

MINISTRE DES ENSEIGNEMENTS
SECONDAIRE, SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

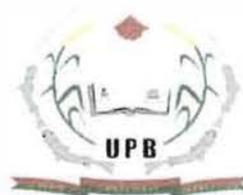
N° d'ordre :.....

CENTRE INTERNATIONAL DE
RECHERCHE-DEVELOPPEMENT SUR
L'ELEVAGE EN ZONE SUBHUMIDE
(CIRDES)

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE
BOBO-DIOULASSO (UPB)

UNITE DE RECHERCHES SUR LES BASES
BIOLOGIQUES DE LA LUTTE INTEGREE
(URBIO)

INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL
(IDR)



DEA-B

1046

SOM

MEMOIRE DE DEA

Présenté par :

Martin Bienvenu SOMDA (Maître ès sciences)

Option : Biologie Appliquée et Modélisation de Systèmes Biologiques (BA/MSB)

Thème :

**Réponses anticorps à la trypanosomose bovine dans une
population de métis (zébu Peul X taurin Baoulé) au Burkina
Faso**



Soutenu le 24 février 2007, devant le Jury :

Président : Pr. VIGUIER MARTINEZ Marie Claude, Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso

Membres : Pr. OUEDRAOGO Jean-Bosco, Enseignant-chercheur à l'IRSS

Dr. SIDIBE Issa, co-maître de stage au CIRDES

Dr. Monique Brigitte OUATTARA, Université de Ouagadougou, Directeur de mémoire

Dédicaces

- ❖ *A la mémoire de mes deux parents décédés : mon père SOMDA Joseph et ma mère PALLE Ini Marie Française ;*
- ❖ *A tous ceux qui m'ont soutenu et continuent de le faire après le décès des mes parents (feu SOMDA Jean Pierre, DABIRE Jean Paul, SOME Raphaël...);*
- ❖ *A mes frères et sœurs, en témoignage de la profonde affection qui nous unit.*

Remerciements

Je remercie « ab imo pectore »

- le **Professeur Abdoulaye GOURO**, Directeur Général du CIRDES, pour m'avoir accepté comme stagiaire dans son institution ;
- l'**Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso** à travers les **Professeurs Georges Anicet & Jean Bosco OUEDRAOGO**, pour cette bonne volonté d'initier ce DEA ;
- le **projet CORUS**, pour avoir financé notre étude et pour tout le soutien pour les jeunes chercheurs ;
- le **Docteur Sophie THEVENON**, chercheur du CIRAD, notre maître de stage, qui a su me guider tout au long de mes travaux, malgré la distance qui nous sépare ;
- le **Docteur Monique Brigitte OUATTARA**, enseignant-chercheur à l'Université de Ouagadougou, notre directeur de mémoire, qui n'a ménagé aucun effort pour m'apporter un soutien sans faille. Grâce à vous le 3^{ème} cycle est devenu une réalité pour moi ;
- le **Docteur Issa SIDIBE**, Directeur Scientifique & responsable du projet CORUS au CIRDES. Vous avez facilité mes travaux de recherche ;
- le **Docteur Zakaria BENGALY**, le chef de l'URBIO au CIRDES, pour m'avoir épaulé tout au long de mon stage ;
- aux **techniciens Léopold MILLOGO & Mathias Zerbo**, pour tous ces passionnants moments d'ELISA et d'Immunoblot passés ensemble ;
- tous les **autres chercheurs et le personnel du CIRDES**, merci pour le soutien ;
- le **corps professoral du DEA de Biologie Appliquée et Modélisation de Systèmes Biologiques (BA/MSB)** ;
- tous les **étudiants de la 1^{ère} promotion du DEA de BA/MSB** ;
- tous les **stagiaires en DEA et en Thèse** (en particulier les **Dr DAYO Charles, TALAKI Essodina, DAO Balabadi**) durant l'année 2006-2007 au CIRDES ;
- Mes **promotionnaires, amis et vous tous** qui avez contribué à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Dédicaces	i
Remerciements	ii
Sommaire	iii
Résumé	v
Sigles et abréviations	vi
Liste des tableaux et figures	vii
Liste des photos et annexes	vii
Introduction	1
PREMIERE PARTIE: Revue de la littérature.....	3
Chapitre I: Trypanosomoses bovines	4
I.1. Trypanosomes	4
I.1.1. Trypanosomes étudiés chez les bovins	4
I.1.2. Transmission.....	4
I.1.3. Répartition et incidence	6
I.1.4. Symptomatologie et physiopathologie	6
I.1.4.1. Symptomatologie	7
I.1.4.2. Physiopathologie	7
I.1.5. Propriétés antigéniques des trypanosomes	7
I.1.5.1. Antigènes variants ou glycoprotéines variables de surface (GVS).....	8
I.1.5.2. Antigènes invariants.....	8
I.2. Importance économique de la maladie	8
I.3. Stratégies de lutte.....	9
Chapitre II: Concept de trypanotolérance / trypanorésistance	10
II.1. Définition du concept	10
II.2. Races bovines trypanotolérantes et trypanosensibles.....	11
II.2.1. Races bovines trypanotolérantes et répartitions	11
II.2.2. Races bovines trypanosensibles et répartitions	12
II.2.3. Evolution des effectifs et valorisation des races bovines	13
II.3. Mécanismes de la trypanotolérance	14
II.3.1. Facteurs immunologiques modulant l'expression de la trypanotolérance	14
II.3.1.1. Immunoréaction confère-t-elle la trypanotolérance?	14
II.3.1.1.1. Réponses non spécifiques	15

II.3.1.1.2. Réponses spécifiques.....	16
II.3.1.1.3. Comparaison des réponses immunitaires des bovins tolérants et sensibles ..	16
II.3.1.1.4. Conséquences de l'immunoréaction.....	17
II.3.2. Mécanismes non immunologiques.....	18
II. 3.3. Connaissance sur le génome des races/individus trypanotolérants.....	18
DEUXIEME PARTIE : Etude expérimentale.....	20
Chapitre I : Matériel et méthodes.....	21
I.1. Matériel.....	21
I.1.1. Zone de l'étude.....	21
I.1.2. Matériel animal.....	21
I.1.3. Matériel de laboratoire.....	22
I.2. Méthodes.....	23
I.2.1. ELISA-indirect.....	23
I.2.1.1. Echantillonnage.....	23
I.2.1.2. Principe de la méthode.....	23
I.2.1.2. Préparation des antigènes.....	26
I.2.2. Données antérieures.....	27
I.2.3. Analyses statistiques des résultats.....	27
Chapitre II : Résultats et discussions.....	29
II.1. Résultats.....	29
II.1.1. Prévalences.....	29
II.1.1.1. Prévalences sérologiques.....	29
II.1.1.2. Prévalences parasitologiques.....	29
II.1.1.3. Comparaison des prévalences.....	30
II.1.1.4. Facteurs de variation des prévalences observées.....	32
II.1.2. Relation entre la parasitémie et l'hématocrite.....	33
II.1.3. Choix du classement des animaux.....	33
II.2. Discussions.....	35
Conclusion et recommandations.....	38
Références bibliographiques.....	40
Annexes.....	I

Résumé

La trypanosomose animale africaine (TAA) est la principale maladie vectorielle du bétail en Afrique sub-saharienne. La grande variabilité antigénique du trypanosome empêche toute mise au point d'un vaccin classique contre cette zoonose. L'élevage des bovins trypanotolérants est une méthode de lutte naturelle. En effet, la trypanotolérance est l'aptitude qu'ont certains taurins ouest africains à survivre et à rester productifs dans les régions infestées de glossines, cependant hostiles aux autres types génétiques (zébus et taurins exotiques). Notre étude s'inscrit dans la deuxième phase du projet CORUS en cours d'exécution au CIRDES. Ce travail a pour objectif de caractériser les réponses humorales de classe IgG chez les bovins métis (zébu Peulh X taurin Baoulé), élevés en milieu naturel dans le sud-ouest du Burkina Faso. Cette région est reconnue pour sa forte pression trypanosomienne à *T. congolense* et à *T. vivax*.

Sur 516 métis qui ont été suivis mensuellement pendant 2 ans sur des variables de la trypanotolérance (parasitémie, hémocrite,...), 62 animaux ont été sélectionnés. Cinq (5) sérums/animal prélevés à 5 sessions différentes, ont été testés par ELISA-indirect. Les résultats de l'ELISA en pourcentage de positivité relative (PPR) ont été combinés à la parasitémie 0/1 et aux taux d'hémocrite pour classer les métis en « tolérants » et « sensibles ». L'objectif visé par ce classement est d'identifier les antigènes immunodominants dans les deux groupes par la technique d'immunoblot.

Les séroprévalences et les prévalences parasitologiques obtenues ont montré une prédominance en moyenne des infections à *T. vivax* que celles à *T. congolense*. Nos résultats épidémiologiques ont montré une hétérogénéité du risque trypanosomien : dépendant de l'espèce de trypanosome, de la session de prélèvement, de l'âge des animaux, de la technique de diagnostic utilisée et du groupe d'éleveurs. De plus, la parasitémie a un effet sur les PPR d'une part et d'autre part sur le taux d'hémocrite. Des tests sur les autres classes d'anticorps n'ont pas pu se faire par manque de protocole adéquat et de conjugués sur le marché. Des essais d'immunoblot sont en cours au CIRDES. Cette technique permettra d'identifier d'éventuels antigènes immunodominants qui distingueraient qualitativement les animaux « tolérants » des « sensibles ».

Mots clés : Trypanosomose bovine – trypanotolérance – taurin Baoulé/zébu Peulh - ELISA-indirect – immunoblot

Sigles et abréviations

Alb^A: gène A de l'albumine

BCT : Buffy-Coat Technique

CD: Cluster de Différenciation

CIRDES : Centre International de Recherches Développement sur l'Élevage en zone Subhumide

CORUS : Coopération pour la Recherche Universitaire et Scientifique

CPA : Cellules Présentatrices d'Antigènes

CpG-DNA: Cystein phosphate Guanine of Desoxyribonucleic acid

CR: Complement Receptor

DEA : Diplôme d'Études Approfondies

DO : Densité Optique

glm : generalized linear modes

GPI: Glycosylphosphatidylinositol

GVS : Glycoprotéines Variables de Surface

Hb^A: gène A de l'hémoglobine

HDL: High Density Lypoprotein

IL: Interleukine

ILRI: International Livestock Research Institute

INF- γ : Interféron- γ

ITC: International Trypanotolerance Centre

mfVSG: membrane form of Variant Surface Glycoprotein

NO: Nitric Oxide

PAAT: Programme Against African Trypanosomiasis

PAO: Polyamine-oxydase

PATTEC : Pan African Tsetse and Trypanosomosis Eradication Campaign

PCR: Polymerase Chain Reaction

PG: Prostaglandine

PPRC : Pourcentage de Positivité Relative en *Trypanosoma congolense*

PPRV: Pourcentage de Positivité Relative en *Trypanosoma vivax*

QTL: Quantitative Trait Loci

RNI: Reactive Nitrogen Intermediates

ROI: Reactive Oxygen Intermediates

TAA: Trypanosomoses Animales Africaines

TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α

Liste des tableaux et figures

Tableau I: Taurins d'Afrique de l'Ouest (Rege, 1999).....	12
Tableau II: Zébus de l'Afrique de l'Ouest et Centrale (Rege, 1999)	13
Tableau III: Réponses humorales comparées entre sensibles et tolérants	17
Tableau IV : Autres éléments de l'immunité et facteurs reconnus	17
Tableau V : Comparaison des valeurs de l'hématocrite des tolérants et des sensibles».....	34
Figure 1: Représentation schématique d'un trypanosome	4
Figure 2 : Cycle de développement de <i>T. brucei</i>	5
Figure 3: Interaction entre les différentes cellules de l'immunité.....	15
Figure 4 : Site de l'étude (carte : L. Guerrini).....	21
Figure 5: Métis Baoulé-Zébu peul et Figure 6: Métis Baoulé-Zébu peul	22
Figure 7 : Spectrophotomètre de lecture de l'absorbance et Figure 8: Incubateur des plaques ELISA	23
Figure 9 : Principe général de la méthode ELISA-indirect	25
Figure 10: Illustration des résultats finaux d'un test ELISA-indirect	25
Figure 11: Profil de la séroprévalence au cours du suivi.....	29
Figure 12: Profil des prévalences parasitologiques au cours du suivi.....	30
Figure 13: Comparaison des prévalences sérologiques et parasitologiques à <i>T. vivax</i>	31
Figure 14: Comparaison des prévalences sérologiques et parasitologiques à <i>T. congolense</i> .	31
Figure 15: Boxplots des PPR en fonction de parasitémie 0/1	32
Figure 16: Boxplots du taux d'hématocrite en fonction de parasitémie 0/1.....	33

Liste des annexes

Annexe 1: Protocole détaillé du dosage immuno-enzymatique (ELISA-indirect) des anticorps anti-trypanosomes : ELISA-indirect à <i>Trypanosoma sp</i>	II
Annexe 2 : Liste des sérums à tester.....	III
Annexe 3 : Liste des sérums retenus pour l'Immunoblot	IV

Introduction

L'élevage dans les pays tropicaux, n'apporte pas seulement des protéines animales aux populations humaines, mais il est aussi un outil indispensable au développement par ses divers rôles: traction animale et transport, fumure animale et fertilité des sols, rôle bancaire (accumulation de capitaux productifs et trésorerie en cas de besoins) et rôle social (Itard, 1981).

Beaucoup de maladies empêchent son développement, en particulier la trypanosomose bovine qui est la plus importante en Afrique sub-saharienne, provoquant 25,4% de morbidité et 17,8% de mortalité chaque année (Affognon et al., 2005). Les effets de la maladie sur le bétail sont incommensurables allant de l'augmentation de la mortalité (10 à 20%), à la diminution de la production du lait (10 à 20%), de la production de viande (5 à 30%), de la surface cultivée/bœuf (33%) et du taux de mise-bas (11 à 20%) (Swallow, 1997).

Les trypanosomoses animales africaines (TAA) sont des affections parasitaires provoquées par des protozoaires flagellés, pathogènes, appartenant à la famille des *Trypanosomatidae* et au genre *Trypanosoma*. Ces parasites se multiplient dans le plasma sanguin, la lymphe et divers organes des mammifères et des reptiles. Leur transmission à l'hôte est généralement réalisée par un insecte hématophage qui peut être soit un simple vecteur «mécanique» comme les tabanidés ou les stomoxyinés, soit un vecteur «biologique» telles que les glossines ou les réduves (Itard et al., 2003 ; Murray et al., 1984). Il existe plus de 36 espèces et sous-espèces de trypanosomes adaptées à différents systèmes écologiques (d'Ieteren et al., 1998).

Des études récentes ont montré que certaines races bovines résistent mieux à l'infection causée par les trypanosomes que d'autres. Cette capacité, appelée «trypanotolérance» ou «trypanorésistance» se rencontre dans certaines populations bovines de l'espèce *Bos taurus* localisées en Afrique occidentale et centrale. Les populations animales trypanosensibles sont représentées par l'espèce *Bos indicus* et les *Bos taurus* des autres continents. Le concept de trypanotolérance est ancien. En effet, certains explorateurs tels que Pierre (1906) et Cazalbou (1906) ont été les premiers à constater que certains bovins survivaient dans des zones infestées de glossines alors que les zébus et beaucoup d'autres espèces animales ne pouvaient y vivre (Duvallat and Touré, 1993; Duvallat, 1987).

Beaucoup de centres de recherches (CIRDES, ILRI, ITC,...) et des acteurs au développement oeuvrent pour éradiquer les TAA. De ce fait plusieurs stratégies et des campagnes de lutte (PAAT, PATTEC,...) ont été menées, mais les tentatives de mise au point de vaccins classiques se sont heurtées à la grande variabilité antigénique du parasite (Duvall et *al.*, 2003); et au développement des mécanismes de résistance aux médicaments trypanocides.

Notre étude est s'inscrit dans la deuxième phase du projet CORUS (Coopération pour la Recherche Universitaire et Scientifique) et nous nous sommes occupé du volet immunologique de la trypanotolérance bovine. La première phase a été le suivi des animaux sur le terrain sur des variables de la trypanotolérance (parasitémie, hématicrite, état corporel,...). Au cours de notre travail, nous avons étudié les caractéristiques de la réponse immunitaire dans une population de bovins métis (zébu Peul X taurin Baoulé). La réponse anticorps de classe IgG a été analysée et nous avons séparé nos métis en tolérants et sensibles.

L'ensemble de nos travaux dans ce document comporte deux parties :

- dans la première partie, nous présenterons les généralités sur la trypanosomose bovine et le concept de la trypanotolérance/trypanorésistance;
- la deuxième partie sera consacrée à l'étude expérimentale.

PREMIERE PARTIE:
Revue bibliographique

Chapitre I: Trypanosomoses bovines

I.1. Trypanosomes

I.1.1. Trypanosomes étudiés chez les bovins

Les trypanosomes sont des hématozoaires, fusiformes et flagellés (Figure 1). Ils vivent chez un hôte vertébré (hôte définitif chez lequel ils se multiplient dans les liquides physiologiques, le sang en particulier) et un hôte invertébré ou vecteur (hôte intermédiaire, un insecte piqueur hématophage, où les formes larvaires vivent dans le tractus digestif).

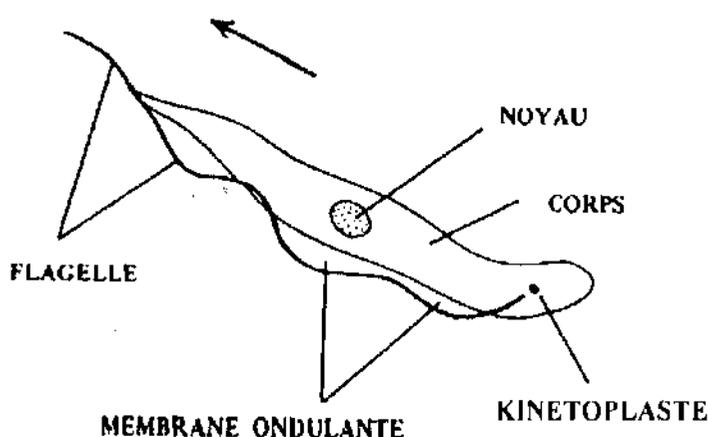


Figure 1: Représentation schématique d'un trypanosome montrant les différentes parties du micro-organisme. La flèche indique le sens dans lequel le trypanosome se déplace (source :

<http://www.fao.org/docrep/009/p5178f/P5178F07.htm>)

En Afrique, les principaux trypanosomes pathogènes du bétail sont *Trypanosoma vivax* (Zieman, 1905), *Trypanosoma congolense* (Brodin, 1904) et de moindre part *Trypanosoma brucei brucei* (Plimmer and Bradford, 1989).

T. congolense est parmi ces trois espèces la plus pathogène et la plus étudiée. Elle affecte les bovins en Afrique de l'Ouest (Troncy et al., 1981) et a la plus grande incidence économique en Afrique (Itard, 1981) suivi de *T. vivax* (Sidibé et Desquesnes, 2001).

I.1.2. Transmission

Les TAA sont principalement transmises de manière cyclique par les glossines de différentes espèces et sous-espèces dont les plus importantes sont *Glossina palpalis*, *G. morsitans* et *G. tachinoïdes*. Toutefois, il existe d'autres modes de transmission (mécanique,

congénitale, vénérienne, oro-fécale et oro-génitale) dont l'importance varie selon les conditions épidémiologiques et/ou la présence et l'abondance relative de divers types de vecteurs

La figure 2 nous montre les formes successives de *T. brucei* au cours du cycle parasitaire où ce parasite passe de la glossine vectrice à l'hôte bovin.

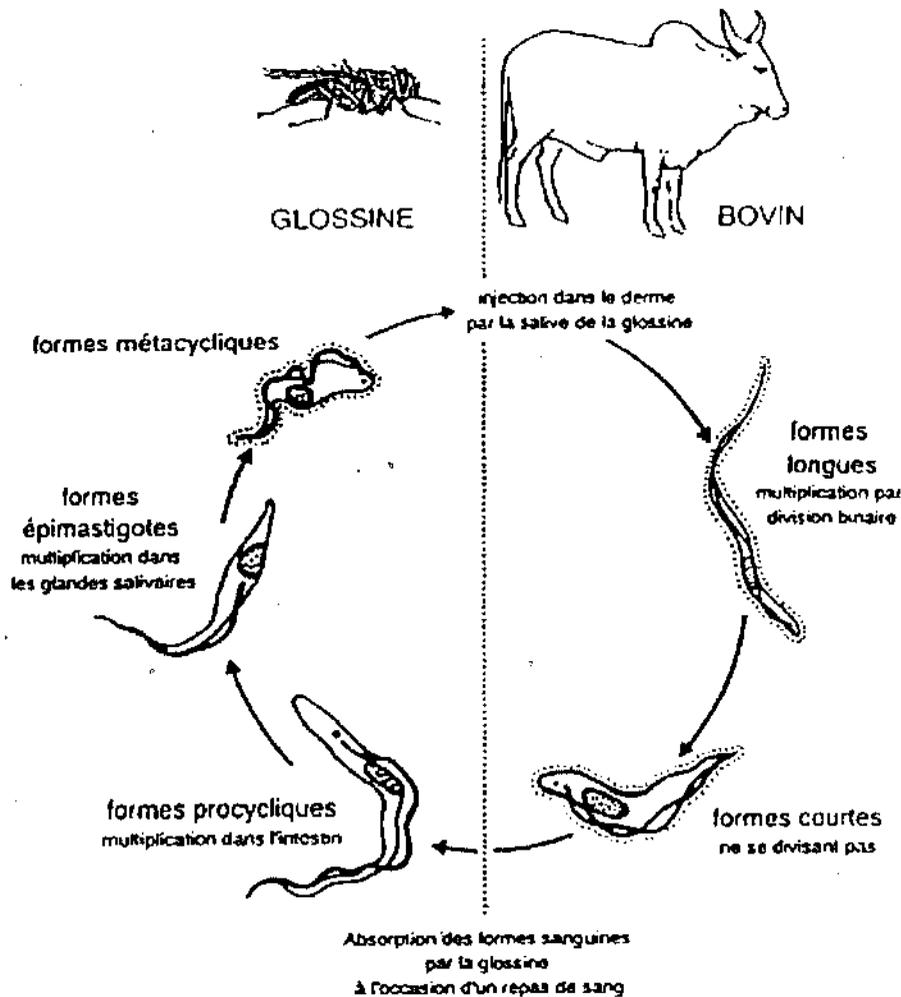


Figure 2: Cycle de développement de *T. brucei* (source : <http://www.futura-sciences.com/comprendre/d/dossier664-3.php>)

Les grandes étapes du cycle (chez la glossine et chez le bovin) sont les mêmes pour les différentes espèces de trypanosomes à des différences près. En effet, lors d'un repas de sang sur un mammifère parasitémique, la glossine absorbe les formes trypanomastigotes courtes. Chez la glossine le cycle dure environs 20 à 30 jours pour *T. brucei* et tandis qu'il est environs 18 jours pour *T. congolense* et 14 jours pour *T. vivax* dans les localités différentes du tube

digestif. La glossine infestée injecte dans le derme du mammifère à l'occasion d'un repas sanguin, les formes métacycliques infectieuses présentes dans ses pièces buccales.

Les trypanosomes métacycliques se multiplient au point d'inoculation pendant plusieurs jours provoquant une réaction inflammatoire locale (Luckins et Gray, 1978) appelée chancre ou trypanome chez le bovin. Ensuite, ils migrent vers les ganglions et la lymphe avant leur détection dans le sang (Akol et Murray, 1986 ; Emery et *al.*, 1980). La durée de la période prépatente varie généralement de 1 à 3 semaines en fonction de l'espèce et de la souche de trypanosome, du nombre de trypanosomes injectés et de l'état immunitaire de l'hôte vertébré (Clausen et *al.*, 1993).

1.1.3. Répartition et incidence

Les TAA sont répandues depuis les savanes boisées nord soudanienne jusqu'aux savanes guinéennes et à la forêt dense humide équatoriale, soit depuis les limites sud des steppes sahéniennes (13^{ème} ou 14^{ème} degré de latitude nord) jusque vers le 15^{ème} degré de latitude sud en Angola. Trente sept (37) pays sont concernés par les TAA soit environ 10 millions de km² qui pourtant offrent de fortes potentialités fourragères et agricoles. Cette zone équivaut à un tiers de la superficie de l'Afrique ou à celle des Etats-Unis d'Amérique ou celle de l'Europe de Dublin à Moscou (Itard et *al.*, 2003). En général, la répartition géographique des trypanosomes va de paire avec celle de leurs vecteurs.

1.1.4. Symptomatologie et physiopathologie

Les trypanosomoses sont des affections à évolution généralement chronique de durée et de symptomatologie variable suivant l'espèce animale affectée et l'agent pathogène en cause (Itard, 1981). Les affections dues à *T. vivax*, *T. congolense* et à *T. brucei brucei* sont désignées sous le nom de «Nagana», bien que ce vocable ait à l'origine été utilisé uniquement pour *T. brucei brucei*. *T. evansi* provoque la «Surra» ou trypanosomose caméline, *T. equiperdum* la «Dourine», *T. cruzi* la maladie de «Chagas» (Itard et Frézil, 2003). Les deux autres sous-espèces de *T. brucei* (*gambiense* et *rhodesiense*) causent la «trypanosomiase humaine africaine» (THA) ou maladie du sommeil.

I.1.4.1. Symptomatologie

Après l'inoculation (quelques semaines à quelques mois), les trypanosomes se multiplient dans les tissus cutanés de l'hôte définitif et la maladie se manifeste par des poussées fébriles (température > 40°C) qui sont séparées par des intervalles d'apyrexie, des altérations sanguines avec anémie, des oedèmes, une splénomégalie et des polyadénites. L'amaigrissement, voire la cachexie précède la mort de l'animal. La maladie se traduit chez le zébu et leur métis par : une anémie parfois plus sévère, des larmolements et des pétéchies conjonctivales, à la dernière période, une diarrhée, une anorexie s'implantent. La maladie évolue soit vers la mort par épuisement ou parfois vers la guérison après une longue période de convalescence.

I.1.4.2. Physiopathologie

T. congolense et *T. vivax*, principaux agents des trypanosomes des bovins, sont des parasites intravasculaires. La présence du parasite dans le sang entraîne des signes biologiques majeurs : anémie, leucopénie, hypocomplémentémie. Les facteurs de l'hôte responsables de la pathogénie (surtout le syndrome fébrile) sont les cytokines (IL-1, INF- γ , TNF- α) et les prostaglandines (Authié, 2003). Le parasite agit de façon directe par la production de toxines parasitaires (des protéases, des acides gras,...) et d'autre part, des complexes immuns sont formés en abondance pendant l'infection et contribuent à la lyse des globules rouges. L'anémie accompagne la parasitémie en entraînant une chute brutale du nombre de globules rouges qui se traduit par une baisse du taux d'hématocrite (pourcentage du volume des globules rouges par rapport au volume total du sang). C'est ainsi que l'hématocrite moyen qui est de 30 à 35% peut chuter jusqu'à 14%. A ces signes pathologiques, s'ajoutent une hypocomplémentémie (se traduisant par une réduction de la fraction C3 du complément) et une baisse du taux d'hormones (hypophysaires, thyroïdiennes et gonadiques).

I.1.5. Propriétés antigéniques des trypanosomes

Les événements pathologiques de la trypanosomose résultent de l'activité de facteurs parasitaires sécrétés par les trypanosomes vivants, ou libérés par la lyse massive qui termine chaque vague de parasitémie. L'antigène dominant des trypanosomes est constitué par l'enveloppe glycoprotéinique, qui subit des variations antigéniques (antigènes variants). D'autres antigènes, qui restent inchangés au cours de la variation antigénique, sont appelés « antigènes invariants ».

I.1.5.1. Antigènes variants ou glycoprotéines variables de surface (GVS)

Les principaux antigènes des trypanosomes sont des antigènes de surface formant une enveloppe qui entoure la cellule. Ils sont constitués d'un ensemble de molécules de glycoprotéines. Ces dernières sont présentes sur les formes sanguines des mammifères, ainsi que sur les trypanosomes métacycliques infectants les vecteurs (Authié, 2003; Duvallet et *al.*, 2003). Elles sont constituées d'environ 10^7 molécules identiques et représentent 10% des protéines totales du parasite. La chaîne protéique d'une glycoprotéine de surface, dont le poids moléculaire est égal à 65 kilodaltons, est constituée de régions hypervariables à la partie N-terminale ; qui définit le type antigénique caractéristique d'un variant donné «variant antigenic type» ou VAT. Cette différence entre VAT est réelle d'où la dénomination de «glycoprotéines variables de surface» ou GVS. La région C-terminale est assez conservée, elle comporte des déterminants antigéniques communs à toutes les GVS.

L'ensemble du patrimoine génétique des trypanosomes contient assez d'informations pour produire un nombre pratiquement infini de GVS différentes, ce qui rend improbable la mise au point d'un vaccin contre les formes sanguines des trypanosomes africains (Duvallet et *al.*, 2003).

I.1.5.2. Antigènes invariants

Outre les VSG, les trypanosomes possèdent des antigènes internes ou antigènes somatiques qui constituent les antigènes invariants. Ces antigènes sont des protéines de structure (cytosquelette, membrane) ou des molécules impliquées dans le métabolisme du parasite (récepteurs, transporteurs, enzymes, produits de la dégradation des acides aminés aromatiques, lipopolysaccharides et acides gras) (Authié, 2003 ; Duvallet et *al.*, 2003). Ils se combinent aux anticorps pour donner des immun-complexes.

N'étant pas généralement exposés à la surface du parasite, les antigènes invariants induisent la synthèse d'anticorps considérés avides car dépourvus de rôle protecteur. Néanmoins, certains de ces antigènes invariants peuvent être des facteurs de pathogénicité et dans ce cas, les anticorps neutralisant pourraient être protecteurs.

I.2. Importance économique de la maladie

L'impact économique des TAA a surtout été étudié en Afrique subsaharienne. Dans les autres continents, quelques études économiques ponctuelles existent sans qu'il soit possible de généraliser (Itard, 1981).

Les TAA, en réduisant la productivité animale ou en rendant de vastes régions inaccessibles à l'élevage, ont un impact sur l'environnement, l'agriculture et plus généralement sur le bien-être de l'homme. Environ 50 millions de bovins et 100 millions de petits ruminants répartis sur 37 pays sont directement concernés par cette zoonose (Winrock International Institute for Agricultural Development, 1992). Les pertes sont énormes allant jusqu'à 1 milliard de dollars U.S. (Kristjamson *et al.*, 1999).

A ces pertes s'ajoutent celles engendrées par le coût des interventions (lutte chimique, lutte génétique,...) pour éradiquer la maladie. Il s'en suit que la TAA doit être appréhendée plus comme une contrainte au développement que comme une maladie. Sa suppression permettrait une croissance du troupeau de 35 millions de têtes qui produiraient 500 000 tonnes de viande/an et 1,4 millions de tonnes de lait/an (Itard *et al.*, 2003).

1.3. Stratégies de lutte

Les moyens de lutte contre les TAA découlent de l'épizootie de la maladie. Ils devront en effet, agir sur les éléments qui en conditionnent l'existence des parasites, des hôtes mammifères et des vecteurs. En raison de la complexité des phénomènes immunitaires et de la variation antigénique des trypanosomes, les essais de vaccination avec les trypanosomes tués ou irradiés ont été favorables chez les animaux de laboratoire (Itard, 1981), mais le transfert chez l'hôte mammifère a échoué.

Les stratégies de lutte actuelles sont basées plutôt sur les méthodes préventives (chimioprophylaxie, la lutte vectorielle, élevage des bovins trypanotolérants,...) et curatives (chimiothérapie).

Chapitre II: Concept de trypanotolérance / trypanorésistance

II.1. Définition du concept

Il existe beaucoup d'écoles, mais plusieurs auteurs tendent à les confondre, cependant «tolérance» ne signifie pas «résistance» (Duvallet, 1987). Ainsi, Bishop et MacKenzie (2003) définissent «la résistance» comme l'aptitude qu'ont certains animaux africains à résister à l'infection ou à contrôler le cycle vital du parasite et «la tolérance» comme l'aptitude d'un animal infesté par un parasite à résister aux effets pathologiques de l'infection c'est-à-dire à la maladie. Qu'il s'agisse d'animaux trypanotolérants ou trypanorésistants, leur caractéristique est de vivre et produire dans les régions infestées de glossines (Naessens, 2006 ; Belemsaga, 2001; Itard, 2000). Il semblerait que la trypanotolérance est le résultat d'une longue survie dans les régions infestées de glossines (Naessens et al., 2002), ce qui leur procure une prémunition dynamique (Itard et al., 2003) comme c'est le cas du paludisme chez l'homme. La trypanotolérance augmente lors d'une infection homologue (Authié et al., 1993a) et n'est pas effective aux souches de trypanosomes d'ailleurs (Murray et al., 1984). De plus, l'infection naturelle cyclique l'explique mieux (Naessens et al., 2002 ; Roelants et al., 1983). Cependant, ces animaux tolérants ne sont pas réfractaires à l'infection, car à forte pression glossinienne ils succombent (Pinder et al., 1987). Le concept est absent chez tous les animaux élevés dans les zones indemnes de glossines (Belemsaga, 2001).

En effet, la trypanotolérance s'observe chez les ruminants sauvages en contact permanent, donc sous pression de sélection, depuis des milliers d'années avec les glossines infestées, ainsi que chez certaines races taurines arrivées en Afrique, il y a plusieurs millénaires avant l'ère chrétienne (Itard, 2000). Beaucoup d'études ont montré que les descendants de ces races taurines (N'Dama, Baoulé, Muturu,...), qui subsistent en Afrique occidentale dans les zones infestées de glossines, contrôlent mieux la parasitémie et l'anémie que les zébus arrivés récemment (Duvallet et Touré, 1993 ; Murray et Dexter, 1988 ; Murray et al., 1982). De plus, ces animaux trypanotolérants présentent un plus haut degré de résistance à *T. vivax* (Mattioli et al., 1999 ; Murray et al., 1981 & 1982) qu'à *T. congolense* suggérant que *T. vivax* pourrait avoir un moindre profil pathogénique (Trail et al., 1993).

Cette trypanotolérance existe également chez certaines races de moutons et de chèvres de petites tailles (moutons et chèvres Djallonké, chèvres guinéennes, chèvres de Casamance), ainsi que chez certains équins (pônèys Kirdi) (Itard, 2000).

La trypanotolérance est une propriété relative associée à des facteurs immunologiques et non immunologiques (biochimiques, physiologiques, zootechniques,...). Des indicateurs de la tolérance aux trypanosomes ont été définis: la capacité à contrôler le niveau de parasitémie, la capacité à résister au développement de l'anémie et une forte immunoréaction (Belemsaga, 2001 ; Trail et *al.*, 1993 ; Murray et *al.*, 1984).

II.2. Races bovines trypanotolérantes et trypanosensibles

L'Afrique de l'Ouest abrite une importante diversité génétique chez les bovins et au moins 22 races ont été décrites. Depuis la classification de Mason en 1951 (CIPEA, 1979) sur la présence et l'absence de bosse, ces bovins se répartissent en 02 groupes:

- les races bovines *Bos taurus* ou taurins, caractérisées par une absence de bosse, dont certains sont reconnus pour leur trypanotolérance (Tableau I) ;
- les races bovines *Bos indicus* ou zébus qui ont une bosse thoraco-cervicale, sont réputées trypanosensibles (Tableau II).

II.2.1. Races bovines trypanotolérantes et répartitions

Les taurins africains ont été considérés longtemps comme une relique du passé et leur «trypanotolérance» comme une singularité biologique (Duvallet, 1987), ce qui leur permet de valoriser les zones infestées de glossines jugées hostiles aux autres types génétiques (Missohou et Adakal, 2004). Ces bovins appartiennent à l'espèce taurine *Bos taurus* ou à certaines populations métissées issues du croisement de zébus et de taurins. Selon Doutréssoules (1947), les caractéristiques du taurin d'Afrique occidentale sont les suivantes : «c'est un animal rectiligne, médioligne, ellipométrique. La tête est courte avec des cornes fortes, à tronc ample et trapu, à robe fauve foncée et à extrémités noires. La brachycéphalie est nette; avec une tête forte et courte, front large, face raccourcie, chignon à sommet écarté,...». Le garrot est épais, les lombes manquent de largeur. La croupe est courte, plus horizontale que chez les zébus. Au nombre de 13 (Tableau I), leur aire de répartition est comprise entre les isohyètes 750 mm et 4000 mm, exception faite du taurin Kouri qui est localisé dans une zone plus sèche (Missohou et Adakal, 2004), mais dont le degré de trypanotolérance est inconnu. Les taurins sont en outre, résistants à d'autres maladies (streptothricose, maladies transmises par les tiques, helminthoses,...) (Belemsaga, 2001; Murray et *al.*, 1982). Physiologiquement, le taurin est bien adapté aux régions chaudes et humides.

Les races taurines se subdivisent en 02 types génétiques suivant la brachycéphalie: les *Bos taurus primigenius* ou taurins à longues cornes d'Afrique occidentale (N'Dama et Kouri) et les *Bos taurus brachyceros* ou taurins à courtes cornes (Muturu, Baoulé, Lobi,...).

Tableau I: Taurins d'Afrique de l'Ouest (Rege, 1999)

'Races'	Localités / Pays	Population estimée	Poids vif adulte (kg)		Hauteur au garrot (cm)		Principales utilisations
			Mâle	Femelle	Mâle	Femelle	
Ndama	Dans tous les pays + Mali, Burkina Faso	4 863 000*	220-360	180-300	95-120	90-115	Viande, travail, fumier
Kouri	Niger, Nigeria	110 000*	500-750	360-450	140-180	126-145	Viande, lait, travail
Ghana shorthorn	Ghana	738 000	190-395	163-280	105-117	99-110	Viande, travail, lait
Baoulé	Côte-d'Ivoire	1 082 000*	160-300	150-240	100-106	90-103	Lait, viande
Lobi	Burkina Faso	490 000	-	-	-	-	Viande, lait
Savana Muturu	Nigeria	58 000	-	150-225	-	-	Viande
Liberia Dwarf Muturu	Liberia	5 500	-	-	86-95	82-94	Viande
Somba	Benin, Togo	216 000	150-215	115-185	89-106	85-103	Viande, lait, rituels
Ghana Dwarf Muturu	Ghana	100	-	-	-	-	Viande
Lagunaire	Benin, Côte-d'Ivoire, Togo	65 700*	180-280	165-262	89-106	85-103	Viande, fumier
Forest Muturu	Nigeria	40 000	-	-	85-95	83-93	Viande, rituels
Manjaca	Guinée Bissau	-	-	-	-	-	-
Senegambia shorthorn	Sénégal, Gambie	-	-	-	-	-	-

II.2.2. Races bovines trypanosensibles et répartitions

Les zébus furent les derniers introduits en Afrique, vers -2 000 à -3 000 (Clutton-Brock, 1989) suite aux migrations et invasions arabes et indiennes (Hanotte et *al.*, 2002). Leur diffusion s'est accrue à la faveur de l'épidémie de la peste bovine à la fin du 19^{ème} siècle. Ils ont une aire d'extension qui coïncide globalement avec la bande sahéenne comprise entre les isohyètes 200-600 mm. Ils furent gardés à cause de leur résistance spécifique au stress hydrique et à leur adaptation à l'habitat (Hanotte et *al.*, 2000). Dans les régions marginales où les pâturages et les sources d'eau sont aléatoires, leur élevage constitue souvent le seul moyen de valorisation des terres (Jahnke, 1984). On les classe en zébus à courtes cornes, à cornes en

lyre moyenne et haute (Doutressoulles, 1947). Les zébus recouvrent 12 races (Tableau II). Ils sont plus grands que la plupart des taurins (1,1-1,5 cm), plus lourds (240-410 kg) plus productifs avec des robes de couleurs variées.

Tableau II: Zébus de l'Afrique de l'Ouest et Centrale (Rege, 1999)

'Races'	Localités/Pays	Population estimée	Poids vif adulte (kg)		Hauteur au garrot (cm)		Principales utilisations
			Mâle	Femelle	Mâle	Femelle	
Sokoto	Nigeria	4 352 000	495-660	240-355	130-138	116-132	Lait, viande, travail
Ngaundere	Nigeria	999 000*	400-565	330-410	132-136		Lait, viande, travail
Banyo	Nigeria	-	300-410	350-365			Lait, viande, travail
Yola	Nigeria	-	350-355	315-340			Lait, viande, travail

Gobra	Sénégal	1 300 000	300-350	250-300	130-144	124-140	Lait, viande, travail
Zébu Peul	Mali, Burkina Faso	5 616 000	280-345	248-300	120-138	115-126	Lait, travail, viande
White Fulani	Nigeria	9 645 000*	425-665	250-380	130-152	118-138	Lait, viande, travail, fumier
Red Fulani	Nigeria	4 924 000*	-	-	-	-	Lait, viande
Djelli (Djali)	Niger, Nigeria	-	-	-	-	-	Lait, viande, travail
Azawak	Mali, Nigeria, Niger	506 000	350-500	300-410	128-135	122-130	Viande, lait, travail
Shuwa	Nigeria	4 554 000*	350-475	250-300	135-140	125-128	Travail, lait, viande
Maure	Mauritanie, Mali	673 000	250-700	250-350	125-140	110-128	Lait, viande, travail

II.2.3. Evolution des effectifs et valorisation des races bovines

Sous l'influence de la croissance démographique humaine dans la sous région (2,7%) générant une forte pression sur les pâturages et de la sécheresse qui contribue à une amplitude des transhumances, des menaces planent sur les ressources génétiques animales (RGA) dont certaines sont en voie de disparition (Missohou et Adakal, 2004). En effet, en Afrique de l'Ouest, les races taurines trypanotolérantes sont menacées par l'hybridation incontrôlée avec les zébus formant des populations métissées plus ou moins stabilisées (Rege et al., 1994). On constate un profond changement du paysage génétique des bovins (Hanotte et al., 2002 & 2003 ; MacHugh et al., 1997). C'est ainsi que l'analyse de l'ADN mitochondrial et de la distribution du chromosome Y (MacHugh et al., 1997 ; Bradley et al., 1995) a également révélé une proportion assez importante de sang zébu chez les taurins. Selon ces mêmes auteurs, même chez les taurins N'Dama « purs », des allèles de zébus existent dans des

proportions qui varient de 0,2% (Guinée) à 8% (Gambie). Le croisement anarchique entre ces deux types de races bovines est favorisé par la transhumance des zébus vers les zones australes plus humides à la recherche de pâturage et des sources d'eau pendant la saison sèche. D'autre part, les races taurines (de petites tailles) sont souvent considérées par les éleveurs comme moins productives que les races zébus, qui ont une meilleure production de lait et un gabarit supérieur qui les rendent plus aptes à la traction.

Des populations en voie de disparition ont été identifiées. Des études réalisées en 1992 par ILCA (International Livestock Center for Africa), aujourd'hui ILRI (International Livestock Research Institute) a révélé que, sur les 25 races identifiées en Afrique de l'Ouest, 4 (Kouri, Liberia Dwarf Muturu, Ghana Dwarf Muturu et Manjaca), soit 16%, sont en danger ou en voie de disparition (Rege, 1999). D'autres travaux ont montré une forte régression des lagunaires au Bénin (Shaw et Hoste, 1990), dans l'Etat d'Oyo (Nigéria), la race Muturu a été remplacée progressivement par le White Fulani plus grande et aux aptitudes laitières plus marquées (Jabbar et Diedhion, 2003).

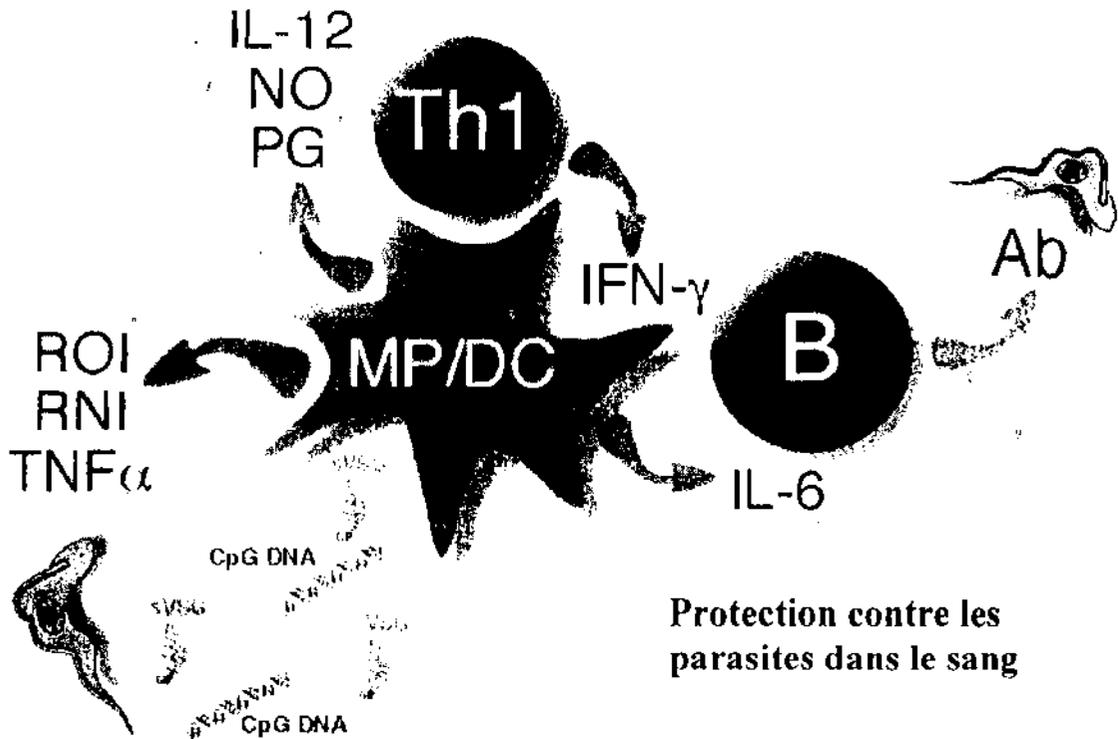
II.3. Mécanismes de la trypanotolérance

La trypanotolérance apparaît comme un phénomène complexe à déterminisme multifactoriel impliquant des mécanismes immunologiques et non immunologiques.

II.3.1. Facteurs immunologiques modulant l'expression de la trypanotolérance

II.3.1.1. Immunoréaction confère-t-elle la trypanotolérance?

Le mécanisme central des trypanosomes est leur grande variation antigénique qui leur permet d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte (Borst, 2002). Le trypanosome engage un réseau complexe d'interactions cellulaires impliquant des facteurs parasitaires et des cytokines (Figure 2). L'ensemble de ces interactions aboutit à des réponses spécifiques et non spécifiques.



Protection contre les parasites extravasculaires

TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α ; **RNI**: Reactive Nitrogen Intermediates; **ROI**: Reactive Oxygen Intermediates; **sVSG**: Variable Surface Glycoproteins; **MP**: Macrophages; **DC**: Dendrites Cells; **IL**: Interleukine; **Ab** : Antibodies; **INF- γ** : Interferon- γ ; **NO**: Nitric Oxide ; **PG**: Prostaglandine; **CpG-DNA** : Cystein phosphate Guanine of Desoxyribonucleic acid

Figure 3: Interaction entre les différentes cellules de l'immunité (source : Mansfield et Paulnock, 2005)

II.3.1.1.1. Réponses non spécifiques

Les réponses non spécifiques sont médiées par les cellules de l'immunité naturelle ou innée. Elle agit par les macrophages et les NK (Natural Killers) pour une action trypanocide. Ensuite, une fois activées par certains dérivés du parasite (VSG, mfVSG, GPI) et les CpG-DNA, les CPA (cellules présentatrices d'antigènes) libèrent des prostaglandines (PG), des cytokines proinflammatoires (IL-6, TNF- α , IL-12, IL-6), des radicaux libres oxygénés (superoxyde et peroxyde d'hydrogène) et d'autres facteurs (RNI, NO, PG, ROI) (Mansfield et Paulnock, 2005). Ces cytokines et facteurs produits protègent contre le parasite et permettent de développer une meilleure réponse de l'immunité acquise durant l'infection.

De plus, certaines molécules de l'immunité innée, telle que la fraction C3 du complément, interviennent dans le contrôle de la maladie par une cascade de réactions aboutissant soit à la lyse directe du trypanosome, soit à son opsonisation pour faciliter la phagocytose.

II.3.1.1.2. Réponses spécifiques

Les réponses spécifiques sont lymphocytaires B et T du type CD4. Les lymphocytes T sont activés par le complexe CMH II-peptide-CPA et leurs réponses sont caractérisées vers une production de cytokines de type helper 1, en particulier l'INF- γ qui stimulera les CPA (Figure 2). Une fois activées, les réponses de ces CPA sont orientées vers la production de cytokines diverses ou à la phagocytose (Schopf et *al.*, 1998). Selon Mansfield et Paulnock (2005), l'interleukine-6 produit par les macrophages, stimule les lymphocytes B thymodépendants et thymoindépendants à une prolifération clonale vers la production d'anticorps. Deux classes majeures d'anticorps (IgM, IgG) sont produites au cours d'une infection trypanosomienne. En effet, pendant la première phase de l'infection, nous avons une hypergammaglobulinémie due à une élévation du taux d'IgM sériques. Ces IgM sont polyspécifiques (Buza et Naessens, 1999) et autoréactives (Williams et *al.*, 1996) et médient plutôt la pathologie que la protection (Taylor, 1998). Ils contribuent ainsi peu au phénomène de trypanotolérance (Authié et *al.*, 1993a). L'augmentation du taux d'IgG (surtout IgG1) est peu tardive et plus modérée, ces anticorps sont plutôt dirigés contre les antigènes internes du parasite qui sont invariants. Ainsi, les IgG neutralisent ces toxines parasitaires.

Diverses réponses ont été trouvées chez les animaux de différentes sensibilités et des immunogènes ont été identifiés.

II.3.1.1.3. Comparaison des réponses immunitaires des bovins tolérants et sensibles

Des études ont rapporté des différences entre zébus et taurins dans les réponses immunitaires (Tableau III et IV). Il semblerait que la principale caractéristique immunologique des taurins est leur capacité à produire des taux d'IgG (IgG1) élevés et durables; alors que la réponse des zébus est orientée dans la production d'IgM favorisant la formation d'immun-complexes. Ceux-ci contribuent à la lyse des hématies et à l'anémie. Les IgG sont des opsonines et favorisent la phagocytose en se liant aux récepteurs FC γ R et CR1

des cellules phagocytaires tandis que les IgM se lient seulement au CR1 et requièrent la présence de C5a (la composante C5a du complément) pour la phagocytose (Taylor, 1998).

Les caractères immunologiques de la trypanotolérance semblent être la forte production d'anticorps (IgG1 surtout) et le niveau élevé de la fraction C₃ du complément.

Tableau III: Réponses humorales comparées entre sensibles et tolérants

	Trypanosensible : Boran		Trypanotolérant : N'Dama	
	Antigènes Tc	Antigènes non T	Antigènes Tc	Antigènes non T
IgM	65, 69, 70kD	-ovalbumine -B galactosidase -cytochrome C -ferritine	65, 69, 70kD	- néant
IgG	- IgG1 : 23, 69kD - IgG2 : 69kD	- néant - néant	- IgG1 : 23, 33kD, 69kD - IgG2 : 69kD	- néant -

Source : Buza et Naessens, 1999 ; d'Ieteren et al., 1998 ; Authié et al., 1993a & b.

Tableau IV : Autres éléments de l'immunité et facteurs reconnus

	trypanosensibles	trypanotolérants
Coenzyme (zinc)	Elevé	Normal
Complément : fraction C ₃	Bas niveau	Haut niveau
Enzyme (PAO)	1 fois	2 à 3 fois
Acide sialique	Bas	Haut
Cellules B CD5+	Très haut	Haut
Cellules B mémoires	Bas	Haut
Cellules phagocytaires	Réduction	Augmentation

PAO : polyamine-oxydase

Source : d'Ieteren et al., 1998 ; Taylor, 1998 ; Williams et al., 1996 ; Traoré-Léroux et al., 1987b.

II.3.1.1.4. Conséquences de l'immunoréaction

Il est reconnu que les anticorps médient la clairance du parasite, mais ils peuvent être pathogéniques dans certains cas en se liant aux auto-antigènes, ce qui a pour conséquence une

incapacité à la phagocytose, une suppression de l'activité du complément et une destruction accrue des globules rouges. Cette défaillance de l'immunité acquise est remarquable chez les trypanosensibles qui produisent un fort taux d'IgM associés à la production d'immun-complexes (Taylor, 1998).

Les mécanismes immunologiques de la tolérance sont connus, cependant d'autres mécanismes non immunologiques ont été soulignés par certains auteurs.

II.3.2. Mécanismes non immunologiques

Les bovins tolérants (N'Dama) présentent une meilleure capacité d'hématopoïèse que les zébus (Naessens 2002, Taylor 1998). D'autre part, ils présentent une plus forte concentration en certains facteurs trypanolytiques sériques (acide sialique, zinc, HDL et PAO) à la différence du zébu (Tableau IV). La destruction de l'acide sialique par des enzymes des trypanosomes contribue au vieillissement accéléré des érythrocytes. De plus Naessens et *al.* (2003 & 2002), en travaillant sur des jumeaux chimériques et des singletons N'Dama et Boran, définissent deux mécanismes de trypanotolérance non associés à l'immunoréaction : un mécanisme inné contrôlant la parasitémie et le système hématopoïétique contrôlant l'anémie. Ceci suggère que la réponse immunitaire spécifique intervient peu dans la trypanotolérance, contrariant du coup les études effectuées qui ont évoqué jusque là le rôle essentiel des mécanismes immunologiques dans la trypanotolérance.

II. 3.3. Connaissance sur le génome des races/individus trypanotolérants

La trypanotolérance est une aptitude innée, héritable, et donc en partie sous contrôle génétique (Murray et *al.*, 1984). Des recherches déjà conduites, ou en cours, ont tenté d'identifier les gènes dont le polymorphisme allélique est responsable de la tolérance ou de la sensibilité des bovins aux trypanosomoses. Il faut préciser qu'au sein d'une même race taurine africaine, il existe une variabilité inter-individuelle d'origine génétique.

Les premières études se sont attachées à identifier des marqueurs capables de distinguer zébus et taurins (Maillard et *al.*, 1989 ; Queval et Petit, 1982), tels que les types de groupes sanguins, les polymorphismes des protéines plasmatiques (albumine Alb, transferrine Tf), les polymorphismes des systèmes enzymatiques (hémoglobine Hb, la phosphorylase, glucose phosphate déshydrogénase, la phosphoglucomutase et la purine nucléoside phosphorylase). Par exemple, l'association Hb^A/Alb^A est fréquente chez les taurins

(Belemsaga, 2001), les zébus possèdent les gènes A, B et C de l'Hb, tandis nous avons une répartition aléatoire de ces allèles chez les métis. Cependant, des différences ont été mises en évidence sur ces marqueurs, mais il s'agit sans doute de marqueurs « de race », c'est-à-dire de différences non liées à la trypanotolérance et qui ne peuvent pas servir pour un programme d'amélioration génétique.

Beaucoup d'études ont tenté d'identifier plus précisément les gènes (marqueurs génétiques) responsables de la trypanotolérance par plusieurs approches :

- l'approche génomique QTL (Hanotte et *al.*, 2003) sur des individus de 2^{ème} génération (F2) issus du croisement entre zébus Boran et taurins N'Dama. L'approche génomique QTL a pour objectif d'identifier les zones du génome où se trouvent les gènes responsables de la trypanotolérance. Cette approche a permis d'identifier 15 régions chromosomiques différentes caractéristiques de la trypanotolérance dont les plus importantes sont le contrôle de la parasitémie et le contrôle de l'anémie ;
- l'approche transcriptomique SAGE (Serial Analysis of Gene Expression) chez les N'Dama (Berthier et *al.*, 2003). L'étude a porté sur l'expression des gènes des leucocytes au cours d'une infection à *T. congolense*. Cette méthode a permis d'identifier 187 transcrits dont 92 gènes ; 23 cDNA/EST (Express Sequence Tag) et 72 transcrits inconnus ;
- les micro-arrays à partir des leucocytes des veaux N'Dama et Boran (Hill et *al.*, 2005).

Les deux études de génomique fonctionnelle (approche SAGE et micro-arrays) sont en cours pour identifier les différences d'expression, dans le tissu sanguin, le foie et la rate, entre zébus et taurins africains au cours d'une infection. L'association des études de génomique fonctionnelle et de caractérisation des QTL devrait permettre à terme d'identifier les gènes impliqués dans la trypanotolérance.

En conclusion, nous pouvons retenir que la trypanotolérance exprimée chez des espèces taurines est un phénomène relatif, gouverné par des facteurs immunologiques, génétiques, environnementaux, biochimiques,... Dans certaines conditions, on peut assister à une rupture voire une perte de cette trypanotolérance, notamment sous l'influence de maladies intercurrentes, de carences alimentaires ou d'une fatigue excessive.

DEUXIEME PARTIE :

Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Zone de l'étude

Le suivi a été réalisé dans la région de la Comoé au Sud-Ouest du Burkina Faso. Cette région est connue pour avoir une forte pression trypanosomienne (Cuisance, communication personnelle, et service régional d'élevage) et des sondages, effectués avant le démarrage du suivi, ont confirmé une très forte prévalence des infections à *T. congolense* et *T. vivax*.

La Figure 3, nous montre des cartes du site de l'étude.

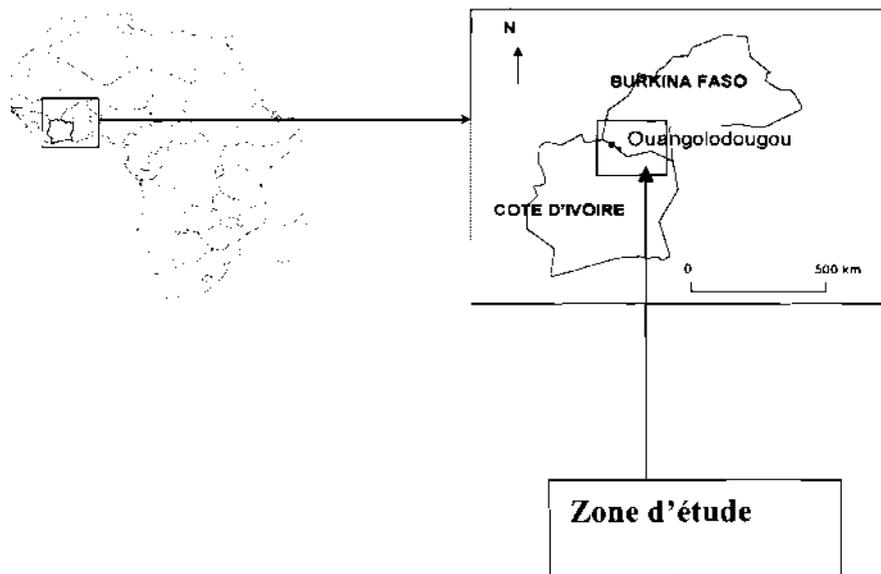


Figure 4 : Site de l'étude (carte : L. Guerrini)

I.1.2. Matériel animal

Le matériel animal était constitué au départ de 516 bovins, tous identifiés par des boucles auriculaires pendant la première phase du projet CORUS. Au niveau phénotypique

(forme de la tête, taille de la bosse, couleur), ces animaux étaient des métis zébus Peul X taurins Baoulé, à dominance plutôt zébu. Ces animaux appartenaient à soixante seize éleveurs, majoritairement d'ethnie Peulh (95%). Pour éviter de biaiser notre étude par des antécédents variables des bovins, le choix des bovins a été porté sur des jeunes dont l'âge était compris entre 6-26 mois; avec une prédominance de 86,63% de femelles. De plus, les animaux étaient tous élevés selon un système d'élevage transhumant, dans la même zone écologique.

A la fin du suivi, 363 individus appartenant à 47 élevages ont été retenus pour les analyses. En effet, certains animaux ont été écartés du suivi car : soit l'éleveur a choisi d'abandonner rapidement le suivi, soit le troupeau a été éliminé parce qu'il présentait une faible incidence à l'infection trypanosomienne, soit les animaux ont été vendus ou sont morts. Ces animaux ont été suivis en moyenne 22 fois (sur un maximum possible de 27 sessions) durant 2 ans. Des sérums ont été récoltés. A chaque session, un ensemble de données parasitologiques, cliniques, physiologiques a été analysé au CIRDES; et consigné pour chaque animal dans une base de données Access. Les animaux déclarés malades selon des critères (parasitémie positive et hémocrite < 25 ; ou animal déclaré malade par l'éleveur et hémocrite < 25 ; ou hémocrite < 21) ont été traités par 5 mg/kg à l'acéturate de diminazène à but curatif.



Figure 5: Métis Baoulé-Zébu peul
(Phénotype Baoulé dominant)



Figure 6: Métis Baoulé-Zébu peul
(Phénotype Zébu dominant)

I.1.3. Matériel de laboratoire

Pour nos tests ELISA-indirect, voici une liste de matériel de laboratoire qui a été utilisé :

- un incubateur (Figure 8) ;
- des pipettes à volume variable (5-1000 μ l) et multicanaux (5-50 et 50-300 μ l), embouts associés ;
- des plaques à microtitration en polystyrène, 96 puits, à fonds plats ;
- des plaques polypropylènes pour la dilution des sérums ;
- un réfrigérateur à +4°C et deux congélateurs à -20°C et à -80°C;
- la verrerie de laboratoire, un pH-mètre, un agitateur de plaques, une balance ;
- un spectrophotomètre couplé à un ordinateur pour la lecture des densités optiques (Figure 7)



Figure 7 : Spectrophotomètre de lecture de l'absorbance



Figure 8: Incubateur des plaques ELISA

I.2. Méthodes

I.2.1. ELISA-indirect

I.2.1.1. Echantillonnage

A partir de la combinaison des données (résultats) antérieures de la première phase du projet : de l'hématocrite ¹(bas, haut) et de parasitologie (Buffy-coat et PCR); soixante deux animaux ont été sélectionnés et 5 sérums, prélevés à 5 dates différentes, ont été testés par animal. La liste des sérums testés est à l'Annexe 2.

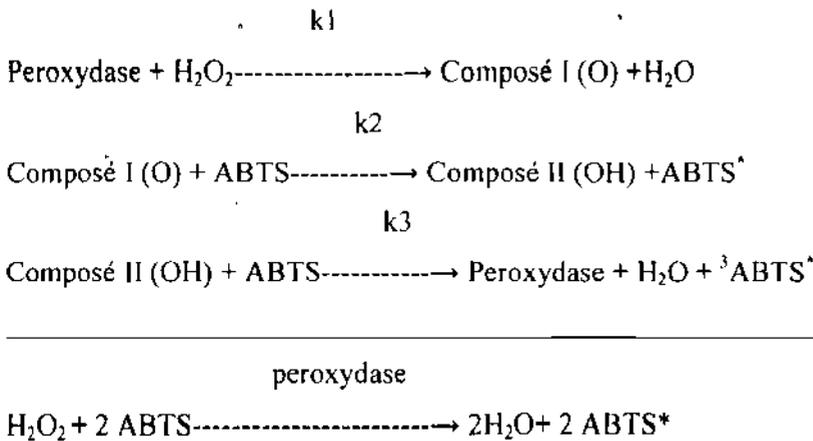
I.2.1.2. Principe de la méthode

La méthode ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) décrite par Engval et Perlmann (1971) a été adaptée au diagnostic de nombreuses maladies infectieuses du bétail

¹ Hématocrite <25 (bas), hématocrite >25 (haut)

(Voller et *al.*, 1976) dont la trypanosomose. Elle consiste à la détection des anticorps circulants.

L'ELISA-indirect est une variante de l'ELISA, et nous a permis au cours de notre étude de doser des anticorps de classe IgG. Son principe repose sur la sensibilisation des microplaques en polystyrène (phase solide) par des antigènes solubles (5-10 µg/ml) extraite du parasite (par sonication et ultra-centrifugation), de manière à former un immunosorbent. Les IgG, présents dans les sérums à tester, se fixent sur les antigènes et forment des complexes incolores, qui sont reconnus par des anti-IgG de bovins couplés à la peroxydase de Raifort (E.C.1.11.1.17). La révélation est faite à l'aide de deux substrats (peroxyde d'hydrogène / ²ABTS) selon la réaction ci-dessous. La lecture des plaques est faite à l'œil nu (Figure 10) ou à l'aide d'un spectrophotomètre du type MCC/340 à 405 nm couplé à un ordinateur (Figure 7) (Ferenc et *al.*, 1990). La figure 9 nous illustre le principe général de la méthode ELISA-indirect.



² 2,2'-azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulfonate]
³ Radical libre du substrat ABTS

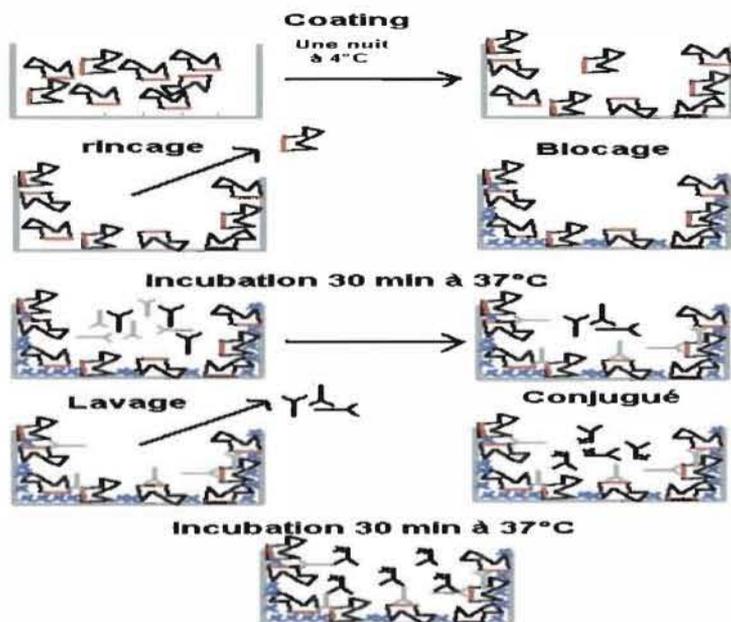


Figure 9 : Principe général de la méthode ELISA-indirect



Figure 10: Illustration des résultats finaux d'un test ELISA-indirect dans une plaque de microtitration ; les puits colorés traduisent la présence d'anticoprs anti-trypanosomes dans le sérum testé.

Cette technique immuno-enzymatique, ELISA-indirect n'est pas spécifique d'espèce car des réactions croisées envers les trypanosomes pathogènes (*T. vivax*, *T. congolense* et *T. brucei brucei*) (Desquesnes, 1997a & b) peuvent interférer avec les résultats. En revanche, elle est très sensible. La latence de la réponse immunitaire impose l'existence d'un délai de séroconversion dans les 2 semaines qui suivent l'infection. Mais la sensibilité est influencée par la persistance des anticorps après guérison ou après un traitement stérilisant (Desquesnes, 1997c), ce qui fausse souvent l'interprétation des résultats. Malgré toutes ces limites, la

méthode ELISA-indirect reste le meilleur outil dans les enquêtes épidémiologiques, car facilement reproductible, peu coûteuse et très sensible.

Pour chaque date, nos résultats initialement en DO (Densité Optique) ont été exprimés en PPR (Pourcentage de Positivité Relative) par rapport à des standards positifs et négatifs, dont PPRV pour *T. vivax* et PPRC pour *T. congolense*. La formule du PPR est la suivante :

$$\text{PPR (\%)} = \frac{\text{Moyenne DO (échantillon)} - \text{moyenne DO (témoin négatif)}}{\text{Moyenne DO (témoin positif)} - \text{moyenne DO (témoin négatif)}}$$

1.2.1.2. Préparation des antigènes

C'est ce protocole qui est utilisé au CIRDES (Bengaly, 2001).

Les prélèvements suspects (sang veineux ou cardiaque, suc ganglionnaire, liquide d'œdème,...) ou trypanosomes déjà isolés sont injectés par voie intra-péritoriale (la plus utilisée) ou sous-cutanée à des souris ou rats irradiés. Il s'agit d'une culture « in vivo » des trypanosomes qui se multiplient en absence de la réaction immunitaire de ces rongeurs. La parasitémie de l'animal est contrôlée régulièrement jusqu'à ce que la charge parasitaire atteigne la quantité requise. Le sang du rongeur est ensuite récolté par ponction cardiaque dans une seringue contenant de l'héparine.

Les antigènes sont purifiés à travers une colonne de DEAE-cellulose. Il s'agit d'une résine qui retient les hématies (charges négatives) et laisse passer les trypanosomes (charges positives). L'éluât obtenu est centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 mns et le culot de trypanosomes est soumis à 3 lavages avec du PBS (phosphate buffer saline). Puis 7 cycles de congélation (-20 ou -80°C) – décongélation (lente à 4°C ou à 37°C) sont effectués pour obtenir un lysat total. Une phase de sonication est souvent recommandée pour favoriser la rupture des membranes et la désagrégation des structures du parasite. Ensuite, on effectue une centrifugation (20 à 40000 tours pendant 20 mns). Le surnageant obtenu contient des protéines solubles du parasite et la concentration des protéines est déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre à DO de 260 à 280 nm (il peut être nécessaire de diluer l'échantillon de départ si la concentration protéique est trop élevée).

Les antigènes sont ainsi aliquotés dans des cryotubes et congelés à -80°C ou dans de l'azote liquide. Une aliquote régulièrement utilisée, peut être stockée à -20°C.

I.2.2. Données antérieures

Il s'agit des données de l'hématocrite et des données parasitologiques recensées lors de la première phase du projet CORUS.

Le taux d'hématocrite est le pourcentage de volume des globules rouges dans le sang. Il est déterminé après centrifugation (12500 tours/minute pendant 5 minutes) de microtubes héparinés remplis au 4/5^{ème} de leur volume de sang et bouché à l'une des extrémités de plasticine. La lecture des valeurs de l'hématocrite est ensuite réalisée à l'aide d'un abaque de lecture SIGMATM. Le taux d'hématocrite fournit une indication sur l'état général de l'animal.

Les études parasitologiques ont permis d'élaborer une base de données parasitologiques. Ces études ont consisté à rechercher la présence des trypanosomes dans le sang. Deux techniques ont été utilisées, dont la méthode d'examen direct ou "Buffy-coat technique" (BCT). Cette technique, encore appelée "technique de Murray (1977)", consiste à centrifuger le sang préalablement stocké dans des microtubes. Après la centrifugation, les trypanosomes présents dans le sang se concentrent dans l'interface globules rouges/globules blancs/plasma. Le contenu de l'interface ou Buffy-coat est déposé entre lame et lamelle, puis examiné en microscopie à fond noir (microscope LeitzTM, grossissement x 400). Si le BCT est négatif et le taux d'hématocrite est inférieur ou égal à 29%, l'ADN parasitaire est amplifié par la PCR (Polymerase Chain Reaction). La PCR est qualitative et vu son coût elle n'a pas été utilisée pour tous les sérums.

I.2.3. Analyses statistiques des résultats

Une base de données sur Excel a été établie à partir de nos résultats. Excel nous a permis de calculer les différentes prévalences. La formule de la prévalence est :

$$P = \frac{m}{n}$$

P = prévalence des différentes infections à un temps donné t dans une population donnée

m = nombre d'individus infectés au temps t

n = nombre d'individus à risque dans la population au temps t

Les calculs d'écart type ont été réalisés avec le logiciel R version 2.4.1. Les logiciels R et Excel ont servi à la réalisation des différents graphiques. L'estimation de l'effet de la prévalence à *T. congolense* et *T. vivax* sur l'hématocrite a été testée par un test de Student et

de l'anova. L'influence du groupe d'éleveurs et de la session de prélèvement sur la prévalence a été testée par un modèle linéaire généralisé (de la famille des binomiales) qui permet de modéliser la probabilité d'être infecté, $P(Y=1)$, en fonction de la session et du groupe d'éleveur simultanément. En effet, le modèle linéaire généralisé (glm) permet l'étude d'une variable qualitative qui prend les modalités 0 (non infecté) ou 1 (infecté). Nous avons choisi de travailler sur les groupes d'éleveurs (ici 3 groupes différents) car il y avait parfois trop peu de données par éleveur. Les groupes d'éleveurs sont constitués des propriétaires des animaux. Ils peuvent appartenir au même village ou non.

Les effets et les différences sont déclarés significatifs pour $p < 0,05$, hautement significatif pour $p < 0,01$ et très hautement significatif pour $p < 0,001$.

Chapitre II : Résultats et discussions

II.1. Résultats

II.1.1. Prévalences

II.1.1.1. Prévalences sérologiques

Les séroprévalences obtenues sur les 242 prélèvements (total des prélèvements de sérums sur les 5 sessions) montrent une prédominance de *T. vivax* sur les trois premières dates (juin 2003, juillet 2003 et décembre 2003) tandis qu'en juillet 2004 et janvier 2005 ce sont les infections à *T. congolense* qui prédominent (Figure 11).

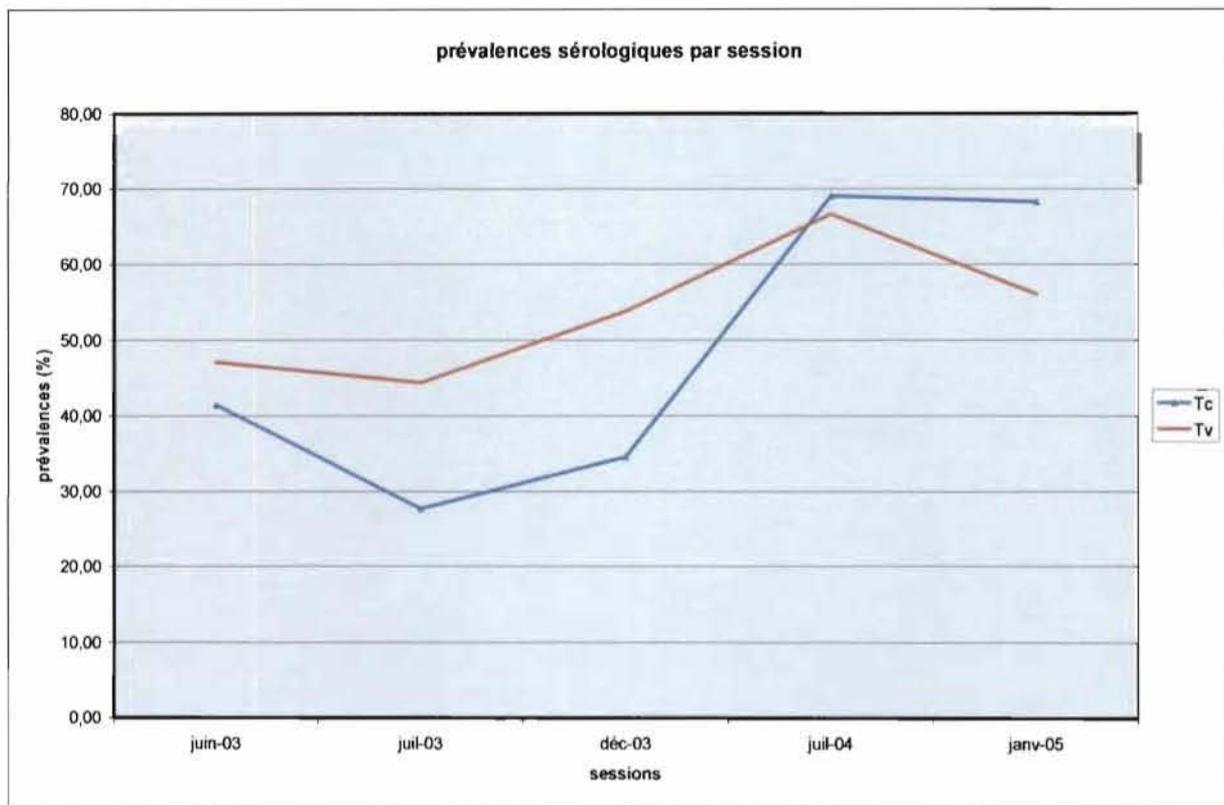


Figure 11: Profil de la séroprévalence au cours du suivi

II.1.1.2. Prévalences parasitologiques

Les analyses parasitologiques ont été qualitatives : présence de parasite (1) ou absence de parasite (0). La figure 12 nous montre une prédominance de *T. vivax* par rapport à *T. congolense* sur toutes les dates, sauf à la dernière (janvier 2005) où les prévalences s'égalisent.

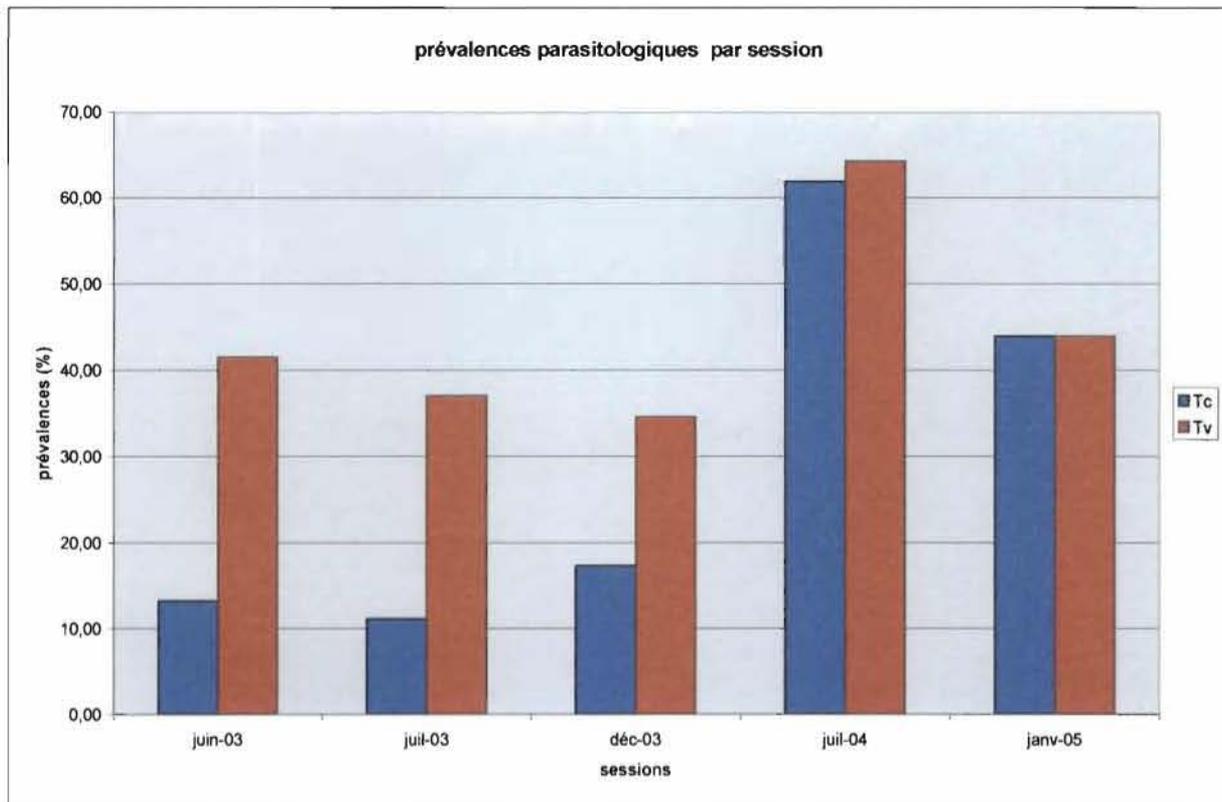


Figure 12: Profil des prévalences parasitologiques au cours du suivi

II.1.1.3. Comparaison des prévalences

Les séroprévalences restent au dessus des prévalences parasitologiques (Figures 13 & 14) pour les deux espèces considérées.

La visualisation en boxplots (ou boîtes à moustache) des séroprévalences (PPR) en fonction des statuts parasitologiques (infecté ou non infecté) montre qu'il y a une différence significative entre les PPR des animaux infectés et les PPR des animaux non infectés (Figure 15). L'analyse des variances en faisant une anova confirme qu'il existe un effet très hautement significatif entre la parasitémie 0/1 sur les réponses immunologiques par ELISA-indirect ou PPR ($p < 0,001$).

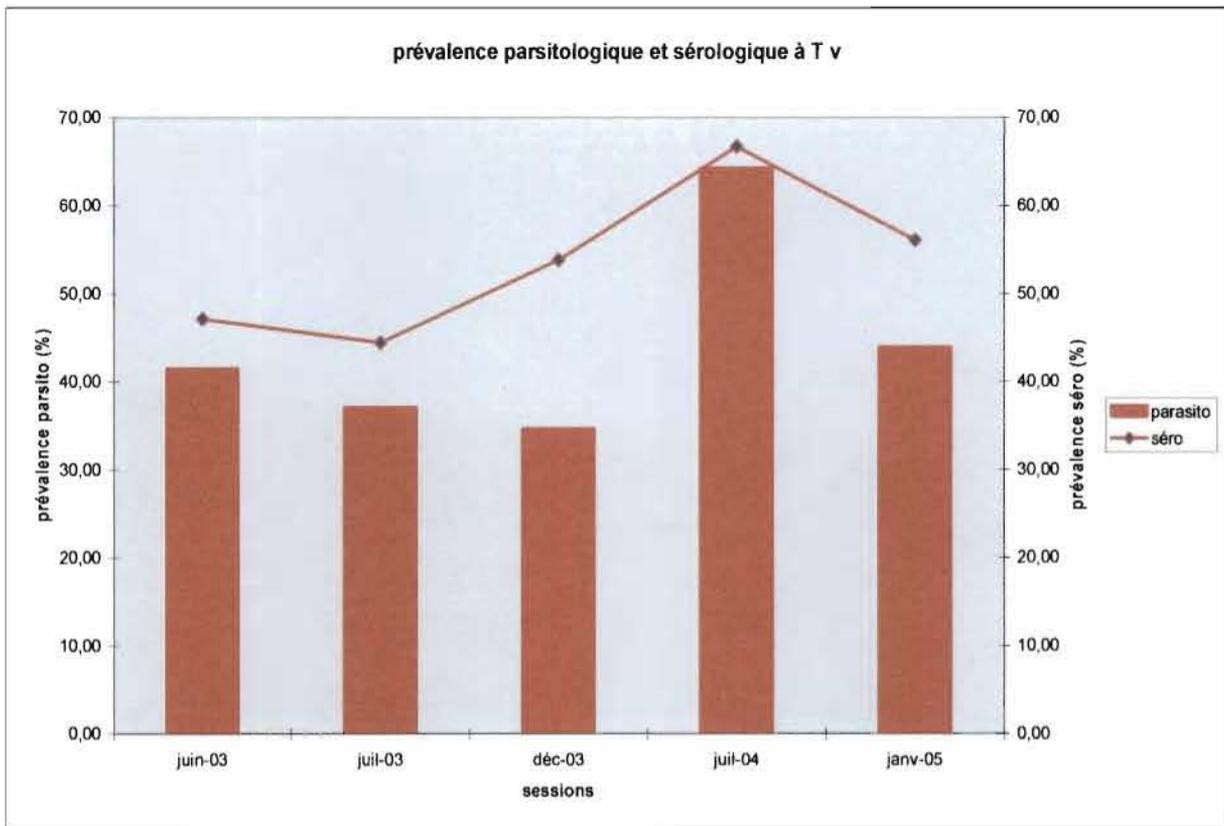


Figure 13: Comparaison des prévalences sérologiques et parasitologiques à *T. vivax*

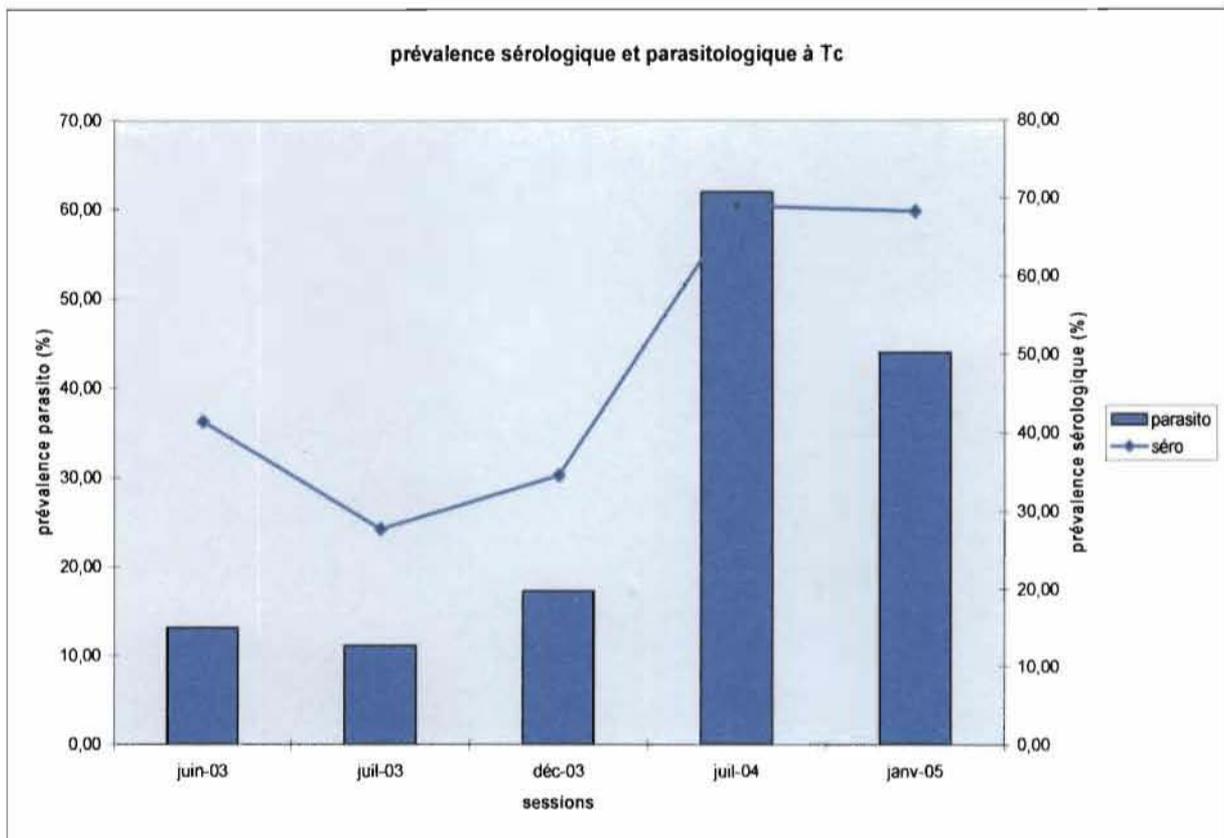


Figure 14: Comparaison des prévalences sérologiques et parasitologiques à *T. congolense*

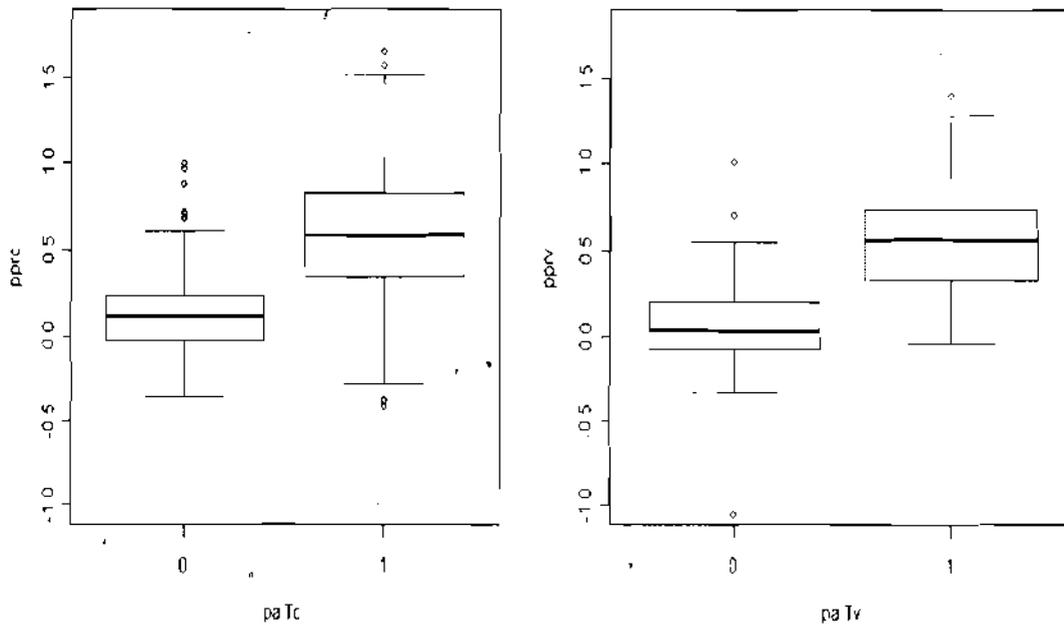


Figure 15: Boxplots des PPR en fonction de parasitémie 0/1

Les prévalences ont été influencées par beaucoup de facteurs.

II.1.1.4. Facteurs de variation des prévalences observées

Deux espèces pathogènes majeures du bétail, *T. vivax* et *T. congolense* ont été détectées pendant les 5 sessions ou dates de prélèvements. Quelle que soit la méthode de diagnostic utilisée (parasitologique ou sérologique), nous avons une prédominance des prévalences en juillet 2004 (saison pluvieuse) et janvier 2005 (saison sèche). De plus, nous constatons une fluctuation annuelle des prévalences. C'est ainsi qu'en 2003 les prévalences sont restées inférieures à celles de 2004.

Les séroprévalences (technique ELISA) sont restées supérieures à toutes les sessions aux prévalences parasitologiques (BCT + PCR).

Les tests du glm ont permis de montrer que :

- Le groupe d'éleveurs a un effet extrêmement significatif sur la prévalence, qu'elle soit mesurée par sérologie ou parasitologie, et quelque soit le parasite considéré. Notamment, les animaux du 1^{er} groupe d'éleveurs ont un risque nettement plus élevé d'être infectés que ceux du 2^e et 3^e groupe d'éleveurs (différence hautement significative de l'ordre de 10^{-7} à 10^{-2} selon la technique diagnostique utilisée), la différence est plus marquée pour *T. vivax* que pour *T. congolense*.

- L'effet de la session 4 ou juillet 2004 (dans le glm, les sessions 1, 2, 3, et 5 sont comparées à la session 4) est également très significatif et le risque d'y être infecté est plus élevé qu'aux autres sessions. Ce risque est plus marqué pour *T. congolense* ($p < 0,001$ pour la parasitologie et $< 0,01$ pour la sérologie) que pour *T. vivax* ($p < 0,05$ pour la parasitologie et $p = 0,06$ pour la sérologie). Notons que l'interaction des deux effets (effet groupe éleveurs et effet session) était non significative.

1.1.2. Relation entre la parasitémie et l'hématocrite

L'effet de l'infection sur l'hématocrite est décelable sur les boxplots (Figure 16). La figure 16 montre que si les animaux sont infectés, leurs taux hématocrites baissent par rapport à ceux des non infectés. L'analyse anova atteste que cette baisse est plus significative lors d'une infection à *T. congolense* ($p < 0,001$) qu'à *T. vivax* ($p < 0,05$).

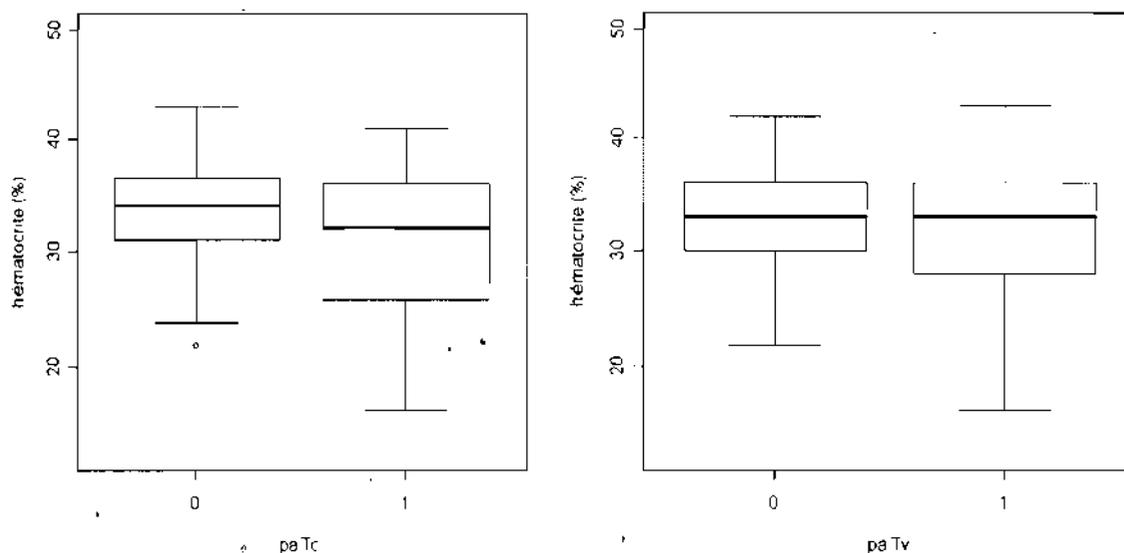


Figure 16: Boxplots du taux d'hématocrite en fonction de parasitémie 0/1

1.1.3. Choix du classement des animaux

Les résultats de l'ELISA, exprimés en PPRC et PPRV, ont été combinés à la parasitémie 0/1 évalués sur les 5 sessions. De plus, nous avons adjoint le taux d'hématocrite analysés sur les 27 sessions pour faciliter le classement des animaux. Les méteils ont été scindés en 2 groupes :

- « les sensibles » : ils sont constitués des animaux présentant une forte immunoréaction à l'ELISA (PPR > 20%), présentant une parasitémie positive à certaines dates et un taux d'hématocrite bas (< 27%) à une session quelconque;

- « les tolérants » : il s'agit des animaux ayant une forte immunoréaction (PPR > 20%), présentant une parasitémie positive à certaines dates et ayant un taux d'hématocrite haut (> 27%) durant toutes les sessions de suivi.

Le tableau V résume les valeurs extrêmes (minimum et maximum) et la moyenne d'hématocrite dans nos 2 groupes. L'objectif visé est ensuite d'identifier les immunogènes contre lesquels sont dirigés les IgG détectés par l'ELISA dans les deux catégories (sensibles / tolérants) d'individus par l'immunoblot (une autre méthode immuno-enzymatique). L'immunoblot est en cours au CIRDES.

Tableau V : Comparaison des valeurs de l'hématocrite des tolérants et des sensibles»

		Valeurs de l'hématocrite (%±SD)		
		minimum	maximum	moyenne
Animaux	Tolérants à <i>T v</i>	27	45	35,57±3,7
	Tolérants à <i>T c</i>	27	48	36,58±4,31
	Sensibles à <i>T v</i>	15	44	32,24±5,78
	Sensibles à <i>T c</i>	15	44	31,71±5,4

II.2. Discussions

Le choix des animaux de notre étude a porté sur les moins âgés (6 à 26 mois) car cela nous a permis de diminuer l'influence des infections antérieures. En effet, en matière de trypanosomoses animales, pour prétendre avoir une population relativement homogène, l'âge se montre être un critère adapté. De plus, 86,63% de ces métis étaient des femelles, parce que ces dernières sont gardées plus longtemps dans les troupeaux que les mâles qui sont généralement sujets à des prêts ou à des ventes. Le choix des métis s'explique sur le plan des études génétiques car seul l'utilisation d'animaux métissés depuis de nombreuses générations permettra d'affiner la taille des QTL et d'identifier les gènes impliqués dans la trypanotolérance suite aux recombinaisons chromosomiques. Sur le plan immunologique, on peut s'attendre qu'en comparant la réponse des métis tolérants ou sensibles, à pouvoir distinguer des différences liées à la trypanotolérance et de celles liées à la race. L'étude ici avait pour objectif de classer les animaux en « tolérants » et « sensibles » à partir de leurs réponses à l'infection (physiologique, immunologique), et déterminer les immunogènes contre lesquels ils réagissaient (étude en cours au CIRDES et non présentée dans ce mémoire).

Les séroprévalences observées au cours de notre étude, sont restées supérieures aux prévalences parasitologiques, car l'ELISA-indirect est une méthode très sensible et qui identifie les infections actuelles (hors la période de séroconversion) et passées. Toutefois, la technique parasitologique (BCT) est plus spécifique que l'ELISA. En effet, la présence des anticorps en ELISA ne traduit pas forcément l'existence d'une infection courante (Bengaly et al., 2001). La persistance des immunoglobulines étant de 2 à 3 mois après la guérison ou un traitement stérilisant (Desquesnes, 1997c). L'ELISA s'avère moins précise car des réactions croisées sont rapportées entre les différentes espèces de trypanosomes (Ferenc et al., 1990). D'autres faits peuvent expliquer la supériorité des résultats sérologiques par rapport à ceux parasitologiques. En effet, il a été démontré la possibilité de retrouver les trypanosomes dans des milieux extravasculaires (Taylor, 1998). C'est ainsi que *T. congolense* peut s'accrocher aux cellules endothéliales (Banks, 1978), *T. vivax* a également la capacité d'envahir d'autres tissus : le myocarde, les ganglions lymphatiques et la moelle osseuse (Gardinier, 1989). Ce qui diminue les chances de les retrouver en microscopie étant donné que ces observations parasitologiques ont été faites à partir du sang périphérique. De plus, notre étude a montré une liaison significative ($p < 0,05$) entre, les PPR et la parasitémie, pour expliquer les taux d'anticorps élevés des animaux infectés.

Les prévalences (sérologiques et parasitologiques) montrent une prédominance de *T. vivax* par rapport à *T. congolense*. Cette prédominance peut s'expliquer par l'âge de nos animaux (6 à 26 mois). En effet, selon Murray et al. (1982), les animaux jeunes font plus d'infections à *T. vivax* qu'à *T. congolense*, auxquelles ils sont moins sensibles. Des données antérieures de la première phase du projet avaient montré une moyenne d'âge de 16 mois pour les infectés à *T. vivax* et de 19 mois pour ceux à *T. congolense* (Dayo, 2004). Ceci peut aussi expliquer les niveaux d'infection à *T. vivax* et *T. congolense* qui se rejoignent en juillet 2004 et janvier 2005, avec le vieillissement des animaux (Figure 11 & 12). D'autre part, *T. vivax* peut être plus abondant dans la zone, car il est plus transmis par les différentes espèces de trypanosomes que *T. congolense* (Itard, 2000). Une autre hypothèse est la présence possible de vecteurs mécaniques (taons et stomoxes) dans la zone de l'étude qui transmettraient *T. vivax* (d'Amico et al., 1996 ; Kalu, 1996). Notons qu'une étude entomologique ultérieure dans la zone d'étude pourrait mieux attester ces hypothèses.

Des facteurs ont influencé les prévalences obtenues. C'est ainsi que la prévalence élevée en juillet 2004 (début de saison des pluies) pourrait être le résultat des infections massives de la fin de la saison sèche. En effet, en saison sèche, les bovins sont fatigués suite à la transhumance et au manque de fourrage ; et ils sont en contact avec les glossines aux points d'abreuvement, rivières et affluents (De la Rocque et al., 1999), ou dans les pâturages aux abords de la forêt classée. En outre, les prévalences en 2003 sont restées inférieures à celles de 2004, peut-être en relation avec les fluctuations climatiques saisonnières que connaît le Burkina Faso et qui influencent ainsi l'abondance voire la distribution des glossines. Des variations de l'abondance et la distribution des glossines peuvent également expliquer des variations de prévalence relatives entre *T. vivax* et *T. congolense* en année 1 et 2 du suivi. Une autre explication pourrait être également un effet cumulatif des infections suite à leur persistance dans le temps en absence de traitement ou en cas de résistance des trypanosomes aux trypanocides utilisés. D'autre part, l'effet d'appartenance des animaux au groupe d'éleveurs influence également significativement la prévalence. En effet, le risque trypanosomien subi par les animaux varie en fonction de la conduite d'élevage (points d'eau et pâturages fréquentés) et montre donc que, même pour des éleveurs proches, voire appartenant au même village, une hétérogénéité dans le risque d'être infecté existe.

L'effet de la parasitémie sur les valeurs de l'hématocrite s'est avéré significatif. Les animaux infectés à *T. congolense* ont eu un taux d'hématocrite qui a baissé considérablement ($p < 0,001$) que chez ceux infectés à *T. vivax* ($p < 0,05$). Ceci va dans le sens des travaux

antérieurs qui ont montré que *T. congolense* serait plus pathogène que *T. vivax* (Trail et al., 1993).

Le classement de nos animaux (en tolérants et sensibles) s'est fait par compilation des résultats de sérologie positive, de parasitémie positive et le maintien du taux d'hématocrite à la normale durant tout le suivi. L'objectif initial de ce classement était de détecter par la technique de l'immunoblot les antigènes immunodominants dans les deux groupes. Des essais pour la mise au point d'un protocole de l'immunoblot sont actuellement en cours au CIRDES.

Conclusion et recommandations

Notre étude s'insère dans la deuxième phase du projet CORUS, la première étant la caractérisation (recherche de marqueurs génétiques de tolérance / sensibilité). Ce travail nous a permis d'étudier la réponse humorale de classe IgG des métis et par la suite les classer en tolérants et sensibles à la trypanosomose bovine.

Les techniques sérologiques et parasitologiques ont montré des prévalences plus élevées à *T. vivax* qu'à *T. congolense*. Ces prévalences ont subi l'influence de la date de prélèvement et du groupe d'éleveurs. De plus, la parasitémie a un effet de baisse sur le taux d'hématocrite. Il faut noter cependant que l'étude n'avait pas pour but une étude épidémiologique de la trypanosomose mais l'étude de la trypanotolérance. Le protocole n'est donc pas adapté à une étude épidémiologique rigoureuse qui nécessiterait par exemple un traitement systématique des animaux détectés positifs, par rapport à notre étude où nous suivons l'évolution de l'animal avant un traitement éventuel.

Il est important de souligner quelques problèmes inhérents à notre étude qui ont retardé la mise en œuvre des travaux et qui nous ont empêché de présenter d'autres résultats. Ces problèmes ont été notamment la rupture des consommables de laboratoire (plaques ELISA) au cours des manipulations et le retard dans l'approvisionnement des membranes de nitrocellulose, si bien que nous n'avons pas pu détecter les immunogènes qui distingueraient qualitativement les tolérants des sensibles par immunoblot. Notons que l'immunoblot est en cours au CIRDES et nous espérons dans un futur proche parfaire ce travail. L'effet du groupe d'éleveurs sera sans doute à prendre en compte pour corriger le phénotype des individus sensibles ou tolérants.

De plus, nous n'avons pas pu tester les autres classes d'anticorps (IgE, IgA, IgM et IgD), suite à une inaccessibilité des conjugués sur le marché et à un manque de protocoles appropriés ; bien que les IgE et IgA soient impliqués dans plusieurs parasitoses. Il sera donc intéressant d'étudier leur participation dans la trypanosomose bovine dans les études ultérieures.

D'un point de vue général, l'exploitation des bovins trypanotolérants demeure une stratégie de lutte naturelle contre la trypanosomose bovine. Le métissage contrôlé des animaux trypanotolérants avec les animaux trypanosensibles peut être une voie prometteuse pour tenter d'associer trypanotolérance et accroissement de la productivité dans les milieux à

pression trypanosomienne modérée. La promotion efficace d'individus métis nécessite l'identification de marqueurs immunologiques et génétiques de la trypanotolérance. Toutefois, il faudra éviter le métissage anarchique, pour ne pas perdre l'ensemble des caractères d'intérêt contenus dans l'une ou l'autre des races pures, et conserver, promouvoir l'élevage des races locales dans des environnements spécifiques.

Références bibliographiques

- 1- Affognon H., Grace D., Dao D., Diall O., Randolph T. et Waibel H., 2005. Contrôle de la trypanosomose animale dans la zone cotonnière de l'Afrique de l'Ouest : Connaissances, Attitudes et Pratiques (CAP) des éleveurs. In : 28^{ème} réunion du conseil scientifique international pour la recherche et la lutte contre les trypanosomoses (CSIRLT). Addis Abeba, Ethiopie, 26-30 septembre 2005, 252-253.
- 2- Akol G.W. et Murray M., 1986. Parasite kinetics and immune responses in efferent prefermoral lymph draining skin reactions induced by tsetse transmitted *Trypanosoma congolense*. *Veterinary Parasitology*, **19**, 281-293.
- 3- Authié E., 2003. Trypanosomoses : physiopathologie et immunologie. In : Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et régions chaudes. Tome 2 : Maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaires. Ed. TEC & DOC. Lavoisier, 1669-1677.
- 4- Authié E., Duvallet G., Robertson C., et Williams D. J. L., 1993b. Antibody response to a 33 kDa cysteine protease of *Trypanosoma congolense*: relationship to "trypanotolerance" in cattle. *Parasite immunology*, **15**: 465-474.
- 5- Authié E; Muteti D.K. et Williams D.J.L., 1993a. Antibody responses to invariant antigens of *Trypanosoma congolense* in cattle of differing susceptibility to trypanosomiasis. *Parasite Immunology*, **15**: 101-111.
- 6- Banks K.L., 1978. Binding of *Trypanosoma congolense* to the walls of small blood vessels. *J Protozool*, **25**: 241-245.
- 7- Belemsaga D. M. A., 2001. La trypanotolérance. In: Diagnostic et contrôle des hémoparasitoses animales et de leurs vecteurs ; Cours international de formation tenu du 5 au 17 novembre 2001 au CIRDES , Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. CIRAD-EMVT / CIRDES, 113-121.
- 8- Bengaly Z., 2001. Techniques parasitologiques de laboratoire. In : Diagnostic et contrôle des hémoparasitoses animales et de leurs vecteurs ; Cours international de formation tenu du 5 au 17 novembre 2001 au CIRDES , Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. CIRAD-EMVT / CIRDES, 53-68.
- 9- Bengaly Z., Ganaba R., Sidibé I. et Desquesnes M., 2001. Trypanosomose animale chez les bovins dans la zone Sud-soudanienne du Burkina Faso. Résultats d'une enquête sérologique. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **54** (3-4) : 221-224.

- 10- Berthier D., Quere R., Thevenon S., Belemsaga D., Piquemal D. et al., 2003. Serial analysis of gene expression (SAGE) in bovine trypanotolerance: preliminary results. *Genet. Sel. Evol.*, **35**(1): S35-S47.
- 11- Bishop S.C. et Mackenzie K.M., 2003. Genetic management strategies for controlling infectious diseases in livestock populations. *Genet. Sel. Evol.*, **35** (Suppl.1): S3-S17.
- 12- Borst P., 2002. Antigenic variation and allelic exclusion. *Cell*, **109**:5-8.
- 13- Bradley D., 1995. Genetic characterisation of cattle in West and Central Africa. Dpt Genetics, Trinity College, Dublin 2. Annual report.
- 14- Buza J. et Naessens J., 1999. Trypanosome non-specific IgM antibodies detected in serum of *Trypanosoma congolense*-infected cattle are polyreactive. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **69** : 1-9.
- 15- Cazalbou L., 1906. La Souma. *Rev. gent Med. vet.* **8**: 240.
- 16- CIPEA, 1979. Le bétail trypanotolérant d'Afrique occidentale et centrale. Tome I: situation générale. CPEA Monographie 2, 155p.
- 17- Clausen P. H., Sidibé I., Bassinga A., Richard X., Bauer B. et Pohilt H., 1993. Pathogenesis and pathology of African trypanomosis in Baoulé, N'Dama/Baoulé, cross bred and zebu cattle in Burkina Faso 1. Clinical performance under high natural tsetse challenge. *Trop. Med. Parasitol.*, **44**, 99-107.
- 18- Clutton-Brock J., 1989 Cattle in Ancient North Africa. In: *The Walking Larder Patterns of Domestication, Pastoralism, and Predation* (ed. Clutton-Brock J.), pp. 200-214. Unwin-Hyman Ltd, London.
- 19- d'Amico F., Gouteux J.P., le Gall F., et Cuisance D., 1996. Are stable flies (Diptera : Stomoxyinae) vectors of *Trypanosoma vivax* in the Central African Republic. *Vet. Res.* **27**, 161-170.
- 20- d'Ieteren G.D.M., Authié E., Wissocq N. et Murray M., 1998. Trypanotolerance, an option for sustainable livestock production in areas at risk from trypanosomosis. In: *Revue Scientifique et technique de l'Office International des Epizooties*, **17**: 154-175.
- 21- Dayo G.-K., 2004. Contribution à l'identification de marqueurs génétiques de tolérance/sensibilité des bovins aux trypanosomoses. Memoire de DEA de Biologie Animale, Université Cheick Anta Diop de Dakar, 18 juin 2004, 68p.

- 22-De la Rocque S., Bengaly Z., Michel J.F., Solano P., Sidibé I. et Cuisance D., 1999.** Importances des interfaces spatiales et temporelles entre les bovins et les glossines dans la transmission de la trypanosomose animale en Afrique de l'Ouest. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **52**: 215-222.
- 23- Desquesnes M., 1997a.** Evaluation of the simple PCR technique for the diagnosis of *Trypanosoma vivax* in the serum of the cattle in comparison to parasitological techniques and antigen-enzyme linked immunosorbent assay (Ag-ELISA). *Acta Tropica* **65**, 139-148.
- 24- Desquesnes M., 1997b.** Standardisation internationale et régionale des épreuves immuno-enzymatiques: méthode, intérêts et limites. *Rev. Sci. Tech. Off. int. Epiz.* **16**, 809-823.
- 25- Desquesnes M., 1997c.** Les trypanosomes du bétail en Amérique Latine, étude spéciale dans le Plateau des Guyanes. Thèse pour le doctorat de Parasitologie, Lille, 26 septembre 1997 ; 409 p.
- 26- Doutressoule, G., 1947.** L'élevage en Afrique Occidentale Française. Larousse, Paris.
- 27- Duvallet G., 1987.** Bases biologiques de la trypanotolérance et caractérisation du phénomène. Rapport CRTA/IEMVT. Bobo-Dioulasso. Burkina Faso.
- 28- Duvallet G. et Touré S.M., 1993** Characterization and mechanisms of trypanotolerance in Baoulé cattle. In: Towards increased use of trypanotolerance: current research and future direction. ILRAD, Nairobi, Kenya. 26-29 April 1993.: 43-50.
- 29- Duvallet G., Frézil J.-L., et Itard J., 2003.** Trypanosomoses : agents pathogènes. In : Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et régions chaudes. Tome 2 : Maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaires. Ed. TEC & DOC. Lavoisier, 1617-1625.
- 30- Emery D.L., Wells P.W., et Tenywa T., 1980.** *Trypanosoma congolense*: specific transformation in vitro of leukocytes from infected or immunized cattle. *Experimental Parasitology*, **50**, 358-368.
- 31- Engval E. et Perlmann P., 1971.** Enzyme linked immunosorbent assay: quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry* **8**, 871.
- 32- Ferenc S.A., Stopinski V. et Courtney C.H., 1990.** The development of an enzyme-linked immunosorbent assay for *Trypanosoma vivax* and its use in a seroepidemiological survey in the eastern caribbean basin. *Int. j. Parasitol.* **20**, 51-56.

- 33- Gardinier P.R., 1989. Recent studies of the biology of *Trypanosoma vivax*. *Advances in Parasitology*, 28: 229-316.
- 34- Hanotte O., Bradley D.G., Ochieng J.W., Verjee Y., Hill E.W. et Rege J.E.; 2002 African pastoralism: genetic imprints of origins and migrations. *Science*, 296, 336–339.
- 35- Hanotte O., Ronin Y., Agaba M., Nilsson P., Gelhaus A., Horstmann R., Sugimoto Y., Kemp S., Gibson J., Korol A., Soller M. et Teale A.J., 2003. Mapping of quantitative trait loci controlling trypanotolerance in a cross of tolerant West African N'Dama and susceptible East African Boran cattle. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 100, 7443–7448.
- 36- Hanotte O., Tawah C.L., Bradley D.G. , Okomo M., Verjee Y., Ochieng J. et Rege J.E.O., 2000. Geographic distribution and frequency of a taurine *Bos taurus* and an indicine *Bos indicus* Y specific allele amongst sub-Saharan African cattle breeds. *Molecular Ecology*, 9, 387–396.
- 37- Hill E.W., O’Gorman G.M., Agaba M., Gibson J.P., Hanotte O., Kemp S.J., Naessens J., Còussens P.M. et MacHugh D.E., 2005. Understanding bovine trypanosomiasis and trypanotolerance: the promise of functional genomics. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 105, 247–258.
- 38- <http://www.fao.org/docrep/009/p5178f/P5178F07.htm> (date de consultation: juillet 2006)
- 39- <http://www.futura-sciences.com/comprendre/d/dossier664-3.php> (date de consultation: mars 2007)
- 40- Itard J., 1981. Les Trypanosomoses Animales Africaines. Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Tome II, IEMVT : Manuels de précis d'élevage N°10, 305-469.
- 41- Itard J., 2000. Les trypanosomoses animales africaines. In: Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Chartier C., Itard J., Morel PC et Troncy PM (Eds). Edition Tec&Doc. Lavoisier/Edition médicales nationales, Paris, 206-450p.
- 42- Itard J., Cuisance D. et Tacher G., 2003. Trypanosomoses : historique-répartition géographique. In : Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et régions chaudes. Tome 2 : Maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaires. Ed. TEC α DOC. Lavoisier, 1607-1625.
- 43- Itard J. et Frézil J.-L., 2003. Trypanosomoses : symptômes et lésions. In : Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et régions chaudes. Tome 2 : Maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaires. Ed. TEC α DOC. Lavoisier, 1657-1667.

- 44- Jabbar M. et Diedhiou, M., 2003.** "Does breed matter to cattle farmers and buyers? Evidence from West Africa" *Ecological Economics*, **45**, 461-472.
- 45- Jahnke H.E., 1984.** Systèmes de production animale et développement de l'élevage en Afrique tropicale, CIPEA, Addis-Ababa, Ethiopia.
- 46- Kalu A.U., 1996.** Acute trypanomosis in a sedentary herd on the tsetse-free Jos Plateau, Nigeria. *British Vet. J.* **152**, 477-479.
- 47- Kristjanson P.M., Swallow B.M., Rowlands G.J., Kruska R.L. et P.N. de Leeuw, 1999.** "Measuring the costs of African animal trypanosomiasis, the potential benefits of control and returns to research." *Agricultural Systems* **59**: 79-98.
- 48- Luckins A.G. et Gray A.R. 1978.** An extravascular site of development of *Trypanosoma congolense*. *Nature* **272**: 613-614.
- 49- MacHugh D.E., Shriver M.D., Loftus R.T., Cunningham P. et Bradley D.G., 1997** Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics*, **146**, 1071-1086.
- 50- Maillard J.C., Kemp S.J., Leveziel H. et al., 1989.** Le complexe majeur d'histocompatibilité de bovins ouest-africains. Typage d'antigènes lymphocytaires (BoLA) de taurins Baoulés (*Bos taurus*) et de zebus soudaniens (*Bos indicus*) du Burkina Faso (Afrique Occidentale). *Revue d'Elevage et de Médecine vétérinaire des pays tropicaux* **42** : 275-281.
- 51- Mansfield J. M. et Paulnock D. M., 2005.** Regulation of innate and acquired immunity in African trypanosomiasis. *Parasite Immunology*, **27**, 361 -371.
- 52- Mattioli R.C., Faye J.A. et Buïscher P., 1999.** Susceptibility of N'Dama cattle to experimental challenge and cross-species superchallenges with bloodstream forms of *Trypanosoma congolense* and *T. vivax*. *Vet. Parasitol.* **86**, 83-94.
- 53- Missohou A. et Adakal E. H., 2004.** Situation actuelle et perspectives d'une gestion durable des ressources génétiques bovines d'Afrique de l'Ouest. Colloque international sur les ressources génétiques. Ouagadougou (Burkina Faso) : 167-173.
- 54- Murray M. et Dexter T.M., 1988.** Anaemia in bovine African trypanosomiasis. *Acta Trop.* **45**, 389-432.

- 55- Murray M., Clifford D.J., Gettingby G., Snow W.F. et McIntyre W.I.M., 1981. A study of the susceptibility of African trypanosomiasis of N'Dama and Zebu cattle in an area of *Glossina morsitans submorsitans* challenge. *Vet. Rec.* **109**, 503-510.
- 56- Murray M., Morrison W.I. et Whitelaw D.D., 1982. Host susceptibility to African trypanosomiasis: trypanotolerance. *Adv. Parasitol.* **21**, 1-68.
- 57- Murray M., Trail J.C.M., Davis C.E. et Black S.J., 1984. Genetic resistance to African trypanomiasis. *The journal of infectious diseases*, vol. **149**, n°3.
- 58- Naessens J., 2006. Bovine trypanotolerance: A natural ability to prevent severe anaemia and haemophagocytic syndrome? *International Journal for Parasitology* **36** :521-528.
- 59- Naessens J., Stephen G.A.L., Kennedy D J., Kemp S.J. et Teale A.J., 2003. Responses of bovine chimaeras combining trypanosomosis resistant and susceptible genotypes to experimental infection with *Trypanosoma congolense*. *Veterinary Parasitology* **111** :125-142.
- 60- Naessens J., Teale A.J. et Sileghem M., 2002. Identification of mechanisms of natural resistance to African trypanosomiasis in cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **87**, 187-194.
- 61- Pierre C., 1906. L'élevage dans l'Afrique Occidentale Française. Paris, Gouvernement général de l'A.O.F. (Inspection de l'Agriculture).
- 62- Pinder M., Bauer J., Fumoux F. et Roelants G.E., 1987. Trypanotolerance. An individual not a breed character. *Acta tropica* **40**: 99-104.
- 63- Queval R., et Petit J.P., 1982. Polymorphisme biochimique de l'hémoglobine de populations bovines trypanosensibles, trypanotolérantes et de leur croisement dans l'Ouest Africain. *Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des pays tropicaux*, **35** : 137-146.
- 64- Rege J.E.O., Aboagye G.S. et Tawah C.L., 1994. Shorthorn cattle of West and Central Africa. IV. Production characteristics. *World Animal Review*, **78**, 33-48.
- 65- Rege J.E.O., 1999. The state of African cattle genetic resources. I. Classification framework and identification of threatmened and extinct breeds. *Bulletin d'information sur les ressources génétiques animales*, **25**, 1-26.
- 66- Roelants G.E., Tamboura I., Sidiki D.B., Bassinga A. et Pinder M. 1983. Trypanotolerance. An individual not a breed character. *Acta Tropica* **40**: 99-104.

- 67- Schopf L.R., Filutowicz H., Bi X.-J. et al., 1998. Interleukin-4-dependent immunoglobulin G1 isotype switch in the presence of a polarized antigen-specific Th1-cell response to the trypanosome variant surface glycoprotein. *Infection and Immunity*; **66**:1-12.
- 68- Shaw A.P.M. et Hoste C.H., 1991. Les échanges internationaux de bovins trypanotolérants. I. Historique et synthèse. *Rev. Elev. Méd. vét Pays trop.*, **44**, 221-228.
- 69- Sidibé I. et Desquesnes M., 2001. Les trypanosomoses du bétail, généralités. In : Diagnostic et contrôle des hémoparasitoses animales et de leurs vecteurs ; Cours international de formation tenu du 5 au 17 novembre 2001 au CIRDES , Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. CIRAD-EMVT / CIRDES, 1-21.
- 70- Swallow B.M., 1997. Impacts of trypanomosis on Africa agriculture. ILRI, review paper prepared for the Programme Against African Trypanomosis (PAAT) for presentation at the ISCTRC, Maputo, Mozambique, sept. 29 Oct. 4, 1997, PAAT Position paper FAO, 1999, 46p.
- 71- Taylor K.A., 1998. Immune responses of cattle to African trypanosomes: protectrice or pathogenic? *International Journal for Parasitology*, **28**: 219-240.
- 72- Trail J.C.M., Wissocq N. et d'Ieteren G.D.M., 1993. Field research on measurement and use trypanotolerance criteria to enhance trypanotolerant livestock productivity. 2. Recent results quantifying trypanotolerance indicators. In : Towards increased use of trypanotolerance : current research and future directive. IRLAD/NAIROBI/KENYA. , p29-32.
- 73- Traoré-Léroux T., Fumoux F, Chaize J. et Roelants G.E., 1987b. *Trypanosoma brucei* : polyamine oxidase mediated trypanolytic activity in the serum of naturally resistant cattle. *Exp. Parasitol.* **64**, 401-409.
- 74- Troncy P.M., Itard J. et Morel P.C., 1981. Les trypanosomoses animales africaines. In : Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Manuels et Précis d'Élevage. Ministère de la Coopération et du Développement/ IEMVT, 717p.
- 75- Voller A., Bartlett A. et Bidwell D.E., 1976. Enzyme immunoassays for parasitic diseases. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **70**, 98-106.
- 76- Williams D.J.L., Taylor K., Newson J., Gichuki B. et Naessens J., 1996. The role of variable surface glycoprotein antibody responses in bovine trypanotolerance. *Parasit. Immunol.* **18**, 209-218.
- 77- Winrock International Institute for Agricultural Development, 1992, Assessment of animal agriculture in sub-saharan Africa. 125p. Morrilton, Arkansas, USA.

Annexes

Annexe 1: Protocole détaillé du dosage immuno-enzymatique (ELISA-indirect) des anticorps anti-trypanosomes : ELISA-indirect à *Trypanosoma sp*

1. Sensibilisation des plaques

- Diluer 125 µl d'antigènes solubles de *T. vivax* et *T. congolense* (soit 5 µg/ml) dans 25 ml de tampon carbonate-bicarbonate ou Coating Buffer (CB) 0,05 M ;
- Déposer 100 µl de cette dilution dans tous les puits de la plaque à sensibiliser ;
- Incuber les plaques pendant 2 heures à 37°C sous agitation ou les garder une nuit à +4°C ;
- Vider, sceller et garder les plaques à -20°C si le test est programmé pour plus tard.

2. Blocage des sites non spécifiques

- Sortir les plaques du congélateur, et laisser environ 5 minutes à la température ambiante ;
- Déposer 150 µl du tampon de blocage ou Blocking Buffer (BB) dans chaque puits des plaques sensibilisées ;
- Incuber les pendant 30 minutes à 37°C sous agitation permanente.

3. Dilution des sérums

- Sortir les plaques de l'incubateur, vider et les laver 3 fois à l'aide du tampon de lavage (WB) ;
- Les sérums à tester ainsi que des standards (positifs et négatifs) sont dilués à 1/25^{ème} et à 1/50^{ème} dans un tampon de dilution (DB) dans des plaques de dilutions ;
- Les sérums (100 µl) sont déposés en double dans chaque plaque ;
- Incuber les plaques pendant 1 heure à 37 °C sous agitation permanente.

4. Ajout de l'anti-sérum ou conjugué

- Sortir les plaques de l'incubateur, vider et les laver 3 fois à l'aide du tampon de lavage (WB) ;
- Déposer 100 µl de conjugué (anti-IgG) dans chaque puits, préalablement dilué au 1/10000^{ème} dans du PBS + 0,1% Tween ;
- Incuber les plaques pendant 1 heure à 37°C sous agitation.

5. Substrat / Chromogène

- Sortir les plaques de l'incubateur, vider et les laver 3 fois à l'aide du tampon de lavage (WB) ;
- Placer 100 µl de substrat par puits, préparé à partir de 25 ml d'acide citrique, 125 ml d'ABTS et de 100 µl H₂O₂.

6. Lecture des résultats (densités optiques ou DO)

- Mettre en marche le lecteur ELISA (spectromètre) au moins 15 minutes avant et vérifier que le programme sélectionné est correct ;
- Essuyer le dessous des plaques pour éviter les aberrations ;
- Sur l'ordinateur sélectionner le logiciel Procomm ;
- Lire les plaques à 405 nm.

Préparation des tampons

Les tampons doivent être préparés 24 heures à l'avance et conservés à +4°C tout ou plus une semaine. Vérifier systématiquement et ajuster si nécessaire le pH avant leur utilisation à l'aide d'un pH-mètre.

-Coating Buffer (CB) ou tampon carbonate-bicarbonate:

Na ₂ CO ₃	1,58 g
NaHCO ₃	2,93
H ₂ O	qsp 1 litre ajuster pH 9,6

- PBS Buffer:

Na ₂ HPO ₄	1,21 g
KH ₂ PO ₄	0,20 g
NaCl	8,00 g
QSP	1 litre eau distillée pH 7,4

- **Washing Buffer 0,05% Tween (WB) ou tampon de lavage:** soit 500 µl de "Tween 20" par litre de tampon

- **Blocking Buffer (BB):** 0,2 g de caseine/100ml WB

- **Diluting Buffer (DB):** 0,2 g de caseine/ 100ml WB

- **Conjugate Buffer (CB₁):** PBS 0,5% "Tween 20"

- **Conjugué bovin sigma au 1/10.000 dans CB₁:** l'enzyme utilisé dans le couplage est la peroxydase de Raifort E.C.1.11.1.17, enzyme à deux substrats (H₂O₂ et ABTS).

- **H₂O₂ ou eau oxygéné ou peroxyde d'hydrogène:** 500µl d'H₂O₂ à 30% + 7,5ml d'eau distillée; conserver au frais et à l'abri de la lumière.

- **ABTS ou 2,2'-azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulfonate]:** 135 mg ABTS poudre/6,25 ml d'eau distillée; conserver au frais et à l'abri de la lumière.

- **Substrate Buffer:** acide citrique (C₆H₈O₇) 9,6 g dans 1 litre d'eau distillée, pH 4

Annexe 2 : Liste des sérums à tester

Lot 3300 : 14 sérums

3372, ..73,75,76,77,78,79,80,81,84,85,86,88,90

Lot 3400 : 17 sérums

3461, ..62,63,64,65,67,68,70,81,82,85,86,92,93,94,95,98,99

Lot 3500 : 19 sérums

3561, ..62,63,64,65,66,68,69,70,71,72,73,75,79,80,81,83,84,98

Lot 3600 : 12 sérums

3667, ..70,71,73,75,76,77,78,81,82,83,84

Dates à tester

- A) 03/06/2003 ou session 1
- B) 29/07/2003 ou session 3
- C) 16/12/2003 ou session 8
- D) 06/07/2004 ou session 15
- E) 18/01/2005 ou session 22

Annexe 3 : Liste des sérums retenus pour l'Immunoblot

1) animaux tolérants

Lot	3300	3400	3500	3600
<i>T. vivax</i>	...72, 75	...68	...83	...71
<i>T. congolens</i>	...75, 78	...néant	néant	...77, 83

2) animaux sensibles

Lot	3300	3400	3500	3600
<i>T. vivax</i>	...73,76, 77, 79, 84, 85, 86, 88	...61,64, 81, 85, 98	...66, 81	...81, 82, 84
<i>T. congolens</i>	...73, 76, 77, 79, 84, 85, 86, 88	...61, 63, 64, 85 86, 95	...79	...73, 75, 82, 84

RESUME

La trypanosomose animale africaine (TAA) est la principale maladie vectorielle du bétail en Afrique sub-saharienne. La grande variabilité antigénique du trypanosome empêche toute mise au point d'un vaccin classique contre cette zoonose. L'élevage des bovins trypanotolérants est une méthode de lutte naturelle. En effet, la trypanotolérance est l'aptitude qu'ont certains taurins ouest africains à survivre et à rester productifs dans les régions infestées de glossines, cependant hostiles aux autres types génétiques (zébus et taurins exotiques). Notre étude s'inscrit dans la deuxième phase du projet CORUS en cours d'exécution au CIRDES. Ce travail a pour objectif de caractériser les réponses humorales de classe IgG chez les bovins métis (zébu Peulh X taurin Baoulé), élevés en milieu naturel dans le sud-ouest du Burkina Faso. Cette région est reconnue pour sa forte pression trypanosomienne à *T. congolense* et à *T. vivax*.

Sur 516 métis qui ont été suivis mensuellement pendant 2 ans sur des variables de la trypanotolérance (parasitémie, hématoците,...), 62 animaux ont été sélectionnés. Cinq (5) sérums / animal prélevés à 5 sessions différentes, ont été testés par ELISA-indirect. Les résultats de l'ELISA en pourcentage de positivité relative (PPR) ont été combinés à la parasitémie 0/1 et aux taux d'hématoците pour classer les métis en « tolérants » et « sensibles ». L'objectif visé par ce classement est d'identifier les antigènes immunodominants dans les deux groupes par la technique d'immunoblot.

Les séroprévalences et les prévalences parasitologiques obtenues ont montré une prédominance en moyenne des infections à *T. vivax* que celles à *T. congolense*. Nos résultats épidémiologiques ont montré une hétérogénéité du risque trypanosomien : dépendant de l'espèce de trypanosome, de la session de prélèvement, de l'âge des animaux, de la technique de diagnostic utilisée et du groupe d'élevage. De plus, la parasitémie a un effet sur les PPR d'une part et d'autre part sur le taux d'hématoците. Des tests sur les autres classes d'anticorps n'ont pas pu se faire par manque de protocole adéquat et de conjugués sur le marché. Des essais d'immunoblot sont en cours au CIRDES. Cette technique permettra d'identifier d'éventuels antigènes immunodominants qui distingueront qualitativement les animaux « tolérants » des « sensibles ».

Mots clés : Trypanosomose bovine – trypanotolérance – taurin Baoulé/zébu Peulh – ELISA-indirect – immunoblot
