

Table des matières

Table des illustrations.....	13
Table des abréviations.....	15
Introduction.....	17
Etude bibliographique.....	19
I Présentation des parasites.....	21
A <i>Oestrus ovis</i>	21
1 Classification et morphologie.....	21
2 Biologie.....	21
2.1 Localisation et régime alimentaire.....	21
2.2 Cycle évolutif.....	22
3 Pathologie: l'oestrose ovine.....	24
3.1 Epidémiologie.....	24
3.2 Manifestations cliniques.....	26
3.3 Lésions.....	27
3.4 Pathogénie.....	28
B <i>Teladorsagia circumcincta</i>	30
1 Classification et morphologie.....	30
2 Biologie.....	31
2.1 Localisation et régime alimentaire.....	31
2.2 Cycle évolutif.....	31
3 Pathologie: strongylose digestive (ostertagiose).....	33
3.1 Epidémiologie.....	33
3.2 Manifestations cliniques.....	35
3.3 Lésions.....	36
3.4 Pathogénie.....	36
II La réaction inflammatoire au niveau des muqueuses digestives et nasales au cours d'infestations parasitaires chez le mouton.....	43
A Définition.....	43
B Modalité de la réponse inflammatoire lors d'infestations parasitaires.....	44
1 Généralités.....	44
2 Réaction inflammatoire lors d'infestations par <i>Oestrus ovis</i>	44
2.1 Réactions humorales.....	44
2.2 Réactions cellulaires.....	45
3 Réaction inflammatoire lors d'infestations par des nématodes gastro-intestinaux.....	46
3.1 Réactions humorales.....	46
3.2 Réactions cellulaires.....	47
4 L'hypersensibilité de type 1.....	48
4.1 La phase de sensibilisation de l'hôte.....	49
4.2 La phase de latence.....	50
4.3 La phase déclenchante.....	50
4.4 Les effecteurs principaux de l'HS1.....	51
III Interactions entre parasites lors de co-infestations.....	57
A Généralités.....	57
B Interactions au sein d'un même organe.....	58
C Interactions au niveau d'organes différents.....	60
1 Entre plusieurs nématodes.....	60
2 Entre des nématodes et des diptères.....	61

Etude expérimentale	65
I Objectif de l'étude.....	67
II Matériel et méthodes.....	67
A Les animaux.....	67
B Le plan expérimental.....	67
C Les infestations expérimentales.....	68
D Mesures des paramètres parasitaires.....	68
1 L'excrétion fécale d'œufs.....	68
2 Le bilan parasitaire et la fertilité des vers femelles.....	69
E Mesures des paramètres sanguins.....	69
1 Comptage des éosinophiles sanguins.....	69
2 Dosage des anticorps anti-oestres.....	70
3 Dosage du pepsinogène sérique.....	71
F Mesures des paramètres histopathologiques.....	71
G Analyses statistiques.....	72
III Résultats.....	73
A Paramètres parasitaires.....	73
1 L'excrétion fécale d'œufs de <i>T. circumcincta</i>	73
2 La charge parasitaire et la fertilité des vers femelles de <i>T. circumcincta</i> et la charge parasitaire en <i>O. ovis</i>	74
B Paramètres sanguins.....	74
1 L'éosinophilie.....	74
2 La sérologie oestrose.....	75
3 Le pepsinogène sérique.....	76
C Paramètres histopathologiques.....	77
1 Dans les muqueuses respiratoires supérieures.....	77
2 Dans les muqueuses digestives.....	78
D Corrélation entre variables.....	80
IV Discussion.....	81
A Interactions entre <i>O. ovis</i> et <i>T. circumcincta</i>	81
1 Influences de <i>T. circumcincta</i> sur <i>O. ovis</i>	81
2 Influences d' <i>O. ovis</i> sur <i>T. circumcincta</i>	81
B Conséquences pour l'hôte.....	82
C Mécanismes mis en jeu.....	83
1 Les Ac sériques anti-oestres (IgG).....	83
2 Les éosinophiles sanguins.....	83
3 Les cellules inflammatoires des muqueuses.....	83
V Conclusion.....	85
Bibliographie.....	87

Table des illustrations

<u>Tableau 1</u> : Charge parasitaire et fertilité des vers femelles (œufs/ femelle) de <i>T. circumcincta</i> et charge parasitaire en <i>O. ovis</i> après autopsie des animaux.....	74
<u>Figure 1</u> : Cycle parasitaire d' <i>Oestrus ovis</i>	22
<u>Figure 2</u> : Coupe longitudinale des cavités nasales et sinusales du mouton, site de migration des larves.....	23
<u>Figure 3</u> : Cinétique de l'infestation par les divers stades parasitaires d' <i>Oestrus ovis</i> en Ariège.....	24
<u>Figure 4</u> : Cycle parasitaire de <i>Teladorsagia circumcincta</i>	31
<u>Figure 5</u> : Illustration de la dynamique saisonnière de l'infestation des pâtures par les parasites gastro-intestinaux des petits ruminants dans les zones tempérées.....	34
<u>Figure 6</u> : Schéma récapitulatif des perturbations physiologiques chez l'hôte dues à <i>Teladorsagia</i>	38
<u>Figure 7</u> : Déroulement de l'hypersensibilité de type 1 lors d'infestation parasitaire.....	49
<u>Figure 8</u> : Protocole d'infestations parasitaires expérimentales par <i>O. ovis</i> et/ou <i>T. circumcincta</i> chez des agneaux de race Tarasconnaise.....	68
<u>Figure 9</u> : Evolution de l'excrétion fécale des œufs par des agneaux infestés avec <i>T. circumcincta</i> selon les lots (moyenne arithmétique).....	73
<u>Figure 10</u> : Evolution de l'éosinophilie chez des agneaux infestés expérimentalement par <i>O. ovis</i> entre J0 et J28 et <i>T. circumcincta</i> à J47 selon les lots d'infestation (moyenne arithmétique).....	75
<u>Figure 11</u> : Evolution des anticorps sériques spécifiques (IgG) contre <i>O. ovis</i> chez des agneaux infestés expérimentalement par 82 L1 d' <i>O. ovis</i> et/ou 10.000 L3 de <i>T. circumcincta</i> en fonction des lots (moyenne arithmétique).....	76
<u>Figure 12</u> : Evolution des valeurs du pepsinogène sérique en fonction des lots chez des agneaux infestés expérimentalement par 10.000 L3 de <i>T. circumcincta</i> et/ou 82 L1 d' <i>O. ovis</i> (moyenne arithmétique).....	77
<u>Figure 13</u> : Comparaison de la réponse cellulaire en éosinophiles muqueux au niveau des différents sites anatomiques en fonction des lots (moyenne arithmétique).....	78

Figure 14: Comparaison de la réponse cellulaire en éosinophiles intraépithéliaux au niveau des différents sites anatomiques en fonction des lots (moyenne arithmétique).....79

Figure 15: Comparaison de la réponse cellulaire en mastocytes au niveau des différents sites anatomiques en fonction des lots (moyenne arithmétique).....79

Figure 16: Comparaison de la réponse cellulaire en globules leucocytes au niveau des différents sites anatomiques en fonction des lots (moyenne arithmétique).....80

Table des abréviations

Abréviation	Signification
Ac	Anticorps
Ag	Antigène
BSA	Bovine serum albumine
CPA	Cellule présentatrice de l'antigène
CK	Cytokine
l'ECEF	Eosinophil cytotoxicity enhancing factor
ECFA	Eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis
ECP	Eosinophil cationic protein
EDN	Eosinophil derivated neurotoxin
EGF	Epidermal growth factor
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
EPO	Eosinophil peroxydase
E/S	Excrétion-sécrétion
GB	Granulocyte basophile
GE	Granulocyte éosinophile
GL	Globule leucocyte
GM-CSF	Granulocyte macrophage colony stimulating factor
GN	Granulocyte neutrophile
HCl	Acide chlorydrique
HETE	Acide hydroéicosatétranoïque
HS1	Hypersensibilité de type 1
ICAM1	Inter cellular adhesion molecule-1
IgA	Immunoglobuline de type A
IgE	Immunoglobuline de type E
IgG	Immunoglobuline de type G
IgM	Immunoglobuline de type M
IL	Interleukine
L1	Larve de premier stade
L2	Larve de second stade
L3	Larve de troisième stade

L4	Larve de quatrième stade
LB	Lymphocyte B
LT	Lymphocyte T
LTh2	Lymphocyte T helper de type 2
MBP	Major protein basic
MM	Mastocyte muqueux
MS	Mastocyte séreux
NO	Monoxyde d'azote
OPG	Œufs par gramme de fèces
PAF	Platelet activating factor
PG	Prostaglandine
RI	Réaction inflammatoire
SCF	Stem cell growth factor
TCA	Acide trichloroacétique
TD	Tube digestif
TGF2	Transforming growth factor 2
TNF	Tumor necrosis factor

Introduction

Les ovins élevés au pâturage restent largement exposés à une multitude de parasites différents, notamment les nématodes gastro-intestinaux. Ceux-ci entraînent de nombreuses pertes économiques ainsi que des conséquences cliniques, qui peuvent parfois être fatales [67, 92]. Parmi ces nématodes, les Trichostrongylidés du genre *Teladorsagia*, parasite de la caillette des petits ruminants, sont les principaux responsables des pertes économiques engendrées en élevages caprin et ovin dans les régions tempérées et subtropicales [42, 67].

De plus, la plupart des animaux subissent des poly-infestations. En effet, plusieurs parasites peuvent cohabiter chez un même individu. A l'occasion de ces co-infestations, il peut exister des interactions entre les différentes populations parasitaires, soient négatives, soient positives [13]. Ainsi, des helminthes peuvent co-exister chez des ovins avec des agents de myiases. L'un des agents de myiases des ovins et des caprins le plus prévalent dans les zones tempérées est un diptère, *Oestrus ovis*, responsable d'oestrose lors d'infestation au niveau des cavités nasales. L'oestrose peut parfois aboutir au décès de l'animal, notamment lors d'obstructions nasales et de surinfections. Ce parasite, très répandu, est considéré comme un fléau économique pour l'élevage des petits ruminants dans les zones chaudes et sèches du globe [107]. Dans certaines régions, l'association de ces deux parasites est courante et aggrave les conséquences cliniques [102, 103].

Diverses études ont été menées afin de déterminer les interactions éventuelles entre *O. ovis* et des nématodes gastro-intestinaux. Ces expériences se sont intéressées à la cinétique des populations parasitaires et à celle de la réaction inflammatoire. Deux études [102, 103], ont mis en évidence qu'une co-infestation chez des ovins entre *O. ovis* et *Trichostrongylus colubriformis* influence négativement le développement du nématode, sans pour autant modifier l'établissement des larves d'oestre. Ces modifications sont associées à des changements au niveau de la réaction inflammatoire. Il a ainsi été constaté une extension à distance de celle-ci. L'installation d'*O. ovis* entraîne donc un effet défavorable sur la population de *T. colubriformis*, mais cet effet n'est pas réciproque. Des études similaires ont concerné des infestations mixtes entre *O. ovis* et *Haemonchus contortus* [28, 99]. Dans ces cas-là, il a aussi été constaté que les larves d'*O. ovis* diminuent le développement et la fécondité du trichostrongyle, avec des modifications de la réponse inflammatoire uniquement au niveau des muqueuses digestives.

L'existence de ces interactions entre parasites se retrouve aussi étayée par les résultats de

sélections d'animaux résistants aux nématodes du tube digestif. En effet, les ovins plus résistants aux strongyloses digestives se sont révélés en parallèle plus sensibles à l'œstrose [104].

Toutes ces expérimentations suggèrent qu'il existe des interactions entre les parasites des muqueuses respiratoires et digestives.

Notre protocole expérimental a eu pour objectifs de vérifier l'existence ou non chez les ovins d'interactions similaires entre *O. ovis* et *Teladorsagia circumcincta*, d'observer les conséquences chez l'hôte et d'approfondir les connaissances sur les mécanismes éventuels mis en jeu.

Dans une première partie bibliographique seront présentés les deux parasites en cause, les modalités de la réaction inflammatoire mucosale ainsi que les interactions possibles entre les parasites. Dans une seconde partie expérimentale nous décrirons et analyserons les effets d'une co-infestation chez des ovins par *O. ovis* et *T. circumcincta*.

Première partie

Etude bibliographique

I Présentation des parasites

A *Oestrus ovis*

1 Classification et morphologie

O. ovis (Linné 1761) est un insecte Brachycère (antennes avec un nombre d'articles inférieur à six), Cyclorraphe (l'éclosion de l'adulte a lieu par l'extrémité antérieure à l'aide d'une incision circulaire), Calyptère (cuilleron par-dessus le balancier), parasite obligatoire des cavités nasales des petits ruminants. Il appartient à l'ordre des Diptère (une paire d'ailes sur le mésothorax) et à la famille des Oestridés, caractérisée par les plaques stigmatiques des deuxième et troisième stades larvaires qui sont finement striées et par une absence de pièces buccales chez l'imago [1, 16,29].

La mouche adulte de couleur grise jaunâtre mesure entre dix et douze millimètres, ses ailes sont transparentes avec une nervure transversale. Les adultes ne possèdent pas de pièces buccales car leur fonction essentielle est la reproduction. Les larves de premier stade (L1) sont apodes et translucides voire blanchâtres, mesurant de un à deux millimètres de longueur. Elles sont munies de crochets buccaux et d'épines leur permettant de se déplacer et d'éviter leur élimination lors d'éternuements. Les larves de second stade (L2) sont jaunâtres et mesurent en longueur six millimètres. A leur extrémité postérieure se trouvent deux stigmates arrondis et brunâtres avec plusieurs orifices. Elles présentent moins d'épines et de crochets que les L1 car elles sont moins exposées aux éjections par éternuements. Les larves de troisième stade (L3) mesurent de deux à trois centimètres de long, sont de couleur blanche se brunissant par bandes transversales avec l'âge. Elles possèdent deux crochets et des plaques stigmatiques noirâtres pentagonales percées de nombreux pertuis. La pupa est complètement noire et mesure quinze millimètres [1, 29].

2 Biologie

2.1 Localisation et régime alimentaire

Les imagos ne se nourrissent pas et correspondent au stade libre. Les L1 sont situées au niveau de la cavité nasale, fixées à la muqueuse pituitaire grâce à leurs épines et leurs crochets buccaux. Elles se nourrissent de l'exsudat nasal et des sérosités contenues dans les fosses nasales, leur site privilégié étant les sinus moyens [107]. Les L2 se retrouvent au niveau des sinus et se nourrissent des exsudats des cavités sinusales. Les L3 se nourrissent également de ces exsudats afin de réaliser des réserves pour la pupaison et leurs localisations privilégiées

sont les sinus frontaux. Lorsqu'elles se situent au niveau du septum ou des cavités nasales cela signifie que les L3 sont matures et prêtes à être expulsées [1, 29, 96].

2.2 Cycle évolutif

Le cycle évolutif d'*O. ovis* est composé de deux phases (cf. Figure 1):

- une phase externe, dite de vie libre
- une phase interne, dite de vie parasitaire

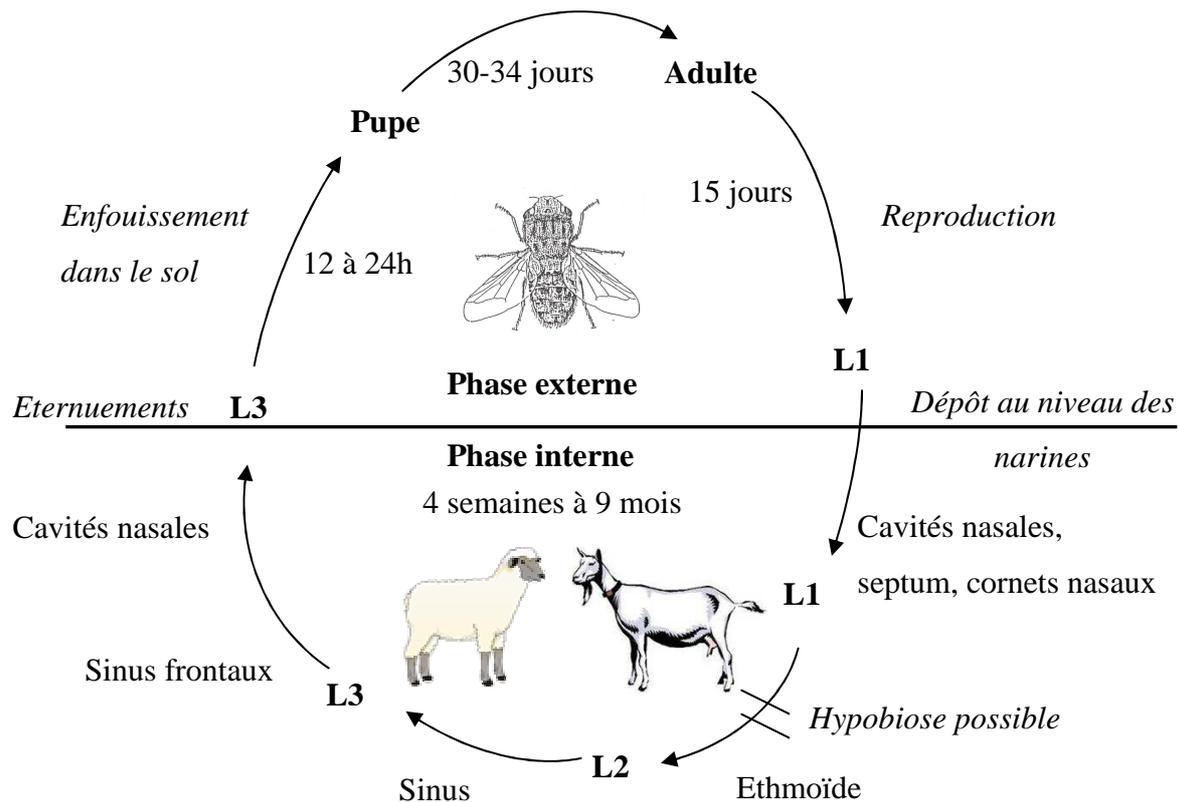


Figure 1: Cycle parasitaire d'*Oestrus ovis*, d'après [29, 51, 94, 107].

La phase de vie libre correspond à la pupa et à la mouche adulte qui en sort. Les pupes sont issues de la transformation des L3, expulsées lors d'éternuements hors des cavités nasales de l'hôte. Un adulte éclôt trente à trente quatre jours plus tard [29]. Cependant, lorsque les conditions externes sont défavorables, la durée de la pupaison peut être prolongée jusqu'à plus de deux mois. Ce phénomène peut-être considéré comme une période d'hypobiose externe [51, 96, 107] L'éclosion des imagos hors des pupes nécessite certaines conditions de température: la température minimale de développement est de 11,5°C pour les femelles et de 12,1°C pour les mâles [96]. L'adulte a une durée de vie qui n'excède pas

quinze jours. Il ne se nourrit pas et vit sur les réserves accumulées à l'état larvaire, son rôle étant de se reproduire [29].

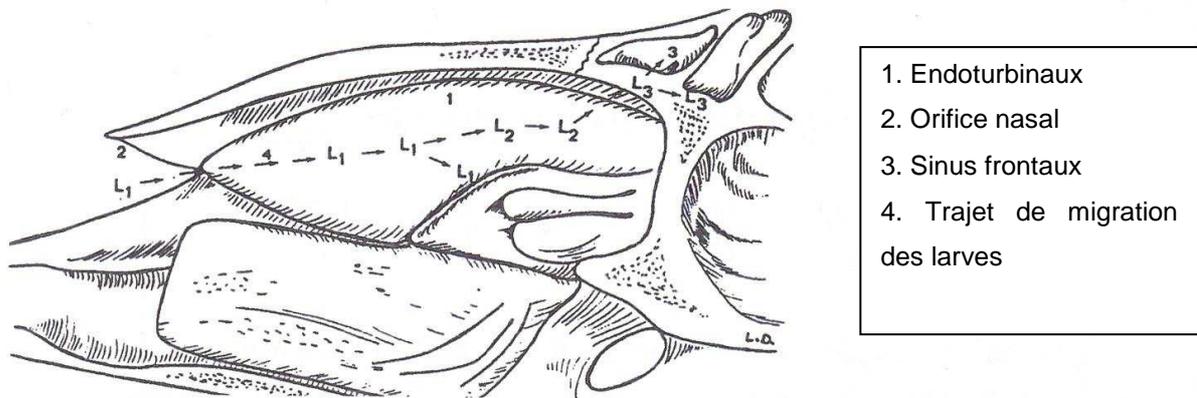


Figure 2: Coupe longitudinale des cavités nasales et sinusales du mouton, sites de migration des larves d'après [95].

La phase de vie parasitaire comprend trois stades larvaires. Les L1 sont déposées par les femelles fécondées autour des narines. Les larves pénètrent activement par les orifices nasaux et colonisent les cornets et le septum (cf. Figure 2). Le développement larvaire peut être stoppé si les conditions climatiques sont défavorables (période froide ou période chaude et sèche). Dans ces cas-là, les L1 entrent en hypobiose et leur pourcentage s'élève à 80-100% de la population parasitaire totale [29] (cf. Figure 3). Cette hypobiose est d'ordre physiologique et ne dépend pas de l'immunité de l'hôte [71, 105, 107]. Lorsque les larves sont à l'état quiescent, elles restent immobiles sur la paroi des cornets nasaux, entourée d'une membrane adhérente [53]. Il s'agit d'une diapause asynchrone car peu de L3 se développent simultanément, le pourcentage en L3 étant toujours plus faible que celui en L1 [96, 107] (cf. Figure 3). Lors d'infestations expérimentales répétées, la répartition du nombre de larves en fonction des stades s'est présentée comme suit: 88% de L1, 8% de L2 et 4% de L3. Ce profil correspond à des infestation au pâturage durant la même période [105].

La mue permettant le passage des L1 en L2 se situe au niveau de l'ethmoïde. Le développement des L2 est fonction de celui des L3 et de leur élimination ultérieure [96]. La transformation des L2 en L3 a lieu dans les sinus. Une fois la maturation des L3 achevée, celles-ci redescendent des sinus vers les fosses nasales afin d'être expulsées lors d'un éternuement. Une fois éliminées sur le sol, les L3 s'y enfouissent pour former une puppe en douze à vingt-quatre heures [25, 29, 51].

La durée de la phase interne varie en fonction de la saison et du pays. Lorsque les conditions optimales sont réunies, il faut environ quatre semaines pour une évolution complète du stade L1 au stade L3. Durant la mauvaise saison, la phase parasitaire peut se prolonger pendant plusieurs mois. La durée du cycle évolutif varie de deux mois et demi à près d'un an [25, 51, 96].

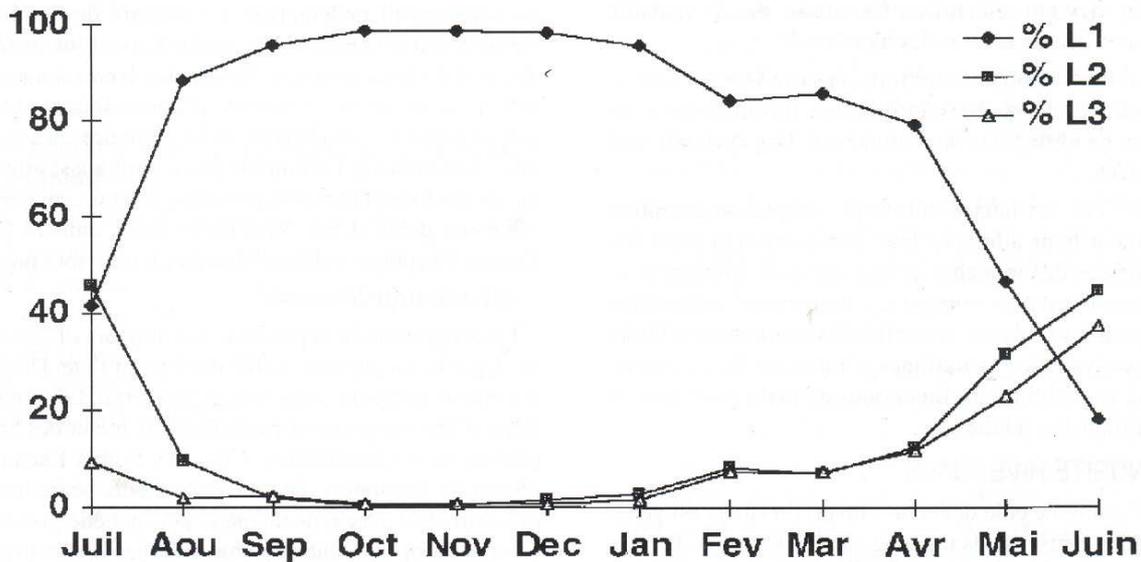


Figure 3: Cinétique de l'infestation par les divers stades parasitaires d'*Oestrus ovis* en Ariège [29].

3 Pathologie: l'oestrose ovine

3.1 Epidémiologie

L'oestrose ovine est une myiase des cavités nasales des petits ruminants. Elle est fréquente aussi bien chez le mouton que chez la chèvre. Les cerfs et les mouflons sont aussi réceptifs [29, 71]. Cette pathologie est banale dans les pays à climat méditerranéen ou tropical, avec des prévalences sérologiques pouvant atteindre 86,4% chez le mouton et 93,81% chez la chèvre en Afrique [26]. Une étude menée durant un an en Tunisie sur des agneaux a montré un degré d'infestation s'élevant à 93,63% [53]. Une autre étude réalisée au Sénégal sur une période de deux ans a constaté un pourcentage similaire (95, 75%) [76]. Sur une étude menée à partir de têtes d'ovins prélevées à l'abattoir de Pamiers (Ariège) pendant deux ans, 65 et 55% des animaux étaient infestés, avec des pics de prévalence durant l'été [107]. Les mêmes prélèvements menés à Pézenas (Hérault), ont montré une prévalence de 43,4% chez les ovins et de 28,4% chez les caprins [24]. Ces pourcentages ont aussi été retrouvés en Sicile, avec une prévalence de 55,8% chez des ovins [12].

Le nombre total de larves habituellement retrouvées lors des autopsies d'ovins adultes infestés naturellement reste inférieur à quinze, mais ce nombre peut-être plus élevé chez les agneaux. Chez les chèvres, la charge parasitaire reste inférieure à celle des moutons [27, 51]. Ceci a été retrouvé lors des prélèvements effectués à Pézenas montrant une moyenne de larves de 10,86 chez les moutons et de 5,35 chez les chèvres. De plus, le tableau clinique et les réactions cellulaires sont plus marqués chez les ovins. Ces résultats laissent présumer que les caprins pourrait être les hôtes spécifiques d'*O. ovis* puisqu'ils sont plus tolérants vis-à-vis du parasite [24, 25]. Ces différences ont également été constatées lors de deux essais expérimentaux, l'un sur des ovins [105], l'autre sur des caprins [35]. Après une infestation unique à l'aide de L1, les auteurs ont retrouvé après deux mois, un pourcentage d'installation de 34,5% chez les agneaux et de 8,3% chez les chevreaux.

La durée d'évolution d'*O. ovis* est variable. Dans les pays tempérés, une seule génération de mouche se développe, avec une diapause hivernale. Le nombre de L3 est maximum au printemps, l'adulte est présent en France de mi-juin à fin septembre [1, 24, 107]. En Sicile [12], en Tunisie [53] et au Maroc, les pourcentages de L3 sont uniformes tout au long de l'année. Ceci traduit un cycle continu, avec des mouches présentes du début à la fin de l'année, grâce à un climat favorable. Au Sénégal [76] et au Niger [100] le nombre de L3 reste faible durant la saison chaude et sèche (de mars à juin) et à la fin de la saison humide (octobre). Il ne s'agit pas ici d'une vraie hypobiose mais plutôt d'un ralentissement du développement.

Lors de leur élimination hors des cavités nasales, les L3 peuvent être dispersées sur de grandes étendues. Néanmoins, ces éjections se produisent à n'importe quel moment de la journée et donc n'importe où: les L3 éliminées en bergerie ne pourront parvenir à la pupaison, entraînant des pertes [25]. Les adultes se rassemblent dans des zones surélevées, lorsque l'ensoleillement est important. Il peut s'agir de fissures et d'interstices de murs [107]. Cette accumulation dans ces refuges permet d'attendre que le climat soit plus favorable [25].

Les femelles fécondées peuvent parcourir plusieurs kilomètres afin de trouver des hôtes. Ce sont elles qui sont à l'origine de l'extension possible des foyers d'oestrose [1]. L'adulte est inactif tôt le matin et tard le soir [27]. Le parasite est absent dans les alpages d'altitude supérieure à 1200 mètres [29].

Il existe aussi de l'oestrose humaine. Il s'agit principalement d'une ophtalmomyiase, causée par la ponte accidentelle de L1 au niveau des yeux. Elle est caractérisée par une conjonctivite, un écoulement lacrymal, souvent unilatéral. Entre 1980 et 1994, 107 cas d'ophtalmomyiase dus à des L1 d'*O. ovis* ont pu être recensés, dont huit au Chili, un en Chine,

quinze en France, sept en Egypte...Sa répartition est par conséquent mondiale. Il peut se produire que les mouches pondent leurs larves au niveau du nez ou de la bouche. Dans ces cas-là, il est décrit des écoulements nasaux et de la toux [30, 91].

3.2 Manifestations cliniques

3.2.1 Le harcèlement par les premières mouches au printemps

Les premières mouches sortent des pupes vers les mois d'avril-mai en France. Une fois les femelles fécondées, celles-ci partent à la recherche d'hôtes pour déposer leurs larves de premier âge à l'entrée des cavités nasales. Les adultes harcèlent les animaux qui se regroupent et restent le nez vers le sol ou dissimulé dans la toison de leurs congénères. Lorsque les mouches ne sont plus actives, les moutons se répartissent uniformément sur le pâturage. Excepté ces modifications de comportement, les animaux ne présentent pas de signes cliniques [29, 71].

3.2.2 La rhinite estivale

La rhinite se traduit par du jetage et des éternuements répétés. Elle débute quelques semaines après les premières pontes. Les moutons sont agités, et présentent un jetage d'abord séreux puis séro-muqueux, qui se transforme par la suite en jetage muco-purulent voire purulent. Il ne dépend pas de l'intensité de la ponte mais de la réaction individuelle et des surinfections bactériennes concomitantes.

Il arrive que les animaux aient les narines totalement obstruées par l'agglutination de poussière, de débris végétaux avec le mucus ou le pus qui s'écoulent du nez. L'obstruction totale est courante dans les régions sèches ou sahéliennes, et oblige les petits ruminants à respirer par la bouche. Ceci interfère avec l'ingestion et la rumination, entraînant de sérieux problèmes nutritionnels. A ce stade de la maladie, il se peut que l'animal décède. Lorsque l'infestation est très importante il est possible de constater des troubles nerveux. Il s'agit d'incoordinations motrices, de pertes d'équilibre, de nystagmus ou d'amaurose. Les signes cliniques régressent voire disparaissent en fin de saison estivale, au moment où le climat ne permet plus la survie des mouches adultes [29, 71].

3.2.3 La sinusite hivernale

L'oestrose est généralement silencieuse durant l'automne et le début de l'hiver, seuls quelques éternuements et un jetage discret sont à noter. Au moment de la reprise du développement des L1, vers janvier-février pour le sud de la France, le jetage redevient

abondant et muco-purulent voire purulent. Les narines ne sont pas obstruées car les animaux sont habituellement en bergerie et seuls quelques brins de pailles se collent au jetage. Les étternuements sont moins fréquents que durant l'été, mais ils peuvent survenir en une longue série de plusieurs minutes, épuisante pour l'animal, avec rejet possible d'une L3. Un bruit de cornage est parfois audible en relation avec la présence de nombreuses larves dans les sinus et les cavités nasales ainsi qu'avec l'œdème de la muqueuse.

Il arrive fréquemment que les animaux présentent des troubles locomoteurs ou nerveux ("faux tournis"), avec un port de tête anormal, s'appuyant contre les murs ou les râteliers. Vers la fin de l'hiver et au début du printemps les symptômes s'atténuent, notamment après l'élimination de toutes les L3 [29, 71].

3.3 Lésions

3.3.1 Le harcèlement par les premières mouches au printemps

L'agression par les premières mouches au début du printemps ne s'accompagne pas de lésions notables [71].

3.3.2 La rhinite estivale

La muqueuse pituitaire présente une couleur rouge vif, et elle est légèrement oedématisée. Il est à noter que l'importance des lésions n'est pas forcément proportionnelle à la charge parasitaire. Une réaction d'hypersensibilité de type 1 (HS1) est à l'origine de cette inflammation, avec en particulier la présence de mastocytes [27, 71].

3.3.3 La sinusite hivernale

La muqueuse pituitaire est toujours congestionnée mais de façon beaucoup plus faible que durant l'été. Sa couleur est devenue rouge foncé et terne. Les sinus sont remplis de pus, accompagnés parfois d'abcès [71].

3.3.4 Les complications

Des surinfections bactériennes, comme des bronchopneumonies infectieuses ou des pasteurelloses, sont possibles. Chez la chèvre, des complications de pleuropneumonie ont été signalées. Dans ces cas là, la toux remplace les étternuements et la fièvre fait son apparition [71]. En Angola, il a été constaté lors d'autopsies de moutons atteints de pleuropneumonie infectieuse une co-infestation systématique avec de l'oestrose [43]. Ces foyers de pneumonie seraient causés par l'aspiration des mucosités de la région naso-frontale dues à l'oestrose vers

les poumons. Dans d'autres cas, il a été observé des lésions de pneumonie interstitielle, avec de l'emphysème, de l'atélectasie et des adhérences pleurales [16]. La pneumonie interstitielle semble être due à une aspiration vers les poumons d'antigènes larvaires induisant une sensibilisation des mastocytes pulmonaires. Il a été suggéré que ces derniers pourraient induire une fibrose pulmonaire, la sérotonine et l'histamine libérées de leurs granules pouvant stimuler la croissance des fibroblastes [27]. Une épreuve thérapeutique au closantel a été menée chez des ovins aux pâturages afin d'observer la présence ou non de lésions pulmonaires lors d'oestrose. La pneumonie interstitielle a été la lésion la plus couramment rencontrée, mais sa présence a été équivalente entre les deux groupes d'animaux [31].

Des abcès peuvent aussi être présents au niveau des poumons, liés au foyer pyogène naso-sinusal [43, 71]. Lors de l'étude réalisée par Dorchies et al [31], la prévalence des abcès pulmonaires a été significativement réduite chez les moutons traités au closantel (31% contre 78% dans le lot non traité).

Enfin, une autre étude a tenté de vérifier s'il existait une corrélation entre l'oestrose et la présence d'adénocarcinomes nasaux [23]. Aucune relation n'a été mise en évidence entre l'incidence des tumeurs et l'infestation par *O. ovis*.

3.4 Pathogénie

3.4.1 Action mécanique et traumatique

Le plus souvent, la population larvaire est considérée comme responsable des lésions observées lors d'oestrose. Les nombreuses épines et les crochets acérés que possèdent les larves, en particulier les L1, sont à l'origine d'une irritation mécanique de la muqueuse pituitaire lors de la migration dans les cavités nasales [107].

Les lésions les plus sévères se situent dans les sinus, où se déroule la mue entre L2 et L3. Ces modifications sont causées non seulement par l'action mécanique des L3, plus marquée à cause de leur taille malgré un équipement en épines moins fourni que les L1, mais aussi par la sécrétion de protéases [16, 71].

Il est possible de constater une hyperplasie et une métaplasie des cellules épithéliales, accompagnées de l'abrasion de l'escalator mucociliaire [16]. De plus, l'épithélium présente une desquamation modérée. Cette perte cellulaire est compensée par l'intensité accrue de la prolifération cellulaire. L'épitope Ki-67, marqueur de la prolifération cellulaire, permet d'établir un index de prolifération. Le pourcentage de cellules marquées chez les animaux infestés est doublé par rapport aux animaux indemnes [74].

Cependant, l'infestation expérimentale d'agneaux indemnes, par 50 L1, en une seule administration, ne déclenche aucun signe clinique, contrairement à des infestations répétées. Ce constat suggère que le rôle mécanique et traumatique des oestres n'est pas primordial dans la pathogénie des infestations [71].

3.4.2 Rôle allergisant et phénomènes d'hypersensibilité

Les arthropodes hématophages possèdent une salive allergisante qui induit des phénomènes d'hypersensibilité, fondés sur une réaction des mastocytes et des éosinophiles (GE) comme populations cellulaires dominantes [71].

La faible importance des symptômes lors de primo-infestation, malgré la présence des larves, l'œdème et la congestion intense de la pituitaire, malgré l'absence de parasites chez certains animaux en pleine saison de ponte des mouches laissent supposer la participation d'une forte composante allergique dans la pathogénie des infestations [71].

Ces mécanismes d'HS1, ou immédiate, ont déjà été constatés pour d'autres myiases, comme celle à *Lucilia cuprina* [63]. Cette hypothèse de réaction allergique liée à l'oestrose est confortée par le recrutement accentué de cellules inflammatoires dans la muqueuse pituitaire lors d'infestation [27]. Certains travaux ont montré des différences significatives dans la distribution des mastocytes et des éosinophiles selon leurs localisations histologiques (muqueuse, chorion inter-glandulaire, sous-muqueuse) et leurs positions anatomiques (septum, cornets, sinus) en relation avec le statut parasitologique. Les populations cellulaires ont été plus importantes dans le chorion sous-épithélial, en particulier dans les sinus, avec un fort recrutement chez les animaux parasités par rapport aux témoins indemnes [75].

3.4.3 Rôle immunomodulateur des oestres

Des études ont été réalisées avec pour objectif d'explorer l'action des extraits bruts d'antigènes de L1 ou de L2 d'oestres sur la production de monoxyde d'azote (NO) par les macrophages [34]. Le NO est impliqué dans la défense de l'organisme contre les parasites, notamment contre *O. ovis*, il entraîne également des dommages tissulaires. Le NO agit sur les enzymes possédant un noyau fer-soufre (cycle de krepes) et sur la chaîne mitochondriale de transport d'électron entre autre. La production du NO permet de mesurer la réactivité des macrophages. Les extraits de L1 ont diminué de manière significative la production de NO contrairement aux extraits de L2, qui l'ont stimulée au départ. Toutefois, cette stimulation a diminué au fur et à mesure des réinfestations, tandis que l'éosinophilie sanguine a augmenté. La diminution de la production de NO par l'extrait des L1 pourrait contribuer à faciliter la

survie du parasite durant son hypobiose en créant des conditions environnementales favorables. Par ailleurs, les L2 seraient capables d'échapper à la réponse inflammatoire de l'hôte en inhibant les phénomènes d'hypersensibilité, par la production de cytokines de type Th1 par les macrophages, empêchant ainsi une réponse de type Th2. Les produits d'excrétion-sécrétion (E/S) larvaires seraient par conséquent responsables de l'orientation de la réponse immunitaire de l'animal infesté.

Il a été montré que les protéases excrétées et sécrétées par les divers stades larvaires possèdent des propriétés protéasiques permettant de cliver les anticorps (Ac) [93]. De plus, une étude réalisée pour analyser la composition des sécrétions des glandes salivaires a découvert la présence de quatre groupes d'enzymes: des phosphatases, des estérases, des glucosidases et des protéases [3]. Les protéases appartiennent à la sous-classe des sérines. Ces enzymes possèdent une activité maximale lorsque la valeur du pH est autour de 8. Néanmoins, l'activité enzymatique est plus importante avec les extraits du tube digestif (TD) et les produits E/S.

Enfin, il a été démontré que les antigènes (Ag) parasitaires sont localement responsables d'une immunomodulation qui se traduit par une diminution de densité des lymphocytes [72].

B Teladorsagia circumcincta

1 Classification et morphologie

T. circumcincta est un nématode gastro-intestinal, appartenant à la famille des Trichostrongylidae et à la sous-famille des Trichostrongylinés.

Les vers adultes présentent un corps de forme cylindrique de couleur brunâtre, effilé aux deux extrémités et de section ronde, recouvert d'une cuticule translucide. Ils mesurent entre sept et douze millimètres de long sur cent à cent soixante microns de large. Les sexes sont séparés avec un dimorphisme sexuel flagrant: les mâles sont plus petits que les femelles et possèdent une bourse copulatrice très développée à l'extrémité postérieure munie de spicules courts, rectilignes avec une extrémité trifurquée. Cette bourse caudale est formée de deux grands lobes latéraux réunis par un petit lobe dorso-médian. La femelle présente une languette supra-vulvaire et une queue terminée en pointe. Les vers adultes possèdent une ébauche de capsule buccale avec des papilles cervicales [38, 39, 40, 49, 50].

Les œufs sont de type trichostrongle, avec une taille comprise entre soixante et cent dix microns et une coque mince entourant une morula. Les deux pôles sont symétriques avec des côtés bombés [39, 49].

Les L1 sont munies d'un appareil valvulaire rhabditoïde [39, 49].

2 Biologie

2.1 Localisation et régime alimentaire

Les larves infestantes de *Teladorsagia* migrent vers les glandes gastriques de la muqueuse abomasale. Les adultes sont présents dans la lumière de la caillette, collés à la muqueuse [49]. La localisation du parasite reste spécifique, celui-ci restant à la surface des muqueuses, près des sécrétions de mucus, là où le pH est proche de la neutralité [84].

Il s'agit d'un nématode histophage, et quelques auteurs signalent également de faibles spoliations sanguines [39].

2.2 Cycle évolutif

Le cycle de développement de *T. circumcincta* est un cycle évolutif monoxène direct comprenant une phase externe libre au pâturage et une phase endogène parasite dans le tube digestif de l'hôte (cf. Figure 4).

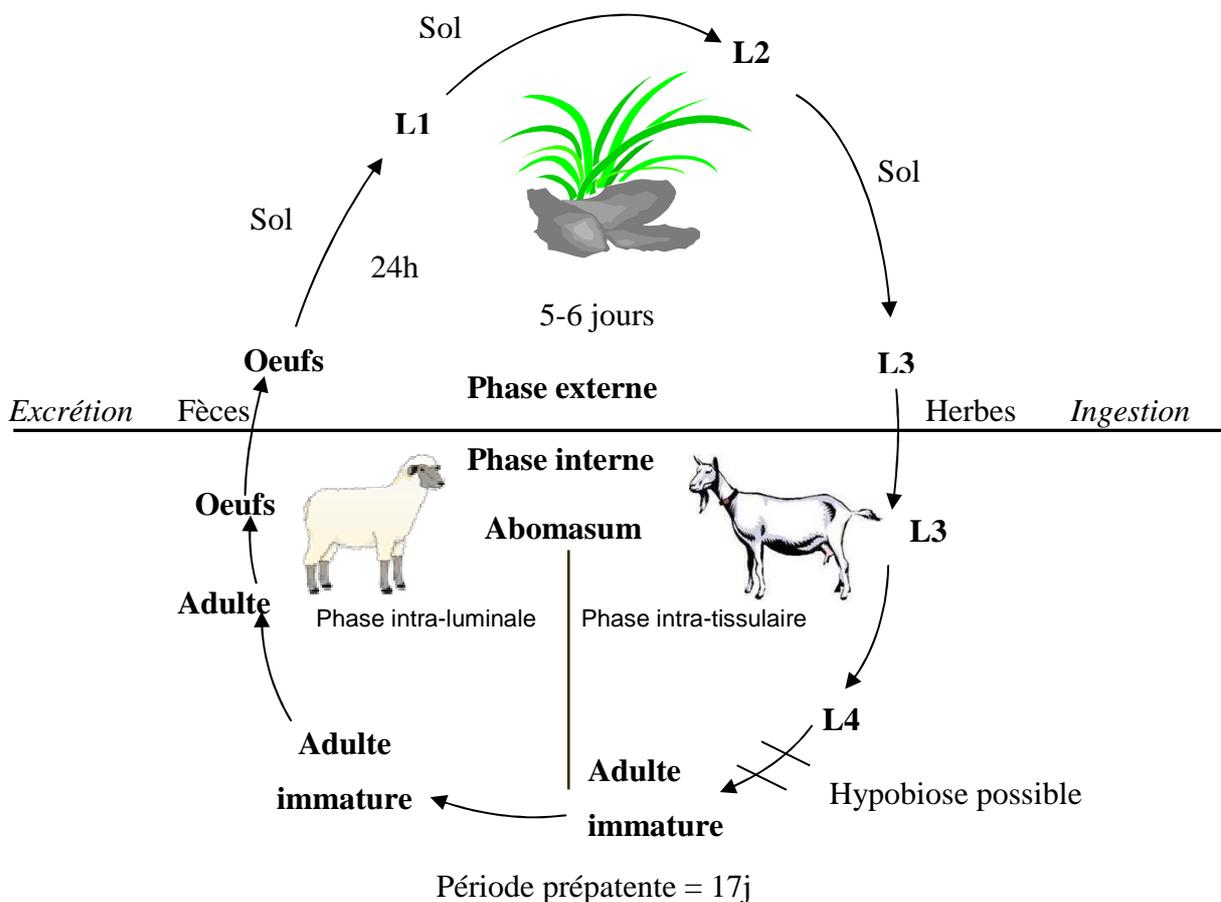


Figure 4: Cycle parasitaire de *Teladorsagia circumcincta* [16, 49].

La phase externe du cycle débute avec l'excrétion d'un œuf au stade morula dans les fèces, puis l'éclosion d'une L1 après vingt-quatre heures, suivie de deux mues donnant d'abord une L2 puis une L3. Cette phase est primordiale car elle reste indispensable pour l'acquisition du stade infestant qui correspond au troisième stade larvaire. Lorsque les conditions sont optimales, c'est-à-dire avec une température comprise entre vingt-deux et vingt-cinq degrés, suffisamment d'humidité et d'oxygène, le développement des stades larvaires dure cinq à six jours. Il est à noter que les œufs de *T. circumcincta* sont capables de se développer et d'éclore à des températures proches de cinq degrés. La L1 est une larve dite rhabditoïde car elle possède à la base de son œsophage une valvule tricuspide. Elle se nourrit immédiatement après son éclosion de bactéries, de champignons et de végétaux. La L2 présente une croissance rapide grâce à sa nutrition importante. La L3 est douée d'un phototropisme et d'un géotropisme négatif, d'un hygrotropisme positif. Elle est dite strongyloïde (absence de valvule) et est contenue dans l'exuvie de la L2. La L3 vit sur les réserves accumulées par les stades précédents, elle ne se nourrit pas mais possède une grande mobilité. La pénétration de la larve infestante chez l'animal se réalise de manière passive puisque celle-ci est ingérée en même temps que l'herbe du pâturage. [39, 40, 41, 49].

La phase interne du cycle commence lorsque la chèvre ou le mouton, hôte définitif, ingère la L3 sur un pâturage contaminé. Celle-ci se retrouve avec le contenu digestif dans le rumen, où elle perd l'exuvie de la L2 qui l'entoure. Ensuite, dans l'abomasum, elle passe dans la paroi pour se loger dans l'épithélium, au niveau des glandes à mucus, où elle mue en larve de stade 4 (L4). Une deuxième mue a lieu dans la paroi digestive, donnant un pré-adulte, qui ressort vers la lumière digestive et devient rapidement un adulte. Après la reproduction, la femelle pond des œufs qui sont excrétés avec les fèces. La période prépatente est de dix-sept jours.

Le cycle classique dure donc environ trois semaines. Cependant, l'évolution peut être stoppée par l'entrée en hypobiose des L4 si les conditions du milieu sont défavorables. La maturation des larves peut reprendre quatre à six mois plus tard. Pendant l'hypobiose, le métabolisme cellulaire des larves est ralenti mais non stoppé complètement. [39, 49, 50].

3 Pathologie: strongylose digestive (ostertagiose)

3.1 Epidémiologie

T. circumcincta est l'un des principaux parasites responsables d'importantes pertes économiques en élevage dans les régions tempérées du globe [42].

La pathologie associée est connue sous le nom d'ostertagiose des petits ruminants. Comme pour tous les strongles, le développement de *T. circumcincta* nécessite un apport suffisant en oxygène, c'est pourquoi les strongyloses sont des infestations de pâturages, et non d'intérieur. Néanmoins, elles peuvent toucher des animaux en stabulation lorsque ceux-ci sont nourris avec un fourrage vert issu de prairies contaminées [39].

Le climat a une influence directe sur le développement des larves: lorsqu' il est chaud et pluvieux, il facilite le développement et la survie des larves tandis qu'à l'inverse la sécheresse et le soleil sont néfastes pour les larves et les œufs. Les L3 sont plus résistantes que les autres stades de la phase externe du cycle [49]. En général, elles peuvent survivre entre dix et quinze semaines lors de conditions optimales, et peuvent survivre durant la période hivernale [39].

Le pouvoir infestant peut varier en fonction de la prolificité des femelles. En effet, plus le nombre de parasites chez l'hôte est élevé, plus la ponte par les femelles est faible. La ponte diminue tandis que les vers vieillissent [39, 88]. De plus, la fécondité des femelles est étroitement associée à leur taille. En effet, lorsque la longueur des femelles augmente, leur fécondité fait de même [90].

Les sources de contamination ne sont pas uniquement les animaux présentant des signes cliniques: il existe aussi des porteurs sains, même si leur excrétion est moindre [39]. Les animaux les plus sensibles sont les agneaux et les chevreaux lors de leur première année de pâture, âgés de moins de deux ans [49]. De plus, le sevrage représente une période à risque puisque c'est à partir de ce moment là que les jeunes animaux vont se contaminer par l'ingestion d'herbe [39].

La sous-nutrition et les autres infestations parasitaires (douve...) sont des facteurs prédisposants susceptibles d'entraîner une morbidité supérieure et une plus grande sévérité des symptômes. A l'inverse, lorsque les animaux sont supplémentés en protéines, les signes cliniques ou subcliniques sont réduits [14, 49].

La contamination des pâturages est due à l'excrétion fécale d'œufs de trichostrongles, la contamination maximale ayant lieu au printemps. L'infestation des pâturages par les L3 suit une dynamique saisonnière (cf. Figure 5). Cette contamination reste présente tout au long de la saison de pâture [49]. A la sortie de l'hiver, les pâturages sont peu contaminés mais l'infestation est relancée au début du printemps grâce aux larves ayant survécues pendant l'hiver et par la recontamination des prairies par les animaux porteurs de parasites. Cette infestation va croissante jusqu'à atteindre un maximum à la fin du printemps [39]. En effet, autour de la mise-bas, l'excrétion fécale présente un pic chez les femelles, d'où une plus forte contamination des pâturages. Ce pic a lieu deux semaines avant et six semaines après la

parturition, ce qui augmente le risque de contamination des jeunes animaux lorsqu'ils se nourrissent d'herbes. La génération d'animaux nouveau-nés, fortement susceptibles, entraîne une intense émission d'œufs, aboutissant à une accumulation sur les pâturages de larves infestantes au milieu de l'été. Le développement larvaire reprend ensuite de manière importante au début de l'automne, lorsque les conditions climatiques sont favorables, à partir des nouveaux œufs émis dans les fèces et les éléments parasitaires inhibés durant la période sèche. L'infestation devient plus importante et concentrée lorsque les animaux se regroupent autour des points d'eau lors de sécheresse [49].

L'infestation des herbivores sera plus importante le matin et le soir, lorsque l'ensoleillement n'est pas trop fort et que la rosée est présente sur les végétaux. Durant ces périodes, les L3 se localisent sur les parties supérieures des plantes. Ce risque prépondérant de contamination est dû à l'affinité des L3 pour l'humidité et l'ombre [39, 41].

De même, le surpeuplement des prairies entraîne une élévation du taux de contamination des végétaux, ainsi que l'augmentation du piétinement des fèces qui facilite le développement des œufs. La végétation quant à elle influence aussi l'infestation des animaux. En effet, lorsque celle-ci est abondante, le taux d'infestation reste faible, à l'inverse si les prairies sont "rases" les animaux ont tendance à tondre et donc à absorber plus de larves [29].

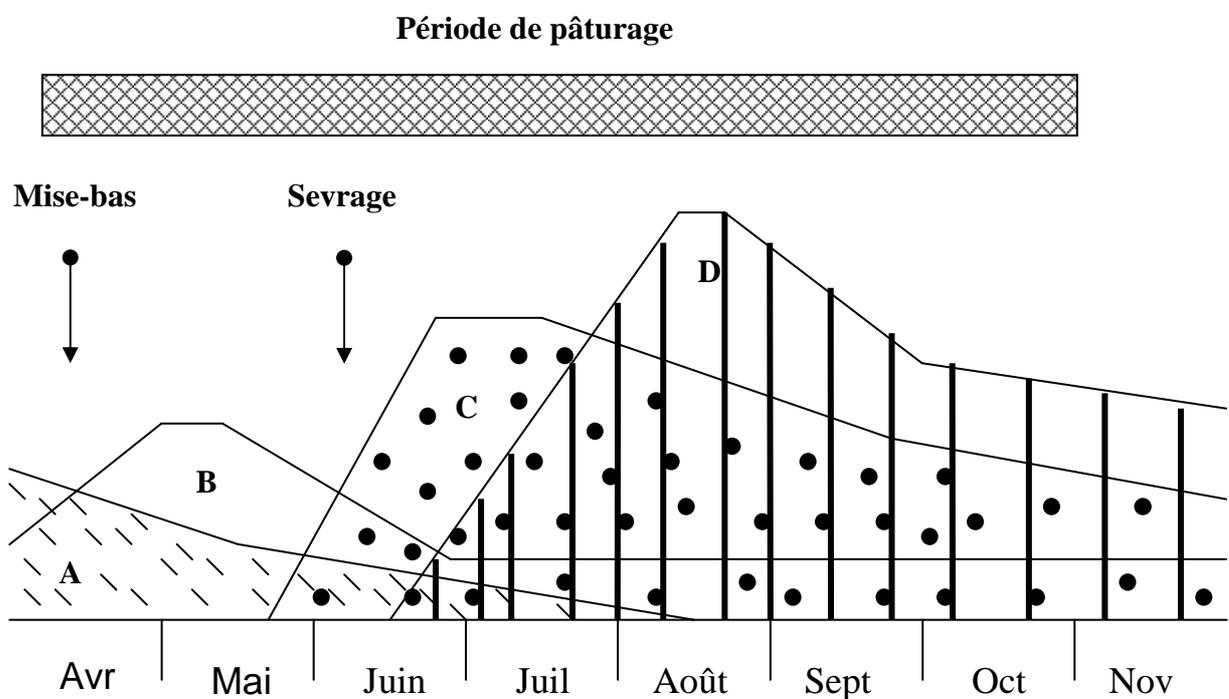


Figure 5: Illustration de la dynamique saisonnière de l'infestation des pâturages par les parasites gastro-intestinaux des petits ruminants dans les zones tempérées [49].

Légende: A- L3 qui survivent sur les pâturages durant la période hivernale. Leur nombre et leur potentiel infectieux décroissent progressivement au cours du printemps.

B- Le pic d'excrétion fécale autour de la mise-bas, (deux semaines précédent et les six à huit semaines suivant le part). Celui-ci augmente la contamination des pâtures et le risque de transmission des vers à la génération de petits ruminants née au printemps.

C- L'excrétion fécale des agneaux présente un pic entraînant une contamination majeure du milieu en œufs.

D- Présence des larves infestantes sur les pâtures. Il est possible d'observer l'accumulation des L3 sur le pâturage à partir de la moitié de l'été par une augmentation soudaine de leur nombre et de constater l'importance du niveau d'infestation en L3 des pâturages pendant la seconde partie de la saison de pâture.

3.2 Manifestations cliniques

On distingue deux types d'ostertagiose:

-L'ostertagiose estivale: sur des femelles pleines ou ayant mis-bas, ou des agneaux en finition, liée à des ingestions de L3 qui se sont développées en adultes.

- L'ostertagiose hivernale: sur des animaux en première ou en deuxième saison de pâturage, après des ingestions massives de L3 à la fin de la première saison de pâture. Cela se traduit par une réactivation synchrone des larves entrées en hypobiose à la fin de l'hiver. Il s'agit de formes plus sévères pouvant déboucher sur des mortalités [49].

Les symptômes apparaissent environ un mois après la mise au pré [39]. Les animaux présentent une diminution de l'appétit, parfois accompagné de pica. Le syndrome principal est une gastro-entérite, avec une diarrhée profuse, abondante entraînant rapidement un état de déshydratation et une hypoprotéïnémie. Les animaux perdent du poids et leur production diminue. L'évolution des strongyloses est généralement chronique, avec un état général des animaux qui se dégrade de plus en plus. L'ostertagiose peut aller jusqu'au décès de l'animal [39, 50]. Il y a également le développement d'œdèmes périphériques, comme un œdème sous maxillaire décrit sous le terme "signe de la bouteille". Il est également parfois possible de constater des anémies, qui restent néanmoins légères [49].

Il est possible d'observer des formes sub-cliniques avec des retards de croissances, de l'inappétence, de l'adynamie uniquement dus aux perturbations métaboliques dont les vers sont responsables [45].

3.3 Lésions

Lors d'évolution chronique les carcasses présentent des lésions générales d'hydrocachexie avec des muscles atrophiés, humides, pâles, une absence de graisse accompagnée d'infiltrations séreuses [39].

Les lésions locales de la caillette sont:

-Gastrite chronique: épaissement de la muqueuse, avec une coloration grisâtre, due aux oedèmes et aux infiltrations cellulaires, notamment par des cellules inflammatoire (neutrophiles (GN), GE, lymphocytes). Il y a hyperplasie des cellules glandulaires à mucus et dilatation des glandes.

-Gastrite nodulaire: la muqueuse est parsemée de nodules blanchâtres, de un à quatre millimètres de diamètre, percés d'un orifice central. Ces nodules renferment les stades L3 ou L4. Des réactions inflammatoires subaiguës peuvent être observées au niveau de ces nodules, avec des infiltrations lymphocytaires et éosinophiliques.

-Des cellules épithéliales aplaties remplacent les cellules glandulaires à mucus, et présentent des inclusions de mucus avec une surface apicale irrégulière.

-Les granules présents dans les cellules principales ont leur nombre diminué.

-Les cellules pariétales contiennent des espaces libres bordés par des microvillosités, elles sont aplaties et ont perdu l'intégrité de leur membrane apicale. De plus, leurs canalicules sont dilatés. Parfois le nombre de mitochondries est réduit [39, 49, 84, 85]

Lors d'infestation par des vers adultes introduits directement dans l'abomasum, il a été constaté une hyperplasie des cellules glandulaires à mucus et une réduction de la densité des cellules pariétales avec présence de vacuoles à l'intérieur des cellules restantes. Le nombre de cellules principales reste identique aux témoins [85].

Les modifications cellulaires de la muqueuse fundique rencontrées lors d'ostertagiose pourraient être mises en relation avec une augmentation de deux facteurs de croissance, les Transforming Growth Factor α (TGF α) et l'Epidermal Growth Factor (EGF) [42].

3.4 Pathogénie

Lors d'ostertagiose, les larves et les adultes peuvent être tous les deux pathogéniques, selon des mécanismes différents [49]. De plus, la réponse de l'hôte contre l'invasion des parasites peut elle aussi devenir nocive pour l'organisme, avec des dommages tissulaires causés par les GE et GN [84].

Une étude menée sur des agneaux [89], a montré une corrélation positive entre la concentration sérique en pepsinogène, paramètre pris pour évaluer la sévérité de l'infestation,

et la longueur des vers. Il semblerait que la pathogénie soit liée à la taille des vers plutôt qu'à leur nombre. En effet, plus les vers sont larges, plus ils entraînent de dommages au sein des jonctions épithéliales et plus ils libèrent de produits E/S. Par conséquent, la gravité de l'infestation par *T. circumcincta* chez des agneaux est fortement associée à la taille des vers; et celle-ci peut être utilisée afin de suivre la fertilité de ces derniers.

3.4.1 Action mécanique et traumatique

Les larves pénètrent la paroi digestive, déclenchant une inflammation de la caillette. Lors de l'émergence des formes pré-adulte, les glandes parasitées sont détruites. De plus, de par leurs mouvements, les adultes, collés à la muqueuse de l'abomasum, entraînent de l'irritation. Ces actions pathogènes traumatiques peuvent, sur le long terme, aboutir à la destruction de portions plus ou moins étendues de l'épithélium digestif [39, 49].

3.4.2 Perturbations physiopathologiques

Les perturbations physiopathologiques concernent principalement la physiologie digestive de l'hôte. En effet, par différents mécanismes à différents niveaux *Teladorsagia* perturbe les dynamiques digestives (Cf. Figure 6).

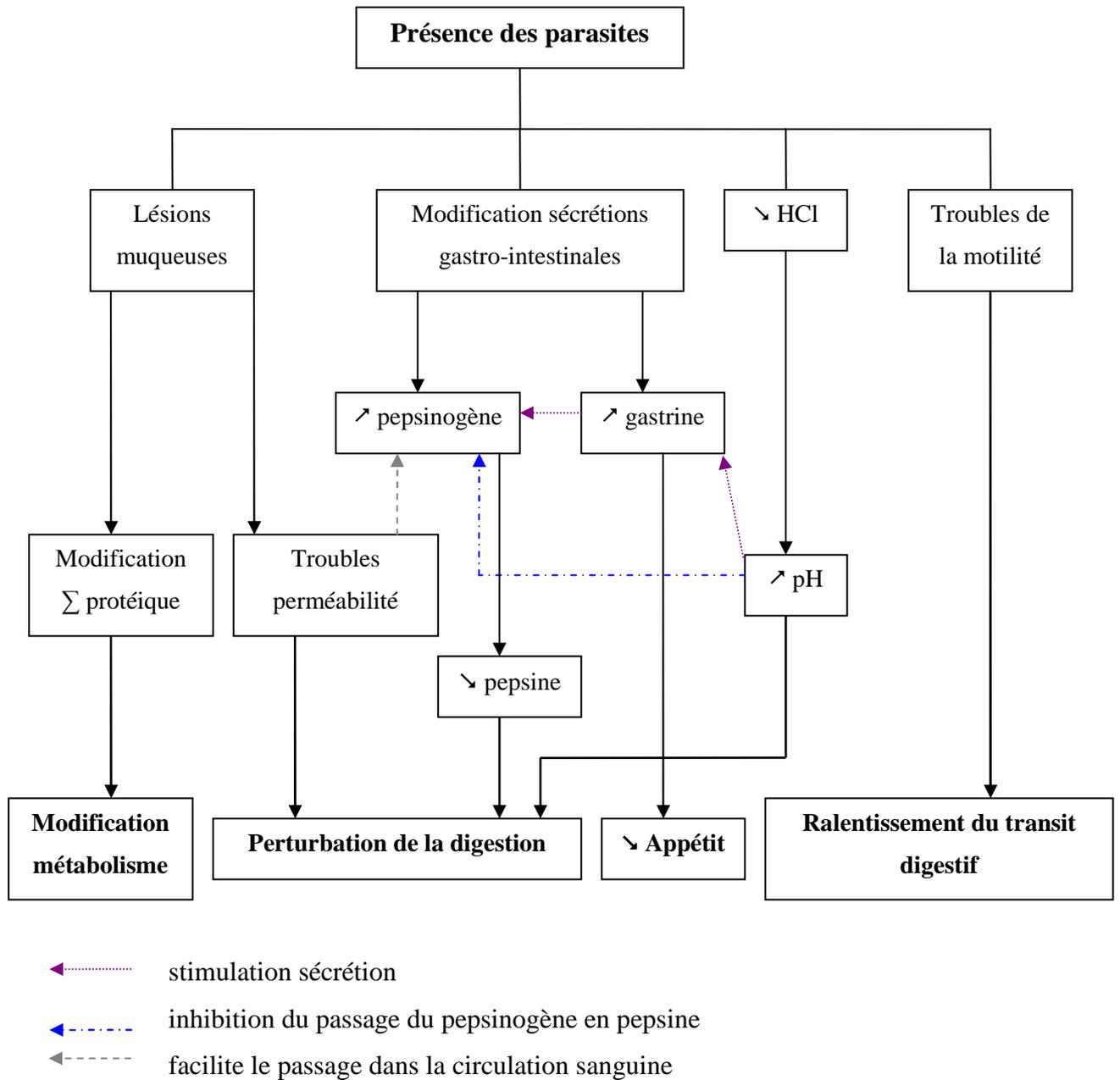


Figure 6: Schéma récapitulatif des perturbations physiologiques chez l'hôte dues à *Teladorsagia*.

a Prise alimentaire

Les animaux infestés par des trichostrongles digestifs présentent une diminution de l'appétit. Cette réduction de la prise alimentaire représente l'une des caractéristiques principales des infestations par ces parasites [42, 45]. Cette baisse d'appétit peut entraîner une différence de poids de l'ordre de 60 à 73 % entre les animaux infestés et les témoins, que se soit chez des ovins ou des bovins [42, 92].

Cette perte d'appétit serait liée à une élévation de la concentration sanguine en gastrine, notamment chez des bovins infestés par *Ostertagia*. Une étude menée sur des bovins non

parasités auxquels on a administré de l'oméprazole (inhibiteur de la sécrétion d'acide gastrique) a démontré une augmentation de la gastrine dans le sang accompagnée d'une baisse de 40 % de l'ingestion [42].

b Perméabilité et motricité digestives

Les passages successifs des larves à travers la paroi entraînent des lésions de la muqueuse avec relâchement des espaces intercellulaires, entraînant des modifications de la perméabilité des épithéliums [45].

La présence des parasites et leurs produits d'E/S ralentissent le transit digestif par une diminution des contractions intestinales par anesthésie locale et désorganisation des profils moteurs [42, 45].

c Sécrétion acide

Le pH intra-luminal s'alcalinise suite à une diminution de la sécrétion d'acide chlorhydrique (HCl). Cette chute de la sécrétion d'HCl pourrait avoir trois origines possibles:

-Mécanique, liée à la présence des vers dans la caillette qui détruiraient les cellules pariétales sécrétrices d'HCl [42, 49].

-Chimique, liée aux produits E/S libérés par les parasites [45].

-Inflammatoire, certaines cytokines sécrétées par les granulocytes sont capables d'inhiber les sécrétions acides [83].

d Sécrétion de gastrine

La sécrétion de gastrine par les cellules argentaffines augmente lors d'infestations, déclenchant une hypergastrinémie. En effet, comme le pH augmente, la sécrétion de gastrine fait de même afin de maintenir le pH acide. Cette élévation de pH ou de gastrine serait aussi induite directement par la présence des vers.

Pour stimuler les sécrétions acides du fundus, la gastrine possède une action trophique sur les cellules pariétales de l'abomasum, sans doute responsable de l'hypertrophie de la muqueuse épithéliale associée aux ostertagioses [42].

e Sécrétion de pepsinogène

Le pepsinogène est la proenzyme de la pepsine, une protéase intervenant dans la première étape de la digestion au niveau stomacal. Celui-ci est sécrété par les cellules principales du fundus. Sa transformation est spontanée lorsque le pH est acide ($\text{pH} < 6$), et est

dépendante de la valeur du pH (plus celui-ci est acide, plus vite le pepsinogène se transforme) [86]. Par conséquent, le pepsinogène s'accumule dans la lumière digestive lorsque le pH augmente. Il traverse ensuite l'épithélium fragilisé dont la perméabilité est accentuée. Il se retrouve ainsi dans la circulation sanguine, d'où une augmentation de la concentration sanguine en pepsinogène. De plus, la gastrine stimule sa sécrétion, et la présence des parasites semble aussi jouer un rôle direct dans cette accumulation de pepsinogène sanguin [42, 45, 49, 89].

Ces trois paramètres (gastrine, pH stomacal et pepsinogène), évolue différemment suivant le type d'infestation: Lawton et al [59] ont constaté une élévation rapide lors d'infestations par des adultes directement déposés dans la caillette, de l'ordre de quelques heures pour le pepsinogène et d'une journée pour les deux autres. Cette hausse est plus lente avec une infestation par des larves puisqu'il faut au minimum quatre jours avant l'apparition de ces changements, le temps que les larves atteignent les glandes et réalisent leur troisième mue. L'évolution des ces trois variables présente deux pics, l'un vers cinq à six jours post-infestation, correspondant sans doute à l'émergence des L4; et l'autre douze à quinze jours après l'infestation, au moment de l'émergence des formes immatures et de l'apparition des vers adultes. Une autre étude a obtenu le même effet avec un délai plus long, de l'ordre de plusieurs jours, pour l'apparition des modifications sécrétoire et morphologique lors d'infestation par des L3 [84]. Ces changements ont lieu lorsque le parasite n'est plus confiné dans les glandes.

Pour résumer, les trois principaux paramètres suivis lors d'études des trichostrongyloses abomasales présentent une augmentation de la concentration sérique en pepsinogène et en gastrine, et du pH abomasal.

f Métabolisme digestif

Toutes ces modifications se traduisent par une perturbation de la digestion: ralentissement du transit digestif, mauvaise digestibilité des aliments, mauvaise absorption des nutriments. Cela se répercute au niveau des glucides par une diminution de la digestibilité des polysides et l'inflammation de la paroi digestive perturbe l'absorption du glucose. Le métabolisme des protides est lui aussi modifié, avec une baisse du taux de digestibilité. Il existe aussi un déséquilibre de la protéinémie avec une hypoalbuminémie et une hyperglobulinémie [39, 49]. De plus, le renouvellement des cellules du tractus digestif lésé devient prioritaire sur le besoin en protéines des productions, des muscles [45]. Ceci accroît

les pertes zootechniques. La dégradation des lipides n'est pas totalement réalisée du fait de la carence en glucose. L'équilibre en sels minéraux et en vitamines est modifié par les pertes excessives dues aux diarrhées [39].

3.4.3 Rôle allergisant et phénomènes d'hypersensibilité

L'infestation par des nématodes gastro-intestinaux se traduit par une augmentation au niveau tissulaire du nombre d'éosinophiles, de mastocytes, de neutrophiles traduisant une réaction d'hypersensibilité [6, 44, 84]. La dégranulation de ces effecteurs de la RI peut parfois être démesurée et entraîner des conséquences nocives pour l'organisme. C'est notamment le cas avec la gastrite oedémateuse, rencontrée chez des animaux adultes, précédemment sensibilisés avec des vers [39].

Scott et al [84] ont constaté durant leur expérimentation un lien temporel entre l'influx de cellules inflammatoires et l'apparition d'altérations morphologiques et fonctionnelles au niveau de la paroi digestive.

Il existe un processus d'auto-libération (ou self-cure) rare, correspondant à une élimination rapide, soudaine des parasites se concluant par une stérilisation de l'animal. Cela a surtout lieu au printemps, d'où une diminution de l'excrétion d'oeufs sur les pâturages durant cette période. Ce phénomène est directement lié aux surinfestations. Il peut être observé chez des individus de tout âge. Cette auto-stérilisation serait due à un phénomène allergique envers les Ag libérés au moment de la sortie de la L3 de son exuvie et de la mue entre L3 et L4. Ce phénomène n'est pas spécifique, il peut avoir lieu entre différentes espèces de nématodes situées au niveau de l'abomasum. Il n'aboutit pas à l'acquisition d'une immunité protectrice contre les infestations ultérieures [39].

3.4.4 Rôle immunomodulateur des trichostrongles digestifs

Les strongles digestifs possèdent deux types d'Ag : les Ag somatiques, présents dans leurs tissus, et les Ag métaboliques, retrouvés dans leurs produits E/S et les produits finaux de leur métabolisme. Ces Ag métaboliques sont retrouvés lors de deux évènements clé du développement des larves: la libération de la L3 de l'exuvie de la L2 et la mue entre les stades L3 et L4. Parmi ces deux catégories d'Ag, seuls les Ag métaboliques entraînent une réaction immunitaire capable de limiter les réinfestations grâce à des Ac protecteurs. Les Ac sécrétés par l'organisme suite au contact avec les Ag somatiques sont uniquement des témoins de l'infestation [39].

Les produits d'E/S sont en majorité issus d'organes spécialisés: la partie excrétrice correspond à deux canaux latéraux reliés entre eux par un canal transverse (système H), ainsi que l'intestin et la cuticule; la partie sécrétrice comprend plusieurs glandes en région céphalique (deux sub-ventrales et trois oesophagiennes). En plus de leur rôle immunologique, les produits E/S interviennent également pour la nutrition, l'invasion des tissus, la reproduction et la croissance des vers [45].

Certains de ces produits d'E/S permettraient aux parasites de résister à la réaction immunitaire et inflammatoire de l'hôte. En effet, une activité super oxyde dismutase a été détectée in vitro, notamment chez *T. circumcincta*. Cette enzyme permettrait la dégradation de l'anion superoxyde qui joue un rôle dans l'élimination des vers [56]. *T. circumcincta* sécrèterait aussi de l'acétylcholinestérase capable de réduire la RI en augmentant la libération des enzymes lysosomales. Enfin, les protéases sécrétées sont capables d'hydrolyser et d'éliminer les Ig fixées à la surface de la cuticule des vers, d'inactiver le complément et des médiateurs cytotoxiques [82]. La quantité et la nature de ces protéases varient en fonction du stade parasitaire. Chez *T. circumcincta*, l'activité protéasique majoritaire est due à une cystéine protéase chez les L3, à une sérine protéase chez les L4 et à une métalloprotéase chez les vers adultes [57].

II La réaction inflammatoire au niveau des muqueuses digestives et nasales au cours d'infestations parasitaires chez le mouton

A Définition

La réaction inflammatoire (RI) est une réponse du tissu conjonctivo-vasculaire à une agression. C'est une réponse spontanée qui nécessite un caractère séquentiel et une grande diversité de modalités. En plus des manifestations locales, la RI peut parfois aboutir à une réaction systémique [58].

Celsus, au premier siècle après Jésus-Christ, définissait ainsi la RI: "*Rubor et tumor cum calore et dolor*". Ces symptômes sont considérés comme les quatre signes cardinaux d'une inflammation [108].

Les symptômes locaux se traduisent par de la rougeur car les tissus sont gorgés de sang, la tumeur est liée à l'œdème inflammatoire par exsudation du plasma, la chaleur est due à la dilatation des capillaires et la douleur provient de la libération de neuromédiateurs, notamment la sérotonine transportée par les plaquettes sanguines.

Au niveau systémique, la RI se caractérise par un syndrome fébrile, une hyperleucocytose, une activation du complément et de la cascade de la coagulation, une augmentation de la concentration plasmatique en protéines de l'inflammation entraînant une vitesse de sédimentation plus rapide.

La RI peut être classée en deux catégories:

-RI non immune, avec activation au plan moléculaire du facteur XII de la coagulation sanguine, du système des kinines et du complément par la voie alterne; et le recrutement au plan cellulaire de mastocytes (libération d'histamine) et de plaquettes sanguines (libération de sérotonine).

-RI immune, avec activation au plan moléculaire du complément par la voie classique, recrutement au plan cellulaire de lymphocytes T (LT) et de lymphocytes B (LB), de mastocytes et de granulocytes basophiles (GB). Ces RI sont initiées par quatre mécanismes principaux: l'hypersensibilité de type 1, encore appelée HS immédiate, l'HS de type 2 ou cytotoxique, l'HS de type 3 liée aux complexes immuns, l'HS de type 4, dite retardée [19].

B Modalité de la réponse inflammatoire lors d'infestations parasitaires

1 Généralités

Les infestations parasitaires stimulent à la fois l'immunité humorale et l'immunité cellulaire. Dès la pénétration du parasite chez l'hôte, les macrophages, les polynucléaires et les monocytes interviennent au point d'entrée du parasite, avant toutes stimulations spécifiques. La dissémination des parasites est contrée grâce à différents types cellulaires: les macrophages, les neutrophiles, les éosinophiles, les plaquettes. Les activités antiparasitaires de ces cellules effectrices sont stimulées par différentes cytokines (CK).

Les lymphocytes helper de type 2 (LTh2) interviennent plutôt sur les parasites extracellulaires, ce qui est le cas avec les deux parasites précédemment présentés. Lors d'infestations par des trichostrongles digestifs, l'expression des cytokines varie, avec dans un premier temps l'intervention de CK pro-inflammatoires de type Th1 comme l'interleukine (IL) -1, l'IL-2 et l'IL-6. Dans une seconde phase, des CK de type Th2 telles que IL-4, IL-5 et IL-13 interviennent et stimulent la prolifération des mastocytes, ainsi que des LTh2 qui stimulent la production d'Ac spécifiques [15, 97].

2 Réaction inflammatoire lors d'infestations par *Oestrus ovis*

2.1 Réactions humorales

Une analyse de la réponse humorale a été réalisée afin de suivre l'évolution des immunoglobulines de type G, M et A (IgG, IgM, IgA) [91]. Celle-ci a utilisé des agneaux de trois mois répartis en deux groupes (un au pâturage et l'autre en bergerie) et des moutons au moment de leur abattage. Les tests ont été pratiqués à l'aide d'un Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) indirect à partir d'Ag E/S extraits de L2. Il en ressort, chez les ovins adultes, une corrélation entre le nombre de L1 et les valeurs en IgM, et entre le nombre de L2 et les valeurs en IgG. Chez les agneaux, la hausse de la réponse immunitaire en IgG semble liée au métabolisme actif des larves, le développement des L1 en L2 et en L3 stimulant la production d'IgG. Les IgM, quant à eux, restent présents de manière importante durant la phase active et la diapause, avec des valeurs maximales durant la diapause hivernale. Les IgA montrent de faibles valeurs durant toute l'année.

Ces résultats sont en accord avec le développement classique d'une réponse humorale: les IgM sont caractéristiques d'une réponse primaire, ici ils réagissent avec le premier stade larvaire, puis c'est l'intervention des IgG contre les stades larvaires suivants, qui eux sont

caractéristiques d'une réponse humorale secondaire. Les IgA traduisent une réponse secondaire mucoale, donc ces Ac se situent majoritairement au niveau des muqueuses et non dans la circulation sanguine comme les deux autres. Ceci explique les faibles valeurs retrouvées durant l'expérimentation.

Une autre étude a observé dans le mucus nasal la présence d'IgG et d'IgA, réagissant contre les produits d'E/S et le contenu des glandes salivaires des L3 [94].

Ces observations confirment la présence d'une réponse humorale locale, au contact direct avec les larves. C'est les produits E/S et le contenu des glandes salivaires qui stimulent le plus la sécrétion d'Ac par les LB lors d'infestation par *O. ovis*.

2.2 Réactions cellulaires

Une forte réaction cellulaire des muqueuses dans le septum nasal, les cornets et les sinus a été observée lors d'infestations naturelles par *O. ovis*. Cette modification concerne les mastocytes et les éosinophiles. Lors de ces infestations aux pâturages, les mastocytes séreux (MS) et les mastocytes muqueux (MM) ont été 2,5 et 1,99 fois plus nombreux dans les sinus. Les GE ont été 17,5 à 58,5 fois plus nombreux dans le septum et les sinus par rapport aux témoins [75]. Lors d'une infestation expérimentale unique chez l'agneau, le nombre de mastocytes a été multiplié par deux par rapport aux témoins. Chez les animaux ayant reçu plusieurs infestations, les MS ont été jusqu'à onze fois plus nombreux et les MM ont été multipliés entre 5 et 7 fois selon la localisation [27].

Un recrutement en GE et en mastocytes très marqué a aussi été constaté lors d'une autre infestation expérimentale. Chez les animaux infestés par l'oestrose, les GE, les mastocytes et les globules leucocytes (GL) augmentent fortement au niveau de l'ethmoïde et des sinus, sites où ont lieu les mues. Les macrophages sont aussi beaucoup plus présents chez les individus infestés, traduisant une présentation active de d'Ag larvaires [94]. Le chorion sous épithélial est infiltré par des cellules mononuclées, des mastocytes et des GE, permettant à ces cellules d'être au contact avec les larves [71]. La densité en cellules inflammatoires a montré un gradient croissant du septum au sinus [102]. Enfin, Il y a eu une forte corrélation positive entre la charge parasitaire et l'intensité de la réponse en GE et en GL durant une études menée avec des infestations naturelles chez des ovins et des caprins adultes [71].

Il semblerait que les Ag larvaires d'*O. ovis* soient phagocytés par les cellules de Langerhans de la muqueuse respiratoire, puis présentés aux LT afin de stimuler leur production de CK permettant le recrutement des mastocytes et des GE, ainsi que la stimulation de la production d'immunoglobulines de type E (IgE) par les LB [27].

En conclusion, l'infestation par *O. ovis* stimule à la fois la production d'Ac et le recrutement de cellules inflammatoires. Ces deux composantes sont retrouvées lors de RI immunes, traduisant la présence d'une HS. Les animaux infestés présentent une augmentation de la synthèse en Ac sériques, notamment en IgG, néanmoins aucune relation n'a été établie entre la concentration en IgG et le nombre de larves [16]. Ces Ac semblent jouer un rôle de témoin de l'infestation plutôt qu'un rôle direct dans la protection de l'hôte.

La composante cellulaire de la RI semble plus responsable de la protection vis-à-vis des oestres, avec notamment l'intervention des GE, capables de limiter la population larvaire in vitro en tuant les L1 grâce à leurs dégranulations [16, 27].

3 Réaction inflammatoire lors d'infestations par des nématodes gastro-intestinaux

3.1 Réactions humorales

Les nématodes gastro-intestinaux passent par plusieurs stades de développement chez leur hôte définitif. Or, il semblerait que les Ac intervenant contre les nématodes du TD soient dirigés contre des Ag spécifiques, différents selon les stades de développement [68]. Par conséquent, les Ac spécifiques doivent s'adapter selon les stades. Il existe par exemple un Ag de surface chez les L3, retrouvé chez *H. contortus* et *T. circumcincta*, capable de déclencher une réponse locale en Ac. Un autre type d'Ac spécifique est retrouvé, mais celui reconnaît uniquement un Ag présent chez les L4. Ces deux Ag semblent absents chez les vers adultes.

Plusieurs études ont constaté la place prépondérante des IgA lors de parasitoses gastro-intestinales chez les ruminants. En effet, la concentration en IgA dans le mucus abomasal est largement augmentée chez des ovins immunisés contre *T. circumcincta* [16].

Une étude a observé la réponse en IgA spécifiques lors d'infestations expérimentales chez des agneaux [44]. Il en est ressorti que les IgA, en interagissant avec les GE, permettent de diminuer significativement la taille des vers. Les IgA sériques ont présenté une cinétique similaire à celle des GE périphériques, avec un pic entre 8-10 j post-infestation, suivi d'une diminution.

Une autre étude a constaté une corrélation négative entre la longueur des vers, la fécondité des femelles et la concentration en IgA dirigées contre les L4. En effet, plus les animaux possèdent d'IgA, moins les vers sont longs et plus le nombre d'œufs par grammes de fèces (OPG) est faible [88].

D'autres Ig peuvent intervenir, comme les IgG. Lors d'une expérimentation, la cinétique en IgG chez des animaux infestés avec *H. contortus* a commencé à augmenter dès la

deuxième semaine post-infestation, avec un pic à sept semaines post-infestation [99]. De plus, la cinétique chez des animaux infestés par *T. circumcincta* a montré une évolution biphasique, avec deux pics en Ac associés à une expulsion rapide des nématodes pour le premier puis une expulsion plus tardive pour le second [16].

Les IgG permettent également d'évaluer la réponse de l'hôte à des fins diagnostiques par leur dosage.

En conclusion, ces deux isotypes d'immunoglobulines procurent une protection passive contre les trichostrongles de l'abomasum.

3.2 Réactions cellulaires

Un essai a été mené sur des agneaux de trois mois lors d'une primo-infestation avec *H. contortus* [5]. Les auteurs ont constaté chez les animaux possédant uniquement une population larvaire une augmentation significative du nombre de mastocytes par rapport aux témoins. Chez les agneaux avec une population de vers adultes, le nombre de GE a été significativement augmenté, ainsi que celui des mastocytes. Les auteurs ont pu observer une différence significative dans la réponse cellulaire locale, avec un nombre de GE significativement plus élevé en présence de larves et un nombre de mastocytes significativement plus élevé en présence de vers adultes.

D'autres différences significatives entre des ovins infestés expérimentalement par *H. contortus* [99] ou *Trichostrongylus colubriformis* [102, 103] et des témoins indemnes ont été retrouvées. Les nombres de mastocytes, de GE et de GL ont été augmentés par rapport aux animaux non infestés.

Un essai a observé la possibilité d'une protection croisée entre *H. contortus* et *T. colubriformis* chez des ovins infestés expérimentalement [6]. Les extraits larvaires de l'une ou de l'autre espèce parasitaire sont capables d'activer les mastocytes chez des animaux infestés par *T. colubriformis* par une réaction croisée. De plus, les animaux déjà immunisés ont leurs mastocytes qui se dégranulent plus rapidement que lors d'une primo-infestation.

Le nombre de GE a été positivement corrélé avec la résistance aux nématodes gastro-intestinaux chez les ovins. De plus, ces derniers sont capables de tuer in vitro et in vivo des L3 d'*H. contortus* [10, 69].

Les mastocytes et les GE semblent donc impliqués dans la défense de l'hôte contre les infestations parasitaires soit en déclenchant l'expulsion des vers, soit en contribuant à en limiter l'installation ou la fertilité [68, 99, 102].

En conclusion, plusieurs mécanismes interviennent pour défendre les ruminants face à l'infestation par des trichostrongles digestifs. Les deux composantes de la RI interviennent, avec en particulier les IgA qui jouent un rôle essentiel dans la limitation de l'installation des vers, et les cellules inflammatoires permettant l'élimination des parasites. Tous ces effecteurs de la RI travaillent en association. Ceux-ci sont caractéristiques d'une RI avec une composante d'HS.

Comme nous l'avons signalé précédemment (Cf. chap. I et supra), plusieurs observations vont dans le sens de l'intervention d'une HS1 lors d'infestation par *O. ovis* ou *T. circumcincta*.

4 L'hypersensibilité de type 1

Une hypersensibilité correspond à une réponse inflammatoire soit exagérée, soit inappropriée, à l'origine de lésions tissulaires [9]. Les éléments principaux impliqués dans la réaction d'HS1 sont les mastocytes, les GE et les IgE, mis en présence d'allergènes. Elle se caractérise par sa rapidité de survenue, et elle fait suite à une sensibilisation préalable [71] (Cf. Figure 7).

l'exposition antigénique. Des Ag cuticulaires ont aussi été mis en évidence, mais leur caractère immunogène reste faible par rapport aux Ag salivaires [47, 96].

4.2 La phase de latence

C'est la phase durant laquelle la réaction immunitaire spécifique se met en place. Les deux facteurs majeurs sont les LTh et les IgE.

L'allergène est pris en charge par les cellules présentatrices d'Ag (CPA). Lors d'une HS1, cette présentation d'Ag active non seulement les LT naïfs mais aussi les mastocytes et les GB qui synthétisent de l'IL-4, cytokine pro-humorale qui oriente la réponse immunitaire vers une réponse de type TH2. Les LTh2 sécrètent alors des IL-4 afin de stimuler la maturation des LB en plasmocytes à IgE et des IL-5 pour stimuler les GE. Les IgE vont se fixer sur des récepteurs de haute affinité de type RFcεI, présents à la surface des mastocytes et des GB. Dans les tissus les mastocytes deviennent alors des mastocytes sensibilisés.

Lorsque l'animal est de nouveau en contact avec l'allergène, on entre dans la phase déclenchante [9, 71].

4.3 La phase déclenchante

Celle-ci comprend une phase précoce et une phase tardive et fait suite à la réintroduction d'un allergène qui se lie aux IgE déjà présentes à la surface des GB et des mastocytes.

La phase précoce de la réaction est caractérisée par une inflammation aiguë, avec la dégranulation des GB et des mastocytes déjà sensibilisés induite par la fixation de l'allergène. Elle est de l'ordre de quelques minutes, et les mastocytes libèrent de l'histamine, de l'héparine, des facteurs attractifs pour les GN et les GE. Le recrutement des GE et des GN se déroule rapidement, de l'ordre de quelques minutes.

La phase tardive correspond au recrutement des GE, qui fixent les IgE puis l'allergène et libèrent à leur tour leurs médiateurs. Les mastocytes quant à eux libèrent des leucotriènes et des prostaglandines. D'autres effecteurs de l'HS1 sont recrutés tels les macrophages, les lymphocytes. Cette phase intervient quatre à six heures après le début de la dégranulation des premières cellules [9, 16, 69, 71].

4.4 Les effecteurs principaux de l'HS1

4.4.1 Cellules présentatrices de l'antigène

Il existe différents types de cellules capables de présenter l'Ag. Au niveau de la muqueuse respiratoire, les cellules dendritiques, dont les cellules de Langerhans, jouent ce rôle. Pour la muqueuse digestive, trois types de cellules peuvent remplir cette fonction: les cellules dendritiques, les cellules B et les cellules épithéliales. Ces cellules sont capables de capturer l'Ag et de le présenter aux lymphocytes, qui une fois activés recrutent des mastocytes et des GE, augmentent la production d'IgE par les LB grâce à leurs productions de CK.

Les macrophages sont eux aussi des CPA, présents au niveau de tous les tissus. Ils sont également capables de libérer des radicaux libres de l'oxygène ainsi que divers médiateurs (leucotriène B4, Platelet Activating Factor...) et des CK immuno-régulatrices [16, 87].

4.4.2 Les immunoglobulines de type E

Elles sont produites par les plasmocytes, après activation des LB par les CPA une fois l'allergène présent dans l'organisme. Leur demi-vie sérique est de deux jours et demi. L'activité des IgE est sous le contrôle des LT, notamment des LTh, pour leur production, en stimulant les LB grâce aux IL-4 ou IL-13 [9, 20].

Les IgE, comme toutes les immunoglobulines, sont composées de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères. Leurs chaînes légères sont identiques à celles retrouvées dans les autres isotypes d'Ig. Par contre, leurs chaînes lourdes possèdent cinq domaines, contre quatre pour les IgG par exemple [9, 20].

Les IgE restent localisées au lieu d'entrée de l'allergène. En dehors des états d'allergies ou de parasitoses, le taux sérique en IgE équivaut à l'état de traces [9].

Les IgE sensibilisent les mastocytes en se fixant sur leurs récepteurs spécifiques, les RFcεI. Ensuite, les IgE en excès passent dans la circulation générale et vont sensibiliser les GB, suivi des mastocytes de tous les tissus de l'organisme [9].

4.4.3 Les mastocytes

Les mastocytes sont des cellules présentes dans les tissus, qui jouent un rôle essentiel dans les réactions allergiques par leurs interactions avec les IgE. Les mastocytes possèdent aussi d'autres fonctions dans les processus inflammatoires et immunologiques [71].

a Origine, morphologie et localisation

Les mastocytes sont exclusivement présents dans les tissus de l'organisme. Ils sont produits dans la moelle osseuse par une cellule souche hématopoïétique [70].

Ils possèdent de nombreux granules dans leur cytoplasme. Ces granules peuvent être de formes et de compositions différentes. Les mastocytes ont aussi sur leur paroi des récepteurs RFcεI aux IgE qui les sensibilisent lors de leur fixation [62].

Il existe notamment deux types de mastocytes chez les rongeurs: les mastocytes associés aux muqueuses, dits mastocytes muqueux (MM); ceux présents dans le tissu conjonctif et les cavités pleurale et péritonéale, appelés mastocytes séreux (MS). Les MS possèdent des granules feuilletés composés d'une tryptase, d'une chymase et d'une carboxypeptidase, tandis que les MM ont des granules enroulés composés uniquement de tryptase [70, 71].

Le Bleu de Toluidine permet de mettre en évidence les MS en colorant leurs granules en rouge violet par la présence de substrats acides. Pour les MM, la coloration utilisée peut-être le Bleu Alcian ou le Bleu Astra, aboutissant à une coloration en bleu des granules. Pour tous les mastocytes, il est possible de grouper la coloration des granules avec celle des noyaux, à l'aide de la Safranine [71]. Le bleu Alcian permet de mettre en évidence les deux catégories de mastocytes [62].

Leur nombre varie suivant le tissu, l'âge... Ils sont essentiellement localisés dans le tissu conjonctif, proches des vaisseaux sanguins ou lymphatiques, et dans les muqueuses, notamment celles de l'appareil respiratoire. Ils restent rares dans les os et les cartilages; et se retrouvent en faible quantité dans les parenchymes. Leur nombre peut être modifié par des changements de leur micro-environnement lors des processus inflammatoires, avec une régulation par certaines cytokines, notamment l'IL-3 chez le mouton, qui entre en jeu lors de la différenciation des mastocytes dans la moelle osseuse [9, 71]. Un autre facteur de différenciation et de croissance pour les mastocytes est le Stem Cell Growth Factor (SCF) [70].

Dans l'appareil respiratoire supérieur et profond, ainsi que dans le TD, les mastocytes représentent une population cellulaire majeure [69].

b Activités biologiques

Les mastocytes n'ont aucune spécificité vis-à-vis de l'Ag, ils interviennent dans l'inflammation aiguë.

La dégranulation des mastocytes est massive après la fixation de l'allergène aux IgE présentes sur leur paroi car leurs granules fusionnent et l'ensemble est libéré simultanément [62]. Cette dégranulation s'accompagne de la libération de plusieurs médiateurs chimiques:

-des médiateur préformés: l'histamine, stockée sous forme inactive, dont la libération entraîne une augmentation de la perméabilité vasculaire, une contraction des muscles lisses, une hypotension, une augmentation du rythme cardiaque et une hyper-sécrétion de mucus. Elle est libérée dans les secondes qui suivent la fixation de l'allergène [9, 71].

-des dérivés de l'acide arachidonique: transformés en éicosanoïdes par les voies de la cyclo-oxygénase et de la lipo-oxygénase, libérés quelques minutes après la fixation de l'allergène. Ces derniers comprennent:

Les prostaglandines (PG), dont les principales sont les PGE1, PGE2 et PGD2. Elles augmentent la perméabilité capillaire et sont surtout synthétisées par les MS. La PGD2 induit la sécrétion de mucus et a aussi un effet bronchoconstricteur [6, 62, 71].

Les leucotriènes, notamment le LTB4 qui possède une activité chimiotactique pour les granulocytes, augmente la sécrétion d'enzymes lysosomales et la production d'ions superoxyde. L'acide hydroéicosatétranoïque (HETE) recrute les GE. Les leucotriènes C4, D4, E4 sont surtout produites par les MM et ont pour fonction de modifier la perméabilité vasculaire et d'accentuer la sécrétion de mucus. Le platelet activating factor (PAF) permet l'agrégation plaquettaire et la dégranulation des plaquettes ainsi que le recrutement des GE et des GN [9, 70, 71].

-d'autres médiateurs: la sérotonine, susceptible de jouer un rôle dans l'HS1; de l'héparine, qui possède des propriétés anti-inflammatoires; l'Eosinophil Chemotactic Factor of Anaphylaxis (ECFA), qui représente l'activateur principal des GE [62, 17].

-des enzymes: protéases, hydrolases acides sont libérées quelques minutes après l'activation des mastocytes. Elles aggravent l'inflammation, en modifiant la perméabilité des muqueuses et le renouvellement de l'épithélium. La tryptase est capable d'activer le C3 du complément [71, 97].

-des cytokines: libérées après quelques heures, parmi lesquelles certaines sont pro-inflammatoire (TNF α , IL-6), pro-humorales (IL-4, IL-5, IL-6) ou régulatrices (IL-10). Le Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF) est également sécrété par les mastocytes [9, 16, 70, 71, 97].

Les mastocytes peuvent aussi phagocyter et devenir des CPA pour les LT. De plus, lorsque les MM sont activés, c'est-à-dire dégranulés, ils se dirigent dans l'épithélium et deviennent des mastocytes intra-épithéliaux, appelés globules leucocytes. Les GL sont liés à

la résistance de l'hôte, ils présentent des modifications au niveau de leurs granules, d'où l'utilisation d'une autre coloration de type Carbol-chromotrope afin de les observer [71].

Les mastocytes ont donc un rôle primordial dans les réactions d'HS1.

4.4.4 Les éosinophiles

Les GE sont des cellules retrouvées aussi bien dans la circulation sanguine que dans les tissus. Elles interviennent dans les réactions allergiques et lors d'infestations parasitaires [64].

a Origine, morphologie et localisation

Les GE sont des polynucléaires, produits dans la moelle osseuse par un progéniteur myéloïde commun, provenant d'une cellule souche hématopoïétique. Ils ont une durée de vie courte, de l'ordre de deux-trois jours. Comme tous les polynucléaires, ils sont capables de traverser les parois vasculaires par diapédèse [62]

Les GE se développent à partir des cellules souches primitives de la moelle osseuse. Leur prolifération est induite par les leucotriènes et leur différenciation et leur maturation par l'intermédiaire de l'IL-5, IL-3 et le GM-CSF, CK sécrétées par les LT activés [62, 64, 71]. Le GM-CSF est aussi synthétisé par les fibroblastes, macrophages, cellules endothéliales. Seule l'IL-5 possède une action spécifique sur les GE car le GM-CSF et l'IL-3 influencent également les GN et les macrophages [71].

Les granulations des GE sont elliptiques et contiennent des protéines basiques, telles que la Major Basic Protein (MBP) et l'Eosinophil cationic Protein (ECP) [71]. La MBP compose la structure cristalloïde centrale des granules, une arylsulfatase, une phospholipase acide et l'eosinophil peroxydase (EPO) correspondent à des granules de taille inférieure. Les GE sont colorés en rose par l'éosine et possèdent des récepteurs aux IgE [33].

Chez les sujets sains, les GE représentent deux à trois pourcents des leucocytes du sang [62]. Ils migrent en région péri-vasculaire, plus particulièrement à l'interface entre les muqueuses et l'environnement (notamment l'arbre respiratoire et le tractus intestinal). Leur nombre augmente lors de certaines parasitoses et de certains états d'hypersensibilité [62, 71]. L'arrivée des GE sur le site de la RI est due au chimiotactisme et à l'adhérence des cellules [71].

b Activités biologiques

Les GE sont des cellules spécialisées dans la défense de l'organisme contre des parasites tissulaires dont la taille trop importante empêche la phagocytose. La cytolysse de la cible est la

conséquence de la dégranulation des GE par exocytose. Cette dégranulation libère plus tardivement des médiateurs de l'inflammation: PAF et leucotriène LTC₄ des plaquettes et des cellules endothéliales [62, 71].

Les GE sont activés par la fixation des Ag, mais aussi par d'autres substances. L'ECFA représente l'activateur principal des GE. Il est produit par les mastocytes, les GB et LT [62]. Les autres substances activatrices peuvent être: l'Eosinophil cytotoxicity enhancing factor (ECECF), les produits de la voie de la lipo-oxygénase (leucotriènes), les dérivés de l'acide arachidonique (prostaglandines), et le PAF, libérés par les mastocytes. Les GE sont attirés par plusieurs facteurs chimiotactiques, produits soit suite à une stimulation spécifique (Ag et réponse immunologique), soit non spécifique (RI). Ces molécules attractives pour les GE sont: certains Ag vermineux, la fraction C5a du complément, des leucotriènes (LTB₄ et LTC₄), le PAF. La diapédèse des GE a lieu en présence uniquement de protéines d'adhésion dont l'Inter cellular adhesion molecule-1 (ICAM1) [71].

Une fois activés, les GE se lient aux parasites couverts d'IgG ou d'IgE et se dégranulent [62].

Les GE libèrent différentes catégories de molécules lors de leur dégranulation. Il s'agit soit de médiateurs préformés:

- MBP: toxique pour les helminthes, bactéricide, favorise la synthèse et la libération de CK, active les mastocytes et neutralise l'héparine.

- ECP: protéine enzymatique toxique, entraînant des troubles de la coagulation, de la cytotoxicité, et une hyperactivité bronchique.

- Eosinophil derived neurotoxin (EDN): protéine enzymatique neurotoxique, déclenchant une hyperactivité bronchique [71].

- EPO: enzyme toxique pour les micro-organismes et les cellules tumorales, active les mastocytes, les GN et les macrophages.

- Autres enzymes: aryl-sulfatase, collagénase, histaminase...qui permettent de réduire la RI et de ralentir la migration des leucocytes vers le site de l'inflammation [62].

La MBP, l'ECP et l'EPO favorisent le processus d'histamino-libération des mastocytes [71].

Soit de médiateurs néosynthétisés:

- Lipidiques: PGE₂ (vasodilatation, fluidification des sécrétions), PGD₂, LTC₄ (constriction bronchique et vasculaire...), PAF (idem et activation GN, mastocytes, GE...)...

- Métabolisme oxydatif: peroxyde d'hydrogène, anions superoxydes...entraînant des cytotoxicité.

-Cytokines: IL-1, IL-6, Tumor necrosis factor α (TNF α) (pro-inflammatoires), IL-4, IL-3, IL-5, GM-CSF (régulatrices)....

-Neuropeptides: Substance P, avec une vasodilatation, une constriction bronchique, des œdèmes vasculaires... [62, 69, 71].

Les produits libérés par les GE jouent un rôle dans l'immuno-pathologie des allergies pulmonaires [71].

En plus de leur dégranulation, les GE ont aussi la capacité de phagocyter des microorganismes, néanmoins il ne s'agit pas de leur fonction première [62, 64].

Tous les principaux effecteurs de l'HS1 cités ci-dessus ont été retrouvés lors des diverses études menées afin d'analyser la RI suite à une infestation soit par *T. circumcincta* soit par *O. ovis*. Par conséquent, lors d'infestation par l'un de ces deux parasites une HS1 semble intervenir, avec toutes les conséquences que cela implique.

III Interactions entre parasites lors de co-infestations

A Généralités

Lors d'infestations naturelles aux pâturages, il est classique de rencontrer chez un même individu une multitude de parasites entraînant des infestations concomitantes. Plusieurs études ont été menées dans le but d'identifier les interactions possibles entre ces différents parasites.

Ces interactions peuvent être de trois types:

- positive: cela correspond à une association entre les deux espèces. Il s'agit d'un effet mutualiste.

- négative: cela correspond à une compétition entre les parasites, leur concomitance devenant un handicap dans l'évolution de l'un d'entre eux. Cette compétition interspécifique permet de maintenir un certain équilibre au sein de l'infracommunauté (ensemble des parasites présents au sein d'un individu hôte).

Pour ces deux catégories nous parlons d'infracommunauté interactive.

- neutre: dans ce cas-là les populations parasitaires représentent un simple assemblage, sans influence l'une sur l'autre, totalement indépendantes. Cela coïncide avec une infracommunauté isolationniste.

De plus, ces interactions peuvent être réciproques, c'est-à-dire que chacune des populations parasitaires présentes influence l'autre; ou non réciproques, auquel cas une seule population interagit sur l'autre.

Enfin, ces interactions peuvent avoir lieu soit au niveau d'un même organe, soit à distance entre des populations parasitaires se situant dans deux organes différents.

Il existe différents mécanismes qui peuvent intervenir lors de ces interactions:

- Une compétition pour une niche écologique, lors d'interaction négative uniquement.
- Des modifications physiologiques du milieu, avec par exemple une installation facilitée pour des parasites lors d'interaction positive.

- Des réactions immunologiques spécifiques ou non spécifiques, notamment lors de protections croisées pouvant limiter l'installation d'une nouvelle population parasitaire [11, 13].

Afin d'illustrer ces diverses possibilités, nous avons choisi de nous intéresser à des interactions faisant intervenir des nématodes gastro-intestinaux chez des ruminants. Les exemples utilisés concernent des interactions entre des nématodes du TD ou entre des nématodes digestifs et d'autres parasites. Nous avons aussi tenu compte du type d'infestation employée lors des expérimentations, naturelle versus expérimentale. En effet, lors des études réalisées en infestations aux pâturages, les interactions entre les différentes espèces de parasites peuvent être influencées par d'autres facteurs, tel l'environnement, le cycle du parasite, les ressources... contrairement aux infestations expérimentales [11, 46].

B Interactions au sein d'un même organe

Plusieurs études ont été réalisées afin de déterminer les interactions susceptibles d'intervenir entre deux ou plusieurs espèces de nématodes du tractus digestif.

Lors d'une étude menée sur les populations parasitaires de la caillette des brebis en infestations naturelles, plusieurs interactions positives ont été constatées [11]. Notamment entre *T. circumcincta* et *T. trifurcata*, *Marshallagia marshalli* et *M. occidentalis*. Une autre étude, elle aussi réalisée en infestations aux pâturages, a conclu à des interactions positives entre *Chabertia* et les autres nématodes [46].

Ces deux études ont aussi relevé des interactions négatives, en particulier pour *T. circumcincta*. Ce dernier a été celui qui a présenté les effets antagonistes les plus forts envers les autres genres, notamment contre *T. axei*.

Cet effet négatif de *T. circumcincta* a aussi été retrouvé lors de co-infestations expérimentales avec *Haemonchus contortus* [7, 22, 81].

En effet, il ressort que lorsque les deux espèces sont administrées ensemble chez de jeunes ovins, *T. circumcincta* réduit l'établissement d'*H. contortus* [81].

Lors d'une autre expérimentation réalisée sur des agneaux [7], il a aussi été constaté une diminution du nombre total d'*H. contortus*, ainsi que du nombre d'OPG, lorsque ces derniers sont administrés après une infestation avec *T. circumcincta*. Différents délais entre les deux infestations ont été employés, et plus le délai a été court, plus la réduction de la charge parasitaire en *H. contortus* a été importante. De plus, la suppression de *T. circumcincta* semble faciliter l'établissement d'*H. contortus*, puisque lorsque les animaux ont été traités entre les deux infestations cette réduction a été moindre. Par conséquent, il apparaît donc que la diminution du nombre d'*H. contortus* ne soit pas liée à une réaction immunitaire croisée,

puisque la réduction de la charge ne s'est pas améliorée dans le temps et que la présence directe de *T. circumcincta* semble indispensable. L'effet négatif de *T. circumcincta* sur *H. contortus* dans ces deux publications paraît être lié à une modification de l'environnement des vers, avantageuse pour l'un et désavantageuse pour l'autre.

Afin de déterminer l'existence ou non d'interactions à base immunologique, plusieurs protocoles d'infestations ont été menés sur des ovins de cinq mois: trois infestations primaires (un seul parasite ou les deux ensembles) d'une durée variable (entre trois et douze semaines) suivies ou non d'une co-infestation avec *T. circumcincta* et *H. contortus* [22]. Ceci permet d'observer les effets d'une immunité acquise sur les deux populations de vers. Il en résulte que lorsque les animaux ont été pré-infestés avec *H. contortus*, cela a permis de réduire l'établissement de *T. circumcincta*. Lors d'une infestation initiale avec les deux parasites, la charge parasitaire en *H. contortus* a été diminuée par rapport au contrôle. Cette réduction peut être liée à la primo-infestation et/ou à la co-infestation avec *T. circumcincta* qui modifie la physiologie de l'abomasum. Cependant, lorsque la primo-infestation avec *T. circumcincta* seul dure plusieurs semaines, la diminution de l'établissement d' *H. contortus* est plus marquée. Par conséquent, une immunité croisée semble exister mais elle reste de faible intensité par rapport à l'importance de l'interaction directe entre les deux populations de vers. L'interaction négative entre *T. circumcincta* et *H. contortus* est ici réciproque.

Néanmoins, lorsque *H. contortus* est administré soixante-dix ou quatre-vingt-dix jours après une infestation avec *T. circumcincta*, il n'y a aucun effet entre ces deux parasites [79, 80]. De plus, les auteurs ont aussi réalisé un test avec une première infestation à l'aide *T. circumcincta* et *T. axei*. Dans le premier cas [80], il n'y a eu aucune différence entre *H. contortus* seul et *H. contortus* avec *T. circumcincta* en nombre de vers à l'autopsie. Par contre, la charge parasitaire a été diminuée avec *T. axei*. Lors de la seconde expérience [79], seules les L4 ont présenté une baisse significative de leur nombre dans le groupe pré-infesté avec *T. circumcincta* et *T. axei* par rapport au groupe infesté seulement avec *H. contortus*. Il apparaît ici uniquement un effet négatif entre *T. axei* et *H. contortus*.

Un essai a été effectué dans le but d'étudier la possibilité de réactions immunitaires spécifiques croisées entre *T. colubriformis*, *T. vitrinus* et *N. spathiger* chez des ovins [21]. A la suite d'une vaccination par des larves de *T. colubriformis*, les animaux ont acquis un taux de protection contre une infestation par *T. colubriformis* de 81%. Ce taux a chuté à 43% lors d'une infestation avec *T. axei*, et aucune protection significative n'a été obtenue avec *N. spathiger*. Par contre, avec une infestation regroupant les trois espèces, le taux de protection a

atteint 98-100%. Ces résultats vont dans le sens d'une intervention immunitaire non spécifique dans la protection immunitaire croisée entre ces espèces de nématodes.

C Interactions au niveau d'organes différents

1 Entre plusieurs nématodes

Diverses études ont été réalisées afin d'observer les conséquences d'une co-infestation entre différents nématodes, soit uniquement au niveau d'organes du TD, soit entre le TD et les poumons.

Une expérimentation a été menée sur des bovins utilisant des infestations avec *Ostertagia ostertagi* et *Cooperia oncophora*, l'un dans la caillette et l'autre dans l'intestin grêle [77]. Les auteurs ont comparés les résultats de cette étude avec ceux précédemment trouvés lors de mono-infestations basées sur le même protocole et réalisées avec *O. ostertagi* [98] et *C. oncophora* [4]. Il en ressort que lorsque les animaux sont infestés avec les deux parasites, le pourcentage d'établissement de *O. ostertagi* et la charge parasitaire des deux parasites sont supérieurs. De plus, la digestibilité des protéines a été inférieure avec la double infestation. En effet, l'hôte ne peut plus compenser la limitation de la digestion des protéines au niveau de l'abomasum (augmentation du pH) dans l'intestin grêle puisque dans ce cas-là cette partie du TD est elle aussi parasitée, *C. oncophora* entraînant des dommages importants dans la paroi digestive. Il en résulte donc que lorsque *O. ostertagi* et *C. oncophora* parasitent ensemble un individu, ils provoquent des altérations plus sévères que lorsqu'ils l'infestent seul. Il s'agit d'un établissement réciproque, chacun facilitant l'installation de l'autre, tout en accroissant la pathogénicité chez leur hôte.

Deux publications ont étudié l'influence d'une pré-infestation par des nématodes gastro-intestinaux sur l'installation de nématodes pulmonaires [54, 55]. Ainsi, des bovins ont d'abord été infestés par *O. ostertagi* et *C. oncophora* puis par *Dictyocaulus viviparus*. Les animaux infestés par les trois espèces ont eu un nombre d'OPG et un pourcentage d'établissement supérieur pour *D. viviparus* aux témoins (uniquement infesté par *D. viviparus*). Ainsi, une pré-infestation par *C. oncophora* et *O. ostertagi* a entraîné une installation plus rapide de *D. viviparus* lors d'une infestation suivante. Cette meilleure installation pourrait être due à une immunosuppression, causée par *O. ostertagi*, le plus pathogène des deux nématodes digestifs; ou/et une facilité de pénétration des larves au niveau de la paroi intestinale grâce aux lésions faites par *C. oncophora*. Il s'agit ici d'une interaction positive et non réciproque.

Une autre interaction entre deux nématodes du TD a été étudiée, celle concernant *T. circumcincta* et *Trichostrongylus vitrinus*, basée sur des pré-infestations [48]. Les groupes pré-infestés avec les deux espèces ont présenté une diminution significative dans le nombre *T. vitrinus* à l'autopsie par rapport aux groupes mono-infesté par *T. vitrinus*. L'établissement des larves de *T. vitrinus* ingérées en seconde infestation a été plus faible après quatre semaines d'infestation chez les groupes pré-infestés avec les deux parasites en comparaison de ceux infestés uniquement avec *T. vitrinus* et des contrôles (sans pré-infestation). Cette étude amène des preuves sur l'interaction négative entre ces deux nématodes chez de jeunes ovins (entre trois et quatre mois). Celle-ci semble d'abord liée à des modifications physiologiques puisque elle intervient avant le développement d'une immunité adéquate chez l'hôte contre ces espèces. De plus, *T. circumcincta* provoque rapidement des dommages (augmentation du pH dès les autopsies réalisées après quatre semaines).

Deux articles ont quant à eux utilisé deux autres nématodes: *H. contortus* et *Nematodirus battus*, l'un dans la caillette et l'autre dans l'intestin grêle [65, 66]. Des agneaux de deux mois ont été infestés soit avec *N. battus* seul, soit *H. contortus* seul ou bien avec les deux. Les lots avec les deux parasites ont présenté une charge parasitaire totale inférieure à celle des lots avec *N. battus* seul. De plus, le développement de *N. battus* a été ralenti en présence d' *H. contortus* et la taille des vers adultes et des L5 a été diminuée. Cela traduit une inhibition du développement de *N. battus*, sans doute liée aux modifications de l'environnement physiologique, puisque *H. contortus* entraîne une hausse du pH dans l'abomasum mais aussi dans la partie proximale de l'intestin grêle, là où se situe la majorité des vers de *N. battus* [66]. Enfin, la reproduction de *N. battus* a chuté de près d'un tiers chez les lots co-infestés. Il existe donc ici une interaction négative d' *H. contortus* sur la population de *N. battus* lors d'une infestation simultanée.

2 Entre des nématodes et des diptères

Ces interactions ont été particulièrement étudiées au vu de la fréquence des co-infestations de ce type dans le monde, et de l'importance des conséquences économiques. Le diptère utilisé dans les essais qui suivent est *O. ovis*, situé dans les cavités nasales des petits ruminants.

Plusieurs expérimentations sur des ovins ont été menées avec *T. colubriformis* et *O. ovis* afin de déterminer l'influence de ces deux parasites l'un sur l'autre, malgré des localisations anatomiques éloignées [102, 103]. De plus, les auteurs se sont aussi intéressés au rôle possible

des réponses inflammatoire et immunitaire dans ces interactions. Les deux expérimentations ont été menées avec deux protocoles différents afin de vérifier si l'ordre de succession influençait sur les interactions: l'un présentait plusieurs infestations par *O. ovis* suivies d'une seule infestation par *T. colubriformis* [103], l'autre utilisait des infestations répétées par *T. colubriformis* puis plusieurs infestations par *O. ovis* [102]. Dans les deux cas, la présence d'*O. ovis* a influencé négativement la biologie de *T. colubriformis*, avec une diminution significative de la charge parasitaire totale, de la taille des vers femelles et de leur fertilité, de l'excrétion fécale d'œufs pour les lots co-infestés par rapport au lot infesté uniquement par *T. colubriformis*. Cet effet n'est pas réciproque puisque qu'il n'y a pas eu de différence significative entre les lots co-infesté et infesté par *O. ovis* au niveau du nombre de larves d'oestres. Ces changements ont été associés avec une modification du nombre de cellules inflammatoires au niveau des muqueuses digestives: lorsque *T. colubriformis* est présent, les cellules inflammatoires augmentent, et les moutons infestés uniquement par *O. ovis* possèdent plus de cellules inflammatoires par rapport aux témoins. Cependant, il n'y a pas eu de différence significative entre les animaux multiparasités et ceux infestés par *T. colubriformis* seul. Ces résultats traduisent la possibilité d'une réaction inflammatoire à distance grâce au système muqueux.

De plus, une autre expérimentation [101], a constaté que lorsque les animaux ont été infestés par *O. ovis* puis traités, l'influence de cette pré-infestation sur une infestation ultérieure par *T. colubriformis* devient nulle. L'interaction négative d'*O. ovis* sur *T. colubriformis* ne se maintient pas après l'élimination des larves d'oestre. Cette régulation entre les deux populations parasitaires est donc transitoire et ne fait pas intervenir une réaction immunitaire croisée, mais semble plutôt être liée à une réaction des éosinophiles, qui pourrait intervenir sur des parasites sans sensibilisation préalable et donc non spécifiquement.

D'autres essais ont été effectués chez des ovins avec des co-infestations entre *H. contortus* et *O. ovis* dans le but de vérifier la spécificité des interactions. La différence avec les expérimentations décrites précédemment relève de la localisation du nématode, *H. contortus*, qui se situe dans la caillette et non dans l'intestin.

Dorchies et al [28] ont constaté, après plusieurs infestations avec des L1 d'oestres suivies par une unique infestation avec des L3 d'*Haemonchus*, des différences significatives entre les populations d' *H. contortus* chez le lot infesté seulement avec *H. contortus* et celui infesté par les deux parasites. En effet, l'excrétion fécale d'œufs a été réduite chez le lot multiparasité. Mais aucune différence significative n'a été constatée au niveau de la charge parasitaire. La

diminution de l'excrétion fécale a été accompagnée d'une plus forte concentration en éosinophiles sanguins et de la réduction de la concentration sérique en pepsinogène chez le lot doublement parasité.

Terefe et al [99] ont employé un protocole similaire afin d'approfondir l'examen des interactions entre ces deux parasites. Ils ont ainsi observé une réduction de l'excrétion fécale d'œufs chez le groupe d'animaux infesté par les deux parasites, sans variation de la charge parasitaire. D'autres paramètres ont été suivis et modifiés dans ce lot par rapport au lot infesté avec *H. contortus* seul: une réduction de la taille des femelles et du nombre d'œufs in utero. Ces variations ont été accompagnées d'un nombre supérieur en GE sanguins, d'une valeur supérieure en hématocrite, d'un nombre supérieur en GL et GE dans la muqueuse abomasale et aucune différence significative pour la concentration sérique en pepsinogène.

Comme pour les essais avec *T. colubriformis*, les animaux infesté uniquement par *O. ovis* présentent une augmentation du nombre de cellules de l'inflammation au niveau des muqueuses digestives, l'inverse n'étant pas constaté, les animaux seulement infestés avec *H. contortus* n'ont pas eu un recrutement en cellules inflammatoires supérieur aux témoins pour les muqueuses respiratoires. Ces deux expérimentations concluent elles aussi à une interaction négative de la population d'*O. ovis* sur celle du nématode gastro-intestinal *H. contortus*. Cette interaction semble accompagnée par une réaction inflammatoire plus importante.

Il existe par conséquent une interaction négative entre ces deux trichostrongles digestifs et le diptère *O. ovis*, sans aucune spécificité et non réciproque.

En conclusion il existe une multitude d'interactions possibles entre les parasites, quelque soit leur localisation anatomique au sein de l'hôte.

Deuxième partie

Etude expérimentale

I Objectif de l'étude

Le but de notre expérimentation a été d'observer les interactions possibles entre *O. ovis* et *T. circumcincta* lors d'infestations d'agneaux ainsi que les conséquences pour l'hôte. Pour cela, nous avons suivi l'évolution de paramètres parasitologiques (mesure de l'excrétion fécale d'oeufs, charge parasitaire à l'autopsie et fécondité des femelles) et sanguins (concentration sérique en pepsinogène) marqueurs de conséquences physiopathologiques. De plus, notre étude a aussi visé à compléter l'analyse des mécanismes éventuels mis en jeu, ce qui nous a conduit à mesurer des paramètres de la réponse systémique (cinétique des IgG sériques anti-oestrose, éosinophilie) et locale dans les muqueuses (nombre d'éosinophiles, de mastocytes et de globules leucocytes sur différentes parties des muqueuses digestive et respiratoire).

II Matériel et méthodes

A Les animaux

L'étude a été réalisée sur 24 agneaux de race Tarasconnaise, âgés de trois à quatre mois au début de l'expérimentation, avec un poids d'environ 25–30 Kg. Les agneaux sont nés et ont été élevés en bergerie, et sont donc théoriquement indemnes de toute infestation parasitaire. Les animaux ont été répartis en quatre groupes de six individus situés dans quatre box différents. Ils ont eu accès à du fourrage à volonté et à du concentré. Une semaine avant le début des infestations tous les animaux ont été vermifugés avec de l'oxfendazole (SynanticND, Merial) per os à la dose de 5 mg/Kg.

B Le plan expérimental

Les agneaux ont été répartis en quatre lots homogènes en nombre d'individus et en poids. Le plan expérimental a tenu compte des différents types d'infestations.

Les lots ont été constitués de la façon suivante:

- Lot O: 6 agneaux infestés par *O. ovis*.
- Lot T: 6 agneaux infestés par *T. circumcincta*.
- Lot OT: 6 agneaux infestés par *O. ovis* et *T. circumcincta*.
- Lot C: 6 agneaux non infestés, servant de témoins.

Les prélèvements ont été réalisés de fin novembre 2003 à fin février 2004.

Des prises de sang hebdomadaires ont été effectuées tout au long de l'étude. Chaque mouton a été prélevé à la veine jugulaire et le sang recueilli dans trois tubes différents (deux tubes secs

et un tube hépariné). Des prélèvements de fèces ont été réalisés deux fois par semaine à partir de J60 et jusqu'à J95. Ces deux types de prélèvements (fèces et sang) ont aussi été pratiqués une semaine avant le début des infestations.

C Les infestations expérimentales

Les différents lots ont été infestés suivant le protocole présenté en Figure 8.

Les infestations successives par des L1 d'*O. ovis* ont été réalisées à J0, J7, J14, J21 et J28. Au total 82 L1 ont été administrées à chaque individu des lots OT et O par instillation nasale, la moitié dans chaque narine, en suspension dans 1 ml de sérum physiologique. Les L1 ont été collectées dans des têtes de moutons fraîchement abattus et conservées dans une solution saline. Ensuite, une infestation unique par voie orale a été réalisée à l'aide de 10.000 L3 de *T. circumcineta* administrée à chaque animal dans les lots OT et T à J47. Ces infestations ont été suivies par des autopsies à J95.

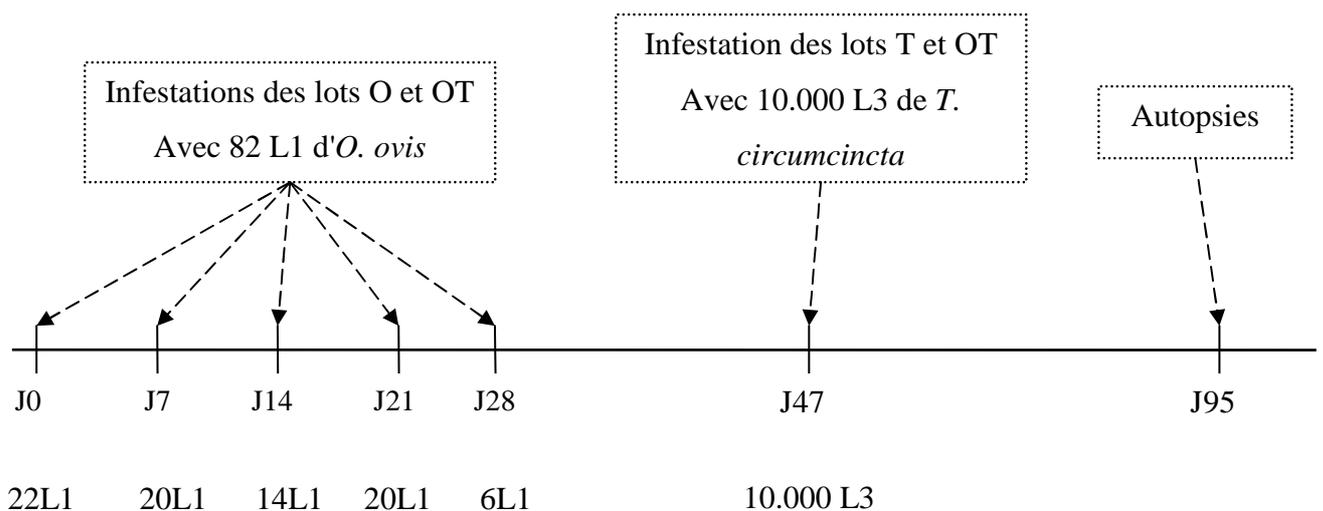


Figure 8: Protocole d'infestations parasitaires expérimentales par *O. ovis* et/ou *T. circumcineta* chez des agneaux de race Tarasconnaise.

D Mesures des paramètres parasitaires

1 L'excrétion fécale d'œufs

Les nombres d'OPG ont été calculés à partir de prélèvements rectaux de fèces dès la première semaine d'infestation par *T. circumcineta*, suivi de deux prélèvements par semaine jusqu'aux autopsies.

Les coproscopies ont été réalisées selon la méthode modifiée de McMaster [78]. Cette méthode repose sur le principe de flottaison des oeufs, selon lequel en diluant des fèces dans un liquide dense les œufs se retrouvent en surface. Cela permet de dénombrer des éléments parasitaires dans un volume précis de suspension fécale (3g de fèces dans 42 ml de chlorure de sodium). La lecture est réalisée au microscope au grossissement 4*10 sur une lame de McMaster comprenant deux cellules de lecture (deux réseaux). Il suffit de compter le nombre d'œufs de type trichostrongle dans les deux réseaux et nous obtenons ainsi le nombre d'OPG. Le nombre d'OPG traduit le niveau d'infestation de l'animal, plus celui-ci a un nombre d'OPG élevé, plus il est infesté par les trichostrongles.

2 Le bilan parasitaire et la fertilité des vers femelles

A la fin de l'expérience, la totalité des animaux ont été autopsiés. Nous avons pu ainsi dénombrer les différents stades de larves d'oestre présentes dans les cavités nasales ainsi que les larves et les adultes de *T. circumcincta* situés au niveau de l'abomasum.

Pour la recherche des larves d' *O. ovis*, les têtes de moutons ont été coupées en deux longitudinalement. Le septum, les cornets, l'ethmoïde et les sinus ont été minutieusement disséqués. Les larves ont été comptées et identifiées selon leur stade (L1, L2, L3) [106].

En ce qui concerne *T. circumcincta*, le contenu de la caillette et ses eaux de rinçage ont été recueillies et filtrées sur un tamis de 40 µm. Ceci a permis de récupérer les parasites. Ensuite, la caillette a été digérée dans une solution de pepsine et d'HCl à 37°C, durant 6h, afin de récupérer les stades larvaires situés dans la paroi. Le contenu a été préservé par addition d'alcool absolu. Le volume pour chaque animal a été ramené à 1 L pour le contenu de la caillette et 500 mL pour la digestion de la caillette. Puis les vers ont été dénombrés sur un aliquot de 5% et classés en adulte mâle et femelle, L3 ou L4 [37].

De plus, vingt vers adultes femelles ont été prélevés au hasard pour chaque animal afin de déterminer leur fécondité. Pour ce faire, nous avons compté le nombre d'œufs présents dans l'utérus de chacune d'entre elles après avoir montées les vers femelles entre lame et lamelle dans un mélange d'eau et de lacto-phénol et lue la lame au microscope au grossissement 40*10.

E Mesures des paramètres sanguins

1 Comptage des éosinophiles sanguins

Les éosinophiles circulants sont des marqueurs d'une infestation parasitaire.

Les GE ont été dénombrés à partir des prises de sang réalisées de façon bi-hebdomadaire sur des tubes héparinés. La détermination de l'éosinophilie consiste à mélanger 100 µl de sang prélevé sur héparine avec 900 µl d'éosine Y (solution de Carpenter) afin de colorer les éosinophiles et ainsi faciliter leur comptage. Ensuite 10 µl du mélange est déposé dans une cellule de comptage de type FAST READ 102 (ISL, UK). Les éosinophiles sont comptés sur une grille correspondant à un volume de 1 µl [18].

2 Dosage des anticorps anti-oestres

Le dosage des Ac a été réalisé sur les prélèvements de sang hebdomadaire conservé sur tube sec.

Le dosage par la méthode ELISA des Ac anti-L2 repose sur leur mise en évidence grâce à une réaction Ag-Ac spécifique. Pour ce faire, l'Ag est fixé au fond des plaques, puis on ajoute le sérum à tester. Afin de visualiser la formation du complexe Ag-Ac, un conjugué anti-IgG d'ovin est ajouté, celui-ci se couple au complexe lorsqu'il est présent. Ce conjugué est couplé à une enzyme. Enfin, un révélateur (substrat de l'enzyme) est employé pour visualiser la fixation du conjugué grâce à une coloration.

Les antigènes d'*O. ovis* ont été préparés suivant la méthode décrite par [106]. L'extrait d'Ag est préparé à partir de L2 récemment récoltées, lavées et homogénéisées dans une solution de phosphate tamponnée (PBS) à pH = 7,2. L'extrait est ensuite centrifugé à 10.000 g durant 30 min et à 4°C. Le surnageant est prélevé afin de doser les protéines selon la méthode de Lowry [61].

Chaque plaque ELISA est sensibilisée à l'aide de 100 µl d'Ag à une concentration de 2 µg/ml (dilution dans du tampon carbonate à un pH de 9,6). Les plaques sont incubées à 37°C pendant une heure, suivi par une nuit à 4°C. Elles sont ensuite rincées à trois reprises avec du PBS-tween (pH 7,2). La saturation des sites se fait avec 200 µl de lait demi-écrémé dilué à 10% avec du PBS-tween, durant 30 min à 37°C. Les plaques sont vidées puis remplies avec 100 µl de sérum à tester, dilué au 1/200^{ème}. Les sérums sont déposés en triplicats et incubés à 37°C durant une heure, puis rincés à l'aide de PBS-tween. Ensuite 100 µl de conjugué anti-IgG d'ovin (Sigma) dilué au 1/1000^{ème} sont placés dans chaque puit et la plaque est mise à 37°C pour une heure. Après trois lavages, 100 µl de révélateur est ajouté. Il s'agit du 2,2'-azino-bis (3 ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid, Sigma) pour 1h à 37°C puis 15mn à 4°C. Les densités optiques des plaques sont lues au lecteur ELISA (Dynatech) à une longueur d'onde de 405 nm. Les résultats sont exprimés en pourcentage de positivité, le seuil de positivité étant de 20%.

3 Dosage du pepsinogène sérique

Les analyses ont été effectuées à partir des prélèvements hebdomadaires de sang réalisés sur tube sec.

Le principe du dosage du pepsinogène sérique repose sur la quantification de l'activité enzymatique de la pepsine formée à partir du pepsinogène contenu dans le sérum. Cette activité est mesurée sur un substrat protéique. Ici nous avons utilisé la Bovine Sérum Albumine (BSA) [32].

Le dosage comprend deux étapes et se réalise en micro-plaques [32]:

-La transformation du pepsinogène en pepsine en milieu acide (HCl) et à 37°C durant toute une nuit. La pepsine attaque préférentiellement les liaisons impliquant des acides aminés aromatiques. Nous mettons à réagir ensemble 50 µl de sérum à tester avec 250 µl de BSA, puis ils sont agités au vortex. Les protéines non clivées sont précipitées par 500 µl d'acide trichloroacétique (TCA) 4% qui stoppe la réaction entre la BSA et la pepsine.

-La coloration spécifique des acides aminés aromatiques. Le mélange est centrifugé à 10.000 g à 4°C pendant 5 min, précédé de 10 min d'attente après l'arrêt de la première étape. Un aliquote du surnageant (20 µl) est ajouté à 200 µl de soude à 0,25 M, la plaque est agitée, puis elle est incubée à température ambiante avec 30 µl du réactif de Folin (dilué au 1/3) durant 30 min, après 2 min d'agitation. La plaque est lue au lecteur ELISA à une longueur d'onde de 630 nm. Les valeurs sont comparées à celles d'une gamme étalon de tyrosine servant de référence. Les résultats sont exprimés en mU de tyrosine par litre de sérum.

Ce dosage permet d'effectuer un diagnostic quantitatif indirect des trichostrongyloses de la caillette chez les ruminants. La proportion de pepsinogène qui passe dans la circulation sanguine est d'autant plus importante que les lésions de la paroi le sont. Les valeurs classiques chez les petits ruminants indemnes sont comprises entre 100 et 200 mU [52].

F Mesures des paramètres histopathologiques

Les échantillons de tissus ont été prélevés lors des autopsies sur plusieurs localisations: quatre au niveau des muqueuses respiratoires supérieures (septum, cornet, ethmoïde, sinus) et deux pour les muqueuses de l'abomasum (fundus et pylore). Ils ont été conservés dans du formol tamponné à 10% ou dans du fixateur de Carnoy. Les prélèvements ont ensuite été inclus en paraffine puis découpés au microtome en section de 5 µm. Enfin, ils ont été colorés à l'hémalum et éosine dans le but d'observer les GL et les GE présents dans la muqueuse abomasale. Pour les GL et les GE de la muqueuse respiratoire supérieure ils ont été colorés

avec du carbol chromotrope [60]. Les mastocytes ont été colorés à l'aide du colorant bleu alcian dans tous les tissus [36]. Les cellules ont été comptabilisées dans 10 champs optiques différents pris au hasard au microscope au grossissement 40*10.

G Analyses statistiques

Les cinétiques des OPG, du pepsinogène sérique, des Ac anti-oestre ont été analysées par une ANOVA en données répétées. Les données histopathologiques ont été analysées par une ANOVA complétée par un test post hoc de Bonferroni. Le nombre de vers, la fertilité des vers femelles de *T. circumcincta* et le nombre de larves d'*O. ovis* ont été comparés entre les différents groupes d'animaux par un test de Kruskal-wallis (SYSTAT software) non paramétrique. Les valeurs des éosinophiles sanguins ont été transformés par un logarithme afin de normaliser la distribution des données puis analysée par une ANOVA date par date.

Les corrélations ont été calculées à l'aide du test des rangs de Spearman et appliquées aux seuls lots infestés; dans le but d'examiner les relations entre le recrutement en cellules inflammatoires au niveau des muqueuses et le nombre de vers, la fertilité des vers femelles de *T. circumcincta*, le nombre de larve d'*O. ovis*.

Au début de l'expérimentation nous avons six individus par lot. Malgré la séparation des groupes, deux animaux du lot T et un animal du lot C ont présenté des larves d'oestres lors des autopsies. Nous avons donc décidé de les retirer lors des analyses statistiques.

III Résultats

A Paramètres parasitaires

1 L'excrétion fécale d'œufs de *T. circumcincta*

L'évolution de l'excrétion fécale des œufs au cours de l'expérimentation est représentée par les courbes OPG (Cf. Figure 9) des deux lots infestés. Les témoins et le lot infesté uniquement par *O. ovis* ont été négatifs tout au long de l'essai.

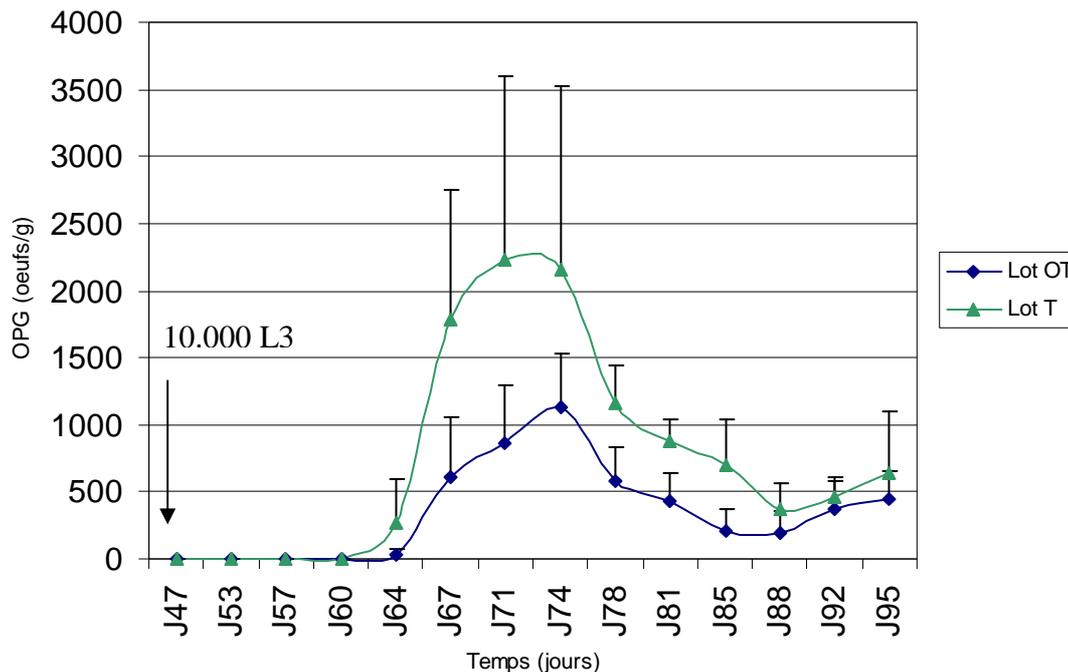


Figure 9: Evolution de l'excrétion fécale des œufs par des agneaux infestés avec *T. circumcincta* selon les lots (moyenne arithmétique).

Les 17 premiers jours correspondent à la période prépatente, c'est-à-dire le délai nécessaire pour obtenir une excrétion d'œufs des vers femelles de *Teladorsagia*. L'excrétion commence à J64. Les deux lots infestés ont montré un pic à J24 post-infestation pour le lot T et à J27 post-infestation pour le lot OT. Le lot T a présenté des valeurs en OPG supérieure à celle du lot OT tout au long de l'essai. Les deux lots ont eu une différence significative de 5% à partir de J64.

2 La charge parasitaire et la fertilité des vers femelles de *T. circumcincta* et la charge parasitaire en *O. ovis*

	Lot T	Lot OT		Lot O	
	10.000 L3 <i>T. circumcincta</i>	10.000 L3 <i>T. circumcincta</i>	82 L1 <i>O. ovis</i>	82 L1 <i>O. ovis</i>	
% établissement	51,7 ± 17,4	38,3 ± 10,2	21,5 ± 15,8	19,1 ± 17,4	% établissement
% femelle	51 ± 4,8	51,9 ± 6	83,6 ± 10	88,3 ± 14	% L1
% mâle	49 ± 5,9	48,1 ± 6,2	6,5 ± 10,2	6 ± 7,9	% L2
Fertilité	46* ± 5	28* ± 10	10,7 ± 12,1	5,7 ± 8	% L3

Tableau 1: Charge parasitaire et fertilité des femelles (œufs/ femelle) de *T. circumcincta* et charge parasitaire en *O. ovis* après autopsie des animaux. * P<0,01

Le pourcentage d'établissement de *T. circumcincta* a été inférieur chez le groupe co-infesté par rapport au groupe mono-infesté. Quelque soit le groupe d'animaux, les pourcentages en mâles et femelles ont été quasi similaires, avec très peu de variation entre les deux lots. Aucune L3 n'a été retrouvées lors des bilans parasitaires, et seules quelques L4 ont été identifiées pour le lot OT. Il n'existe cependant aucune différence significative pour le bilan parasitaire de *T. circumcincta* entre les lot OT et T. La fertilité des femelles de *T. circumcincta* a été significativement plus faible dans le lot OT (P<0,01) par rapport au lot T.

En ce qui concerne *O. ovis*, les pourcentages d'établissement ont été semblables entre les deux lots infestés. Les répartitions selon les stades larvaires sont identiques entre les deux groupes, avec une majorité de L1. Il n'y a pas eu de différence significative entre les deux lots.

B Paramètres sanguins

1 L'éosinophilie

L'évolution du nombre d'éosinophiles sanguins de tous les lots d'animaux est présentée à la Figure 10.

La cinétique de l'éosinophilie des quatre lots peut être divisée en quatre phases. La première partie correspond aux quatre premières dates où il n'y a pas eu de différences significatives entre les lot O et OT avec les lots T et C. A partir de J8, et jusqu'à J46, les lots OT et O ont eu des valeurs significativement supérieures aux lots T et C. De plus, les lots OT et O ont présenté un pic à J18, suivi d'un second pic inférieur au précédent à J46 pour le lot O. La troisième phase débute à J50, avec une chute de l'éosinophilie pour le lot O, tandis que l'éosinophilie du lot OT a continué d'augmenter, avec un pic à J60. Durant cette phase, le lot OT a obtenu des valeurs significativement supérieures par rapport aux trois autres lots. La

dernière phase débute à J64 avec un pic pour le lot T. A cette date, tous les lots ont des valeurs significativement différentes entre eux. Ensuite, les valeurs des trois lots infestés ont diminué progressivement jusqu'à atteindre des valeurs non significativement différentes avec le lot C à la fin de l'expérimentation. Tout au long de l'essai le lot C a montré des valeurs inférieures à 5000 cellules/ 10 champs.

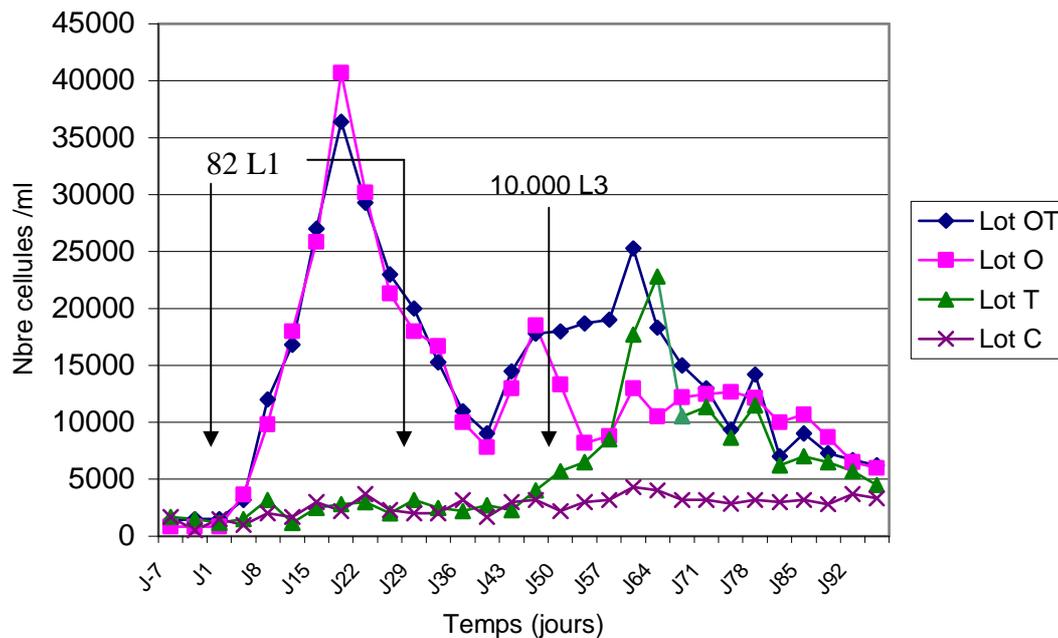


Figure 10: Evolution de l'éosinophilie chez des agneaux infestés expérimentalement par *O. ovis* entre J0 et J28 et/ou *T. circumcincta* à J47 selon les lots d'infestation (moyenne arithmétique).

2 La sérologie oestrose

La cinétique des dosages ELISA Ac anti-oestrose est récapitulée pour les quatre lots à la Figure 11.

Le seuil de positivité est de 20%, c'est-à-dire que tous les animaux possédant un % de positivité supérieur ou égal à 20 sont considérés comme des animaux positifs en oestrose. Les moyennes des pourcentages de positivité des lots C et T sont restées inférieures à ce seuil tout au long de l'essai. Celles des lots OT et O ont dépassé le seuil de positivité à J46 et J67 respectivement. Les groupes O et OT ont présenté une augmentation du taux en Ac continue et progressive jusqu'à la fin de l'expérience, celle du lot O étant légèrement plus lente. Il n'y a pas eu de différence entre les lot O et OT, par contre chacun de ces lots est significativement différent avec les lot T et C.

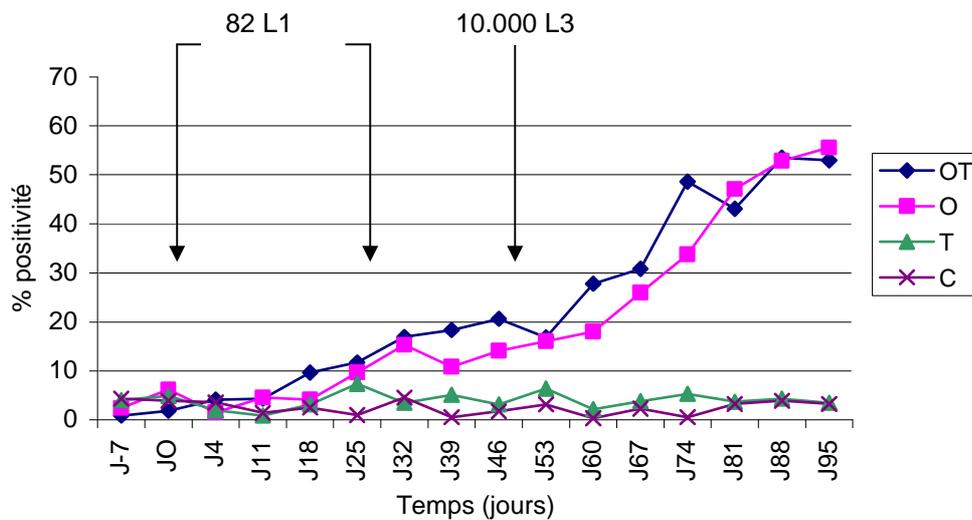


Figure 11: Evolution des anticorps sériques spécifiques (IgG) dirigés contre *O. ovis* chez des agneaux infestés expérimentalement par 82 L1 d' *O. ovis* et/ou 10.000 L3 de *T. circumcincta* en fonction des lots (moyenne arithmétique).

3 Le pepsinogène sérique

L'évolution de la concentration sérique en pepsinogène est représentée pour les quatre lots à la Figure 12.

Les valeurs usuelles chez les petits ruminants indemnes de parasites sont inférieures à 300 mU tyrosine L⁻¹. Les deux lots non infestés par *T. circumcincta* ont présenté des moyennes autour de cette valeur. Pour le lot T un pic a été constaté à J67, un autre pic de valeur plus faible a aussi été observé pour le lot OT. Ces pics ont été suivis d'une diminution progressive des valeurs, tout en restant supérieures à celles des lots non infestés par *Teladorsagia*. Le lot T a présenté des valeurs supérieures au lot OT tout au long de l'essai. Avant l'infestation, aucune différence significative n'a été observée; après l'infestation, une différence significative globale (P<0,001) est apparue. Les lots T et OT ont eu des valeurs significativement plus élevées (P<0,01) après l'infestation par *T. circumcincta* par rapport aux deux autres lots non infestés, excepté pour le lot OT sur les deux dernières dates. De plus, Les lots T et OT ont été significativement différents à partir de J74 (P<0,06), soit 27 jours après l'infestation, et ils le sont resté jusqu'à le fin de l'expérimentation (P<0,01).

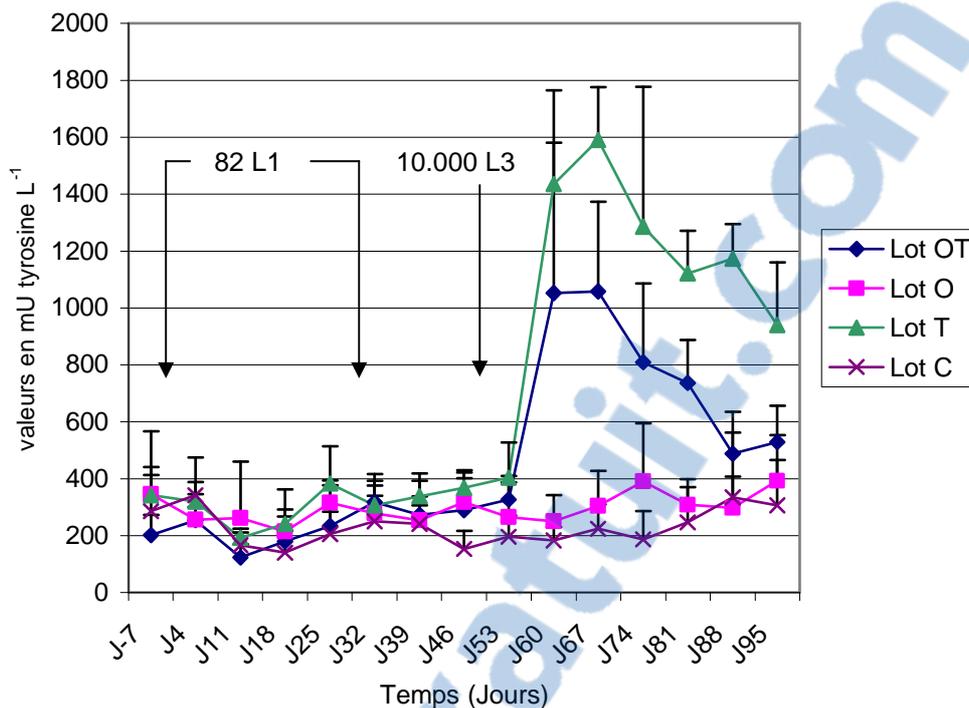


Figure 12: Evolution des valeurs du pepsinogène sérique en fonction des lots chez des agneaux infestés expérimentalement par 10.000 L3 de *T. circumcincta* et/ou 82 L1 d'*O. ovis* (moyenne arithmétique).

C Paramètres histopathologiques

Les résultats des dénombrements des différents types cellulaires dans les muqueuses respiratoires supérieures (septum, cornets, ethmoïde, sinus) et digestives (fundus et pylore) ont été regroupés en fonction des types cellulaires (GE muqueux, GE intraépithéliaux, mastocytes et GL) dans les Figures 13,14, 15 et 16.

1 Dans les muqueuses respiratoires supérieures

L'infection par *O. ovis* est suivie par un recrutement général en cellules inflammatoires (GE, mastocytes et GL) au niveau des muqueuses respiratoires supérieures. Ce recrutement en cellules concerne surtout les mastocytes et les GL, avec des différences significatives sur l'ensemble de la muqueuse entre les lots OT, O et les lots T, C pour les mastocytes ($P < 0,03$) et dans le septum et l'ethmoïde pour les GL ($P < 0,07$). Pour les GE, les seules différences significatives ont été retrouvées dans le septum ($P < 0,06$).

Aucune différence significative n'a été constatée entre les lot O et OT, excepté dans le septum pour les GE muqueux et les mastocytes ($P < 0,06$).

Il n'y a pas eu de différences significatives entre les lots T et C, quelque soit la localisation et le type cellulaire. L'infection par *T. circumcincta* seul n'est donc accompagnée d'aucune réaction inflammatoire.

2 Dans les muqueuses digestives

L'infestation par *T. circumcincta* est elle aussi suivi par un recrutement important des cellules inflammatoires au niveau des muqueuses de la caillette (fundus et pylore). En effet, le lot T a présenté des différences significatives avec le lot C pour les mastocytes et les GE muqueux ($P < 0,05$); le lot OT a présenté des différences significatives avec le lot C ($P < 0,002$) pour l'ensemble des GE muqueux, des mastocytes et des GL. Le lot OT a donc présenté plus de différences significatives avec le lot C que le lot T.

Pour les muqueuses abomasales, la présence seule d'*O. ovis* dans les cavités nasales a entraîné un recrutement en mastocytes, en GE muqueux et en GL supérieur aux témoins au niveau des muqueuses du fundus et du pylore, néanmoins ces différences ne sont pas significatives.

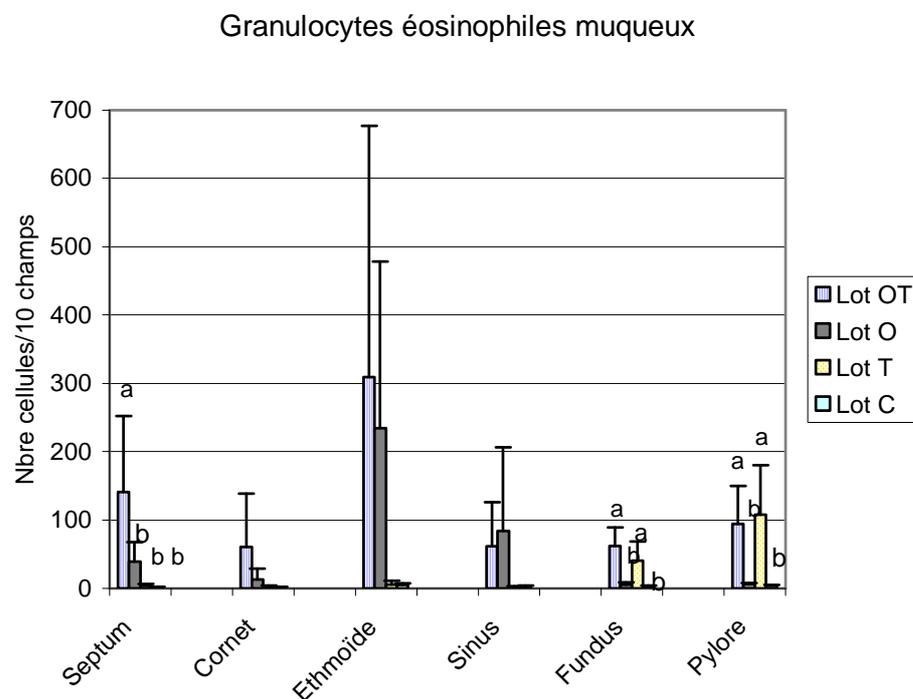


Figure 13: Comparaison de la réponse cellulaire en éosinophiles muqueux au niveau des différents sites anatomiques en fonction des lots (moyenne arithmétique).

Granulocytes éosinophiles intraépithéliaux

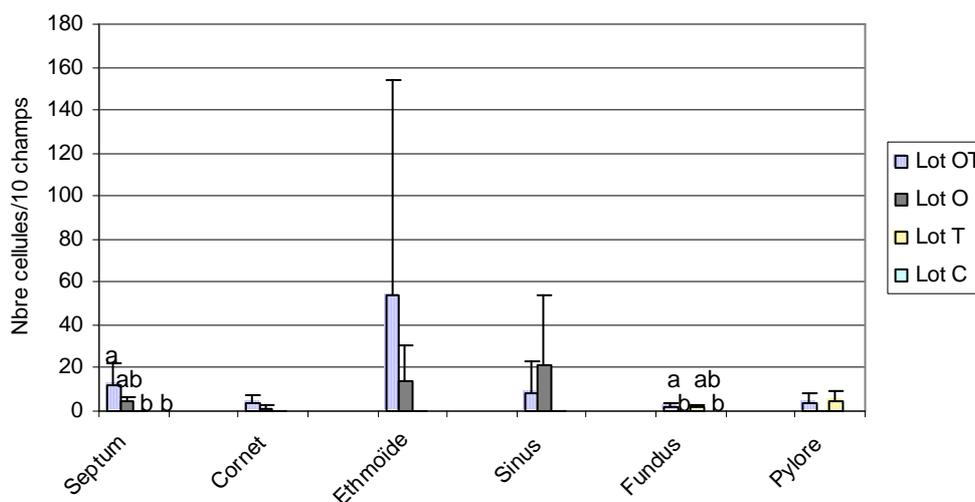


Figure 14: Comparaison de la réponse cellulaire en éosinophiles intraépithéliaux au niveau des différents sites anatomiques en fonction des lots (moyenne arithmétique).

Mastocytes

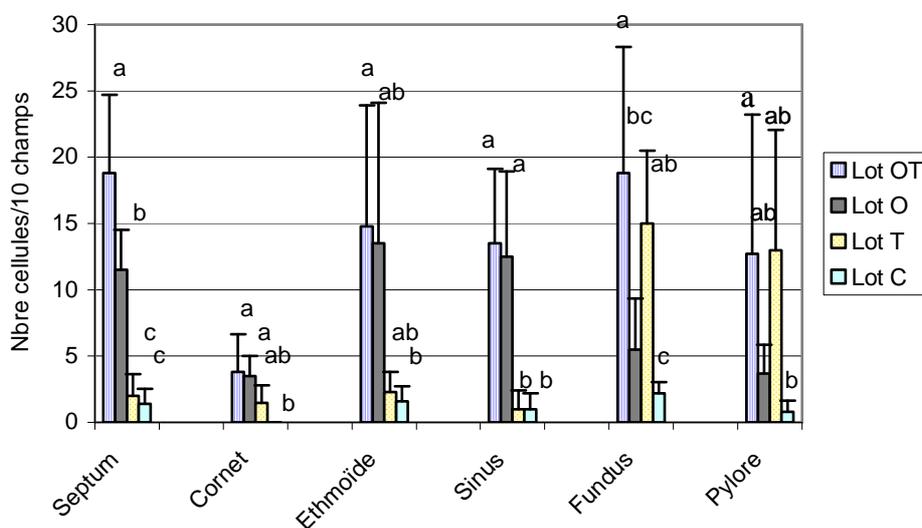


Figure 15: Comparaison de la réponse cellulaire en mastocytes au niveau des différents sites anatomiques en fonction des lots (moyenne arithmétique).

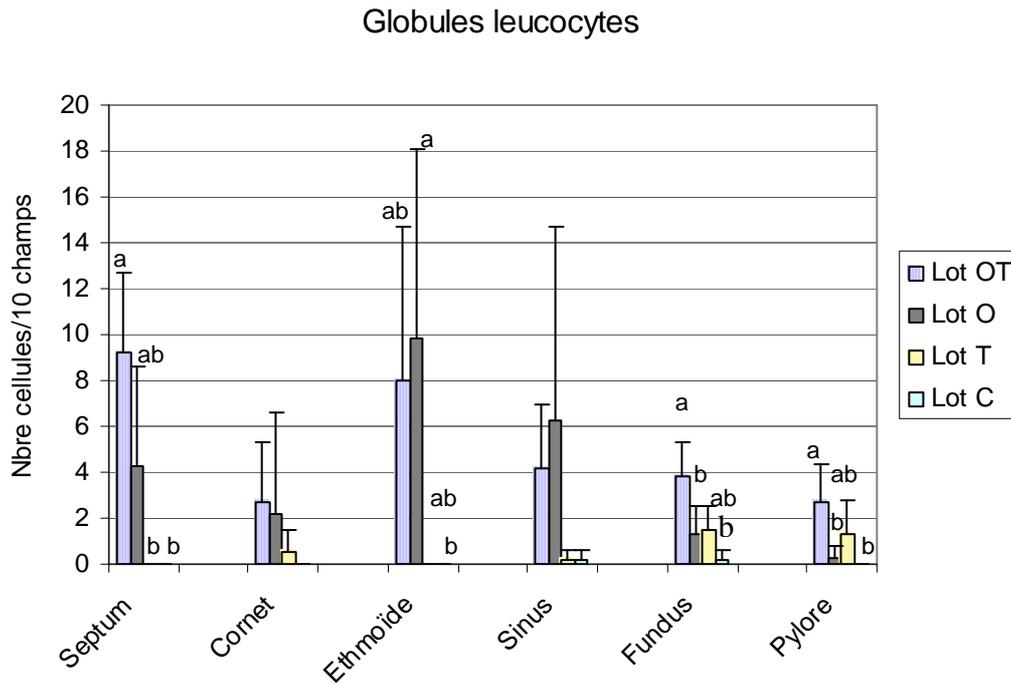


Figure 16: Comparaison de la réponse cellulaire en globules leucocytes au niveau des différents sites anatomiques en fonction des lots (moyenne arithmétique).

D Corrélation entre variables

Les corrélations de Spearman ont été estimées entre les valeurs des données histologiques et le nombre de vers, puis la fertilité des vers femelles de *T. circumcincta* pour un ddl = 10, et le nombre de larves d'oestres pour un ddl = 8. Les corrélations ont été calculées uniquement pour les groupes infestés.

Pour le nombre de vers dans la caillette, il n'y a pas eu de corrélation significative avec les cellules inflammatoires. Pour la fertilité des vers femelles, des corrélations significatives et négatives ($P < 0,05$) ont été trouvées avec les GE muqueux ($r = -0,607$) et les GL ($r = -0,871$) du fundus.

Pour le nombre de larves d'*O. ovis* dans les cavités nasales, des corrélations significatives et positives ($P < 0,05$) ont aussi été constatées avec les GE muqueux des cornets ($r = 0,556$) et de l'ethmoïde ($r = 0,596$), et les mastocytes des sinus ($r = 0,599$).

IV Discussion

Cette expérimentation a été réalisée afin de répondre aux trois questions suivantes:

-Existe-t-il des interactions entre *T. circumcincta* et *O. ovis* lors de co-infestations chez les petits ruminants?

-Quelles sont les conséquences de ces interactions pour l'hôte?

-Quels sont les mécanismes potentiels mis en jeu lors des ces interactions?

A Interactions entre *O. ovis* et *T. circumcincta*

1 Influences de *T. circumcincta* sur *O. ovis*

Il n'y a pas eu de différences significatives dans le nombre de larves et le développement d' *O. ovis* entre les lots OT et O. De plus, des valeurs similaires ont été trouvées pour les dosages en ELISA des IgG sériques anti-oestre, et peu de différences ont été constatées lors du recrutement des cellules inflammatoires au niveau des muqueuses respiratoires entre ces deux groupes.

Par conséquent, la présence de *T. circumcincta* au niveau de l'abomasum ne paraît pas influencer le développement des larves d' *O. ovis*. Cela va dans le sens des expérimentations précédemment menées avec d'autres nématodes du tube digestif, notamment *T. colubriformis* [102, 103], et *H. contortus* [28, 99]. Là aussi, la présence des nématodes n'a pas influencé le développement des larves d'*Oestrus*.

2 Influences d' *O. ovis* sur *T. circumcincta*

Durant notre essai, des différences significatives en nombre d'OPG ont été constatées entre les lots T et OT, des valeurs significativement inférieures pour le lot OT ayant été observées. Ceci pourrait traduire une meilleure résistance des animaux face à l'infestation par *Teladorsagia* dans le groupe précédemment infesté avec des L1 d'oestre. En effet, l'un des critères de sélection sur la résistance des ovins aux nématodes gastro-intestinaux est le nombre d'OPG, les animaux résistants excréant moins d'œufs [2, 8]. Or les valeurs en OPG reflètent l'évolution possible de deux paramètres: le nombre de vers et la fertilité des vers femelles. Cette diminution en nombre d'OPG peut donc avoir deux origines. Durant notre étude, la charge parasitaire n'a pas montré de différences significatives entre les lot OT et T lors des autopsies. Par contre, la fertilité des vers femelles de *T. circumcincta* a présenté une différence significative entre les deux lots infestés par *T. circumcincta*, le lot OT possédant moins d'œufs dans l'utérus des femelles. Ceci indique qu'une infestation antérieure avec *O.*

ovis permet de limiter la reproduction des vers de *T. circumcincta*. Nos résultats vont dans le même sens que les observations précédentes d'autres auteurs; ayant trouvé également une diminution de l'OPG chez les lots co-infestés avec *O. ovis* et des trichostrongles digestifs [28, 99, 102, 103]. Terefe et al [99] et Yacob et al [102, 103] ont aussi observé une chute de la fertilité des femelles dans les lots infestés par *O. ovis* et *H. contortus* ou *T. colubriformis* par rapport au lot infesté sans *Oestrus*. En plus, Yacob et al [102, 103] ont observé une réduction du nombre de *T. colubriformis*.

Ces constatations permettent de conclure qu'*O. ovis* serait capable d'interagir négativement et sans spécificité sur la biologie des trichostrongles digestifs, en réduisant leur reproduction (le cas lors de notre étude, [28, 99]) ou en réduisant leur population [102, 103].

B Conséquences pour l'hôte

Il a été constaté lors d'infestation par des nématodes de la caillette une augmentation du pepsinogène dans le plasma sanguin [42]. Il a été démontré que cette élévation peut être corrélée avec le niveau des lésions et des infestations [59, 89]. De plus, il a été constaté une corrélation forte entre la concentration en pepsinogène et la longueur des vers [89]. En effet, plus les vers sont grands, plus les lésions de la muqueuse semblent importantes, et les femelles les plus longues possèdent une meilleure fertilité [90].

Dans notre étude, nous avons noté une augmentation rapide de la concentration en pepsinogène sérique deux semaines post-infestation, suivi d'une légère diminution. Le lot T a eu des valeurs significativement plus élevées par rapport au lot OT. Cette différence traduit une altération plus grave des muqueuses abomasales. Cette augmentation en sécrétion gastrique est principalement associée au développement des larves en adultes [84]. Le délai de quinze jours permet aux larves de passer au stade adulte, donc le pic de concentration à J67 correspondrait à l'émergence des adultes, date que l'on retrouve pour l'apparition des premiers œufs de *T. circumcincta* dans les fèces. La chute de la concentration à partir de J74 pour les lots OT et T peut être expliquée par la transformation de la majorité des larves en vers adultes situés dans la lumière, avec une reprise normale des fonctions des cellules pariétales [59]. Cette cinétique de la concentration en pepsinogène a également été observée avec *H. contortus*, néanmoins les valeurs ont été inférieures à celle de notre étude [99].

Les valeurs plus faibles chez le groupe OT peuvent s'expliquer par l'interaction négative entre *O. ovis* et *T. circumcincta*, permettant de limiter la pathogénie du trichostrongle.

C Mécanismes mis en jeu

1 Les anticorps sérique anti-oestres (IgG)

T. circumcincta n'a pas influencé la cinétique en IgG dirigées contre *O. ovis*. Or ces Ig semblent impliquées lors d'infestation par *O. ovis*. En effet, le développement d'une réponse en Ac au niveau local et général a été étudié par divers auteurs [91, 94]. Lors d'infestation par *O. ovis* la concentration en IgG, IgM et IgA augmentent par rapport au lot non infesté. Nos résultats vont dans le même sens puisque les deux lots infestés ont présenté une augmentation continue et progressive en IgG tout au long de l'essai. Les valeurs ont été significativement plus élevées que dans les groupes non infestés.

2 Les éosinophiles sanguins

Les GE circulants sont caractéristiques des infestations parasitaires, notamment par *T. circumcincta* [44] et *O. ovis* [96]. Lors de notre expérimentation, chacun des lots infestés a présenté un pic après chaque infestation, contrairement au lot C. Nos résultats concordent avec ceux de Terefe et al [99] et Yacob et al [102, 103]. Ces GE pourraient être impliqués dans l'influence négative exercée par *O. ovis* sur le développement des vers de *T. circumcincta* dans l'abomasum. En effet, à partir de la circulation sanguine les GE peuvent migrer et coloniser les muqueuses de l'abomasum. Ils agiraient ensuite directement sur les vers, en association avec les Ac (notamment les IgA) [44], ou d'autres cellules inflammatoires. Ces hypothèses sur l'importance du recrutement en cellules inflammatoires dans les muqueuses ont justifié nos mesures histologiques.

3 Les cellules inflammatoires des muqueuses

Les cellules intervenant dans les HS1 sont souvent retrouvées en grand nombre lors d'infestations par *O. ovis* et *T. circumcincta* dans les muqueuses correspondantes [5, 6, 27, 94]. Lors de notre essai, le recrutement des cellules inflammatoires a été important dans les muqueuses respiratoires supérieures pour les lots infestés par *O. ovis*, et dans les muqueuses digestives chez les lots infestés par *T. circumcincta*. Les GE muqueux ont été le type cellulaire le plus représenté dans les muqueuses, avec des différences significatives au niveau du septum entre les lots OT et C, et de la caillette entre les lots OT, T et C. Cela va dans le sens de publications précédentes lors d'infestation par d'autres nématodes [5, 68] ou *O. ovis* [27, 75]. Les GL et les mastocytes représentent aussi un élément majeur dans la RI contre des parasites. Même si ces cellules sont retrouvées dans les muqueuses en plus faible nombre que

les GE, ces deux types cellulaires ont présenté des différences significatives dans l'ensemble des muqueuses entre les lots infestés et les témoins. Ceci traduit leur rôle de cellules effectrices dans l'HS1 présente lors de ces parasitoses. Ces résultats concordent avec ceux de Nguyen et al [73] en ce qui concerne *O. ovis*, et ceux de Balic et al [5] pour les trichostrongles digestifs.

Durant notre étude, les cellules inflammatoires ont présenté des corrélations positives avec *O. ovis*, ce qui semble indiquer que ces cellules ne jouent pas un rôle majeur de défense vis-à-vis des oestres. Elles ont été uniquement des marqueurs de l'infestation.

Des corrélations négatives ont été constatées entre certaines cellules inflammatoires (GE muqueux et GL) et la fertilité des vers de *T. circumcincta*. De même, les mastocytes, les GE et les GL ont montré, lors d'une expérimentation précédente, une corrélation négative avec la charge parasitaire en *H. contortus* et en nombre d'OPG [8]. Tous ces résultats renforcent l'idée d'une intervention des cellules inflammatoires des muqueuses pour la réponse face aux trichostrongles.

Lors de notre essai, il n'y a pas eu de réaction inflammatoire dans les muqueuses respiratoires chez le lot T. De même, *T. circumcincta* n'a pas influencé le développement d'*O. ovis*. Ces constatations vont dans le même sens que les études précédentes, réalisées avec d'autres nématodes du TD [99, 102, 103].

Lors d'études antérieures, la RI a été supérieure chez le lot O par rapport au lot témoins dans les muqueuses du TD [103, 99], avec des différences significatives pour les mastocytes, les GL et les GE muqueux. Ces résultats pourraient expliquer en partie l'interaction négative d'*O. ovis* sur la biologie des trichostrongles digestifs par une densité plus importante en cellules de l'inflammation. Durant notre essai, il n'y pas eu de différences significatives observées entre les lots O et C, néanmoins les valeurs en mastocytes, GE muqueux et GL ont été légèrement supérieures chez le lot O par rapport aux témoins. De plus, le lot OT a souvent présenté des valeurs supérieures en cellules inflammatoires par rapport au lot T. Néanmoins, il n'y a pas eu de différences significatives entre les lots O et OT. Cette principale différence entre nos résultats et ceux trouvés précédemment peut être due au faible nombre d'individus des lots T et C. De plus, la RI est classiquement plus importante au niveau de l'intestin par rapport à l'estomac (notamment par la présence des plaques de Peyer). Ceci est retrouvé lors de l'expérimentation réalisée avec *T. colubriformis*, le recrutement en cellules inflammatoires au niveau de l'intestin a été plus important par rapport aux valeurs retrouvées avec *H. contortus* dans la caillette [103, 99].

V Conclusion

Le nématode gastro-intestinal *T. circumcincta* et le diptère *O. ovis* co-existent régulièrement chez un même individu, et peuvent donc interagir, notamment au niveau de la réaction inflammatoire à distance.

Avec cette étude, nous avons démontré que des infestations répétées avec *O. ovis* ont une influence significative sur la reproduction et la pathogénie de *T. circumcincta*. Cette interaction est négative, à distance et non réciproque. En effet, *T. circumcincta* n'influence pas la biologie d'*O. ovis*. L'influence d'*O. ovis* sur des populations de *Teladorsagia* semblerait due à un plus fort recrutement en cellules inflammatoires activées et en GE sanguins, et/ou la création d'un environnement défavorable par leurs produits de dégranulation.

Une meilleure connaissance de ces interactions a des implications en élevage. Ces interactions doivent être prises en compte lors de l'administration de traitement anti-parasitaires ou dans les sélections d'animaux résistants. Par exemple, une étude a observé qu'une race d'ovins sélectionnée pour sa résistance contre les nématodes gastro-intestinaux présentait en parallèle un pourcentage de L1 d'oestres significativement plus élevé [104].

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que
Mlle Elodie, Dominique DUMAS
a été admis(e) sur concours en : 2002
a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 18 Octobre 2007
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, Monsieur Philippe JACQUIET, Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
autorise la soutenance de la thèse de :

Mlle Elodie, Dominique DUMAS

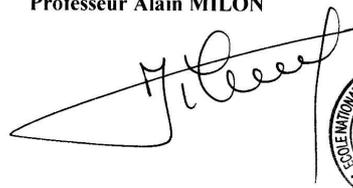
intitulée :

«Etude expérimentale d'infestations d'ovins par *Oestrus ovis* et *Teladorsagia circumcincta* »

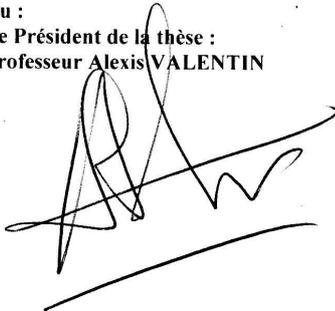
**Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Docteur Philippe JACQUIET**



**Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON**



**Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Alexis VALENTIN**



**Vu le : 09 JUIN 2008
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Gilles FOURTANIER**



Bibliographie

- [1] J.P Alzieu, O. Chiarisoli. Actualités sur la clinique et la thérapeutique de l'oestrose ovine. *Point vét.*, 1990, 22 (129): 173-183.
- [2] A. F. T. Amarante, T. M. Craig, W. S. Ramsey, S. K. Davis, F. W. Bazer. Nematode burdens and cellular responses in the abomasal mucosa and blood of Florida Native, Rambouillet and crossbreed lambs. *Vet. Parasitol.*, 1999, 80: 311-324.
- [3] C. E. Angulo-Valadez, R. Cepeda-Palacios, F. Ascencio, P. Jacquiet, P. Dorchies, M. J. Romero, R. M. Khelifa. Proteolytic activity in salivary gland products of sheep bot fly (*Oestrus ovis*) larvae. *Vet. Parasitol.*, 2007, 149: 117-125.
- [4] J. Armour, K. Bairden, P. H. Holmes, J. J. Parkins, H. Ploeger, S.K. Salman, P. N. McWilliam. Pathophysiological and parasitological studies on *Cooperia oncophora* infections in calves. *Res. Vet. Sci.*, 1987, 42: 373-381.
- [5] A. Balic, V. M. Bowles, E. N. T. Meeusen. Cellular profiles in the abomasal mucosa and lymph node during primary infection with *Haemonchus contortus* in sheep. *Vet. Immunol. Immunopath.*, 2000, 75: 109-120.
- [6] T. Bendixen, D. L. Emery, W. O. Jones. The sensitization of mucosal mast cell during infections with *Trichostrongylus colubriformis* or *Haemonchus contortus* in sheep. *Int. J. Parasitol.*, 1995, 25 (6): 741-748.
- [7] J.L. Blanchard, R.B. Wescott. Enhancement of resistance of lambs to *Haemonchus contortus* by previous infection with *Ostertagia circumcincta*. *Am. J. Vet. Res.*, 1985, 46: 2136-2140.
- [8] P. A. Bricarello, S. M. Gennari, T. C. G. Oliveira-Sequeira, C. M. S. L. Vaz, I. Gonçalves de Gonçalves, F. A. M. Echevarria. Worm burden and immunological responses in Corriedale and Criuola Lanada sheep following natural infection with *Haemonchus contortus*. *Small Rum. Res.*, 2004, 51: 75-83.
- [9] J. Brostoff, T. Hall. Hypersensibilité de type 1. In I. M. Roitt, J. Brostoff, D.K. Male. *Immunologie*. 3^{ème} édition. Bruxelles: De Boeck-Wesmael S.A., 1994. 19.1-19.22.
- [10] B. M. Buddle, G. Jowett, R. S. Green, P. G. C. Douch, P. L. Risdon. Association of blood eosinophilia with the expression of resistance in Romney lambs to nematodes. *Int. J. Parasitol.*, 1992, 22: 955-960.
- [11] J. Cabaret, H. Hoste. Comparative analysis of two methods used to show interspecific associations in naturally acquired parasite nematode communities from the abomasum of ewes. *Vet. Parasitol.*, 1998, 76: 275-285.

- [12] S. Caracappa, S. Rilli, P. Zanghi, V. Di Marco, P. Dorchie. Epidemiology of ovine oestrosis (*Oestrus ovis* Linné 1761, Diptera: Oestridae) in Sicily. *Vet. Parasitol.*, 2000, 92: 233-237.
- [13] C. Combes. Parasites contre leurs non-semblables. In C. Combes. *Interactions durables. Ecologie et évolution du parasitisme*. Paris, Milan, Barcelone: Masson, 1995. 386-422.
- [14] R. L. Coop, I. Kyriazakis. Influence of host nutrition on the development and consequences of nematode parasitism in ruminants. *Trends in Parasitol.*, 2001, 17 (7): 325-330.
- [15] N. M. Craig, H. R. P. Miller, W. D. Smith, P. A. Knight. Cytokine expression in naïve and previously infected lambs after challenge with *Teladorsagia circumcincta*. *Vet. Immunol. Immunopath.*, 2007, 120: 47-54.
- [16] A. Cucuini. *Contribution à l'étude des modalités de la réaction inflammatoire chez le mouton lors de co-infestations par Oestrus ovis et par des nématodes: Haemonchus contortus ou Teladorsagia circumcincta. Dosage de la protéinémie et deux de protéines positives de la phase aiguë: la céruloplasmine et l' α -1-antitrypsine*. Thèse vétérinaire: Toulouse, E.N.V.T.:2005. 136.
- [17] C. A. Dahiden. Cellules de l'inflammation, mastocytes et basophiles. In F. Russo-Marie, A. Pelletier, B. S. Polla. *L'inflammation*. Paris: John Libbey Eurotext, 1998. 69-78.
- [18] H. J. S. Dawkins, R. G. Windon, G. K. Eagleston. Eosinophil responses in sheep selected for high and low responsiveness to *Trichostrongylus colubriformis*. *Int. J. Parasitol.* 1989, 19 (2): 199-205.
- [19] M. Delverdier, L. Bret, I. Raymond, J. P. Magnol. La réaction inflammatoire: II. Dynamique et signification biologique. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 1993, 28: 589-603.
- [20] P. Demoly, H. Yssel, J. Bousquet. Différents modèles d'inflammation, la réaction d'allergie immédiate et l'atopie. In F. Russo-Marie, A. Pelletier, B. S. Polla. *L'inflammation*. Paris: John Libbey Eurotext, 1998. 150-164.
- [21] J. K. Dineen, P. Gregg, R. G. Windon, A. D. Donald, J. D. Kelly. The role of immunologically specific and non-specific components of resistance in cross-protection to intestinal nematodes. *Int. J. Parasitol.*, 1977, 7: 211-215.
- [22] R.J. Dobson, H. Barnes. Interaction between *Ostertagia circumcincta* and *Haemonchus contortus* infection in young lambs. *Int. J. Parasitol.*, 1995, 25 (4): 495-501.
- [23] Ph. Dorchie, S. Wahatra, E. Lepetitcolin, F. Prévot, C. Grisez, J. P. Bergeaud, H. Hoste, Ph. Jacquiet. The relationship between nasal myiasis and the prevalence of enzootic

nasal tumours and the effects of treatment of *Oestrus ovis* and milk production in dairy ewes of Roquefort cheese area. *Vet. Parasitol.*, 2003, 113: 169-174.

[24] Ph. Dorchies, J. P. Bergeaud, G. Tabouret, C. Duranton, F. Prevot, Ph. Jacquet. Prevalence and larval burden of *Oestrus ovis* (Linné 1761) in sheep and goats in northern mediterranean region of France. *Vet. Parasitol.*, 2000, 88: 269-273.

[25] P. Dorchies, G. Tabouret, C. Duranton, P. Jacquet. Relations hôte-parasite: l'exemple d'*Oestrus ovis* (Linné 1761) chez le mouton et la chèvre. *Rev. Méd. Vét.*, 1999, 150 (6): 511-516.

[26] P. Dorchies, F. Prevot, C. Duranton, J-P. Bergeaud, J. Akakpo, L-J. Pangu, A. Missohou, P. Deconinck, L. Ouatarra, F. Roger, L. Achi-Yaba, M. Dia, Ph. Jacquet. Oestrose du mouton et de la chèvre (*Oestrus ovis* Linné 1761) en Afrique: résultats d'une enquête sur 3204 sérums provenant de neuf pays. *Rev. Méd. Vét.*, 1999, 150 (5): 463-466.

[27] P. Dorchies, C. Duranton, P. Jacquet. Pathophysiology of *Oestrus ovis* infection in sheep and goats: a review. *Vet. Rec.*, 1998, 142: 487-489.

[28] P. Dorchies, J.P Bergeaud, N. Van Kannah, S. Morand. Reduced egg counts in mixed infections with *Oestrus ovis* and *Haemonchus contortus*: influence of eosinophils. *Parasitol. Res.*, 1997, 83: 727-730.

[29] Ph. Dorchies, J.P Alzieu. L'oestrose ovine: revue. *Rev. Méd. Vét.*, 1997, 148 (7): 565-574.

[30] Ph. Dorchies, G. Larrouy, P. Deconinck, J. Chantal. L'ophtalmomyiase externe humaine en République de Djibouti. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1995, 88: 86-89.

[31] Ph. Dorchies, J. M. Yilma, J. Savey. Prevalence of lung abscesses and interstitial pneumonia in ovine oestrosis. *Vet. Rec.*, 1993, 133: 325.

[32] P. Dorny, J. Vercruyse. Evaluation of a micro method for the routine determination of serum pepsinogen in cattle. *Res. Vet. Sci.*, 1998, 65: 259-262.

[33] S. Dubucquoi, M. Capron. Cellules de l'inflammation, l'éosinophile: une cellule à deux visages dans la réponse inflammatoire. In F. Russo-Marie, A. Pelletier, B. S. Polla. *L'inflammation*. Paris: John Libbey Eurotext, 1998. 55-68.

[34] C. Duranton, Ph. Dorchies, S. Grand, C. Lesure, I. Oswald. Changing reactivity of caprine and ovine mononuclear phagocytes throughout part of the life cycle of *oestrus ovis* assessment through spontaneous and inductibles NO production. *Vet. Res.*, 1999, 30: 371-376.

[35] C. Duranton, J. P. Bergeaud, P. Dorchies. Infestations expérimentales du chevreau par des larves L1 d'*oestrus ovis*. *Vet. Res.*, 1996, 27: 473-477.

- [36] L. Enerback. Mast cells in rat gastrointestinal mucosa. II. Dye binding and metachromatic properties. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.*, 1966, 66: 303-312.
- [37] J. Euzéby. Méthodes et techniques de récolte des helminthes. In J. Euzéby. *Diagnostic expérimental des helminthoses animales. Livre 2, Diagnostic direct post mortem, diagnostic indirect (diagnostic biologique)*. Paris: édition informations techniques des services vétérinaires, 1982. 10-37.
- [38] J. Euzéby. Trichostrongylidés et strongyloses gastro-intestinales. In J. Euzéby. *Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine. Tome premier, maladies dues aux Némathelminthes. Fascicule deuxième*. Paris VI^e: Vigot frères éditeurs, 1963. 1-6.
- [39] J. Euzéby. Trichostrongylidés et strongyloses gastro-intestinales, Trichostrongylidoses des ruminants. In J. Euzéby. *Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine. Tome premier, maladies dues aux Némathelminthes. Fascicule deuxième*. Paris VI^e: Vigot frères éditeurs, 1963. 7-15.
- [40] J. Euzéby. Classe des nématodes, caractères généraux. In J. Euzéby. *Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine. Tome premier, maladies dues aux Némathelminthes. Fascicule premier*. Paris VI^e: Vigot frères éditeurs, 1961. 1-23.
- [41] J. Euzéby. Helminthoses dues aux nématodes de l'ordre des myosyringata, Stroglyoïdea et strongyloses, caractères généraux. In J. Euzéby. *Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine. Tome premier, maladies dues aux Némathelminthes. Fascicule premier*. Paris VI^e: Vigot frères éditeurs, 1961. 296-303.
- [42] M.T. Fox. Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants: recent developments. *Vet. Parasitol.*, 1997, 72: 285-308.
- [43] I. Heikkila. Pleuropneumonie infectieuse des moutons. *Bull. Off. Int. Epizoot.*, 46: 585-590.
- [44] N. G. Henderson, M. J. Stear. Eosinophil and IgA responses in sheep infected with *Teladorsagia circumcincta*. *Vet. Immunol. Immunopath.*, 2006, 112: 62-66.
- [45] H. Hoste, F. Hubly, S. Mallet. Strongyloses gastro-intestinales des ruminants: conséquences physiopathologiques et mécanismes pathogéniques. *Point Vét.*, 1997, 28: 1835-1841.
- [46] H. Hoste, J. Cabaret. Intergeneric relation between nematodes of the digestive tract in lambs: a multivariate approach. *Int. J. Parasitol.*, 1992, 22 (2): 173-179.

- [47] I. Innocenti, M. mAsetti, G. Macchioni, F. Giorgi. Larval salivary gland proteins of the sheep nasal bot fly, (*Oestrus ovis* L.), are major immunogens in infested sheep. *Vet. Parasitol.*, 1995, 60: 273-282.
- [48] F. Jackson, E. Jackson, R.L. Coop, J. Huntley. Interaction between *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus vitrinus* infections in young lambs. *Res. Vet. Sci.*, 1992, 53: 363-370.
- [49] T. Kassai. Part I-Helminths as disease agents, phylum: Nematelminthes-roundworms, class: Nematoda-threadworms, order: strongylida, trichostrongylidosis: parasitic gastroenteritis of ruminant. In T. Kassai. *Veterinary helminthology*. Butterworth-Heinemann, 1999. 75-83.
- [50] J. Kaufman. Parasites of sheep and goats, stages in the gut and faeces, helminths. In J. Kaufman. *Parasitic infections of domestic animals: a diagnostic manual*. Basel, Boston, Berlin: Birkhäuser, 1996. 154-155.
- [51] J. Kaufman. Parasites of sheep and goats, stages in internal organs, respiratory system, arthropods. In J. Kaufman. *Parasitic infections of domestic animals: a diagnostic manual*. Basel, Boston, Berlin: Birkhäuser, 1996. 183-184.
- [52] D. Kerboeuf, C. Koch, E. Le Dréan, A. Lacourt. Méthode simplifiée de mesure de la concentration en pepsinogène dans le sérum. *Rev. Méd. Vét.*, 2002, 153: 707-712.
- [53] M. Kilani, H. Hadj kacem, Ph. Dorchies, M. Franc. Observations sur le cycle annuel d'*Oestrus ovis* en Tunisie. *Rev. Méd. Vét.*, 1986, 137 (6): 451-457.
- [54] A Kloosterman, K. Frankena. Increased establishment of lungworms (*Dictyocaulus viviparus*) in calves after previous infections with gastrointestinal nematodes (*Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora*). *Vet. Parasitol.*, 1989, 33: 155-163.
- [55] A. Kloosterman, K. Krankena. Interactions between lungworms and gastrointestinal worms in calves. *Vet. Parasitol.*, 1988, 26: 305-320.
- [56] D. P. Knox, D. G. Jones. A comparison of superoxide dismutase (SOD, EC:1.151.1) distribution in gastrointestinal nematodes. *Int. J. Parasitol.*, 1992, 22: 209-214.
- [57] D. P. Knox, D. G. Jones. Studies on the presence and release of proteolytic enzymes (proteinases) in gastro-intestinal nematodes of ruminants. *Int. J. Parasitol.*, 1990, 20: 243-249.
- [58] P. E. Laurent. Induction et régulation de la réaction inflammatoire systémique. *Ann. Biol. Clin.*, 1988, 46: 329-335.
- [59] D. E. B. Lawton, G. W. Reynolds, S. M. Hodgkinson, W. E. Pomroy, H. V. Simpson. Infection of sheep with adult and larval *Ostertagia circumcincta*: abomasal pH and serum gastrin and pepsinogen. *Int. J. Parasitol.*, 1996, 26 (10): 1063-1074.

- [60] A. C. Lendrum. The staining of eosinophil polymorphs and enterochromatoffin cells in histological sections. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1944, 56: 441-443.
- [61] O. Lowry, N. J. Rosbrough, A. L. Fan, R. J. Randal. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193: 265-275.
- [62] P. Lydyard, C. Grossi. Cellules impliquées dans les réponses immunitaires. In I. M. Roitt, J. Brostoff, D.K. Male. *Immunologie*. 3^{ème} édition. Bruxelles: De Boeck-Wesmael S.A., 1994. 2.1.-2.20.
- [63] J. A. MacDiarmid, R. Clarke, S. J. McClure, F. R. Bowens, D. H. Burrell. Use of a monoclonal antibody to ovine IgE for fly strike studies in sheep. *Int. J. Parasitol.*, 1995, 25 (12): 1505-1507.
- [64] D. Male. Migration cellulaire et inflammation. In I. M. Roitt, J. Brostoff, D.K. Male. *Immunologie*. 3^{ème} édition. Bruxelles: De Boeck-Wesmael S.A., 1994. 13.1-13.8
- [65] C. J. Mapes, R. L. Coop. Effect of concurrent and terminatd infections of *Haemonchus contortus* on the development and reproductive capacity of *Nematodirus battus*. *J. Comp. Pathol.*, 1971, 81: 479-491.
- [66] C. J. Mapes, R. L. Coop. The interactions of infections of *Haemonchus contortus* and *Nematodirus battus* in lambs. I. The effect of massive infections of *Haemonchus* on subsequent infections of *Nematodirus*. *J. Comp. Pathol.*, 1970, 80: 113-136.
- [67] R. S. McLeod. Costs of major parasites to the australian livestock industries. *Int. J. Parasitol.*, 1995, 25: 1363-1367.
- [68] E. N. T. Meeusen, A. Balic, V. Bowles. Cells, cytokines and other molecules associated with rejection of gastrointestinal nematode parasites. *Vet. Immunol. Immunopath.*, 2005, 108: 121-125.
- [69] E. N. T. Meeusen. Immunology of helminth infections, with special reference to immunopathology. *Vet. Parasitol.*, 1999, 84: 259-273.
- [70] Metcalfe D. D., Costa J. J., Burd P. R. Mast cell and basophils. In J. I. Gallin, I. M. Goldstein, R. Snyderman. *Inflammation, Basic principles and clinical correlates*. Second edition. New York: Raven Press, 1992. 709-727.
- [71] V-K. Nguyen. *Mastocytes et éosinophiles des muqueuses au cours des infestations parasitaires: petits ruminants et dromadaires infestés par Oestrus ovis (Linné 1761) ou Cephalopina titillator (Clark 1816), buffles (Bubalus bubalis) infestés par Gigantocotyle explanatum (Creplin 1847-Näshmark 1937) ou Fasciola gigantica (Cobbold 1885)*. Th. D.: Sciences Agronomiques: Toulouse, I.N.P.: 1999. 133.

- [72] V-K Nguyen, Ph. Jacquiet, P. Cabanié, Ph. Dorchies. Etude semi-quantitative des lésions des muqueuses respiratoires supérieures chez le mouton infesté naturellement par *Oestrus ovis* (Linné 1761). *Rev. Méd. Vét.*, 1999, 150 (1): 43-46.
- [73] V-K. Nguyen, P. Jacquiet, C. Duranton, J-P Bergeaud, F. Prevot, P. Dorchies. Réactions cellulaires des muqueuses nasales et sinusales des chèvres et des moutons à l'infestation naturelle par *Oestrus ovis* Linné 1758 (Diptera: Oestridés). *Parasite*, 1999, 2: 217-221.
- [74] V-K. Nguyen, M. Delverdier, Ph. Jacquiet, M-F. Amardeilh, Ph. Dorchies. Expression tissulaire de l'épitope Ki-67 dans le compartiment épithélial de la muqueuse nasale du mouton et de la chèvre infestés naturellement par *Oestrus ovis* (Linné 1761). *Rev. Méd. Vét.*, 1998, 149 (12): 1109-1113.
- [75] V-K. Nguyen, N. Bourges, D. Concordet, P; Dorchies. Recherche des mastocytes et des éosinophiles de la muqueuse respiratoire chez le mouton infesté par *Oestrus ovis* (Linné, 1761). *Parasite*, 1996, 3: 217-221.
- [76] L. J. Pangui, Ph. Dorchies, J. Belot. Contribution à l'étude épidémiologique de l'oestrose ovine au Sénégal. *Rev. Méd. Vét.* 1988, 139: 701-704.
- [77] J.J. Parkins, L.M. Taylor, P.H. Holmes, K. Bairden, S.K. Salman, J. Armour. Pathophysiological and parasitological studies on a concurrent infection of *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora* in calves. *Res. Vet. Sci.*, 1990, 48: 201-208.
- [78] J. P. Raynaud. Etude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le contrôle des infestations parasitaires des bovins, ovins, équins et porcins. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1970, 45: 321-342.
- [79] R. K. Reinecke, C. Bruckner, I. L. De Villiers. Studies of *Haemonchus contortus*. IV. The effect of *Trichostrongylus axei* and *Ostertagia circumcincta* on challenge with *H. contortus*. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1981, 48: 229-234.
- [80] R. K. Reinecke, H. M. Soyman, H. Seaman. Studies on *Haemonchus contortus*. II. The effect of abomasal nematodes on subsequent challenge with *H. Contortus*. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1979, 46: 199-205.
- [81] R. K. Reinecke. The value of uniform worms burdens in the larval anthelmintic test. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 1966, 37: 133-142.
- [82] M. L. Rhoads, R. H. Fetterer. Developmentally regulated secretion of cathepsin L-like cysteine proteases by *Haemonchus contortus*. *J. Parasitol.*, 1995, 81: 505-512.

- [83] A. Robert, A. S. Olafsson, C. Lancaster, W. Zhang. Interleukine-1 is cytoprotective, antisecretory, stimulates PGE2 synthesis by the stomach and retards gastric emptying. *Life Sci.*, 1991, 48: 123-134.
- [84] I. Scott, S. Khalaf, D.C Simcock, C. G. Knight, G.W Pomroy, H. V Reynolds. A sequential study of the pathology associated with the infection of sheep with adult and larval *Ostertagia circumcincta*. *Vet. Parasitol.*, 2000, 89: 79-94.
- [85] I. Scott, S. M. Hodgkinson, S. Khalaf, D. E. B. Lawtion, M. G. Collet, G. W. Reynolds, W. E. Pomroy, H. V. Simpson. Infection of sheep with adult and larval *Ostertagia circumcincta*: abomasal morphology. *Int. J. Parasitol.*, 28, 1998: 1383-1392.
- [86] I. D. Sidikou, B. Remy, J. L. Hornick, B. Losson, N. Duquesnoy, A. Yenikoye, J. F. Beckers. Le pepsinogène et la prochymosine des bovins: connaissances actuelles, applications et perspectives dans la stratégie de lutte contre les verminoses gastro-intestinales. *Ann. Méd. Vét.*, 2005, 149: 213-228.
- [87] E. Solito. Cellules de la réaction inflammatoire aiguë non spécifique. In F. Russo-Marie, A. Pelletier, B. S. Polla. *L'inflammation*. Paris: John Libbey Eurotext, 1998. 142-149.
- [88] M. J Stear, S Strain, S.C Bishop. How lambs control infection with *Ostertagia circumcincta*. *Vet. Immunol. Immunopath.*, 1999, 72: 213-218.
- [89] M. J. Stear, K. Bairden, Q. A. Mckeller, I. Scott, S. Strain, S. C. Bishop. The relationship between the number and size of nematodes in the abomasum and the concentration of pepsinogen in ovine plasma. *Res. Vet. Sci.*, 1999, 67: 89-92.
- [90] M.J. Stear, S.C. Bishop. The curvilinear relationship between worm length and fecundity of *Teladorsagia circumcincta*. *Int. J. Parasitol.*, 1999, 29: 777-780.
- [91] J. L. Suarez, A. Scala, J. A. Romero, A. Paz-Silva, J. Pedreira, M. Arias, P. Diaz, P. Morrondo, P. Diez-Banos, R. Sanchez-Andrade. Analysis of humoral immune response to *Oestrus ovis* in ovine. *Vet. Parasitol.*, 2005, 134: 153-158.
- [92] A. R. Sykes. Parasitism and production in farm animals. *Anim. Prod.*, 1994, 59: 155-172.
- [93] G. Tabouret, L. Bret-Bennis, Ph. Dorchies, Ph. Jacquet. Serine protease activity in excretory-secretory products of *Oestrus ovis* (Diptera: Oestridae) larvae. *Vet. Parasitol.*, 2003, 114: 305-314.
- [94] G. Tabouret, C. Lacroux, O. Andreoleth, J. P. Bergeaud, Y. Hailu-Tclosa, H. Hoste, F. Prévot, C. Grisez, P. Dorchies, P. Jacquet. Cellular and humoral local immune responses in sheep experimentally infected with *Oestrus ovis* (Diptera: Oestridae). *Vet. Res.*, 2003, 34: 231-241.

- [95] G. Tabouret. *Oestrus ovis* (Linné 1761) [Diptera: Oestridae] chez les ovins: activité trophique des larves et réponse immunitaire des muqueuses. Thèse UPS, Toulouse, 2001.
- [96] G. Tabouret, P. Jacquiet, P. Scholl, P. Dorchies. *Oestrus ovis* in sheep: relative third-instar populations, risks of infection and parasitic control. *Vet. Res.*, 2001, 32: 525-531.
- [97] J. Taverne. Immunité vis-à-vis des protozoaires et des helminthes. In I. M. Roitt, J. Brostoff, D.K. Male. *Immunologie*. 3^{ème} édition. Bruxelles: De Boeck-Wesmael S.A., 1994. 16.1-16.22.
- [98] L. M. Taylor, J. J. Parkins, J. Armour, P. H. Holmes, K. Bairden, A. M. Ibarra-Silva, S. K. Salman, P. N. McWilliam. Pathophysiological and parasitological studies on *Ostertagia ostertagi* infections in calves. *Res. Vet. Sci.* 1989, 46: 218-225.
- [99] G. Terefe, H.T. Yacob, C. Grisez, F. Prevot, E. Dumas, J.P Bergeaud, Ph. Dorchies, H. Hoste, P. Jacquiet. *Haemonchus contortus* egg excretion and female length reduction in sheep previously infected with *Oestrus ovis* (Diptera: Oestridae) larvae. *Vet. Parasitol.*, 2005, 128: 271-283.
- [100] R. Tibayrenc, B. Roua, R. Moumouni, D. Garba, O. Alassane, Ph. Dorchies. L'oestrose ovine au Niger: enquête de prévalence et traitement par le closantel. *Rev. Elv. Méd. Vét. Pays Trop.*, 1999, 52(1): 47-53.
- [101] H.T. Yacob, G. Terefe, Ph. Jacquiet, H. Hoste, C. Grisez, F. Prévot, J.P. Bergeaud, Ph. Dorchies. Experimental concurrent infection of sheep with *Oestrus ovis* and *Trichostrongylus colubriformis*: effects of antiparasitic treatments on interactions between parasite populations and blood eosinophilic response. *Vet. Parasitol.*, 2006, 137: 184-188.
- [102] H.T. Yacob, Ph. Dorchies, Ph. Jacquiet, C. Bleuart, F. Prevot, C. Grisez, J.P. Bergeaud, H. Hoste. Concurrent parasitic infections of sheep: depression of *Trichostrongylus colubriformis* populations by a subsequent infection with *Oestrus ovis*. *Vet. Parasitol.*, 2004, 121: 297-306.
- [103] H.T. Yacob, C. Duranton-Grisez, F. Prevot, J.P. Bergeaud, C. Bleuart, Ph. Jacquiet, Ph. Dorchies, H. Hoste. Experimental concurrent infection of sheep with *Oestrus ovis* and *Trichostrongylus colubriformis*: negative interactions between parasite populations and related changes in the cellular responses of nasal and digestive mucosae. *Vet. Parasitol.*, 2002, 104: 307-317.
- [104] H.T. Yacob, H. Hoste, Ph. Jacquiet, C. Duranton-Grisez, Ph. Dorchies, and L. Gruner. Mucosal inflammatory responses after experimental infection with gastrointestinal nematodes in resistant and susceptible sheep naturally infected with *Oestrus ovis*. *Rev. Méd. Vét.*, 2001, 152 (10): 717-722.

- [105] J. M. Yilma, Ph. Dorchies. Essais d'infestations expérimentales de l'agneau par des larves 1 d'*Oestrus ovis*. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.*, 1993, 43: 43-47.
- [106] J. M. Yilma. *Contribution à l'étude de l'épidémiologie du diagnostic immunologique et de la physiopathologie de l'oestrose ovine* (*Oestrus ovis*, Linné 1761). Thèse I. N. P. Toulouse: 1992. 188.
- [107] J-M. Yilma. *Contribution à l'étude épidémiologique dans le sud-ouest de la France de l'oestrose ovine* (*Oestridae: Oestrus ovis Linné 1761*). Mémoire de maîtrise ès sciences vétérinaires - parasitologie-: Toulouse, E.N.V.T.: 1991. 72.
- [108] G. Weissmann. Inflammation: historical perspective. In J. I. Gallin, I. M. Goldstein, R. Snyderman. *Inflammation, Basic principles and clinical correlates*. Second edition. New York: Raven Press, 1992. 5-9.

Toulouse, 2008

Nom: DUMAS

Prénom: Elodie

TITRE: Etude expérimentale d'infestations d'ovins par *Oestrus ovis* et *Teladorsagia circumcincta*.

RESUME:

Les infestations mixtes parasitaires sont un phénomène courant au pâturage. Lors de celles-ci les différents parasites peuvent s'influencer de manière négative ou positive. Les objectifs de notre étude ont été d'observer les interactions entre *T. circumcincta* et *O. ovis*, les conséquences pour l'hôte et les mécanismes impliqués.

Vingt-quatre agneaux âgés de trois-quatre mois de race Tarasconnaise ont été répartis en quatre lots (O, OT, T, C) de six animaux. Durant les cinq premières semaines les groupes O et OT ont reçu au total 82 L1 d'*O. ovis* par animaux. Ensuite, les groupes OT et T ont reçu une infestation unique de 10.000 L3 de *T. circumcincta* à J47. Le lot C a servi de témoin non infesté. Des prélèvements de sang et de fèces ont été réalisés toutes les semaines et tous les animaux ont été abattus à J95. Des paramètres parasitologiques, sérologiques et histopathologiques ont été suivis pendant cette étude. Il n'y a pas eu de différences significatives ni en nombre de larves d'oestre ni pour la cinétique des Ac anti-*Oestrus* entre les lots OT et O. Pour *T. circumcincta*, la fertilité des femelles, le nombre d'OPG ont présenté des valeurs significatives inférieures dans le lot OT par rapport au lot T. Le nombre de vers a aussi été plus faible, mais sans valeurs significatives. Le suivi du pepsinogène sérique a permis de constater des lésions plus importantes dans le lot T par rapport au lot OT. Ces infestations parasitaires ont été suivies par une élévation significative des éosinophiles sanguins et du recrutement cellulaire dans les muqueuses dans tous les lots par rapport aux témoins. Dans les muqueuses respiratoires, le recrutement en cellules inflammatoires a présenté quelques différences significatives dans le septum entre les lots OT et O, dans les muqueuses digestives il n'y a pas eu de différences significatives entre les lots T et OT. Nous pouvons conclure que l'établissement d'*O. ovis* influence négativement la biologie et la pathogénie de *T. circumcincta* par l'intermédiaire possible de cellules inflammatoires. Cette interaction n'est pas réciproque.

MOTS-CLES: Ovin, *Oestrus ovis*, *Teladorsagia circumcincta*, parasitologie

ENGLISH TITLE: experimental study of sheep infections by *Oestrus ovis* and *Teladorsagia circumcincta*.

ABSTRACT:

Concurrent infections of sheep by parasites are common in the field. In mixed parasitic infections, one species can influence positively or negatively the biology of the other. Our experimental study aimed at examining interactions between *T. circumcincta* and *O. ovis*, the consequences for the host and the implicated mechanisms. Twenty-four 3-4 months old sheep of Tarasconnais breed were divided into four groups of six animals: groups O, OT, T and C. Firstly, between D0 and D28, groups O and OT received 5 weekly consecutive inoculations with *O. ovis* L1 (82 L1 per head in total). Secondly, at D47, groups OT and T were experimentally infected with 10.000 *T. circumcincta* L3 per head. Group C represented the control group. Blood and faecal samples were collected weekly during the experimentation and all the animals were slaughtered at D95. Parasitological, serological and histopathological examinations were performed for this study. There was no significant variation in the number of *O. ovis* larvae and the kinetics of antibodies against *Oestrus* between groups OT and O. For *T. circumcincta*, the fertility of female and the FEC were significantly less important in group OT than group T. Moreover, a non significant lower number of worms was found. The kinetic of pepsinogen was higher for group T. The parasitological infections were followed by a significant elevation of eosinophilia and an important cellular recruitment in the mucosa in infested groups. There was some significant variations in cellular recruitment in septum between groups O and OT for respiratory mucosae. In the digestive mucosae, there was no significant differences between groups OT and T. We can conclude that the establishment of *O. ovis* larvae in the upper respiratory tract can influenced negatively the development and the fecundity of *T. circumcincta* in the abomasum with the possible intervention of inflammatory cellulars. The interaction is not reciprocal.

KEYWORDS: sheep, *Oestrus ovis*, *Teladorsagia circumcincta*, parasitology