

PREMIERE PARTIE : LA STRONGYLOSE À *OSTERTAGIA*
OSTERTAGI DES BOVINS LAITIERS

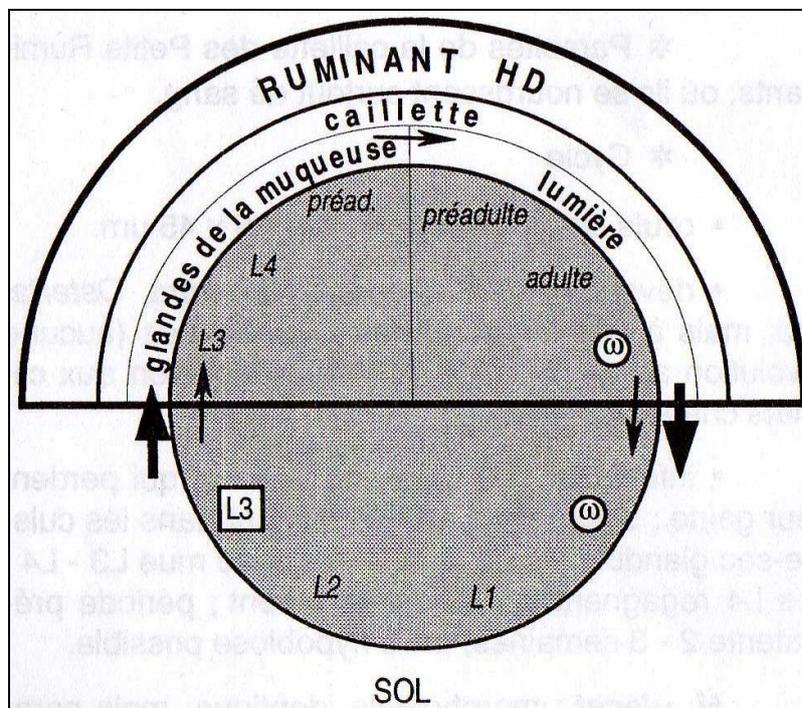
I.1. Présentation du strongle digestif de la caillette des bovins : *Ostertagia ostertagi*

I.1.1. Biologie du parasite

Ostertagia ostertagi appartient à la super famille des Trichostrongyloidea (strongles à capsule buccale généralement absente ou très rudimentaire avec bourse copulatrice bien développée) et plus précisément à la famille des Trichostrongylidés (Bussiéras et Chermette, 1995). Il s'agit d'un parasite de la caillette des bovins. Les adultes sont fixés à la paroi de la caillette et se nourrissent de chyme ou de sang. L'adulte mesure 6 à 12 x 0,10 à 0,15 mm. Il possède une ébauche de capsule buccale cylindroïde. Les mâles ont deux spicules légèrement incurvés terminés par trois branches.

Le cycle du parasite est un cycle homoxène (cf. figure 1).

Figure 1: Cycle évolutif d'*Ostertagia* sp. (Bussiéras et Chermette, 1995)



Les femelles pondent des œufs de type strongle digestif (paroi fine avec morula) de 80 à 100 x 40 à 50 μm (cf. figure 2).

Figure 2: Œuf d'*Ostertagia ostertagi* 80 à 100 x 40 à 50 μm (www.thedairysite.com)



Le développement des œufs se fait dans le milieu extérieur avec développement de la larve L1 (larve de 1^{er} stade), sortie de la L1 de l'œuf et ensuite mue en L2 puis en L3. L'évolution complète se fait en 3 à 10 jours dans des conditions favorables, sinon en plusieurs semaines. La température optimale est comprise entre 22 et 26°C, aucun développement n'est possible en dessous de +7°C. Les vers de terre peuvent transporter les larves L3 (cf. figure 3) et servir d'hôtes paraténiques.

Figure 3: Larve L3 d'*Ostertagia ostertagi* (www.thedairysite.com)



L'infestation des bovins se fait par ingestion des larves L3 engainées qui perdent leur gaine dans le rumen, puis s'enfoncent dans les culs-de-sac glandulaires de la muqueuse de la caillette où elles muent en larves L4 puis en préadultes, qui regagnent la lumière et donnent les vers adultes.

En général, les larves restent 10 à 15 jours dans la muqueuse, avec une croissance rapide; la période prépatente est alors de 2 à 3 semaines.

Mais le développement endogène peut être beaucoup plus lent. On parle de phénomène d'hypobiose, dû principalement, du moins chez les jeunes animaux, aux basses températures subies auparavant par les L3 infestantes sur le sol des prairies pendant l'automne. Le développement larvaire s'arrête alors aussitôt après la mue L3 – L4 (longueur moyenne de ces L4 primitives : 1,10 mm) ; le séjour dans la muqueuse est alors de 4 à 5 mois et se termine par une transformation qui peut être massive en préadultes, puis leur retour simultané dans la lumière, avec possibilité de troubles graves. Dans les conditions naturelles, cette hypobiose (hypobiose de saison froide) contribue à assurer la survie de l'espèce face aux conditions défavorables de l'hiver des pays tempérés. Dans des régions plus chaudes, on retrouve le même phénomène, mais qui assure la survie du parasite au cours de la saison la plus sèche (hypobiose de saison sèche). Tout cela montre que l'hypobiose est en grande partie liée à des facteurs climatiques.

Mais il a été observé que, en transférant des souches d'*Ostertagia ostertagi* vers un secteur à climat différent, elles conservent des caractéristiques d'hypobiose de leur région d'origine, montrant ainsi l'intervention de facteurs génétiques dans le phénomène (Bussiéras et Chermette, 1995).

I.1.2. Pouvoir pathogène du parasite

Rinaldi *et al.* (2011) expliquent que les principales altérations physiopathologiques associées à l'ostertagiose chez les bovins sont la réduction de la motilité intestinale et la diminution de la sécrétion d'acide par l'estomac. Les larves ingérées peuvent causer de considérables dommages aux tissus de la muqueuse de la caillette, y compris une hyperplasie des glandes gastriques, une cytolysse épithéliale sévère, et la perte de cellules pariétales productrices d'acide, d'où un pH élevé dans la caillette et une altération du métabolisme protéique. Les manifestations cliniques sont modérées à sévères : les infestations par *O. ostertagi* chez les jeunes veaux peuvent induire de la diarrhée, de la malnutrition et même la mort.

La couche de mucus dans le tractus gastro-intestinal est considérée comme la première ligne de défense contre l'environnement extérieur. Une modification des composants du mucus semble se produire lors de l'infestation des ruminants par des nématodes intestinaux, mais le rôle du mucus dans la réponse aux parasites de la caillette n'est pas très clair.

Une étude récente de Rinaldi *et al.* (2011) a analysé les effets d'une infestation par *Ostertagia ostertagi* sur la biosynthèse du mucus de la caillette des bovins. Une augmentation de l'expression des gènes des protéines MUC1, MUC6 et MUC20 a été observée, tandis que l'expression de MUC5AC n'a pas changé au cours de l'infestation. Des changements qualitatifs des mucines, liés à la composition du sucre, ont également été observés. Des colorations spécifiques ont montré une diminution des mucines neutres et une augmentation des mucines acides au cours de l'infestation (*cf.* figure 4). Plusieurs gènes impliqués dans la synthèse de la structure de base de la mucine, la ramification et l'oligomérisation, comme GCNT3, GCNT4, A4GNT et des protéines isomérasés disulfures étaient surexprimés. L'augmentation de la fucosylation de la mucine a été observée en utilisant la lectine UEA-I (*cf.* figure 5) et par l'évaluation des niveaux d'expression des gènes des fucosyltransférases. Enfin, la transcription de 2 facteurs, TFF1 et TFF3 (*cf.* figure 6), qui sont co-exprimés avec les mucines dans le tractus gastro-intestinal, ont également été jugés significativement surexprimés chez les animaux infestés. Bien que les modifications dans la biosynthèse du mucus commencent tôt au cours de l'infestation, les plus grands effets ont été constatés lorsque les vers adultes étaient présents sur la surface de la muqueuse de la caillette et sont probablement causés par des changements dans les populations de cellules de la muqueuse, caractérisés par une hyperplasie des cellules sécrétrices de mucus.

Figure 4: L'infestation des troupeaux par le nématode gastro-intestinal *Ostertagia ostertagi* affecte la biosynthèse du mucus de l'abomasum (Rinaldi *et al.*, 2011)

Coloration histochimique de fixation de Carnoy, coupes de caillette de vaches Holstein après infestation par *Ostertagia ostertagi* inclus en paraffine. PAS (A-D) mucines colorées en rose, AB-PAS pH 2,5 (E-H) mucines neutres colorées en magenta et mucines acides en bleu; HID-AB (I-N) mucines sialylées colorées en bleu et mucines sulfatées en brun. (A, E, I) contrôle négatif, (B, F, L) infestées pendant 14 jours, (C, G, M) infestées pendant 21 jours, (D, H, N) exposées pendant 60 jours. Objectif x10.

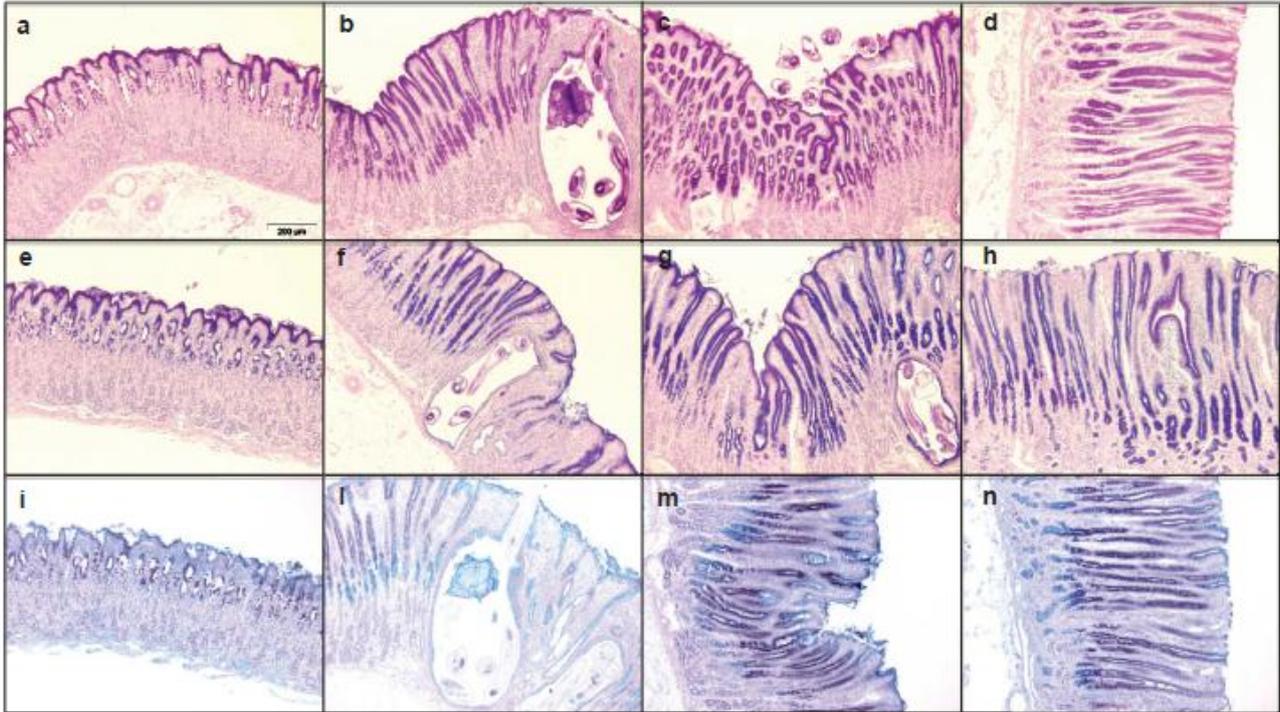


Figure 5: Augmentation de la fucosylation de la mucine (Rinaldi *et al.*, 2011)

Coloration de la lectine avec UEAI (a-L-Fucosyl terminals). Fixation de Carnoy, coupes de caillette de vaches Holstein après infestation par *Ostertagia ostertagi* inclus en paraffine. (A et C) contrôle négatif, (B et D) exposés à *O. ostertagi* pendant 21 jours. obj. x20 (images de gauche), obj. x40 (images de droite).

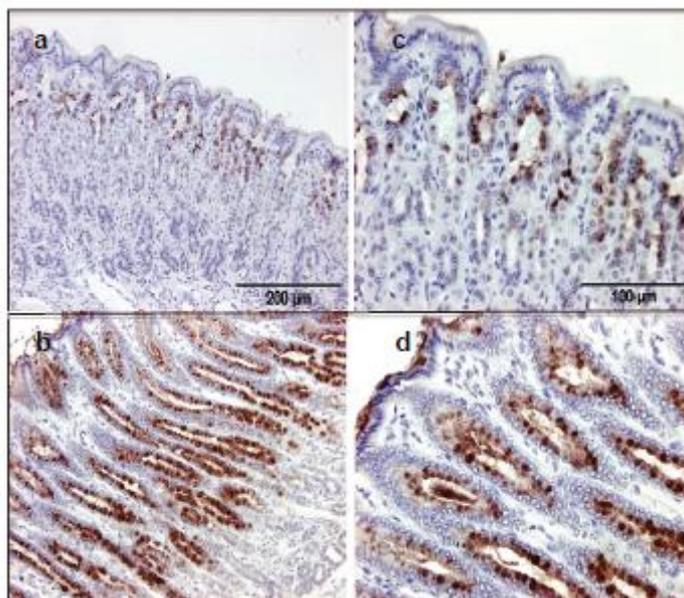
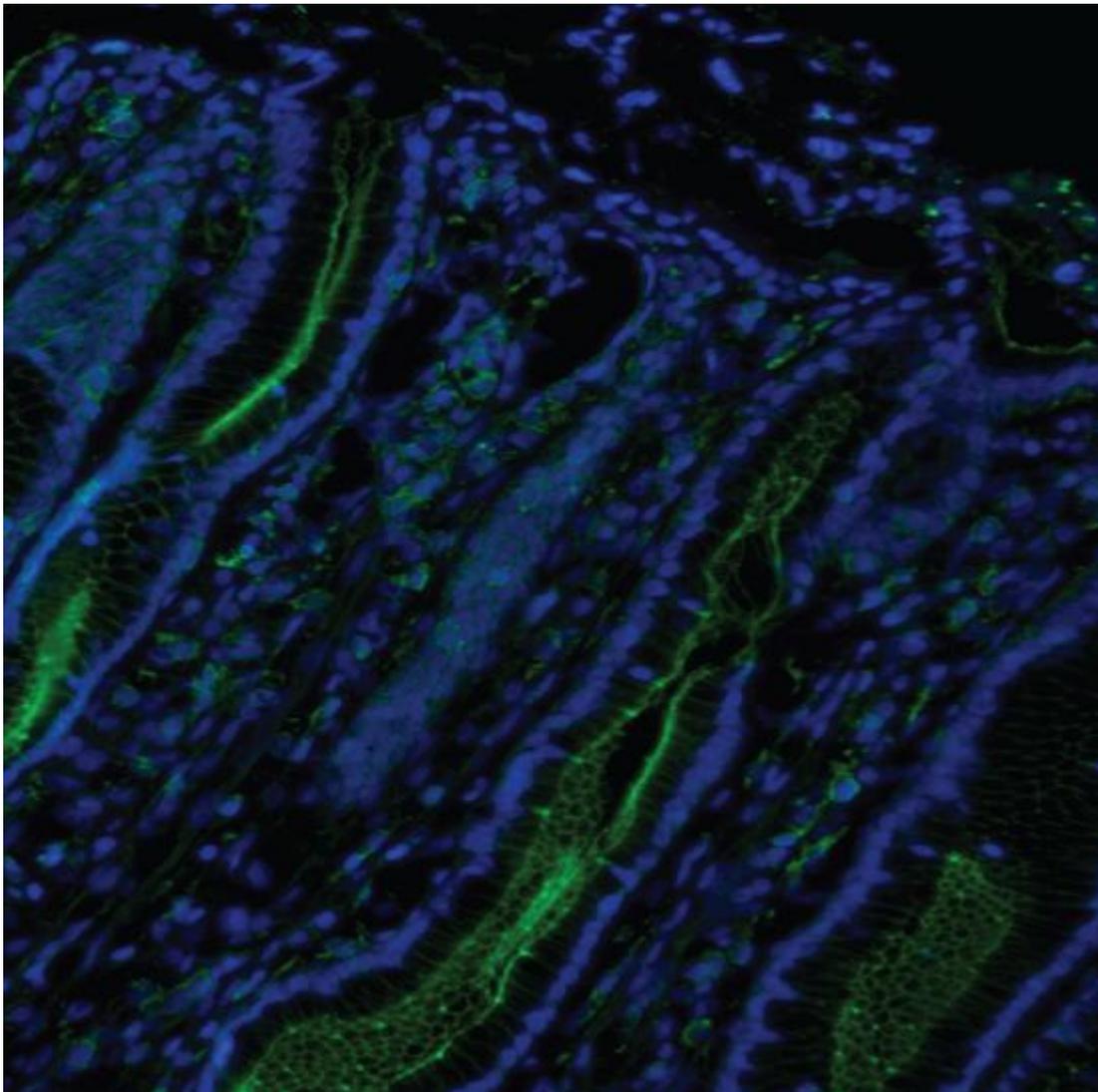
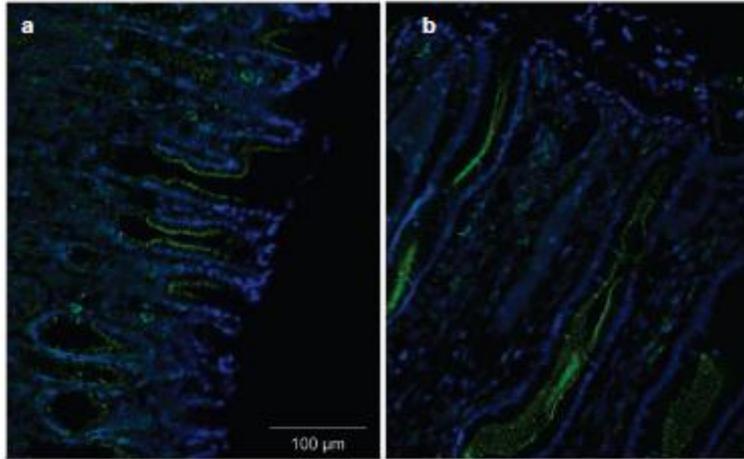


Figure 6: Surexpression du facteur TFF3 (Rinaldi *et al.*, 2011)

Facteur TFF3 marqué par immunofluorescence (vert), combinée avec une coloration au DAPI (bleu). Fixation au formol, coupes de caillette de vaches Holstein après infestation par *Ostertagia ostertagi* inclus en paraffine. (A) témoin négatif, (B) exposées à *O. ostertagi* pendant 60 jours. Objectif x20.



I.1.3. La réponse immunitaire de l'hôte

Il est reconnu depuis longtemps que l'immunité protectrice contre l'infestation par *Ostertagia ostertagi*, définie comme la résistance au développement des vers, chez les bovins, est incomplète et se développe très lentement, ce qui nécessite une exposition prolongée avant que l'immunité ne devienne effective (Michel *et al.*, 1973; Gasbarre, 1997). Ceci contraste avec d'autres parasites des ruminants, comme *Dictyocaulus viviparus* ou *Oesophagostomum radiatum*, pour lesquels la résistance se développe rapidement et pour lesquels l'hôte devient réfractaire à la réinfestation. Le système immunitaire devient généralement efficace vers 18 mois d'âge, après que les bovins aient brouté sur des pâturages naturellement infestés par le parasite. Chez les bovins de cet âge, il peut y avoir des charges très faibles, ou à l'inverse, considérables d'*Ostertagia ostertagi*. Expérimentalement, trois cycles d'infestation ne fournissent qu'une immunité partielle, conduisant à une réduction d'environ 43% de la charge parasitaire (Almeria *et al.*, 1998). Il faut au moins cinq cycles d'infestations par *O. ostertagi* pour voir une réduction significative du nombre moyen de parasites (jusqu'à 73%) par rapport à une primo-infestation. En outre, l'enjeu est l'inhibition du développement des larves L4 qui peuvent exister à l'automne et en hiver chez les bovins qui sont exposés à l'infestation au cours du printemps et de l'été (Michel *et al.*, 1973). Cette susceptibilité prolongée à la réinfestation est la principale raison pour laquelle ce parasite reste économiquement le plus important des nématodes gastro-intestinaux dans les zones à climat tempéré du monde.

Les réponses immunitaires des bovins suite à l'infestation par *O. ostertagi* ont été étudiées. Les antigènes *Ostertagia* sont facilement repérés par les cellules immunitaires de l'hôte dans les ganglions lymphatiques peu après l'infestation (Gasbarre, 1986). Une augmentation du nombre de lymphocytes dans la muqueuse de la caillette est observée 3 à 4 jours après l'infestation. L'infestation est en mesure d'induire des changements d'expression d'un certain nombre de cytokines dans les ganglions lymphatiques mésentériques et dans la muqueuse de la caillette. Dans les lymphocytes isolés à partir de la lamina propria de la caillette, les niveaux d'expression de l'IL-4 et de l'interféron gamma (IFN γ) sont augmentés par une primo infestation par *O. ostertagi* 10 jours post-infestation et 60 jours post-infestation (Almeria *et al.*, 1997). Les populations de cellules des ganglions lymphatiques locaux d'animaux immunisés après cinq infestations montrent également des changements par rapport aux bovins avec seulement une primo infestation. Le plus remarquable est le plus grand nombre de cellules CD4 + / CD8 + et la diminution du taux d'IgM chez les animaux immunisés (Almeria *et al.*, 1998).

En plus de ces changements dans les populations de cellules dans les ganglions lymphatiques, on observe un changement dans les profils de cytokines. Ainsi, le nombre d'ARNm de l'IL 4 a été significativement diminué chez les animaux immunisés par rapport à des animaux primo infestés. Alors que le nombre d'ARNm est significativement corrélé au nombre de parasites, l'IL-4 ne peut être associée à aucun mécanisme de protection dans l'infestation du bétail par *Ostertagia* (Almeria *et al.*, 1998). Le rôle d'autres cytokines dans le développement de l'immunité protectrice reste incertain. Aucune corrélation n'est généralement observée entre les niveaux de transcription des cytokines et la protection (Claerebout *et al.*, 2005).

Différentes raisons ont été évoquées pour expliquer le développement lent de l'immunité protectrice contre *Ostertagia*. Parmi celles-ci, la capacité du parasite à inhiber la réponse immunitaires de l'hôte (Klesius *et al.*, 1984; Gomez-Munoz *et al.*, 2004), et à induire une réduction transitoire de la réactivité immunitaire de l'hôte (Gasbarre, 1997). La compréhension des mécanismes de l'immunité protectrice nécessite à la fois des implications pratiques et théoriques. Malgré les efforts continus pour identifier les antigènes protecteurs, permettant de créer des vaccins efficaces afin de réduire le nombre de larves, de nombreuses recherches doivent encore être menées. Ceci est principalement dû à la connaissance limitée des réponses immunitaires protectrices et à un manque de compréhension des paramètres immunologiques spécifiques concernant l'immunité acquise contre *Ostertagia* (Claerebout et Vercruyse, 2000). Les caractéristiques moléculaires des antigènes capables de susciter une protection contre *Ostertagia* restent inconnues, ce qui freine le développement de vaccins efficaces. L'ampleur et les mécanismes de l'immunosuppression induite par *Ostertagia* et son impact sur la santé animale, ne sont pas encore connus (Gasbarre, 1997). Des marqueurs facilement décelables d'immunité protectrice permettraient aux agriculteurs d'utiliser l'immunité de l'hôte pour traiter individuellement les vaches laitières.

Dans une étude, Hayhurst *et al.* (2010) ont travaillé sur la variabilité génétique de la réponse immunitaire contre *Ostertagia ostertagi* par la production d'anticorps IgG anti *Ostertagia ostertagi* de vaches Holstein Friesian. Les quantités d'IgG totaux (IgG1 et IgG2) ont été estimées par un test ELISA et exprimés par ratio de densité optique ($ODR = \frac{OD_{\text{échantillon}} - OD_{\text{contrôle négatif}}}{OD_{\text{contrôle positif}} - OD_{\text{contrôle négatif}}}$) à partir d'échantillons de lait prélevés sur 1276 Holstein Friesian dans 229 exploitations laitières de 2002 à 2004 au cours de leur première lactation et d'autres lactations (2 à 12). La capacité à produire des anticorps *O. ostertagi* mesurés par ODR avait une héritabilité de h^2

\pm écart-type : $0,13 \pm 0,12$ et la période de prélèvement de l'échantillon et le troupeau ont eu un impact significatif sur les taux d'IgG totaux.

Pour conclure, cette étude a déterminé que la réponse immunitaire anti *O. ostertagi* avait un déterminisme génétique mais avec une héritabilité faible. Dans la mesure où la preuve existe que les IgG sont impliquées dans l'immunité protectrice contre le parasite par réduction de sa capacité de reproduction, la mise en place de programmes de sélection génétique est possible afin de réduire l'effet du parasite *O. ostertagi* dans les troupeaux laitiers. Cependant, dans le contexte économique français actuel, cette sélection n'aurait que peu d'intérêt.