	57.74	125.83	305.51

ANNEXE 2

CHARGE PARASITAIRE & ETUDE QUALITATIVE DES LARVES

Protocole :

- Ligaturer le pylore et isoler la caillette par incision au niveau de l'orifice omaso-abomasal.
 - Récupération du contenu de l'organe :
- Ouvrir la caillette et récupérer son contenu après lavage à l'eau.
- Filtrer le contenu de l'organe dans un tamis de 40µm, ajuster le volume récupéré à 2 L avec de l'éthanol 60° et conserver à 4°C.
 - Digestion de l'organe :
- Préparer la solution de digestion de la paroi de la caillette : mélanger 10 g de pepsine SIGMA à 10 mL d'acide sulfurique (HCl) fumant à 35%, et ajuster le volume à 1 L avec de l'eau distillée.
- Mettre en contact la caillette avec cette solution de digestion pendant 6h à 37°C.
- Filtrer la solution obtenue dans un tamis de 40µm, ajuster à 2 L avec de l'éthanol 60° et conserver à 4°C.
 - Comptage des parasites :
- Compter le nombre de parasites présents dans 200 mL (10%) de chaque solution

Nombre total larves = (nombre larves /200mL de contenu + nombre larves /200mL de digestion) × 10

- Compter le nombre de larves L₄, de vers immatures mâles et femelles, de vers adultes mâles et femelles et mesurer la longueur des femelles.

Résultats :

COMPTAGE DES PARASITES

	Date abattage	Race	N° animal	earlyL4	lateL4	Imm mâle	Imm femelle	Mâle	Femelle	Total	
Contenu	J ₀	L	93481	0	0	0	0	0	0	0	
Digestion				0	0	0	0	0	0	0	0
Total				0	0	0	0	0	0	0	0
Contenu	J ₀	L	94242	0	0	0	0	0	0	0	
Digestion				0	0	0	0	0	0	0	0
Total				0	0	0	0	0	0	0	0
Contenu	J ₀	BBB	98060	0	0	0	0	0	0	0	
Digestion				0	0	0	0	0	0	0	0
Total				0	0	0	0	0	0	0	0
Contenu	J ₀	BBB	98021	0	0	0	0	0	0	0	
Digestion				0	0	0	0	0	0	0	0
Total				0	0	0	0	0	0	0	0

Contenu	J ₄	L	91181	0	200	0	0	0	0	200	
Digestion				0	90	0	0	0	0	0	90
Total				0	290	0	0	0	0	0	290
Contenu	J ₄	L	91381	0	1100	0	0	0	0	1100	
Digestion				0	560	0	0	0	0	0	560
Total				0	1660	0	0	0	0	0	1660
Contenu	J ₄	BBB	98013	0	90	0	0	0	0	90	
Digestion				0	70	0	0	0	0	0	70
Total				0	160	0	0	0	0	0	160
Contenu	J ₄	BBB	98111	0	660	0	0	0	0	660	
Digestion				0	350	0	0	0	0	0	350
Total				0	1010	0	0	0	0	0	1010

Contenu	J ₈	L	93071	20	2360	20	1540	0	0	3940
Digestion				0	70	0	10	0	0	80
Total				90	2450	20	1550	0	0	4020
Contenu	J ₈	L	92981	80	1070	30	820	0	0	2000
Digestion				40	80	0	0	0	0	120
Total				120	1150	0	0	0	0	2120
Contenu	J ₈	BBB	98017	0	980	0	570	0	0	1550
Digestion				10	155	0	20	0	0	185
Total				10	1135	0	590	0	0	1735
Contenu	J ₈	BBB	98006	110	360	0	100	0	0	570
Digestion				50	120	10	0	0	0	180
Total				160	480	10	100	0	0	750
Contenu	J ₈	BBB	98097	80	1460	10	700	0	0	2250
Digestion				50	70	0	0	0	0	120
Total				130	1530	10	700	0	0	2370
Contenu	J ₈	BBB	98053	20	70	0	0	0	0	90
Digestion				10	0	0	0	0	0	10
Total				30	70	0	0	0	0	100

ANNEXE 3

INFILTRATION EOSINOPHILIQUE DE LA PAROI ABOMASALE

Protocole :

Lors de l'autopsie :

- Couper des fragments de la paroi de la caillette, en régions fundique, antrale et pylorique.
- Plonger immédiatement ces fragments dans une solution de formaldéhyde à 10%
- Après fixation complète, déshydrater ces fragments dans des bains successifs d'alcool grâce au cycle automatisé de 18h.
- Les échantillons sont ensuite inclus en paraffine.
- Réaliser des coupes de 3 μm d'épaisseur à partir des blocs à l'aide d'un microtome (Microm, France). Les récupérer sur des lames prétraitées (lames Superfrost Plus, Labonord, France) ;
- Colorer les lames avec le protocole Hémalun-Eosine (Terefe et *al.*, 2009).
- Compter le nombre d'éosinophiles présents sur 5 champs de la lame.

Résultats :

Date	Race	Animal	Total sur 5 champs (Fundus)				Total sur 5 champs (Intermédiaire)				Total sur 5 champs (Pylore)			
			S/muqueuse	Lamina propria	Intra-épithéliale	S/muqueuse	Lamina propria	Intra-épithéliale	S/muqueuse	Lamina propria	Intra-épithéliale	S/muqueuse	Lamina propria	Intra-épithéliale
J ₀	L	93481	04	00	00	00	01	00	00	00	01	00	00	
		94242	00	01	00	00	00	00	00	00	00	00	01	
	Moyenne ± Ecart type	2 ± 2.83	0.5 ± 0.71	0 ± 0	00 ± 00	0.5 ± 0.71	00 ± 00	00 ± 00	0.5 ± 0.71	00 ± 00	0.5 ± 0.71	00 ± 00	0.5 ± 0.71	
	98060	00	00	00	01	03	00	00	00	00	00	00	01	
J ₄	BB	98021	02	01	00	00	00	00	00	00	00	00	00	
		Moyenne ± Ecart type	1 ± 1.41	0.5 ± 0.71	0 ± 0	0.5 ± 0.71	1.5 ± 2.12	00 ± 00	00 ± 00	00 ± 00	00 ± 00	00 ± 00	0.5 ± 0.71	
	91181	00	01	00	00	12	00	00	00	00	01	00	00	
	91381	01	00	02	00	01	00	00	00	17	19	05	05	
J ₈	L	Moyenne ± Ecart type	0.5 ± 0.71	0.5 ± 0.71	0.5 ± 1.41	00 ± 00	6.5 ± 7.78	00 ± 00	8.5 ± 12.02	10 ± 12.73	2.5 ± 3.53	02	02	
		98111	14	20	04	97	82	08	01	02	02	02	02	
	98013	01	03	00	00	00	00	00	02	02	02	01	01	
	Moyenne ± Ecart type	7.5 ± 9.19	11.5 ± 12.02	2 ± 2.83	48.5 ± 68.59	41 ± 57.98	4 ± 5.66	1.5 ± 0.71	2 ± 00	1.5 ± 0.71	2 ± 00	1.5 ± 0.71		
J ₁₅	BB	92981	18	28	01	15	92	16	00	12	06	00	00	
		93071	02	16	05	05	65	08	00	00	00	00	00	
	Moyenne ± Ecart type	10 ± 11.31	22 ± 8.48	3 ± 2.83	10 ± 7.07	78.5 ± 19.09	12 ± 5.66	0 ± 0	6 ± 8.48	3 ± 4.24	6 ± 8.48	3 ± 4.24		
	98097	214	169	04	142	87	13	11	23	18	23	18		
BB	98017	18	97	09	61	122	05	01	10	06	10	06		
	98053	145	90	05	50	121	09	26	41	16	41	16		
	98006	35	32	03	52	51	01	05	12	02	12	02		
	Moyenne ± Ecart type	103 ± 92.98	97 ± 56.15	5.25 ± 2.63	76.25 ± 44.09	95.25 ± 33.69	7 ± 5.16	10.25 ± 10.96	21.5 ± 14.20	10.5 ± 7.42	21.5 ± 14.20	10.5 ± 7.42		
91071	42	34	15	43	39	00	08	18	20	18	20			

L	92441	14	27	13	18	82	04	126	208	143
	Moyenne ± Ecart type	28 ± 19,8	30,5 ± 4,95	14 ± 1,41	30,5 ± 17,68	60,5 ± 30,40	2 ± 2,83	67 ± 83,44	113 ± 134,35	81,5 ± 86,97
BB	98075	48	66	10	26	33	01	126	117	79
	98010	102	86	26	191	117	01	175	103	75
	98005	89	24	15	102	77	01	78	67	20
	Moyenne ± Ecart type	79,66 ± 28,18	58,66 ± 31,64	17 ± 8,18	106,33 ± 82,58	75,66 ± 42,01	1 ± 0	126,33 ± 48,50	95,66 ± 25,79	58 ± 32,97
L	91441	01	20	01	00	01	00	07	09	14
	93482	49	73	06	70	52	09	34	31	15
	Moyenne ± Ecart type	25 ± 33,94	46,5 ± 37,48	3,5 ± 3,53	35 ± 49,5	25,5 ± 36,06	4,5 ± 6,36	20,5 ± 19,1	20 ± 15,56	34,5 ± 0,71
BB	98102	154	85	03	123	73	10	320	46	31
	98064	98	111	03	77	44	04	138	73	32
	Moyenne ± Ecart type	126 ± 39,6	196 ± 18,38	3 ± 0	100 ± 32,53	58,5 ± 20,51	7 ± 4,24	229 ± 128,69	59,5 ± 19,1	41,5 ± 13,43
L	91611	50	36	03	13	01	01	04	06	03
	91182	01	02	00	04	02	00	18	01	01
	Moyenne ± Ecart type	25,5 ± 34,65	19 ± 24,04	1,5 ± 2,12	8,5 ± 6,36	1,5 ± 0,71	0,5 ± 0,71	11 ± 9,9	3,5 ± 3,53	2 ± 1,41
BB	98089	110	58	07	21	16	00	32	47	04
	98009	129	62	03	138	07	01	66	14	08
	98012	81	29	02	31	11	00	96	15	09
	Moyenne ± Ecart type	106,66 ± 24,17	49,66 ± 18,01	4 ± 2,64	63,33 ± 64,86	11,33 ± 4,51	0,33 ± 0,58	64,66 ± 32,02	25,33 ± 18,77	7 ± 2,64

ANNEXE 4

PARAMETRES HEMATOLOGIQUES

Protocole :

Le sang est récupéré sur tube EDTA à la jugulaire. L'analyse est faite par un automate de cytométrie de flux (Appareil SYSMEX Inst. ID. XT-2000iV-1).

Résultats :

Nombre Globules Blancs (*10³/μL)

Lacaune						
n° animal	j0	j4	j8	j15	j21	j29
91 611	10.83	8.64	9.40	7.29	7.77	9.56
91 182	8.85	6.85	10.71	7.55	5.76	6.04
91 741	8.77	8.32	8.89	6.97	6.34	
93 482	13.55	12.60	12.68	11.75	10.97	
91 071	10.11	10.92	9.77	10.06		
92 441	8.84	10.52	8.61	8.82		
92 981	5.75	6.28	6.70			
93 071	5.00	11.92	6.82			
91 181	5.81	5.79				
91 381	6.32	5.36				
93 481	6.74					
94 242	4.80					
MOYENNE	7.95	8.72	9.20	8.74	7.71	7.80
ECART-TYPE	2.68	2.64	1.97	1.87	2.33	2.49

Black Belly						
n° animal	j0	j4	j8	j15	j21	j29
98 089	6.32	6.21	6.87	7.44	6.47	6.02
98 009	9.28	9.73	8.85	7.24	8.28	7.90
98 012	10.39	8.68	10.46	8.89	6.15	6.19
98 064	8.81	8.97	8.61	9.93	8.86	
98 102	10.24	9.89	9.57	12.88	7.60	
98 075	8.58	9.07	8.76	8.54		
98 010	10.89	12.91	11.66	10.60		
98 005	11.16	10.41	11.75	11.26		
98 006	6.76	6.17	6.93			
98 053	9.04	8.98	9.32			
98 097	8.80	8.81	10.26			
98 017	6.24	5.83	6.17			
98 013	7.07	7.02				
98 111	7.85	7.93				
98 060	8.19					
98 021	6.75					
MOYENNE	8.52	8.62	9.10	9.60	7.47	6.70
ECART-TYPE	1.61	1.91	1.80	1.95	1.16	1.04

Nombre d'Eosinophiles circulants (*10³/μL)

Lacaune						
n° animal	j0	j4	j8	j15	j21	j30
91 611	0.05	0.06	0.16	0.51	0.06	0.01
91 182	0.19	0.09	0.19	0.20	0.05	0.06
91 741	0.14	0.07	0.26	0.13	0.09	
93 482	0.80	0.56	0.56	0.22	0.07	
91 071	0.15	0.64	0.58	0.31		
92 441	0.02	0.10	0.23	0.22		
92 981	0.07	0.06	0.09			
93 071	0.02	0.06	0.28			
91 181	0.16	0.08				
91 381	0.07	0.09				
93 481	0.08					
94 242	0.02					
MOYENNE	0.15	0.18	0.29	0.27	0.07	0.04
ECART-TYPE	0.21	0.22	0.18	0.13	0.02	0.04

Black Belly						
n° animal	j0	j4	j8	j15	j21	j30
98 089	0.07	0.16	0.45	0.64	0.49	0.40
98 009	0.41	0.29	0.57	0.46	0.60	0.41
98 012	0.35	0.39	0.59	0.48	0.26	0.19
98 064	0.20	0.23	1.14	1.50	0.52	
98 102	0.12	0.19	0.60	1.17	0.23	
98 075	0.07	0.13	0.33	0.34		
98 010	0.25	0.88	1.43	1.19		
98 005	0.19	0.17	0.74	0.77		
98 006	0.04	0.17	0.22			
98 053	0.11	0.50	0.50			
98 097	0.43	0.44	0.80			
98 017	0.08	0.05	0.28			
98 013	0.11	0.17				
98 111	0.29	0.48				
98 060	0.09					
98 021	0.12					
MOYENNE	0.18	0.30	0.64	0.82	0.42	0.33
ECART-TYPE	0.13	0.22	0.35	0.42	0.17	0.12

Nombre de Lymphocytes circulants (*10³/μL)

Lacaune						
n°animal	j0	j4	j8	j15	j21	j29
91 611	6.56	6.08	6.30	4.38	4.85	4.08
91 182	5.69	4.71	5.96	4.56	3.76	3.61
91 741	5.50	4.79	5.49	4.22	4.10	
93 482	7.25	6.74	7.12	6.73	6.31	
91 071	7.68	7.29	6.54	6.66		
92 441	5.37	6.53	5.32	6.09		
92 981	3.70	3.78	4.06			
93 071	1.49	7.87	3.57			
91 181	4.00	3.41				
91 381	4.52	3.22				
93 481	3.67					
94 242	2.91					
MOYENNE	4.86	5.44	5.55	5.44	4.76	3.85
ECART-TYPE	1.83	1.68	1.22	1.18	1.13	0.33

Black Belly						
n°animal	j0	j4	j8	j15	j21	j29
98 089	3.53	2.89	3.34	3.68	3.04	3.36
98 009	4.62	5.25	4.95	4.45	4.80	4.55
98 012	5.10	4.09	5.07	4.99	3.44	3.57
98 064	5.92	5.98	5.52	5.49	5.83	
98 102	6.27	6.19	5.99	5.32	4.97	
98 075	4.75	5.48	4.30	5.45		
98 010	6.13	6.61	6.21	6.16		
98 005	6.84	6.31	6.85	6.93		
98 006	4.31	3.98	3.94			
98 053	5.58	5.29	5.99			
98 097	5.11	5.39	5.51			
98 017	4.22	3.98	3.93			
98 013	4.78	4.36				
98 111	4.77	4.93				
98 060	5.32					
98 021	4.44					
MOYENNE	5.11	5.05	5.13	5.31	4.42	3.83
ECART-TYPE	0.87	1.07	1.07	0.99	1.15	0.64

Nombre d'Hématies circulantes (*10⁶/μL)

Lacaune						
n°animal	j0	j4	j8	j15	j21	j29
91 611	11.04	11.37	10.81	10.56	9.83	8.82
91 182	12.20	11.19	12.10	10.31	7.77	6.82
91 741	12.09	11.24	11.77	9.58	8.03	
93 482	13.11	11.21	13.14	10.28	8.90	
91 071	14.25	12.74	13.09	11.42		
92 441	13.69	13.66	13.17	11.85		
92 981	11.91	12.92	11.86			
93 071	11.60	13.17	12.30			
91 181	12.00	9.04				
91 381	12.23	10.82				
93 481	9.80					
94 242	11.28					
MOYENNE	12.10	11.74	12.28	10.67	8.63	7.82
ECART-TYPE	1.19	1.38	0.83	0.83	0.93	1.41

Black Belly						
n°animal	j0	j4	j8	j15	j21	j29
98 089	9.84	9.94	9.33	7.96	8.73	8.01
98 009	8.95	9.52	10.05	9.11	9.31	9.42
98 012	11.88	11.96	12.31	11.56	11.30	10.32
98 064	11.56	10.38	11.45	10.03	9.41	
98 102	12.91	12.20	12.42	11.47	11.02	
98 075	12.68	12.28	12,11	11.18		
98 010	12.18	11.16	11.85	10.31		
98 005	10.98	10.27	11.04	9.25		
98 006	12.42	12.79	11.71			
98 053	10.63	11.29	11.01			
98 097	12.94	12.56	12.40			
98 017	8.70	9.17	9.14			
98 013	11.37	11.90				
98 111	12.20	11.78				
98 060	11.87					
98 021	12.20					
MOYENNE	11.46	11.23	11.16	10.11	9.95	9.25
ECART-TYPE	1.32	1.18	1.18	1.28	1.14	1.16

taux d'Hémoglobine (g/dL)

Lacaune						
n°animal	j0	j4	j8	j15	j21	j29
91 611	12.00	12.20	11.50	11.10	10.50	9.50
91 182	13.00	11.70	12.90	10.90	8.30	8.10
91 741	12.90	12.10	12.70	10.40	8.70	
93 482	13.90	11.80	14.20	11.10	9.70	
91 071	14.80	13.50	13.70	11.90		
92 441	14.60	14.80	14.30	12.90		
92 981	12.00	13.10	12.10			
93 071	10.80	12.70	11.50			
91 181	12.50	9.30				
91 381	13.40	11.70				
93 481	9.80					
94 242	10.90					
MOYENNE	12.55	12.29	12.86	11.38	9.30	8.80
ECART-TYPE	1.54	1.43	1.13	0.89	0.99	0.99

Black Belly						
n°animal	j0	j4	j8	j15	j21	j29
98 089	10.80	11.10	10.20	8.90	10.00	9.20
98 009	9.40	10.00	10.40	9.40	9.80	9.90
98 012	12.70	12.70	13.30	12.50	12.30	11.00
98 064	12.60	11.20	12.60	10.90	10.70	
98 102	13.40	12.90	13.00	12.10	11.70	
98 075	13.30	12.80	12.50	11.50		
98 010	13.70	12.40	13.30	11.50		
98 005	11.50	10.70	11.60	9.50		
98 006	12.60	13.10	11.80			
98 053	10.90	11.80	11.60			
98 097	13.50	13.00	13.00			
98 017	10.10	10.60	10.90			
98 013	11.60	12.30				
98 111	12.80	12.50				
98 060	12.80					
98 021	13.50					
MOYENNE	12.20	11.94	12.02	10.79	10.90	10.03
ECART-TYPE	1.32	1.03	1.10	1.35	1.08	0.91

Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (g/dL)

Lacaune						
n°animal	j0	j4	j8	j15	j21	j29
91 611	34.60	33.70	33.00	33.40	32.70	32.60
91 182	35.30	34.20	35.20	34.80	31.90	30.60
91 741	32.30	33.70	34.20	31.80	30.60	
93 482	33.00	32.70	33.80	32.50	30.80	
91 071	43.50	45.00	45.70	43.90		
92 441	32.40	33.90	34.40	33.00		
92 981	32.60	33.50	32.90			
93 071	34.70	36.20	34.60			
91 181	36.90	35.00				
91 381	34.70	33.70				
93 481	30.00					
94 242	29.80					
MOYENNE	34.15	35.16	35.48	34.90	31.50	31.60
ECART-TYPE	3.61	3.58	4.20	4.52	0.98	1.41

Black Belly						
n°animal	j0	j4	j8	j15	j21	j29
98 089	35.10	35.10	34.30	34.40	34.20	33.70
98 009	42.00	42.60	42.10	41.20	41.50	40.90
98 012	43.20	42.50	43.50	43.30	43.00	40.60
98 064	35.30	35.00	35.40	34.00	34.70	
98 102	38.40	38.50	39.00	38.70	37.70	
98 075	37.90	38.10	37.80	37.20		
98 010	42.20	42.00	42.40	40.90		
98 005	39.90	39.60	40.40	38.50		
98 006	41.70	42.50	41.40			
98 053	36.10	37.20	37.20			
98 097	39.40	39.20	40.20			
98 017	33.30	33.30	34.10			
98 013	41.30	41.30				
98 111	36.80	37.10				
98 060	38.70					
98 021	37.30					
MOYENNE	38.66	38.86	38.98	38.53	38.22	38.40
ECART-TYPE	2.92	3.08	3.22	3.27	3.95	4.07

Taux de réticulocytes circulants (%)

Lacaune							
n° animal	j0	j4	j8	j15	j21	j30	
91 611	0.12	0.09	0.12	0.10	0.11	0.13	
91 182	0.06	0.04	0.11	0.06	0.30	2.00	
91 741	0.07	0.12	0.11	0.13	0.36		
93 482	0.14	0.13	0.11	0.11	0.64		
91 071	0.08	0.09	0.09	0.09			
92 441	0.13	0.11	0.09	0.08			
92 981	0.04	0.07	0.06				
93 071	0.09	0.09	0.12				
91 181	0.07	0.07					
91 381	0.08	0.08					
93 481	0.11						
94 242	0.07						
MOYENNE	0.09	0.09	0.10	0.10	0.35	1.07	
ECART-TYPE	0.03	0.03	0.02	0.02	0.22	1.32	

Black Belly							
n° animal	j0	j4	j8	j15	j21	j30	
98 089	0.59	0.79	0.69	0.53	0.63	0.66	
98 009	0.12	0.14	0.09	0.12	0.08	0.12	
98 012	0.15	0.21	0.16	0.20	0.12	0.21	
98 064	0.34	0.36	0.36	0.40	0.62		
98 102	0.08	0.06	0.07	0.12	0.18		
98 075	0.09	0.10	0.11	0.13			
98 010	0.09	0.12	0.08	0.09			
98 005	0.09	0.06	0.05	0.08			
98 006	0.77	0.62	0.59				
98 053	0.11	0.11	0.13				
98 097	0.55	0.44	0.62				
98 017	0.20	0.15	0.32				
98 013	0.17	0.12					
98 111	0.20	0.25					
98 060	0.12						
98 021	0.51						
MOYENNE	0.26	0.25	0.27	0.21	0.33	0.33	
ECART-TYPE	0.22	0.22	0.24	0.17	0.28	0.29	

Taux d'Hématocrite (%)

Lacaune						
n°animal	j0	j4	j8	j15	j21	j30
91 611	34.70	36.20	34.90	33.20	32.10	29.10
91 182	36.80	34.20	36.60	31.30	26.00	26.50
91 741	40.00	35.90	37.10	32.70	28.40	
93 482	42.10	36.10	42.00	34.20	31.50	
91 071	34.00	30.00	30.00	27.10		
92 441	45.00	43.70	41.60	39.10		
92 981	36.80	39.10	36.80			
93 071	31.10	35.10	33.20			
91 181	33.90	26.60				
91 381	38.60	34.70				
93 481	32.70					
94 242	36.60					
MOYENNE	36.86	35.16	36.53	32.93	29.50	27.80
ECART-TYPE	4.03	4.62	4.01	3.91	2.84	1.84

Black Belly						
n°animal	j0	j4	j8	j15	j21	j30
98 089	30.80	31.60	29.70	25.90	29.20	27.30
98 009	22.40	23.50	24.70	22.80	23.60	24.20
98 012	29.40	29.90	30.60	28.90	28.60	27.10
98 064	35.70	32.00	35.60	32.10	30.80	
98 102	34.90	33.50	33.30	31.30	31.00	
98 075	35.10	33.60	33.10	30.90		
98 010	32.50	29.50	31.40	28.10		
98 005	28.80	27.00	28.70	24.70		
98 006	30.20	30.80	28.50			
98 053	30.20	31.70	31.20			
98 097	34.30	33.20	32.30			
98 017	30.30	31.80	32.00			
98 013	28.10	29.80				
98 111	34.80	33.70				
98 060	33.10					
98 021	36.20					
MOYENNE	31.68	30.83	30.93	28.09	28.64	26.20
ECART-TYPE	3.63	2.83	2.81	3.36	3.00	1.73

ANNEXE 5

DOSAGE DU PEPSINOGENE SERIQUE

Protocole :

Principe : quantifier le pepsinogène présent dans les sérums en dosant l'activité de sa forme active, la pepsine, sur de l'albumine ajoutée aux sérums.

➤ Obtention du sérum :

- Le sang est prélevé dans un tube sec, par ponction de la veine jugulaire.
- Après coagulation complète (après 60 minutes), le tube est centrifugé à 3000g pendant 10 minutes à température ambiante.

➤ Réalisation de la gamme étalon

- Distribuer une solution de Tyrosine, à 3 concentrations différentes connues dans 3 eppendorfs.
 - Préparation des témoins :
- Témoin négatif => dans un eppendorf : ajouter 50µL d'eau distillée et 250µL de solution de BSA (Bovine Serum Albumin).
- Témoin positif => dans un eppendorf : ajouter 50µL de sérum dont la concentration en pepsinogène est connue et 250µL de solution de BSA.

➤ Préparation des sérums à tester :

- Dans chaque eppendorf => ajouter 50µL de sérum à 250µL de solution de BSA.

Incuber tous les échantillons à 37°C pendant 24h.

➤ Lecture :

- Arrêter la réaction en ajoutant dans chaque échantillon 500µL de solution de TriClhorAcétyl : l'Albumine non dégradée se dépose au fond du microtube.
- Agiter au vortex et attendre 10 minutes.
- Centrifuger à 10 000g pendant 5 minutes à 4°C.
- Distribuer 200µl de soude 0,25N dans chaque puits d'une microplaque
- Distribuer 20µL de chaque échantillon en triplicate dans les puits
- Agiter 2 minutes la microplaque avec un agitateur de plaque.
- Ajouter 30µL de solution de Folin dilué au tiers dans de l'eau distillée dans chaque puit.
- Agiter à nouveau 2 minutes
- Laisser incuber 30 minutes à température ambiante
- Lire l'absorbance pour une longueur d'onde de 680 nm.

Les absorbances obtenues pour chaque échantillon sont reportées sur la gamme étalon pour définir la concentration en pepsinogène de chaque sérum.

Résultats :

	n° animal	J0	J4	J8	J15	J21	J30
Lacaune	93481	0.225					
	94242	0.335					
	91181	0.282	0.591				
	91381	0.324	0.549				
	92981	0.449	0.429	0.867			
	93071	0.454	0.570	1.546			
	92441	0.485	0.458	0.769	0.723		
	91071	0.303	0.490	0.828	0.787		
	93482	0.399	0.422	1.770	0.927	1.015	
	91741	0.200	0.172	0.633	0.699	0.843	
	91182	0.540	0.652	0.863	0.770	0.699	0.361
91611	0.483	0.581	0.699	0.504	0.427	0.372	

	n° animal	J0	J4	J8	J15	J21	J30
Black Belly	98060	0.349					
	98021	0.339					
	98111	0.572	0.615				
	98013	0.320	0.498				
	98006	0.500	0.761	1.058			
	98053	0.500	0.922	1.425			
	98017	0.540	0.490	1.586			
	98097	0.691	0.791	2.205			
	98010	0.787	1.097	2.818	1.590		
	98075	0.298	0.435	0.992	0.933		
	98005	0.380	0.549	1.376	0.800		
	98102	0.388	0.688	3.018	2.341	1.221	
	98064	0.300	0.738	2.419	1.526	0.738	
	98009	0.381	0.611	0.796	1.851	1.196	0.892
	98089	0.289	0.529	0.837	1.216	0.740	0.588
98012	0.622	1.226	1.611	0.632	0.797	0.731	

ANNEXE 6

DOSAGE DES PROTEINES DES MUCUS

Protocole :

- Réalisation de la gamme étalon
 - Dans une plaque ELISA à fond plat : déposer 10 μL d'eau distillée dans chaque puit non utilisé
 - Préparer une solution de BSA (Bovine Serum Albumin) à 1 mg/mL
 - Réaliser des dilutions en cascade à partir de la BSA jusqu'à obtenir une solution fille à 50 $\mu\text{g/mL}$
 - Distribuer 10 μL de chaque dilution en triplicate sur la plaque ELISA.
- Dépôt des mucus
 - Distribuer 10 μL de mucus « brut » dans 2 puits
 - Distribuer 10 μL de mucus dilué au 1/10 dans les 2 puits suivants
 - Distribuer 10 μL de mucus dilué au 1/100 dans les 2 puits suivants
- Révélation

Réaction de Lowry :

- Distribuer 200 μL de révélateur dans chaque puits
- Laisser 2h à température ambiante
- Lire au spectrophotomètre à 580 nm.

Résultats :

DOSAGE DES PROTEINES DANS MUCUS RACLAGE ($\mu\text{g/mL}$)

	LACAUNES	
	n° animal	[$\mu\text{g/mL}$]
J0	93 481	484
	94 242	461
J4	91 181	494
	91 381	525
J8	92 981	902
	93 071	589
J15	91 071	471
	92 441	615
J21	93 482	493
	91 741	532
J30	91 611	491
	91 182	436

	BBB	
	n° animal	[$\mu\text{g/mL}$]
J0	98 021	466
	98 060	395
J4	98 013	408
	98 111	538
J8	98 053	1237
	98 006	708
	98 017	677
J15	98 097	692
	98 075	649
	98 010	489
J21	98 005	561
	98 102	534
J30	98 064	463
	98 089	572
	98 009	615
	98 012	546

ANNEXE 7

MISE EN EVIDENCE DE LA GALECTINE 15 DANS LE MUCUS

Protocole :

- Récupération des mucus
 - Lors de l'autopsie, après le rinçage de la caillette, racler délicatement la paroi interne de l'organe, à l'aide d'une lame de scalpel afin de récupérer du mucus.
 - Déposer ce mucus dans un tube à essai contenant 2mL de PBS auquel ont été ajoutés des antibiotiques (PenistreptoND à 100µg/mL).
 - Centrifuger les mucus à 1 000 g pendant 15 minutes à 20°C.
 - Récupérer le surnageant.
 - Conserver à -20°C.
- Préparation des mucus
 - Diluer chaque mucus dans du PBS de façon à obtenir une concentration en protéines de [500 +/- 50] µg/mL.
- Préparation du premier gel d'électrophorèse (gel de migration)
 - Sortir tous les réactifs à température ambiante
 - Installer les plaques
 - Dans un flacon 50, préparer comme suit, dans l'ordre :

Ordre	Solution	Rôle et mode d'emploi	quantité
1	H ₂ O distillée		2,175 mL
2	Acrylamide 40%	Mailles du gel A mélanger doucement	1,5 mL
3	Tampon Tris pH = 8,8	Stabiliser le pH	1,25 mL
4	SDS	Recouvre la protéine chargée négativement	50 µL
5	APS 10%	Initialise la polymérisation	25 µL
6	TEMED	Accélère la vitesse de polymérisation	2,5 µL

- Couler doucement le gel entre les plaques
- Arrêter le gel au niveau du trait
- Déposer 250 µl d'Isobutanol à la surface du gel (pour éviter le contact avec l'air) ;
- Vérifier la stabilité avec le niveau à bulle
- Laisser reposer 1h à température ambiante (20 -25 °C).
- Vider l'Isobutanol et rincer 3 fois à l'eau distillée ;
- Essuyer avec un papier buvard sans toucher le gel ;
- Préparation du 2nd gel d'électrophorèse (gel de concentration)
- Préparer le 2^{ème} gel selon la composition et l'ordre suivants :

Ordre	Solution	Rôle et mode d'emploi	quantité
-------	----------	-----------------------	----------

1	H ₂ O distillée		1,55 mL
2	Acrylamide 40%	Mailles du gel A mélanger doucement	0,25 mL
3	Tampon Tris pH = 6,8	Stabiliser le pH	0,63 mL
4	SDS	Recouvre la protéine chargée négativement	25 µL
5	APS 10%	Initialise la polymérisation	12,5 µL
6	TEMED	Accélère la vitesse de polymérisation	2,5 µL

- Couler le second gel ;
- Poser immédiatement le peigne
- Le haut du peigne doit être immergé dans le gel pour éviter contact avec air ;
- Laisser polymériser 30 minutes (maximum) ;
- Enlever le peigne – Laver 3 fois à l'eau distillée – Eponger avec papier absorbant ;
- Si on utilise le gel le lendemain, remplir de tampon Tris pH 6.8, et mettre au frigo, le tout recouvert de papier Alu.
 - Réalisation de l'électrophorèse :
 - Sortir le gel du frigidaire
 - Laver 3 fois à l'eau distillée ;
 - Eponger avec un papier buvard ;
 - Préparer le tampon de migration 1X (100 ml du 10X dans 900 ml d'eau distillée).
 - Dépôt des échantillons : 5µl du marqueur dans le premier puit ; et 20 µL d'échantillon dans chaque puit
 - Laisser migrer pendant 2h à 120 Volts
 - Réalisation de l'électrotransfert

Traitement de la Membrane de PVDF (1 par gel):

- Tremper 15 secondes dans du méthanol (une par une);
- Rincer 1 à 2 minutes à l'eau distillée ;
- Tremper 5 minutes dans le tampon de transfert (200 ml de Méthanol, 100 ml Tampon 10X, 700 ml H2O distillée).

Faire tremper dans le tampon de transfert pendant 20 minutes les éléments suivants :

- Papier buvard (2 par gel) ;
- Eponge (2 par gel) ;

Réaliser l'empilement des différents éléments dans l'ordre suivant :

- Support noir posé sur la paillasse ;
- Eponge ;
- Papier buvard ;
- Gel de migration ;
- Membrane PVDF (éviter la formation de bulles d'air) ;
- Papier buvard ;
- Eponge ;
- Support transparent

Déposer les cassettes dans la cuve à transfert

Remplir le compartiment blanc de glaçons ;

Remplir la cuve de tampon de transfert ;

Brancher le générateur (250 mA pour deux gels);

Transfert 40 minutes ;

Arrêter le générateur en débranchant tous les circuits et récupérer le (s) membrane (s) :

- Laver 2 fois en PBS Tween 10 minutes ;
- Laver 2 fois en PBS seul 10 minutes.

Laisser le(s) membrane(s) sécher

NB : On peut, juste après le transfert, colorer la membrane avec un colorant spécifique des protéines, comme par exemple le bleu de Coomassie. Cette opération va permettre d'estimer si l'électrophorèse et le transfert se sont bien passés.

➤ Immunodétection

- Laver le(s) membrane(s) avec du PBS T + lait écrémé 5 % pendant 30 minutes ;
- Retirer le PBS Tween + lait écrémé 5 % et déposer l'anticorps primaire (anti-Gal15) dilué avec PBS Tween et lait écrémé 5 % (1/50) pendant 90 minutes sur un agitateur à température ambiante ;
- Laver le(s) membrane(s) 3 fois, 5 minutes avec du PBS Tween ;
- Déposer le conjugué dilué dans le PBS Tween (1/50);
- Incuber pendant 1 h à température ambiante sur un agitateur ;
- Laver le(s) membrane(s) 4 fois 5 minutes dans le PBS Tween ;
- Laver le(s) membrane(s) 2 fois 5 minutes dans le PBS ;

Pendant les lavages, préparer le substrat : Révélateur (BIORAD ref : 8235)

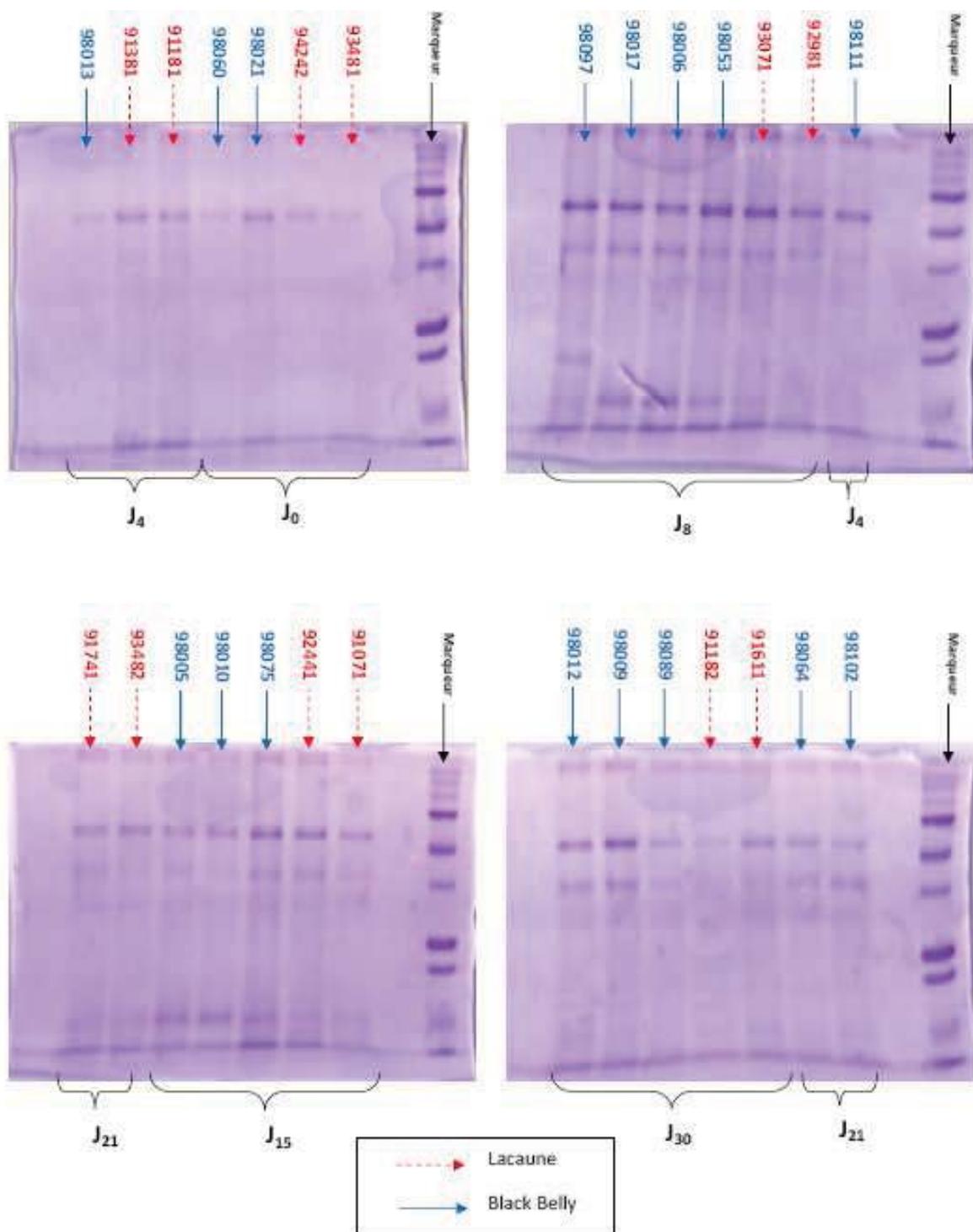
_ Préparer 1 Vol Opti-4CN diluent concentré avec 9 Vol d'H₂O distillée : Solution O

_ Pour 10 ml de Solution O, additionner 0,2 ml d'Opti-4CN substrate et bien homogénéiser : la solution obtenue doit être opaque : Solution de révélation

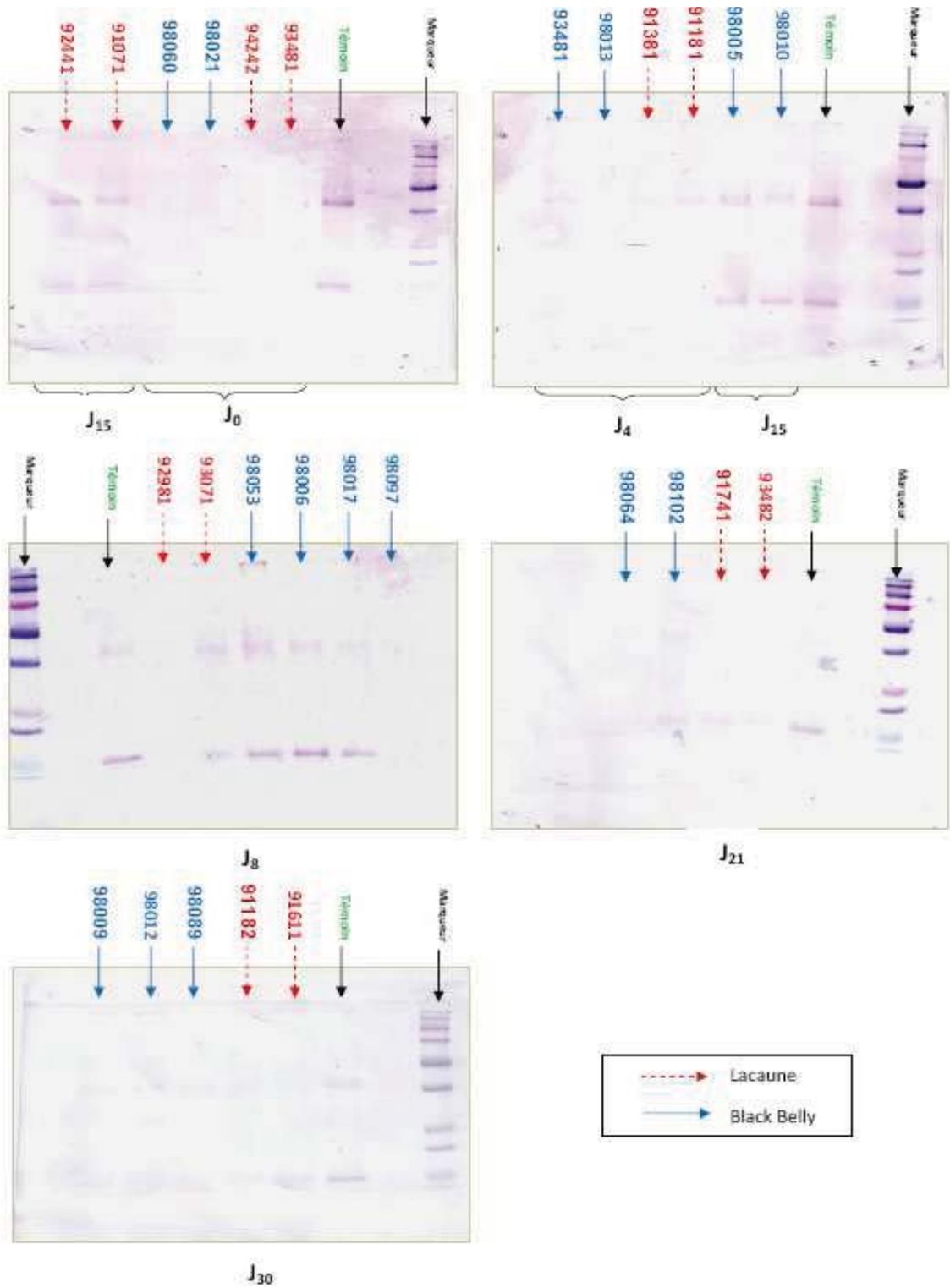
- Retirer la (les) membrane (s) du PBS Tween et verser la solution de révélation sur la (les) membrane (s),
- Laisser incuber 15 min sous agitation douce, jusqu'à l'apparition de la coloration de l'intensité désirée ;
- Jeter la solution de révélation et rincer la membrane 15 min dans de l'eau

Résultats :

Révélation des gels au Bleu de Coomassie



Western Blot



ANNEXE 8

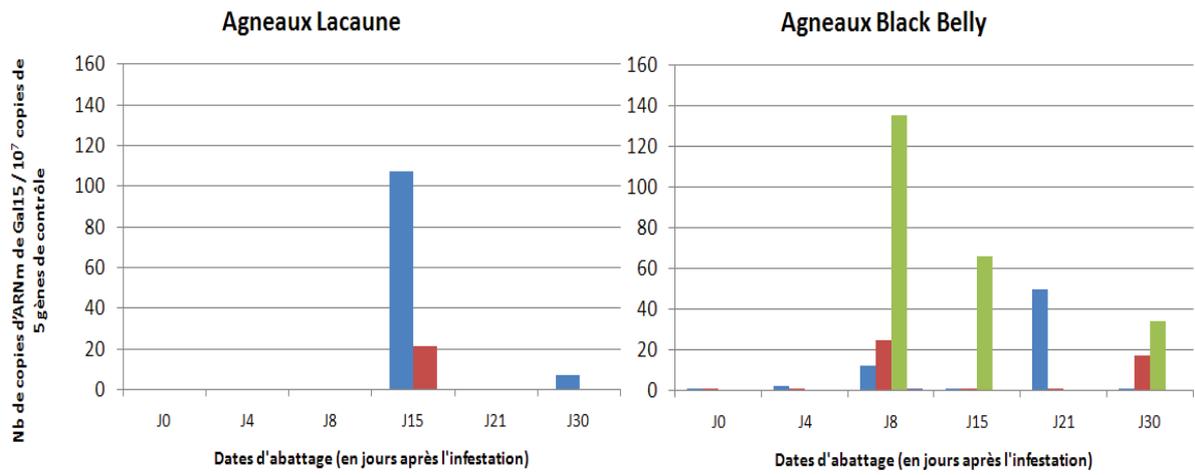
MISE EN EVIDENCE DE L'EXPRESSION DU GENE DE LA GALECTINE 15 : POLYMERASE CHAIN REACTION

Protocole : (kit RNeasy Mini Kit QIAGEN)

- Préparer 100 mg de tissus
- Ajouter 1 mL de Trizol
- Broyer au ribolyseur
- Laisser quelques minutes à température ambiante
 - SEPARATION
- Transvaser les échantillons dans des microtubes à fond rond
- Ajouter 200 µL de chloroforme
- Agiter au vortex
- Laisser incuber 2 à 3 minutes à 15-20°C
- Centrifuger 15 minutes à 12 000g, à 4°C
 - PRECIPITATION
- Prélever 350 µL de surnageant
- Y ajouter 350 µL d'Isopropyl alcool
- Agiter à la main
- Incuber dans la glace 10 minutes
- Centrifuger 10 minutes à 12 000g, à 4°C
 - LAVAGES
- Jeter le surnageant
- Ajouter 1 mL d'éthanol 70%
- Mélanger délicatement
- Agiter au vortex
- Centrifuger 5 minutes à 12 000g, à 4°C
- Retirer le surnageant et laisser sécher sous la hotte.
 - DISSOLUTION DE L'ARN
- Ajouter 100 µL d'RNase Free Water
- Laisser le culot se dissoudre sans agiter
 - PROTOCOLE RNEasy
- Préparation du tampon RLT : mélanger 1 mL de tampon RLT avec 10 µL de Beta Mercaptoethanol
- Ajouter 350 µL du mélange ci-dessus à chaque échantillon
- Agiter au vortex
- Ajouter 250 µL d'éthanol 100%
- Agiter doucement

- Déposer 700 μ L de ce mélange sur les RNeasy Mini Colonnes prêtes à l'emploi
- Centrifuger 1min30s à 10 000g
- Ajouter 500 μ L de tampon RPE sur la mini colonne
- Centrifuger à nouveau 1min30s à 10 000g
- Ajouter 500 μ L de tampon RPE sur la mini colonne
- Centrifuger 2 minutes à 10 000g
- Transférer la RNeasy colonne sur un nouveau microtube
- Centrifuger 1 minute à 10 000g
 - ELUTION DE L'ARN
- Transférer la RNeasy colonne sur un nouveau microtube de 1.5 mL
- Déposer 50 μ L de RNase Free Water sur la membrane
- Centrifuger 1 minute à 10 000g
- Jeter les mini colonnes
 - DOSAGE DE L'ARN
- Diluer 50 μ L d'élution de chaque échantillon au 1/50 : 1 μ L d'élution dans 49 μ L de RNeasy Free Water
- Programme 9 RNA
- Faire le blanc avec de l'eau distillée
- Puis ajouter chaque échantillon

Résultats :



ANNEXE 9

TEST DE MIGRATION LARVAIRE

Protocole :

➤ DEGAINAGE DES LARVES :

- Verser 3,5 mL de solution larvaire dans un tube Falcon 15. Remettre le reste de la solution au frigo
- Ajouter 3 gouttes de Milton (Milton Sterilizing fluid contenant 2% w/v sodium hypochlorite et 16% w/v sodium chloride ; Milton Pharmaceutical LTD)
- Laisser incuber 20 min à 37°C en agitant toutes les 5 min
- Vérifier le dégainage et la mobilité des larves à la loupe
- Centrifuger à 2500 rpm / 5 min / à 20°C (peser les portoirs + tube Falcon avant de centrifuger, pour équilibrer)
- Enlever 2,5 mL du surnageant. Vérifier qu'il n'y a pas de larves dans le surnageant.
- Remettre les larves en suspension
- Ajouter 2,5 mL de sérum physiologique
- Réaliser 3 centrifugations / lavages successives
- Après la 3^e centrifugation vérifier la mobilité des larves à la loupe binoculaire

➤ INCUBATION DES LARVES DANS LE MUCUS :

- Sortir les mucus de chaque animal à tester du frigidaire
- Répartir chaque mucus : 375µL de mucus dans 3 tubes à essai identifiés
- Ajouter 375µL de PBS dans un tube à essai identifié « témoin positif »
- Ajouter 375µL de Lévanol® (Lévamisol 10%) dans un tube à essai identifié « témoin négatif »
- Ajouter 375µL de solution de larves dégainées dans chacun des tubes à essai
- Laisser incuber 3h à 37°C

➤ MIGRATION LARVAIRE :

- Ajouter 1,3 mL de PBS dans chaque tube de migration (tube de Falcon 15 coupés) identifié
- Déposer les inserts à la surface du PBS, en évitant la formation de bulles
- Dans le tube témoin positif : ajouter 750µL de PBS + Larves
- Dans le tube témoin négatif : ajouter 750µL de Lévanol® + Larves
- Dans les tubes test animaux : ajouter les 750µL des Mucus + Larves

Récapitulatif : 8 puits ➔ 3 puits pour le mucus A, 3 puits pour le mucus B, 1 puit pour le témoin positif, 1 puit pour le témoin négatif.

- Laisser incuber 3h à 37°C
- Enlever le liquide contenu dans les inserts à l'aide d'une pipette
- Retirer les inserts délicatement à l'aide d'un clamp

- Ajuster le volume restant dans le tube de migration à 1,5 mL
- Agiter les tubes au vortex 40secondes avant comptage
- Compter le nombre de larves dans 10 gouttes de 20 μ L (agiter le tube entre chaque dépôt de goutte)

A la fin de la migration, les inserts sont laissés à tremper dans de l'eau tiède toute la nuit, puis nettoyés et séchés.

Interprétation :

- Nombre de larves ayant migrées \rightarrow (nombre comptées dans 200 μ L) \times 1500 / 200
- Calcul du taux de migration : $LMI = (A-B)/A \times 100$

LMI = Larval Migration Inhibition

A = nombre de larves ayant migrées dans le puit positif

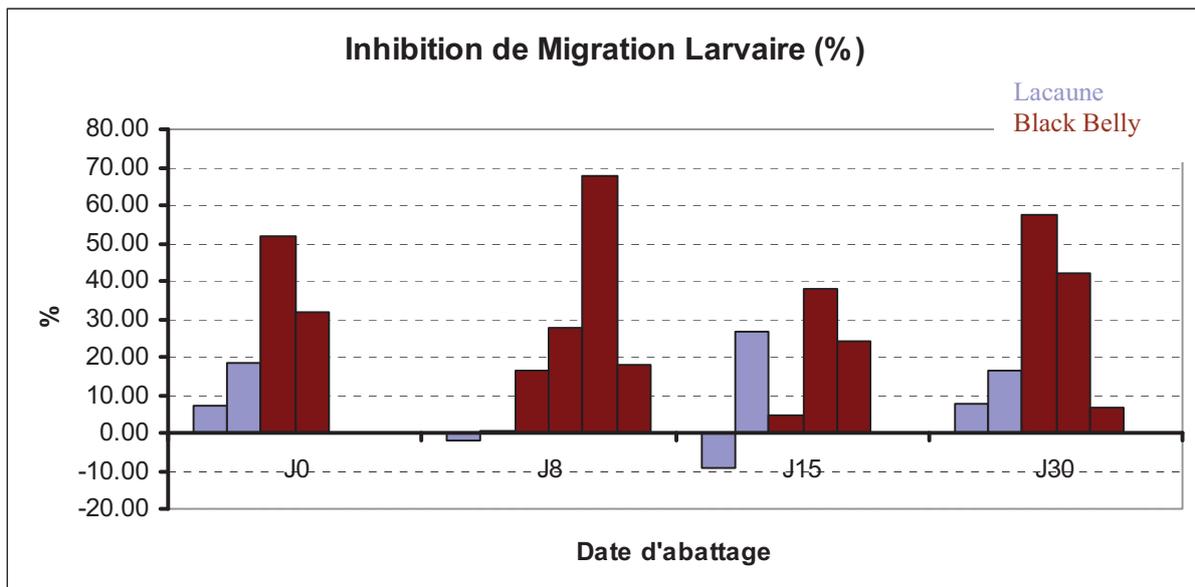
B = nombre de larves ayant migrées dans les puits tests

Résultats :

Inhibition de Migration Larvaire (%)

Lacaune				
n° animal	J0	J8	J15	J30
93481	7.33			
94242	18.67			
92981		-1.83		
93071		0.43		
91071			-9.04	
92441			26.51	
91611				7.74
91182				16.33

Black Belly				
n° animal	J0	J8	J15	J30
98021	51.77			
98060	32.00			
98006		16.26		
98053		27.51		
98017		67.61		
98097		17.84		
98005			4.52	
98010			38.15	
98075			24.32	
98089				57.66
98009				42.26
98012				6.80



Toulouse, 2011

NOM : CHRETIEN

PRENOM :
ALINE

TITRE : CINÉTIQUE COMPAREE DES PHÉNOMÈNES PHYSIOPATHOLOGIQUES ET DE LA REPONSE IMMUNE CHEZ DES OVINS RESISTANTS (Martinik Black Belly) OU SENSIBLES (Lacaune) AU COURS D'UNE PRIMO-INFESTATION PAR *HAEMONCHUS CONTORTUS*

RESUME :

L'apparition de souches d'*Haemonchus contortus* résistantes aux anthelminthiques oriente la recherche vers d'autres méthodes de lutte comme la sélection d'animaux résistants. Cependant, pour y parvenir il est indispensable de connaître les mécanismes de la réponse immunitaire des ovins contre ce nématode. Nos travaux visaient à comparer la cinétique des phénomènes physiopathologiques et de l'expression de gènes impliqués dans la réponse immune chez un hôte résistant (Martinik Black Belly) et un hôte sensible (Lacaune) au cours d'une primo-infestation par *H. contortus*. Sur 28 animaux infestés expérimentalement (12 Lacaune et 16 Black Belly), la mesure de paramètres parasitologiques (intensité d'excrétion d'œufs, charge parasitaire...) et physiopathologiques (éosinophilie sanguine et tissulaire, hématocrite...) nous a permis de mettre en évidence une plus grande résistance dans la race MBB. Par ailleurs, nous avons mis en évidence la présence de la galectine-15 dans le mucus des animaux infestés (expression du gène et mise en évidence de la protéine par Western Blot), en quantité plus importante chez les Martinik Black Belly que chez les Lacaune.

MOTS-CLES :

HAEMONCHUS CONTORTUS / RESISTANCE / OVIN / LACAUNE / MARTINIK BLACK BELLY / GALECTINE 15 / PARAMETRES PARASITOLOGIQUES / PHYSIOPATHOLOGIE

ENGLISH TITLE : COMPARATIVE KINETICS OF PHYSIOPATHOLOGICAL PARAMETERS AND IMMUNE RESPONSE IN A RESISTANT (Martinik Black Belly) OR A SUSCEPTIBLE (Lacaune) SHEEP BREED DURING A PRIMARY *HAEMONCHUS CONTORTUS* INFECTION

ABSTRACT :

Appearance of anthelmintics resistant *Haemonchus contortus* strains leads research to focus on alternative solutions, such as selection of resistance to nematode infection.. However, it is essential to understand the mechanisms of sheep immune response against this nematode. The objective of our study was to compare the kinetics of physiopathological parameters and the expression of genes associated with the immune response between a resistant (Martinik Black Belly) and a sensible (Lacaune) host during a primary *Haemonchus contortus* infection. On twenty-eight animals experimentally infested (12 Lacaune and 16 MBB), parasitological (fecal egg count, worm burden...) and physiopathological (blood eosinophilia, packed cell volumet...) parameters were measured, revealing that MBB sheep were more resistant. Besides, we demonstrated the presence of galectine-15 in sheep abomasal mucus, in a greater quantity in Martinik Black Belly than in Lacaune.

KEY WORDS :

HAEMONCHUS CONTORTUS / RESISTANCE / OVINE / LACAUNE / MARTINIK BLACK BELLY / GALECTIN 15 / PARASITOLOGICAL PARAMETERS / PHYSIOPATHOLOGY