



HAL
open science

**Effet alicament du manioc : Mode d'action sur le
parasitisme des petits ruminants par Heamonchus
Contortus**

Reine-Elise Leno

► **To cite this version:**

Reine-Elise Leno. Effet alicament du manioc : Mode d'action sur le parasitisme des petits ruminants par Heamonchus Contortus. Sciences du Vivant [q-bio]. 2011. hal-02961838

HAL Id: hal-02961838

<https://hal.inrae.fr/hal-02961838>

Submitted on 8 Oct 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

MASTER EN SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Mention : Biologie Santé

Option : Alimentation en milieu tropical

Présenté par **Reine-Elise LENO**

Effet alicament du manioc : Mode d'action sur le parasitisme
des petits ruminants par *Haemonchus Contortus*



Maitre de stage (INRA) : Mme CHEVRY MARIE-MAGDELEINE

Tutrice de stage (UAG) : Mme MARIANNE-PEPIN

Stage du 1^{er} Février au 30 juin 2011

UNIVERSITE DES ANTILLES ET DE LA GUYANE

FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET NATURELLES



Année universitaire 2010/2011



MASTER EN SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Mention : Biologie Santé

Option : Alimentation en milieu tropical

Présenté par **Reine-Elise LENO**

Effet alicament du manioc : Mode d'action sur le parasitisme
des petits ruminants par *Heamonchus Contortus*

Maitre de stage (INRA) : Mme CHEVRY MARIE-MAGDELEINE

Tutrice de stage (UAG) : Mme MARIANNE-PEPIN

Stage du 1^{er} Février au 30 juin 2011

Sommaire

Sommaire.....	4
Remerciements.....	6
D) Présentation de l'organisme d'accueil.....	7
1) INRA « Institut National de Recherche Agronomique »	7
2) Organisation de l'unité (voir Tableau 6 annexe 1).....	7
Introduction.....	8
Synthèse bibliographique.....	9
II) Le manioc.....	9
1) Présentation générale du manioc.....	9
A) Généralités.....	9
B) Histoire et Origine	9
C) Présentation botanique	11
D) Principales utilisations alimentaires	12
E) Propriétés médicinales.....	12
2) Composition chimique	13
A) Valeur nutritionnelle	13
B) Toxicité cyanhydrique.....	14
C) Molécules à activité anthelminthique des feuilles de manioc* : Les tanins condensés	15
III) Description de l'espèce hôte mouton « Martinik »	16
IV) Description du parasite « <i>Haemonchus contortus</i> »	17
1) Généralités.....	17
2) Cycle biologique d'« <i>Haemonchus contortus</i> »	17
3) Pathologie.....	19

Matériels et Méthodes.....	20
I) Organisation de l'expérimentation.....	20
1) Lieu, aménagement et régime expérimental.....	20
2) Déroulement de l'expérimentation.....	21
II) Mesures expérimentales.....	22
1) Aspect nutritionnel.....	23
A) La croissance.....	23
B) L'ingestibilité.....	23
C) La digestibilité.....	23
2) Aspect parasitaire.....	24
A) Paramètres sanguins.....	24
B) Nombre d'œufs par grammes de fèces (OPG).....	24
C) Etude du développement parasitaire.....	24
III) Analyses chimiques.....	26
IV) Analyses statistiques.....	27
Résultats et discussions.....	28
I) Etude de la valeur alicament des feuilles de manioc.....	28
1) Etude de la valeur alimentaire.....	28
2) Etude de l'effet des feuilles de manioc sur les paramètres parasitaires.....	29
A) Excrétion des œufs dans les fèces et paramètres sanguins.....	29
B) Développement parasitaire de l'œuf au stade L3.....	30
C) Développement parasitaire du stade L4 au ver adulte.....	31
Conclusion.....	33
Annexe.....	34
Lexique :.....	41
Bibliographie.....	42

Remerciements

Avant tout développement ou explication détaillée sur le sujet, il apparaît opportun de commencer ce mémoire par des remerciements, à ceux qui m'ont donné la chance et le plaisir de recevoir leur aide et leur collaboration au cours de ce stage :

Je remercie Mme Maryline BOVAL, directrice de l'Unité de Recherche Zootechnique, de son accueil chaleureux au sein du laboratoire.

Je remercie mon maître de stage Mme Carine CHEVRY MARIE-MAGDELEINE, de sa confiance, sa bonne humeur, sa gentillesse et pour m'avoir formée avec beaucoup de patience et de pédagogie. Merci pour avoir fait de mon stage, une expérience professionnelle des plus enrichissantes.

Je tiens à exprimer mes sincères gratitudee à Lucien PHILIBERT et à Suzite CALIF pour les conseils qu'ils ont pu me prodiguer au cours de ma formation.

Une attention particulière à M. Harry ARCHIMEDE qui a su me transmettre sa passion pour la recherche dans le domaine de la nutrition.

Je remercie M. BAMBOU Jean-Christophe pour ses explications portées sur le domaine de l'identification parasitaire

Je remercie M. Willy TROUPE et M. Rémy ARQUET qui m'ont encadrée lors de mes interventions à l'INRA site de Gardel au Moule, avec beaucoup de dynamisme, d'attention et d'encouragements ainsi que M. Ode COPRY pour ses pertinents conseils mais aussi pour avoir appuyé ma candidature afin que je puisse obtenir ce stage.

Enfin je remercie l'ensemble du personnel de l'URZ et particulièrement Melle Marie-Laure LASTEL qui m'a apporté un immense soutien durant cette période. Elle a fait preuve d'une grande générosité à mon égard et de dévouement dans l'aboutissement des travaux. Je n'oublierai pas tous ses encouragements et son énergie qui m'ont aidée à donner le meilleur de moi-même. Un grand merci à vous, mademoiselle, pour tout....

I) Présentation de l'organisme d'accueil

1) INRA « Institut National de Recherche Agronomique »

L'I.N.R.A « Institut national de Recherche agronomique » est un organisme de recherche français fondé en 1946 ayant tout d'abord comme mission de répondre aux besoins sociaux : « nourrir la France ». Puis depuis 1984, bénéficiant du statut d'E.P.S.T, « Etablissement Public à caractère Scientifique et Technologique », l'INRA est placé sous la double tutelle des Ministres chargés de la recherche et de l'agriculture. Actuellement, les recherches menées à l'INRA reposent sur trois grands thèmes : l'alimentation, l'agriculture et l'environnement. L'objectif étant de développer une agriculture compétitive, durable, respectueuse de l'environnement et des ressources naturelles.

Le centre Antilles-Guyane, basé en Guadeloupe, est le seul centre situé en zone tropicale parmi les 20 centres de recherche décentralisés de l'institut. Il couvre les trois départements français d'Amérique : Guadeloupe, Martinique et Guyane. Il développe les connaissances des milieux tropicaux, en collaboration avec les laboratoires des centres de France métropolitaine et ses partenaires régionaux et internationaux. Il existe 5 unités de recherche aux Antilles Guyane:

- ❖ Unité de recherche Agropédoclimatique de la zone Caraïbe « URAPC »
- ❖ Unité de Recherche en productions Végétales « URPV »
- ❖ Unité de Recherche Zootechnique « URZ » comprenant l'unité expérimentale « PTEA »
- ❖ Unité Mixte de Recherche Qualité des Fruits et Légumes Tropicaux « UMR QUALITROP »
- ❖ Unité Mixte de Recherche écologique des Forêts de Guyane « UMR ECOFOG » (Guyane)

a) L'URZ « Unité de Recherche Zootechnique »

C'est au sein de cette unité de recherche que j'ai pu effectuer mon stage. Les activités de recherches sont structurées au sein de 4 projets:

- ❖ Alimentation des ruminants et utilisation des systèmes d'élevage pâturés par les herbivores en zone tropicale
- ❖ Amélioration génétique des populations animales locales (bovin, ovin, caprin)
- ❖ Stratégies de lutte intégrée contre le parasitisme gastro-intestinal des petits ruminants
- ❖ Etude de l'adaptation au climat et de l'alimentation en zone tropicale humide

2) Organisation de l'unité (voir Tableau 6 annexe 1)

Introduction

Le parasitisme gastro-intestinal est la principale cause des problèmes de santé chez les petits ruminants conduisant à une forte baisse de la productivité dans les fermes d'élevages (Waller et al., 1996, Sykes, 1994).

Spécifique des régions tropicales, le parasite nématode* « *Haemonchus contortus* » est le pathogène le plus virulent chez les petits ruminants (McLeod, 2004).

En effet, celui-ci nuit à leur santé en causant une perte d'appétit, des épisodes diarrhéiques, une diminution des performances, des problèmes de reproduction, de l'anémie (...) et parfois la mort (Rahman et Collins, 1990b; Smith et Sherman, 1994; Urquhart et al., 1996; Jacquet, 1997). (Urquhart et al., 1996).

Depuis les années 60, le seul moyen de lutte contre le parasitisme gastro-intestinal est le traitement chimique, cependant son utilisation intensive et non raisonnée a conduit à une émergence de souches résistantes de parasites (Wolsthenholme et al, 2004; Chartier et al 2001; Pandey et al 2001). De même, des inquiétudes se font ressentir vis-à-vis des consommateurs quant à la présence de ces résidus chimiques dans les denrées alimentaires d'origine animale (lait, viande) (Hoste et Chartier, 1997).

Afin de trouver d'autres moyens de lutte plus efficace et durable, l'INRA-URZ mène une étude sur la construction d'une lutte intégrée contre le parasitisme gastro-intestinal. L'idée étant d'évaluer le potentiel « alicament » (action alimentaire et médicamenteuse) de certaines ressources locales disponibles en exploitation agricole afin de les utiliser à des fins thérapeutiques.

Ainsi, le recours à la phytothérapie* serait l'une des alternatives à l'utilisation des traitements chimiques sur les exploitations agricoles. De plus, l'utilisation des ressources végétales permettrait de les valoriser pour une production raisonnée dans le cadre d'une agriculture durable*, en respectant les trois critères primordiaux : Santé, alimentation et environnement.

A l'instar, de précédents travaux réalisés par Marie-Magdeleine et al., (2010) ont montré la valeur alicament des feuilles de manioc. Elles auraient des propriétés spécifiques capables de combattre le parasite « *Haemonchus contortus* » mais aussi d'apporter à l'hôte parasité une résistance* et/ ou résilience* par son apport en protéines (Seng & Rodriguez, 2001 ; Seng & Preston, 2003 ; Lin et al., 2003).

Dans le cadre du stage, l'objectif est d'étudier la valeur alicament (effet nutritionnel et antiparasitaire) des feuilles de manioc chez le mouton « Martinik » parasité par « *Haemonchus Contortus* ». Il s'agira de suivre l'évolution du parasitisme chez le mouton, d'observer l'interaction entre la nutrition et le parasitisme et enfin d'étudier le mode d'action de l'effet anthelminthique du manioc sur le développement du parasite.

Synthèse bibliographique

II) Le manioc

1) Présentation générale du manioc

A) Généralités

Le manioc « *Manihot esculenta* » (voir figure 1) est connu comme étant la source la plus économique de glucides parmi les cultures de produits de base et est largement cultivé comme plante annuelle dans les régions tropicales et subtropicales (P.silvestre et M. Arraudeau, 1983).

Le manioc fait partie intégrante du régime alimentaire de plus d'un demi-milliard d'être humains surtout de celui des populations africaines. En effet, l'Afrique est le premier producteur de manioc avec 115 millions de tonnes en 2006 et voit sa production doublée depuis les années 1970 car celle-ci a permis de réduire considérablement la famine. Cependant, ce sont les pays d'Amérique latine, notamment le Brésil, qui sont les plus gros producteurs du manioc avec 27 tonnes en 2006 (FAO, 2006).

Par ailleurs, en Asie, où le riz est la denrée vivrière de base principale, la production commerciale de manioc s'est axée sur l'alimentation animale, principalement sous forme de cossettes (voir figure 3) et granulés pour l'exportation. Et plus encore, le manioc est utilisé pour la fabrication de biocarburant « l'éthanol » à partir de l'amidon contenu dans celui-ci (Construction de raffineries en Thaïlande permettant de produire de 2 millions de litres/ jour) (Roxas et al, 1921 ; FAO, 2006)

B) Histoire et Origine

Le manioc est originaire d'Amérique latine (en particulier des régions s'étalant sur le Venezuela, le Guyana, le Surinam, le Brésil et la Guyane) et a été découvert en 1558 au bord de fleuve Congo (Crantz 1766 ; Candolle 1886).

Il fut donc introduit en Afrique par des navigateurs portugais à partir du 16^{ème} siècle, et s'est rapidement développé dans le centre de l'Afrique. Il a été largement répandu par les colons du fait de sa haute résistance à la sécheresse, de sa rentabilité mais aussi utilisé pour nourrir les esclaves à peu de frais. Actuellement, il est cultivé dans toutes les régions chaudes du globe.

L'histoire révèle que le manioc aurait été introduit dans les îles antillaises à l'époque précolombienne par les premiers occupants connus, les Arawaks et surtout les Caraïbes.



Figure 1 : Le manioc « *Manihot esculenta* »



Figure 2 : Tubercules de Manioc



Figure 3 : Cossettes de Manioc

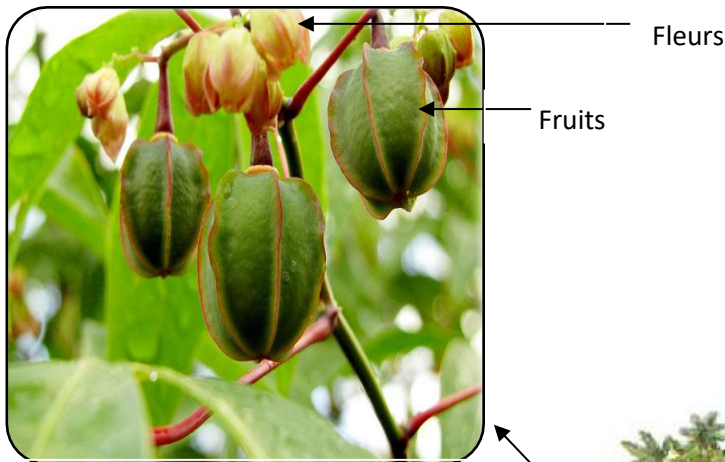


Figure 4 : Farine de Manioc

C) Présentation botanique

La composition botanique des différentes parties du manioc, arbuste appartenant à la famille des Euphoriacées, est présentée dans les figures 5, 6, 7 et 8.

Figure 5 : Photo de fleurs et fruits de manioc



Les fleurs unisexuées sont dépourvues de corolle et les fleurs mâles et femelles sont retrouvées dans l'inflorescence mais la floraison ne se fait jamais en même temps. Les fruits sont des capsules déhiscentes, éclatant bruyamment à maturité.

Figure 6: Photo de feuilles de manioc



Les feuilles sont alternes, palmilobées (3 à 11 lobes), de couleurs et de formes variables et sont portées par de longs pétioles

Figure 7 : Photo des racines de manioc



Ces racines tubéreuses et fasciculées se renflent en se gorgeant d'amidon. Elles contiennent un glucoside cyanogénétique appelé manihotoxine se transformant au contact de la flore intestinale en une substance toxique l' « acide cyanhydrique ». Cette dernière est utilisée comme mécanisme de défense aux prédateurs par la plante.

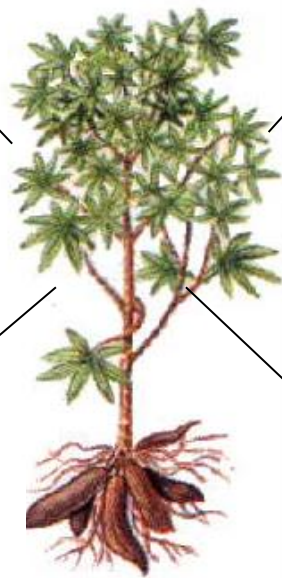


Figure 8 : Photo des tiges de manioc



Les tiges atteignant 1 à 6m de hauteur peuvent se ramifier à une certaine hauteur. Ne dépassant pas 2-3 cm de diamètre sont en grande partie remplies de moelle d'où sa fragilité.

D) Principales utilisations alimentaires

Dans l'industrie, le manioc sert à la préparation de la féculé, du tapioca, de pâtisseries (voir figure 9), de pâtes alimentaires, mais aussi de colles, de textiles et d'éthanol grâce à sa forte teneur en amidon etc...De même, la farine de manioc (voir figure 4) peut être utilisée comme adjuvant dans l'industrie de la bière mais peut être mélangée à l'argile et être utilisée comme ciment.

Par ailleurs, le manioc est très utilisé dans l'alimentation des animaux d'élevage sous formes de cossettes, bouchons, farine,...car il favorise la lactation (bovins), et permet un engraissement plus rapide à moindre coût et est très digeste.



Figure 9 : Beignets à la farine de manioc

E) Propriétés médicinales

La feuille de manioc est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement des rhumatismes, migraines, maux des yeux et la farine, très digeste, est recommandée en cas d'ulcère gastrique, de remontées acides et de ballonnements.

Le manioc frais et râpé sert de cataplasme résolutif des ulcères cutanés douloureux et des hémorragies. De plus, les racines râpées et mouillées peuvent être utilisées comme emplâtre sur les tuméfactions herniaires, prostatiques et testiculaires.

Les feuilles écrasées sont appliquées sur les mycoses interdigitales et la féculé appliquée en cataplasme fait mûrir les abcès.

Mais surtout en médecine vétérinaire, la feuille est utilisée en tant que vermifuge (activité fongicide- et antibactérienne) pour les animaux (Longuefosse, 2003).

2) Composition chimique

A) Valeur nutritionnelle

Tableau 1 : Valeur nutritionnelle des différentes parties du manioc

		Racines entières	Ecorces 8-15 % de la racine	Cylindre central	Tiges	Feuill
Mat. sèche	% MF.	35	30	40	30	15
Glucides	% MS.	89	75	91	48	41
Lipides	% MS.	1	2	0,5	9	6
Protides	% MS.	2,5	4	2	10	25
Fibres	% MS.	4,5	12	4	23	20
Cendres	% MS.	3	5	2,5	10	8
Calcium	% MS.	0,1	0,2	0,1	0,3	1,4
Phosphore	% MS.	0,1	0,1	0,1	0,3	0,5
Fer	% MS.	0,003	0,020	0,001	—	0,03
Sodium	% MS.	0,006				0,02
Potassium		1				2

		Racines	Feuilles
β carotène mg/100 g	MS.		30
Thiamine (B ₁)	MS.	0,1	1
Riboflavine (B ₂)	MS.	0,1	2
Niacine	MS.	1,5	8
Ac. ascorbique	MS.	80	500

Cours, 1951 ; Busson, 1965 ; Barrios et Bressant, 1967 ; Devendra, 1977)

La composition nutritionnelle des différentes parties de la plante est présentée dans le tableau 2. Le tubercule de manioc est un aliment essentiellement riche en amidon mais pauvre en lipides, sel minéraux et autres vitamines, tandis que les feuilles de manioc présentent des teneurs faibles en glucides mais dix fois plus élevées en protéines (tableau 2 ; 25% contre 2,5 % pour le tubercule).

Tableau 2 : Composition en acide aminés des protéines du manioc (% sur la base de 16g d'azote)

	Racines	Feuilles	Oeuf
Isoleucine	2	5	8
Leucine	3	9	9,2
Lysine	5	7	3,9
Méthionine	1,2	1,7	4,1
Cystine	1,4	1,4	2,4
Phénylalanine	2,5	5,5	6,3
Tyrosine	1,6	4	4,5
Threonine	2,7	4,8	4,9
Tryptophane	1	2	1,5
Valine	3	5,8	7,3
Arginine	14	2,5	6,4
Histidine	2	6	2,1

(Busson, 1965 ; Rogers et Milner, 1963 ; Otoul,

La composition en acides aminés des feuilles de manioc est présentée dans le tableau 3. La teneur en acides aminés est proche de celle d'un œuf. Ainsi, compte tenu de la richesse en protéines des feuilles de manioc, celles-ci peuvent être adaptées à l'alimentation animale.

B) Toxicité cyanhydrique

Les tissus du manioc ont la propriété d'émettre de l'acide cyanhydrique lorsqu'ils sont rompus ou endommagés. Il s'agit en fait d'un véritable poison pour les prédateurs tels que les ruminants. La mastication du végétal et son passage dans la flore intestinale stimule la formation de la toxine. Celle-ci peut générer à de fortes doses chez les ruminants (4,5mg/kg de poids vif), de graves atteintes du système respiratoire et nerveux menant à la mort en seulement quelques heures (P.Silvestre et M.Arraudeau, 1983 ; Osuntokun, 1973).

Ce principe toxique est présent en quantités variables dans toutes les parties de la plante sous forme de deux glucosides cyanogénétiques appelés linamarine (93 à 96%) et son homologue méthylique « lotaustraline » (4 à 7%). Ceux-ci exposés à la flore intestinale et à la linamarase, se décomposent en donnant une cétone, un glucoside et de l'acide cyanhydrique « HCN » ou « cyanure » (Voir figure10, 11, 12).

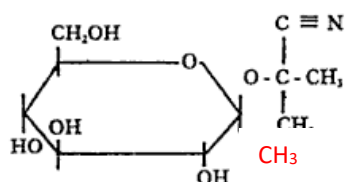


Figure 10 : La linamarine

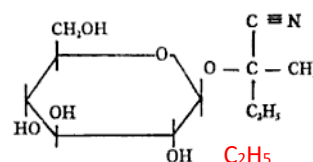


Figure 11 : La lotaustraline

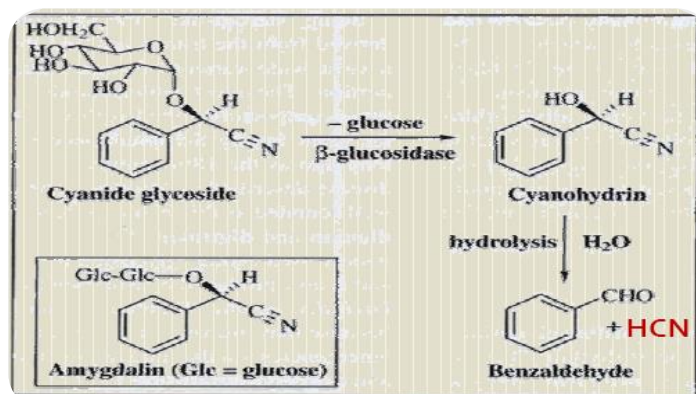


Figure 12 : formation de l'acide cyanhydrique

Il existe une tolérance d'ingestion à l'HCN dont le taux ne doit pas dépasser 1mg/kg de poids vif chez l'homme (P.Silvestre et M.Arraudeau, 1983).Celui-ci peut varier selon les conditions écologiques, culturelles (Chlay et al., 2001), sa localisation dans le tubercule (la concentration en HCN augmente du centre vers la périphérie) (Bruijn, 1973) mais aussi selon les variétés de manioc. En effet, deux variétés de manioc se distinguent selon leur teneur en HCN : la variété « douce » possède une faible concentration en cyanure (30 à 180ppm dans la matière fraîche) et la variété « amère » en possède une plus forte concentration (275 à 500ppm dans la matière fraîche) (P.Silvestre et M.Arraudeau, 1983).

Par ailleurs, pour des températures supérieures à 28°C, l'HCN est un composé qui s'évapore très rapidement et la linamarase est détruite par la chaleur. Ainsi, il est donc indispensable, dans le cadre d'une alimentation à base de feuilles de manioc chez les ruminants, de les sécher préalablement afin de diminuer la concentration en HCN. Le séchage permet jusqu'à 70% de réduction de la teneur en HCN (Guillermo Gómez, 1985).

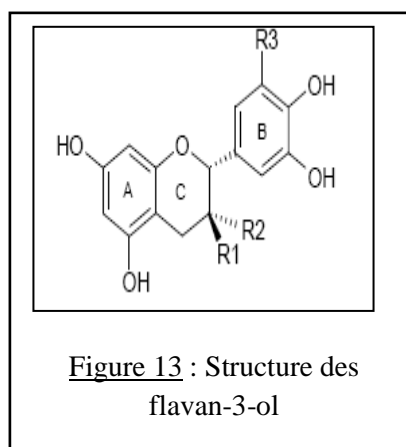
Une autre solution serait, une alimentation riche en sulfure (acides aminés soufrés), qui permettrait la détoxication de l'acide cyanhydrique en thiocyanate SCN⁻, qui sera éliminé dans les urines (Onwuka et al., 1992).

C) Molécules à activité anthelminthique des feuilles de manioc* : Les tanins condensés

1) Généralités

Les tanins condensés ou pro-anthocyanidols, sont des composés à structure polyphénolique, polymères de flavan-3-ols (voir Figure 13)

Ces métabolites secondaires des plantes, constituent le principal moyen de défense des végétaux contre les attaques bactériennes et fongiques en inhibant leur croissance. De plus, ils protègent les végétaux de la prédation par les insectes et les herbivores en altérant leurs activités enzymatiques intrinsèques, ce qui peut être létal en cas d'ingestions massives, (Bauman et al., 2002; Eck et al., 2001; Jean-Blain, 1988; Stafford).



D'autre part, ces composés phénoliques confèrent à la plante un caractère innapétant en raison de leurs propriétés astringentes, ce qui éloigne davantage les prédateurs (Jean-Blain, 1998 ; Jansman, 1993 ; Mehansho et al., 1987).

Ainsi, les tanins condensés peuvent avoir des effets néfastes chez les prédateurs mais aussi des effets bénéfiques, observés particulièrement chez les ruminants selon la leur nature et leur concentration (Makkar, 2003; Brooker et al., 2000).

Chez les ruminants, l'ingestion de quantités faibles à modérées (<45g TCs/Kg MS) de tanins condensés a été associée à des effets bénéfiques sur les paramètres zootechniques, sur la physiologie digestive et sur la santé (Barry et Mc Nabb, 1999). De récentes études menées chez les moutons ont montré des effets favorables dans la lutte contre le parasitisme gastro-intestinal. On parle ainsi d'animaux ayant une meilleure résistance* et résilience* aux strongles* gastro-intestinaux (Niezen et al., 1994, 1995, 1998 ; Robertson et al., 1995).

De plus, chez les moutons parasités, une diminution de l'excrétion fécale des œufs de parasites mais aussi celle de la charge parasitaire est observée suite à l'ingestion de tanins condensés (Robertson et al., 1995. Niezen et al., 1995, 1998a ; Marley et al., 2003a ; Carine Marie-Magdeleine et al, 2009).

III) Description de l'espèce hôte mouton « Martinik »

L'espèce hôte étudiée est un mouton de race tropicale : le mouton « Martinik » (voir figure14).

Celui-ci, élément clé du développement de la filière ovine de la Martinique appartient en fait à une race de moutons à poils issue du croisement de moutons rencontrés dans le bassin caraïbén tels que « Barbados Black Belly », « Virgin Island White », « Saint-Martin » et « Créole ».



Figure 14 : Bélier Martinique

Ces derniers ont été choisis pour leurs similitudes de caractères morphologiques et de performances zootechniques. Ainsi la race « mouton Martinik », produit de leur croisement, regroupe cet ensemble de qualités zootechniques remarquables et est reconnue particulièrement pour son aptitude à s'adapter aux conditions d'élevages en milieu tropical (température et humidité élevées ou sécheresses prolongées) mais aussi pour sa résistance* aux parasites gastro-intestinaux. Une liste non exhaustive des caractéristiques particulières de cette race est présentée ci-dessous :

Caractéristiques physiques	Aptitudes zootechniques
<ul style="list-style-type: none">✓ Absence de laine✓ Oreilles horizontales✓ Dos droit et long✓ Robe majoritairement multicolore✓ Queue fine et courte	<ul style="list-style-type: none">✓ Animal fécond✓ Facilités de mise bas et des qualités maternelles.✓ Taux de prolificité* (130-190%)✓ Conformation bouchère*✓ Aptitudes au dessaisonnement*✓ Résistance au parasitisme interne✓ Bonne adaptation à l'élevage au pâturage.✓ Poids au sevrage de 12 à 16kg (suivant conditions d'élevage).

IV) Description du parasite « *Haemonchus contortus* »

1) Généralités

Ce parasite est considéré comme le véritable fléau des régions tropicales par son pouvoir pathogène mais aussi par sa forte prévalence* qui est de 45% dans les zones tropicales (Vlassoff et McKenna, 1994)..

Il cause 40% de mortalité avant le sevrage chez les petits ruminants. A l'INRA des Antilles-Guyane, il est donc la principale cible de recherche pour lutter contre le parasitisme des petits ruminants.

Parasite des régions tropicales, dont le développement est étroitement lié à des conditions climatiques chaudes et humides (température optimale entre 23 et 28 °C et à un degré d'humidité optimal supérieur à 70%). De plus, la conduite d'élevage des animaux est un facteur important à l'infestation des animaux.

Il s'agit d'un ver parasite appartenant à la classe des nématodes* (voir figure 15). Il se développe dans les différents organes de l'appareil digestif des ruminants spécifiquement dans la caillette* suite à l'ingestion des larves infestantes L3 présentes au pâturage.



Figure 15 : Photo d'un ver adulte d'*Haemonchus contortus*

Classification du parasite *H. Contortus* :

- Phylum : *Némathelminthes*
- Classe : *Nématodes*
- Sous-Classe : *Secernentea*
- Ordre : *Strongylida*
- Sous-Ordre : *Trichostrongylina*
- Super-Famille : *Trichostrongyloidea*
- Famille : *Trichostrongylidae*
- Sous famille: *Haemonchinae*
- Espèce : *Haemonchus Contortus*

2) Cycle biologique d'« *Haemonchus contortus* »

Haemonchus contortus est un parasite monoxène (absence d'hôte intermédiaire) et son cycle biologique se déroule en deux phases comprenant (voir schéma 1 ci-dessous):

- ✓ Une phase exogène (ou libre) en milieu extérieur allant de l'éclosion des œufs aux larves infestantes de stade L3.
- ✓ Une phase endogène (ou parasitaire) chez l'hôte où ont lieu les différentes étapes de développement larvaire allant du stade L3 aux vers adultes pour enfin aboutir à la ponte des œufs dans la matière fécale (Urquhart et al., 1996; Jacquet, 1997; Chartier et al., 2000c).

Phase endogène



Après ingestion par un ruminant, les larves infestantes se dégagent (perte de l'exuvie de stade 2) puis pénètrent dans les muqueuses où elles subissent une mue pour donner une larve de stade 4. L'acquisition d'une dent perforante leur permettra de se nourrir du sang de l'hôte, ce qui fait de ces L4, des hématophages. De plus, à ce stade, il est fréquent que les larves s'enkystent dans la muqueuse digestive et retardent leur développement jusqu'à que les conditions extérieures soient plus favorables. Ce phénomène est celui de « l'Hypobiose larvaire » (Observé uniquement en hiver, les larves ne reprennent leur développement normal qu'au printemps suivant).

Puis les L4 vont transiter dans la lumière du tube digestif pour se transformer en stade L5 dit pré adulte ou encore juvénile. L'acquisition de la maturité sexuelle marque le passage au stade adulte.

EXCRETION
DES OEUFS

INGESTION
DES L3

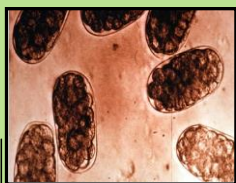
Larves infestantes L3

Les larves infestantes (L3) très mobiles vont se déplacer sur les brins d'herbe dans l'attente d'être ingérées par l'animal (Rossanigo et Gruner, 1996). De plus, elles possèdent une double gaine qui leur confère une extrême résistance dans le milieu extérieur. Ainsi, ne se nourrissant plus de matières fécales, elles sont capables de survivre plusieurs mois sur une pâture grâce à leurs réserves lipidiques.

Phase exogène



Œufs



Les œufs pondus par les vers femelles sont éliminés au stade de « morula » dans la matière fécale (5000 à 10 000/jours)

Larve 1

Larve 2

Ces œufs vont donner naissance à des larves de stade 1 (L1) qui muent ensuite en larves L2.

Ces deux premiers stades se nourrissent de matières organiques et de micro-organismes des matières fécales, et sont peu résistants dans le milieu extérieur ce qui explique un taux de mortalité très élevé. Ces larves ne sont que des stades évolutifs intermédiaires dont la durée est assez courte (2 à 3 jours).

3) Pathologie

Le parasitisme Gastro-intestinal se manifeste généralement de la façon suivante (voir tableau 5) :

Tableau 3 : Symptômes observés chez les animaux parasités par *Haemonchus Contortus*

Symptômes généraux	Symptômes locaux	Symptômes biologiques
<ul style="list-style-type: none">❖ Perte d'appétit (amaigrissement)❖ Faiblesse❖ Essoufflement❖ Mouvements non coordonnés❖ Réduction des performances de croissance et de reproduction❖ Mort (les plus fragiles)	<ul style="list-style-type: none">❖ Sévère pâleur des muqueuses (oculaire, buccale et vulvaire) (voir figure 16)❖ Apparition d'œdème dans la parie sous-mandibulaire (Syndrome de la Goulotte ou « Bottle jaw ») (voir photo 17)	<ul style="list-style-type: none">❖ Anémie (1000 vers seulement boivent 50ml de sang/jour or on compte jusqu'à 50 000 vers)❖ Hyposidérémie*❖ Hématocrite entre 10 et 20%❖ Hyperéosinophilie*



Figure 16: Anémie chez le mouton

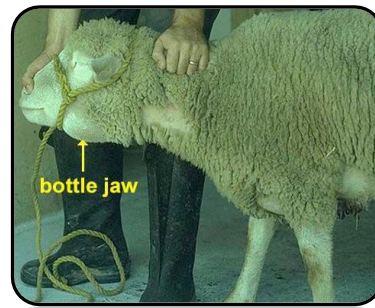


Figure 17 : Syndrome de la goulotte ou « bottle jaw »

Matériels et Méthodes

I) Organisation de l'expérimentation

1) Lieu, aménagement et régime expérimental

L'expérimentation a eu lieu à l'INRA site de Gardel au Moule en Guadeloupe.

24 agneaux mâles de race Black Belly âgés de 8 mois sont installés dans des loges individuelles (Voir figure 18) afin de travailler en conditions contrôlées.



Figure 18 : Le mouton 274 installé dans sa loge individuel

Le choix s'est porté sur les plus jeunes agneaux mâles dont le poids au sevrage variait entre 13 et 27 kg en début d'expérimentation. Les agneaux sont répartis en deux groupes homogènes de 12 animaux:

- ❖ Un 1^{er} lot nourrit à la luzerne (granulés GMA, 500g/animal/jour) et au foin (1kg/ jour /animal, 20% de refus journalier). Ce groupe appelé lot « L » sera le « témoin » de l'expérimentation (voir figure 19).
- ❖ Un 2^{ème} lot nourrit aux feuilles de manioc séchées (20 kg MS/kg de poids vif) et au foin (1kg/ jour /animal, 20% de refus journalier). Ce groupe appelé lot « M » sera le lot à testé (voir figure 20).



Figure 19 : Luzerne distribuée aux animaux



Figure 20 : Feuilles de manioc distribuées aux animaux

La répartition de la ration en luzerne et en manioc est calculée de manière à ce que les deux lots d'animaux aient un « régime alimentaire isoazote » (17% de matière azotée environ), afin de contrôler l'effet anthelminthique du manioc. La quantité de feuilles de manioc séchées est également calculée de manière à avoir un effet anthelminthique (Carine Marie-Magdeleine, 2009). Les feuilles de manioc et la luzerne sont distribuées aux animaux en premier lieu et après consommation totale, le foin est distribué.

La variété « manioc doux » a été choisie pour sa faible teneur en glucosides cyanogènes (0,22g/Kg de poids vif). Les feuilles de manioc nécessaires à l'expérimentation sont récoltées en continu chez des exploitants agricoles de Grande Terre. Afin d'assurer une concentration minimale en acide cyanhydrique et de permettre une meilleure conservation de la matière première, les feuilles de manioc sont séchées à l'air libre, à l'abri de la pluie sous un kiosque pendant 3 jours.

2) Déroulement de l'expérimentation

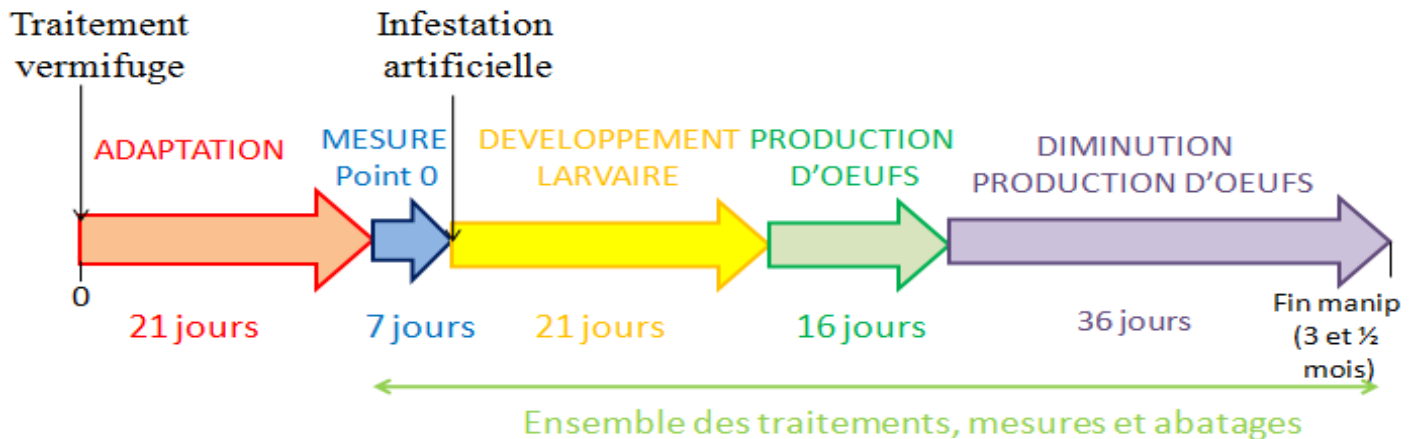


Schéma 2 : Différentes étapes de l'expérimentation

L'expérimentation se déroule en plusieurs étapes (voir schéma 2 ci-dessus) :

Le premier jour de l'expérimentation, les animaux sont vermifugés (Cestocure®, Bayer ; Hapadex®, Schering-Plough Veterinary et Oramec®) afin qu'ils soient exempts de parasites. Après 72H, l'« OPG » (quantité d'œufs de strongles excrétés Par Gramme de fèces) est mesuré afin de s'assurer du bon fonctionnement du traitement.

Ensuite, les animaux sont adaptés à leur alimentation expérimentale pendant 21 jours afin qu'ils s'habituent au goût astringent des feuilles manioc ou encore à la texture de la luzerne.

Suite à la période d'adaptation à l'aliment, les prélèvements et mesures, sont effectués.

Suite à la première semaine de mesures, chaque animal est infesté par voie orale (utilisation de seringues) par une suspension de 10 000 larves L3 d'*Haemonchus contortus* sous agitation.

Parallèlement aux mesures, deux abattages sont réalisés :

Afin d'observer le développement parasitaire des larves dans la caillette des moutons infestés, un premier abattage a lieu lors du développement larvaire du parasite dans l'hôte, à raison de 2 animaux par lot. Le deuxième abattage a lieu lors de la production d'œufs par le vers *adulte H. contortus* (j35 post infestation), à raison de 5 animaux par lot.

Les animaux restants sont ensuite suivis sur le plan parasitaire et alimentaire.

II) Mesures expérimentales

Les mesures expérimentales sont réalisées comme suit :

- ❖ Des prélèvements d'échantillons sanguins (Tubes EDTA) sont réalisés pour la mesure des paramètres sanguins une fois par semaine (voir photo21).
- ❖ Des prélèvements individuels de fèces (tubes Falcon® de 50 ml) sont réalisés pour la détermination de paramètres parasitaires deux fois par semaine (voir figure 22).
- ❖ Des périodes de prélèvements de fèces totales excrétées par animal (pesées) sont établies en se calant sur les phases de développement interne du parasite chez l'hôte (voir schéma 3 annexe2). Des prélèvements de 10 g de fèces sont réalisés en parallèle et congelées pour les analyses chimiques.
- ❖ Une mesure des quantités individuelles d'aliments proposées et refusées est réalisée chaque jour. Des prélèvements et une mise en congélation de 10 g de feuilles de manioc proposées sont réalisés pour les analyses chimiques.
- ❖ Une mesure de la matière sèche des aliments (proposés et refus), ainsi que des fèces (séchage à 60°C en étuve ventilée) est réalisée pour être ensuite analysés en composition chimique

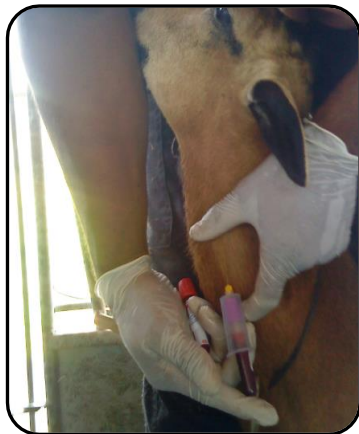


Figure 21: Prélèvement sanguin sur la veine jugulaire du mouton



Figure 22: Tube Falcon contenant des fèces

1) Aspect nutritionnel

Ces mesures sont réalisées afin de renseigner sur l'apport nutritionnel des feuilles de manioc mais aussi sur l'interaction nutrition -parasitisme.

A) La croissance

Les animaux sont pesés tous les 15 jours après la distribution de leur régime expérimental afin de mesurer le gain moyen quotidien (GMQ) de poids vif par animal (poids final- poids initial).

B) L'ingestibilité

Les quantités proposées, les quantités de refus (feuilles manioc et foin) sont pesées chaque lendemain matin tout au long de la semaine (du mardi au samedi) et stockées dans des sacs en plastiques numérotés selon l'animal (A l'exception des refus en foin qui sont stockés par lot).

C) La digestibilité

Afin d'obtenir la quantité totale de fèces excrétée par semaine, une récolte de fèces est réalisée deux fois par jour (matin et soir) tout au long de la semaine, à différentes périodes clé du cycle parasitaire : Avant l'infestation, au début de la production d'œufs, au pic d'excrétion d'œufs et au début de la diminution de production d'œufs. Pour cela, un sac à fèces est posé sur l'arrière train de l'animal. Il s'agit d'un tube de jersey fixé avec de la colle néoprène que l'on referme à l'autre extrémité à l'aide d'un élastique (voir figure 23).

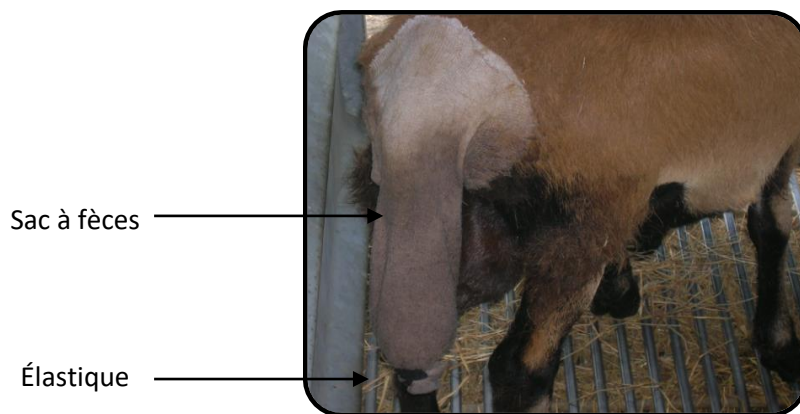


Figure 23: illustration d'un sac à fèces

2) Aspect parasitaire

A) Paramètres sanguins

Le nombre d'éosinophiles circulants présents dans le sang (cellules du système immunitaire dont une importante concentration témoigne d'une infection parasitaire) est déterminé suivant la méthode de Dawkins and al (1989) (voir annexe4).

De plus, compte tenu du caractère hématophage d'*Haemonchus contortus*, l'hématocrite ou PCV « Packed Cell Volume » est aussi mesuré (centrifugation à 12 000 rpm pendant 5min) afin de suivre l'évolution de l'anémie chez l'animal (méthode de capillarité microhématocrite).

B) Nombre d'œufs par grammes de fèces (OPG)

Des prélèvements de fèces sont réalisés deux fois par semaine après la production d'œufs d'*H. contortus* (21 jours post infestation). Pour cela, les sacs à fèces sont fermés pendant une heure environ, le temps que les animaux puissent excréter 5g de fèces minimum. Les échantillons recueillis dans des tubes Falcon® de 50 ml vont permettre de déterminer l'OPG suivant la méthode de Mac Master modifié par Raynaud1970 (voir annexe 5).

C) Etude du développement parasitaire

❖ Développement du stade morula (œuf) au stade infestant (L3)

L'étude du développement parasitaire est réalisée de la façon suivante : Les échantillons de fèces (10g environ sont prélevés dans des tubes Falcon tous les 15jours suivant la production d'œufs) sont traités suivant la même méthode de détermination de l'OPG (méthode Mac master) jusqu'à l'étape de la mise en centrifugation des échantillons en solution alcaline.

Le surnageant est ensuite récupéré et filtré dans des tamis tout en étant rincé parallèlement à l'eau du robinet afin d'éliminer toute présence de sel. Un premier tamis de mailles de 250µm est utilisé afin d'éliminer les plus grosses particules contenues dans les fèces et un autre positionné en dessous du premier de mailles de 32µm afin de récupérer les œufs.

Ceux-ci sont rincés à l'eau distillée, récupérés à l'aide d'une pipette Pasteur et disposés dans des plaques de 6 puits numérotés de l'animal correspondant, à raison de 200 œufs/ml dans un volume de 6 ml (voir figure 24). Les œufs sont dénombrés au microscope tout en observant leur embryonnement, dans 10 échantillons de 50µL de la suspension pour chaque puits et sont observés à 0h d'incubation

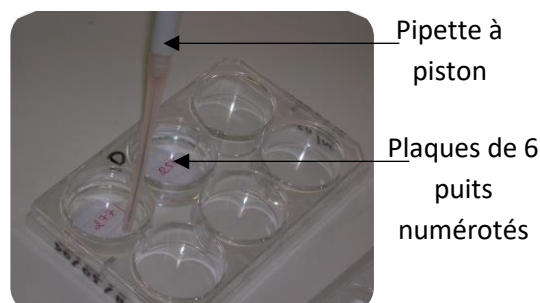


Figure 24 : Plaque contenant la solution d'œufs (6ml)

Les puits sont ensuite mis à l'incubateur à 29°C pendant 4 jours au cours desquels l'embryonnement et le développement parasite sont observés après 3h, 6h, 24h, 48h, 72h et 96h d'incubation (voir figure 25).

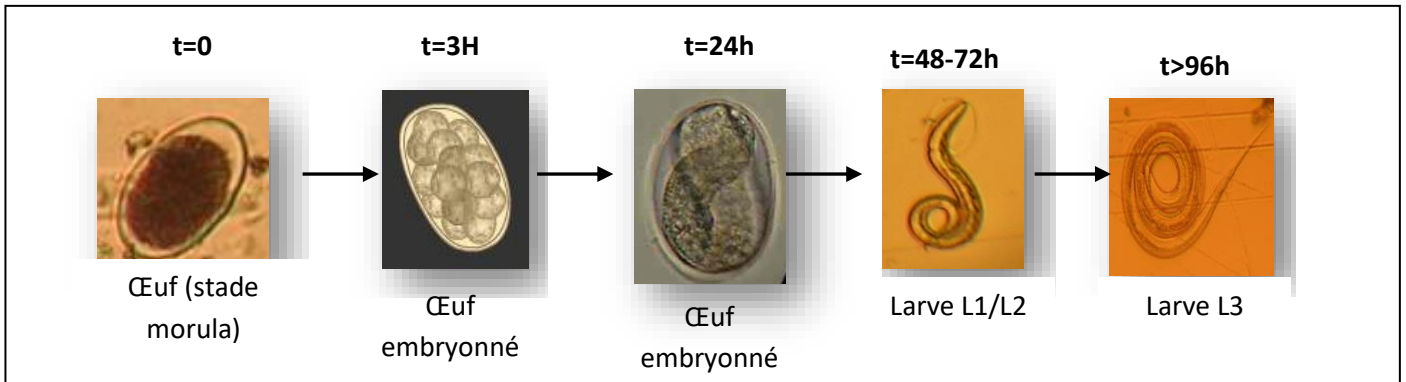


Figure 25 : Etapes illustrées du développement parasite (œuf aux L3)

❖ Développement parasite du stade L4 au stade adulte

Cette étape du développement parasite est évaluée par le biais des 2 abattages.

Les abattages se sont déroulés à l'abattoir de l'Inra à Duclos dès 7h30 du matin. Les animaux mis à jeun 24h plus tôt, sont abattus avec un fusil à plomb et sont incisés le long de la partie ventrale afin de récupérer la caillette.

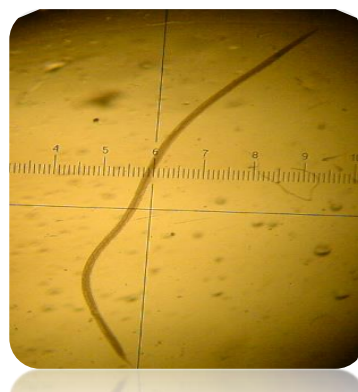
Le contenu de la caillette est récupéré par lavages successifs de la caillette à l'eau tiède. Le contenu est sédimenté puis récupéré dans un grand pot (volume d'un litre) et laissée au repos pendant une heure environ afin de récupérer le culot (les larves sédimentent au fond du pot).

Une solution de conservation (2,5% de formaldéhyde, 35% d'éthanol et qsp d'eau distillée 1L) est ajoutée dans la solution larvaire (5% du poids de la solution larvaire) de chaque échantillon ainsi prélevé.

Les stades parasites sont ensuite identifiés et dénombrés sous une loupe binoculaire (Grossissement maximal : x50) en comptant 10 échantillons de 10g de la suspension larvaire puis sont conservées après lecture dans de la solution de conservation : les larves immatures (L4/L5), les vers mâles immatures, les vers mâles matures, les vers femelles immatures et les vers femelles matures sont distingués (voir figure 26, 27, 28, 29, 30 (Gibbons, 1979 ; Jacquet et al., 1997 ; Roberts et al., 1954).

Figure 26: larves immatures (L4/L5)

Taille : (2mm à 4mm)



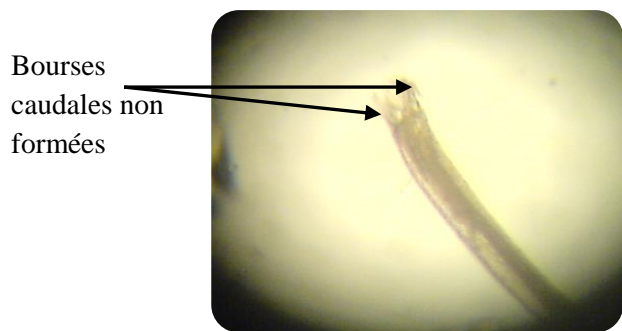


Photo 27: Vers males immatures (taille 7mm à 12mm)

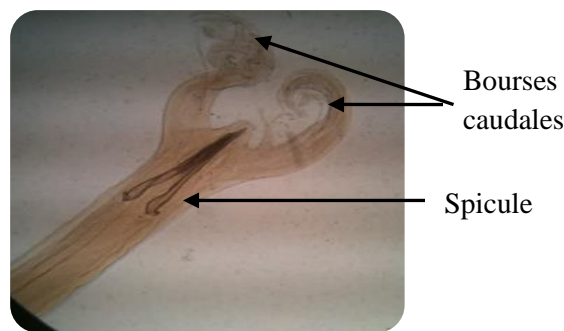


Photo 28 : Vers males matures (taille 12mm à 2cm)

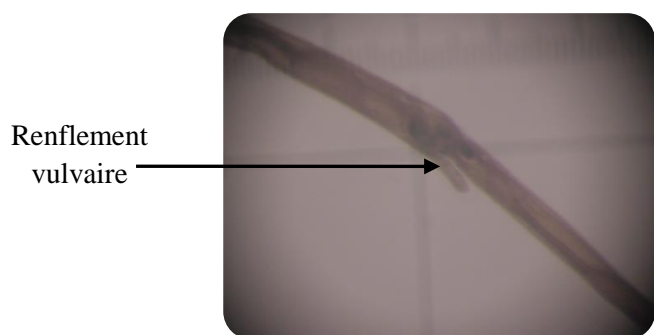


Figure 29: Vers femelles matures (taille 8mm à 14mm)

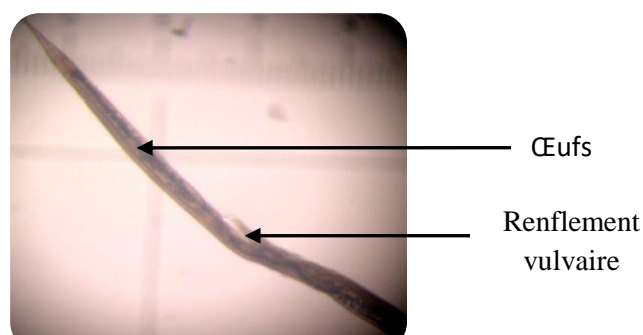


Figure 30: Vers femelles matures (taille 17mm à 3cm)

III) Analyses chimiques

❖ Composition phytochimique du régime expérimental

Pour la réalisation des analyses de composition chimique, les échantillons (proposés, refus, fèces) préalablement séchés à l'étuve (60°C) sont broyés à 0.75mm.

La matière minérale (MM) est mesurée après crémentation (550°C, 4h) au four à mouffles (AOC, 1997). La matière azotée totale (MAT) est dosée par chromatographie suivant la Méthode de Dumas. La méthode de Van Soest et al (1991), ont été utilisées pour la détermination des compositions en fibres (NDF « Neutral Detergent Fiber », ADF « Acide Detergent Fiber », ADL « Acide Detergent Lignin) en utilisant l'appareillage ANkomm²⁰⁰⁰ Fiber Analyse.

Les tannins condensés sont dosés dans les échantillons de fèces et de manioc congelés suivant la méthode de Nakamura et al. (2003) voir annexe 5).

Afin de normaliser les expériences, les résultats obtenus sont exprimés en fonction du pourcentage de matière sèche (MS) des échantillons étudiés. La concentration en composés chimiques est calculée comme suit : masse de l'échantillon X pourcentage de MS ÷ 100

IV) Analyses statistiques

❖ Traitement des données expérimentales

Les données des mesures parasitaires et nutritionnelles sont traitées statistiquement à l'aide du logiciel MINITAB® Release 14 Software.

Des analyses de variance « ANOVA » mettant en jeu des tests d'hypothèses de comparaison de moyennes sont réalisées à partir des données expérimentales. Il s'agit donc de comparer des moyennes (échantillon témoin / évalué), de déterminer leur différence significative avec un risque d'erreur de 5 % (selon un intervalle de confiance fixé à 95%) pour enfin mesurer l'effet d'une variable (effets anthelminthique, nutritionnel des feuilles de manioc) au sein d'une population (moutons, parasites).

Résultats et discussion

I) Etude de la valeur alimentaire des feuilles de manioc

1) Etude de la valeur alimentaire

Tableau 4 : Composition chimique des aliments

	Matières Organiques (% MS)	Matières Azotées Totales (% MS)	Neutral Detergent Fiber (% MS)	Acid Detergent Fiber (% MS)	Acid Detergent Lignin (% MS)	Tanins condensés (g/kgMS)
Foin de <i>Dichantium</i>	92.2	4.3	82,5	47,4	6,9	0,5
Feuilles de Manioc	88.8	19,5	46,3	34,7	13,8	1,7
Luzerne	87,0	17,0	47,2	31,8	8,8	0,3

Les résultats de la composition chimique des aliments composant la ration alimentaire des moutons sont présentés dans le tableau 4.

Les quantités de matières organiques sont assez similaires pour les trois aliments. Le régime expérimental des deux lots d'animaux (témoin luzerne et manioc) est visiblement isoazote avec une concentration en matière azotée totale assez proche pour les deux lots. La teneur en MAT des feuilles de manioc concorde avec les données de la littérature (190 à 250 g/kg MS ; Dung et al., 2005 ; Van and Ledin, 2002).

Le foin est d'assez bonne qualité : il ne contient que 6,9% de lignine, tandis que les feuilles de manioc en contiennent deux fois plus ce qui peut témoigner de l'âge du végétal. Concernant les quantités en tanins condensés (TC), les feuilles du manioc de la variété douce choisie dans cette étude contiennent une faible quantité (0,17%). Les résultats de la composition chimique des aliments composant la ration alimentaire des moutons sont présentés dans le tableau X.

Cette teneur est anormalement basse compte tenu des données enregistrées à ce jour au laboratoire sur des variétés similaires, ce qui pourrait déjà expliquer certains résultats obtenus (effet sur le parasitisme).

Le faible pourcentage en TC trouvé dans cette étude serait sans effet sur l'ingestion et la digestion de l'aliment par l'animal. En effet, à forte concentration en tanins (>7% MS), des effets néfastes sur la croissance, l'ingestion, la digestion et

l'ensemble des paramètres zootechniques sont observés (Barry et McNabb, 1999a ; Reed, 1995 ; Waghorn et al., 1994a, 1994b).

D'autre part, il serait intéressant de vérifier si la teneur en TC est spécifique de la variété. En effet, une teneur supérieure (4%MS) a été observée chez la variété amère lors de travaux précédents réalisées en Guadeloupe (Marie-Magdeleine et al., 2010).

2) Etude de l'effet des feuilles de manioc sur les paramètres parasitaires

A) Excrétion des œufs dans les fèces et paramètres sanguins

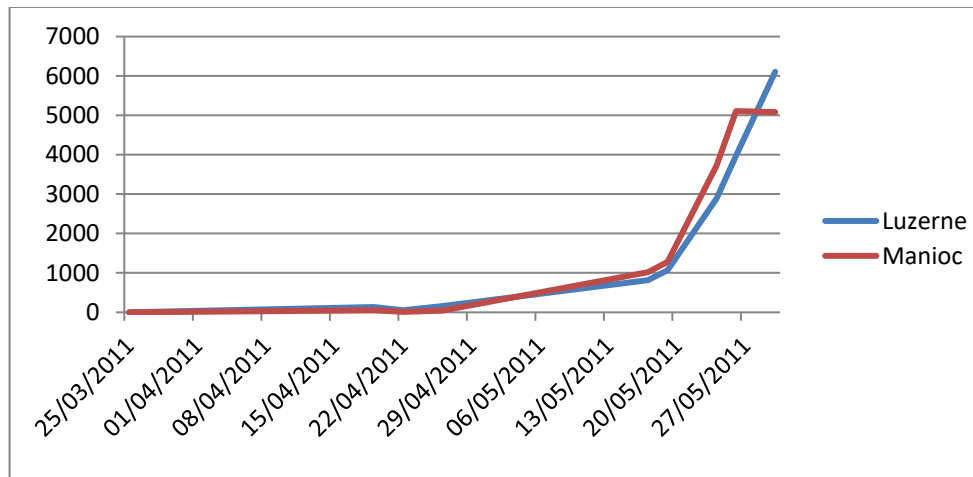


Figure 32 : Evolution du nombre d'œufs par gramme de fèces (OPG) au cours du temps chez le mouton après ingestion des feuilles de manioc et de la luzerne

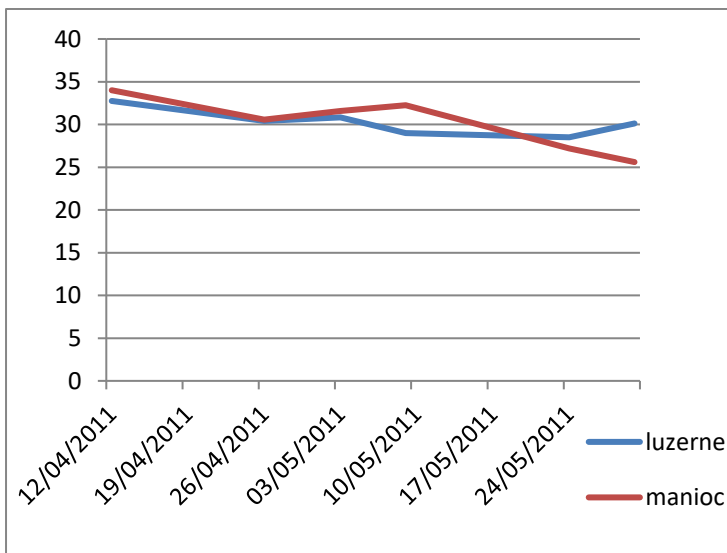


Figure 33 : Evolution de l'hématocrite au cours du temps chez le mouton après ingestion des feuilles de manioc et de la luzerne

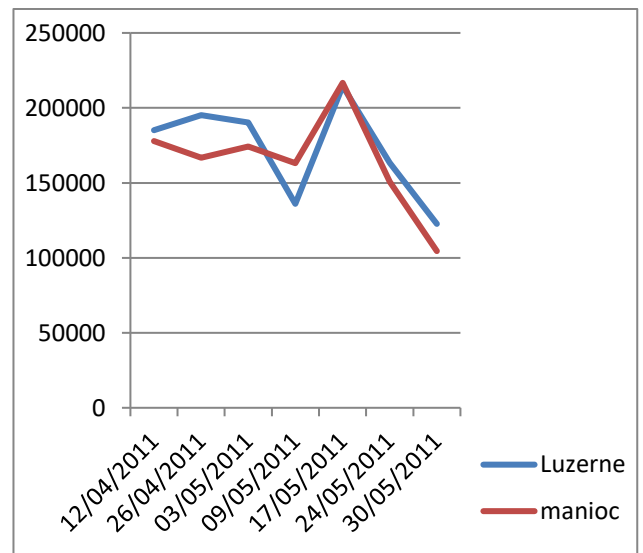


Figure 34 : Evolution de l'éosinophilie au cours du temps chez le mouton après ingestion des feuilles de manioc et de la luzerne

Le nombre d'éosinophiles circulants (Figure34) augmente suite à l'infestation, témoignant de la présence des parasites dans la muqueuse abomasale.

De plus, l'hématocrite (Figure 333) diminue après infestation, témoignant de l'activité hématophage d'*H. contortus* dans la caillette.

Une absence d'œufs de strongles après l'administration du premier traitement vermifuge est observée, ce qui signifie que le traitement a bien fonctionné. Puis, 3 semaines après l'infestation, une forte évolution quasiment exponentielle de l'OPG est observée chez les deux traitements (luzerne et manioc). Leur évolution n'est pas significativement différente compte tenu de la faible teneur en tanins du manioc utilisé dans cette étude (0,17%).

B) Développement parasitaire de l'œuf au stade L3

Les Figures 31, 32 et 33 présentent les résultats obtenus pour l'étude de l'évolution de l'embryonnement au stade L2 du parasite *H. contortus*.

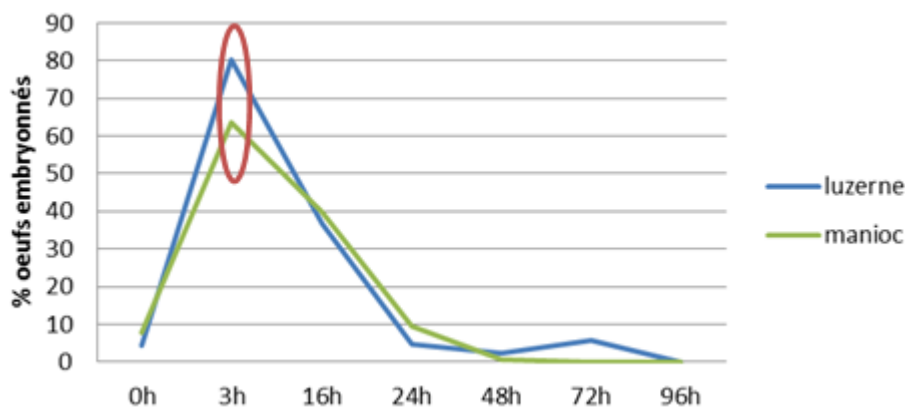


Figure31: Evolution de l'embryonnement du parasite *H. Contortus* chez le mouton après ingestion de feuilles de manioc et de luzerne

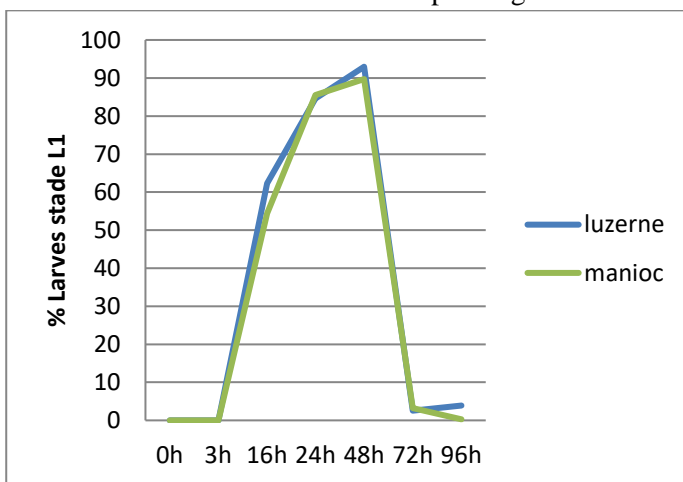


Figure 32 : Evolution de l'éclosion des œufs d'*H. contortus* en larves L1 chez le mouton après ingestion des feuilles de manioc et de luzerne

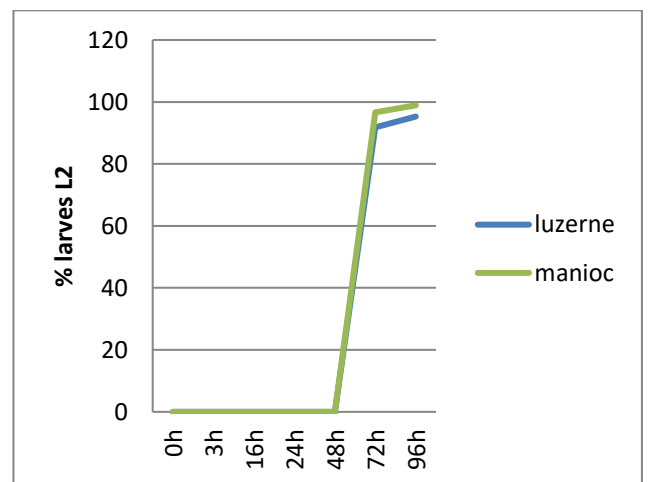
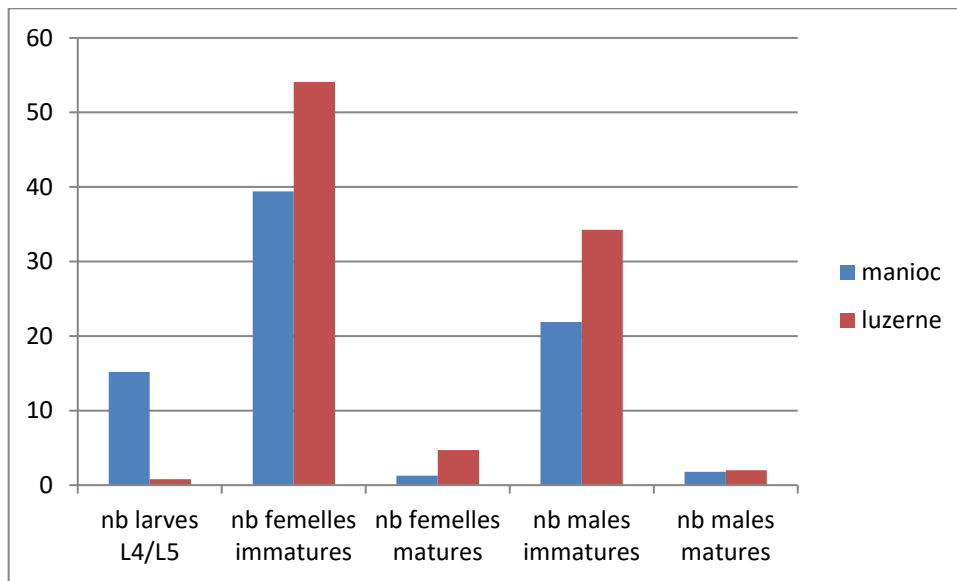


Figure 33 : Evolution des larves de stade L2 du parasite *H. Contortus* chez le mouton après ingestion des feuilles de manioc et de luzerne

Une différence significative est observée dans le développement embryonnaire du parasite *H. Contortus* à t=3h avec un retard significatif ($p < 0.05$) sur le développement des œufs vers le stade embryonné pour le lot « Manioc » (voir figure 31). Un effet inhibiteur des feuilles de manioc sur le développement larvaire du parasite a précédemment été démontré dans les travaux de Marie-Magdeleine (2009).

C) Développement parasitaire du stade L4 au ver adulte

Figure 34 : Répartition des stades parasitaires, et vers adultes immatures et matures à j.16 post infestation par *Haemonchus Contortus*



La Figure 34 montre un retard du développement parasitaire de la larve (L4/L5) au stade adulte chez les moutons nourris aux feuilles de manioc comparé au lot témoin. En effet, une différence significative existe entre les deux lots par les nombres de larves ($p=0,01$), de femelles immatures ($p=0,02$), de femelles matures ($p=0,01$) et le nombre de immatures ($p=0,00$) à l'exception du nombre de males matures ($p > 0.10$).

Ainsi, un effet anthelminthique du manioc est donc observé dans cette étude sur le développement larvaire (L4 au vers adulte), après administration en continu de 0.2g/kg PV de tannins condensés. Il s'agit là d'un résultat préliminaire (mené sur 4 animaux), qui mérite d'être validé par une étude sur un plus grand nombre d'animaux.

L'effet sur le développement parasitaire confirme des résultats in vitro et in vivo obtenus dans des travaux précédents (Marie-Magdeleine et al., 2010a,b). Dans les résultats précédents, les taux de TC étaient beaucoup plus élevés (4%), les présents résultats pourraient donc indiquer que les TC agiraient à des doses très faibles et/ou l'effet est attribuable à d'autres facteurs (autres métabolites secondaires,...).

1) Etude de l'interaction entre la nutrition et le parasitisme

Tableau 5. Effet de la ration sur l'ingestion, la digestion, la croissance et le niveau parasitaire

	Luzerne	Manioc	Prob
Ingestion MS (g/j)	993	973	0,21
Digestibilité MS (%)	68,3	68,0	0,79
Croissance (g/j)	65,3	49,6	0,01
OPG (œufs/g Feces)	1258	2087	0,15
Nb œufs excrétés/jour	5,46 x 10 ⁶	5,37 x 10 ⁶	0,98
PCV (%)	30,0	29,4	0,23

Les résultats d'ingestion, digestion et croissance sont reportés dans le tableau 5. La croissance des animaux est significativement différente ($p=0,01$) entre les deux lots « Manioc » et « Luzerne » alors qu'il n'y a pas de différence entre les 2 lots observés pour l'ingestion et la digestion ($p>0,05$).

La teneur supérieure en fibres (NDF) de la ration du lot manioc et sa faible teneur en TC n'ont pas d'impact sur l'ingestion. En effet, aucune différence significative d'ingestion n'est observée entre les deux lots. Ces résultats sont confirmés par la littérature : une consommation inférieure à 2% en tanins ne provoque aucune variation sur le taux de croissance (Paolini, 2004), tandis qu'une forte concentration entraîne une baisse de l'ingestion et de la digestibilité (Nguyen et al., 2005). Dans notre étude, il n'y a en effet pas de différence significative de digestibilité entre le lot manioc et le lot témoin luzerne, la composition chimique des feuilles de manioc n'a donc pas d'impact sur la digestibilité.

La seule différence observée concerne la croissance. La croissance significativement inférieure du lot « Manioc » par rapport au lot témoin « Luzerne » pourrait s'expliquer par le niveau parasitaire. En effet, même si la différence n'est pas significative, on a une tendance (P proche de 0.10) d'OPG supérieure pour le lot manioc. Contrairement aux données de la littérature, on n'observe pas de baisse de l'OPG par rapport au lot témoin (Sokerya et al., 2009, Marie-Magdeleine et al., 2010). Ce résultat s'explique par la teneur en TC, la dose de 2g/kg PV administrée aux animaux en continu n'est pas suffisante pour entraîner une baisse d'OPG. De plus, aucune différence significative n'est observée concernant le nombre d'œufs de parasite excrétés. Il est donc nécessaire d'évaluer le nombre de vers femelles et leur fécondité afin de voir s'il existe une différence entre les 2 lots.

Par ailleurs, dans cette étude, aucune différence significative dans l'évolution de l'anémie (PCV), n'est observée entre les deux lots. Etant donné que les animaux nourris au manioc sont plus infestés, on pourrait expliquer cette résilience à l'anémie par l'apport en protéines des feuilles de manioc qui permet de compenser l'activité hématophage d'*H. contortus*. En effet, compte tenu des déficits protéiques engendrés par les nématodes gastro-intestinaux, une amélioration des apports protéiques permet de couvrir ces besoins et donc apporte à l'animal une certaine résilience au parasitisme (Bown, et al., 1991).

Conclusion

Cette étude avait pour but d'évaluer l'effet des feuilles de manioc, contenant des tanins condensés, sur l'évolution du parasitisme par *Haemonchus contortus* après ingestion par le mouton.

Notre hypothèse de travail était basée sur le rôle déterminant des tanins condensés dans les activités anthelminthiques. Les teneurs en tanins observées pour cette variété sont anormalement faibles, ce qui limiterait l'intérêt de la comparaison avec le témoin. Cependant, les premiers résultats obtenus ont démontré les propriétés anthelminthiques des tanins condensés des feuilles de manioc de la variété douce sur un retardement de l'embryonnement et du développement du stade L4 au stade adulte, à la dose de 2g/kg de poids vif chez le mouton. Aucun effet significatif n'a été mis en évidence sur la production d'œufs par le parasite, compte tenu de la concentration trop faible en tanins condensés.

Du point de vue alicament, l'utilisation des feuilles de manioc, permet une complémentation protéique assurant une augmentation de la résilience des animaux. Du fait de l'activité sur la phase externe du parasite, cette ressource peut également permettre de diminuer le taux d'infestation au pâturage.

L'étude doit être complétée par la poursuite du protocole expérimental en évaluant l'effet sur le développement des œufs en larves infestantes et sur la fécondité des vers femelles adultes.

Annexes

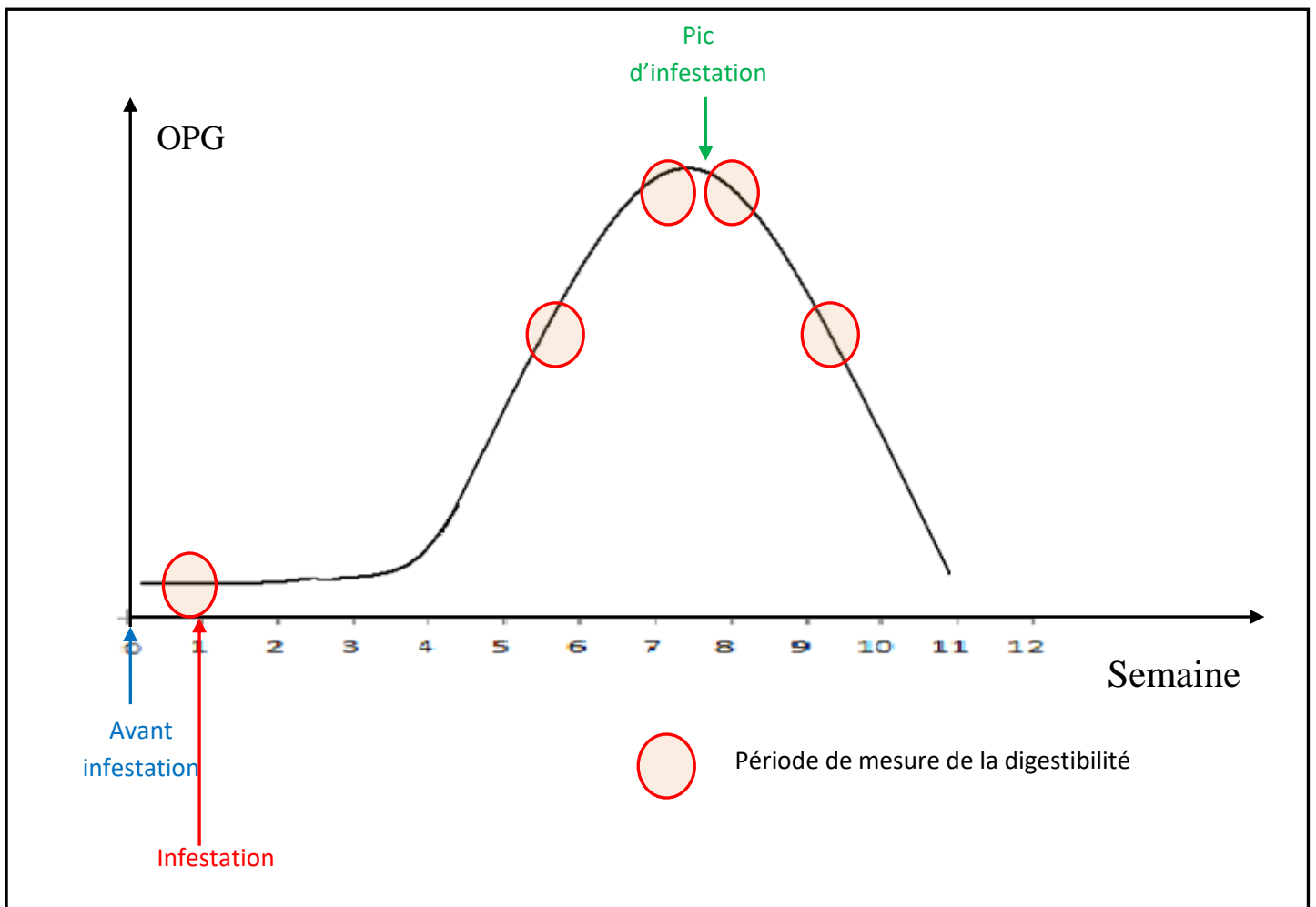
1) Organisation du personnel de l'URZ

Sous projet 1 - Adaptation des animaux aux contraintes des systèmes d'élevage tropicaux		Sous projet 2 Évaluation multicritère des ressources végétales	
<p>Nathalie Mandonnet (CR&HDR) - Résistance génétique aux parasites et programmes de sélection David Renaudeau (CR&HDR) - Nutrition et mécanismes d'adaptation à la chaleur Jean-Luc Gourdière (IR) - Tolérance génétique à la chaleur & systèmes d'élevage Michel Naves (IR) - Interactions génotype - milieu et programmes de sélection Jean-Christophe Bambou (CDD) - Mécanismes de résistance aux parasites Claudia de la Chevrotière (thèse) - Déterminisme génétique de la résistance aux parasites Mélanie Gunia (thèse) - Optimisation des schémas de sélection des Petits Ruminants</p>		<p>Maryline Boval (DR&HDR) - Alimentation au pâturage, relations herbe - animal, méthodologies Harry Archimède (DR&HDR) - Ingestion digestion des fourrages & aliments non conventionnels Carine Marie-Magdeleine (IE) - Valorisation non alimentaire des ressources végétales Séverine d'Alexis (thèse) - Pâturage mixte, impact sur l'alimentation et le parasitisme Carole Régnier (thèse) - Valorisation des aliments non conventionnels Nizar Salah (thèse) - Ressources locales et stratégie de complémentation des Petits Ruminants Aurélie Agastin (thèse) - Comparaison de systèmes de production de viande bovine à l'herbe Axelle Simphor (VCAT) - Alternatives à la fertilisation des prairies</p>	
Sous projet 3 – Évaluation zootechnique, agronomique et environnementale des systèmes d'élevage			
<p>Gisèle Alexandre (IR) - Systèmes d'élevage et qualité des produits Maurice Mahieu (IE) - Systèmes pâturés et lutte intégrée contre les parasites Fred Périacarpin (TR) - détachement PTEA - Expérimentation</p>		<p>Audrey Fanchone (IR) - Systèmes d'élevage et de polyculture-élevage Abel Hiol (Pr, chercheur associé UAG) - Sécurité alimentaire Willy Ceï (VCAT) - Qualité de la viande des caprins Créoles</p>	
Laboratoire d'analyses		Services communs	
<p><i>Animation</i> Carine Marie-Magdeleine(IE) Hugues Varo (AI) Lucien Philibert (TR)</p>	<p>Brigitte Calif (TR) Lucina Abinne-Molza (TR) Tatiana Silou (TR)</p>	<p>Marie-Josée Noel-Bévis (TR) gestion Maryse Flainville-Maricel (TR) secrétaire) Lubert Tel (TR) informatique Elin Calif (TR) documentation Nadia Romil (ATP) documentation, intranet</p>	
Unité expérimentale associée : Plateforme Tropicale d'Expérimentation sur l'Animal (PTEA)			

Tableau 6 : Organisation du personnel URZ « Unité de Recherche Zootechnique

2) Evolution de l'OPG au cours du temps

Schéma 3 : L'évolution de l'OPG chez un moton parasité par H. Contortus au cours du temps



3) Hématocrite

L'hématocrite est le pourcentage du volume d'hématies par rapport au volume total de sang. Ce pourcentage peut diminuer suite à une infection par le parasite hématophage* « *Haemonchus contortus* » qui provoque une anémie plus ou moins importante chez l'animal. La mesure de l'hématocrite permet de surveiller l'anémie chez le mouton et de suivre l'évolution de l'infection. Le taux d'hématocrite normal pour un ovin est de 35 à 45% environ et un hématocrite critique est de 15%.

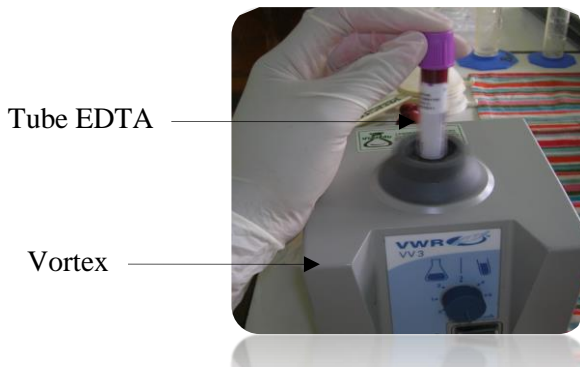
Matériel :

- Tubes EDTA « éthylène-diamine-tétra-acétique » contenant un anticoagulant et le sang prélevé (conservation : ½ journée maximum à 4°C)
- 1 Vortex
- Tubes capillaires (75mm)
- Supports et Gomme
- 1 centrifugeuse à tubes capillaires
- 1 grille de lecture hématocrite

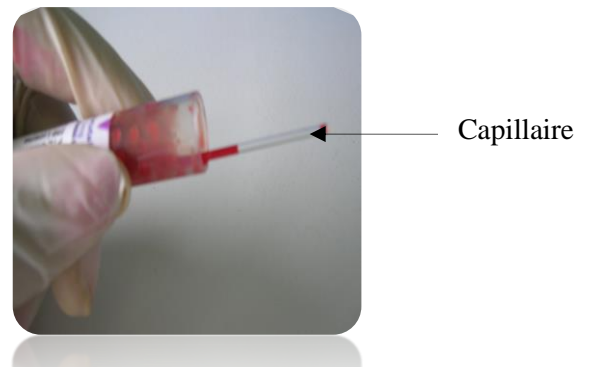


Mode opératoire :

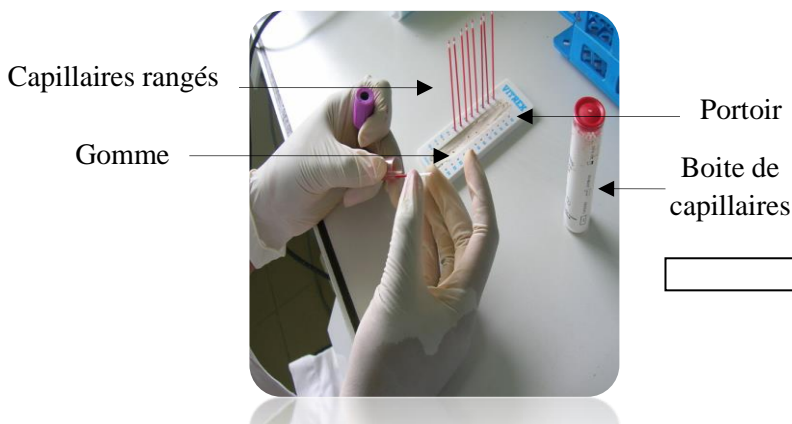
1. Passer chaque tube EDTA au Vortex afin de les homogénéiser



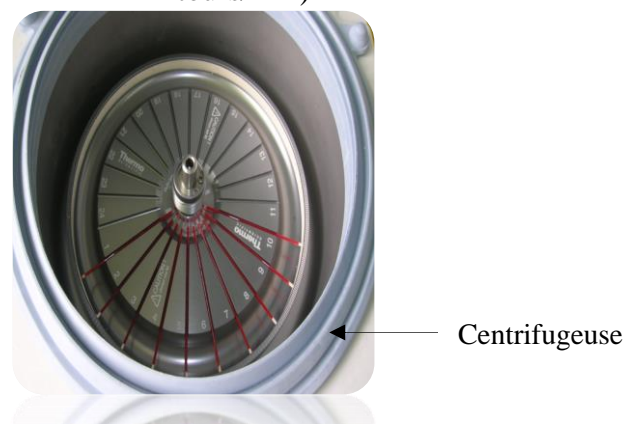
2. Prélever du sang avec un tube capillaire



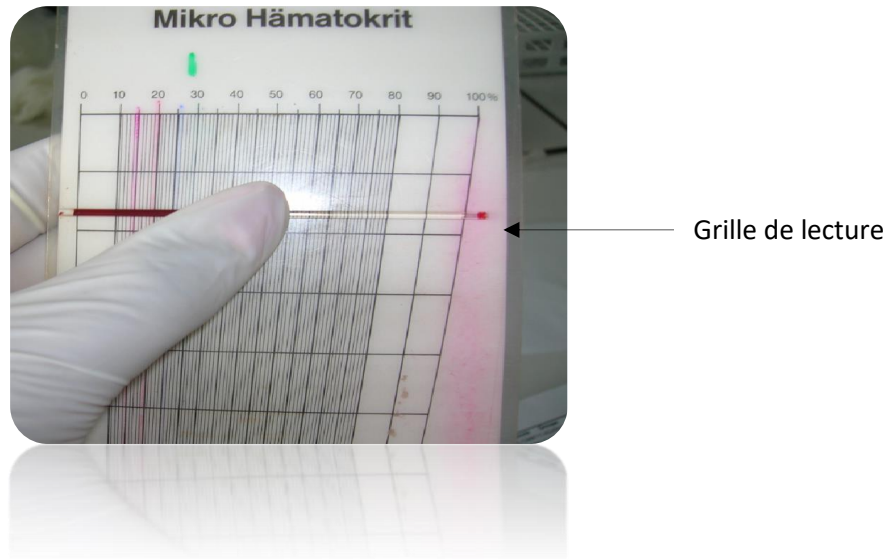
3. Boucher les capillaires à l'aide de la gomme et les disposer dans l'ordre sur le portoir



4. Centrifuger les capillaires (5min à 12000 tours/min)



5. Lecture des capillaires avec la grille « Micro Hématocrite »



La centrifugation a permis la séparation des globules rouges, des globules blancs et du plasma. Pour la lecture de l'hématocrite, il faut déplacer le capillaire le long de la grille jusqu'à coïncider la limite de la gomme avec le 0% et la limite de sang total avec le 100%. La ligne de séparation entre les globules rouges et le reste (plasma et globules blancs) indique la valeur de l'hématocrite en pourcentage

4) Eosinophilie (Dawkins et al, 1989)

Les granulocytes éosinophiles (ou encore « éosinophiles ») sont des cellules sanguines du système immunitaire. Elles ont pour rôle de s'attaquer aux parasites de l'organisme en déversant des granules contenant des enzymes destinées à les détruire.

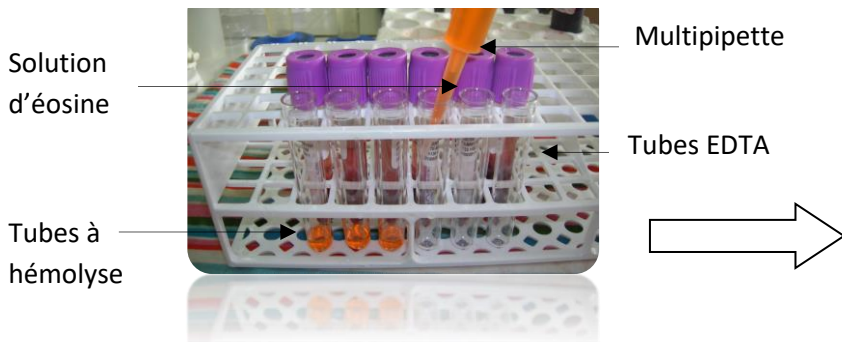
Ainsi une augmentation de la population d'éosinophiles appelée « hyperéosinophilie » est signe d'une infection parasitaire chez l'hôte dont l'importance peut être mesurée par ce paramètre.

Matériel :

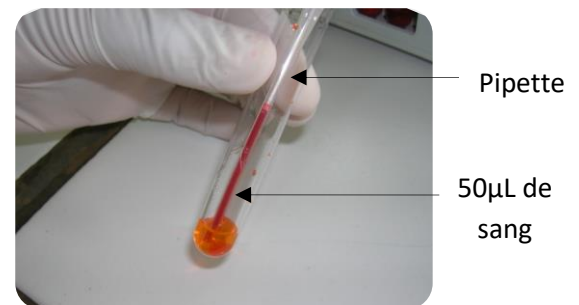
- Tubes EDTA contenant un anticoagulant et le sang prélevé (conservation durant 4 jours maximum à 4°C)
- 1 Vortex
- pipettes à piston et multipipette
- Cône à piston adaptés aux pipettes
- Tubes en verre à hémolyse (5ml)
- 1 solution d'éosine (1ml d'éosine 2%+1,5ml de formaldéhyde saturé en CaCO₃+ qsp 50ml eau)
- Lames de Malassez
- Lamelles
- 1 microscope

❖ Mode opératoire

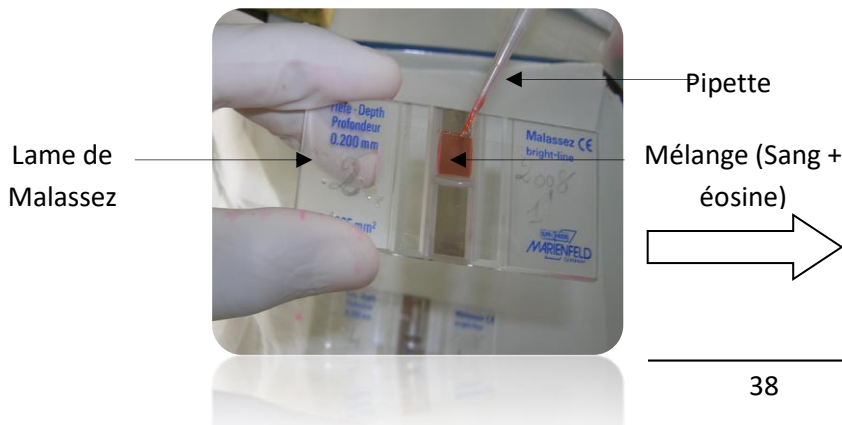
1. Préparer autant de tubes à hémolyse qu'il y a d'échantillons de sang et y mettre 500µl de la solution d'éosine



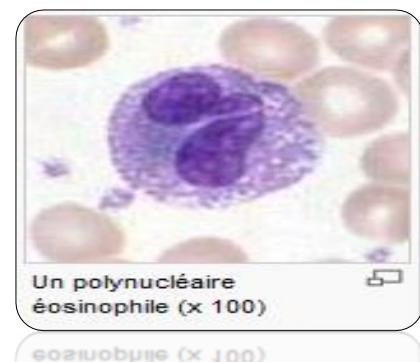
2. Après avoir homogénéiser les tubes EDTA au vortex, mettre 50µL de sang dans les tubes à hémolyse puis les homogénéiser au vortex.



3. Déposer les lamelles sur les lames de Malassez et les remplir avec le mélange (sang + éosine)



4. Compter les éosinophiles au microscope (X20) à l'aide d'un compteur mécanique (lecture réalisée dans la demi-heure suivant la coloration)



5) Coproscopie et Calcul des OPG (Technique MacMaster, modifiée par Raynaud, 1970)

Le nombre d'Œufs Par Gramme de fèces « OPG » est obtenu grâce à la technique de coproscopie.

Cette mesure permet de suivre l'excrétion d'œufs pendant la période de ponte, qui débute généralement 21 jours après l'infestation de l'hôte.

Le développement des œufs peut être inhibé à de faibles températures (4°C), ainsi les fèces peuvent être conservées quelques jours au réfrigérateur

Matériel :

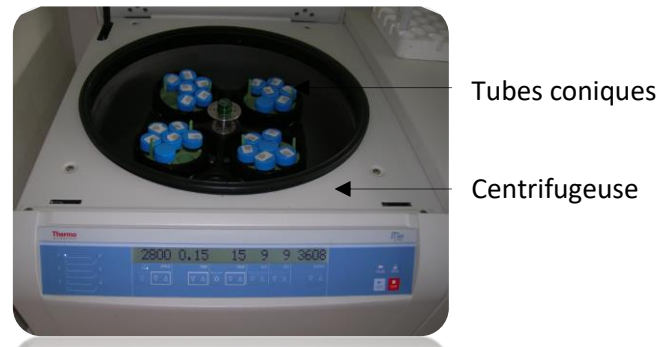
- Tubes coniques (50ml) contenant les fèces
- 1 balance
- 1 mortier
- 1 pilon
- 1 agitateur magnétique
- Barreaux magnétiques
- 1 Vortex
- 1 centrifugeuse
- 1 solution de NaCL saturée (d=1,21)
- 1 tamis de mailles de 1mm
- 1 pipette pasteur
- 1 microscope

❖ Mode opératoire

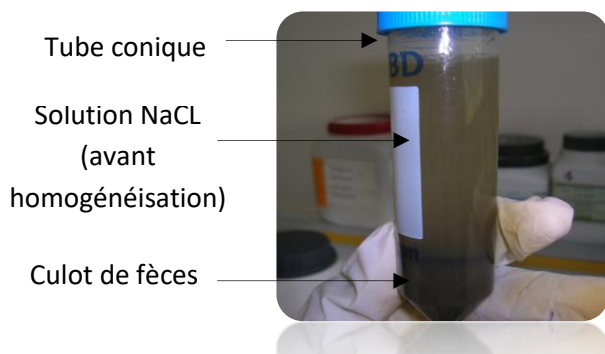
1. Broyer les fèces dans un mortier à l'aide du pilon et en conserver 5g environ dans les tubes coniques



2. Remplir les tubes coniques avec de l'eau, les homogénéiser au vortex, puis les centrifuger (15 min à 2800 tours/min)



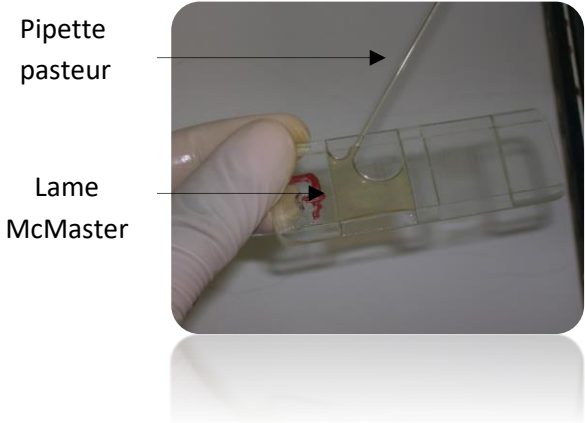
3. Après avoir jeté le surnageant, remplir les tubes avec de la solution d'NaCL (permet la flottaison des œufs) puis les homogénéiser au vortex



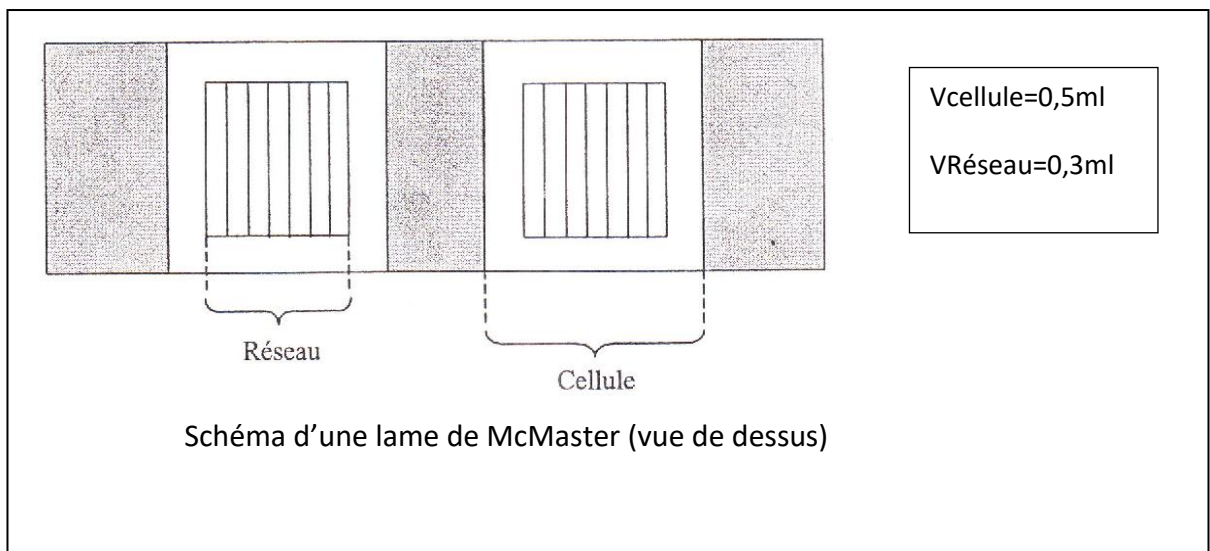
4. Filtrer sur tamis (maille de 1mm) et récupérer le filtrat dans un béccher contenant un barreau aimanté



5. Placer chaque b cher sous agitation et remplir chaque lame McMaster



6. Compter les œufs sous microscope à l'aide d'un compteur magnétique



Si le comptage est bien réalisé dans l'ensemble du réseau pour chacune des deux cellules, le nombre d'œufs par gramme de fèces « OPG » est estimé comme suit :

$$\text{OPG} = \frac{\text{nombre d'œufs comptés}}{\text{volume total réseaux} \times (\text{volume de NaCl} + \text{poids fèces})} \times \text{poids fèces}$$

Lexique :

- ❖ Agriculture durable : Système de production agricole visant à assurer une production pérenne de nourriture, de bois et de fibres en respectant les limites écologiques, économiques et sociales qui assurent la maintenance de cette production
- ❖ Anthelminthique : Composé destiné à l'évacuation ou la destruction des helminthes (ver parasite) de l'organisme.
- ❖ Astringence : Propriété de certaines substances de produire une crispation des muqueuses.
- ❖ Caillette : (abomasum) est le véritable estomac des *Ruminants* Les autres compartiments sont dits pré-estomacs (panse, réticulum, feuillet) car ils assurent une digestion microbienne, la digestion enzymatique étant réalisée dans cet estomac
- ❖ Conformation bouchère : Apparence extérieur d'un animal d'élevage, appréciée par rapport aux objectifs de production de l'animal (lait, viande).
- ❖ Dessaisonnement : Reproduction d'une femelle mammifère en dehors de la saison sexuelle habituelle.
- ❖ Hématophage : (ou sanguinivore) est un espèce qui se nourrit de sang.
- ❖ Nématode : Ver némathelminthe cylindrique ou effilé, non segmentés, menant une vie libre ou parasitaire. Ils sont en général gonochoriques (les sexes sont séparés) et montrent souvent un dimorphisme sexuel : les males sont plus petits et portent des spicules copulateurs.
- ❖ Phytothérapie : Traitement ou prévention des maladies par l'usage des plantes.
- ❖ Taux de prolificité : Rapport du nombre de petits nés au nombre de mises bas
- ❖ La résistance : Capacité de l'hôte à réguler l'installation, le développement, la fécondité et la survie des nématodes (Douch et al., 1996a).
- ❖ La résilience : Capacité de l'hôte infesté à supporter les effets négatifs du parasitisme et à maintenir des niveaux de production, malgré la présence des vers (Albers et al.,1987)
- ❖ Strongylose : Maladie parasitaire provoquée par des nématodes appartenant à la famille des strongyloïdés et aux familles voisines (strongylose intestinale des équidés, strongylose gastro-intestinale des ruminants, strongylose broncho-pulmonaire des ruminants et du porc).

Bibliographie

- Abbott, E. M., Parkins, J. J., & Holmes, P. H. (1986). The effect of dietary protein on the pathophysiology of acute ovine haemonchosis. *Veterinary Parasitology*, 20(4), 291-306.
- AOAC. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Analytical Chemists ed., Arlington, VA ed. , 1997
- Aumont, G., et al. Parasitisme digestif des petits ruminants dans les Antilles françaises INRA Production animale, février, 1997, vol.10,no.1,pp.79-80 INRA
- Athanasiadou, S., Kyriazakis, I., Jackson, F., & Coop, R. L. (2001). Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: In vitro and in vivo studies. *Veterinary Parasitology*, 99(3), 205-219.
- Athanasiadou, S., Githiori, J., & Kyriazakis, I. (2007). Medicinal plants for helminth parasite control: Facts and fiction. *Animal*, 1(9), 1392-1400.
- Brunet,S. Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants.[tanins, petits ruminants, nématodes antiparasitaires]Doctorat spécialité : Pathologie et Nutrition ed. UNIVERSITE DE TOULOUSE, 28 novembre, 2008[cited 15 janvier 2010]
- Hoste, H., Jackson, F., Athanasiadou, S., Thamsborg, S. M., & Hoskin, S. O. (2006). The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends in Parasitology*, 22(6), 253-261.
- Hue, K. T., Van, D. T. T., Ledin, I., Spörndly, E., & Wredle, E. Effect of feeding fresh, wilted and sun-dried foliage from cassava (*manihot esculenta crantz*) on the performance of lambs and their intake of hydrogen cyanide. *Livestock Science*
- Iqbal, Z., Sarwar, M., Jabbar, A., Ahmed, S., Nisa, M., Sajid, M. S., et al. (2007). Direct and indirect anthelmintic effects of condensed tannins in sheep. *Veterinary Parasitology*, 144(1-2), 125-131.
- Lacroux. C. Régulation des populations de Nématodes gastro-intestinaux (*Haemonchus contortus* et *Trichostrongylus colubriformis*) dans deux races ovines, INRA 401 et Barbados Black Belly.[Gastrointestinal nematodes, Sheep, *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* , Immune response, Th2 polarization, Genetic resistance.] Doctorat spécialité :Qualité et sécurité des Aliments ed.INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE TOULOUSE, 15 Juin 2006

- Marie-Magdeleine, C., Mahieu, M., Philibert, L., Despois, P., & Archimède, H. (2010). Effect of cassava (*manihot esculenta*) foliage on nutrition, parasite infection and growth of lambs. *Small Ruminant Research*, 93(1), 10-18.
- Marie-Magdeleine, C., Udino, L., Philibert, L., Bocage, B., & Archimede, H. (2010). In vitro effects of cassava (*manihot esculenta*) leaf extracts on four development stages of *haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 173(1-2), 85-92.
- Nakamura, Y., Tsuji, S., Tonogai, Y., 2003. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. *J. Health Sci.* 49,45–54.
- Nguyen, T.M., Van Binh, D., Orskov, E.R., 2005. Effect of foliages containing condensed tannins on gastrointestinal parasites. *Anim. Feed Sci. Technol.* 121, 77–87.
- Paolini, V. Effets des tanins condensés sur le parasitisme par les nématodes gastro-intestinaux chez la chèvre.[Goats, Gastrointestinal nematodes, Parasitism, Condensed tannins, In vivo, In vitro] Doctorat spécialisé : Parasitologie ed. UNIVERSITE DE PERPIGNAN [cited 25 juin 2004]
- Paolini, V., et al. Effets des tanins condensés et des plantes à tanins sur le parasitisme gastro-intestinal par les nématodes chez la chèvre.[tanin végétal ; Parasite ; Infection ; Tanin condensé ; *Haemonchus Contortus* ; Chèvre] France : Institut de l'élevage, Paris, France, 4décembre, 2002 Congrès 9^e rencontres autour des recherches sur les ruminants : Paris, 4-5 décembre 2002). ISBN 1279-6530.
- Raynaud, J.P., 1970, Etude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le contrôle des infestations parasitaires des bovins, équins et porcins. *Ann Parasitol Hum Comp* 45, 321-342.
- Seng, S. & Preston, T.R. (2003). Effect of grass or cassava foliage on growth and nematode parasite infestation in goats fed low or high protein diets in confinement. *Livestock Research for Rural Development* 15(8). Sorn, S. & Muirden, A. (2002). *Survey*
- Seng, S. (2009) *The effect of cassava foliage (Manihot esculenta) on gastrointestinal parasites of small ruminants in Cambodia*. Doctorat, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Sciences 2009:43
- Seng, S., Waller, P. J., Ledin, I., & Höglund, J. (2007). The effects of short-term feeding of fresh cassava (*manihot esculenta*) foliage on gastrointestinal nematode parasite infections in goats in Cambodia. *Tropical Biomedicine*, 24(1), 47-54.

- Sokerya, S., & Preston, T. R. (2003). Effect of grass or cassava foliage on growth and nematode parasite infestation in goats fed low or high protein diets in confinement. *Livestock Research for Rural Development*, 15(8), 50-66.
- Sokerya, S., Phanchadcharam, C., Suy, M., & Höglund, J. (2010). Effects of ensiled cassava (*manihot esculenta*) foliage compared to a soybean meal supplement on gastrointestinal nematode infections in goats. *Livestock Research for Rural Development*, 22(6)
- Sokerya, S., Waller, P., Try, P., Höglund, J., 2009. The effect of long-term feeding of fresh and ensiled cassava (*Manihot esculenta*) foliage on gastrointestinal nematode infections in goats. *Trop. Anim. Health Prod.* 41, 251–258.
- Sykes, A. R., & Coop, R. L. (2001). Interaction between nutrition and gastrointestinal parasitism in sheep. *New Zealand Veterinary Journal*, 49(6), 222-226.
- SYLVESTRE P., ARRAUDEAU M. , 1983. *Le manioc*. Paris, France, Maisonneuve et Larose, 262 p.
- Thi, M. N., Van Binh, D., & Ørskov, E. R. (2005). Effect of foliages containing condensed tannins and on gastrointestinal parasites. *Animal Feed Science and Technology*, 121(1-2), 77-87.
- Ty, C., Preston, T. R., & Borin, K. (2007). Effect of variety and wilting on HCN content of cassava leaves and on intake, digestibility and N retention by growing pigs. *Livestock Research for Rural Development*, 19(9)
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583-3597.
- Wolstenholme, A. J., Fairweather, I., Prichard, R., Von Samson-Himmelstjerna, G., & Sangster, N. C. (2004). Drug resistance in veterinary helminths. *Trends in Parasitology*, 20(10), 469-476.

Résumé

Le développement croissant des résistances aux anthelminthiques de synthèse dans les populations parasitaires a conduit à l'élaboration de nouvelles alternatives de lutte contre le parasitisme gastro-intestinal chez les ruminants d'élevage. Ainsi, le recours à l'utilisation des ressources végétales disponibles en exploitation agricole devient un véritable défi scientifique.

L'objectif de ce stage est d'évaluer la teneur alicament des feuilles de manioc afin de rechercher le mode d'action de l'activité sur le parasite *Haemonchus contortus*. Dans cette optique, une étude est réalisée sur des agneaux de race « Martinik » contaminés par *H. contortus* alimentés à base de feuilles de manioc doux.

Ce travail a mis en évidence l'effet anthelminthique du manioc doux sur le développement embryonnaire et larvaire du parasite. Aucune activité n'est observée sur le niveau parasitaire compte tenu des faibles teneurs en tanins retrouvées dans cette variété de manioc. Cependant, une résilience est observée.

Cette expérience préliminaire doit être complétée par la poursuite de l'étude sur l'évaluation de l'effet sur le développement en stade infestant et sur la fertilité des vers femelles.

Abstract

The increasing development of resistance to synthetic anthelmintics in parasite populations has led to the development of new alternatives to fight against gastrointestinal parasitism in domestic ruminants. Thus recourse to the use of plant resources available in farm becomes a scientific challenge.

The objective of this course is to assess the nutraceutical content of cassava leaves to find the mode of action of the activity on the parasite *Haemonchus contortus*. In this regard, a study was performed on "Martinik " lambs contaminated with *H. contortus* and fed with sweet cassava dry foliage.

The present work has demonstrated the anthelmintic effect of sweet cassava on embryonic and larval development of the parasite. No activity was observed on the parasite level given the low levels of tannins found in the variety of cassava. However, resilience was observed.

This preliminary experiment should be supplemented by further study on the evaluation of the effect in the development of the infective stage and on the fertility of female worms.