

# Cinétique d'infestation par *Haemonchus contortus* et réponse d'ovins de races résistante (Martinik Black Belly) et sensible (Lacaune)

Mohamed Benguesmia<sup>1,2\*</sup> Mourad Hamiroune<sup>3\*</sup> Aline Chrétien<sup>2</sup>  
 Françoise Prévot<sup>2</sup> Christelle Grisez<sup>2</sup> Jean-Paul Bergeaud<sup>2</sup>  
 Caroline Lacroux<sup>2</sup> Cathy Trumel<sup>2</sup> Anne Geffre<sup>2</sup>  
 Khaled Harhoura<sup>1</sup> Miriem Aissi<sup>1</sup> Philippe Jacquet<sup>2</sup>

## Mots-clés

Ovin Lacaune, Martinik Black Belly, *Haemonchus contortus*, résistance aux anthelminthiques, réponse immunitaire, nématodose, infection expérimentale

Submitted: 6 July 2019  
 Accepted: 21 May 2020  
 Published: 29 June 2020  
 DOI: 10.19182/remvt.31874

## Résumé

L'extension de la résistance des nématodes gastro-intestinaux aux anthelminthiques, récemment observée pour *Haemonchus contortus*, représente un réel problème et rend urgente la recherche de solutions alternatives comme la sélection d'animaux résistants aux helminthes. Tous les cas d'infestations expérimentales mettent en évidence une variabilité individuelle importante dans les excréments d'œufs, discriminant bien les individus résistants et les individus sensibles, ce qui permet d'envisager la sélection d'individus résistants dans les races étudiées. Toutefois, la méconnaissance des mécanismes de la réponse immunitaire des ovins vis-à-vis de ces strongles reste un obstacle au développement de cette sélection. Il est acquis que le niveau d'excrétion d'œufs de parasites dans les matières fécales représente un indicateur pertinent pour évaluer la résistance d'un animal aux strongles. Ce critère a été examiné lors de la présente étude, réalisée avec deux races ovines françaises, la Martinik Black Belly (résistante) et la Lacaune (sensible). Les animaux ont été infestés par voie orale avec une seule dose de 10 000 larves L<sub>3</sub> d'*H. contortus*. La réponse des ovins a fait l'objet d'un suivi lors d'examens *ante mortem* et *post mortem*. Les résultats ont montré clairement qu'au cours d'une primo-infestation par *H. contortus* il y avait une différence significative entre les populations parasitaires (intensité parasitaire et production d'œufs) et entre certains paramètres physiopathologiques (éosinophilie sanguine et tissulaire) observés chez ces deux races ovines.

■ Comment citer cet article : Benguesmia M., Hamiroune M., Chrétien A., Prévot F., Grisez C., Bergeaud J.-P., Lacroux C., et al., 2020. Kinetics of infestation by *Haemonchus contortus* and response of resistant (Martinik Black Belly) and susceptible (Lacaune) sheep breeds. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, 73 (2): 123-131, doi: 10.19182/remvt.31874

## ■ INTRODUCTION

Les infestations par les nématodes gastro-intestinaux comme *Haemonchus contortus* entraînent de grandes pertes économiques en élevage des petits ruminants en raison des retards de croissance, des pertes de poids, des troubles de la fertilité, des diminutions de la production laitière et des mortalités des jeunes animaux qu'elles génèrent

1. Ecole nationale supérieure vétérinaire Rabie Bouchama, Alger, Algérie.
2. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, Toulouse, France.
3. Département des sciences agro-vétérinaires, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ziane Achour, Djelfa, Algérie.

\* Auteurs pour la correspondance  
 Email : m.benguesmia@laposte.net ; mouradhamiroune@gmail.com



<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

(Kaplan et Vidyashankar, 2012). Récemment, les problèmes posés par ce nématode se sont encore accentués avec l'apparition chez certaines populations d'*H. contortus* (en Australie, en Afrique du Sud, aux Etats-Unis, en Uruguay, en Suisse, entre autres) d'une résistance à une ou plusieurs classes d'anthelminthiques utilisés couramment : benzimidazoles, imidazothiazoles, lactones macrocycliques ou dérivés d'aminoacétonitrile (Bourdoiseau, 1992 ; Kotze et Prichard, 2016 ; Bordes et al., 2020).

Afin de retarder l'apparition des résistances, il est urgent de développer des méthodes alternatives à l'emploi de ces molécules de synthèse. L'utilisation d'animaux ou de races génétiquement résistants à ce nématode en fait partie. Des différences de résistance à *H. contortus* ont en effet été rapportées à maintes reprises entre des races ovines (Bishop et Morris, 2007). De telles différences existent aussi entre les individus d'une même race, ce qui permet d'envisager

la sélection des animaux les moins sensibles à l'infestation (Aguerre et al., 2018). En France, plusieurs races ovines (Manech Tête Rousse, Romane et Blanc du Massif Central) ont ainsi fait l'objet d'expérimentations de faisabilité de la sélection génétique au cours des dernières années (Jacquet et al., 2011).

Les mécanismes qui sous-tendent ces différences de sensibilité intra- et interraces ne sont pas bien connus. Terefe et al. (2007) montrent que les animaux de race Martinik Black Belly (ou MBB) présentent, dès la primo-infestation, une plus grande résistance à *H. contortus* que des animaux de race sensible. Ceci suggère une éventuelle participation de la réponse immunitaire innée aux processus de régulation précoce des infestations par *H. contortus* chez les MBB. C'est pourquoi une étude a été réalisée en 2010 par l'équipe de parasitologie de l'UMR INRA/ENVIT 1225 « Interactions hôtes - agents pathogènes » afin d'étudier la différence entre les populations parasitaires et les paramètres physiologiques d'animaux de race Lacaune, sensibles, et MBB au cours d'une primo-infestation par *H. contortus*. Ce travail a fait l'objet d'un mémoire de master (Benguesmia, 2010). Des études similaires seront réalisées prochainement, suivant la même méthodologie, en Algérie où la question de la résistance des strongles gastro-intestinaux (SGI) aux anthelminthiques a été déjà documentée (Bentounsi et al., 2003 ; Boulkaboul, 2008), y compris vis-à-vis de molécules plus récemment développées comme le monépanel. Le but de ces recherches sera d'identifier les races moins sensibles et de les comparer aux races françaises MBB et Lacaune. C'est pourquoi il est apparu opportun de présenter, dans un premier temps, une synthèse des résultats qui ont été obtenus avec les agneaux des races MBB et Lacaune, permettant de caractériser les populations parasitaires les infestant. Des analyses de physiopathologie complètent les critères parasitologiques.

■ MATERIEL ET METHODES

Bien qu'achevée en 2010, cette étude a été réalisée en respectant la charte nationale d'éthique et conformément au décret 2013-118 relatif à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques dans un établissement agréé. L'abattage des agneaux a été effectué par du personnel qualifié à la salle d'abattage des animaux de rente de l'Ecole nationale vétérinaire de Toulouse en respectant l'étourdissement obligatoire préalable à la mise à mort.

**Animaux**

**Ovins Martinik Black Belly**

Les ovins MBB représentent l'une des races ovines dites « à poils » ou « sans laine » rencontrées aux Petites Antilles (Martinique, Guadeloupe, etc.) et caractérisées par un ventre et des extrémités noirs. Ces ovins ont été introduits aux Antilles à partir du XV<sup>e</sup> siècle. Ils descendent très probablement des moutons africains de la côte du golfe de Guinée (Mahieu et al., 1997 ; Naves et al., 2001 ; Lacroux, 2006). Des embryons de cette race ont été importés de Guadeloupe en métropole par le centre de recherche de l'Institut national de la recherche agronomique (INRA, domaine de la Sapinière, département du Cher) dans le but initial d'étudier la saisonnalité de la reproduction. Toutefois, la MBB est également connue pour sa résistance aux infestations par les nématodes gastro-intestinaux comme *H. contortus* (Gruner et al., 2003). Les ovins MBB sont de petit à moyen format (40 à 65 kg) pour une hauteur au garrot de 55 à 60 cm. La race est utilisée principalement pour la production d'agneaux de petit gabarit.

**Ovins Lacaunes**

Les ovins Lacaunes, avec un effectif de 1,3 million de brebis, représentent environ un cinquième du cheptel ovin français. Ils tirent leur nom d'une commune située au milieu des monts de Lacaune dans

le département du Tarn, à la limite de l'Aveyron et de l'Hérault. De format moyen à lourd, la brebis Lacaune pèse de 70 à 80 kg pour une hauteur au garrot de 70 à 80 cm. Les mâles pèsent 95 à 110 kg. La race se caractérise par une tête fine au profil légèrement busqué et l'absence de cornes. Il existe deux rameaux en race Lacaune, l'un spécialisé pour produire du lait, l'autre pour produire de la viande.

**Age, sexe et entretien des animaux**

L'étude a été conduite avec des agneaux de six mois d'âge. Elle a impliqué 16 agneaux de race MBB (9 mâles et 7 femelles), de paternités connues, fournis par la station expérimentale INRA de la Sapinière, et 12 agneaux Lacaunes (8 mâles et 4 femelles) nés à l'Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, dont les paternités multiples n'étaient pas connues. De leur naissance à l'autopsie (tableau I), ils ont été maintenus à l'intérieur de bâtiments et alimentés avec du foin à volonté et du concentré afin d'éviter toute infestation accidentelle. Un traitement anthelminthique par voie orale (ivermectine Oramec Ovin 0,2 mg/kg, ayant une rémanence d'une semaine) a été administré 15 jours avant la primo-infestation pour s'assurer de l'absence de toute contamination.

**Parasites**

Les larves d'*H. contortus* utilisées provenaient de l'isolat Humeau isolé d'un élevage caprin dans la région du Quercy. Les larves infestantes (L<sub>3</sub>) ont été récoltées à partir de coprocultures des matières fécales d'ovins infestés expérimentalement. Les larves utilisées en expérimentation avaient environ un à deux mois d'âge et ont été conservées au réfrigérateur dans des boîtes de cultures.

**Dispositif expérimental**

Les ovins ont été infestés par voie orale, avec une seule dose de 10 000 L<sub>3</sub>. Une telle dose est suffisante pour entraîner une réponse chez l'hôte mais n'entraîne pas de signes cliniques extrêmes comme la mort des animaux au cours de l'expérimentation. Les animaux ont été divisés en six lots et le protocole expérimental décrit ci-dessous a été suivi (figure 1) : infestation à J<sub>0</sub> de tous les lots sauf le lot témoin ; prises de sang de tous les animaux encore présents à J<sub>0</sub>, J<sub>4</sub>, J<sub>8</sub>, J<sub>15</sub>, J<sub>21</sub> et J<sub>30</sub> ; examens coproscopiques à J<sub>0</sub>, J<sub>15</sub>, J<sub>18</sub>, J<sub>21</sub>, J<sub>23</sub>, J<sub>26</sub> et J<sub>30</sub> ; abattage à J<sub>0</sub> (lot témoin), J<sub>4</sub> (lot 1), J<sub>8</sub> (lot 2), J<sub>15</sub> (lot 3), J<sub>21</sub> (lot 4) et J<sub>30</sub> (lot 5) postinfestation.

Les dates d'abattage ont été choisies en fonction de la biologie du parasite : à J<sub>4</sub>, toutes les larves implantées devaient être au stade 4 ; à J<sub>8</sub>, on commençait à voir les premiers vers immatures ; à J<sub>15</sub>, la majorité des vers devait être au stade immature ; à J<sub>21</sub>, une grande partie des vers devait être au stade adulte ; enfin, à J<sub>30</sub>, tous les vers présents devaient être au stade adulte. Lors de la répartition des agneaux MBB dans les différents lots, certaines dates ont été privilégiées et un nombre plus important d'animaux a été mis dans le groupe : J<sub>15</sub> car, selon Terefe et al. (2009), les différences de charges parasitaires sont déjà bien accentuées à cette date, et J<sub>30</sub> afin de confirmer qu'à cette date, les vers femelles sont plus petits chez les MBB que chez des animaux de race sensible (Terefe et al., 2007).

**Tableau I**

Nombre et sexe des agneaux abattus selon la race au cours d'une primo-infestation par *Haemonchus contortus*

Race	J <sub>0</sub>	J <sub>4</sub>	J <sub>8</sub>	J <sub>15</sub>	J <sub>21</sub>	J <sub>30</sub>
Lacaune	2 F	2 M	2 M	1 M ; 1 F	1 M ; 1 F	2 M
MBB	2 F	1 M ; 1 F	2 M ; 2 F	3 M	1 M ; 1 F	2 M ; 1 F

F : femelle ; M : mâle ; MBB : Martinik Black Belly

## Examens ante mortem

### Examen coproscopique quantitatif

L'examen coproscopique est une technique courante pour le diagnostic et l'évaluation du niveau d'infestation du mouton par *H. contortus*. Le nombre d'œufs de strongles par gramme de matières fécales (OPG) est évalué par la technique de McMaster, modifiée par Raynaud et al. (1970). Un volume de 42 ml de solution saturée de chlorure de sodium (densité = 1,19) a été ajouté à 3 g de fèces. Le mélange obtenu a été filtré avec une passoire à thé. Ensuite, une aliquote a été prélevée pour remplir les cellules d'une lame de McMaster. Le comptage a été effectué sous microscope optique au grossissement  $\times 100$ .

### Mesure de l'hématocrite

L'hématocrite est estimé à partir de sang collecté à la veine jugulaire dans des tubes d'éthylènediaminetétraacétique (EDTA). L'analyse a été réalisée dans la demi-journée suivant le prélèvement afin d'éviter l'hémolyse. Après homogénéisation, le sang a été prélevé dans des tubes capillaires et centrifugé, permettant grâce à une grille de lecture d'établir le pourcentage de globules rouges (culot) par rapport au volume de sang total.

### Mesure du nombre total d'hématies, de l'hémoglobininémie, du taux de réticulocytes et de l'éosinophilie sanguine

Ces mesures ont été réalisées par le service de biologie clinique de l'École nationale vétérinaire de Toulouse à partir des prélèvements de sang sur EDTA à l'aide d'un compteur hématologique (SYSMEX Inst. ID. XT-2000iV-1).

### Dosage du pepsinogène sanguin

Les concentrations de pepsinogène sérique (marqueur biochimique de l'inflammation) ont été évaluées selon la méthode décrite par Dorny et Vercauteren (1998). Brièvement, un échantillon de sérum a été acidifié avec de l'acide chlorhydrique et incubé une nuit à 37 °C avec de l'albumine sérique bovine (BSA). La réaction a été arrêtée avec l'acide trichloracétique à 4 % et le mélange a été centrifugé à 14 000 tours/min pendant 5 min. Une partie de l'aliquote (surnageant) a été ajoutée à 0,25 M d'hydroxyde de sodium et les plaques ont été incubées à température ambiante avec le réactif de Folin pendant 30 min. La quantité de tyrosine libérée a été estimée par la densité optique déterminée dans un lecteur de plaque à dosage immunoenzymatique sur support solide (ELISA, Dynatech ImmunoAssay System) à 680 nm en utilisant une courbe standard de tyrosine. Les

valeurs ont été exprimées en unité (U) ou milliunité (mU) de tyrosine par litre de sérum.

## Examens post mortem

### Etude quantitative et qualitative de la population parasitaire (bilans parasitaires)

Après chaque abattage, les caillottes ont été rapidement isolées du reste de l'appareil digestif et une incision a été faite sur la grande courbure. Les vers ont été recherchés : a) dans le contenu de l'organe (ainsi que dans les liquides de lavage des parois de celui-ci), mais b) également dans la paroi de l'organe, afin de récupérer dans la muqueuse et de dénombrer les stades parasitaires non encore matures. Pour cela, l'organe cible a été digéré dans une solution d'acide chlorhydrique/pepsine (10 g de pepsine et 10 ml de HCl fumant à 35 %, puis ajustement à 1 litre avec de l'eau distillée) pendant 6 heures à 37 °C. Le contenu de la caillotte et le produit de la digestion ont été filtrés à travers un tamis à mailles de 40  $\mu\text{m}$  afin de retenir les éléments parasitaires qui ont été préservés jusqu'à l'analyse par addition d'un large volume d'éthanol à 70 %. Le volume a ensuite été ajusté à 2 litres par ajout d'éthanol à 70 % et le nombre total de vers a été estimé dans une aliquote de 10 % (200 ml).

En parallèle du nombre total de vers, une analyse qualitative de la population de strongles a été réalisée en dénombrant les différents stades parasitaires : larves L<sub>4</sub>, vers immatures mâles et femelles, vers adultes mâles et femelles. Cette analyse a permis d'établir le pourcentage d'installation des vers ainsi que leur degré de développement. De plus, pour chaque échantillon collecté entre J<sub>21</sub> et J<sub>30</sub>, 11 à 36 femelles adultes ont été prélevées de manière aléatoire et leur longueur a été mesurée.

### Infiltration cellulaire de la muqueuse abomasale (décompte des éosinophiles)

Après l'abattage des animaux, des tissus de la paroi de la caillotte en régions fundique, intermédiaire et pylorique ont été prélevés avec un scalpel et traités comme suit : a) les échantillons de tissus ont été plongés dans une solution de formaldéhyde à 10 % tamponnée jusqu'à leur fixation ; b) après déshydratation dans des bains successifs d'alcool de degrés croissants et de toluène (cycle automatisé complet de 18 heures), les échantillons ont été inclus en paraffine ; c) des coupes de 3  $\mu\text{m}$  d'épaisseur ont été réalisées à partir des blocs à l'aide d'un microtome (Microm, France) et récupérées sur des lames prétraitées

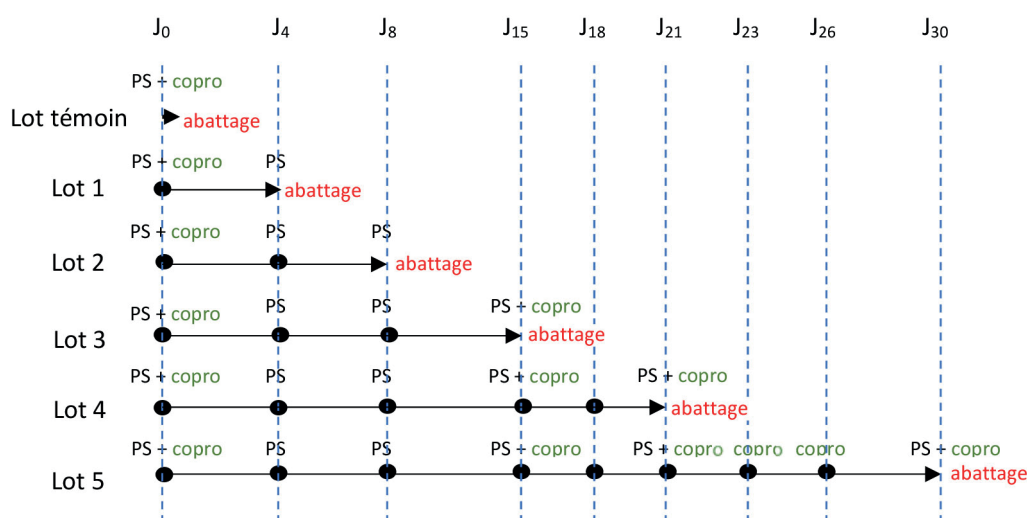


Figure 1 : protocole expérimental mis en place chez des agneaux des races Martinik Black Belly et Lacaune infestés par *Haemonchus contortus* ; PS : prise de sang ; copro : examen coprologique.

(lames Superfrost+, Labonord, France) ; et d) des coupes histologiques ont été ensuite colorées selon le protocole classique d'Hémalun-éosine (Terefe et al., 2009).

Les éosinophiles ont été comptés au grossissement  $\times 400$  et les résultats ont été exprimés par la somme du nombre d'éosinophiles observés dans cinq champs microscopiques, sélectionnés de manière aléatoire, par couche histologique (sous muqueuse, lamina propria et position intra épithéliale) et pour chaque région anatomique de la caillette (région fundique, pylorique et intermédiaire entre fundus et pylore).

### Analyses statistiques

Compte tenu de la taille des groupes expérimentaux, les analyses statistiques ont consisté en des tests non paramétriques uniquement : les comparaisons de valeurs en hématologie à une date précise et les comparaisons de taille de vers femelles ont été réalisées avec le test de Kruskal-Wallis à l'aide du logiciel Systat.

## RESULTATS

### Résultats ante mortem

#### Comptage des œufs dans les matières fécales

L'excrétion d'œufs a débuté plus tôt et les quantités ont été plus élevées chez les Lacaunes ( $J_{18}$ ) que chez les MBB ( $J_{23}$ ). A  $J_{30}$ , l'excrétion des œufs chez les Lacaunes était 17 fois plus élevée que chez les MBB (figure 2).

#### Cinétique des mesures d'hématocrite

Chez les MBB, le taux d'hématocrite a été inférieur à celui des Lacaunes avant l'infestation ( $p < 0,05$ ). Dans les deux races, une baisse a été enregistrée dès  $J_{15}$  (diminution de 24 % pour les Lacaunes et de 19 % pour les MBB entre  $J_0$  et  $J_{30}$ ). A partir de  $J_{21}$ , les hématocrites sont devenus presque similaires dans les deux races (figure 3).

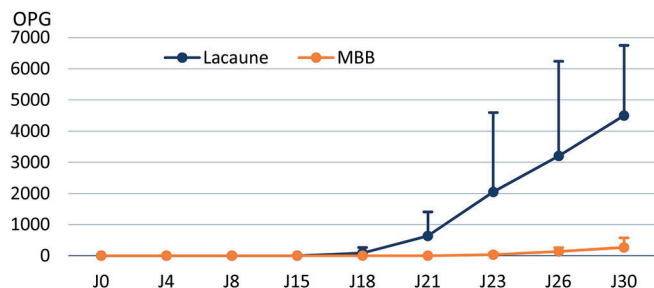


Figure 2 : intensité d'excrétion des œufs (nb. d'œufs / g de fèces ou OPG) au cours d'une primo-infestation par *Haemonchus contortus* chez des agneaux Martinik Black Belly et Lacaunes.

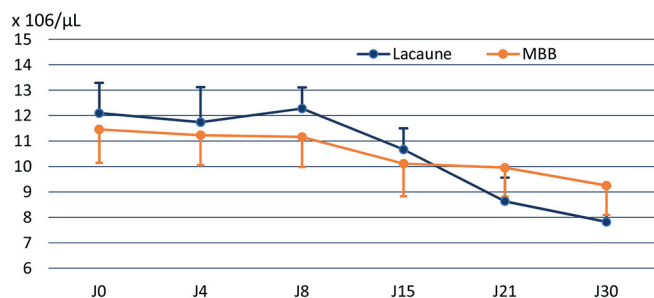


Figure 4 : nombre total d'hématies au cours d'une primo-infestation par *Haemonchus contortus* chez des agneaux Martinik Black Belly et Lacaunes.

### Cinétique du nombre total d'hématies et de l'hémoglobininémie

Le nombre total d'hématies et l'hémoglobininémie ont diminué chez les deux races dès  $J_{15}$  (figures 4 et 5). La baisse entre  $J_0$  et  $J_{30}$  a été plus importante chez les Lacaunes que chez les MBB pour le nombre d'hématies (respectivement -33 % et -20 %) comme pour l'hémoglobininémie (respectivement -30 % et -18 % ; différences non significatives).

### Cinétique de l'éosinophilie sanguine

La mesure de l'éosinophilie sanguine a montré une hausse chez les MBB survenant dès  $J_4$ , avec un pic à  $J_{15}$  (800 éosinophiles/ $\mu$ L soit 4,5 fois le niveau initial) (figure 6). Chez les Lacaunes, l'augmentation n'a été constatée qu'à  $J_8$  (valeur maximale à 230 éosinophiles/ $\mu$ L soit seulement 1,9 fois le niveau initial). A partir de  $J_{15}$ , il y a eu une nette diminution de l'éosinophilie pour les deux races. L'éosinophilie sanguine a atteint des valeurs inférieures au seuil initial à  $J_{21}$  et  $J_{30}$  chez les Lacaunes tandis qu'elle s'est maintenue à des niveaux supérieurs au niveau initial chez les MBB jusqu'à  $J_{30}$ . En bilan, l'éosinophilie sanguine a été significativement plus importante à  $J_4$  ( $p < 0,05$ ),  $J_8$  ( $p < 0,01$ ),  $J_{15}$  ( $p < 0,01$ ) et  $J_{21}$  ( $p < 0,05$ ) chez les MBB que chez les Lacaunes. Le très petit nombre d'individus encore présents à  $J_{30}$  relativisait l'intérêt d'un test statistique.

### Cinétique du taux de réticulocytes

Entre  $J_0$  et  $J_{15}$ , le taux de réticulocytes a été légèrement supérieur chez les MBB que chez les Lacaunes (figure 7). A partir de  $J_{21}$ , une hausse très importante du taux moyen de réticulocytes a été constatée chez les Lacaunes mais cette hausse était due à un seul individu. Le taux de réticulocytes est resté stable chez les MBB.

### Dosage du pepsinogène sanguin

Entre  $J_4$  et  $J_{30}$ , les valeurs du pepsinogène sanguin ont toujours été plus élevées chez les MBB que chez les Lacaunes, avec un pic dans les deux races à  $J_8$  (figure 8). A  $J_8$  et  $J_{15}$ , les différences entre races ont été significatives (respectivement  $p = 0,025$  et  $p = 0,01$ ).

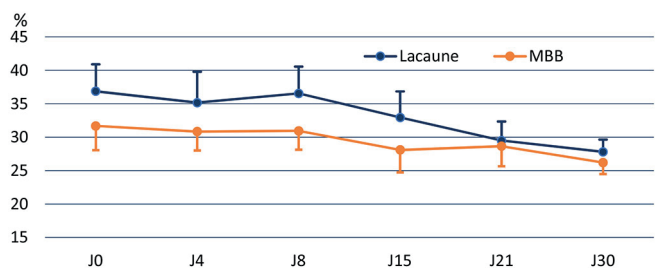


Figure 3 : cinétique de l'hématocrite au cours d'une primo-infestation par *Haemonchus contortus* chez des agneaux Martinik Black Belly et Lacaunes.

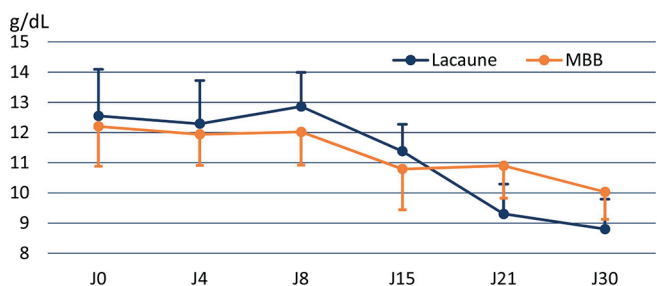


Figure 5 : cinétique de l'hémoglobininémie au cours d'une primo-infestation par *Haemonchus contortus* chez des agneaux Martinik Black Belly et Lacaunes.



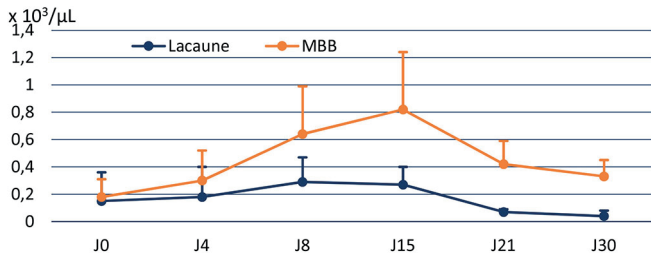


Figure 6 : cinétique de l'éosinophilie sanguine au cours d'une primo-infestation par *Haemonchus contortus* chez des agneaux Martinik Black Belly et Lacaunes.

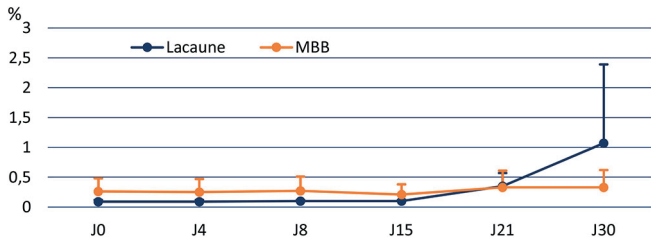


Figure 7 : cinétique du taux de réticulocytes au cours d'une primo-infestation par *Haemonchus contortus* chez des agneaux Martinik Black Belly et Lacaunes.

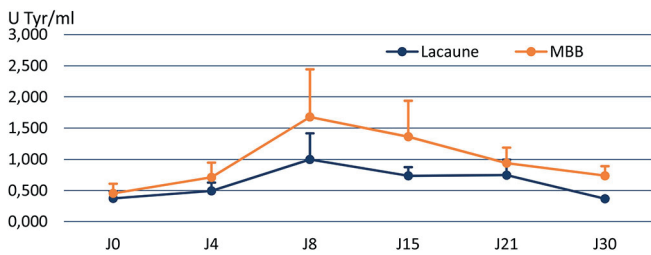


Figure 8 : dosage du pepsinogène au cours d'une primo-infestation par *Haemonchus contortus* chez des agneaux Martinik Black Belly et Lacaunes.

## Résultats post mortem

### Nombre total de vers

Aucun ver n'a été retrouvé dans les lots témoins. En moyenne sur toute l'étude, le pourcentage d'installation d'*H. contortus*, par rapport au nombre de larves inoculées, a été de 28,1 % chez les Lacaunes et de 9,3 % chez les MBB. Le ratio « nombre de vers retrouvés chez les Lacaunes par le nombre de vers retrouvés chez les MBB » était compris entre 1,7 et 2,6 entre J<sub>4</sub> et J<sub>15</sub> mais il est passé à 5,4 à J<sub>21</sub> et à 8,3 à J<sub>30</sub> (figure 9).

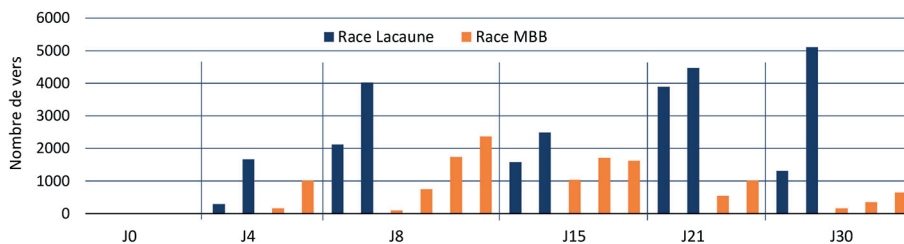


Figure 9 : nombre total de vers retrouvés à l'autopsie au cours d'une primo-infestation par *Haemonchus contortus* chez des agneaux Martinik Black Belly et Lacaunes.

### Stades du parasite

A J<sub>4</sub>, on ne retrouvait que des L<sub>4</sub>. A J<sub>8</sub> et à J<sub>15</sub>, les proportions des différents stades étaient rigoureusement identiques dans les deux races. En revanche, à J<sub>21</sub>, une plus grande proportion de vers adultes a été observée chez les Lacaunes (95 %) que chez les MBB (41 %). Toutefois, à J<sub>30</sub>, les proportions de vers adultes n'ont plus différencié entre les deux races (figure 10).

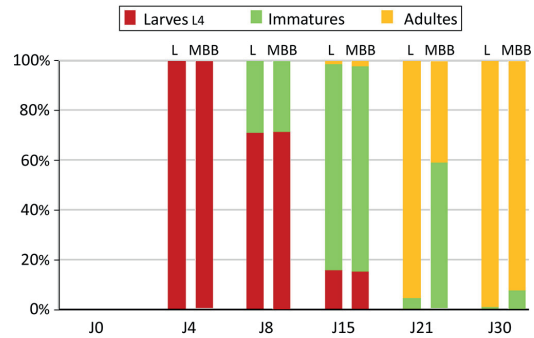


Figure 10 : proportions des différents stades retrouvés à l'autopsie au cours d'une primo-infestation par *Haemonchus contortus* chez des agneaux Martinik Black Belly et Lacaunes.

### Longueur moyenne des femelles adultes

La mesure de la taille des femelles d'*H. contortus* récoltées à 21 et 30 jours postinfestation a révélé des différences nettes entre les races : les femelles récoltées chez les MBB étaient significativement plus petites ( $p < 0,001$ ) que celles récoltées chez les Lacaunes (respectivement -26 % à J<sub>21</sub> et -32 % à J<sub>30</sub>) (tableau II).

### Infiltration cellulaire de la muqueuse abomasale (éosinophiles)

De très rares éosinophiles ont été observés dans la muqueuse de la caillette des agneaux témoins, et ce, quelle qu'ait été la race ou la région anatomique de l'organe (figure 11). Dans la région du fundus, le recrutement des éosinophiles débute dès J<sub>4</sub> chez les MBB, alors qu'il est retardé à J<sub>8</sub> chez les Lacaunes (figure 11A). Par la suite et durant toute la période d'étude, l'infiltration éosinophilique semble

Tableau II

Longueur moyenne des femelles *Haemonchus contortus* adultes récoltées dans les agneaux abattus à J<sub>21</sub> et J<sub>30</sub>

Race	J <sub>21</sub>	J <sub>30</sub>
Lacaune	14,5 +/- 2,8 mm (n = 64)	17,85 +/- 2 mm (n = 51)
MBB	9,7 +/- 1,9 mm (n = 53)	12,36 +/- 3,1 mm (n = 40)

MBB : Martinik Black Belly

plus prononcée chez les MBB que chez les Lacaunes, la différence étant particulièrement nette à J<sub>8</sub>. La présence d'éosinophiles en position intraépithéliale n'a été significative qu'à J<sub>15</sub>. Dans la région intermédiaire (figure 11B), des résultats similaires ont été observés avec néanmoins un recrutement éosinophilique plus prononcé dès J<sub>4</sub> chez les MBB. Dans la région du pylore (figure 11C), très peu d'éosinophiles ont été observés précocement (J<sub>4</sub> et J<sub>8</sub>) tandis qu'ils ont été nombreux, y compris en position intraépithéliale à J<sub>15</sub>, dans les deux races. A J<sub>21</sub> et J<sub>30</sub>, une forte diminution du nombre d'éosinophiles a été notée chez les Lacaunes tandis que leur nombre a augmenté à J<sub>21</sub> chez les MBB et s'est maintenu à des niveaux assez élevés à J<sub>30</sub> dans cette race.

■ DISCUSSION

Le protocole expérimental a été mis en place afin de comparer le degré d'installation et de développement du parasite *Haemonchus contortus* durant les trente premiers jours d'une primo-infestation entre des animaux d'une race résistante (MBB) et des animaux d'une race sensible (Lacaune). La détermination de divers paramètres physiopathologiques (hématologie, marqueur biochimique de l'inflammation et recrutement des éosinophiles dans la caillette) a complété ces premières données parasitologiques. La priorité a été donnée à la cinétique de l'infestation parasitaire et des réponses de l'hôte car c'est la première étude de ce type dans notre modèle de comparaison de race résistante/race sensible à *H. contortus*. Dans les études précédentes (Terefe et al., 2007 ; 2009), seules certaines dates sont prises en compte, rendant impossible toute vision globale sur le premier mois d'une primo-infestation. La priorité à la cinétique explique

le nombre limité d'individus par date (J<sub>0</sub>, J<sub>4</sub>, J<sub>8</sub>, J<sub>15</sub>, J<sub>21</sub> et J<sub>30</sub>) dans les deux races, ce qui a bien évidemment limité nos possibilités d'analyse statistique (utilisation de tests non paramétriques uniquement), notamment pour les comparaisons des données enregistrées *post mortem*. Enfin, le petit noyau MBB de l'Unité expérimentale de la Sapinière du département de génétique animale de l'INRA n'a pas permis de fournir de gros effectifs d'agneaux pour les expérimentations. Le pari a été fait de mettre en évidence des différences très nettes entre les deux races, rendant ainsi interprétables des comparaisons entre des lots de très petite taille.

Les résultats ont indiqué que les agneaux MBB étaient plus résistants à *H. contortus* que les agneaux Lacaunes au cours d'une primo-infestation. Des différences très marquées de précocité et d'intensité d'excrétion d'œufs dans les matières fécales ont été observées. Elles s'expliquaient à la fois par un plus faible nombre de vers installés, un retard de développement (bien net à J<sub>21</sub>) et une taille réduite des vers femelles à J<sub>21</sub> et à J<sub>30</sub> chez les MBB. Cette réduction de la taille des vers femelles chez des animaux résistants a déjà été retrouvée dans cette race MBB (Terefe et al., 2007) ainsi que dans d'autres races ovines résistantes, comme les moutons à poils des Canaries (Gonzalez et al., 2008). Elle est une manifestation importante de l'immunité des ovins lors d'infestations par les strongles gastro-intestinaux (Stear et al., 1999).

Les résultats des mesures hématologiques indiquent également des différences entre les animaux des deux races. Avant l'infestation, le taux d'hématocrite des MBB a été significativement inférieur à celui des Lacaunes soulignant ainsi les différences entre races que l'on peut observer sur ce paramètre. Dans les deux races, l'infestation

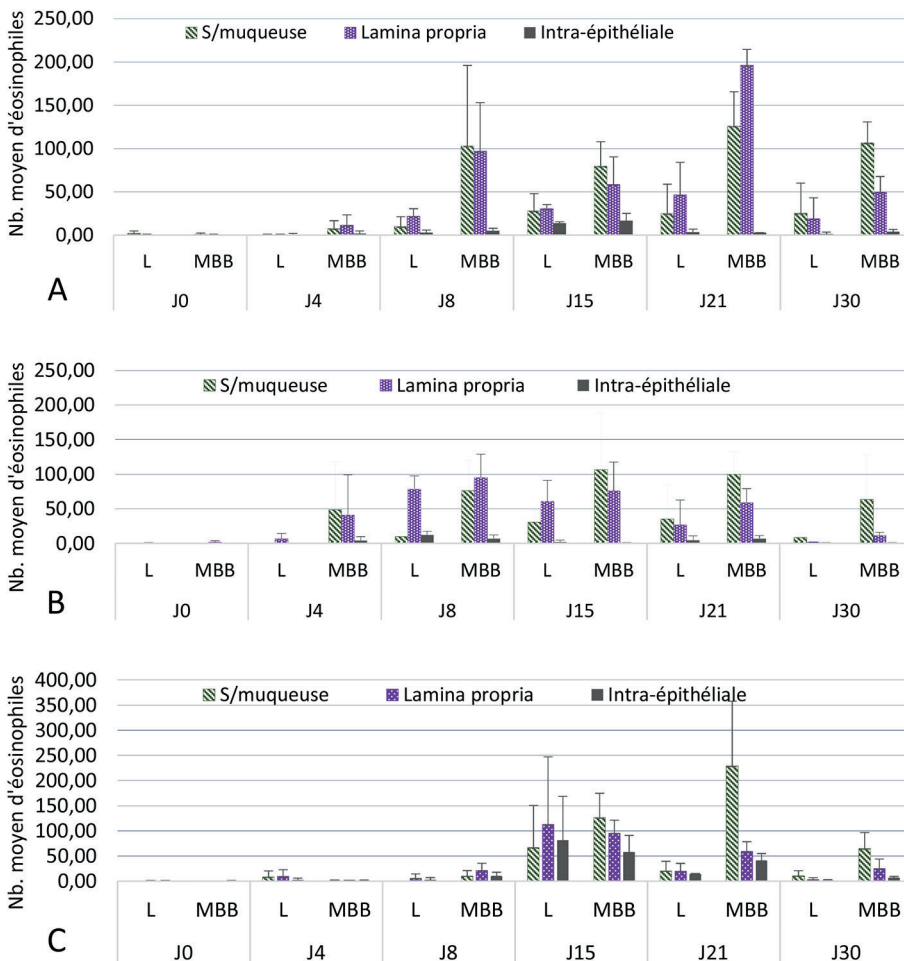


Figure 11 : nombre moyen d'éosinophiles retrouvés en histologie au cours d'une primo-infestation par *Haemonchus contortus* chez des agneaux Martinik Black Belly (MBB) et Lacaunes (L). A : région du fundus ; B : région intermédiaire ; C : région du pylore.

par *H. contortus* s'est traduite par une baisse de l'hématocrite dès  $J_{15}$ , au moment où le caractère hématophage de ce nématode est bien en place. Toutefois, la baisse de l'hématocrite a été significativement plus importante chez les Lacaunes que chez les MBB entre  $J_0$  et  $J_{30}$ . En parallèle, une baisse significativement plus importante du nombre total d'hématies par millimètre cube et du taux d'hémoglobine chez les Lacaunes que chez les MBB a été notée sur la même période. En conséquence, les différences de populations parasitaires entre les races se traduisent par un impact plus important sur les paramètres hématologiques des individus, les agneaux de race sensible montrant une anémie plus prononcée (Gonzalez et al., 2008). Une élévation drastique du taux moyen de réticulocytes, cellules précurseurs des hématies dont l'accroissement du taux dans le sang circulant indique que la moelle osseuse est davantage stimulée pour compenser les pertes, a été notée chez les Lacaunes à  $J_{30}$ . Toutefois, cette augmentation est à nuancer car il ne restait plus que deux agneaux Lacaunes (les autres ayant été abattus les jours précédents). Le résultat obtenu était donc dû à un seul animal dont le taux est passé de 0,3 à 2 % entre  $J_{21}$  et  $J_{30}$  tandis que le second individu du groupe a conservé des valeurs stables. Cette observation mériterait d'être approfondie sur un plus grand nombre d'animaux et sur une plus longue période d'observation. Il serait intéressant de réaliser un suivi cinétique après  $J_{30}$  des réticulocytes.

L'infestation par *H. contortus* s'est traduite également par une augmentation du nombre d'éosinophiles circulant entre  $J_0$  et  $J_{15}$  dans les deux races mais à des degrés différents. Ce recrutement d'éosinophiles sanguins a été particulièrement intense chez les agneaux de race résistante. Ce caractère avait déjà été retrouvé dans les études sur MBB (Terefe et al., 2007 ; 2009), mais également dans d'autres races résistantes (Gonzalez et al., 2008 ; Shakya et al., 2009). Une diminution du nombre d'éosinophiles sanguins a été observée dans les deux races entre  $J_{15}$  et  $J_{30}$  mais elle a été plus prononcée chez les agneaux de race sensible. L'apparition d'un grand nombre d'éosinophiles dans le sang a été suivie par le recrutement de ces cellules dans la muqueuse abomasale parasitée. Dans la région du fundus, là où les larves  $L_3$  s'implantent avant de muer en larves  $L_4$ , le recrutement a semblé plus précoce ( $J_4$ ) et plus intense (à  $J_8$ ) chez les MBB. Ce résultat est particulièrement intéressant car il n'a jamais été retrouvé dans les études antérieures (Terefe et al., 2007 ; 2009) ni dans d'autres modèles d'étude de la résistance dans lesquels les animaux sont abattus bien plus tard (Amarante et al., 2005).

Au bilan, les mécanismes assurant le recrutement de ces cellules dans la muqueuse ont semblé plus précoces sinon plus performants chez les MBB que chez les Lacaunes. Le protocole suivi ne permet toutefois pas d'expliquer cette différence, mais il est possible de formuler un certain nombre d'hypothèses (Rothenberg et Hogan, 2006) : une production locale plus importante de l'interleukine ou d'éotaxine chez les MBB assurant une plus grande chimiotaxie des éosinophiles vers les muqueuses parasitées, une meilleure expression des intégrines à la surface de l'éosinophile des MBB assurant un recrutement plus facile à partir des capillaires de la muqueuse ou bien une production différente de facteurs inflammatoires comme les leucotriènes qui participent au recrutement local des éosinophiles. Dans la région pylorique, le recrutement des éosinophiles est apparu de façon retardée car les larves se sont développées dans un premier temps dans le fundus, région riche en glandes dans lesquelles s'effectuent les mues  $L_3$ - $L_4$ , tandis que les vers immatures migrent progressivement sur toute la surface de l'organe à partir de  $J_8$ . Le comptage des éosinophiles dans la muqueuse a également montré des valeurs légèrement plus élevées dans le pylore que dans les autres régions de la caillette (fundus et région intermédiaire). Terefe et al. (2009) trouvent des résultats similaires à  $J_{15}$ . Compte tenu du faible nombre de larves utilisées dans les infestations expérimentales (une seule « dose » de 10 000  $L_3$ ), il n'a pas été possible de retrouver des larves dans les coupes histologiques,

et l'interaction *in vivo* entre éosinophiles et parasites n'a pas pu être observée.

Le dosage du pepsinogène sanguin a montré une élévation importante dans les deux races dès  $J_4$  pour les MBB, avec un pic de  $J_8$  à  $J_{15}$ , c'est-à-dire au moment où l'essentiel des vers a mué du stade  $L_4$  au stade immature et quitté les glandes de la caillette. Cette mesure est un reflet de l'intensité des lésions occasionnées par la présence de nématodes dans la région fundique de la caillette des ruminants (Dorny et Vercruysse, 1998). On peut donc considérer que ces lésions inflammatoires sont plus prononcées chez les MBB que chez les Lacaunes à une même date ( $J_8$  ou  $J_{15}$ ). Cette observation va dans le même sens que le comptage des éosinophiles dans la muqueuse : tout se passe comme si l'environnement de la caillette des MBB était plus hostile au parasite que celui de la caillette des Lacaunes. On peut envisager également que l'intensité supérieure des lésions de la muqueuse chez les MBB soit la conséquence d'un recrutement plus précoce et plus intense en éosinophiles, ces derniers libérant alors plus de médiateurs inflammatoires (radicaux libres et leucotriènes) toxiques pour les cellules de la muqueuse abomasale (Jacobsen et al., 2007).

## ■ CONCLUSION

Les résultats de cette étude confirment l'importance de l'atteinte et la sensibilité de la race Lacaune à des strongles gastro-intestinaux par rapport à la race MBB. Au cours d'une primo-infestation par *H. contortus*, les mécanismes assurant le recrutement des cellules immunitaires dans la muqueuse sont plus précoces et plus performants chez les MBB que chez les Lacaunes. Ces résultats mériteraient d'être approfondis sur un plus grand nombre d'animaux et pendant une plus longue période d'observation. Il serait également intéressant de réaliser des examens complémentaires afin de confirmer les réponses immunitaires obtenues. D'autres études pourraient enfin s'attacher à évaluer les effets à long terme d'une sélection d'ovins résistants à *H. contortus* sur leur production et leur résistance à d'autres pathogènes, et à déterminer le risque d'une éventuelle adaptation des parasites aux hôtes résistants. Une étude préliminaire sera ainsi menée pour la première fois en Algérie sur des agneaux de deux races, Ouled Djellal (qui représente 63 % de la population ovine algérienne du fait de sa grande robustesse [Lafri et al., 2014]) et Rembi, qui seront infectés par *H. contortus* suivant le protocole expérimental décrit ci-dessus. La résistance de ces races aux strongles gastro-intestinaux n'a pas encore fait l'objet d'études mais il est envisagé que les résultats soient, sur ce point précis, similaires à ceux des races françaises, ce qui permettrait de répondre aux problèmes d'élevage que celles-ci rencontrent.

## Remerciements

Les auteurs remercient l'ensemble du personnel des laboratoires de parasitologie, d'histologie et de biologie de l'ENVT (Toulouse, France) qui ont grandement contribué à cette étude, ainsi que celui de la station expérimentale INRA de la Sapinière (Bourges, France) qui nous a fourni les agneaux de la race MBB. Nous tenons à remercier tout particulièrement E. Liénard, F. Bouvier, D. François et G. Sallé pour leurs contributions. Ce travail a été réalisé en 2010 dans le cadre du projet Genhpar, financé par la région Centre (Centre-Val de Loire actuellement) avec l'INRA de Bourges. Une bourse a été attribuée par l'ENVT à M. Benguesmia afin de réaliser une partie de ces travaux.

## Déclaration des contributions des auteurs

PJ et MB ont participé à la conception, la planification et la réalisation pratique de l'étude, à la collecte des données, ainsi qu'à la rédaction du mémoire de master ; AC, FP, CG et JPB ont participé à la



réalisation de l'étude ; CL, CT et AG ont participé à la réalisation des analyses biologiques et à la préparation des lames histologiques ; MB et MH ont contribué à la rédaction du manuscrit et à sa révision critique ; MA et KH ont participé à la correction du manuscrit.

### Conflits d'intérêts

L'étude a été réalisée sans aucun conflit d'intérêts.

### REFERENCES

Aguerre S., Jacquet P., Brodier H., Bournazel J.P., Grisez C., Prévot F., Michot L., et al., 2018. Resistance to gastrointestinal nematodes in dairy sheep: Genetic variability and relevance of artificial infection of nucleus rams to select for resistant ewes on farms. *Vet. Parasitol.*, **256** (1): 16-23, doi: 10.1016/j.vetpar.2018.04.004

Amarante A.F.T., Bricarello P.A., Huntley J.F., Mazzolin L.P., Gomes J.C., 2005. Relationship of abomasal histology and parasite-specific immunoglobulin-A with the resistance to *Haemonchus contortus* infection in three breeds of sheep. *Vet. Parasitol.*, **128** (1-2): 99-107, doi: 10.1016/j.vetpar.2004.11.021

Benguesmia M., 2010. Cinétiques des populations de parasites et des réponses de l'hôte au cours d'une primo-infestation par *Haemonchus Contortus* : comparaison des races Lacaune et Martinik Black Belly. Mém. Master 2 SAEPS, Université de Montpellier 2, Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, France, 83 p.

Bentounsi B., Zouiouech H., Benchikh-Elfegoun C., Kohil K., Cabaret J., 2003. Efficacité comparée des spécialités d'albendazole distribués en Algérie. *Rev. Méd. Vét.*, **154** (10) : 649-652

Bishop S.C., Morris C.A., 2007. Genetics of disease resistance in sheep and goats. *Small Rumin. Res.*, **70** (1): 48-59, doi: 10.1016/j.smallrumres.2007.01.006

Bordes L., Dumont N., Lespine A., Souil E., Sutra J.F., Prévot F., Grisez C., et al., 2020. First report of multiple resistance to eprinomectin and benzimidazole in *Haemonchus contortus* on a dairy goat farm in France. *Parasitol. Int.*, **76**: 102063, doi: 10.1016/j.parint.2020.102063

Boulkaboul A., 2008. Evaluation du parasitisme par les strongles digestifs et de l'efficacité du traitement anthelminthique chez les ovins dans la région de Tiaret. Thèse Doct., Université d'Oran Es-Senia, Algérie, 172 p.

Bourdoiseau G., 1992. Résistance aux anthelminthiques. *Point Vét.*, **147** : 13-20

Dorny P., Verducruysse J., 1998. Evaluation of a micro method for the routine determination of serum pepsinogen in cattle. *Res. Vet. Sci.*, **65** (3): 259-262, doi: 10.1016/s 0034-5288(98)90153-9

Gonzalez J.F., Hernandez A., Molina J.M., Fernandez A., Raadsma H.W., Meeusen E.N.T., Piedrafita D., 2008. Comparative experimental *Haemonchus contortus* infection of two sheep breeds native to the Canary Islands. *Vet. Parasitol.*, **153** (3-4): 374-378, doi: 10.1016/j.vetpar.2008.02.019

Gruner L., Aumont G., Getachew T., Brunel J.C., Pery C., Cognié Y., Guérin Y., 2003. Experimental infection of Black Belly and INRA 401 straight and crossbred sheep with trichostrongyle nematode parasites. *Vet. Parasitol.*, **116** (3): 239-249, doi: 10.1016/j.vetpar.2003.07.005

### Summary

**Benguesmia M., Hamiroune M., Chrétien A., Prévot F., Grisez C., Bergeaud J.-P., Lacroux C., Trumel C., Geffre A., Harhoura K., Aissi M., Jacquet P.** Kinetics of infestation by *Haemonchus contortus* and response of resistant (Martinik Black Belly) and susceptible (Lacaune) sheep breeds

The extension of resistance of gastrointestinal nematodes to anthelmintics, recently observed in *Haemonchus contortus*, represents a real problem and makes it urgent to find alternative solutions such as the selection of helminth-resistant animals. All cases of experimental infestations show significant individual variability in egg excretion, allowing good discrimination

Jacobsen E.A., Taranova A.G., Lee N.A., Lee J.J., 2007. Eosinophils: singularly destructive effector cells or purveyors of immunoregulation? *J. Allergy Clin. Immunol.*, **119** (6): 1313-1320, doi: 10.1016/j.jaci.2007.03.043

Jacquet P., Fidelle F., Grisez C., Prévot F., Lienard E., Bergeaud J.P., Sicard S., et al., 2011. Sélection sur phénotypes de la résistance aux strongles gastro-intestinaux en centre d'élevage de béliers. *Renc. Rech. Rum.*, **18** : 343-346

Kaplan R.M., Vidyashankar A.N., 2012. An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance. *Vet. Parasitol.*, **186** (1-2): 70-78, doi: 10.1016/j.vetpar.2011.11.048

Kotze A.C., Prichard R.K., 2016. Anthelmintic resistance in *Haemonchus contortus*. History, mechanisms and diagnosis. *Adv. Parasitol.*, **93**: 397-428, doi: 10.1016/bs.apar.2016.02.012

Lacroux C., 2006. Régulation des populations de nématodes gastro-intestinaux (*Haemonchus contortus* et *Trichostrongylus colubriformis*) dans deux races ovines, INRA 401 et Barbados Black Belly. Thèse Doct., Institut national polytechnique de Toulouse, France, 233 p.

Lafri M., Ferrouk M., Harkat S., Routel A., Medkour M., Dasilva A., 2014. Caractérisation génétique des races ovines algériennes. In: Technology creation and transfer in small ruminants: roles of research, development services and farmer associations (Ed. Chentouf M., López-Francos A., Bengoumi M., Gabiña D.). CIHEAM, *Options Méditerran. Sér. A.*, (108) : 293-298

Mahieu M., Aumont G., Alexandre G., 1997. Elevage intensif des ovins tropicaux à la Martinique. *Prod. Anim.*, **10** (1): 21-32

Naves M., Alexandre G., Leimbacher F., Mandonnet N., Menendez-Buxadera A., 2001. Les ruminants domestiques de la Caraïbe : le point sur les ressources génétiques et leur exploitation. *Prod. Anim.*, **14** (3) : 181-192

Raynaud J.P., William G., Brunault G., 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** (3) : 321-342, doi: 10.1051/parasite/1970453321

Rothenberg M.E., Hogan S.P., 2006. The eosinophil. *Annu. Rev. Immunol.*, **24**: 147-174, doi: 10.1146/annurev.immunol.24.021605.090720

Shakya K.P., Miller J.E., Horohov D.W., 2009. A TH2 type of immune response is associated with increased resistance to *Haemonchus contortus* in naturally infected Gulf Coast Native lambs. *Vet. Parasitol.*, **163** (1-2): 57-66, doi: 10.1016/j.vetpar.2009.03.052

Stear M.J., Strain S., Bishop S.C., 1999. Mechanisms underlying resistance to nematode infection. *Int. J. Parasitol.*, **29** (1): 51-56, doi: 10.1016/S0020-7519(98)00179-9

Terefe G., Lacroux C., Andreoletti O., Grisez C., Prévot F., Bergeaud J.P., Penicaud J., et al., 2007. Immune response to *Haemonchus contortus* infection in susceptible (INRA 401) and resistant (Barbados Black Belly) breeds of lambs. *Parasite Immunol.*, **29** (8): 415-24, doi: 10.1111/j.1365-3024.2007.00958.x

Terefe G., Lacroux C., Prévot F., Grisez C., Bergeaud J.P., Bleuart C., Dorchies P., et al., 2009. Eosinophils in *Haemonchus contortus*-infected resistant and susceptible breeds of sheep: Abomasal tissue recruitment and *in vitro* functional state. *Vet. Parasitol.*, **165** (1-2): 161-164, doi: 10.1016/j.vetpar.2009.06.041

### Resumen

**Benguesmia M., Hamiroune M., Chrétien A., Prévot F., Grisez C., Bergeaud J.-P., Lacroux C., Trumel C., Geffre A., Harhoura K., Aissi M., Jacquet P.** Cinética de infestación por *Haemonchus contortus* y respuesta de razas de ovejas resistente (Martinik Black Belly) y sensible (Lacaune)

La extensión de la resistencia de los nematodos gastrointestinales a los antihelmínticos, recientemente observada para *Haemonchus contortus*, representa un real problema y hace urgente la búsqueda de soluciones alternativas, como la selección de animales resistentes a los helmintos. Todos los casos de infestaciones experimentales destacan una variabilidad



between resistant and susceptible individuals, which enables selecting resistant individuals in the studied breeds. However, the lack of knowledge on immune response mechanisms in sheep worms is an obstacle to the development of this selection. It is known that the excretion level of parasite eggs in feces is a relevant indicator for assessing the resistance of an animal to worms. This criterion was examined in the present study carried out with two French sheep breeds, the Martinik Black Belly (resistant) and the Lacaune (sensitive). The sheep were infested orally with a single dose of 10,000 L<sub>3</sub> larvae of *H. contortus*. The sheep response was monitored during antemortem and postmortem examinations. The results clearly showed that during a first *H. contortus* infestation there was a significant difference between the parasite populations (parasite intensity and egg production) and between certain pathophysiological parameters (blood and tissue eosinophilia) observed in the two sheep breeds.

**Keywords:** Lacaune, Martinik Black Belly sheep, *Haemonchus contortus*, resistance to anthelmintics, immune response, nematode infections, experimental infection

individual significativa en las excreciones de huevos, discriminando claramente entre individuos resistentes e individuos sensibles, lo que permite considerar la selección de individuos resistentes en las razas estudiadas. Sin embargo, la ignorancia de los mecanismos de la respuesta inmune de las ovejas frente a estos estróngilos sigue siendo un obstáculo para el desarrollo de esta selección. Es bien conocido que el nivel de excreción de los huevos de parásitos en las heces representa un indicador relevante para evaluar la resistencia de un animal a los estróngilos. Este criterio fue examinado durante el presente estudio, llevado a cabo con dos razas de ovejas francesas, Martinik Black Belly (resistente) y Lacaune (sensible). Los animales se infestaron por vía oral con una dosis única de 10 000 larvas de L<sub>3</sub> de *H. contortus*. La respuesta de las ovejas fue seguida mediante exámenes ante mortem y post mortem. Los resultados mostraron claramente que durante una infección primaria con *H. contortus* hubo una diferencia significativa entre las poblaciones parasitarias (intensidad del parásito y producción de huevos) y entre ciertos parámetros fisiopatológicos (eosinofilia en sangre y tejidos) observados en estas dos razas de ovejas.

**Palabras clave:** ovino Lacaune, Martinik Black Belly, *Haemonchus contortus*, resistencia a los antihelmínticos, respuesta inmunológica, infecciones por nematodos, infección experimental

