

25

***Eimeria tenella* : vaccination des poulets au niveau local et caractérisation des antigènes immunodominants**

A. RHALEM*, H. SAHIBI*, B. BERRAG*, P. PERY**

* IAV Hassan II, Département de Parasitologie, Rabat, Maroc.

** INRA, Unité de Virologie et d'Immunologie Moléculaire, Centre de Recherches de Jouy-en-Josas, Jouy-en-Josas, France.

Les animaux ayant déjà été infectés par des espèces du genre *Eimeria*, sont capables de résister aux infections ultérieures contre les mêmes espèces [11]. De plus, on notera que malgré les nombreuses études portant sur l'immunologie des coccidies, on n'a pas pu décrire le mécanisme précis par lequel cette résistance est acquise. En général, on a accepté le fait que cette immunité affecte les stades sporozoïte et mérozoïte, et que les principaux mécanismes immunitaires qui conduisent à l'acquisition d'un état de résistance, se déroulent au niveau local site du développement du parasite [6]. Dans ce travail nous avons pu démontrer l'importance des IgA biliaires chez des poulets infectés par *E. tenella* et nous avons essayé d'étudier les mécanismes de l'induction d'une immunisation par voie locale et de caractériser les antigènes importants.

Importance des anticorps sécrétoires

L'existence d'une réponse immune sécrétoire contre les infections par le genre *Eimeria* a été rapportée par plusieurs auteurs [5,14]. En entreprenant cette étude, nous avons donné

plus d'importance aux anticorps (Acs) sécrétoires, eu égard à leur rôle dans les altérations structurales des parasites et dans l'inhibition de développement de ceux-ci. Nous avons essayé, d'une part, de déterminer le compartiment (intestin, duodénum, caecum et bile) où la concentration des Acs est importante, afin de les utiliser dans la purification et la caractérisation de molécules antigéniques importantes et, d'autre part, d'étudier l'effet de la dose et des infections répétées sur la production de ces Acs. Les constituants de surface de sporozoïtes ont été utilisés comme source d'antigènes (Ags), pour mettre en évidence les Acs spécifiques correspondants (test ELISA).

Au niveau de l'intestin et du duodénum, les Acs ne sont décelés que d'une façon transitoire. Au niveau du caecum, lieu du développement du parasite *E. tenella*, ce taux est plus important. Les concentrations maximales de ces Acs ont été observées au niveau de la bile.

Au niveau biliaire, les seules immunoglobulines (CIg) détectées à la suite d'une primo-infection sont les IgA et les IgM. Les IgM ne sont observées que pendant une courte durée (jour 5 à jour 9) et leur concentration reste faible par rapport aux IgA. Ces dernières apparaissent à partir du 5^{ème} jour et leur titre maximal est atteint entre le 7^{ème} et le 11^{ème} jour; durée pendant laquelle l'élimination des oocystes est importante.

Nous avons constaté qu'au niveau de la bile, quel que soit le nombre d'oocystes sporulés, administrés, les IgG ne sont pas décelées, et que l'apparition des IgM est toujours très brève. Les IgA biliaires apparaissent dès le 5^{ème} jour PI après une infection, par un nombre important d'oocystes (supérieur ou égal à 10.000 oocystes), alors que pour l'immunisation par 100 ou 1000 oocystes, elles sont décelées au 7^{ème} jour PI. Le titre des IgA croît en fonction du nombre d'oocystes inoculés; ainsi à la dose de 25.000 oocystes, on note que, même au jour 17, ce taux reste à un niveau élevé, avec toutefois une importante diminution du titre au jour 9 (période coïncidant avec l'élimination des oocystes).

Des expériences réalisées pour étudier l'effet des infections répétées ont montré qu'elles agissent au niveau biliaire, à la fois sur la production des différentes classes d'Ig et sur la précocité de l'augmentation des titres d'Acs, tout particulièrement celui des IgA. Les IgM ne sont pas détectées à la suite de la seconde et de la troisième infection. Alors que le rappel entraîne l'augmentation du taux des IgA dès le 5^{ème} jour PI, indiquant l'existence d'une réponse immunitaire secondaire.

Il ressort de cette étude que l'isotype majeur synthétisé au niveau local est l'IgA. Toutefois, les IgM sont transportées par le même mécanisme vers la lumière digestive, surtout lorsque la concentration en IgA est faible [12]. Les tissus sous-épithéliaux, au niveau intestinal, contiennent un grand nombre de cellules plasmatiques qui sécrètent des IgA dans une forme capable de se combiner à un récepteur membranaire au niveau épithélial [2]. En outre, une proportion importante d'IgA synthétisée dans l'intestin passe, à travers les circulations sanguine et lymphatique, dans le foie d'où elles sont sécrétées dans la lumière intestinale par la bile. Ainsi les IgA spécifiques aux infections coccidiennes peuvent être recherchées, aussi bien dans la bile, que dans les sécrétions intestinales et caecales [13].

Nous avons constaté qu'au niveau caecal les IgA ne sont pas décelées durant la phase d'élimination des oocystes (7^{ème} jour PI). Ceci peut être expliqué par le fait que les IgA, à ce stade important du développement parasitaire, sont mobilisées et complexées par les Ags des coccidies. A la suite d'une primo-infection, le taux d'IgA biliaire reste inchangé pendant la phase d'élimination des oocystes et, puisqu'elles ne sont pas attirées au niveau caecal, il est probable qu'elles n'exercent pas leur effet à la suite d'un premier contact

avec le parasite. D'ailleurs, les mécanismes immunitaires impliqués dans la résistance contre les infections coccidiennes ne se manifestent qu'à la suite de la réinfection [19].

Il a été démontré que les IgA sécrétoires agglutinent les sporozoïtes et que cette réaction est associée à un phénomène de "capping" des Ags de surface [25]. Cependant, ce phénomène ne semble pas avoir de signification claire dans la protection immunitaire *in vivo* [3].

Il a été démontré que les IgA sécrétoires jouent un rôle important dans l'inhibition du mécanisme d'invasion des sporozoïtes et les maintiennent donc exposés à un endommagement non spécifique par les protéases du tube digestif. Des études réalisées pour établir la corrélation entre le degré de résistance et le titre d'IgA, nous ont permis de conclure que la réponse immunitaire chez les poulets infectés par *E. tenella* est dose dépendante de l'Ag. Le degré de résistance est important lorsqu'on augmente le nombre d'oocystes durant l'immunisation et que la concentration des IgA augmente aussi en fonction du nombre d'oocystes inoculés. Ceci montre l'existence d'une corrélation positive entre le degré de résistance acquise et le titre de ces Acs.

Activation des lymphocytes *in vitro* et transfert de l'immunité adoptive

La réponse immunitaire cellulaire joue un rôle crucial dans l'acquisition de la résistance immunitaire. Les poulets déjà infectés par des parasites du genre *Eimeria* réagissent par une réaction d'hypersensibilité de type retardée à l'injection intradermique d'Ags préparés à partir du parasite [7]. Le transfert de l'immunité par des suspensions lymphocytaires contre une infection coccidienne a été démontré par Rose et Hesketh [18]. Dans cette partie nous avons étudié les propriétés immunologiques des Ags de sporozoïtes purifiés par immunoabsorption à l'aide des IgA biliaires provenant de poulets immuns.

L'effet protecteur des cellules siégeant au niveau des tissus lymphoïdes de l'intestin a été bien établi. Cependant, peu de laboratoires maîtrisent les techniques d'isolement, de purification et de culture des lymphocytes de la muqueuse intestinale. C'est ainsi que nous avons eu recours à l'utilisation des cellules de la rate, organe lymphoïde qui, malgré son éloignement du système immunitaire local, semble participer dans l'acquisition de l'immunité contre les coccidies.

Les cellules proviennent de poulets infectés à 2 reprises par *E. tenella*. La stimulation antigénique a été réalisée *in vitro* pendant des durées variables (4, 12 et 20 h). Les animaux ont subi l'infection d'épreuve 6 heures après le transfert des cellules. Les résultats obtenus révèlent l'effet protecteur des cellules spléniques réinjectées. Nous avons constaté que le pouvoir protecteur varie avec le nombre de cellules transférées et avec la durée de stimulation. Après une stimulation de 4 heures les cellules immunes n'acquièrent pas la capacité protectrice même avec l'administration d'un nombre important de cellules. A partir d'une stimulation de 12 h avec l'Ag brute de sporozoïtes, une réduction de 50% de la production d'oocystes a été obtenue par injection de 5.10^7 cellules immunes seulement. Ce taux de réduction atteint 71,9% lorsque cette durée est portée à 20 h, et que l'utilisation des Ags purifiés à l'aide des IGA permet d'obtenir une réduction de l'ordre de 89% dans les mêmes conditions.

L'utilisation des Ags de sporozoïtes purifiés (13 protéines), en "rappel" secondaire *in vitro*, a sensibilisé les cellules et a permis un transfert de l'immunité à l'aide d'un nombre

relativement faible de cellules, alors que Rose et Hesketh [18] ont décrit que le nombre de 10^8 à 10^9 cellules est nécessaire pour conférer l'immunité à des poulets naïfs contre *E. tenella*.

Nous soulignons, dans cette étude, l'importance des Acs sécrétés au niveau de la bile d'animaux immuns, qui ont permis l'élution de 13 protéines hautement actives *in vitro* sur les lymphocytes.

Immunisation des poulets au niveau local

La stimulation du système immunologique au niveau du tractus digestif, dans le but de vacciner les animaux, n'est possible que dans des conditions particulières. Une des conditions préalables à la vaccination est que le système immunitaire local soit capable d'exprimer une mémoire immunologique [8]. Le protocole de sensibilisation de ce système immunitaire local doit être pris en considération pour induire l'immunité protectrice. Il semble que dans tous les cas on a intérêt à déposer l'antigène le plus près possible de la muqueuse intestinale [15].

L'immunité protectrice au niveau local s'exprime bien si l'antigène est administré sous forme d'un organisme vivant. Dans le cas des Ags solubles, de fortes doses sont nécessaires, ce qui a conduit à rechercher des adjuvants de l'immunité. Des travaux ont montré que l'association de l'antigène avec des lipides stimule le système immunitaire sécrétoire [9]. Les liposomes, qui sont de nature lipidique, semblent augmenter les réponses immunitaires suscitées par l'injection d'Ags. Des liposomes contenant des Ags du parasite *Nippostrongylus brasiliensis* administrées localement induisent une forte synthèse d'Acs de type IgA chez la souris [16]. Ces sphères lipidiques microscopiques constituées des mêmes phospholipides que les membranes plasmiques cellulaires ont une forte affinité pour la membrane épithéliale [10]. On pense que le rôle joué par les liposomes est dû à leur capacité à présenter l'Ag aux cellules immunocompétentes [1].

Nous avons démontré auparavant dans le modèle *E. falciformis*-souris [17], le rôle protecteur des Ags de surface du parasite. Dans le modèle *E. tenella*-poulet, nous avons essayé d'immuniser les animaux par les Ags de surface de sporozoïtes qui ont été obtenus par le traitement de ces derniers dans un milieu contenant des détergents doux. Les Ags isolés ont été enrobés dans des liposomes.

Les résultats des essais de vaccination révèlent le pouvoir protecteur de cette préparation antigénique, et l'efficacité des liposomes et du schéma d'immunisation. Toutefois, l'immunité acquise dépend de la dose et du nombre des administrations antigéniques. S'il a été bien établi, *in vivo* et *in vitro*, que les sporozoïtes d'*E. tenella* constituent la cible importante de la réponse immunitaire, les résultats de notre étude confirment ces observations et révèlent aussi le rôle des structures de surface dans l'induction de l'immunité protectrice.

Caractérisation des Ags de surface d'*E. tenella*

Le rôle des Acs sécrétoires dans l'inhibition de la pénétration des sporozoïtes d'*E. tenella*, *in vitro*, et le blocage du développement du parasite *E. falciformis*, *in vivo* (transfert passif par le contenu intestinal), a été décrit. Cependant, leur utilisation dans les caracté-

risations immunochimiques n'a pas été rapportée. Dans nos expérimentations de transfert de l'immunité adoptive, nous avons révélé le rôle important des IgA biliaires provenant de poulets hyperimmuns qui ont permis la purification de 13 Ags de sporozoïtes, activant les lymphocytes *in vitro* en réponse secondaire, les rendant capables de conférer efficacement par la suite la protection aux animaux. Nous avons aussi démontré une corrélation positive entre le degré de la résistance établie (qui est dose dépendant) et le titre des Acs sécrétoires. Ces résultats encourageants nous ont incité à l'utilisation des Acs sécrétés au niveau local pour l'identification des Ags de surface importants.

L'analyse du spectre antigénique des constituants de sporozoïtes d'*E. tenella* par la technique d'immunoempreinte révèle l'existence d'un nombre important de molécules de surface dont le caractère antigénique est démontré par les interactions spécifiques avec les Acs sériques ou sécrétoires (Figure 1).

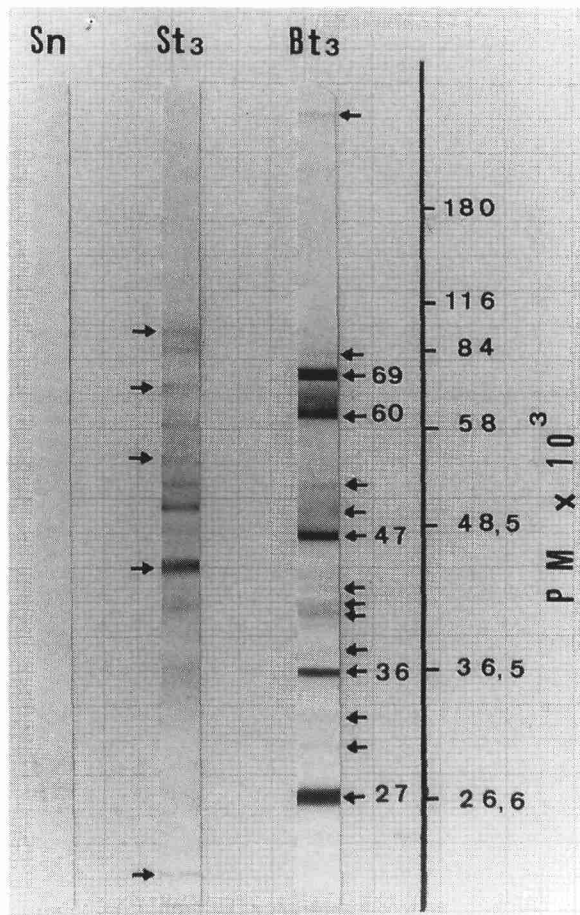


Figure 1. Mise en évidence du caractère antigénique des protéines de surface de sporozoïtes du parasite *E. tenella* : Révélation par la technique d'immunoempreinte.

Sn : Sérum normal.

St3 : Sérum anti *E. tenella* (poulets infectés à 3 reprises).

Bt3 : Bile anti *E. tenella* (poulets infectés à 3 reprises).

Au total, 20 polypeptides dont le PM varie entre 22 et 230 Kd ont été solubilisés par le traitement des sporozoïtes dans un milieu contenant des détergents doux. Parmi ces molécules, certaines sont très peu immunogènes et nécessitent des inoculations répétées pour induire la synthèse d'Acs au niveau local, contre les Ags de 230 et 60 Kd à la suite de la seconde infection, et contre les Ags de 43, 38,4, 32 et 31 Kd après la troisième infection (Figure 2).

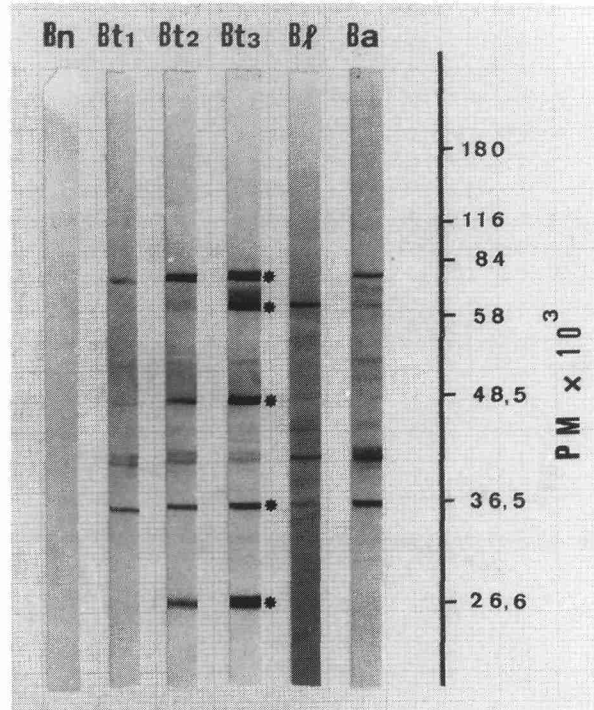


Figure 2. Identification des déterminants antigéniques de surface de sporozoïtes du parasite *E. tenella* : Utilisation des Acs biliaries (technique d'immunoempreinte)

Bn : Bile normale.

Bt₁ : Bile de poulets infectés 1 fois par *E. tenella*,

Bt₂ : Bile de poulets infectés à 2 reprises par *E. tenella*.

Bt₃ : Bile de poulets infectés 3 fois par *E. tenella*

BI : Biles de poulets immunisés par les Ags d'*E. tenella* inclus dans des liposomes

Ba : Bile de poulets infectés 3 fois par *E. acervulina*.

Parmi les Ags caractérisés, 5 sont immunodominants (69, 60, 47, 36 et 27 Kd) et stimulent efficacement la synthèse d'Acs sécrétoires, alors que seul l'Ag de 36 Kd est reconnu par les Acs sériques.

Certains Ags sont communs au parasite *E. acervulina*. Les Acs sécrétoires provenant de poulets infectés 3 fois par cette dernière, reconnaissent 8 déterminants antigéniques parmi lesquels 3 sont immunodominants (69, 60 et 36 Kd).

L'immunisation des poussins par les Ags de surface enrobés dans des liposomes stimule la synthèse d'Acs. Nous n'avons pas étudié la nature des isotypes produits localement, mais ceux-ci réagissent avec une gamme restreinte de 5 Ags dont deux sont immunodominants (60 et 36 Kd) et trois autres ont des Ags mineurs (52,2, 45 et 40Kd).

Au terme de cette étude, nous pouvons conclure que le nombre d'Ags révélé est important, mais il nous semble que certains déterminants antigéniques ne jouent pas un rôle dans l'acquisition de l'immunité. Toutefois, le rôle protecteur des molécules fortement immunogéniques ne peut être démontré que *in vivo*. D'après l'étude immunochimique que nous avons effectuée, certains Ags constituent une cible de la réponse immunitaire et sont probablement des Ags "candidats" vaccins potentiels.

Parmi ces Ags "candidats" vaccins, deux sont immunodominants (69 et 36 Kd) alors que quatre sont des Ags mineurs (56, 52,2, 41 et 40 Kd). Tous ces Ags sont communs entre *E. tenella* et *E. acervulina*. Les Ags de 69, 56 et 41 Kd ne stimulent pas la synthèse d'Acs au niveau de la bile lorsqu'ils sont enrobés dans des liposomes, mais puisque nous n'avons pas étudié d'une façon approfondie leurs propriétés immunologiques chez les poussins immunisés, ils restent aussi des candidats potentiels dans l'induction de l'immunité. L'Ag de 60 Kd même s'il est immunodominant, n'est pas doué de propriétés protectrices dans une infection par *E. acervulina* [4].

Références

1. Allison A.C., Gregoriadis G. (1974). Liposomes as immunological adjuvants. *Nature* (London) : 252.
2. Befus D.J., Bienenstock J. (1982). The mucosa-associated immune system of the rabbit. In : Hay J.G ed *Animal models of immunological processes*. Academic Press : 167-220.
3. Crane M.J., Norman D.J., Gnozzio M.J., Cate A.C., Gammon M., Murray P.K; (1986). *Eimeria tenella* : Quantitative *in vitro* and *in vivo* studies on the effects of mouse polyclonal and monoclonal antibodies on sporozoites. *Parasit Immunol* ; 8 : 467-480.
4. Danforth H.D. (1989). Antigenic make-up of *Eimeria*. In : Pyvovore ed. *Coccidia and intestinal coccidiomorphs*, Vth International Coccidiosis Conference, Tours, France, INRA : 49.
5. Davis P.J., Porter P. (1978). The role of secretory IgA in anticoccidial immunity in the chicken. *Immunol* ; 34 : 879-888.
6. Davis P.J. (1981). Immunity to coccidia in avian immunology. Rose M.E. , Payne L.N., Freeman B.M., eds. *Edinburg British Poultry Science* : 361-383.
7. Giambrone J.J., Klesius P.H., Edgar S.A. (1980). Avian coccidies : evidence for cell mediated immune response. *Poult Sci* ; 59 : 38-43.
8. Hamilton S.R., Yardley J.H., Brown G.D. (1979). Suppression of local intestinal immunoglobulin A immune response to Cholera toxin by subcutaneous administration of *Cholera tonoides*. *Infect Immun* ; 24 : 422-426.
9. Heatley R.V. (1975). Immunogenicity of lipid-conjugated protein in intestine. *Immunol* ; 29 : 143-149.
10. Hemker H.C., Hermens W.T., Muller A.D., Zwaal R.F. (1980). Oral treatment of haemophilia A by gastrointestinal absorption of factor VIII entrapped in liposomes. *Lancet* ; 12(8159) : 70-71.
11. Horton-Smith C., Long P.L., Pierce A.E., Rose M.E. (1963). Immunity to coccidia in domestic animals. In : Garham P.C.C., Pierce A.E., Roitt I, eds. *Immunity to protozoa*. Blackwell Scientific Publication, Oxford : 273-295.
12. Lawrence F.C., Arnaud-Battandier F., Kosky I.R., Doolly N.J., Muchmore A.V., Blaese R.M.

- (1979). Tissue distribution of immunoglobulin-secreting cells in normal and IgA-deficient chickens. *J Immunol* ; 123 : 1767-1771.
13. Lemaitre-Coelho I., Jackson G.D.F., Vaerman J.P. (1978). Relevance of biliary IgA antibodies in rat intestinal immunity. *Scand J Immunol* ; 8 : 459-463.
 14. Liilehoj H.S. (1987). Secretory IgA response in SC and FP chickens experimentally inoculated with *E. tenella* and *E. acervulina*. In : *Recent developments in mucosal immunology*. Plenum Press, New-York : 977.
 15. Pierce N.F. (1978). The role of antigen form and function in the primary and secondary intestinal immune response to cholera toxin toxoid in rats. *J Exp Med* ; 148 : 195-206.
 16. Rhalem A., Luffau G., Bordieu C., Pery P. (1988). Vaccination of mice with liposome entrapped adult antigens of *Nippostrongylus brasiliensis*. *Ann Immunol Inst Pasteur* ; 139 : 157-166.
 17. Rhalem A., Bekhti K., Bourdieu C., Luffau G., Pery P. (1989). Vaccination de la souris contre la coccidiose murine par ingestion de protéines de surface d'*Eimeria falciformis* incorporées dans des liposomes. *C R Acad Sci Paris* ; 309(III) : 19-23.
 18. Rose M.E., Hesketh P. (1982). Immunity to coccidiosis : adoptive transfer with peripheral blood lymphocytes and spleen cells. *Parasit Immun* ; 5 : 171-180.
 19. Rose M.E. (1986). Immune response to *Eimeria* infections. In : Mc Douglass L.R., Joynre L.P., Long L.P., eds. *Research in avian coccidiosis*. University of Georgy, Dept of Poultry Sciences Athens, USA : 446-449.
 20. Wisher M.H., Rose M.E. (1987). *Eimeria tenella* sporozoites : the method of excystation affects the surface membrane proteins. *Parasitol* ; 95 : 479-480.

26

Essai de vaccination chez les petits ruminants contre la PPR : utilisation du vaccin homologue

K. BIDJEH*, M. OUAGAL*, A. DIALLO**

* *Laboratoire de Recherches Zootechniques et Vétérinaires de Farcha, Ndjaména, Tchad.*

** *CIRAD-EMVT, Maisons-Alfort, France.*

Résumé

Un essai de vaccination contre la peste des petits ruminants (PPR) avec le vaccin homologue a été réalisé sur 353 ovins et caprins répartis dans trois villages au Tchad. Une enquête sérologique préliminaire a révélé la présence d'anticorps anti-PPR chez des animaux à des titres faibles : sérum positif au 1/10 pour 19% des animaux et au 1/5 pour 5%. Cependant ces anticorps ainsi détectés semblent ne pas être protecteurs ou ne sont pas suffisants pour protéger contre une épreuve virulente. En effet, certains de ces animaux ont été inoculés avec du virus PPR virulent et ils ont fait la maladie.

Des chèvres et des moutons, 353 au total, ont été vaccinés dans 3 villages à l'aide du vaccin homologue anti-PPR. Ils ont tous fait une séroconversion 3 mois après l'intervention, bien que 12,5% d'entre eux, séronégatifs au départ, aient des titres de sérum au 1/5. Par la suite, on note une très nette augmentation des taux d'anticorps car à six mois post-vaccination, près de 94% des sérums ont des titres supérieurs ou égaux au 1/100. Certains

vont cependant subir un infléchissement vers 9 mois. Les expériences sont en cours pour étudier l'évolution des anticorps anti-PPR chez ces animaux vaccinés, mais aussi apprécier la durée de l'immunité post-vaccinale par des épreuves virulentes.

La peste des petits ruminants (PPR) est une maladie virale spécifique des petits ruminants. Elle est extrêmement contagieuse et elle constitue un frein au développement des productions animales d'origine ovine et caprine dans les pays où elle existe : Afrique Intertropicale Nord et Moyen-Orient. Son importance est telle qu'elle a été choisie comme un des thèmes de discussion lors de la session générale de l'Office Internationale des Epizooties (O.I.E.) en 1990.

Au Tchad, la présence de la PPR a été révélée par les enquêtes sérologiques. Aussi il paraît très important de prendre, dès maintenant, des mesures prophylactiques pour combattre ce fléau. La lutte anti-PPR a été assurée jusqu'à présent par l'emploi du vaccin anti-peste bovine, profitant ainsi de l'immunité croisée existant entre les virus PPR et peste bovine. En 1989, a été mis au point au CIRAD-EMVT un vaccin homologue anti-PPR [5]. Ce vaccin a été testé sur plus de 20 000 petits ruminants en Côte d'Ivoire et en Mauritanie et il s'est montré très efficace (A. Diallo, communication personnelle). Dans la présente communication, nous rapportons des résultats préliminaires d'expériences conduites au Tchad en vue :

- d'étudier le comportement d'animaux non vaccinés mais porteurs de faibles taux d'anticorps anti-PPR au départ puis inoculés avec du virus PPR virulent,
- de suivre l'évolution des anticorps anti-PPR après vaccination,
- de déterminer le taux minimal d'anticorps anti-PPR neutralisants nécessaire pour assurer la protection d'un animal contre la maladie.

Matériel et méthodes

Animaux d'expérience

Pour les expérimentations au laboratoire, 40 chèvres naines (race kirdimi), âgées de 7 à 12 mois, ont été achetées sur le marché au bétail de N'Djamena. Dès leur arrivée au laboratoire, les animaux sont mis en quarantaine. Cette période est mise à profit pour procéder à leur identification (bague à l'oreille), leur traitement antibiotique préventif, leur déparasitage et aux prises de sang en vue du titrage des anticorps anti-PPR. Leur alimentation est constituée par de la paille supplémentée avec du tourteau de coton. Suivant le résultat de titrage de leurs sérums, 28 animaux ont été retenus et répartis en quatre groupes (7/groupe) :

- groupe 1, animaux dont les sérums sont positifs en anticorps anti-PPR au 1/5,
- groupe 2, animaux dont les sérums sont positifs à la dilution 1/10,
- groupes 3 et 4 dont les sérums sont négatifs en anticorps anti-PPR.

Dans chacun des 3 premiers lots, 5 animaux sont soumis à une épreuve virulente avec du virus PPR sauvage et 2 sont gardés comme témoins de contact. Le groupe 3 est ainsi le témoin positif d'épreuve. En revanche le n°4, dont tous les sujets sont inoculés avec du milieu de culture, sert de témoin négatif.

En plus de ces animaux achetés pour le laboratoire, 353 chèvres et moutons de 3 villages ont fait partie de la présente expérience suite à un accord avec les paysans. Ils ont été identifiés et les renseignements suivants ont été recueillis : espèce, race, âge, sexe et gestation. Ils ont tous reçu le vaccin homologué anti-PPR et ont subi des prises de sang en vue de récolter le sérum avant vaccination, puis à 3, 6, 9 mois après l'intervention.

Tous les sérums récoltés sont gardés à - 20°C jusqu'au moment du titrage des anticorps.

Les cellules

Les cellules Vero ont été utilisées pour la multiplication des virus et le titrage des anticorps par séroneutralisation. Le milieu de culture est constitué par du MBE (Laboratoire Eurobio, France) additionné d'acides aminés, de vitamines, de sérum de veau fœtal (10%), de pénicilline (100 u/ml) et de streptomycine (0,05 mg/ml). Une fois que le tapis cellulaire est complet dans la boîte de culture, le milieu est remplacé par un autre contenant 1% de sérum (milieu d'entretien).

Virus

Le vaccin utilisé est la souche PPR 75/1 atténuée par Diallo *et al.* [5]. Il est utilisé à la dose de 10^3 DICT50/animal et par voie sous-cutanée. Le virus PPR isolé en Côte d'Ivoire en 1989 a été utilisé comme virus d'épreuve (PPR C.I. PM₂) à la dose de $10^{3,7}$ DICT50/animal et par voie S/C.

Séroneutralisation

Les sérums sont décomplémentés par incubation à 56°C pendant 30 mn. Pour leur titrage, ils sont dilués dans des tubes "vénoject" stériles et incubés avec 10^3 DICT50 de virus vaccinal à 37 °C pendant 1 h. Ensuite 0,2 ml de ce mélange virus-sérum est ajouté à 2 ml de cellules Vero (10^5 cellules/ml) dans des tubes Leighton. Ces derniers sont incubés dans une étuve à 37 °C en présence de 5% de CO₂. La lecture, pour la présence de l'effet cytopathogène, est effectuée à J6, J8, J10 post-infection des cellules.

Résultats

Dans le Tableau I sont résumées toutes les observations cliniques faites sur les animaux des groupes I, II, III. Deux mortalités, survenues dès le lendemain de l'inoculation du virus PPR C.I. PM₂, ne peuvent être imputées à la PPR et sont dues à une autre maladie non diagnostiquée. Chez tous les autres animaux qui ont reçu ce virus ou qui ont été en contact avec les inoculés, on constate une hyperthermie qui a duré de 4 à 22 jours suivant les cas, hyperthermie qui amorce toujours le début de la maladie. La durée d'incubation a été de 2 à 10 jours pour les chèvres inoculées et de 6 à 18 jours pour les animaux de contact. A part un seul cas, le jetage a été constaté chez tous les sujets malades. En revanche, les autres signes cliniques de la PPR (larmoiement, diarrhée et lésions buccales) n'étaient pas constants : seuls 3 animaux ont exprimé tous ces symptômes. Le larmoiement a été le moins fréquent (6 animaux/19) alors que 14/19 chèvres ont eu la diarrhée. On a noté la mort de 4 sujets qui n'ont d'ailleurs pas eu tous les signes de la PPR.

Tableau I. Récapitulatif des signes cliniques observés chez les animaux inoculés avec PPRV souche sauvage.

N° lot	N° animal	Durée incubation (jour)	Durée pyrexie (jour)	Signes cliniques observés					Mort Jour après début T
				Hyperthermie (mini-maxi °C)	Jetage	Larmoie-ment	Diarrhée	Lésions buccales	
S.N.+ au 1/5	1.090 inf	4	4	39,7-40,3	+	+	+	+	-
	1.065 inf	4	5	40,6-41,2	+	-	+	+	-
	1.769 inf	4	4	39,9-40,7	+	-	+	+	-
	1.775 inf	2	6	39,6-41,1	+	-	+	-	8
	1.772 inf	10	5	40,3-40,5	+	-	+	+	9
	1.796 cont	7	6	39,7-40,9	+	-	+	+	8
	1.770 cont	6	22	39,9-40,4	+	+	-	-	-
S.N.+ au 1/10	1.008 inf	2	6	39,5-40,6	+	+	+	+	-
	1.005 inf	2	6	40,2-41,3	+	-	+	-	8
	1.003 inf				-	-	-	-	1 PI
	1.061 inf				-	-	-	-	1 PI
	1.724 inf	2	7	39,7-40,5	+	-	+	+	-
	1.011 cont	10	6	40,4-40,9	+	-	légère	-	-
	1.779	18	7	39,5-40,3	+	-	+	-	-
III SN -	1.018 cont	10	8	39,5-40,7	+	-	-	+	-
	1.742 inf	4	5	40,0-40,0	+	+	-	+	-
	1.794 cont	6	7	39,9-40,5	+	+	-	+	-
	1.057 inf	2	6	39,6-40,7	+	-	légère	+	-
	1.767 inf	3	5	39,7-40,6	+	+	+	+	-
	1.094 inf	2	5	39,5-40,5	-	-	-	-	-
	1.097 inf	4	6	39,7-41,0	+	-	+	+	-

inf : inoculation par voie sous-cutanée

cont : contact étroit

SN : séroneutralisation

PI : post-inoculation

D'après le Tableau I, on constate qu'il n'y a aucune différence significative entre les animaux des différents groupes vis-à-vis de l'épreuve virulente : qu'ils soient dépourvus d'anticorps anti-PPR ou que ces derniers soient détectés aux dilutions 1/5 et 1/10 de sérum, tout le monde réagit à l'infection par le virus virulent.

Les Tableaux II et III indiquent la répartition des animaux vaccinés selon la classe d'âge, la race, l'espèce. Dans le groupe 0-1 an, seuls les individus de plus de 6 mois ont

été vaccinés. Il y avait en tout 353 chèvres et moutons répartis dans 3 villages. Le suivi clinique a été réalisé sur 9 mois. La vaccination n'a eu aucun effet néfaste chez les femelles gestantes. On n'a d'autre part noté aucune mortalité dans les 3 premiers mois suivant l'intervention. Cependant sur le Tableau IV et pour la même période, on remarque une chute importante du nombre d'animaux soumis à l'expérience. Ceci est dû non seulement aux nombreuses ventes d'animaux survenues dans la période, mais aussi aux abatages. La diminution du nombre des animaux suivis se poursuit pendant tout le reste de la surveillance, mais à un rythme plus lent que lors des trois premiers mois.

Tableau II. Répartition des animaux vaccinés par classe d'âge et par espèce.

Espèce / âge	0 - 1	1 - 2	2 - 3	3 - 4	4 - 5	> 5	Total
Ovine	50	28	18	10	10	10	126
Caprine	73	56	29	29	19	21	227
Total	123	84	47	39	29	31	353

Tableau III. Répartition des animaux vaccinés selon les races locales.

Espèce / race	Kirdimi (naine)	Sahélienne	Total
Ovine	77	49	126
Caprine	100	127	227
Total	177	176	353

Tableau IV. Mouvement des animaux pendant la période de suivi.

Village	Avant vaccination	3 mois après vaccination	6 mois après vaccination	9 mois après vaccination
Koundoul	77	43	45	24
Mandalia	173	110	99	65
Mailao	103	60	33	27
Total	353	213	177	116

Dans le Tableau V, sont résumés les résultats de titrage des sérums des animaux vaccinés. On y constate qu'environ 19% et 5% des animaux avaient, avant vaccination, des anticorps anti-PPR respectivement aux dilutions de sérum 1/10 et 1/5. Trois mois après la vaccination, 87,4% des animaux contrôlés avaient des titres de sérum compris entre 1/25 et 1/400. Après 6 mois, on enregistre une augmentation du taux d'anticorps anti-PPR dans le sang : 84% des sérums titrent entre 1/100 et 1/1600. A 9 mois post-vaccination, la proportion des animaux possédant un titre fort a diminué : de 13,5% de sérums positifs au 1/1600 à 6 mois post-vaccination, il n'y a plus que 0,9% 3 mois plus tard.

Parmi tous les animaux vaccinés et suivis jusqu'à la fin de l'expérience, 25 avaient un titre de sérum au 1/10 pour les anticorps anti-PPR. Ils ont bien réagi à l'inoculation du vaccin car ont montré une montée rapide d'anticorps, prouvant ainsi que le virus vaccinal s'est bien multiplié dans l'organisme.

Les Tableaux VI et VII résument l'évolution des anticorps anti-PPR chez les animaux par espèce. A 6 mois post-vaccination, et si on ne considère que les individus à fort taux d'anticorps ($>1/100$), on ne trouve aucune différence entre les chèvres et les moutons.

Discussion et conclusion

La PPR est une maladie très contagieuse due à un virus très apparenté à celui de la peste bovine. Ils font partie du groupe des *Morbillivirus*. Cliniquement, elle est caractérisée par de l'hyperthermie, du larmolement, du jetage, des lésions érosives de la muqueuse buccale puis de la diarrhée [1,7,8,9]. Tous ces symptômes ont été retrouvés dans les expériences évoquées ci-dessus. Cependant, bien que des chèvres kirdimi, chèvres naines réputées très sensibles à la PPR [7], aient été utilisées, tous ces signes n'ont pas été exprimés par les mêmes animaux hormis 3 cas. Ainsi, le larmolement a été le symptôme le plus inconstant. Ceci doit refléter certaines situations de la maladie naturelle dont la sévérité dépend non seulement de l'espèce animale, la chèvre étant plus sensible, mais aussi de l'âge de l'animal, de la race et très certainement de la souche virale. Et même pour ce dernier cas, les symptômes sont inconstants d'un passage à l'autre du virus sur des cellules en culture (A. Diallo, communication personnelle). Ici, le virus Côte d'Ivoire a été utilisé au passage PM_2 à la dose de $10^{3,7}$ DICT50. Il n'a entraîné que 4 cas de mortalité pour 19 animaux infectés. En revanche le passage $vero_4$ a provoqué 100% de mortalité chez les chèvres naines de Côte d'Ivoire inoculées avec 10^2 DICT50 [2].

Au cours des expériences ci-dessus évoquées, nous n'avons constaté aucune différence, après épreuve virulente, entre les animaux dépourvus d'anticorps anti-PPR et ceux qui, non vaccinés, en possèdent encore aux dilutions 1/5 et 1/10 de leurs sérums. Ils ont tous fait la maladie. Ces résultats sont à mettre en parallèle avec ceux déjà publiés par Bordin *et al.* [4]. Ces derniers ont fait état de la non résistance à la PPR des chèvres non vaccinées et possédant des anticorps anti-peste bovine aux dilutions de sérum allant jusqu'au 1/40. Etant donné que l'historique de ces animaux est inconnu, rien ne prouve que les anticorps détectés soient spécifiques de la PPR. Aussi de telles expériences sont à refaire avec des animaux à faibles taux d'anticorps mais connus pour avoir été vaccinés ou infectés par du virus PPR sauvage (expériences en cours).

Le vaccin homologue anti-PPR a été testé sur plus de 350 chèvres et moutons. Ce vaccin n'a entraîné aucun effet morbide chez les récipients et a suscité la production d'anticorps anti-PPR à de très forts taux. En effet, 9 mois après la vaccination, 93% des sérums

Tableau V. Evolution des titres d'anticorps pendant la période de suivi des troupeaux.

Période	<1/5	1/5	1/10	<1/25	1/25	1/100	1/125	1/200	1/400	1/800	1/1600	Total
Avant vaccination.	75,3*	5,4	19,3	-	-	-	-	-	-	-	-	100%
3 mois après. vaccination.	-	12,6	-	22,1	36,1	2,8	5,2	7,5	13,6	-	-	100%
6 mois après. vaccination.	-	-	6,2	-	-	9,6	-	13,0	31,6	26,0	13,5	100%
9 mois après. vaccination.	-	-	6,9	-	-	18,1	-	40,5	19,8	13,8	0,9	100%

* : Intervalle de confiance pour le risque consenti de 5%.

Tableau VI. Evolution des titres d'anticorps pendant le suivi chez les ovins

Période	<1/5	1/5	1/10	<1/25	1/25	1/100	1/125	1/20	1/400	1/800	1/1600	Total
Avant vaccination	92	3	31	-	-	-	-	-	-	-	-	126
3 mois après vaccination	-	14*	-	34	27	5	2	1	10	-	-	93
6 mois après vaccination	-	-	4	-	-	9	-	11	24	17	7	72
9 mois après vaccinatin	-	-	4	-	-	4	-	18	7	9	1	43

* : Titre < 1/10

Tableau VII. Evolution des titres d'anticorps pendant le suivi chez les caprins

Période	<1/5	1/5	1/10	<1/25	1/25	1/100	1/125	1/200	1/400	1/800	1/1600	Total
Avant vaccination	174	16	37	-	-	-	-	-	-	-	-	227
3 mois après vaccination	-	13*	-	13	50	1	9	15	19	-	-	120
6 mois après vaccination	-	-	7	-	-	8	-	12	32	29	17	105
9 mois après vaccination	-	-	4	-	-	17	-	29	16	7	-	73

* : Titre < 1/10

ont des titres supérieurs au 1/100. Des animaux hébergeant au départ des anticorps anti-PPR à la dilution de sérum 1/10 ont aussi réagi par une importante production d'anticorps. Ces derniers résultats sont similaires à ceux obtenus par Wafula et Wamwayi [10] pour le vaccin bovipestique : les bovins non vaccinés mais possédant des anticorps maternels anti-peste bovine au 1/5 répondent positivement à la vaccination par une forte production d'anticorps; le virus se multiplie donc dans leur organisme. En revanche ceux dont le titre de sérum est au minimum égal au 1/100 neutralisent aussitôt le virus vaccinal.

L'analyse de l'évolution des anticorps après la vaccination a montré qu'à 3 mois, 88,5% des sérums recueillis sont positifs aux dilutions comprises entre 1/25 et 1/400. A 6 et 9 mois, ils sont plus de 93% à avoir des titres situés entre 1/100 et 1/1600, le reste n'étant positif qu'au 1/10. Les travaux sont en cours pour poursuivre cette analyse et de l'associer à des épreuves virulentes pour déterminer le seuil minimal de taux d'anticorps anti-PPR conférant une protection contre la maladie.

Remerciements

Ce travail a été réalisé grâce à l'appui financier de la fondation internationale pour la science (FIS). Qu'elle trouve ici notre profonde gratitude.

Références

1. Abu Elzein E.M., Hassanien M.M., Al-Afaleq A.I., Housawi F.M. (1990). Isolation of peste des petits ruminants from goats in Saudi Arabia. *Vet Rec* ; 127 : 309-310.
2. Angba A., Couassy-Hymann E., Domenech J. (1990). Rapport Projet Peste des Petits Ruminants, IEMVT-CEE/DGXII, STD n°002/326.
3. Bidjeh K., Idriss A.O., Diguimbaye C., Ganda K., Maurice Y. (1989). Incidence des anticorps peste bovine chez les petits ruminants au Tchad. *Bul Cent Rech App* ; 5 : 31-36.
4. Bourdin P., Rioche M., Laurent A. (1969). Etude immunologique de la peste des petits ruminants (PPR)- Colloque O.C.A.M. sur l'élevage, Fort-Lamy, 8-13 Décembre 1969.
5. Diallo A., Taylor W.P., Lefevre P.C., Provost A. (1989). Atténuation d'une souche du virus de la peste des petits ruminants : candidat pour un vaccin homologue vivant. *Rev Elev Méd Vét Pays Trop* ; 42(3) : 311-319.
6. Gargadennec L., Lalanne A. (1942). La peste des petits ruminants. *Bul Serv Zoot Epiz AOF* ; 5(1) : 16-21.
7. Idriss A., Bidjeh K., Ganda K., Diguimbaye C., Maurice Y. (1989). Sensibilité des races ovines et caprines tchadiennes au virus de la PPR. In : African Small Ruminant Research and Development Proceedings, Bamenda (Cameroun), 18-25 January 1989 : 370-381.
8. Rowland A.C., Scott G.R., Ramachandran S. (1971). A comparative study of "peste des petits ruminants" and "Kata" in western african dwarf goats. *Trop Anim HLTH Prod* ; 3(4) : 241-247.
9. Withney J.C., Scott G.R., Hill D.H. (1967). Preliminary observation on a stomatitis and enteritis of goats in Southern Nigeria. *Bull Epiz Dis Afr* ; 15 : 31-41.
10. Wafula J.S., Wamwayi H.M. (1989). Some factors which could cause rinderpest vaccination failure in cattle. *Bull Anim Hlth Prod Afr* ; 37 : 251-254.

27

Essai de vaccination contre le charbon symptomatique en milieu réel

A. RANAIVOSON

Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Université d'Antananarivo, Antananarivo.

Résumé

Un vaccin polyvalent contre le charbon bactérien et le charbon symptomatique a été mis au point. Il est composé de spores de la souche "sterne" et d'anacultures purifiées de Clostridium chauvoei biotypes 735 et 335. Les anacultures ont été obtenues par la méthode de filtration sélective en cascade aboutissant à la séparation des anatoxines et des corps bactériens. Des essais ont été menés dans les zones à enzooties saisonnières ou permanentes de charbon symptomatique rebelle à la vaccination classique avec une anaculture total de Clostridium chauvoei biotype 735.

Les résultats sont consignés, analysés et discutés dans le présent travail.

La protection à vie, ou pour 3 à 4 ans, n'est pas obtenue dans les zones considérées. Par contre une régression de la maladie a été observée. Le taux de mortalité due au charbon symptomatique est passé de 2,6 % en 1983 à 1,3% en 1992.

En août 1969, le charbon symptomatique frappait pour la première fois le cheptel bovin malgache. Il a envahi en moins d'un an tout le territoire national de 600.000 km² environ faisant plus de 300.000 morts et causant 100 % de morbidité et de mortalité dans les élevages touchés en absence d'interventions médicales. Un vaccin tué constitué d'anaculture totale de *Clostridium chauvoei* souche 735, isolé à partir des premières victimes dans la zone de maladie initiale a été utilisé pour contrôler l'épizootie. Ce vaccin associé aux spores de *Bacteridium anthracis* souche Sterne constitue le "Bichar" utilisé contre les deux charbons : symptomatique et bactérien.

Vingt ans après, la maladie sévit encore sous forme sporadique sur les hauts plateaux malgaches, et enzootique saisonnière ou permanente dans de nombreuses zones d'élevage extensif naisseur du Sud et de l'Ouest du pays, pouvant se transformer en épizootie lorsque les conditions favorisantes sont réunies.

L'objectif des présents essais est double :

- contrôler, ou si possible, éradiquer la maladie de ces zones infectées en permanence,
- conférer une protection de longue durée (3 ans) aux animaux avec une intervention unique.

La démarche adoptée est la vaccination de tous les animaux des zones identifiées avec un nouveau vaccin constitué d'anatoxine de deux biotypes de *Clostridium chauvoei*.

Matériel et méthode

Matériel

Lieux des essais

Il s'agit du milieu réel, c'est à dire des zones d'élevage extensif avec un encadrement classique, un chef de poste vétérinaire pour 25 à 30 000 têtes de bovins qui parcourt à pied une étendue de 500 km² environ pour les interventions vétérinaires et zootechniques. Deux zones ont été identifiées :

- une zone d'enzooties permanentes malgré la vaccination annuelle obligatoire,
- une zone d'enzooties saisonnières, où les jeunes animaux succombent régulièrement à la maladie à la fin et au début de la saison de pluie (mars-avril et octobre-novembre).

Animaux

Ce sont des zébus de tout âge appartenant à :

- des collectivités (au nombre de 7126 animaux),
- des particuliers volontaires : répartis en 2 groupes selon les soins apportés par les propriétaires :
 - 2385 bovins appartenant à 6 éleveurs qui vaccinent et déparasitent régulièrement leurs animaux,
 - 1967 bovins vaccinés régulièrement et déparasités occasionnellement appartenant à 8 éleveurs.

Vaccin

Mélange d'anatoxine de 2 biotypes de *Clostridium chauvoei* : 735 et 335 et de spores de *Bacteridium anthracis* souche "Sterne".

Matériel d'injection

Un dermojet.

Méthode

Préparation

L'anatoxine a été obtenue par culture séparée de *Clostridium chauvoei* biotype 735 et 335 en fermenteur, extraite par la méthode de double filtration sélective.

Injection

Tous les animaux de 2 mois et plus sont vaccinés par voie intra-dermique à la base de la queue (pli sous-caudal) à la dose de 0,5 ml. La 1^{ère} injection est suivie d'une 2^{ème} injection de rappel 21 jours après.

Contrôle

L'observation et le suivi sont assurés par le propriétaire en permanence, par un agent de l'élevage tous les mois et par nous même tous les 3 mois. L'efficacité est jugée par comptage des malades et des morts par le charbon symptomatique durant 13 ans.

Résultats

Troupeaux collectifs

7126 animaux appartenant à des éleveurs du Firaïsana (arrondissement de Fenoarivo), poste vétérinaire d'Ankaramena, ont reçu en avril 1984 deux injections "d'anatoxine" associée aux spores "sterne" à 21 jours d'intervalle contre les charbons symptomatique et bactérien. Cette méthode de vaccination a été renouvelée tous les ans jusqu'au 1987. De 1988 à 1993, on est revenu à l'utilisation du "Bichar" classique, faute d'anatoxine, le laboratoire de fabrication ayant cessé sa production.

Les résultats durant 13 ans sont jugés sur le nombre de malades et de morts observés (Tableau I).

Ils nous montrent une nette diminution de morbidité due à la vaccination et une absence même de mortalité en 1986 grâce à l'intervention de l'agent du service de l'élevage chargé de suivre plus particulièrement cette zone d'expérience. La recrudescence de la maladie à partir de 1990 serait liée à l'abandon de l'anatoxine mais plus sûrement à la pénurie de vaccins à la suite des grèves politiques de longue durée suivie de flottements dans les services publics durant cette période.

Tableau I.

Vaccins utilisés	Bichar*			Anatoxine**					Bichar				
	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993***
Années	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993***
Effectif	7126	6879	6791	6688	6812	6905	6730	6847	6214	6373	6608	6794	6968
Morbidité par charbon symptomatique	204	212	166	117	44	38	58	89	105	93	149	98	152
Pourcentage	2,8	3	2,4	1,8	0,6	0,5	0,8	1,3	1,5	1,3	2	1,4	2,2
Mortalité par charbon symptomatique	181	167	114	19	5	0	12	4	17	25	40	31	81
Pourcentage	2,5	2,4	1,6	0,3	0,07	0	0,2	0,06	0,2	0,4	0,6	0,45	1,2
Mortalité totale	511	418	413	370	314	303	348	294	390	275	353	392	240
Pourcentage	7	6	6	5,6	4,7	4,4	5	4,2	5,5	4	5	5,8	3,4
Taux de croissance	?	-3,4	-1,3	-1,5	+1,8	+1,4	-2,5	+1,7	-9,2	+2,5	+3,7	+2,8	+2,5

* : Bichar : vaccin composé d'anaculture totale de *Clostridium chauvoei* biotype 735 + "spores stérile".** : Anatoxine : vaccin constitué d'anatoxine de *Clostridium chauvoei* biotypes 735 et 335 + "spores stérile".

*** : L'année 1993, jusqu'au mois d'août, a été marquée par un retard et une pénurie dans l'approvisionnement en vaccins, causant une grosse morbidité due au charbon asymptomatique. La mortalité globale augmentera à la fin de la saison sèche.

Troupeaux d'éleveurs individuels

Tous les animaux de 2 mois et plus ont été vaccinés dans les mêmes conditions que précédemment en avril 1984. Les années suivantes, seuls les animaux neufs (nés ou achetés) non vaccinés lors de la première intervention ont été immunisés jusqu'en 1987. De 1988 à 1993, on utilisait le "Bichar" pour tous les animaux sans distinction. Les résultats sont donnés par groupe d'éleveurs en fonction des soins appliqués aux animaux.

Animaux vaccinés et déparasités régulièrement

2385 animaux de 6 éleveurs volontaires de Mandonto et d'Ambatolahy, vaccinés régulièrement contre les charbons symptomatique et bactérien ainsi que contre l'entérite colibacillaire, et déparasités périodiquement contre la fasciolose, l'ascaridose et les strongyloses, ont été vaccinés. Les résultats sont consignés dans le Tableau II.

L'application de l'anatoxine a donné un très bon résultat dans la lutte contre le charbon symptomatique dans ce milieu conscientisé. Mais la protection n'a pas duré plus de 2 ans car les non vaccinés annuellement constituent la plupart des victimes observées.

Animaux vaccinés, non déparasités

1967 animaux de 8 éleveurs de Ranohira et d'Ambatolahy vaccinés régulièrement contre les mêmes maladies que précédemment mais non déparasités ont servi de sujets d'expérience pour tester l'anatoxine.

Le Tableau III nous donne des résultats moins bons que ceux obtenus chez des animaux déparasités régulièrement aussi bien pour la morbidité due au charbon symptomatique que pour la mortalité globale.

Discussion

Les résultats obtenus sont le fruit de l'utilisation de l'anatoxine conjuguée à la vigilance de l'éleveur et du technicien de terrain. La régression de la morbidité due au charbon symptomatique attribuée à l'immunisation conférée par le vaccin polyvalent et la contamination à petite dose dans la nature dans les zones à enzooties permanentes. L'identification de la maladie est coutumière aux éleveurs qui se trompent sûrement sur les tumeurs suivies de boiterie matière de charbon symptomatique.

La difficulté de l'éradication de cette maladie réside essentiellement dans la pérennité des causes favorisantes : les dures conditions d'élevage restent les mêmes, les us et coutumes (vols de bœufs, partage des viandes issues d'animaux malades, etc), les champs maudits s'avèrent très difficiles à vaincre.

L'abandon de la production d'anatoxine ainsi que la connaissance incomplète des biotypes de *Clostridium chauvoei* en cause, les irrégularités dans l'approvisionnement en vaccin sont autant d'obstacles à la réussite de la prévention de cette maladie.

Tableau II. Troupeaux vaccinés et déparasités régulièrement.

Vaccins	Année	Effectif	Age (en années)	Charbon symptomatique					Mortalité globale %	Taux de croissance
				Morbidité		Mortalité				
				12/02	03/05	06/08	09/11	Totale		
Bichar	1981	2385	0-1 1-4 >4	2 1 0	18 6 0	2 4 0	9 11 4	57 2,4 1,8	149 6,2	?
	1982	2046	0-1 1-4 >4	3 1 1	16 4 1	4 5 1	7 7 2	45 2,2 2	153 7,5	-14,2
	1983	2094	0-1 1-4 >4	0 1 6	24 11 0	0 5 1	9 6 2	65 3 2,1	137 6,5	+2,3
	1984	2118	0-1 1-4 >4	0 1 1	12 9 0	0 1 7	3 1 0	32 1,6 0,5	121 5,7	+1,2
Anatoxine	1985	2203	0-1 1-4 >4	0 0 0	8 1 0	1 2 0	0 2 3	17 0,8 0,05	106 4,8	+4
	1986	2290	0-1 1-4 >4	0 1 0	3 4 0	0 0 0	0 1 1	12 0,5 0	108 4,7	+4
	1987	1802	0-1 1-4 >4	0 0 0	6 0 1	0 2 0	0 4 1	14 0,8 0,1	94 5,2	-2
	1988	1894	0-1 1-4 >4	0 0 0	9 6 0	0 0 2	2 4 0	23 1,2 0	109 5,7	+5
Bichar	1989	1712	0-1 1-4 >4	0 1 1	12 0 14	0 0 4	0 2 10	28 1,6 0,7	114 6,6	-9,6
	1990	1840	0-1 1-4 >4	2 0 0	2 0 2	0 0 0	2 2 4	22 1,2 0,2	110 6	+7
	1991	2001	0-1 1-4 >4	0 0 0	12 0 7	0 3 5	0 0 1	33 1,6 0,5	127 6,3	+8,75
	1992	2114	0-1 1-4 >4	0 1 0	11 1 0	4 6 1	1 2 2	29 1,3 1	138 6,5	+5,3
1993	2209		0-1 1-4 >4	0 1 0	12 4 0	3 1 0	- - -	21 0,95 0,5	61 2,8	4,5

Tableau III. Animaux vaccinés, non déparasités.

Vaccins	Année	Effectif	Age (en années)	Charbon symptomatique					Mortalité		Taux de croissance			
				Morbidité				Totale	%	globale		%		
				12/02	03/05	06/08	09/11							
Bichar	1981	1967	0-1	3	14	1	5	44	2,2	35	1,8	136	6,9	?
			1-4	0	5	6	7							
			>4	0	0	1	2							
	1982	1880	0-1	1	12	2	6	34	1,8	28	1,5	141	7,5	-4,4
			1-4	0	1	5	3							
			>4	1	0	0	4							
1983	1992	0-1	2	16	1	2	35	1,75	30	1,5	129	6,5	+5,6	
		1-4	0	4	0	8								
		>4	0	0	0	1								
Anatoxine	1984	2014	0-1	0	10	2	3	29	1,4	13	0,6	115	5,7	+1,1
			1-4	1	3	0	5							
			>4	0	0	2	3							
	1985	2189	0-1	0	8	0	1	17	0,8	0	0	104	4,7	+8,6
			1-4	1	0	1	1							
			>4	0	0	1	1							
1986	2220	0-1	0	7	0	1	18	0,8	5	0,2	126	5,6	+1,4	
		1-4	0	0	2	4								
		>4	0	1	1	2								
1987	2065	0-1	1	6	0	2	21	1	11	0,5	121	5,8	-7	
		1-4	0	0	5	2								
		>4	0	1	1	3								
Bichar	1988	2159	0-1	0	6	0	4	27	1,25	9	0,4	120	5,5	+4,5
			1-4	1	3	6	2							
			>4	1	0	0	4							
	1989	1708	0-1	0	10	1	1	26	1,5	13	0,8	131	7,6	-20
			1-4	0	1	3	5							
			>4	1	1	2	1							
1990	1800	0-1	0	8	3	4	31	1,7	15	0,8	136	7,5	+5,4	
		1-4	0	2	7	0								
		>4	1	0	2	4								
1991	1950	0-1	0	15	0	4	39	2	19	1	134	6,8	+8,3	
		1-4	0	3	10	0								
		>4	1	0	3	3								
1992	2068	0-1	0	18	1	1	40	1,9	27	1,3	148	7,1	+6	
		1-4	0	2	8	3								
		>4	0	1	1	4								
1993	2119	0-1	0	20	5	-	43	2	35	1,65	132	6,2	+2,4	
		1-4	1	3	10	-								
		>4	1	2	1	-								

Conclusion

Les essais de vaccination en milieu réel s'avèrent importants dans la lutte contre les maladies et particulièrement contre le charbon symptomatique. La simple présence permanente du technicien influe sur les résultats. Il en est de même des conduites d'élevage adoptées par l'éleveur. Deux conditions nous semblent primordiales pour réussir le contrôle de cette maladie : la meilleure connaissance de l'étiologie et de l'épidémiologie et la présence du technicien au sein des éleveurs qui lui font confiance.

Références

1. Blancou J. (1974). Etude d'un vaccin mixte contre le charbon bactérien et le charbon symptomatique. *Rev Elev Méd Vét Pays Trop* ; 27(2) : 183-187.
2. Joubert L., Valette L. (1976). Les échecs de la vaccination antisymptomatique et les méthodes de contrôle d'activité des vaccins. *Dev Biol Stand* ; 32 : 151-155.
3. Ranaivoson A. (1985). Notes sur les obstacles à la réussite de la prophylaxie des maladies telluriques à Madagascar. *Acad Mal* ; Actes du colloque sur l'amélioration de l'élevage en zones tropicales de Madagascar : 205-210
4. Ranaivoson A. (1991). Le charbon symptomatique à Madagascar. Contribution à l'étude épidémiologique, étiologique et prophylactique. Thèse de Doctorat ès Sciences, Clermont Ferrand II, France.
5. Ranaivoson A., Rajaonarison J.J. (1984). Vaccins mixtes contre le charbon des bovins à Madagascar. *Acad. Malg*
6. Seifert H.S.H., Ranaivoson A. (1984). Prophylaxie des maladies telluriques des ruminants à Madagascar par l'application en intradermique de l'anatoxine obtenue à partir des germes de *Clostridia* locaux. *Anim Dev* ; 19 : 67-82.

28

Les stratégies de modifications du patrimoine génétique des animaux domestiques, destinées à les rendre plus résistants aux maladies infectieuses et parasitaires : l'apport de la zootechnie des animaux de laboratoire

J.L. GUENET

Institut Pasteur, Paris, France.

Modifier le patrimoine génétique des animaux domestiques afin de les rendre plus résistants aux agressions de l'environnement, en particulier à celles qui mettent en cause des parasites ou des agents infectieux, est une des branches les plus prometteuses de la zootechnie moderne. A terme elle pourrait permettre de réduire les pertes résultant des maladies infectieuses et parasitaires et, par conséquent, de rentabiliser encore les élevages.

Pour parvenir à ce but il existe a priori plusieurs stratégies :

- la première, la plus simple, consiste à sélectionner génération après génération les géniteurs qui résistent le mieux aux maladies infectieuses ou parasitaires. Cette sélection se fait de manière plus ou moins consciente depuis que l'homme a commencé à domestiquer des animaux de rente mais les progrès récents de la génétique permettent d'espérer une augmentation considérable de son efficacité.
- la seconde, consiste à manipuler le patrimoine génétique en ajoutant, *in ovo*, un ou plusieurs gènes codant pour une caractéristique jugée intéressante a priori et prélevés dans une autre race, voire même dans une autre espèce.

- la troisième consiste à modifier sélectivement certains gènes codant pour des protéines dont on connaît la fonction, afin de modifier de manière significative la physiopathologie des maladies infectieuses.

Dans les lignes à venir nous passerons en revue ce qui a été fait et ce qu'il sera sans doute possible de faire dans un avenir proche chez la souris de laboratoire, le mammifère modèle par excellence, en considérant que les résultats acquis dans cette espèce peuvent, au moins en théorie, être transposés aux autres mammifères domestiques.

La sélection sur la résistance

Les êtres vivants réagissent de façons très diverses aux agressions des éléments pathogènes présents dans leur environnement. Dans certains cas, comme celui de la rage par exemple, la rencontre hôte-agent pathogène, sans traitement, est régulièrement fatale pour l'hôte et ceci même si le nombre de particules infectantes est très petit. Dans d'autres cas, au contraire, la résistance de l'hôte est totale, elle est innée. C'est ce qui se passe, par exemple, avec le bacille tuberculeux qui peut facilement infecter l'organisme des bovidés et des suidés mais qui, dans les conditions naturelles, n'infecte pas les équidés. Ici, la résistance des organismes concerne l'espèce toute entière et elle est, de toute évidence, sous contrôle génétique. Cette situation est presque toujours la règle dans le cas des infections virales et parasitaires.

Dans la plupart des cas les choses sont plus nuancées et il existe une multitude de situations où la rencontre entre l'hôte et l'agent pathogène s'accompagne de toute une série d'états pathologiques très variables à la fois en gravité et en durée. Il arrive fréquemment, par exemple après un épisode infectieux explosif survenant au sein d'un troupeau, que certains animaux guérissent complètement alors que d'autres restent infectés et plus ou moins affaiblis.

Avec le temps et l'expérience les hommes ont trouvé les moyens de faire fréquemment tourner le conflit hôte-agent pathogène au profit de l'hôte en utilisant des sérums ou des produits chimiques variés. Avec les vaccins ils sont même arrivés à faire disparaître en totalité certains agents pathogènes tels que, par exemple, le virus de la variole et sans doute bientôt celui de la poliomyélite. Malgré tout la pathologie infectieuse et la pathologie parasitaire restent des problèmes préoccupants pour les vétérinaires en raison de leurs conséquences économiques.

Quelques exemples de différences génétiquement déterminées en matière de résistance naturelle aux infections

Le déterminisme génétique de la résistance aux infections bactériennes ou virales ou aux infestations parasitaires présente des aspects très divers. Il se traduit parfois, dans des cas relativement rares, par un phénotype en tout ou rien faisant apparaître deux classes d'animaux au sein de la même espèce : ceux qui sont sensibles (ou susceptibles) à l'infection et ceux qui y sont résistants. C'est le cas par exemple de certaines diarrhées du porcelet, provoquées par certains sérotypes de la bactérie *Escherichia coli*, pour lesquelles il existe des individus génétiquement résistants et d'autres génétiquement sensibles. C'est aussi le cas des infections de la souris par les orthomyxovirus où l'espèce *Mus musculus* se répartit clairement en deux catégories : celle des souris sensibles et celle des souris résis-

tantes, ces dernières supportant l'inoculation expérimentale d'une dose 500 fois plus forte que les souris sensibles.

Lorsque la résistance à la maladie dépend d'un déterminisme génétique aussi simple ceci signifie qu'il y a une relation directe entre le produit du (ou des) gène(s) concerné(s) et la physiopathologie de l'infection. Avec les agents bactériens et surtout les agents viraux la sensibilité ou la résistance dépend fréquemment de la présence ou de l'absence d'un récepteur à la surface des cellules. L'absence ou la mutation de cette protéine (ou de cette glycoprotéine) vers une forme altérée rend l'infection impossible et l'espèce est alors totalement résistante.

Dans la plupart des cas la résistance à la maladie dépend d'un déterminisme plus complexe où l'on rencontre, à la fois, des gènes qui agissent indépendamment les uns des autres et des gènes dont les effets sont additifs, voire même synergiques. Ceci s'explique par le fait que, contrairement aux exemples donnés précédemment, les mécanismes qui confèrent la résistance à la maladie ne sont dans la plupart des cas ni simples ni directs. Le Tableau I rend compte de travaux réalisés avec la souris sur le déterminisme génétique de la résistance à quelques infections bactériennes ou virales.

Tableau I.

Agent pathogène	Déterminisme génétique	Mécanismes impliqués
<i>Rickettsia tsutsugamushi</i>	Un gène de résistance Ric Chr 5	Macrophages
<i>Rickettsia ackari</i>	Polygénique	Macrophages
<i>Salmonella typhimurium</i>	Un gène de résistance Ity Chr 1 Un gène de résistance Xid Chr X Un gène de résistance Lps Chr 4	Macrophages
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Polygénique	Macrophages ?
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	Un gène de résistance Ack Chr ?	Contrôle de la multiplication précoce
<i>Listeria monocytogenes</i> phase précoce	Un gène de résistance Autosomal	Contrôle de la multiplication précoce
<i>Listeria monocytogene</i> phase tardive	Un gène de résistance lié au CMH	Contrôle de la multiplication précoce
<i>Mycobacterium bovis</i>	Un gène de résistance Bcg Chr 1	Macrophages
<i>Flaviviridae</i>	Un gène de résistance Autosomal	?
<i>Hépatite virale murine</i> type 2	Un gène de résistance Autosomal	?
<i>Orthomyxovirus</i>	Un gène de résistance Mx Chr 16	Protéine MX + Interféron
<i>Herpès simplex type 1</i>	Polygénique	??
<i>Herpès simplex type 2</i>	Un gène de résistance Xid Chr X	??
<i>Cytomégalo virus</i>	Polygénique	??
<i>Oxyuridae</i>	Un gène de sensibilité Autosomal	??
<i>Bilharziose</i>	Un gène de résistance Autosomal	

Dans cette espèce une bonne vingtaine de gènes responsables de déficits immunitaires plus ou moins profonds ont été identifiés et localisés génétiquement.[6]. Parmi ceux-ci on peut citer: *Xid* (X-linked immune deficiency : Chr X) qui provoque un déficit des cellules B et une forte réduction du taux d'IgM, *scid* (severe combined immune deficiency : Chr 16) qui est responsable d'un déficit grave de l'immunité cellulaire et de l'immunité humorale et *me* (motheaten : Chr 6) qui est également responsable d'un déficit immunitaire grave. On peut logiquement penser que de tels gènes ont un équivalent chez tous les mammifères et que des allèles mutants ou défectifs ségrègent peut être aussi dans les populations d'animaux domestiques, rendant certains sujets plus sensibles aux infections que d'autres. Ces gènes mutants sont bien entendu des candidats de première ligne pour une éventuelle contre sélection, et la recherche d'homologies interspécifiques, au niveau chromosomique, qui devient de plus en plus facile à mesure que s'élabore la carte génétique des principales espèces domestiques, revêt de ce point de vue une importance considérable [13].

Dans certains cas le phénotype de résistance est étroitement spécifique d'un agent pathogène. En 1964, J. Lindenmann [8] observa le premier qu'il existait chez les souris de laboratoire une différence considérable de sensibilité à un inoculum virulent du virus de l'influenza. La plupart des lignées testées succombent à l'inoculation en 48/72 heures alors que la lignée consanguine A2G résiste définitivement à une dose 500 fois plus forte. Cette différence de sensibilité, qui prend ici des proportions extrêmes, est contrôlée par un gène unique, le gène *Mx* (Myxovirus résistance : Chr 16), qui possède deux allèles: Mx^+ , l'allèle de résistance et Mx^- l'allèle de sensibilité, Mx^+ étant dominant sur Mx^- . Le mécanisme cellulaire de cette résistance a été élucidé [17], et il se révèle être d'une extraordinaire spécificité. Stimulées par l'interféron de type I (qui est produit lors d'infection virale), les macrophages des souris portant l'allèle Mx^+ synthétisent une protéine nucléaire de 72kD (symbolisée MX), et codée précisément par le gène *Mx*, qui inhibe spécifiquement la réplication du génome du virus influenza. O. Haller et ses collaborateurs [7] ont montré que le gène *Mx* des lignées Mx^- présentait soit une délétion de 424 nucléotides (lignée BALB/c), soit une mutation non-sens (lignée CBA/J), qui conduisait, dans un cas comme dans l'autre, à un défaut de synthèse de la chaîne polypeptidique MX.

Un exemple très similaire a été étudié par Miura et ses collaborateurs [10] à propos de l'encéphalite à virus Japonaise (JEV) pour laquelle les auteurs ont montré qu'un seul gène, localisé sur le chromosome 2, déterminait la plus ou moins grande sensibilité de la souris à l'infection expérimentale. Le gène ici encore est en cours de clonage.

Plusieurs autres gènes pouvant intervenir de manière moins spécifique dans le phénotype de résistance ont également été identifiés chez la souris. Ainsi la résistance à l'infection par *Salmonella typhimurium* est conditionnée par au moins trois gènes: *Ity* (dominant, Chr 1), *Xid* que nous avons déjà mentionné ci-dessus et *Lps* (dominant, Chr 4).

Un autre exemple de résistance génétiquement déterminée à une infection bactérienne particulière est fourni par la résistance à *Listeria monocytogenes* pour laquelle un gène contrôlerait l'élimination précoce de la bactérie tandis qu'un autre influencerait l'évolution plus tardive de l'infection. On ignore encore les mécanismes précis par lesquels ces deux gènes agiraient mais, ici encore, il est probable qu'ils ont leur équivalent dans toutes les espèces [6].

La résistance à l'infection par *Salmonella typhimurium* est conférée aux souris qui portent l'allèle *Ity^r* alors que les souris *Ity^s/Ity^s* sont sensibles à cette infection [12]. De même

les souris *Bcg^r* résistent-elles à une infection par le bacille tuberculeux ou le bacille de la lèpre et les souris *Lsh^r* résistent à l'infection par *Leishmania donovani*.

Les trois gènes *Ity*, *Bcg*, *Lsh* ont été localisés dans une même région sur le chromosome 1 de la souris et les allèles *Ity^r*, *Bcg^r*, *Lsh^r*, qui sont tous les trois responsables d'une plus grande efficacité des défenses macrophagiques, ségrègent toujours ensemble de sorte qu'on ne sait pas encore si ces trois symboles désignent un complexe multigénique (un haplotype) ou s'ils ne représentent qu'un seul et même gène qui contrôlerait, par le même mécanisme, la résistance à au moins trois types d'infections. Depuis les travaux remarquables de Skamene et de son équipe, à Montréal [18], on sait que le gène *Bcg* produit son effet en modifiant la structure d'une protéine de structure fondamentale exprimée dans les macrophages.

Un même gène peut contrôler plusieurs phénotypes de sensibilité/ résistance. C'est le cas du gène *Lps* qui est impliqué dans la résistance de la souris à plusieurs infections: *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Rickettsia ackari*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Neisseria meningitidis*. Les souris qui possèdent l'allèle *Lps^d* sont sensibles à ces infections et ne reconnaissent pas le lipide A du lipopolysaccharide (LPS) des bactéries Gram négatif. Chez les souris résistantes le LPS joue le rôle de facteur chimiotactique, stimule la réaction inflammatoire et favorise l'élimination de l'infection.

Les travaux de Biozzi et collaborateurs [1] concernant la sélection systématique de lignées de souris fortes et faibles productrices d'anticorps à la suite d'une stimulation antigénique complexe, ont permis de mieux comprendre la physiopathologie des défenses naturelles anti-infectieuses. Ils ont permis en particulier de mettre en évidence une corrélation négative, dans ces lignées, entre le niveau de production d'anticorps et l'intensité de la réponse phagocytaire. Les lignées à faible réponse humorale résistent mieux aux infections contrôlées par les macrophages, tandis que les lignées à forte réponse humorale sont moins sensibles aux infections dans lesquelles le rôle des anticorps et des cellules T spécifiques d'antigène est prépondérant; enfin, les deux types de lignées résistent de la même façon aux infections contrôlées par une réaction inflammatoire locale.

La sélection de lignées résistantes

Les quelques exemples que nous venons de mentionner à propos de la souris de laboratoire ont été mis en évidence par l'observation et interprétés grâce à des expériences conçues dans ce but. Malheureusement il n'est pas très raisonnable de concevoir la réalisation de telles expériences avec les animaux domestiques car leur coût serait prohibitif. Par contre il est logique de penser que des mécanismes similaires voire même complètement identiques, existent chez tous les mammifères, ce qui permet alors d'utiliser la souris comme modèle pour la mise au point d'une stratégie de sélection. Celle-ci peut alors se faire sur le phénotype ou sur le génotype.

La sélection sur le phénotype

Le choix systématique de géniteurs parmi les animaux qui résistent le mieux aux maladies, lorsqu'il est perpétré génération après génération, modifie progressivement la fréquence des allèles dans la population en question. Imaginons une situation qui doit sans doute être assez courante dans la nature et dans laquelle la constitution génotypique des individus leur confère une aptitude plus ou moins grande à résister à une infection à virus

enzootique, et admettons que cette caractéristique relève d'un déterminisme monogénique simple avec deux allèles au locus A, a présent dans la population avec une fréquence p , et a' présent dans la population avec une fréquence $(1 - p) = q$.

Supposons maintenant que les individus ayant un génotype a/a ou a/a' résistent à l'enzootie tandis qu'une partie qui a un génotype a'/a' meurt et ne participe pas à la formation de la génération G+1.

Si la population était panmictique avant l'apparition de l'enzootie, c'est à dire de très grande taille, nous aurions par définition, p^2 individus de génotype a/a , $2pq$ de génotype a/a' et q^2 de génotype a'/a' . Si nous admettons qu'une proportion μ des a'/a' meurt de maladie infectieuse, la proportion des différents génotypes qui vont composer le pool de géniteurs qui devra engendrer la génération G+1 sera alors de :

$$p^2 a/a, 2pq a/a' \text{ et } (1 - \mu)q^2 a'/a'$$

et l'effectif des individus parvenant à la reproduction sera de :

$$p^2 + 2pq + (1 - \mu)q^2 = (p + q)^2 - \mu q^2 = 1 - \mu q^2$$

Ce qui veut dire, en d'autres termes, que tous les animaux survivants à l'enzootie sont des géniteurs potentiels.

La fréquence de a' à la génération G+1 va alors devenir :

$$q' = \frac{2pq + 2q^2(1 - \mu)}{2(1 - \mu q^2)} = \frac{pq + q^2(1 - \mu)}{1 - \mu q^2}$$

$$\text{comme } p = 1 - q : \quad q' = \frac{q - \mu q^2}{1 - \mu q^2}$$

la variation de fréquence de l'allèle a' est alors de $\Delta q = q - q'$,

$$\text{autrement dit :} \quad \Delta q = \frac{q - \mu q^2}{1 - \mu q^2} = \frac{\mu q^2(1 - q)}{1 - \mu q^2}$$

Cette relation montre que, si $\mu \neq 0$, la classe des homozygotes a'/a' est réduite d'un certain pourcentage génération après génération aussi longtemps que dure l'enzootie et il est intuitif que la fréquence de l'allèle a' évolue en fonction de G, le nombre de générations, en suivant une courbe hyperbolique pour laquelle q se rapproche de 0 à mesure que G augmente sans toutefois jamais l'atteindre.

Cette présentation mathématique des faits permet de souligner deux points très importants en matière de sélection. Le premier est que la sélection ne peut avoir d'effets sur les caractéristiques de la population que dans la mesure où il existe un certain degré de polymorphisme génétique dans cette population. Si ce n'est pas le cas, si par exemple il n'y avait pas l'allèle a dans la population précédente mais seulement a' , on observerait toujours qu'une partie des individus meurent pendant l'enzootie (ils seraient bien sûr tous homozygotes pour a') mais dans ce cas la sélection serait parfaitement inefficace.

Le deuxième point est corrélé au précédent. Il résulte du fait que les animaux fondateurs des races actuelles ont été sélectionnés sur des critères zootechniques précis tels que la prolificité, la robustesse, la taille, etc... Cette sélection a abouti à la perte de certains allèles et à la fixation de certains autres d'une manière irréversible. Ceci peut constituer un inconvénient majeur si un programme de sélection sur la résistance aux maladies doit être entrepris ultérieurement car, lorsqu'on sélectionne en faveur d'un caractère on sélectionne

tionne aussi, et en général sans s'en rendre compte, pour tous les caractères qui sont déterminés par les gènes qui lui sont liés au gène qui détermine le caractère sélectionné, tout simplement parce qu'ils sont portés par le même chromosome. La sélection de certains caractères entraîne probablement aussi la fixation concomitante et quasi-inévitable de certains allèles non liés à ceux qui sont sélectionnés, pour des raisons d'épistasie, car la valeur adaptative d'un caractère génétique doit toujours être appréciée en fonction des autres composantes du génome. En appliquant une sélection phénotypique on risque donc d'observer, dans certains cas, des effets adverses. A quoi servirait-il par exemple d'avoir sélectionné des moutons résistants à la Listériose si le prix à payer est une réduction du nombre de gestations gémellaires!

Pour toutes ces raisons il est toujours préférable, à chaque fois que cela est possible, de réaliser une sélection génotypique.

La sélection sur le génotype

La sélection génotypique consiste à repérer, dans un premier temps, sur quel chromosome, ou sur quels chromosomes, sont localisés les gènes qui déterminent tel ou tel caractère intéressant dans le programme de sélection. Fort de ce renseignement le généticien utilise alors un "marqueur génétique" facile et rapide à reconnaître qui lui permet d'identifier génération après génération le bon génotype avant qu'il n'ait atteint l'âge de se reproduire. Cette pratique permet de gagner un temps considérable et donne évidemment l'assurance que la sélection sera efficace. Elle impose par contre d'avoir au préalable une bonne connaissance de l'organisation du génome et c'est à ce niveau que les animaux de laboratoire peuvent sans doute jouer un rôle important. Chez la souris de laboratoire nous avons, par exemple, pu montrer qu'il était possible de localiser génétiquement des gènes ou des groupes de gènes directement impliqués dans la sensibilité à une infection virale [2]. La stratégie que nous avons utilisé pour la reconnaissance de ces gènes peut être appliquée à n'importe quel agent infectieux chez la souris et les résultats obtenus peuvent être transposés à l'homme ou à d'autres espèces domestiques, à condition que la région d'homologie chromosomique entre les deux espèces soit connue. Ceci montre combien il est indispensable de développer pour les animaux de la ferme une cartographie des gènes aussi documentée que possible. Une bonne connaissance de la carte génétique, qui permettrait de localiser les gènes qui sont impliqués dans l'intensité de la réponse immune, permettrait aussi de gagner un temps précieux dans un programme de sélection et, surtout, de diriger celle-ci en évitant certains effets indésirables.

Pour conclure sur ce sujet faisons encore remarquer une dernière chose. Le fait que la sélection soit inopérante lorsqu'elle agit sur une population non polymorphe impose au zootechnicien la nécessité de conserver au maximum le polymorphisme génétique pour chacune des espèces domestiques. Cela veut dire qu'il faut absolument conserver, au besoin sous forme d'embryons congelés lorsque cela est possible, le plus grand nombre possible de races. Cela veut dire aussi qu'il faut éventuellement retourner à l'espèce sauvage, lorsqu'elle existe encore, ou à des espèces voisines lorsque l'hybridation interspécifique est possible, pour récupérer dans la nature la matière première de la sélection : le polymorphisme génétique.

Le transfert de gènes de résistance par transgénèse

La sélection de races ou de lignées résistantes présente deux inconvénients majeurs :

- elle n'est possible, comme nous l'avons dit, que dans la mesure où la population de départ comporte des individus où ségrègent des allèles capables de conférer la résistance à une maladie déterminée,
- elle ne peut se faire qu'au terme d'un très grand nombre de croisements accompagnés d'un travail de sélection ininterrompu et parfois coûteux.

C'est une des raisons pour lesquelles les généticiens ont envisagé d'autres moyens de rendre une espèce animale génétiquement résistante à une maladie. Parmi ces moyens, la transgénèse est le plus prometteur.

Cette technique consiste à produire un embryon dans lequel on a littéralement "greffé" un gène cloné pouvant éventuellement provenir d'une autre espèce, d'un autre genre, ou même d'une autre classe. Ceci peut se faire directement, c'est à dire mécaniquement, en injectant avec une pipette de verre étiré, très peu de temps après la fécondation de l'ovocyte, le gène cloné dans l'un des pronuclei. Ceci peut aussi se faire en infectant les cellules embryonnaires avec un rétrovirus génétiquement manipulé ou en injectant dans un embryon receveur des cellules embryonnaires modifiées génétiquement *in vitro*.

Le gène greffé dans les cellules de l'embryon se transmet ensuite à la manière d'un nouveau caractère mendélien. Dans certains cas il s'exprime, c'est à dire qu'il est transcrit en ARN puis traduit en protéine.

Cette technique de transgénèse est une véritable révolution pour la génétique. Entre autres choses elle permet le transfert direct de caractères génétiques sans passer par la voie sexuée et de ce fait représente une génétique par addition qui s'oppose à la génétique traditionnelle, par substitution, dans laquelle au maximum deux allèles d'un même gène peuvent se trouver dans un génome déterminé.

En plus de la souris et du rat, la transgénèse est également au point dans plusieurs espèces domestiques : Porc, Mouton, Chèvre, Boeuf, Lapin et elle a été utilisée dans trois directions :

- parfois pour augmenter les performances zootechniques (production excessive d'hormones de croissances, de *Growth hormone releasing factor* ou GRF, d'*Insulin like growth factor* ou IGF1, etc...),
- surtout pour faire élaborer chez les animaux de la ferme des protéines d'intérêt médical ou économique (immunoglobulines, hormones, etc...) dans le sérum sanguin ou le lactosérum (c'est le gène *farming* ou *molecular "pharming"*),
- plus rarement pour modifier la sensibilité des animaux domestiques aux maladies infectieuses ou parasitaires en raison de notre ignorance relative des mécanismes moléculaires impliqués dans le déroulement des premières étapes de l'infection. Trois expériences intéressantes ont été cependant publiées et il est probable que d'autres le seront à brève échéance.

Le transfert de la résistance à l'influenza par addition au génome du gène Mx de la souris.

Comme nous l'avons déjà mentionné plus haut certaines lignées de souris sont totalement résistante à certains virus de l'influenza [7]. Certains chercheurs considérant que, s'il pouvait exister dans la nature de tels animaux devenus résistants à la "grippe" grâce au pou-

duit du gène *Mx*, il devait être possible “d’emprunter” ce mécanisme de résistance que l’évolution a mis au point chez les muridés pour le transposer dans d’autres espèces domestiques en greffant purement et simplement le gène qui code la protéine *MX*. C’est ainsi que le gène *Mx* a été cloné [17] puis transféré sous une forme légèrement modifiée par transgénèse dans le génome du porc [11].

Pour l’instant l’expérience n’est pas concluante car la production de la protéine *MX* chez les animaux transgéniques est, semble-t-il, insuffisante pour entraîner la résistance mais il est probable qu’une meilleure construction du transgène aboutira bientôt à une synthèse suffisante de cette protéine conférant alors au porc la résistance héréditaire à cette infection.

Addition de séquences d’ADN capables de gouverner la synthèse d’anticorps préformés.

Lo et ses collaborateurs [9] ont réussi à faire s’exprimer, chez des agneaux et chez des porcs, des transgènes réalisés à partir des gènes codant pour la chaîne lourde et la chaîne légère de la souris. Les animaux transgéniques étudiés produisent en quantité non négligeable des IgA de souris dirigées contre la phosphorylcholine. Ces expériences, qui demandent à être reproduites et confirmées, représentent une stratégie très intéressante pour conférer de manière héréditaire la résistance vis à vis d’une infection bactérienne quelconque dès lors que l’on connaît certains déterminants antigéniques de la membrane bactérienne. Elle doit par contre être améliorée pour éviter que des anticorps hybrides résultants d’associations entre chaînes lourdes et légères des deux espèces n’aboutissent à la production d’anticorps de trop faible efficacité.

Résistance induite vis-à-vis du virus de Visna

Pursel et Rexroad [14] ont créé des agneaux transgéniques pour un rétrovirus défectif réalisé à partir du virus de Visna et ne contenant plus que le LTR et la partie codant pour la protéine d’enveloppe. De la même façon Crittenden et Salter [3] ont également réalisé des poulets transgéniques pour des virus défectifs.

Ces expériences sont encore à un stade préliminaire de leur analyse, mais il a été rapporté que l’expression de la protéine d’enveloppe avait été observée chez trois agneaux transgéniques ce qui devrait, en principe, procurer ultérieurement aux animaux une certaine résistance au virus de Visna.

Les modifications du génome induites par recombinaison homologue *in vitro* et leur utilisation potentielle chez les animaux domestiques

Chez la souris il est possible de cultiver *in vitro* des embryons non encore implantés et d’obtenir à partir de ceux-ci, dans certaines conditions expérimentales bien précises, des cultures cellulaires permanentes qui conservent toutes les caractéristiques des cellules embryonnaires précoces et qui, en particulier, sont capables de coloniser la lignée germinale lorsqu’on les injecte mécaniquement dans la cavité d’un blastocyste receveur. Ces cellules permettent aussi de faire de la génétique *in vitro* exactement comme on le ferait avec des cellules somatiques.

On peut alors utiliser ces cellules pour produire des mutations dans un gène déterminé dès lors que celui-ci est cloné. Il suffit pour cela de transfecter des cellules ES convenablement préparées avec des copies mutées *in vitro* du gène en question. Cette technique est maintenant bien au point chez la souris et de très nombreux animaux mutants ont déjà été produits. Il est possible, au moins en théorie, d'utiliser cette stratégie pour tenter de muter *in vitro* le récepteur cellulaire d'un parasite, d'un virus, ou d'une bactérie et de rendre ainsi l'animal totalement résistant à l'infection. Cela implique cependant que le récepteur n'ait pas d'autre fonction physiologique chez l'animal normal ce qui n'est malheureusement pas toujours le cas.

Cette stratégie ouvre des perspectives intéressantes pour produire des animaux génétiquement résistants mais elle ne sera transposable aux espèces domestiques que lorsqu'il existera dans ces espèces des lignées de cellules ES cultivables *in vitro* et capables de coloniser régulièrement la lignée germinale. Ceci n'est pas encore le cas.

Conclusions

La souris de laboratoire, entre les mains des généticiens moléculaires, s'est rendue complice d'une véritable révolution. On peut cloner ses gènes, même si leur produit n'est pas connu, on peut ajouter à son génome des gènes qui proviennent d'une autre espèce, éventuellement après les avoir modifiés, enfin on peut muter sélectivement tous les gènes de son génome qui sont clonés. Cette révolution permet de conférer à l'espèce des caractéristiques qu'elle n'avait pas, ou qu'elle n'avait plus, comme par exemple la résistance à certaines maladies infectieuses ou parasitaires. On peut prévoir et même souhaiter qu'une voie de développement de la zootechnie de demain passe par de telles pratiques chez les animaux domestiques. Elles auraient l'avantage d'affranchir nos campagnes des pollutions qui résultent de l'utilisation continue de produits chimiques pesticides ou médicamenteux et, parce qu'elles permettraient la transmission des caractéristiques transférées génération après génération, elles réduiraient considérablement les coûts de production.

Référence

1. Biozzi G., Stiffel C., Mouton D., Bouthillier Y., Decreusefond C. (). Sélection artificielle pour la production d'anticorps chez la souris. *Annales de l'Institut Pasteur* ; 115 : 965-967.
2. Bureau J.F., Montagutelli X., Bihl F., Lefebvre S., Guénet J.L., Brahic M. (1993). Mapping loci influencing the persistence of Theiler's virus in the murine central nervous system. *Nature Genetics* ; 5 : 87-91.
3. Crittenden L.B., Salter D.W.(1990). Expression of retroviral genes in transgenic chickens. *J Reprod Fertil (Suppl.)* ; 41 : 163-165.
4. Cundiff L.V., Bishop M.D., Johnson R. K. (1993). Challenges and opportunities for integrating modified animals into traditional animal breeding plans. *J Anim Sci* ; 71 (3) : 20-25,
5. Ebert K.M., Schindler J.E.S. (1993). Transgenic farm animals : Progress Report. *Theriogenology* ; 39 : 121-135, .
6. Green M.(1988). Catalog of mutant genes and polymorphic loci. In : Lyon M.F., Searle A.G. eds. *Genetic Variants and Strains of the Laboratory Mouse 2nd edition*. Oxford University Press.
7. Haller O., Acklin M., Staeheli P.(1988). Genetic Resistance to influenza virus in wild mice.

Curr Top Microbiol Immunol ; 127 : 331-337.

8. Lindenmann J. (1964). Inheritance of resistance to influenza virus in mice. *Proc Soc Exp Biol Med* ; 116 : 506-509.
9. Lo D., Pursel V., Linton P.J., Sandgren E., Behringer R., Rexroad C., Palmiter R.D., Brinster R.L. (1991). Expression of mouse IgA by transgenic mice, pigs and sheep. *Eur J Immunol* ; 21 : 1001-1006.
10. Miura K., Onodera T., Nishida A., Goto N., Fujisaki Y. (1990). A single gene controls resistance to Japanese encephalitis virus in mice. *Arch Virol* ; 112 : 261-270.
11. Muller M., Brem G. (1991). Disease resistance in farm animals. *Experientia* ; 47 : 47-923.
12. Nauciel C., Ronco E., Guénet J.-L. (1988). Genetic control of *Salmonella typhimurium*-induced depression of delayed-type hypersensitivity to sheep erythrocytes in mice. *Infect Immun* ; 56 : 310-313, .
13. O'Brien S. (1993). *Genetic maps*. Sixth edition, book 4, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
14. Pursel V.G., Rexroad C.E. Jr. (1993). Status of research with transgenic farm animals. *J Anim Sci* ; 71(3) : 10-19.
15. Renard J.P., Babinet C. (1987). Genetic engineering in farm animals : the lessons from the genetic mouse model. *Theriogenology* , 27 : 181-193, .
16. Seidel G.E. Jr. (1993). Resource requirements for transgenic livestock research. *J Anim Sci* ; 71(3) : 26-33, .
17. Staeheli P.O., Haller O., Boll W., Lindenmann J., Weissmann. (1986). MX protein : Constitutive expression in 3T3 cells transformed with cloned Mx cDNA confers selective resistance to influenza virus. *Cell* ; 44 : 147-151.
18. Vidal S.M., Malo D., Vogan K., Skamene E., Gros P. (1993). Natural resistance to infection with intracellular parasites : Isolation of a candidate for Bcg. *Cell* ; 73 : 469-485.

Note : La lecture du livre "*Genetics of resistance to bacterial and parasitic infection*. Wakelin D.M., Blackwell J.M. eds. Taylor and Francis Publishers, London, 1988" est vivement conseillée.

29

Résistance génétique des animaux aux maladies : cas de parasitoses gastro-intestinales chez les petits ruminants

A. LAHLOU-KASSI*, S. TEMBELY*, R. L. BAKER**

* *Centre International pour l'Elevage en Afrique (CIPEA), Addis Ababa, Ethiopie.*

** *Centre International pour l'Elevage en Afrique (CIPEA), Nairobi, Kenya.*

Résumé

Dans ce document nous passons en revue l'état de nos connaissances actuelles sur la résistance génétique des petits ruminants aux parasites internes. Plusieurs auteurs rapportent l'existence d'une variation importante dans cette résistance génétique entre les races de moutons et de chèvres et au sein d'une même race. Il a été démontré que la résistance aux parasites internes (mesurée par le nombre d'œufs par gramme de fèces) est héréditaire. Le taux d'héritabilité varie de 0,3 à 0,5 ce qui a permis la mise en place avec succès de programmes de sélection pour ce caractère. La biotechnologie contribuera à l'identification du ou des marqueurs génétiques lié(s) à cette résistance et permettra ainsi d'identifier d'une manière précise et précoce les individus résistants. L'exploitation de la variation génétique inter et intra-races offre de nouvelles perspectives dans le contrôle des parasitoses gastro-intestinales, notamment dans le continent africain.

L'importance des verminoses tient à leur universalité, à leur fréquence, aux pertes économiques résultant des mortalités et aux pertes de production qu'elles engendrent. Par exemple, en Uruguay (Amérique latine) il a été estimé que les affections parasitaires occasionnent une perte de 50 kg de poids vif par bovin, avec un coût global de 220 US \$, par an. En Australie, les pertes sont estimées à près de 300 millions de \$ australiens par an, malgré l'utilisation extensive des anthelminthiques [9]. En Afrique, des pertes annuelles de 20 à 40 millions de \$ ont été signalées dans certains pays [2,3].

D'une manière générale, ces pertes de production se manifestent par une réduction de poids vif, une baisse de la production laitière et lainière, des saisies en viande et en organes, s'ajoutant au coût très élevé des anthelminthiques, notamment dans les pays en voie de développement.

Les animaux s'infestent au pâturage et acquièrent une certaine résistance, qui se manifeste par un certain degré de protection vis-à-vis des ces parasites. Cependant, dans beaucoup de cas, cette réponse immunitaire est trop faible pour pouvoir produire une protection complète contre l'infestation.

Une variation génétique de l'hôte en ce qui concerne sa résistance ou sa tolérance vis-à-vis des parasites internes a été observée et rapportée depuis les années 40-50, chez les petits ruminants par Stewart *et al.* [35], Gregory [16], Emik [13], Whitlock [42]. Ces dernières années, un regain d'intérêt s'est manifesté dans ce domaine, particulièrement en Australie et en Nouvelle Zélande, parce que ces pays sont de plus en plus confrontés aux problèmes de la résistance des parasites vis-à-vis des anthelminthiques. Les parasites pour lesquels des études ont été menées sont : *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus spp.* et *Ostertagia spp.*, représentatifs du fait de leur importance vétérinaire et économique dans la plupart des pays en voie de développement.

Dans ce document nous nous proposons de faire le point sur l'état de nos connaissances sur l'existence de ces races résistantes, la nature et les mécanismes sur lesquels cette résistance ou tolérance est basée. Ensuite nous donnerons notre point de vue sur le rôle possible que pourrait jouer la biotechnologie dans la mise en oeuvre des approches décrites ci-dessus.

Variations génétiques de la résistance

Les notions de résistance et de susceptibilité sont très difficiles à définir et ont été très souvent utilisées pour décrire le comportement des animaux vis-à-vis de certaines maladies. Au cours de l'atelier de planification de la recherche sur la résistance des petits ruminants aux parasites internes, tenu à Addis Ababa en Ethiopie par ILCA/CIPEA [21], les participants ont convenus d'adopter les définitions suivantes :

- La résistance est le commencement et le maintien des réponses immunitaires induites par l'hôte pour empêcher l'implantation des parasites et/ou provoquer l'expulsion des parasites déjà implantés. Elle joue un rôle assez important dans l'épidémiologie des parasitoses, puisqu'elle diminue le risque de contamination pour les jeunes, du fait d'une diminution de l'infestation des pâturages.
- La résilience par contre indique l'aptitude de l'hôte à maintenir un niveau de production acceptable sous l'effet du parasitisme.
- La tolérance enfin, détermine l'aptitude de l'hôte à survivre à l'effet du parasitisme.

Dans ces deux derniers cas, les pâturages sont soumis à une contamination continue parce que les animaux n'ont aucun contrôle sur la production des œufs de parasites. Il est important de noter que la plupart des travaux de recherche sur la résistance génétique des petits ruminants aux parasites internes ont été orientés jusqu'ici vers la recherche des indices de résistance.

Les critères d'appréciation ou d'identification de ces animaux résistants ont été définis sur la base de l'analyse quantitative coprologique (comptage des œufs de parasites), le bilan parasitaire, le degré d'anémie (l'hématocrite), l'évolution pondérale, et le taux de survie. Le comptage des œufs reste jusqu'ici la méthode la plus couramment utilisée dans le diagnostic de la résistance aux parasites internes puisqu'il s'opère sur le vivant de l'animal. Un examen critique, au cours de deux saisons consécutives, de la relation entre le comptage et la charge parasitaire réelle après autopsie sur des descendants considérés résistants et susceptibles de la race Romney (Australie), a montré une très forte corrélation entre la présence effective des parasites et le nombre d'œufs par gramme de matières fécales [8].

Variations inter-races

Depuis les années 30, de nombreuses publications ont fait état de l'existence d'une importante variation de la résistance vis-à-vis des parasites internes, entre les races de moutons, en particulier avec *Haemonchus contortus*, *Ostertagia circumcincta*, et *Trichostrongylus colubriformis*. D'une manière générale, les races autochtones ont montré une nette supériorité dans la résistance, par rapport aux races Européennes importées. Les critères dans l'évaluation de ces races ont porté sur le comptage des œufs, l'hématocrite, le bilan parasitaire, le taux de survie et l'évolution pondérale. Les animaux, qui comprenaient aussi bien les agneaux que les brebis et les béliers, étaient exposés, soit à une infestation naturelle, soit à un challenge artificiel. Le Red Massai au Kenya, la Florida native aux USA, la Lacaune en France illustrent quelques exemples de races ovines résistantes aux parasites internes (Tableau I).

Chez les chèvres, la situation est quelque peu différente car nous ne disposons que de très peu de données. Les seuls exemples dénotant une différence dans la résistance de chèvres vis-à-vis des parasites internes sont ceux rapportés par Cabaret et Anjorand [10], et Richard [31] dans leurs études comparatives entre le Saanen et l'Alpine en France, suite à des infestations naturelles par *Trichostrongylus circumcincta*. Au Kenya, Preston and Allonby [30] ont pu également démontrer que le Saanen est plus résistant aux parasites internes que le Galla et la East African (Tableau II). Selon Gruner [18], il est probable qu'il existe une différence dans le mécanisme et le niveau de résistance chez les moutons et les chèvres du fait de leurs habitudes alimentaires. Etant donné que les chèvres préfèrent les pâturages aériens, elles seront moins soumises à la sélection naturelle, et par conséquent plus susceptibles aux parasitoses gastro-intestinales. D'après le même auteur, le degré de susceptibilité pourrait être différent selon les espèces de parasites.

Variations intra-races

L'existence de la variation dans la résistance des moutons aux parasites internes, à l'intérieur d'une race ou au sein d'une population, a été montrée pour la première fois par Gregory [16], Gregory *et al.* [17], Emik [13], Warwick *et al.* [37], et Whitlock [40,41]. Des

Tableau I. Quelques exemples de races ovines résistantes aux parasites internes.

Pays	Races résistantes	Races témoins	Trait	Type d'infection	Espèces parasites	Age des animaux (mois)	Auteurs
	Romney...	Rambouillet Southdown Shropshire	O	N	Oc	6-20	Stewart <i>et al.</i> [35]
USA	Florida native...	Rambouillet Hampshire	O.Bp.S	N	Hc	agneaux/brebis	Loggins <i>et al.</i> [24]
	Florida native...	Rambouillet	O.H	N	Hc	brebis	Jilek & Bradley [22]
	Florida native...	Dorset X Rambouillet	O.Bp	N	Hc, Ts, Os	brebis	Zajac <i>et al.</i> [45]
France	Lacaune.	Romanov Rom. X Lacaune	O.Bp	N	Os, Nsp	brebis	Gruner <i>et al.</i> [19]
Royaume Uni	Scottish blackface...	Dorset	Bp.S	A	Ta	agneaux	Ross (1970)
	Red Massai...	Black head Persian Merino Dorper Corriedale	O.Bp.S	N	Hc	brebis et mâles castrés	Preston & Allonby [30]
Kenya	Red Massai	Dorper Black head Somali Romney	O.H, Bp, S	N/A	Hc	brebis	Kari & Oda (1992) (unpublished)
	Red Massai...	Dorper Dorper X Red Massai	O.H, S	N	Hc, Ts		Baker <i>et al.</i> [7]
Ghana	Djallonké	Nungua black head	O	N	Os, Hc, Ts	agneaux et brebis	Assoku [4]

Tableau II. Quelques exemples de races caprines résistantes aux parasites internes.

Pays	Races résistantes	Races témoin	Trait	Type d'infection	Espèces parasites	Age des animaux	Auteurs
	Saanen...	East African Galla		O.BP.S A	Hc	24-26	Preston & Allonby [30]
Kenya	East African...	Galla Toggenburg X EA		O.H.Bp.S P A	Hc	10-14	Shavulimo <i>et al.</i> [34]
	EA & EA X Galla	Anglo-nubian métissés Toggenburg métissés		O.H N	Mixtes (avec prédominance Hc)	10-12	Robrer <i>et al.</i> [33]
	Alpine...	Saanen		O	N		Cabaret <i>et al.</i> [10]
	Alpine...	Saanen		O	N	daïnes	Richard <i>et al.</i> [31]

O : œufs par gramme de fèces

H : hématocrite

P : poids

Bp : bilan parasitaire

S : survie

Source : Baker *et al.* [6]

recherches plus récentes, menées sur les races Merinos, Dorset, Romney et Carriedale, ont démontré l'existence d'une variation individuelle à l'intérieur de chacun des génotypes de ces races ovines vis-à-vis de *T. colubriformis* [43] et d'infestation mixtes composée de *H. contortus*, *T. colubriformis*, *O. circumcincta* et *Nematodirus spp.* [29,39]. En Australie et en Nouvelle Zélande, des études ont montré que le degré de transmission, des parents aux descendants, de certains traits de caractères, tels que le nombre des œufs de nématodes dans les matières fécales, ou la valeur de l'hématocrite, étaient intimement liés au degré de résistance de l'animal. De nombreuses recherches ont confirmé la constance des valeurs de l'héritabilité de la résistance variant de 0,3 à 0,5 [5,39]. Ces taux d'héritabilité sont similaires à ceux connus pour les traits de production, tels que la quantité de lait produite par animal et par lactation, le gain moyen quotidien, le poids à la naissance, le poids au sevrage et la finesse de la laine. Par ailleurs, dans le cas d'infestation à *H. contortus* et à *T. colubriformis*, les chercheurs Australiens ont trouvé une très faible corrélation génétique avec les caractères de production, même en l'absence de l'infestation [2,43], ce qui signifie que la sélection pour la résistance à ces parasites n'entrave pas les programmes de sélection déjà en place pour l'accroissement de la production.

Programmes de sélection

La mise en évidence des taux d'héritabilité similaires à ceux connus pour les traits de production ont amené les chercheurs à mettre en place des programmes de sélection d'animaux résistants aux parasites internes. Les critères proposés pour la sélection de ces animaux ont été largement décrits par Pfister [27]. Ces critères comprennent : le comptage des œufs, le type d'hémoglobine, l'hématocrite, le bilan parasitaire, les réponses humorales et à médiation cellulaire, les pertes de production au cours des tests-infection.

Par ailleurs, Windon [42] avait mené avec succès une sélection de lignées de moutons résistants à *T. colubriformis*, sur la base de leur réponse à la vaccination. Un certain nombre de programmes de sélection ont été mis en place avec succès en Australie, en Nouvelle Zélande et en France sur la base de l'analyse coprologique (comptage des œufs) et la détermination de l'hématocrite. Les races qui ont fait l'objet d'une sélection pour leur résistance aux parasites internes, notamment *Haemonchus contortus* et *Trichostrongylus colubriformis*, sont : le Merinos [1,11,23,42,44], le Romney [5], le Perendale [38] et le Romanov [18]. Du point de vue intérêt économique, Piper and Barger [28] ont estimé que la mise en place d'un programme de sélection permet d'améliorer le gain moyen de 10%, environ, par an et par exploitation.

Nature et mécanisme de la résistance

Plusieurs hypothèses ont été avancées dans la recherche des mécanismes de la résistance des animaux aux parasites internes qui demeure jusqu'ici assez mal comprise. Quel que soit le mécanisme impliqué, il a été établi que cette résistance est génétiquement dépendante et que les réactions immunologiques semblent jouer un rôle déterminant dans son expression. Il a été démontré que les animaux résistants ont la capacité de montrer une réponse plus rapide aux parasites que les sujets susceptibles. La réaction de l'hôte résistant se traduit par un taux assez élevé d'élimination des vers (il a été observé un taux

d'établissement des parasites chez l'hôte de 0,05 pour les sujets résistants et 0,61 pour les sujets susceptibles) accompagné par des réactions immunologiques spécifiques et non spécifiques. L'examen du rôle des cellules T dans le contrôle de la réponse immunitaire aux parasites a été l'objet de recherches intenses. Gray and Gill [15] ont passé en revue l'état actuel de nos connaissances dans la recherche du ou des mécanismes de résistance aux parasites gastro-intestinaux. Il a été démontré par plusieurs auteurs que les lymphocytes T sont largement impliqués dans les réactions immunitaires observées. Par ailleurs, des antigènes de ces lymphocytes ont été identifiés comme marqueurs génétiques et ont fait l'objet d'utilisation dans la sélection des individus résistants [12,26].

Rôle de la biotechnologie dans l'étude de la résistance génétique aux maladies

La biotechnologie pourrait jouer un rôle déterminant dans :

- l'identification des races résistantes par l'amélioration des méthodes existantes de diagnostic à travers l'utilisation des épreuves sérologiques telles que l'ELISA;
- l'isolement, la purification et la caractérisation des antigènes des parasites pour améliorer la spécificité et la sensibilité de ces tests et le développement de vaccins synthétiques ou même biologiques;
- l'identification des marqueurs génétiques, par l'utilisation de la sonde nucléique de l'ADN permettra de sélectionner les animaux résistants même en l'absence de la maladie;
- la recherche d'une meilleure définition du mécanisme de la résistance (immunité humorale ou cellulaire, rôle des macrophages et éosinophiles).

Perspectives pour le continent africain

Le continent Africain offre, du point de vue ressources naturelles, une diversité génétique importante et un nombre important de races bovines, ovines et caprines. Dans la plupart des régions, ces races ont été soumises, durant des siècles à des taux d'infestation parasitaires élevés, compte tenu des conditions favorables au développement et à la survie des parasites, du type de système de production (extensif), du fait que les animaux font rarement l'objet de déparasitage interne, du faible revenu de l'éleveur. Ces éléments ont probablement contribué à l'émergence de races ou d'individus résistants aux parasites internes. L'exemple du Red Massai au Kenya (jusqu'ici la seule race Africaine confirmée [7]) en est une bonne illustration. Par ailleurs, et comme nous venons de le souligner plus haut, des critères d'identification d'individus résistants relativement simples (comptages des œufs) et très peu coûteux sont disponibles. Il est donc possible d'envisager un programme de caractérisation des races ovines africaines, quant à leur résistance génétique aux parasites internes, et qui pourrait aboutir éventuellement à la mise en place d'un programme de sélection. C'est ainsi que le CIPEA a initié un programme multi-disciplinaire à long terme sur la recherche de la résistance/tolérance des petits ruminants aux parasites gastro-intestinaux. Ce programme qui comporte deux phases (identification des races résistantes et étude du mécanisme de la résistance) est en cours en Ethiopie, au Kenya et au Sénégal.

Les objectifs de cette recherche visent à déterminer et à comparer la variation génétique dans la résistance aux parasites internes entre les races et au sein de la même race de moutons et de chèvres. Il est également possible d'étendre ces activités à d'autres maladies économiquement importantes, en tenant compte des paramètres de production tels que la croissance, la reproduction et la mortalité. Les races ovines actuellement concernées par cette étude sont le Red Massai, le Dorper, le Red Massai x Dorper au Kenya; le Menz et le Horro en Ethiopie; le Djallonké et le Peulh-Peulh au Sénégal. Les races caprines sont le Galla, le East African, le Kenya dual Purpose au Kenya; la race naine de l'Afrique de l'Ouest et le type Sahélien au Sénégal.

Références

1. Akerejola O. O., Schillhorn van Veen T.W., Njoku C.O. (1979). Ovine and caprine diseases in Nigeria : a review of economic losses. *Bull Anim Hlth Prod Afr* ; 27 : 65-70.
2. Albers G.A.A., Gray G.D., Piper L.R., Barker J.S.F., LeJambre L.F., Barger I.A. (1987). The genetics of resistance and resilience to *Haemonchus contortus* infection in young Merino sheep. *Int J Parasitol* ; 17 : 1355-1363.
3. Allonby E. W. (1975). Annual report of the sheep and goat development Project, Kenya.
4. Assouku R.K.G. (1981). Parasitic helminths of sheep and goats in Ghana. *Bull Anim Hlth. Prod Afr* ; 29 : 1-10.
5. Baker R.L., Watson T.G., Bisset S.A., Vlassoff A., Douch PG. (1991). Breeding sheep in New Zealand for resistance to internal parasites : Research results and commercial application. In : Gray G.D., Woolaston R.R. eds; *Breeding for disease Resistance in Sheep*. Aust Wool Corporation, Melbourne : 19-32.
6. Baker R.L., Lahlou-Kassi A., Rege J.E.O., Reynolds L., Tekelye B., Mukassa-Mugerwa E., Rey B. (1992). A review of genetic resistance to endoparasites in small ruminants and outline of ILCA's research programme in this area. Proceedings of the 10th Scientific Workshop of the Small Ruminant Collaborative Research Support Program (SR-CRSP), 26-27 February, 1992, Nairobi, Kenya : 79-104
7. Baker R.L., Reynolds L., Mwomachi D.M., Ouma J., Mogodi M., Miller J.E. (1993). Genetic resistance to gastro-intestinal parasites in Dorper and Red Massai x Dorper lambs in coastal Kenya. Proceedings of the 11th SR-CRSP Scientific Workshop, 3-4 March, 1993, Nairobi, Kenya.
8. Bisset S.A., Vlassoff A., Morris C.A., Southey B.R., Baker R.L., Parker A.G.H. (1992). Heritability of, and genetic correlations among, faecal egg counts and productivity traits in Romney sheep. New Zealand. *J Agri Res* ; 35 : 51-58.
9. Brunson R.V. (1988). The economic impact of nematode infection in sheep : implications for future research and control. In : A.C.G. Heath ed. *The economic importance of parasites of livestock in New Zealand*, New Zealand Society for Parasitol., miscellaneous publications no. 1 : 4-16
10. Cabaret J., Anjorand N. (1984). Comparaison de l'infestation naturelle par les strongles et *Monezia* sp. chez les races caprines Alpine et Saanen. *Bull Soc Fran Parasitol* ; 2 : 49-52.
11. Cummings L.J., Thompson R.L., Yong W.K., Riffki, G.G., Goddard M.E., Callinon A.P.L., Saunders, M.J. (1991). Genetics of Ostertagia selection lines. In : Gray G.D., Woolaston R.R. eds. *Breeding for Disease Resistance in Sheep*. Australian Wool Corporation, Melbourne : 11-18.
12. Douch P.G.C., Outteridge P.M. (1989). The relationship between ovine lymphocyte antigen and parasitological and production parameters in Romney sheep. *Int J Parasitol* ; 19 : 35-41.
13. Emik L.O. (1949). The effects of environmental and heredity factors on trichostrongylid worm

- infestation in sheep. *J Anim Sc* ; 8 : 73-80.
14. Gill H.S., Watson D.L., Brandon M.R. (1993). Monoclonal antibody to CD4+ T cells abrogates genetic resistance to *Haemonchus contortus* in sheep. *Immunology* ; 78 : 43-49
15. Gray D.G., Gill H.S. (1993). Host genes, parasites and parasitic infections. *Int J Parasitol* ; 23 (4) : 485-494.
16. Gregory P. W. (1937). The possibility of establishing within breed lines of sheep that are genetically resistant to stomach worm. *Am Soc Anim Prod* : 316-324.
17. Gregory P.O., Miller R.F., Stewart, M.A. (1940). An analysis of environmental and genetic factors influencing stomach worm infestations in sheep. *J. Genet* ; 39 : 391-400.
18. Gruner L. (1991). Breeding for helminth resistance in sheep and goats. In : Axford R.F.E., J.B. Owen eds. *Breeding for Diseases Resistance in faem Animals*. CAB International, Wallingford, U.K. : 187-200.
19. Gruner L., Cabaret J., Sauve C., Pailhovies R. (1986). Comparative susceptibility of Romalnov and Lacaune sheep to gastro-intestinal nematodes and small lungworms. *Vet Parasitol* ; 19 : 85-93.
20. Gruner L., Cabaret J., Bouix J., Molenat G. (1987). Comparative susceptibility of Merinos and Romanov sheep to different helminth parasites. In : proceeding of 12th Conf of the World Assoc for the Adv of Vet Par 12-15 July 1987, Montreal Canada - McGill Univ., Montreal, Canada 57p.
21. ILCA. (1991). Resistance to endoparasites in Small Ruminants - Proceeding of the Research Planning Workshop - Addis Ababa Ethiopia. 5-7 Feb.
22. Jilek A.F., Bradley R.E. (1969). Haemoglobin types and resistance to *Haemonchus contortus*. *Amer J Vet Res* ; 30 : 1773-1778.
23. Karlsson L.J.E., Macleod I.M., Leelawardana D.H., Sissoev K., Simmons J. (1991). Selection for nematode resistance in sheep in the Australian Mediterranean climate zone. In : Gray G.D., Woolaston R.R. eds. *Breeding for disease resistance in Sheep*. Australian Wool Corporation, Melbourne : 131-1389.
24. Loggins P.E., Swanson L.E., Koger M. (1965). Parasite levels in sheep as affected by heredity. *J Anim Sc* ; 24 : 286-287.
25. Mitchell G.F. (1979). Responses to infection with metazoan and protozoan parasites in mice. *Adv Immunol* ; 28 : 451-511.
26. Outteridge P.M., Windon R.G., Dineen J.K. (1988). An ovine lymphocyte antigen marker for acquired resistance to *Trichostrongylus colubriformis*. *Int J Parasitol* ; 18 : 853-858.
27. Pfister K. (1991). Genetic resistance to helminth infections in indigenous breeds of livestock. How could this be exploited ? In : *Expert Consultation on Helminth Infections of Livestock in Developing Countries*. FAO, Rome, Italy.
28. Piper L.R., Barger, I.A. (1988). Resistance to gastro-intestinal strongles : faisibility of a breeding programme. In : Proceedings 3e World Congress Sheep and Beef cattle breeding, INRA, Paris 1 : 593-611.
29. Piper L.R., LeJambre L.F., Southcott W.H., Chang T.S. (1978). Natural worm burden in Dorset Horn, Merino and Corriedale weaners and their crosses. *Aust Soc Anim Prod* ; 12 : 276.
30. Preston J.M., Allonby, E.W. (1978). The influence of breed on the susceptibility of sheep and goats to a single experimental infection with *Haemonchus contortus*. *Vet Rec* ; 103 : 509-512.
31. Richard S. (1988). Parasitisme helminthique des caprins : susceptibilité comparée des races Alpine et Saanen. Thèse Université de Tours. 104p.
32. Richard S., Cabaret J., Cabourg C. (1990). Genetic and environment factors associated with nematode infection of dairy goats in Northwestern France. *Vet Parasitol* ; 36 : 237-243.
33. Rohrer G.A., Taylor J.F., Davis S.K., Waruiru R.M., Ruvuna F., Mwandotto B.A.J., McGuire T., Rurangirwa, F. (1991). The use of randomly amplified polymorphic DNA markers in analysis of susceptibility to *Haemonchus* and *Coccidia*. Proceedings of the 9th Scientific Workshop of the Small Ruminant Collaborative Research Support Program pp 71-85.

34. Shavulimo R.S., Rurangirwa F., James A.D., Ellis P.R., McGuire T. (1988). Genetic resistance to gastro-intestinal nematodes, with special reference to *Haemonchus contortus*, in three breeds of goats in Kenya. *Bull Anim Hlth Prod Afr* ; 36 : 233-241.
35. Stewart M.A., Miller R.F., Douglas J.R. (1937). Resistance of sheep of different breeds to infestation by *Ostertagia circumcincta*. *J Agric Res* ; 55 : 923-930.
36. Wakelin D. (1988). Helminth infections. In : Wakelin D., Blackwell J.M eds. *Genetics of resistance to bacterial and parasitic infections*. Taylor & Francis, London : 153-22
37. Warnick B.L., Berry R.P., Turk R.D., Morgan, C.O. (1949). Selection of sheep and goats for resistance to stomach worms, *Haemonchus contortus*. *J Anim Sc* ; 8 : 609-610.
38. Watson T.G., Hoskin, B.C. (1992). Developments in breeding Perendale sheep with resistance or susceptibility to internal parasites following artificial infection. *New Zeal Soc Anim Prod* ; 52 : in press.
39. Watson T.G., Baker L.R., Harvey, T.G. (1986). Genetic variation in resistance or tolerance to internal parasites in strains of sheep at Rotomahana. *New Zeal Soc Anim Prod* ; 46 : 23-26.
40. Whitlock J.H. (1955). A study of the inheritance of resistance to trichostrongylosis in sheep. *Corn Vet* ; 45 : 422-439.
41. Whitlock J.H. (1958). The inheritance of resistance to trichostrongylosis in sheep. I. Demonstration of the validity of the phenomenon. *Corn Vet* ; 48 : 127-133.
42. Windon R.G. (1991). Resistance mechanisms in the *Trichostrongylus* selection flock. In : G.D. Gray, R.R. Woolaston eds. *Breedings for Disease Resistance*. Australian Wool Corporation, Melbourne : 77-86.
43. Windon R.G., Dineen J.K. (1984). Parasitological and immunological competence of lambs selected for high and low responsiveness to vaccination with irradiated *Trichostrongylus colubriformis* larvae. In : Dineen J.K., Outteridge P.M. eds. *Immunogenetic Approaches to the Control of Endoparasites*, CSIRO, Melbourne : 11-18.
44. Woolaston R.R., Barger I.A., Piper L.R. (1990). Response to helminth infection of sheep selected for resistance to *Haemonchus contortus*. *Int J Parasitol* ; 20 : 1015-1018.
45. Zajac A.M., Herd R.P., McClure K.E. (1988). Trichostrongylid parasite populations in pregnant or lactating and unmated Florida native and Dorset Rambouillet ewes. *Int J Parasitol* ; 18 : 981-985.

30

Résistance génétique à la coudriose

L. PEPIN***, J.C MAILLARD*, G. RUFF***, D. VAIMAN**, S. KEMP****,
E. CAMUS*, A. BENSARD*

* EMVT-CIRAD, Maisons-Alfort, France;

Mission Antilles Guyane, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe.

** INRA, Laboratoire de GénétiqueBiochimique, Jouy en Josas, France.

*** Université de Berne, Ecole Vétérinaire, Berne, Suisse.

****ILRAD, Nairobi, Kenya.

Les méthodes d'étude du génome

Depuis ces dix dernières années la génétique moléculaire des mammifères a connu un essor considérable. Les techniques d'exploration des génomes se sont améliorées et de nouvelles techniques, telles que l'amplification en chaîne de la polymérase (APC), sont venues compléter la palette des outils de la biologie moléculaire. Néanmoins toutes ces nouvelles connaissances n'ont pas bouleversé les règles fondamentales de la génétique mendélienne. C'est en effet sur le principe de base de la ségrégation des caractères, défini par Mendel, que la plupart des recherches en génétique se poursuivent. Ce qui a profondément changé c'est la vitesse à laquelle la molécule d'ADN, support de l'hérédité, est décryptée. Si, pour des raisons pratiques évidentes, le modèle souris est privilégié, il n'en demeure pas moins qu'un effort considérable au niveau international a été fourni pour élucider la cartographie du génome humain. Avec des moyens plus modestes, la carte génétique des ruminants d'intérêt économique a été entreprise. En raison de la valeur économique et sociale du bovin, la cartographie du génome bovin a été privilégiée, néan-

moins, des projets sur le génome des ovins et des caprins sont aussi en cours. Du fait que les petits ruminants sont phylogénétiquement proches du bovin, la stratégie d'étude sur les petits ruminants, et en particulier les caprins, est d'utiliser les outils et réactifs obtenus sur le bovin. Cette approche permet d'établir de manière synchrone une cartographie comparée du génome des ruminants, laquelle est comparée aux cartes génétiques humaines et murines. D'ici l'an 2000, les cartes génétiques seront complétées à un point tel qu'il sera possible d'établir un arbre généalogique de l'évolution des mammifères, basé sur la molécule d'ADN.

La ségrégation des gènes et la notion de marqueur

La fonction de beaucoup de gènes connus à ce jour reste encore évasive et les interactions entre gènes, qui conditionnent les grandes fonctions physiologiques d'un organisme, sont loin d'être élucidées. Ainsi, il est encore impossible d'assigner certains caractères donnés (poids, production laitière, résistance ou sensibilité à une maladie...) à l'action d'un ou plusieurs gènes. Si la différence de certains caractères entre animaux d'une même espèce peuvent être attribués à la différence de séquences entre gènes homologues, la plupart des caractères sont le résultat d'une cascade de régulations géniques, faisant intervenir à la fois des régions codantes et non-codantes. De plus les gènes et les séquences régulatrices de ces gènes, conditionnant un caractère donné, ne sont pas portés par un même chromosome. Il paraît donc indispensable, lors d'études génétiques sur des caractères dont le nombre de gènes impliqués est inconnu, d'établir l'héritabilité des caractères. La constitution de familles informatives est un point crucial quant à l'étude de l'héritabilité des caractères, et du choix des géniteurs dépendra le résultat final. Il est maintenant bien admis qu'il y a tout intérêt à constituer des couples dont le mâle et la femelle sont extrêmes vis-à-vis du caractère étudié. Cette approche ne se fait pas sans problèmes, lorsque le caractère étudié est la résistance à une maladie mortelle. En effet, à moins que les expérimentateurs aient recours à des méthodes d'insémination artificielle, ou à des partages d'embryons, les géniteurs portant réellement le caractère de sensibilité à la maladie ne peuvent être identifiés qu'après l'épreuve. Le deuxième problème, et qui concerne plus particulièrement les ruminants, est lié au faible nombre d'animaux obtenus lors d'une portée. Ainsi, il est souvent nécessaire de réaliser deux accouplements successifs, en utilisant les mêmes couples mâle et femelle, afin d'obtenir un nombre suffisant de F1. La détermination du nombre de F1 est directement influencée par le degré d'hétérozygotie des géniteurs et par le nombre de chromosomes que possède l'espèce étudiée. Les ruminants comptent une trentaine de paires autosomiques de chromosomes. Il en résulte que toute étude doit se faire sur un nombre élevé de F1, de manière à suivre la ségrégation de chacun des chromosomes appartenant aux géniteurs. Comme conséquence, la détermination de la formule génétique de chaque individu entrant dans le plan d'expérimentation est cruciale. Pour être suivi, chaque chromosome doit être identifié par des marqueurs.

Un marqueur génétique est une zone chromosomique bien déterminée variant d'un animal à un autre; par ailleurs un marqueur génétique peut être le produit d'un gène à condition qu'il varie d'un animal à un autre. Donc les deux critères principaux définissant un bon marqueur sont sa capacité à ségréger de façon mendélienne et son polymorphisme. Avec 200 marqueurs polymorphiques équidistants, une carte génétique à 20cM pourrait être réalisée chez les ruminants. A l'heure actuelle, plus de 250 marqueurs sont connus chez

les ruminants et, grâce aux techniques décrites dans les paragraphes suivants, une première carte génétique entière du bovin est sur le point d'être réalisée.

Les outils sérologiques classiques

Très utilisés à l'époque où les chercheurs n'avaient pas directement accès à la molécule d'ADN, les outils sérologiques sont encore très utilisés de nos jours. Ainsi, le typage des groupes sanguins chez les ruminants est un excellent indicateur du degré d'hétérozygotie, car ils sont contrôlés par de multiples loci et sont très polymorphes. Le typage des molécules de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité s'effectue toujours grâce à la méthode de microcytotoxicité et 55 allèles distribués entre les loci A et B ont été identifiés. La sérologie pour le typage des antigènes de classe II est beaucoup plus ardue, à cause du manque de réactifs monospécifiques, mais cette méthode tend à être substituée par l'ACP. Comparées aux groupes sanguins et au complexe majeur d'histocompatibilité, les protéines sériques, telles que l'albumine ou la transferrine, ont un polymorphisme plus modeste chez le bovin et il est très réduit chez la chèvre. Avec les nouvelles techniques de biologie moléculaire, les méthodes sérologiques sont de plus en plus délaissées.

Les outils issus de la génétique moléculaire

L'hybridation in situ de chromosomes

Parce que la plupart des gènes de mammifères montrent une grande homologie de séquence entre eux, il a été possible de cloner beaucoup de gènes de ruminants, en utilisant comme sonde les gènes homologues appartenant à des espèces différentes. Pour la cartographie des ruminants, ces gènes clonés ont été utilisés comme sonde dans des expériences d'hybridation *in situ* sur des chromosomes. Ceci a permis de localiser, sur les trente chromosomes que compte l'espèce bovine, plus de 100 gènes. L'identification des chromosomes bovins n'est pas facile car la plupart d'entre eux ont la même taille et sont acrocentriques. Des techniques de coloration sont nécessaires pour pouvoir les distinguer.

Actuellement, les gènes à assigner sur un chromosome sont marqués par un fluorochrome et la révélation de l'hybridation se fait sous microscope à fluorescence.

Les hybrides somatiques

Quand des cellules tumorales de hamster sont fusionnées avec des lymphocytes de bovins, il se forme un hybride. Le matériel génétique bovin est par la suite préférentiellement expulsé. Quand les hybrides se stabilisent après quelques divisions, un grand nombre d'hybrides possèdent un ou un nombre limité de chromosomes bovins distribués de manière aléatoire. Après clonage, une collection d'hybrides est obtenue, représentative du génome bovin. De l'ADN est purifié de chaque hybride ainsi que de la lignée tumorale parentale. Après digestion enzymatique de l'ADN, migration sur gel d'agarose et transfert sur membrane, un gène marqué est hybridé. Les hybrides révélés positifs sont identifiés puis un deuxième gène marqué est hybridé. Si des signaux positifs avec les deux gènes testés sont obtenus sur les mêmes clones, on considère que les gènes en question sont en syntenie, et avec une probabilité non négligeable d'être portés sur le même chromosome. Ainsi, 27 groupes de syntenie ont été réalisés et nommés de U1 à U27. L'alternative à l'hybrida-

tion est de disposer d'amorces nucléotidiques synthétiques flanquant la totalité ou une partie de la région génétique à cartographier, et d'effectuer sur les ADN des hybrides une ACP. Les produits d'amplification sont repérés après électrophorèse. La seule restriction à cette technique, beaucoup plus rapide que l'hybridation par sonde, est que les amorces utilisées ne doivent pas hybrider avec l'ADN de hamster. Grâce à cette méthode, de très nombreux marqueurs ont été assignés à un groupe de syngénie. Néanmoins, cette technique ne détermine pas l'ordre des marqueurs par rapport au chromosome; seule la technique d'hybridation *in situ* permet de répondre à cette question.

Les microsatellites

Les microsatellites sont des séquences simples répétées de di ou tri nucléotides, réparties de manière uniforme le long du génome. Leur nombre est estimé à plus de 10 000 et leur caractéristique principale est d'être variables d'un individu à l'autre. Flanqués de séquences uniques dans le génome, ces microsatellites sont d'excellents marqueurs génétiques. La détection de macrosatellites s'effectue en criblant une librairie génomique à l'aide d'oligonucléotides synthétiques, (GT)₁₂₋₁₈. En moyenne, les fragments génomiques insérés dans un plasmide ont une taille de 500 à 1000 pb, ce qui permet de séquencer les clones positifs et de repérer les séquences qui flanquent les microsatellites. A partir de ces séquences, des amorces sont synthétisées puis utilisées sur de l'ADN des individus à typer à l'aide de l'ACP. Le degré de polymorphisme des produits amplifiés est évalué par gel d'agarose, ou en gel de polyacrylamide dénaturant, si la résolution est souhaitée à la base près. Par le degré de polymorphisme détecté, ce type de marqueurs est désormais très employé en génétique des ruminants. Plus de 250 microsatellites ont été caractérisés chez le bovin et nombre d'entre eux assignés, soit à un groupe de syngénie, soit à une position donnée sur un chromosome. A l'heure actuelle, ces microsatellites constituent l'outil privilégié pour la cartographie des génomes et la détection de polymorphismes. L'utilisation d'amorces dérivées des séquences bovines sur de l'ADN de chèvre a permis de déterminer si les outils développés dans une espèce de ruminants pouvaient être appliqués sur une autre. Sur soixante microsatellites bovins, 24 se sont révélés pleinement exploitables sur le système caprin. En effet, ces microsatellites sont polymorphiques (3 allèles et plus) sur plusieurs races caprines et ségrègent de manière mendélienne. Les séquences caprines se trouvant entre les amorces et les microsatellites ont été déterminées et comparées avec des séquences bovines équivalentes. A part quelques substitutions ponctuelles de nucléotides, ces séquences sont identiques entre le caprin et le bovin. Ces résultats suggèrent que la position de ces microsatellites est conservée entre bovins et caprins et que, par conséquent, 40% des microsatellites identifiés à l'origine chez le bovin pourront servir de marqueurs chez le caprin.

En conclusion, l'étude fondamentale du génome des ruminants est une aire de recherche très active et en constant progrès. Si la plupart des efforts sont dirigés pour l'étude du génome bovin, une grande partie des marqueurs bovins sont directement exploitables sur d'autres ruminants. L'avantage certain de travailler sur les petits ruminants est essentiellement lié à la possibilité d'obtenir de 2 à 3 générations tous les 2 ans. Cette propriété des petits ruminants facilite les études d'héritabilité des caractères.

La cowdriose

La pathologie

Cowdria ruminantium est une bactérie transmise par des tiques en particulier du genre *Amblyoma variegatum*. Cette bactérie est l'agent causal de la cowdriose, maladie mortelle des ruminants sensibles. *C. ruminantium* est un organisme intracellulaire obligé ayant un tropisme très marqué pour les neutrophiles et pour les cellules endothéliales de capillaires cérébraux. Il est à noter qu'*in vivo* la bactérie ne se développe pas dans les neutrophiles. Cette maladie existe dans presque toute l'Afrique subsaharienne, Madagascar et la Guadeloupe, où elle a été importée avec le bétail des esclaves africains.

Après piqûre de la tique, les premiers symptômes apparaissent en l'espace de 2 à 3 semaines. Ces symptômes sont d'abord de la fièvre (40 à 42°C), pouvant persister jusqu'à une semaine, puis des torticolis suivis de mouvements désordonnés. Le stade final se traduit par des pédalages de l'animal qui a de très fortes difficultés à respirer. L'autopsie révèle un hydropéricarde et un hydrothorax. Très souvent, des splénomégalias, ainsi que des infiltrations au niveau du cerveau, sont constatées. Cette symptomatologie ne va pas sans rappeler des processus inflammatoires, en particulier en ce qui concerne le passage des fluides au travers de l'endothélium.

Des études récentes menées *in vitro* sur des cellules endothéliales de capillaires cérébraux, ainsi que sur des cellules endothéliales jugulaires ont montré que, suite à une infection par *Cowdria* des interleukines 1, 6 et 8 sont induites. Ces interleukines sont bien connues pour induire des inflammations et ont été impliquées lors de phénomènes immunopathologiques liés à des infections bactériennes. Néanmoins, une cowdriose ne s'accompagne pas d'une bactériémie importante au niveau du sang circulant et la plupart des souches ne donnent que des infections discrètes au niveau de l'endothélium cérébral. Ainsi, il semble bien que la pathologie de cette maladie soit due à un dérèglement de la physiologie de l'animal qui n'irait qu'en s'amplifiant plutôt qu'à la prolifération et au dommage provoqué par la bactérie elle-même.

Résistance à la cowdriose

Observations de terrain

L'existence de maladies a été bien souvent constatée en introduisant des populations d'animaux exotiques dans des zones d'élevage traditionnelles où une population autochtone de ruminants ne montre pas de signes pathologiques apparents. Ainsi la cowdriose est le plus souvent mortelle pour des ruminants n'ayant jamais été en contact avec la bactérie. Par contre, là où la cowdriose sévit de manière endémique, certaines populations de ruminants ne sont pas atteintes par cette maladie. Ce phénomène semble plus lié au caractère de certains troupeaux plutôt qu'à la race. Cette apparente résistance à la cowdriose semble être le fruit d'une longue sélection. La possibilité d'un transfert d'immunité passive par la mère a été exclue, ainsi que les phénomènes de prémunité chez le très jeune animal.

En Guadeloupe, la cowdriose n'a été diagnostiquée qu'en 1980 bien que cette maladie ait été introduite au dix-huitième siècle. Comme en Afrique, ce sont les races européennes ou croisées qui sont indicatrices de la présence de la maladie. Par contre la race bovine

créole est parfaitement résistante à la cowdriose. Cette race, bien adaptée à son environnement, est le résultat de croisements entre taurins et zébus importés d'Afrique de l'ouest. La chèvre créole est par contre moins résistante à la cowdriose car dans les zones endémiques il a été estimé que 10% des pertes sont dues à la cowdriose.

Les premières données expérimentales

Basée sur l'hypothèse qu'une pression sélective forte devrait conduire à l'émergence d'animaux résistants à la cowdriose, une première expérience a été entreprise en Guadeloupe. Trois populations de chèvres ont été sélectionnées en fonction de la présence ou l'absence de la tique *Amblyoma*. Les chèvres, en provenance de la ferme de Gardel, zone endémique où sévit la cowdriose, ont servi à constituer un troupeau à la ferme de Duclos. Cette population de Duclos a évolué pendant 20 ans dans un environnement sans tique. La troisième population est issue de l'île des Saintes où la tique *Amblyoma* n'a jamais été introduite. Les chèvres des Saintes sont de race créole et ont été introduites sur cette île il y a 200 ans. Les effectifs étaient de 85, 90 et 36 chèvres pour les populations des Saintes, Duclos et Gardel respectivement. Après épreuve, les taux de mortalité enregistrés étaient de 25% pour la population Gardel, 55% pour la population Duclos et 75% pour la population des Saintes. Les filiations ayant été enregistrées pour les populations de Gardel et de Duclos, un "effet père" associé à la survie après épreuve a été constaté (Matheron *et al.*, 1987). Ces expériences suggéraient qu'une partie de la population de chèvres créoles est résistante à la cowdriose et que l'héritabilité de ce caractère dépendait en partie du père.

Nouvelles données expérimentales

A la lumière des résultats précédents, une étude plus approfondie sur l'héritabilité et la dilution du caractère de résistance à la cowdriose s'imposait. Mâles et femelles résistants des manipulations précédentes ont été sélectionnés de manière à créer des familles. Egalement des chèvres supposées sensibles à la cowdriose ont été importées des Saintes. Ainsi 4 familles ont été constituées suivant le Tableau I.

Tableau I. Constitution de 4 familles de chèvres supposées sensibles à la cowdriose.

Mâle	R1	R2	S1	S2
Femelle	8R	10S	13R	10S
F1	4/9	4/6	4/18	9/15
Mortalité	55%	71%	22%	53%

Après épreuve par tiques infectées, les animaux F1 issus de pères "sensibles" se montrent plus résistants que les F1 issus de pères résistants. Bien que surprenants ces résultats ne sont pas encore conclusifs. En effet, une nouvelle portée obtenue en gardant la même structure de familles devrait être mise à l'épreuve dans le futur, ainsi que les progéniteurs "sensibles". Ainsi, les effectifs des F1 seront supérieurs à 100, et donc suffisants pour faire une étude d'héritabilité. Sur tous ces animaux, des typages de groupes sanguins et du complexe majeur d'histocompatibilité ont été effectués. De plus de l'ADN a été purifié

sur tous ces animaux et les microsatellites exploitables sur chèvre sont en cours d'utilisation. Le but ultime de ces analyses génétiques est de trouver un ou plusieurs marqueurs qui corrélerent avec le caractère de résistance ou de susceptibilité à la cowdriose.

Discussion et conclusion

Si les observations faites sur les population de ruminants dans leur environnement naturel indiquent qu'il y a une résistance à la cowdriose, les dernières données expérimentales, essayant d'étudier l'hérédité de ce caractère, se sont montrées décevantes. Néanmoins, ces résultats ne sont encore que parcellaires et incomplets. En effet le nombre de F1 testé n'est pas encore suffisant pour conclure et, d'autre part, un animal sensible n'est reconnu tel qu'après épreuve. Il faut aussi souligner que la terminologie "sensible" ou "résistant" désigne des animaux qui survivent ou meurent.. La grande majorité des animaux qui survivent à la maladie subissent un accès fébrile et présentent des symptômes presque aussi importants que les animaux qui meurent. Par contre, chez le bovin, le caractère de résistance est souvent plus tranché dans la mesure où les symptômes sont presque inexistantes. Il en découle que l'espèce caprine n'est peut-être pas le bon modèle expérimental pour étudier la résistance génétique à la cowdriose. A l'heure actuelle, les études sur bovin sont rendues très difficiles à cause de la lourde charge économique qu'ils font peser sur les laboratoires de recherche et du temps de génération qui est long. La deuxième critique concerne le mode d'épreuve. Bien que se rapprochant de la réalité, l'épreuve par tique ne permet pas de certifier que chaque animal a reçu la même dose de *Cowdria*. De plus, le nombre de tiques gorgées récoltées après la dépose varie fortement d'un animal à un autre (2 à 18 tiques gorgées pour une dépose de 20 tiques) ce qui indique que chaque animal a reçu une dose infectante différente. Néanmoins, le fait que des animaux, sur lesquels seulement 2 tiques gorgées aient été retrouvées, soient morts de cowdriose, indique que la grande majorité des tiques étaient infectantes et donc, que les chèvres ont subi une épreuve sévère. Une épreuve par injection par voie intraveineuse de *Cowdria* cultivées *in vitro* permettrait d'administrer la même dose à chaque animal.

Bibliographie

Les ouvrages de synthèse cités après englobent toutes les données techniques et expérimentales évoquées dans cet exposé

1. Camus E. (1989). Etude épidémiologique de la cowdriose à *Cowdria ruminantium* en Guadeloupe. Etudes et synthèses de l'IEMVT, EMVT-CIRAD ed, Maisons-Alfort, France.
2. Fries A., Eggen A., Womack J.E. (1993). The bovine genome map. *Mammalian Genome* ; 4 : 405-428.
3. Scook L.B., Lewin H.A., McLaren D.G. (1991). *gene mapping : techniques and applications*. New-York : Marcel Dekker, Inc.

31

L'utilisation du test de détection des antigènes trypanosomiens pour l'amélioration génétique du bétail trypanotolérant

G. d'IETEREN

Centre International pour l'Elevage en Afrique, Nairobi, Kenya.

La caractérisation du bétail trypanotolérant débute à la fin des années 1970, lorsque le CIPEA, l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) et le Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE), travaillèrent avec des chercheurs de 18 pays d'Afrique occidentale et centrale pour évaluer les relations existantes entre le risque trypanosomien et les performances animales [1]. En utilisant toutes les informations récoltées dans le passé, par plusieurs projets basés dans ces pays, des relations nettes entre le niveau de risque et les performance animales ont été mises en évidence.

Au cours des années 1980, la plupart des travaux ont porté sur la race N'Dama qui était considérée alors comme la race trypanotolérante la plus importante. Dans plusieurs pays d'Afrique occidentale et centrale, beaucoup d'études furent réalisées au sein du Réseau Africain sur le Bétail Trypanotolérant par des chercheurs nationaux. Ces travaux ont confirmé que la possibilité de contrôler à la fois le niveau de parasitémie et le développement de l'anémie étaient des indicateurs-clés du caractère trypanotolérant, et que ces phénomènes, bien que sous contrôle génétique, n'étaient pas nécessairement liés génétiquement l'un à l'autre [8].

Lors d'études sur le terrain, le degré d'anémie peut être facilement quantifié en mesurant l'hématocrite. Ceci a permis de progresser en établissant la relation existant entre le

contrôle du développement de l'anémie et la productivité animales [13], en mettant au point un test de terrain permettant d'évaluer l'aptitude qu'ont les jeunes mâles N'Dama de lutter contre l'anémie et de se baser sur les résultats de ce test pour choisir les animaux de remplacement [12], et en étudiant les possibilités d'une sélection génétique de la trypanotolérance basée sur la mesure de l'hématocrite [14].

Par contre, le niveau de parasitémie n'était pas si facile à évaluer car il dépendait de la mise en évidence des trypanosomes dans le sang périphérique, par des techniques d'examen parasitologiques. L'approche la plus précise sur le terrain a été la détection de trypanosomes dans le sang par la méthode du "buffy coat" [7] sur fond noir et la mesure de l'intensité de l'infection comme indicateur du niveau de parasitémie [11].

A la fin des années 80, il semble donc possible d'élaborer des programmes d'amélioration basés sur le contrôle de l'anémie par mesure de l'hématocrite au cours d'une infection, mais non par la mesure de la parasitémie à l'aide de la technique du "buffy coat" [5].

Le test de détection des antigènes pour la mesure plus précise des infections trypanosomiennes

En 1990, débutèrent des travaux de terrain utilisant un nouveau test immunologique (test ELISA), mis au point par Nantulya [10] pour la détection d'antigènes dans le cas d'infections à *Trypanosoma vivax*, *T. congolense* et *T. brucei*. Le test est basé sur la reconnaissance par des anticorps monoclonaux d'antigènes spécifiques aux trois espèces de trypanosomes. Le test ELISA s'est avéré être plus sensible que la technique du "buffy coat" pour la détection des infections dues à *T. congolense* chez les bovins [6]. En effet, cette technique ne met en évidence que les trypanosomes présents dans le sang périphérique. Leur nombre, à ce niveau, est parfois trop faible pour qu'ils puissent être détectés, bien qu'ils soient présents dans d'autres organes, tels que la rate, le foie et les nodules lymphatiques. Le test ELISA, par contre, permet de mettre en évidence les antigènes circulants libérés par les trypanosomes lysés où qu'ils soient. La sensibilité de ce test ne semble donc pas dépendre du nombre de parasites présents dans la circulation périphérique. Ce test est donc très sensible car la présence de trypanosomoses peut être détectée alors que la parasitémie ne pourrait l'être.

Une expérience préliminaire a été réalisée par le CIPEA en collaboration avec l'Office Gabonais de Promotion de la Viande (OGAPROV) [15]. Elle a porté sur 106 jeunes N'Dama exposés à un risque naturel de trypanosomose pendant 92 jours. Pendant cette période, 6 tests de détection des antigènes trypanosomiens ont pu être réalisés en moyenne (Tableau I).

Des antigènes trypanosomiens ont été détectés chez 90% des animaux détectés positifs parasitologiquement par la technique de concentration par le buffy coat. Plus important encore, des antigènes trypanosomiens ont été détectés chez 40% des animaux négatifs à l'examen parasitologique. La proportion d'animaux avec infection mixte (*T. congolense* et *T. vivax*), lors de 6 examens d'antigènes, a été de 27%, donc plus haute que les 17% d'infections mixtes détectées par l'examen microscopique. De plus si l'on observe les échantillons de sang individuellement, on trouve 13% d'infections mixtes alors qu'à l'examen microscopique ces infections mixtes sont rarement détectées. Il est donc possible que cette différence s'explique par la sensibilité différente des deux tests.

Tableau I. Parasitémie et antigénémie.

Parasitémie	Antigénémie	Animaux	
		Nombre	%
Positif	Positif	38	90
Positif	Négatif	4	10
		42	
Négatif	Positif	43	40
Négatif	Négatif	63	60
		106	

Dans un autre travail réalisé par le CIPEA en collaboration avec l'Office Gabonais de Promotion de la Viande (OGAPROV) [16], il a été possible d'évaluer les relations entre les infections trypanosomiennes mesurées par la détection des antigènes trypanosomiens, l'anémie mesurée par l'hématocrite et les performances animales mesurées par le gain quotidien moyen durant l'expérience. Dans cette expérience, 99 bovins N'Dama ont été exposés naturellement à la trypanosomiase, à un risque naturel de trypanosomose à l'âge de 11,5 mois et pour une durée de 13 semaines. Les paramètres ont été mesurés régulièrement à quatorze reprises pendant cette période [16].

Dans cette dernière expérience, approximativement la moitié des animaux ont été positifs au test de détections des antigènes lors de 5 des examens réalisés : 38% avec *Trypanosoma congolense*, 13% avec *T. vivax* et 49% avec une infection mixte. 14% des infections détectées l'étaient avec les deux espèces de trypanosomes, 9 infections mixtes.

Effets des infections à *T. congolense* sur la croissance

Une infection à *T. congolense* avait un effet significatif négatif sur la croissance alors qu'une infection à *T. vivax* n'en avait pas.

Le calcul d'une régression, chez les animaux avec infections mixtes, du gain quotidien moyen sur le nombre d'infection à *T. vivax* dans les infections mixtes a donné les valeurs suivantes : $1,0 \pm 3,3$ gr./ jour, alors que la même régression du gain sur les infections à *T. congolense* était de $-6,2 \pm 2,9$ gr./jour dans les mêmes infections mixtes. Lorsque l'effet de l'espèce de trypanosome n'était pas incluse dans le modèle, la régression du gain quotidien moyen sur le nombre total d'infection détectée donnait la valeur suivante: $-3,6 \pm 2,1$ gr./jour. Ceci démontre l'importance de l'identification de l'espèce de trypanosome infestant dans toute étude rigoureuse.

D'autres éléments déjà publiés ont été confirmés par cette expérience. Les animaux infectés le plus souvent par des *T. congolense* avaient des valeurs moyennes d'hématocrite inférieures à celles des animaux infectés le moins souvent. Les animaux capables de maintenir leur hématocrite stable, même si ils étaient détectés antigénémiques à de nombreuses occasions, grandissaient de la même façon que ceux détectés négatifs, alors que les animaux maintenant des valeurs basses pour le même nombre d'infections, avaient des performances de croissance sensiblement réduites.

Contrôle génétique du développement parasitaire

Dans la première expérience rapportée ci-dessus, il a été possible de déterminer le père de la plupart des animaux grâce à la détermination des groupes sanguins des parents et de leur progéniture. Ainsi, 79 animaux ont pu être attribués individuellement à l'un des 21 pères possibles [15].

Lorsque les animaux détectés positifs pour les antigènes, mais négatifs pour les parasites circulants sont considérés comme les plus capables de contrôler le développement des trypanosomes, et par là les plus trypanotolérants pour le critère parasitémie, un "effet taureau" significatif a été mis en évidence. Cette observation laisse à penser que cette capacité de maîtriser le développement du parasite est sous contrôle génétique, et qu'il serait donc possible de l'améliorer par la sélection (Tableau II).

Tableau II. Estimation de l'héritabilité du gain quotidien moyen et des critères de trypanotolérance mesurés par la parasitémie et par l'antigénémie combinées.*

	$h^2 \pm \text{S.E.}$
Gain quotidien moyen	0.33 ± 0.47
Hématocrite le plus bas	0.45 ± 0.48
Hématocrite moyen	0.57 ± 0.49
Contrôle de s parasites	1.08 ± 0.50

* : 79 progénitures de 21 taureaux

Il est donc clair que la détection des antigènes trypanosomiens par la technique ELISA offre une possibilité concrète et pratique de sélectionner sur la trypanotolérance en se basant sur le critère "infection trypanosomienne".

Conclusion

Les résultats de ces récents travaux [5,19] indiquent que nous aurons bientôt la possibilité d'augmenter fortement l'efficacité de la sélection du bétail trypanotolérant N'Dama en se basant sur la détection des parasites ou de leurs produits. En effet, le test ELISA de détection des antigènes trypanosomiens peut y contribuer par trois voies :

- l'identification précise de l'espèce des trypanosomes infestants particulièrement dans les infections mixtes, clarifie les liens entre infections, anémie et performance;
- la détection des animaux antigénémiques mais non parasitémiques pourrait bien permettre l'identification des animaux les plus trypanotolérants;
- la détection plus précise de la proportion de temps qu'un animal est réellement infecté permet une évaluation plus précise de sa capacité de maîtriser l'anémie [5].

Pour permettre de relier entre eux les différents paramètres mentionnés, des efforts sont déployés pour rassembler un grand nombre d'animaux sevrés de race N'Dama dans un site à risque trypanosomien au Zaïre. Nous avons à notre disposition un grand nombre de

groupes “semi-apprentés” pour réaliser le test ELISA, en plus des méthodes courantes de mesure de l’hématocrite et du “buffy coat” [20,21].

L’approche du CIPEA pour améliorer la résistance à la maladie continuera de reposer sur la génétique quantitative en incluant les résultats obtenus en biologie moléculaire (p.e. la cartographie du génome pour identifier des marqueurs génétiques de résistance....). Ces informations seront d’une valeur pratique directe utilisable pour la mise en place de programmes de sélection [3].

De cette façon, les travaux doivent pouvoir estimer de façon précise l’expression génétique des différents aspects de la trypanotolérance en vue de concevoir et d’évaluer des programmes de sélection pour la race N’Dama [5].

Un travail à grande échelle a débuté. La sélection de bovins N’Dama ayant des performances supérieures a démarré dans des régions où le risque trypanosomien varie de moyen à élevé. De plus un système informatique de gestion et d’analyse standardisés des données est à l’étude pour la sélection en ferme des bovins trypanotolérants [19,22,23].

D’autre part, dès que les premiers marqueurs d’ADN spécifiques à la race et à la résistance à la trypanosomose seront produits, leur utilité sera évaluée selon les mêmes critères que ceux utilisés pour estimer le contrôle de l’anémie et la parasitémie. La possibilité de collaboration entre le CIPEA et les Services Nationaux de Recherches Agronomiques permet la mise en place, pour un long terme, de banques de données contenant des informations clairement analysées sur les relations productivité/trypanotolérance ainsi que, pour chaque animal, du matériel génétique (DNA) et des informations sur son état de santé et ses performances [5].

Cela permettra d’évaluer l’impact des recherches des laboratoires travaillant sur l’identification de marqueurs associés à la trypanotolérance du bétail N’Dama.

Références

1. ILCA/FAO/UNEP. (1979). Trypanotolerant livestock in West and Central Africa. Monograph No. 2, International Livestock Centre for Africa, Addis Ababa, Ethiopia.
2. d’Ieteren G.D.M., Trail J.C.M. (1992). ILCA’s involvement in trypanosomiasis and trypanotolerance research. *FAO Anim Product Health Pap* ; 94 : 117-121.
3. d’Ieteren G., Trail J.C.M. (1992). Genetic improvement of trypanotolerant cattle : ILCA’s current and future plans. *Trypanotolerant Livestock, FAO Newsletter* ; 6 : 7-10.
4. d’Ieteren G.D.M.(1993). Trypanotolerant livestock, a sustainable option for increasing livestock production in tsetse affected areas. In : *Proceedings of Workshop on Towards Increased Utilisation and Adoption of Trypanotolerance. Current Status of Research and Future Directions*, ILRAD/ILCA, Nairobi, Kenya.
5. d’Ieteren G.D.M., Trail J.C.M. (1993). Field research on measurement and use of trypanotolerance criteria to enhance livestock productivity. 1. ILCA’s achievements and future plans. In : *Proceedings of Workshop on Towards IM reased Utilisation and Adoption of Trypanotolerance. Current Status of Research and Future Directions*, ILRAD/ILCA, Nairobi, Kenya.
6. Masake R. A., Nantulya V.M. (1991). Sensitivity of an antigen detection enzyme immunoassays for diagnosis of *Trypanosoma congolense* infections in goats and cattle. *J Parasitol* ; 77.
7. Murray C., Murray M., Murray P.K., Morrison W.I., Pyne C., McIntyre W.I.M. (1977). Diagnosis of African trypanosomiasis in cattle. Improved sitological and seroerological techniques. In : *International Scientific Council for Trypanosomiasis Research and Control 15th Meet. The Gambia, OAU/STRC* ; 110 : 247-254.
8. Murray M., Trail J.C.M., d’Ieteren G.D.M. (1990). Trypanotolerance in cattle and prospects for

- the control of trypanosomiasis by selective breeding. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* ; 9(2) : 369-386.
9. Nantulya V.M. (1990). Trypanosomiasis in domestic animals : the problems of diagnosis. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* ; 9(2) : 357-367.
 10. Nantulya V.M., Lindqvist K.J. (1989). Antigen-detection enzyme immunoassay for the diagnosis of *Trypanosoma vivax*, *T. congolense* and *T. brucei* infections in cattle. *Trop Med Parasitol* ; 40 : 267-272.
 11. Paris J., Murray M., McOdimba F. (1982). An evaluation of the sensitivity of current parasitological techniques for the diagnosis of bovine African trypanosomiasis. *Acta Trop* ; 39 : 307-316.
 12. Trail J.C.M., d'Ieteren G.D.M., Colardelle C., Maille J.C., Ordner G., Sauveroche B., Yangari, G. (1991). Evaluation of a field test for trypanotolerance in young N'Dama cattle. *Acta Trop* ; 48 : 47-57.
 13. Trail J.C.M., d'Ieteren G.D.M., Feron A., Kakiese O., Mulungu M., Pelo M. (1991). Effect of trypanosome infection, control of parasitaemia and control of anaemia development on productivity of N'Dama cattle. *Acta Trop* ; 48 : 37-45.
 14. Trail J.C.M., d'Ieteren G.D.M., Maille J.C., Yangari G. (1991). Genetic aspects of control of anaemia development in trypanotolerant N'Dama cattle. *Acta Trop* ; 48 : 285-291.
 15. Trail J.C.M., d'Ieteren G.D.M., Maille J.C., Yangari G., Nantulya V.M. (1992). Use of antigen-detection enzyme immunoassays in assessment of trypanotolerance in N'Dama cattle. *Acta Trop* ; 50 : 11-18.
 16. Trail J.C.M., d'Ieteren G.D.M., Viviani P., Yangari G., Nantulya V.M. (1992). Relationships between trypanosome infection measured by antigen detection enzyme immunoassays, anaemia and growth in trypanotolerant N'Dama cattle. *Vet Parasitol* ; 42 : 213-223.
 17. Trail J.C.M., d'Ieteren G.D.M., Murray M., Ordner G., Yangari G., Maille J.C., Viviani P., Colardelle C., Sauveroche, B. (1993). Measurement of trypanotolerance criteria and their effect on reproductive performance of N'Dama cattle. *Vet Parasitol* ; 45 : 241-255.
 18. Trail J.C.M., d'Ieteren G.D.M. (1992). Phenotypic and genetic parameter estimates of factors related to the performance of trypanotolerant livestock. FAO Animal Production and Health paper ; 94 : 6-19.
 19. Trail J.C.M., Wissocq N., d'Ieteren G.D.M. (1993). Field research on measurement and use of trypanotolerance criteria to enhance trypanotolerant livestock productivity. 2. Recent results quantifying trypanotolerance indicators. In : Proceedings of Workshop on Towards Increased Utilisation and Adoption of Trypanotolerance. Current Status of Research and Future Directions, ILRAD/ILCA, Nairobi, Kenya.
 20. Trail J.C.M., Wissocq N.M., d'Ieteren G.D.M., Kakiese O., Mulungu, M., Murray M. Quantitative phenotyping of N'Dama cattle for aspects of trypanotolerance under field tsetse challenge. *Vet Parasitol* ; in press.
 22. Wissocq N.M., Trail J.C.M., Kakiese O., d'Ieteren G.D.M., Pelo M., Mulungu, M. (1993). Importance of trypanosome species in relationship between infection, anaemia and reproductive performance in N'Dama cattle. In : Proceedings of 21st Meeting of the International Scientific Council for Trypanosomiasis Research and Control, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, 1991 : 278.
 23. Wissocq N., d'Ieteren G., Trail J.C.M., Kakiese O. (1993). Quantification of the relative importance of trypanotolerance measurements on productivity of N'Dama cattle. In : Proceedings of 22nd Meeting of the International Scientific Council for Trypanosomiasis Research and Control, Kampala, Uganda.
 21. Trail J.C.M., Wissocq N.M., d'Ieteren G.D.M., Kakiese O., Mulungu, M., Murray M. (1993). Patterns of *Trypanosoma vivax* and *Trypanosoma congolense* infection differ in young N'Dama cattle and their dams. *Vet Parasitol.*; in press.



Achevé d'imprimer par Corlet, Imprimeur, S.A.
14110 Condé-sur-Noireau (France)
N° d'Imprimeur 7175 - Dépôt légal novembre 1994

Imprimé en C.E.E.

Créée à l'initiative de l'**Université des Réseaux d'Expression Française**, la collection *Universités francophones* s'insère, depuis 1988, dans le paysage éditorial international. L'**UREF** met ainsi à la disposition des étudiants et des chercheurs des ouvrages de haute qualité scientifique.

Rédigés par des équipes à caractère multilatéral, manuels, monographies et actes de colloques abordent des problématiques intéressant l'ensemble du monde francophone. En outre, ils s'adaptent, grâce à une politique de prix particulière, à ses différentes réalités économiques : autant de conditions contribuant à la reconnaissance et au succès de la collection.

180,00 FF

60,00 FF – UREF / Prix préférentiel : Afrique, Asie, Amérique du Sud, Haïti

59.4637.1

