

---

# APPLICATION D'IVERMECTINE EN POUR ON : CONSÉQUENCES DU LÉCHAGE ENTRE BOVINS SUR LES POPULATIONS D'*Ostertagia ostertagi* ET *Cooperia oncophora*

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2005  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**Julien CLEMENT**

Né, le 15 décembre 1980 à CAHORS (Lot)

---

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Philippe JACQUIET

---

## JURY

PRESIDENT :

**M. Alexis VALENTIN**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESSEUR :

**M. Philippe JACQUIET**

**M. Alain BOUSQUET-MELOU**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

**M. Hervé HOSTE**

Chargé de recherche à l'INRA

Toulouse, 2004

NOM : CLEMENT

PRENOM : Julien

TITRE : Application d'ivermectine en pour-on : conséquences du léchage entre bovins sur les populations parasitaires d'*Ostertagia ostertagi* et de *Cooperia oncophora*.

RESUME :

Les formulations topiques d'endectocides sont couramment employées en élevage bovin. Des études récentes ont montré que ces formulations permettent une ingestion d'ivermectines par des bovins non traités, suite au léchage d'animaux traités. La présente étude évalue les conséquences du transfert d'ivermectine (IVM) à des bovins non traités, sur les populations d'*Ostertagia ostertagi* et de *Cooperia oncophora*.

Après infestation de dix jeunes bovins conduits en groupe, quatre ont reçu une application topique d'IVM (0.5 mg/kg). Les dosages d'IVM plasmatique ont permis de séparer le groupe «non traité » en deux sous-groupes : «exposé», «peu exposé». Les résultats coproscopiques ont montré une différence significative entre ces deux sous-groupes, indiquant que l'IVM ingérée exerce une pression sur les populations de parasites. Ce phénomène pourrait favoriser l'apparition de résistances et incite à une réflexion sur la bonne utilisation des formulations topiques d'endectocides chez les bovins.

MOTS-CLES : Ivermectine, pour-on, léchage, bovin, *Ostertagia ostertagi*, *Cooperia oncophora*.

---

ENGLISH TITLE : Pour-on application of ivermectin in cattle : consequences of allo-licking on the *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora* populations.

ABSTRACT :

The topical formulations of endectocides are frequently used in cattle livestock. Recent studies have shown that these formulations lead to ivermectin ingestion by non-treated cows, due to licking of treated animals. The goal of the present study was to assess the impact of ivermectin transfer in non-treated animals on *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora* parasitic populations.

Following pre-infestation of ten young cattle, four of them received topical ivermectin (0.5 mg/kg) and all cattle were kept together in a paddock. Measurement of plasma ivermectin concentrations allowed us to split the non-treated group into two sub-groups : "high exposure" and "low exposure". Coproscopic results showed a significant difference between these two sub-groups, indicating that ingested IVM has an impact on the parasitic population. This phenomenon might favour the appearance of resistance, indicating that the sensible use of topical endectocides in cattle might be worth considering.

KEY WORDS : Ivermectin, pour-on, licking, cattle, *Ostertagia ostertagi*, *Cooperia oncophora*.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE  
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	<b>P. DESNOYERS</b>
Directeurs honoraires.....	: M.	<b>R. FLORIO</b>
	M.	<b>J. FERNEY</b>
	M.	<b>G. VAN HAVERBEKE</b>
Professeurs honoraires.....	: M.	<b>A. BRIZARD</b>
	M.	<b>L. FALIU</b>
	M.	<b>C. LABIE</b>
	M.	<b>C. PAVAU</b>
	M.	<b>F. LESCURE</b>
	M.	<b>A. RICO</b>
	M.	<b>A. CAZIEUX</b>
	Mme	<b>V. BURGAT</b>
	M.	<b>D. GRIESS</b>
	M.	<b>J. CHANTAL</b>
	M.	<b>J.-F. GUELF</b>
	M.	<b>M. ECKHOUTTE</b>

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

---

- M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*  
M. **DARRE Roland**, *Productions animales*  
M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 1<sup>ère</sup> CLASSE**

---

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*  
M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
M. **DELVERDIER Maxence**, *Histologie, Anatomie pathologique*  
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*  
M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. **MARTINEAU Guy-Pierre**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*  
M. **MILON Alain**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*  
M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*  
M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*  
M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*  
M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

**PROFESSEURS 2<sup>e</sup> CLASSE**

---

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*  
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*  
M. **DUCOS Alain**, *Zootechne*  
M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*  
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*  
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie - Toxicologie*  
M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*  
M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*  
M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

**PROFESSEUR ASSOCIE**

---

- M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*

**INGENIEUR DE RECHERCHES**

---

- M. **TAMZALI Youssef**, *Responsable Clinique équine*

**PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

---

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*  
M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

## MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

---

M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

## MAÎTRE DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

---

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*  
Mme **BOUCRAUT-BARALON Corine**, *Pathologie infectieuse*  
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*  
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*  
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*  
Mme **BRET-BENNIS Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*  
Mme **CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
Mme **COLLARD-MEYNAUD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*  
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du bétail*  
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*  
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Productions animales*  
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. **MARENDA Marc**, *Pathologie de la reproduction*  
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **MESSUD-PETIT Frédérique**, *Pathologie infectieuse*  
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*  
M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*  
Mme **PRYMENKO Nathalie**, *Alimentation*  
Mme **RAYMOND-LETRON Isabelle**, *Anatomie pathologique*  
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*  
Mlle **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*  
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

## MAÎTRE DE CONFERENCES CONTRACTUELS

---

M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie du bétail*  
N. **DESMAIZIERES Louis-Marie**, *Clinique équine*  
M. **LEON Olivier**, *Elevage et santé en productions avicoles et porcines*

## MAÎTRE DE CONFERENCES ASSOCIE

---

M. **REYNOLDS Brice**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

## ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

---

M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*  
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique des animaux de rente*  
Mme **MEYNADIER-TROEGELER Annabelle**, *Alimentation*  
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*  
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

**A NOTRE PRESIDENT DE THESE,**

**Monsieur le Professeur Alexis VALENTIN**

Professeur des universités

Praticien hospitalier

Zoologie-Parasitologie

Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse

Hommages respectueux

**A NOTRE JURY DE THESE,**

**Monsieur le Docteur Philippe JACQUIET**

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Parasitologie et Maladies Parasitaires

Qui a bien voulu diriger notre travail

Qu'il trouve ici l'expression de notre sincère reconnaissance et de notre profond respect

**Monsieur le Docteur Alain BOUSQUET-MELOU**

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Physiologie et Thérapeutique

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse

Sincères remerciements

**Monsieur le Docteur Hervé HOSTE**

Directeur de recherche à l'INRA

Parasitologie et Maladies Parasitaires

Qui nous a grandement éclairé et soutenu dans ce travail

Qu'il veuille bien trouver l'expression de notre vive gratitude

## **REMERCIEMENTS**

Merci à la région Midi-Pyrénées pour le soutien accordé à ce projet

Merci à l'UR INRA 66 Pharmacologie et Toxicologie, et notamment Michel ALVINERIE pour leur participation à cette étude

Merci aux techniciens et techniciennes des services de parasitologie et de physiologie pour leur aide précieuse

Merci à DD pour m'avoir suppléé le jour où j'en avais besoin

Merci à Benoît pour son aide non négligeable dans le sprint final

Merci aux dix génisses de physiologie pour leur participation à ce travail

## DEDICACES

A mes Parents : j'espère seulement être plus tard aussi bon parent que vous ne l'avez été avec moi ...

A Pierre et Alice : j'espère que notre entente adulte sera à la hauteur de notre complicité d'enfants

A Aurélien et Emeline, frères et sœurs d'adoption, que j'aurais toujours plaisir à revoir, à Poitiers, Paris, Salamanque ou ailleurs...

A Mimi, Bruno et leurs trois garnements, famille d'adoption lors de mes pérégrinations pyrénéennes

A Robert, dont l'esprit, les paroles et les pommes de terre resteront gravés en ma mémoire

A Mamie, pour tout l'amour dont elle nous a entouré

A Papi, avec qui je regrette pour toujours de n'avoir pu échanger quelques paroles « bovines »

A Grand-père

A mes Oncles et Tantes, Cousins et Cousines, pour tout ce que nous avons partagé, et pour les bons moments à venir

A tous ces « grands » qui m'ont fait partager leur monde quand je n'étais qu'un « petit » : Gérardo et Mino, Danielle et Alain, Isa, Stéphane et José (pour ma première nuit blanche), Macru,...

A Claire et Blandine

## DEDICACES

A mes amis de toujours :

Camille, Guillaume, Manu et Seb

A tous les membres de la Salud, que je ne remercierais jamais assez pour l'aventure formidable que l'on a vécue :

Cecile, Sandra, Nico, Condor, Marc, et également Cedric et JB pour leur participation

A Juan et Gonzalo

Aux rochelais, que je reverrais toujours avec joie, sûrement à La Guignette pour la plupart : Marion, Vincent, toute la Tournée Du Placard, Mathieu H., Laure, Aurélie, Hélène, Charlotte, Justine, Alain et Nelly, Gérard et Malika, Mr et Mme Loizeau, Roméo

Aux toulousains (d'adoption pour la majorité) :

Melo, KO et Aurélie, Rillette, Gus, Jérôme, Cyril, David, Adrien et Anne-ô, Odile, Rahan, Bibi, Manus et Mag, Anne D, Vio, Valoche, Anouk, Meumeule, Anne-gâ, Lolo et Marie, Deb et Yann, Mela et Mathieu, Chantâl, Fabrice, Nono, Sandra, Quicky, Wolff, Nanard, Bubble, Caro, Hutch, Alexis, Mat', Romu, Iban, Celine, Flunchy, Fredo, Le n'veu, Armande, et tous les autres...

Aux « complices » du service de pathologie du bétail :

Dédé, Céline et Pierre, Delphine, Maxime, Doogy, Rodgeure, Fabien, Adrien, Stephanie, Bubble et Amélie

A tous mes poulots et poulottes préférés

A tous les co-équipiers du rugby, de l'école, de pouyastruc et de l'urssaf

A tous ceux que j'ai oubliés ; vous me connaissez suffisamment pour savoir que les oublis de ce genre n'enlèvent rien à l'affection que je vous porte !

A Anne

# SOMMAIRE

Index des tableaux.....	3
Index des figures.....	4
Index des annexes.....	6
Introduction.....	7
Etude bibliographique.....	8
1 Présentation d' <i>Ostertagia ostertagi</i> et de <i>Cooperia oncophora</i> .....	9
1.1 Systématique (Anderson R.C., 2000).....	9
1.2 Morphologie (Euzeby, 1963) .....	10
1.2.1 <i>O.ostertagi</i> (figure 1).....	10
1.2.2 <i>C.oncophora</i> (figure 2).....	12
1.3 Cycles évolutifs .....	14
1.3.1 Déroulement (figure 3).....	14
1.3.2 Principaux facteurs de variation du cycle .....	17
1.4 Pathogénie .....	23
1.4.1 Diminution de l'ingestion (Fox, 1993 ; Camuset, 1999).....	23
1.4.2 Action spoliatrice (Camuset, 1999).....	24
1.4.3 Malabsorption (Hoste, 1997).....	24
1.4.4 Modification du métabolisme protéique (Hoste et al., 1997).....	25
1.4.5 Action favorisante d'autres infections (Camuset, 1999).....	26
1.5 Clinique .....	26
1.5.1 <i>C.oncophora</i> .....	26
1.5.2 <i>O.ostertagi</i> .....	26
1.6 Méthodes de diagnostic .....	28
1.6.1 Examens coproscopiques .....	28
1.6.2 Coproculture.....	29
1.6.3 Dosages sérologiques .....	30
2 Arsenal thérapeutique disponible .....	33
2.1 Principes actifs .....	33
2.1.1 Les benzimidazoles et guanidines .....	34
2.1.2 Les tétrahydropyrimidines et les dérivés de l'imidazothiazole.....	34
2.1.3 Les avermectines-milbémycines .....	34
2.2 Formulations galéniques .....	34
2.2.1 Solutions buvables.....	34
2.2.2 Bolus intra-ruminaux.....	34
2.2.3 Pour-on .....	35
2.2.4 Solutions injectables.....	35
3 Cas particulier des avermectines .....	37
3.1 Généralités sur les avermectines .....	37
3.1.1 Historique .....	37
3.1.2 Spectre d'activité (Benz et al., 1989).....	37
3.1.3 Synthèse (Fisher et al., 1989).....	38

3.1.4	Mode d'action (Turner et al., 1989).....	38
3.2	Pharmacocinétique des avermectines.....	38
3.2.1	Absorption (Fink et al, 1989).....	38
3.2.2	Distribution.....	39
3.2.3	Métabolisme.....	40
3.2.4	Élimination (Halley et al., 1989).....	41
3.2.5	Récapitulatif.....	42
3.2.6	Conséquences du rejet d'ivermectines dans les bouses.....	42
3.3	Problématique du léchage.....	45
3.3.1	Rappels sur le comportement de léchage des bovins (Bralet D, 2002).....	45
3.3.2	Premières interrogations sur les pour-on.....	46
3.3.3	Mise en évidence de l'interaction entre léchage et formulation pour-on (Laffont et al., 2001).....	48
3.3.4	Mise en évidence d'un transfert d'endectocides entre individus (Bousquet- Mélou et al., 2004).....	49
3.4	Résistance aux anthelminthiques.....	50
3.4.1	État des lieux dans le monde.....	50
3.4.2	Mécanismes de sélection et de diffusion de la résistance (Jacquet, 2004).....	51
3.4.3	Mécanismes de résistances aux ivermectines.....	52
1	Objectifs.....	54
2	Matériels et méthodes.....	54
2.1	Matériels.....	54
2.1.1	Animaux.....	54
2.1.2	Hébergement et soin des animaux.....	55
2.1.3	Principe actif.....	55
2.2	Protocole expérimental.....	56
2.2.1	Infestation des animaux.....	56
2.2.2	Traitement.....	56
2.2.3	Prélèvements réalisés.....	56
2.3	Analyses.....	57
2.3.1	Coprosopies.....	57
2.3.2	Coprocultures et diagnose des larves.....	57
2.3.3	Dosage du pepsinogène.....	58
2.3.4	Dosage de l'ivermectine plasmatique.....	58
2.3.5	Calcul des différents paramètres.....	58
3	RESULTATS.....	58
3.1	Parasitologiques.....	58
3.1.1	Coprosopies.....	58
3.1.2	Coprocultures.....	61
3.1.3	Pepsinogène.....	62
3.2	Pharmacocinétiques.....	63
3.3	Conséquences des résultats de pharmacocinétique.....	65
4	DISCUSSION.....	69
	CONCLUSION.....	73
	Agrément administratif et scientifique.....	73
	Annexes.....	75
	BIBLIOGRAPHIE.....	85
	RESUME :.....	91
	ABSTRACT :.....	91

## Tableaux

Tableau 1 : Prévision du nombre moyen de vers dans la caillette pour des bovins en 1 <sup>ère</sup> et 2 <sup>ème</sup> saison de pâture.....	41
Tableau 2 : Liste des anthelminthiques et caractéristiques.....	45
Tableau 3 : Distribution des résidus (en ng/kg) après injection par voie sous-cutanée d'ivermectine à des veaux mâles à la dose de 300 µg/kg.....	48
Tableau 4 : Résidus radioactifs totaux (en ng/kg) et H <sub>2</sub> B <sub>1</sub> présents dans le foie de veaux mâles ayant reçu une injection sous-cutanée de 300 µg/kg d'ivermectine tritiée.....	49
Tableau 5 : Résidus radioactifs totaux (en ng/kg) et H <sub>2</sub> B <sub>1</sub> présents dans le tissu adipeux de veaux mâles ayant reçu une injection sous-cutanée de 300 µg/kg d'ivermectine tritiée.....	50
Tableau 6 : Profils d'excrétion et composition des résidus radioactifs dans les matières fécales et l'urine de bovins traités avec de l'ivermectine tritiée pendant les 7 jours suivant le traitement.....	51
Tableau 7 : Paramètres pharmacocinétiques de l'ivermectine après injection IV de 200 µg/kg à des bovins.....	51
Tableau 8 : Paramètres pharmacocinétiques (moyenne ± SD) de l'ivermectine suite à l'administration d'ivermectine aux 6 bovins « lécheurs » et à leurs 6 jumeaux « non-lécheurs ».....	57
Tableau 9 : Paramètres pharmacocinétiques (moyenne ± écart-type) de l'ivermectine, chez les animaux traités et les non traités, qui ont été séparés en « exposés » et « peu exposés ».....	72
Tableau 10 : Résultats de l'analyse de variance effectuée sur les valeurs brutes d'o.p.g des 4 bovins traités par administration de 0.5 mg/kg d'ivermectine pour-on (groupe 1), des 3 bovins non traités « exposés » (groupe 2) et des 3 bovins non traités « peu exposés » (groupe 3).....	74

## Figures

Figure 1 : caractères morphologiques de <i>Ostertagia ostertagi</i> .....	20
Figure 2 : caractères morphologiques de <i>Cooperia oncophora</i> .....	20
Figure 3 : Phase exogène et endogène du cycle d'un strongle gastro-intestinal.....	25
Figure 4 : Schéma de la contamination d'une pâture par les larves de strongles montrant le gradient de vitesse d'évolution des œufs en larves au cours de la saison.....	26
Figure 5 : Chute du pouvoir infestant en fonction du temps de larves III conservées à +4°C. Les animaux reçoivent 200 larves vivantes à chaque infestation.....	30
Figure 6 : Augmentation de la production d'œufs d'une femelle parasite au fur et à mesure de la diminution du pouvoir infestant de la larve III.....	31
Figure 7 : Conséquences physiopathologiques des strongyloses gastro-intestinales des ruminants.....	34
Figure 8 : <i>Ostertagia</i> : développement retardé (hypobiose).....	37
Figure 9 : Cinétiques fécales et plasmatiques de l'ivermectine après injection sous-cutanée (0.2 mg/kg), application en pour-on (0.5 mg/kg) et administration d'un bolus relarguant 12.7 mg/j pendant 135 jours.....	54
Figure 10 : Chronologie du protocole expérimental.....	64
Figure 11 : Intensités moyennes de l'excrétion d'œufs des 4 animaux traités (symboles pleins) et des 6 animaux non traités (symboles ajourés) sur la totalité de la période d'expérimentation, J0 représentant le jour du traitement.....	66
Figure 12 : évolution des opg des 4 bovins traités, ayant reçu à JO une administration d'ivermectine pour-on à la dose de 0.5 mg/kg.....	67
Figure 13 : évolution des opg des 6 bovins non traités après traitement des 4 autres bovins, J0 représentant le jour du traitement.....	68
Figure 14 : proportions relatives d' <i>O.ostertagi</i> (en blanc) et de <i>C.oncophora</i> (en noir) après mises en coproculture des fèces prélevés sur les deux périodes, « avant traitement » et « après traitement », chez les bovins ayant reçu une administration d'ivermectine pour-on à la dose de 0.5 mg/kg (traités) et chez les bovins non traités.....	69
Figure 15 : Taux moyens de pepsinogène sanguins des 4 animaux traités (symboles pleins) et des 6 animaux non traités (symboles ajourés) sur la totalité de la période d'expérimentation, J0 représentant le jour du traitement.....	70

Figure 16 : comparaison des concentrations plasmatiques d'ivermectine au cours du temps chez les 6 bovins non traités (symboles ajourés) et chez les 4 bovins traités (symboles pleins) pendant une période de 36 jours après l'administration d'une dose unique d'ivermectine pour-on de 0.5 mg/kg de poids vif.....	72
Figure 17 : évolution des opg après traitement (J0) des 4 bovins traités par administration de 0.5 mg/kg d'ivermectine pour-on (cercles pleins), des 3 bovins non traités « exposés » (cercles ajourés) et des 3 bovins non traités « peu exposés » (carrés).....	74
Figure 18 : corrélation entre l'AUC des opg individuels et l'AUC des concentrations d'ivermectine plasmatique individuelles sur une période de 41 jours après traitement (de leurs congénères) pour les 6 bovins non traités.....	76

## Annexes

Annexe 1 : Méthode analytique de l'examen coproscopique.....	81
Annexe 2 : Méthode analytique du dosage de pepsinogène sanguin.....	82
Annexe 2.bis : suite annexe 2.....	83
Annexe 3 : Résultats bruts des examens coproscopiques réalisés durant toute la période d'expérimentation.....	84
Annexe 4 : Résultats bruts des dosages de pepsinogène sanguin réalisés durant toute la période d'expérimentation.....	85
Annexe 5 : Résultats des dosages d'ivermectine plasmatique réalisés durant la période d'expérimentation ; bovins non traités.....	86
Annexe 5.bis : Résultats des dosages d'ivermectine plasmatique réalisés durant la période d'expérimentation ; bovins traités.....	87
Annexe 6 : Résultats des diagnostics de larves après coprocultures ; bovins non traités.....	88
Annexe 6.bis : Résultats des diagnostics de larves après coprocultures ; bovins traités.....	89
Annexe 7 : Résultats des AUC opg et ivermectine plasmatique sur la période J0-J41.....	90

# **INTRODUCTION**

Dans l'élevage bovin, la lutte contre les strongles gastro-intestinaux est un enjeu majeur, tant du point de vue médical qu'économique. Pour ce faire, différentes familles de molécules sont employées, mais la plus répandue aujourd'hui est celle des lactones macrocycliques (LM). Les raisons de l'utilisation massive de ces produits sont simples : efficacité, innocuité et simplicité d'utilisation. En effet, les LM sont disponibles en formulation pour-on (pouvant s'appliquer sur la ligne du dos), ce qui, pour de nombreux éleveurs, représente une solution très commode puisqu'elle leur évite de pratiquer une injection à leurs animaux, ce qui est parfois difficile dans certaines conditions d'élevage.

Suite à l'apparition sur le marché des LM, la lutte contre les strongles intestinaux est devenue, à tort, une lutte « du passé », ce qui a conduit à une utilisation peu optimale de ces molécules. Les premiers cas de résistance aux LM sont apparus en 1988 et aujourd'hui, il est nécessaire d'utiliser ces produits dans les meilleures conditions possibles pour préserver leur efficacité (éviter le sous-dosage, traiter uniquement les animaux qui en ont besoin, associer une bonne gestion des pâturages au traitement chimique,...).

Parallèlement, des études portant sur les formulations pour-on ont été récemment menées et ont démontré que la majorité de la dose administrée était en fait absorbée par voie orale, et que les bovins pouvaient échanger du produit entre eux du fait de leur comportement social de léchage entre individus (*allo-grooming*).

Nous avons donc voulu observer les conséquences du léchage sur les populations parasitaires d'*Ostertagia ostertagi* et de *Cooperia oncophora* chez des animaux non traités au contact d'animaux traités avec de l'ivermectine pour-on.

**PREMIERE PARTIE**  
**ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

# 1 Présentation d' *Ostertagia ostertagi* et de *Cooperia oncophora*

## 1.1 Systématique (Anderson R.C., 2000)

Embranchement :	Vers
Sous-emb. :	Némathelminthes (vers à corps cylindriques, bisexués, pseudocoelomates)
Classe :	Nématodes (Némathelminthes pourvus d'un tube digestif complet, pas de trompe céphalique épineuse)
Ordre :	Myosyringata (corps non aminci dans sa partie postérieure, œsophage musculueux)
Sous-ordre :	Strongyloidea (mâles pourvus d'une bourse caudale soutenue par des côtes rigides)
Super-famille :	Trichostrongyloidea (absence de capsule buccale) (lobes latéraux de la bourse caudale très développés) (petite taille « tricho- »)
Famille :	Trichostrongylidés (très petite taille, < 4cm) (bourse copulatrice très développée)
Sous-famille :	Trichostrongylinés

Genre : *Cooperia*

Espèce : *oncophora* (décrite par Railliet en 1898)

Genre : *Ostertagia*

Espèce : *ostertagi* (décrite par Stiles en 1892)

## 1.2 Morphologie (Euzeby, 1963)

### 1.2.1 *O.ostertagi* (figure 1)

#### *Adulte*

Taille : 6 à 9 mm sur 115 à 160  $\mu\text{m}$ , coloration souvent foncée à l'état frais

Cette espèce est caractérisée par :

- ✓ l'existence d'une ébauche de capsule buccale
- ✓ l'existence de papilles cervicales
- ✓ l'existence d'un petit lobe dorsal médian, formant avec les 2 grands lobes latéraux la bourse caudale
- ✓ le port de 2 petites ailes latérales soutenues par 2 papilles pré-bursales en avant de la bourse caudale
- ✓ la convergence des côtes ventro-ventrales et ventro-latérales
- ✓ des spicules incurvés et trifurqués à leur extrémité et mesurant de 220 à 230  $\mu\text{m}$
- ✓ un gubernaculum allongé de 40  $\mu\text{m}$
- ✓ l'existence, chez la femelle, d'une languette supra-valvulaire

#### *Œuf*

- ✓ taille : 80 à 85  $\mu\text{m}$  \* 40 à 45  $\mu\text{m}$
- ✓ ovoïde, à pôles égaux, à côtés bombés
- ✓ morula emplissant la quasi-totalité de la coque

#### *Larves*

Les 2 premiers stades sont rhabditiformes, avec une queue conique pointue et un œsophage présentant à sa base une large valvule tricuspide (appareil rhabditoïde).

Les stades suivants perdent cette valvule et deviennent donc strongyloformes.

Tailles :

- ✓ L1 300-500  $\mu\text{m}$
- ✓ L2 750-800  $\mu\text{m}$
- ✓ L3 850-900  $\mu\text{m}$

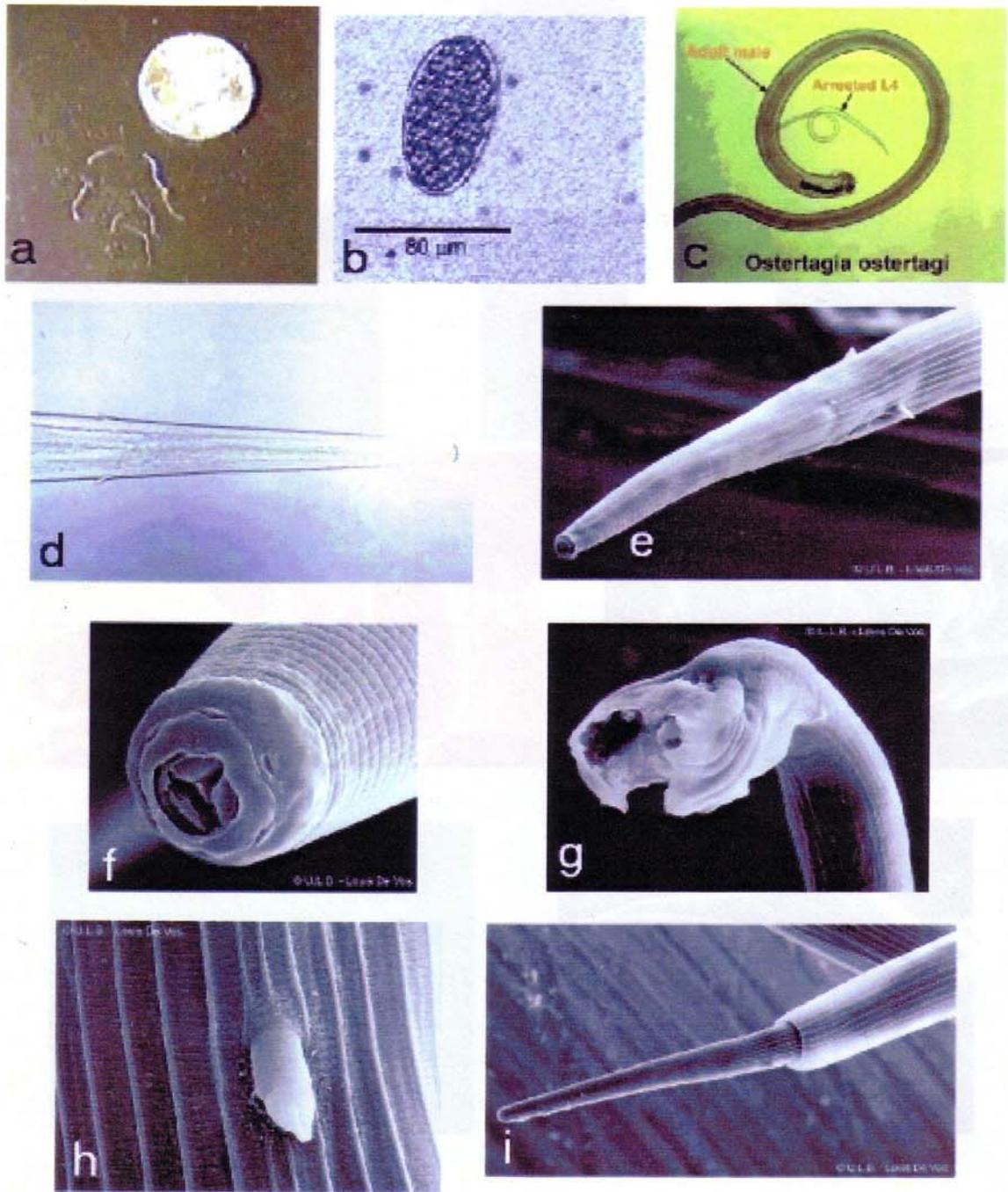


Figure 1 : caractères morphologiques d'*Ostertagia ostertagi*.

**a)** parasites adultes (réf. A) ; **b)** œuf (réf. N) ; **c)** stade L4 et adulte (réf. C) ; **d)** région antérieure au microscope optique (réf. E) ; **e)** région antérieure au microscope électronique (réf. H) ; **f)** orifice buccal (réf. H) ; **g)** bourse caudale (réf. H) ; **h)** papille cervicale (réf. H) ; **i)** région postérieure (réf. H).

(Renault, 2001)

### 1.2.2 *C. oncophora* (figure 2)

#### *Adulte*

Taille : 5 à 8 mm sur 150 à 240  $\mu\text{m}$ , coloration blanchâtre, parfois rosée à l'état frais

Cette espèce est caractérisée par :

- ✓ L'absence de trace de capsule buccale
- ✓ l'absence de papilles cervicales
- ✓ une nette dilatation céphalique suivie de striations annulaires
- ✓ l'absence de papilles pré-bursales
- ✓ la non-convergence des côtes ventro-ventrales et ventro-latérales
- ✓ des spicules présentant une double incurvation très nette, avec un épaississement ventral marqué, une concavité dorsale accusée, et mesurant de 240 à 300  $\mu\text{m}$
- ✓ l'absence de gubernaculum
- ✓ l'absence chez la femelle de languette supra-valvulaire
- ✓ une cuticule dilatée au niveau de la vulve

#### *Œuf*

- ✓ taille : 60 à 80  $\mu\text{m}$  \* 30  $\mu\text{m}$
- ✓ côtés plus ou moins parallèles, à pôles égaux
- ✓ morula n'emplissant pas la totalité de la coque

#### *Larves*

Les 2 premiers stades sont rhabditiformes, avec une longue queue conique à pointe fine et un œsophage présentant à sa base une large valvule tricuspide (appareil rhabditoïde).

Les stades suivants perdent cette valvule et deviennent donc strongyliformes.

La larve L3 possède une queue relativement effilée et se terminant brutalement.

Elle comporte également 2 granules réfringents à la partie antérieure de l'œsophage, caractéristiques du genre *Cooperia*.

Tailles :

- ✓ L1 375  $\mu\text{m}$  en moyenne
- ✓ L2 808  $\mu\text{m}$  en moyenne
- ✓ L3 863-1046  $\mu\text{m}$

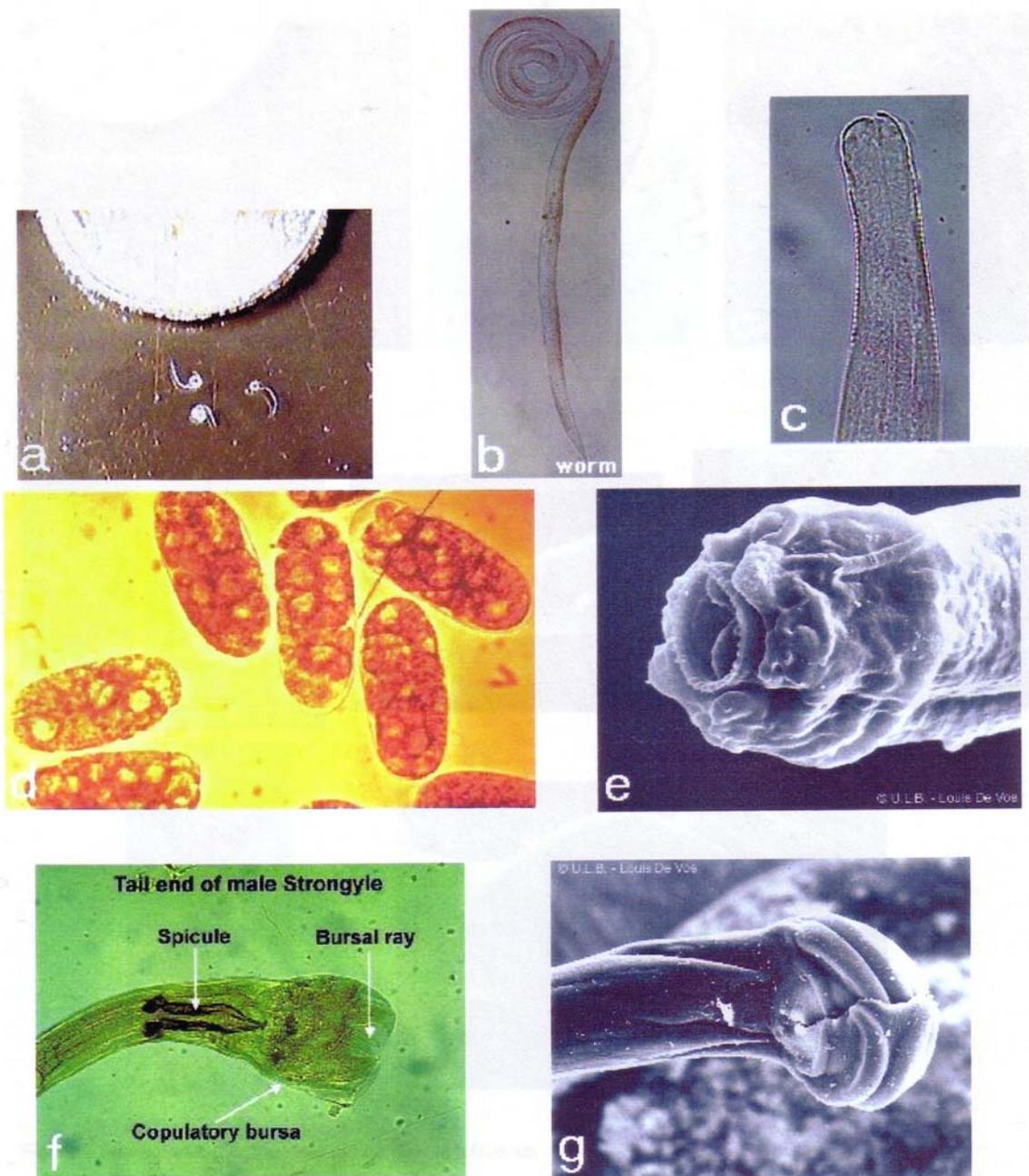


Figure 2 : caractères morphologiques de *Cooperia* sp.

a) parasites adultes (réf. G) ; b) vers entier (réf. G) ; c) région antérieure - fines striations visibles (réf. G) ; d) œufs (réf. K) ; e) orifice buccal (réf. H) ; f) bourse caudale en microscopie optique (réf. C) ; g) bourse caudale en microscopie électronique (réf. H).

## 1.3 Cycles évolutifs

### 1.3.1 Déroulement (figure 3)

#### *Présentation*

Les deux parasites étudiés sont ovipares. Leur cycle est homoxène (sans hôte intermédiaire) et comprend quatre stades larvaires, avec succession d'une phase exogène (de l'œuf au stade L3) et une phase endogène (du stade L3 à l'œuf).

#### *Phase exogène*

Les œufs sont émis dans les fèces des animaux parasités. Lors de conditions climatiques favorables, l'éclosion a lieu rapidement (quelques heures), pour libérer une larve L1 qui mue en L2 au bout de quelques heures. Les larves L1 et L2 sont de type rhabditiforme et se nourrissent activement dans le milieu extérieur.

Le stade suivant est la L3, qui perd l'appareil valvulaire et reste enveloppée dans la gaine de L2. Elle ne se nourrit plus et vit sur les réserves accumulées par les stades précédents, mais acquiert une importante mobilité, entraînant une grande dépense énergétique et limitant donc la durée de vie dans le milieu extérieur. La mobilité de ce stade est cependant nécessaire au bon déroulement du cycle afin d'augmenter les chances d'infestation d'un animal réceptif.

Les mouvements de ces larves sont guidés par divers tropismes :

- ✓ Hygrotropisme positif
- ✓ Phototropisme positif lors de lumière faible
- ✓ Phototropisme négatif lors de lumière forte
- ✓ Géotropisme négatif, qui les poussent à s'élever au-dessus du sol

Globalement, la totalité de la phase exogène se déroule en une semaine dans les conditions optimales.

#### *Phase endogène*

Après ingestion par un individu réceptif, la L3 perd sa gaine dans le rumen de l'hôte, consécutivement à la modification du milieu dans lequel elle se trouve : abaissement du pH, élévation de la température, ... A ce niveau, des facteurs propres à l'hôte peuvent déjà

moduler l' « efficacité » de cette étape : ils font partie des facteurs de réceptivité de l'hôte au parasite.

L'abandon de l'exuvie de L2 est permis par un fluide d'éclosion sécrété par la larve, et doué de fortes propriétés antigéniques.

La L3 évolue ensuite en L4 puis en immature par l'intermédiaire de mues successives qui se déroulent dans la lumière des glandes de la caillette pour *O.ostertagia*, tandis que celles de *C.oncophora* se déroulent dans la lumière de l'intestin grêle.

La mue L3-L4 provoque elle aussi la libération d'un fluide doué de propriétés antigéniques. C'est donc principalement dans cette 1<sup>ère</sup> phase du cycle endogène que l'action antigénique des parasites s'effectue.

C'est également à ce stade (L4) que peut survenir le phénomène d'hypobiose qui sera détaillé dans les chapitres suivants.

Le passage de l'immature à l'état adulte reproducteur se fait ensuite, pour les deux espèces, à la surface de la muqueuse, permettant ainsi l'élimination des œufs fécondés dans la lumière du tube digestif puis dans les fèces.

La période pré-patente, qui correspond à la durée séparant l'ingestion des premières L3 et la ponte d'œufs issus de cette génération, est d'environ 3 semaines pour les deux parasites étudiés.

La figure 3 résume les étapes du cycle d'un strongle gastro-intestinal.

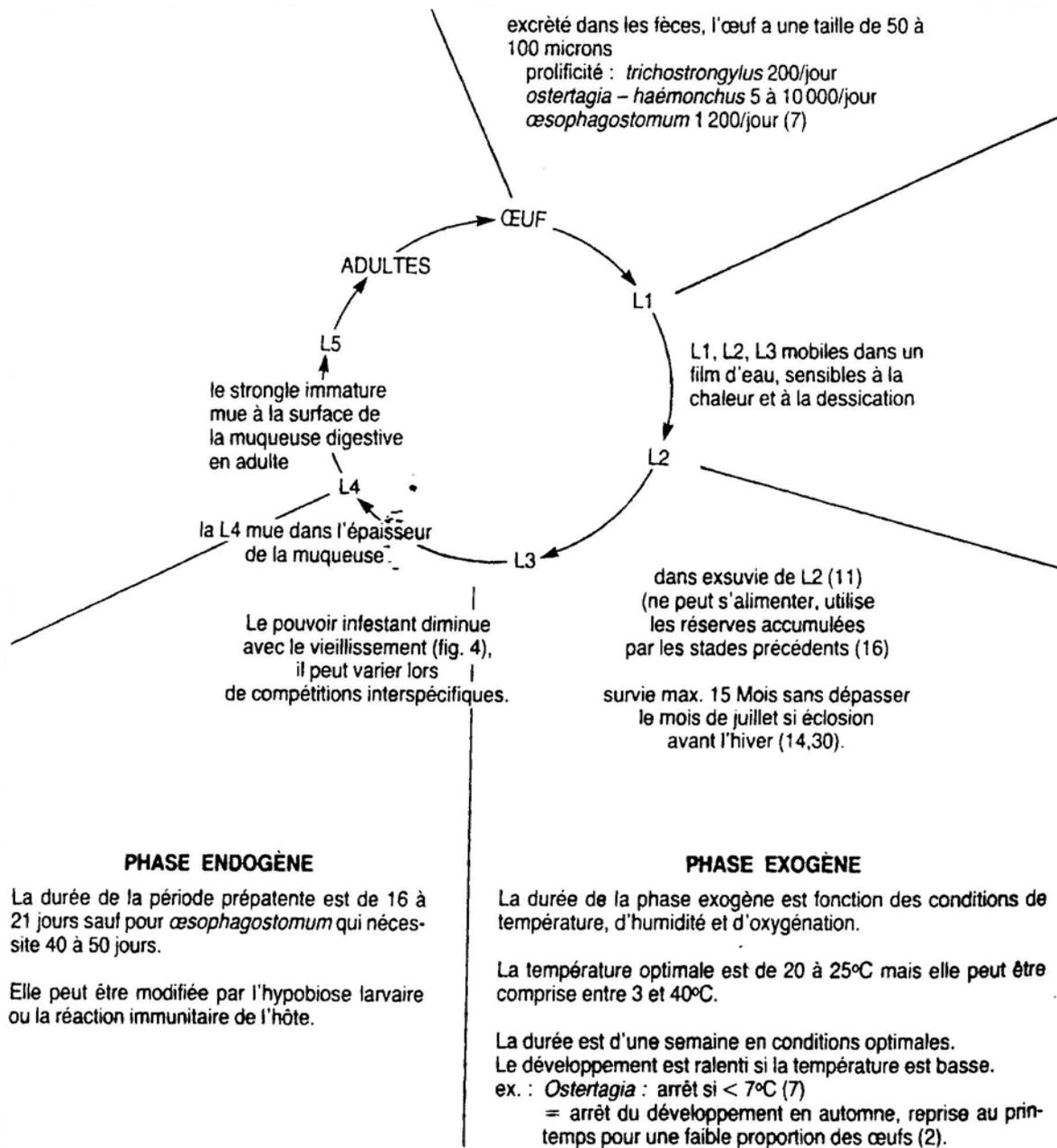


FIGURE 3 : Phase exogène et endogène du cycle d'un strongle gastro-intestinal (Camuset, 1991).

### 1.3.2 Principaux facteurs de variation du cycle

#### *Facteurs modulant la durée du cycle*

➤ Durant la phase exogène :

La durée de la phase exogène correspond à la durée d'évolution de l'œuf jusqu'à la L3 plus la durée de survie des L3. L'évolution de l'œuf à la L3 est conditionnée par les paramètres du milieu extérieur :

- Hygrométrie : si elle descend en dessous de 30%, l'œuf entre dans une phase de dormance pouvant durer quelques mois (optimum = 80-95%).
- Température : l'optimum est entre 22 et 25°C (figure 4), mais varie selon l'espèce. A des températures plus basses, le développement sera ralenti. Il devient impossible pour des températures inférieures à 5°C ou supérieures à 30°C. En été, le passage de l'œuf à la L3 peut se faire en 5 à 8 jours pour *Cooperia* (Carrard, 1999) et 7 à 12 jours pour *Ostertagia* (Renault, 2001), alors qu'il pourra prendre plus de 15 jours en hiver.

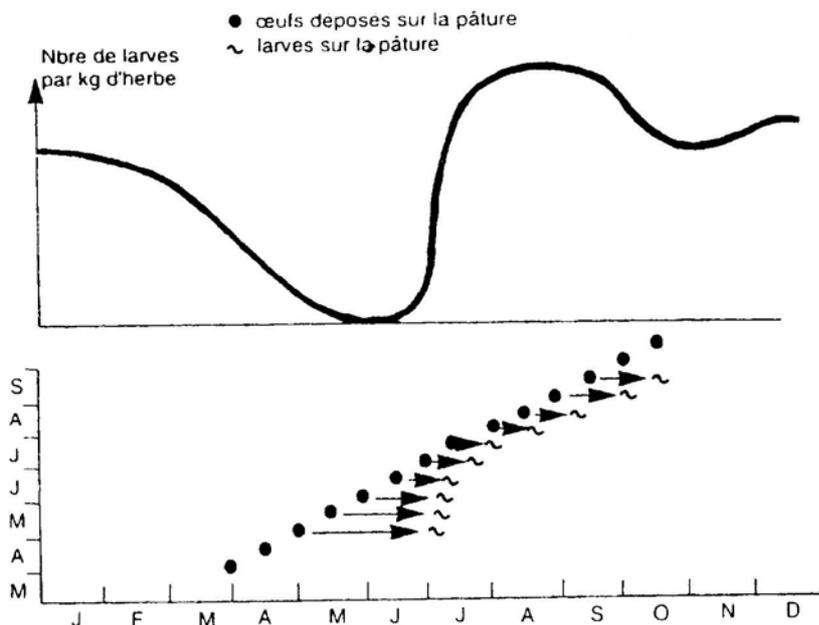


FIGURE 4 : Schéma de la contamination d'une pâture par les larves de strongles montrant le gradient de vitesse d'évolution des œufs en larves au cours de la saison (Raynaud, 1981).

- Oxygénation : le développement larvaire ne peut pas se faire dans des milieux privés d'oxygène (ex : fumier, points d'eau trop profonds, gangue fécale trop hermétique, ...)

➤ Durant la phase endogène :

#### ❖ Hypobiose larvaire

Dans certaines conditions, une inhibition du développement larvaire peut s'observer, à des stades bien précis et qui diffèrent selon le parasite étudié. Chez *O.ostertagi*, c'est au stade L4 que se fera l'hypobiose, alors qu'elle surviendra au stade d'adulte immature chez *C.oncophora*. De plus, la localisation des parasites n'est pas tout à fait la même puisque le premier se situera dans la lumière des glandes digestives de la caillette, alors que le deuxième sera fixé à la paroi intestinale.

Les principaux facteurs déclenchant l'hypobiose sont les suivants (Eysker, 1993 ; Carrard, 1999) :

- Le refroidissement (*O.ostertagi*)
- La diminution de la photopériode (*O.ostertagi*)
- La sécheresse (*C.oncophora* et *O.ostertagi*)
- Le vieillissement des larves
- L'immunité de l'hôte (surtout pour *O.ostertagi*)
- La diapause physiologique

Après cet arrêt du développement qui dure plusieurs mois, le cycle reprend.

Les principaux facteurs déclenchant la levée de l'hypobiose sont (Camuset, 1999):

- La fin de la diapause physiologique
- Une baisse de l'immunité :
  - stress (alimentaire, climatique ou infectieux)
  - fin de gestation (augmentation du taux de cortico-stéroïdes)
  - entrée en lactation (augmentation du taux de prolactine et fuite d'anticorps dans le colostrum )

#### ❖ Immunité

Outre le fait qu'elle favorise l'entrée en hypobiose, l'immunité entraîne également un allongement de la période pré-patente pour les larves qui ne rentrent pas en hypobiose.

## *Facteurs modulant le rendement du cycle*

### ➤ Durant la phase exogène :

#### ❖ Survie de l'œuf

L'œuf embryonné est une forme de résistance très efficace, de par sa capacité à se mettre en phase de dormance (cf chapitre précédent) si les conditions d'humidité ou de température ne sont pas favorables. Cependant, cette phase de dormance ne peut durer plus de quelques mois, sous peine de mort embryonnaire. En général, les œufs ne pourront donc résister à l'hiver, excepté ceux du genre *Nematodirus*.

#### ❖ Survie de la L3

Ces larves peuvent survivre 3 à 4 semaines en été, 3 à 6 mois au printemps et en automne, et jusqu'à un an dans le sol en hiver. Elles sont alors appelées larves « trans-hibernantes », et constituent une part importante de la contamination des animaux au tout début de saison de pâturage.

#### ❖ Ingestion de la L3

Tous les facteurs permettant d'augmenter la mobilité et la dissémination des L3 sont susceptibles de favoriser indirectement une ingestion plus rapide des L3 par un animal réceptif. On retrouve notamment les facteurs suivants :

- Ruissellement par les eaux pluviales
- Piétinement des bouses
- Transport par des hôtes paraténiques tels que les vers de terre, coléoptères coprophages
- Type de sol (sol sableux plus favorable aux déplacements qu'un sol argileux)

De plus, certaines conditions liées à la conduite d'élevage favoriseront une ingestion plus rapide des L3, comme le surpâturage, qui augmente le piétinement des bouses, et pousse les bovins à brouter l'herbe aux alentours des bouses alors qu'ils ne le font pas s'ils disposent d'une quantité suffisante d'herbe, et également à brouter l'herbe rase et donc ingérer les L3 très proches du sol.

Rappelons que l'animal ingérant la L3 doit être réceptif ; dans le cas contraire, il n'y aura pas d'évolution et rapidement mort des larves. C'est pourquoi la cohabitation entre espèces réceptives et espèces non réceptives sur une même pâture est conseillée afin de diminuer le

recyclage parasitaire (exemple : l'association bovin-équin, qui est conseillée vis-à-vis des strongles, mais moins vis-à-vis des trématodes).

➤ Durant la phase endogène :

❖ Pouvoir infestant des larves (Kerboeuf, 1979)

On définit le pouvoir infestant des L3 comme le pourcentage de larves ingérées qui parvient jusqu'au stade adulte. Il varie en fonction de plusieurs paramètres :

- L'âge des larves : Comme le montre la figure 5 (étude réalisée avec *Heligmosomoïdes polygyrus*, nématode de rongeur), les L3 nécessitent d'abord une certaine maturation (pouvoir infestant qui augmente jusqu'à un âge de 9 à 17 semaines). Une fois cet âge optimum atteint, le pouvoir infestant décroît rapidement avec l'âge.
- La température : le graphique de la figure 5 a été obtenu pour des larves conservées à 4°C. A 22°C, le pic est obtenu à 3 semaines et redescend de moitié à 9 semaines. L'effet de la température est donc d'augmenter l'effet négatif de l'âge des larves sur leur pouvoir infestant.
- L'immunité de l'hôte : celle-ci peut entraîner une diminution de 90 % de l'implantation des L3

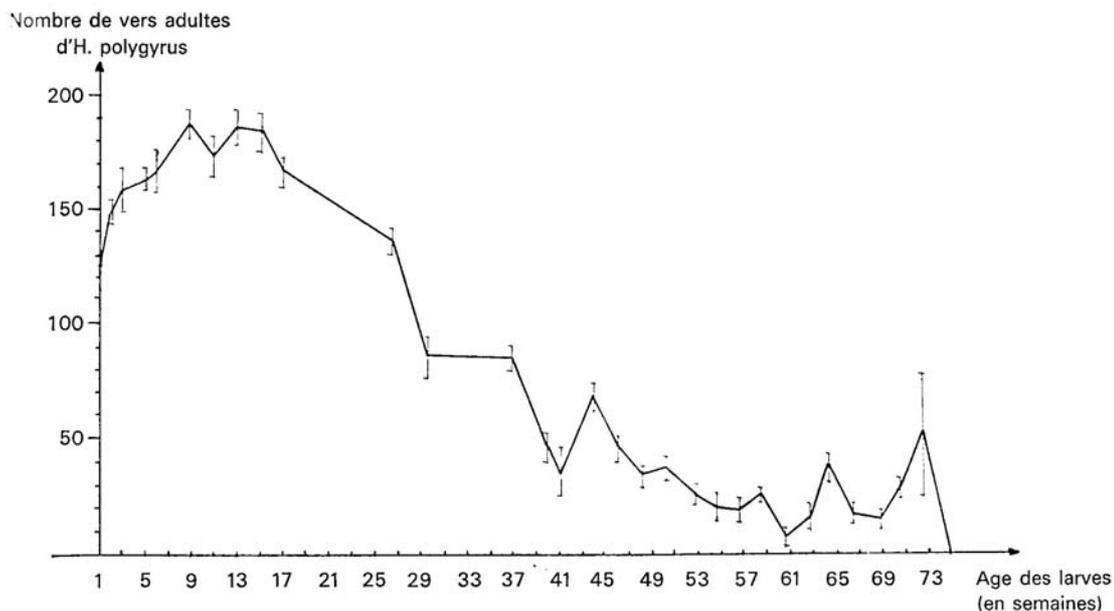


FIGURE 5 : Chute du pouvoir infestant en fonction du temps de larves III conservées à +4°C. Les animaux reçoivent 200 larves vivantes à chaque infestation (moyenne pour 10 animaux (Kerboeuf, 1981).

#### ❖ Prolificité des adultes

Toujours dans la même étude, l'auteur a ensuite comparé la prolificité des adultes obtenus à partir des L3 conservées plus ou moins longtemps. Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 6. La conclusion est que la prolificité augmente avec la chute du pouvoir infestant. Par conséquent, des larves âgées seront moins infestantes, mais les adultes qu'elles donneront seront plus prolifiques.

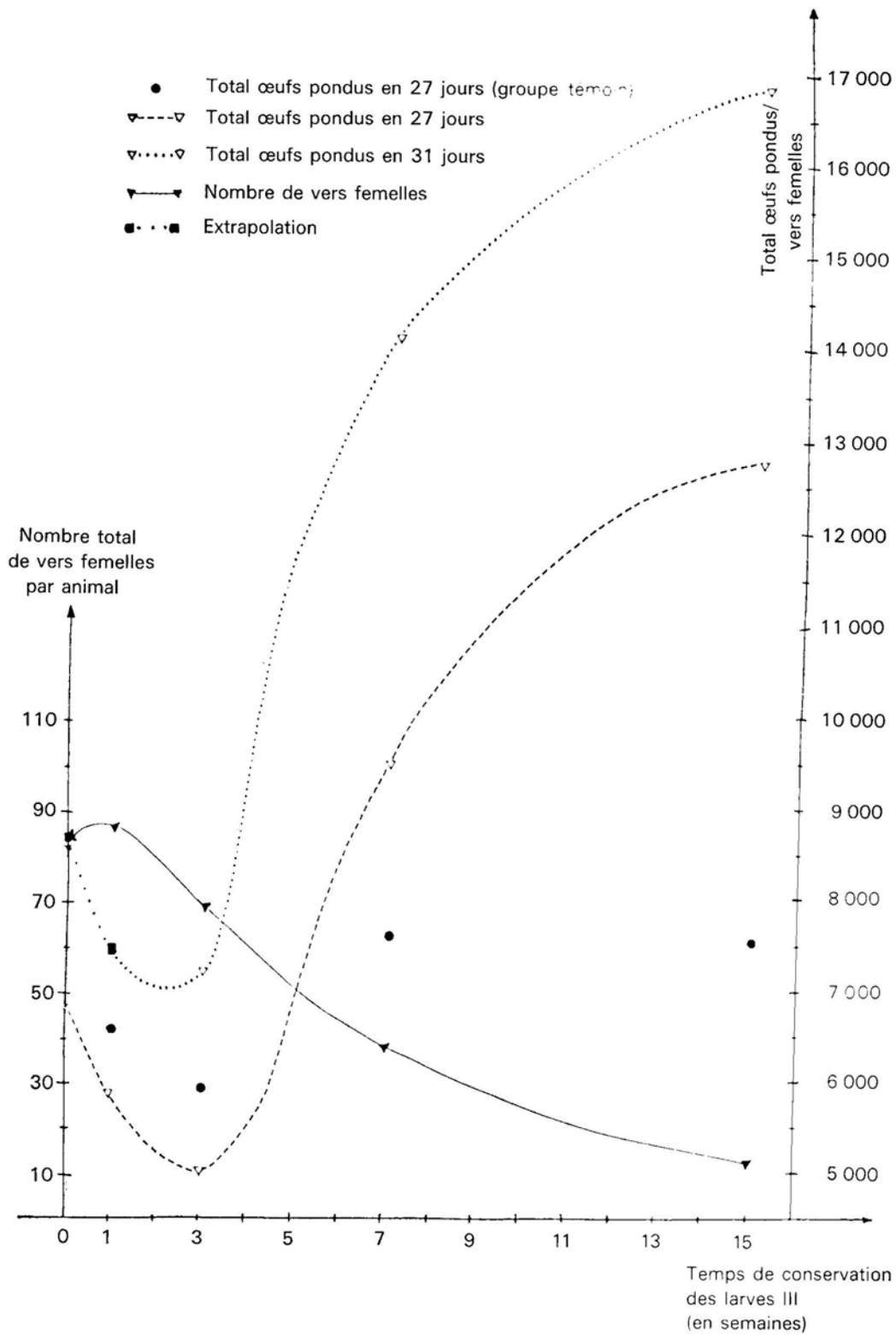


FIGURE 6 : Augmentation de la production d'œufs d'une femelle parasite au fur et à mesure de la diminution du pouvoir infestant de la larve III (Kerboeuf, 1981).

L'immunité de l'hôte a également un effet sur la prolificité des adultes en place, en diminuant leur ponte (Klesius, 1988).

#### ❖ Conséquences

L'immunité de l'hôte exerce donc une grande influence sur le déroulement de la phase endogène du parasite ; cependant, il convient de considérer différemment *O.ostertagi* et *C.oncophora* car ces 2 parasites n'engendrent pas la même intensité de réponse immunitaire et présentent de ce fait une cinétique d'infestation très différente.

- *C.oncophora* excrète ses œufs selon un pic bref et élevé, puis l'excrétion diminue rapidement sous l'effet de la réponse immunitaire de l'hôte. La population adulte est grandement réduite, voire éliminée, seule une petite quantité subsiste.
- *O.ostertagi* montre un pic d'excrétion plus faible et plus tardif, mais plus persistant dans le temps, car la population adulte subit un « turn-over » constant au cours d'une saison de pâture, aboutissant au maintien d'une population adulte suffisante pour entretenir le cycle.

Plusieurs aspects expliquent cette moindre sensibilité d' *O.ostertagi* à la réponse immunitaire. En effet, il a été montré que ce parasite a des capacités immuno-modulatrices, en sécrétant des médiateurs chimiques qui miment ceux du système immunitaire. Les conséquences de cette interaction sont multiples : Diminution de la prolifération lymphocytaire, diminution de la sécrétion d'anti-corps et diminution du chimiotactisme envers certaines cellules du système immunitaire (dirigé principalement vers les éosinophiles) (Klesius, 1993).

De plus, les stades intra-muqueux sont insensibles au péristaltisme et à l'hyper-production de mucus, qui sont des moyens de défense mécaniques non négligeables du tube digestif face aux autres stades.

## 1.4 Pathogénie

### 1.4.1 Diminution de l'ingestion (Fox, 1993 ; Camuset, 1999)

Chez les animaux parasités, on note une progressive diminution de l'ingéré, relativement proportionnelle à la charge parasitaire. Cependant, cette baisse d'appétit est légèrement

compensée par un tri sélectif des aliments chez les animaux parasités qui consomment d'avantage d'aliments à forte valeur énergétique et protéique.

L'origine de cette diminution de l'ingestion impliquerait la sur-production par l'organisme parasité d'hormones gastro-intestinales telles que la gastrine (Fox, 1993) et la CCK.

#### **1.4.2 Action spoliatrice (Camuset, 1999)**

*O.ostertagi* est histo-hématophage, provoquant chez l'hôte de multiples microhémorragies digestives chroniques et par conséquent une anémie microcytaire et hypochrome. Cette anémie entraîne une diminution du tonus de l'animal et notamment du tonus digestif. Cette composante physiopathologique est cependant nettement moins marquée que chez d'autres strongles comme *Haemonchus contortus*. En effet, le principal mécanisme expliquant la pathogénie d'*O.ostertagi* est plutôt son action destructrice de l'épithélium gastrique.

*C.oncophora* est chymivore et prélève donc directement les nutriments dans l'intestin. Si la spoliation est quantitativement très faible, elle reste cependant préoccupante car elle est sélective et concerne majoritairement les éléments nutritifs importants tels que minéraux, vitamines,...

#### **1.4.3 Malabsorption (Hoste, 1997)**

Au-delà de la baisse de l'ingéré et de la spoliation exercée par les parasites, plusieurs mécanismes tendent à instaurer une malabsorption chronique chez l'animal parasité :

- Les multiples lésions épithéliales
- La destruction des glandes gastriques par les larves d'*O.ostertagi* lorsque ce parasite pénètre, ainsi que la diminution de la fonctionnalité des cellules voisines consécutive à l'augmentation de volume de la glande parasitée, provoquent une augmentation du pH abomasal et une modification des phénomènes sécrétoires
- L'abrasion des villosités intestinales par *C.oncophora* entraîne une nette diminution de l'activité enzymatique
- La présence des vers, qu'ils soient dans la caillette ou dans l'intestin, entraîne une modification de la motricité intestinale, qui réduit le temps de contact entre la muqueuse et les nutriments

#### 1.4.4 Modification du métabolisme protéique (Hoste et al., 1997)

Lors de parasitisme par les strongles digestifs, le métabolisme protéique de l'animal est complètement réorienté.

L'inflammation des tissus digestifs parasités conduit à une exsudation de plasma et à la perte d'albumine, laquelle est ensuite ré-absorbée dans l'intestin, puis métabolisée et en partie excrétée sous forme d'urée. Il y a donc une perte d'albumine, que le foie compense en augmentant sa synthèse. On observe également un renouvellement cellulaire accru au niveau des épithéliums digestifs, afin de maintenir l'intégrité du tractus digestif.

Ces deux détournements de la synthèse protéique se font bien évidemment au détriment de la production de muscle, de lait..., ce qui accroît les pertes zootechniques.

Les quatre mécanismes présentés jusque là concourent tous à diminuer le rendement zootechnique de l'animal. Ceci explique pourquoi on ne peut pas se permettre d'exposer totalement les animaux en 1<sup>ère</sup> saison de pâture aux strongyloses gastro-intestinales, sans aucune protection, car la perte économique engendrée serait insurmontable pour la plupart des éleveurs.

La figure 7 résume les conséquences physiopathologiques des strongyloses gastro-intestinales des ruminants.

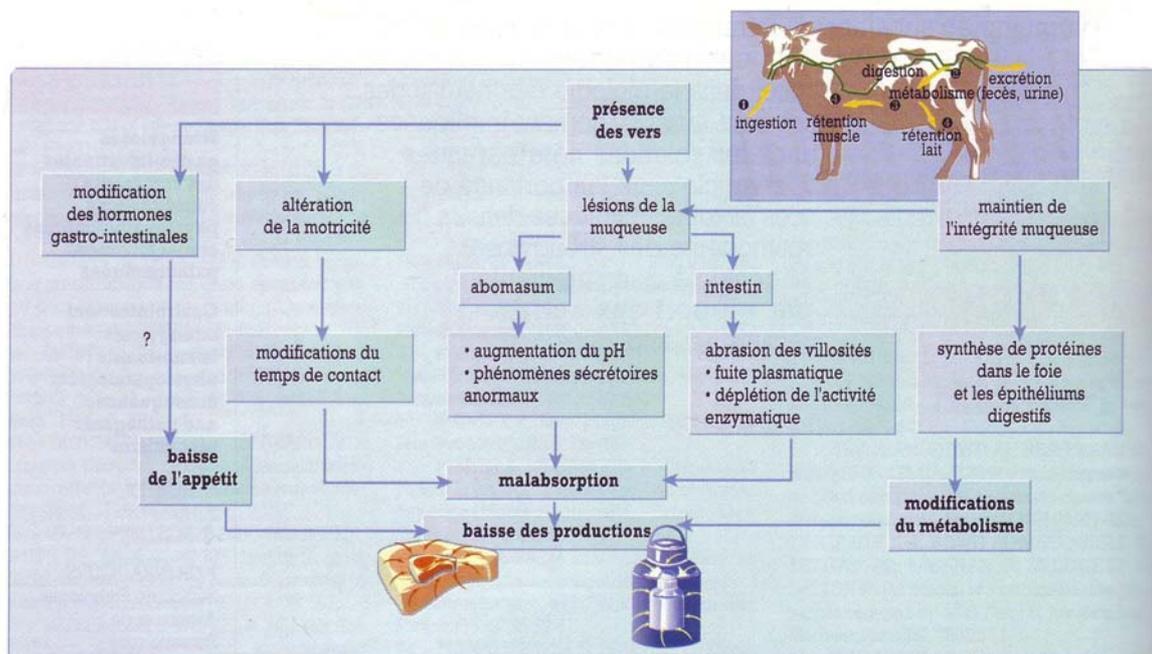


FIGURE 7 : Conséquences physiopathologiques des strongyloses gastro-intestinales des ruminants (Hoste et al., 1997).

### 1.4.5 Action favorisante d'autres infections (Camuset, 1999)

Quatre mécanismes concourent à cela :

- La stimulation de l'immunité (toute réaction immunitaire ayant un coût)
- La création dans l'estomac d'un milieu plus favorable à la prolifération bactérienne du fait de l'augmentation du pH
- La création de portes d'entrées pour les bactéries dans la muqueuse digestive par rupture d'intégrité
- L'orientation nette vers une réponse de type Th 2 (qu'en est-il alors des pathogènes qui suscitent une réponse Th 1 ?)

## 1.5 Clinique

### 1.5.1 *C. oncophora*

Lorsqu'il est le seul parasite incriminé, ce qui est rare dans les conditions naturelles, *C. oncophora* peut provoquer deux grands types de syndromes, que l'on présentera dans l'ordre de fréquence décroissante :

❖ le syndrome le plus fréquent est caractérisé par des troubles généraux tels que :

- baisse du Gain Moyen Quotidien (GMQ)
- baisse de la qualité de la carcasse

❖ on peut également avoir des syndromes gastro-entériques

- modification de l'appétit (souvent diminué, parfois dépravé, en particulier pica)
- perte de poids
- hypoalbuminémie
- diarrhée (symptôme majeur)
- évolution souvent chronique, pour aboutir à un mauvais état général, avec un poil terne, qui tombe facilement, et un possible état de cachexie

### 1.5.2 *O. ostertagi*

On distingue classiquement quatre formes cliniques d'Ostertagiose, qui diffèrent par

l'intensité des signes, la période où elles se produisent et par les mécanismes induisant la maladie.

❖ Ostertagiose de type 1

Elle est due à la pénétration des L3 dans la muqueuse abomasale, puis à la sortie des immatures. Elle survient habituellement entre juin et octobre de la 1<sup>ère</sup> saison de pâture dans les troupeaux laitiers et surtout au sevrage en troupeau allaitant. Les symptômes sont :

- amaigrissement
- diarrhée profuse, aqueuse, vert vif assez caractéristique

❖ Ostertagiose de pré-type 2 (figure 7)

Elle est due à la présence des larves L4 en hypobiose dans la muqueuse abomasale. Elle est quasiment asymptomatique. On note seulement :

- poil piqué (symptôme majeur)
- possible anémie
- possible perte de poids

❖ Ostertagiose de type 2 (figure 7)

Elle est due à la réémergence simultanée de nombreuses larves L4 enkystées. Elle survient principalement fin hiver - début printemps (favorisée lorsque l'été précédent a été sec) ou à la suite d'une baisse de l'immunité.

Les symptômes sont :

- diarrhée profuse
- anorexie
- polydypsie
- perte de poils
- poil piqué
- anémie modérée
- hypo - albuminémie marquée pouvant provoquer des oedèmes inter-mandibulaires

❖ Ostertagiose oedémateuse

Cette forme clinique est la manifestation d'une réaction allergique et ne survient que sur des animaux déjà immunisés, tout du moins partiellement. On observe :

- une lente perte de poids

- des diarrhées intermittentes
- un œdème inter-mandibulaire
- la principale lésion est un œdème sévère de la caillette

La figure 8 présente le mécanisme conduisant à l'ostertagiose de type II.

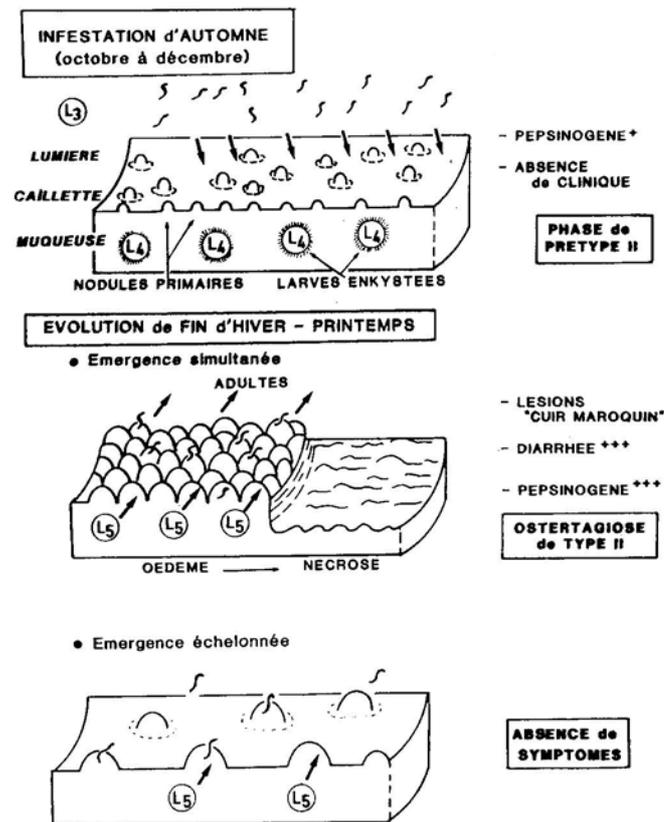


FIGURE 8 : *Ostertagia* : développement retardé (*hypobiose*) (Raynaud, 1981).

## 1.6 Méthodes de diagnostic

Plusieurs méthodes permettent d'évaluer plus ou moins directement la présence et/ou l'intensité du parasitisme. Afin d'éviter les redondances, nous ne détaillerons les mises en œuvre pratiques que dans la partie expérimentale (chap.1.3). Voici les principaux examens (en ne prenant en compte que les examens réalisables sur l'animal vivant):

### 1.6.1 Examens coproscopiques

#### ❖ Principe

Le cycle des deux parasites étudiés nécessite le rejet des œufs embryonnés dans les fèces. La coproscopie consiste en la recherche et l'analyse de ces œufs, preuves de la présence de vers adultes dans le tube digestif de l'hôte.

La technique couramment employée pour les grands animaux (ruminants, porcins, équins) est celle de Mac-Master modifiée par JP Raynaud en 1970, qui consiste à faire remonter les œufs à la surface d'un liquide de flottation dense, puis de disposer ce liquide dans une cellule de Mac-Master et d'observer au microscope. En mettant au point sur la lame, on observe donc les œufs qui sont collés à cette dernière.

L'identification de l'œuf de type « strongle » est relativement aisée mais la diagnose du genre est quasi-impossible (cf chap. 1 .2.2 et 1.2.3).

#### ❖ Interprétation

Tout d'abord, il est nécessaire de rappeler que la coproscopie s'interprète quantitativement et que la seule présence d'œufs de strongles digestifs ne sera pas toujours considérée comme pathologique, étant donné la très grande prévalence de cette infestation.

Ensuite, il est évident que ce résultat sera interprété différemment selon la prolificité des parasites rencontrés, qui elle-même dépend de plusieurs facteurs :

- le genre du parasite : comme vu précédemment, le genre *Cooperia* est bien plus prolifique que le genre *Ostertagia*
- l'immunité de l'hôte : un même nombre d'œufs chez un adulte et un jeune veau non immunisé ne correspondront pas au même nombre de vers adultes

Enfin, un résultat négatif ne signifiera pas absence de parasites, car :

- on peut avoir des larves enkystées
- des adultes en faible nombre peuvent ne pas pondre assez d'œufs pour en retrouver en permanence dans les fèces

### **1.6.2 Coproculture**

Le but de cette méthode est de faire évoluer les œufs jusqu'au stade L3, afin de pouvoir effectuer une diagnose du genre.

#### ❖ Réalisation

Le plus souvent, on utilise les fèces comme milieu de culture. Les conditions d'humidité, de température et d'oxygénation déterminent le rendement de la culture. Pour ce qui est de la

température, l'intervalle 22-25°C convient à tous les types de strongles. Le facteur le plus délicat à contrôler est sans doute l'humidité, car un excès privera les larves d'oxygène, alors qu'un manque entraînera un dessèchement et sera donc très préjudiciable, notamment aux larves L1 et L2.

Dans de bonnes conditions, le délai pour obtenir des L3 est de 7 à 10 jours.

Il s'agit ensuite d'isoler les larves, ce que l'on fait au moyen d'un appareil de Baermann. D'autres techniques ont été mises au point, qui utilisent un milieu de culture « synthétique », et se déroulent ainsi dans un tube à hémolyse ou une plaque à microtitration, et qui présentent les avantages suivants :

- la possibilité d'observer les larves tout au long de la culture
- il n'y a pas de pertes
- les larves sont déjà isolées, on n'a donc pas besoin d'effectuer un Baermann

#### ❖ Interprétation

Le dernier temps est celui de la lecture au microscope. La diagnose des larves se fait sur plusieurs critères, tels que la longueur totale, la présence ou non de gaine, la longueur de la queue, ... (Euzeby, 1982).

Les critères permettant de distinguer *O. ostertagi* et *C. oncophora* sont les suivants :

- *C. oncophora* : présence de corps réfringents de part et d'autre de l'extrémité antérieure de l'œsophage, queue de la gaine effilée
- *O. ostertagi* : absence de corps réfringents, queue de la gaine obtuse

### 1.6.3 Dosages sérologiques

#### ➤ Pepsinogène

#### ❖ Principe

Lors de parasitisme de la caillette, 2 mécanismes concourent à augmenter le taux de pepsinogène sérique :

- l'augmentation du pH diminue la transformation du pepsinogène en pepsine, provoquant alors son accumulation
- l'augmentation de la perméabilité de la muqueuse digestive facilite le passage de ce pepsinogène accumulé vers le sang

- certains auteurs (Berghen, 1993) ont émis l'hypothèse d'une sécrétion par des zymogènes dans le sang mais cette théorie n'a pas encore été démontrée

#### ❖ Réalisation (Kerboeuf, 1979)

La technique la plus courante est celle décrite par Kerboeuf en 1979. Les principales étapes de cette technique sont décrites ci-dessous :

- acidification du pepsinogène pour le transformer en pepsine
- action de cette pepsine sur de l'hémoglobine bovine en grande quantité, afin que la quantité de pepsine et donc de pepsinogène soit le facteur limitant de la réaction
- coloration des acides aminés aromatiques libérés par la réaction précédente
- dosage colorimétrique au spectrophotomètre par comparaison avec une gamme étalon de tyrosine
- les résultats sont alors exprimés en mU de tyrosine

#### ❖ Interprétation

Les taux normaux de pepsinogène chez un jeune bovin sont compris entre 300 et 600 mU.

Les résultats suivants ont été obtenus en 1993 par Berghen, lors d'infestations expérimentales:

- 50 000 L3 en une seule fois : < 2 000 mU
- 100 000 L3 en une seule fois : 3 000 - 4 000 mU
- 1 600 L3 par jour pendant 90 jours : 7 000 - 8 000 mU

Du point de vue épidémiologique, des seuils différents ont été proposés pour établir le diagnostic d'ostertagiose de type 1 sur des animaux en 1<sup>ère</sup> saison de pâture : certains auteurs préconisent un seuil de 3 000 mU de moyenne, d'autres préconisent un seuil de 5 000 mU. En ce qui concerne le type 2, des valeurs supérieures à 3 000 mU sur des animaux en fin de stabulation sont très indicatives d'une telle atteinte.

Les seuls résultats objectifs dont nous disposons nous viennent de Kerboeuf et Mage, d'après une étude réalisée en 1982 qui comparait les taux de pepsinogène plasmatique et le nombre de vers (adultes et larves) présents dans la caillette après autopsie ; leurs résultats sont présentés dans le Tableau 1. Les résultats obtenus leur ont permis de faire une estimation du nombre de vers dans la caillette à partir du taux de pepsinogène : Par exemple, si le taux de pepsinogène moyen est de 3 500 mU, l'intervalle de confiance à 90 % du nombre de vers est 20 400 - 76 400 si l'échantillon testé était de 5 animaux et 23 500 - 66 400 si l'échantillon était de 10 animaux, pour un nombre de vers moyen de 39 500.

Pepsinogène mU Tyr	Moyenne du nombre total de vers	Intervalle de confiance (5 animaux)	Intervalle de confiance (10 animaux)
500	4 200	2 200 - 8 100	2 500 - 7 500
1 000	6 100	3 300 - 11 500	3 800 - 9 900
1 500	8 900	4 800 - 16 300	5 700 - 14 000
2 000	12 900	7 100 - 23 600	8 300 - 20 100
2 500	18 700	10 200 - 34 400	11 000 - 29 500
3 000	27 200	14 500 - 51 000	16 800 - 43 900
3 500	39 500	20 400 - 76 400	23 500 - 66 400
4 000	57 300	28 400 - 115 600	32 300 - 101 500
4 500	83 100	39 200 - 176 400	44 200 - 156 000

TABLEAU 1 : Prévision du nombre moyen de vers dans la caillette pour des bovins en 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> saison de pâture, d'après Kerboeuf et al., 1982.

Aucun seuil n'est proposé pour les adultes en raison de la grande variabilité du taux de pepsinogène chez ces individus (variations saisonnières comprises entre 500 et 2 500 mU chez un animal sain). De plus, la présence chez ces animaux d'une immunité forte fait que la corrélation nombre de vers - pepsinogène est moins forte que chez des jeunes.

### ➤ Gastrine

#### ❖ Principe (Kerboeuf, 1997)

La gastrine est une hormone produite par les cellules G de la caillette. Sa fonction principale est la stimulation des cellules pariétales afin d'augmenter les sécrétions acides. Sa libération est régulée par une inhibition vagale, un pH bas et par divers polypeptides de régulation tels que la secrétine, la somatostatine, ... Les principaux facteurs déclenchant sa libération sont une distension de l'estomac et une stimulation vagale.

Lors de parasitisme de la caillette, le pH augmente fortement et entraîne alors une augmentation du taux de gastrine sérique. Certains auteurs suggèrent que le parasite lui-même puisse stimuler les cellules G, avant d'agir via l'augmentation du pH.

#### ❖ Réalisation

Elle nécessite le recours à des radioéléments et ne peut donc être pratiquée que par un nombre très réduit de laboratoire.

#### ❖ Interprétation

Chez les bovins, les taux sanguins physiologiques se situent entre 100 et 200 pg/ml. Lors de parasitisme de la caillette, ces taux peuvent atteindre 1000 à 2000 pg/ml.

Cependant, d'autres facteurs peuvent concourir à cette augmentation, tels que la lactation, l'ulcère de la caillette, ingestion de sable, et la leucose abomasale.

#### ➤ Phosphore inorganique

Comme nous l'avons signalé, les dosages de pepsinogène et de gastrine sériques sont utilisables seulement dans le cas de parasitisme de la caillette. Il apparaît donc nécessaire de disposer d'un outil semblable pour évaluer l'intensité des lésions dues aux parasites intestinaux (tels que *C. oncophora*).

Comme énoncé dans le chapitre 1.4.3, une infestation par des nématodes intestinaux entraîne une diminution de l'absorption de nombreux nutriments, dont le phosphore. Ceci se traduit par une diminution du taux de phosphates inorganiques sériques.

Evidemment, cette diminution survient quelle que soit la cause de la malabsorption et n'est donc pas réellement spécifique de la présence de nématodes intestinaux.

Son utilisation est encore uniquement expérimentale, car les données manquent pour établir des seuils d'interprétation.

## **2 ARSENAL THERAPEUTIQUE DISPONIBLE**

### **2.1 Principes actifs**

Il existe 4 familles principales d'anti-parasitaires actifs sur les strongles gastro-intestinaux des bovins (cf tableau 2):

### **2.1.1 Les benzimidazoles et guanidines**

Leur mode d'action essentiel est l'inhibition de la polymérisation de la  $\beta$ -tubuline en micro-tubules. Ils agissent également en inhibant la fumarate réductase, enzyme impliquée dans la chaîne de fermentation du glucose chez le parasite, et en perturbant l'activité des cellules absorbantes du tube digestif. Il y a alors épuisement énergétique du parasite.

### **2.1.2 Les tétrahydropyrimidines et les dérivés de l'imidazothiazole**

Ils inhibent l'acétylcholinestérase et excitent les terminaisons nerveuses cholinergiques, provoquant la paralysie du parasite.

### **2.1.3 Les avermectines-milbémycines**

Dernière famille apparue parmi les quatre, elle présente l'intérêt majeur de traiter également nombre de parasitoses externes chez les bovins.

Ils induisent la paralysie du parasite en provoquant une augmentation de la perméabilité membranaire aux ions chlorures au niveau de la plaque neuro-musculaire.

## **2.2 Formulations galéniques**

Plusieurs formulations galéniques sont disponibles, différentes notamment par leur facilité d'emploi (les différentes formulations disponibles pour chaque principe actif sont présentées dans le tableau 2) :

### **2.2.1 Solutions buvables**

C'est la formulation la plus couramment employée chez certaines espèces (ex : petits ruminants). Ses inconvénients majeurs sont la nécessité d'une bonne contention et une faible rémanence.

### **2.2.2 Bolus intra-ruminaux**

Cette formulation présente l'intérêt d'offrir une protection efficace pendant une longue période (90 voire 120 jours). Il en existe deux types : les bolus à libération continue et ceux à libération programmée. L'inconvénient des premiers est de ne pas laisser l'immunité se mettre en place. Là encore, une bonne contention individuelle est nécessaire. L'ivermectine a longtemps été disponible sous la forme de bolus, mais ceux-ci ont été retirés du marché en raison de leurs trop lourdes conséquences environnementales.

### **2.2.3 Pour-on**

Leur grand avantage est leur facilité d'utilisation, car une contention minimale est nécessaire, voire pas de contention du tout. En effet, certains éleveurs arrivent à traiter leurs animaux en liberté au pâturage.

### **2.2.4 Solutions injectables**

L'avantage majeur de cette voie est la précision de la dose administrée. La rémanence sera variable selon la molécule utilisée. Une contention collective est suffisante, c'est-à-dire qu'il ne sera pas nécessaire d'attraper les animaux un à un (un couloir est suffisant).

Le tableau 2 récapitule pour chaque principe actif les voies d'administration possibles, le spectre, la posologie et les délais d'attente.

Famille	Principe actif	Voie d'administration	Spectre d'action sur les strongles gastro-intestinaux	Posologie	Délai d'attente
Benzimidazoles et guanidines	Albendazole	Orale	Adultes et plupart des larves	7.5 mg/kg	Lait = interdit Viande = 10jours
	Fenbendazole	Orale	Adultes, larves (dont inhibées) et oeufs	7.5 mg/kg	Lait = 0 Viande = 8 jours
	Oxfendazole	Orale bolus	Adultes et larves (dont inhibées)	4.5 mg/kg	Lait = 0 Viande = 10jours (6 mois)
	Febantel	Orale	Adultes, larves et oeufs	7.5 mg/kg	Lait = 0 Viande = 10jours
	Netobimin	Orale	Adultes, larves, œufs Larves inhibées	7.5 mg/kg 20 mg/kg	Lait = interdit Viande = 10jours
Imidazothiazoles	Lévamisole	Orale et pour on Injectable bolus	Adultes et larves	10 mg/kg 7.5 mg/kg	Lait = 1 jour Viande = 3 jours (16 semaines)
Tétrahydro Pyrimidines	Tartrate de Morantel	Orale bolus	Adultes	20 mg/kg	Lait = 0 Viande = 0
Avermectines	Ivermectine	Pour on injectable	Adultes et larves (dont inhibées)	0.5 mg/kg 0.2 mg/kg	Lait = interdit Viande =28 jours
	Doramectine	Pour on injectable	Adultes et larves (dont inhibées)	0.5 mg/kg 0.2 mg/kg	Lait = interdit V=42 jours en SC (35 J en pour-on)
	Moxidectine	Pour on injectable	Adultes et larves (dont inhibées)	0.5 mg/kg 0.2 mg/kg	Lait = interdit V=35 jours en SC (14 J en pour-on)
	Abamectine	Injectable	Adultes et larves (dont inhibées)	0.2 mg/kg	Lait = interdit Viande = 35 jours
	Eprinomectine	Pour on	Adultes et larves (dont inhibées)	0.5 mg/kg	Lait = 0 Viande = 28 jours

TABLEAU 2 : liste des anthelminthiques et caractéristiques

« Lait = interdit » : produit interdit sur les vaches dont le lait est destiné à la consommation humaine.

### 3 CAS PARTICULIER DES AVERMECTINES

Pour des raisons de clarté et de simplicité, toutes les informations et résultats énoncés dans ce paragraphe ne concerneront que l'espèce bovine (exceptés les résultats de Marriner, 1987, obtenus sur des ovins).

#### 3.1 Généralités sur les avermectines

##### 3.1.1 Historique

La famille des avermectines regroupe plusieurs molécules (cf tableau 2) appelées lactones macrocycliques, dérivées d'une structure de 16 cycles carbonés. La première molécule commercialisée fut l'ivermectine, en 1981. Ses différents avantages, tels que son spectre large (cf infra), intéressant des parasites internes autant qu'externes, sa facilité d'utilisation (formulations injectables, pour-on), sa rémanence et son indice thérapeutique élevé, notamment chez les bovins, l'ont rendu incontournable dans la lutte contre le parasitisme. De plus, le principal inconvénient de cette famille, à savoir sa contre-indication chez les vaches laitières, a été contourné par l'arrivée sur le marché de l'éprinomectine (Eprinex®).

##### 3.1.2 Spectre d'activité (Benz et al., 1989)

###### *Endoparasites*

L'administration d'une dose d'ivermectine de 200 µg/kg de poids vif (PV) en sous-cutanée permet une réduction satisfaisante des populations d'adultes et de L4 pour les parasites suivants :

- Nématodes gastro-intestinaux : *Haemonchus placei*, *Mecistocirrus digitatus*, *Ostertagia ostertagi*, L4 en hypobiose de *O. ostertagi*, *O. lyrata*, *Trichostrongylus axei*, *T. colubriformis*, *Cooperia* spp., *Nematodirus helvetianus*, *N. spathiger*, *Stongyloides papillosus*, *Toxocara vitulorum*, *Bunostomum phlebotomum*, *Oesophagostomum radiatum*
- Nématodes pulmonaires : *Dictyocaulus viviparus*, larves en hypobiose de *D. viviparus*
- Autres nématodes : *Parafilaria bovicola*, *Thelazia* spp.

###### *Ectoparasites*

A la dose utilisée précédemment, on obtient également une activité satisfaisante sur les parasites suivants :

- Insectes : *Hypoderma bovis*, *H. lineatum*
- Poux piqueurs : *Haematopinus eurysternus*, *Linognathus vituli*, *Solenopotes capillatus*
- Acariens : *Sarcoptes scabiei* var. *bovis*, *Psoroptes ovis* et *Chorioptes bovis* en pour-on

-Tiques : aide au contrôle des *Boophilus*

### 3.1.3 Synthèse (Fisher et al., 1989)

Le produit de départ est l'abamectine (ou avermectine B<sub>1</sub>), produite par *Streptomyces avermitilis*. Par dihydrogénation de cette molécule, on obtient de l'ivermectine, soit de la 22,23-dihydroavermectine B<sub>1</sub> (H<sub>2</sub>B<sub>1</sub>). Cependant, les composés B<sub>1</sub>, existent sous deux formes, différentes par la nature du radical porté par le C26 : une forme B<sub>1a</sub>, portant un groupement éthyl, et une forme B<sub>1b</sub>, portant un groupement méthyl. Lors de la synthèse d'ivermectine, on obtient un mélange de 80% de forme H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub> et de 20% de forme H<sub>2</sub>B<sub>1b</sub>. Etant donné que ces molécules sont difficilement séparables et présentent une activité similaire, ce mélange est utilisé sous le nom générique d'ivermectine.

### 3.1.4 Mode d'action (Turner et al., 1989)

Les avermectines se fixent sur les canaux chlore au niveau de sites de liaison spécifiques, avec une affinité très forte pour les canaux Glutamate-dépendants et à un degré moindre pour les canaux GABA-dépendants. Cela entraîne une augmentation de la perméabilité membranaire aux ions chlorure et donc une hyperpolarisation des fibres musculaires, qui conduit à la paralysie des organes cibles.

## 3.2 Pharmacocinétique des avermectines

Les expérimentations ayant permis l'analyse des critères de pharmacocinétique des avermectines ont été réalisées en utilisant de l'ivermectine marquée au tritium. Les particularités de chaque molécule de la famille des avermectines ne seront pas développées pour l'instant.

### 3.2.1 Absorption (Fink et al, 1989)

Les différentes voies utilisées sont : l'injection sous-cutanée, l'administration par voie orale et le pour-on, d'abord considéré comme équivalent à une injection sous-cutanée, du fait du caractère lipophile de l'ivermectine, qui lui permet un passage transcutané. Dans le cas de l'injection IV (utilisée en expérimentation), l'absorption est complète et immédiate.

*Voie SC :*

L'absorption est fonction du type de solvant employé, et notamment de son ratio L/H (caractère lipophile / caractère hydrophile). Avec un solvant aqueux, la fraction biodisponible relative par rapport à la voie intra-veineuse est de 55%, contre 41% pour un solvant mixte

solution aqueuse - « formal glycerol ». Le pic de concentration est également plus rapide avec le solvant aqueux qu'avec le solvant modifié.

Dans la spécialité commercialisée, le solvant employé est un solvant huileux, afin d'augmenter la rémanence du produit.

*Voie Orale* : (Marriner et al., 1987)

L'absorption est nettement plus rapide par la voie orale (Tmax = 16.4 h contre 60 pour la SC). Cependant, la concentration maximum atteinte est inférieure (Cmax = 22 ng/ml contre 30.8) ainsi que l'AUC (2039 ng.h/ml contre 5718). La fraction biodisponible est donc nettement inférieure par voie orale que par injection SC (biodisponibilité relative voie orale/voie SC = 40%).

### 3.2.2 Distribution

Les niveaux totaux de résidus radioactifs (en ng/kg) après injection d'ivermectine en SC sont présentés dans le tableau 3:

<i>Jours après traitement</i>	<i>7</i>	<i>14</i>	<i>21</i>	<i>28</i>
Caillette	44	17	10	1
Intestin grêle	22	5	6	1
Bile	273	54	22	1
Rein	68	6	7	2
Poumon	66	12	4	1
Muscle	23	2	4	0
Encéphale	4	1	0	0
Plasma	45	11	6	3
Graisse	270	83	69	29
Moelle osseuse	92	21	23	9
<b>Site d'injection</b>	<b>70</b>	<b>28</b>	<b>33</b>	<b>39</b>

*TABLEAU 3 : distribution des résidus (en ng/kg) après injection par voie sous-cutanée d'ivermectine à des veaux mâles à la dose de 300 µg/kg, d'après Chiu et Lu (1989)*

On peut observer tout d'abord le grand volume de distribution de l'ivermectine, qui se répartit en quantité importante dans le secteur tissulaire comparativement au secteur plasmatique. Les

principaux sites de distribution sont le foie et la graisse. Cette forte accumulation dans le tissu adipeux, d'où elle est libérée progressivement, ainsi que la forte persistance au site d'injection, permettent notamment d'expliquer la forte rémanence de cette molécule. On remarque également la très faible distribution dans l'encéphale, à mettre en relation avec la grande innocuité de ce produit chez les bovins.

### 3.2.3 Métabolisme

#### *Dans le foie*

Les principaux métabolites hépatiques chez les bovins sont le 24-hydroxyméthyl-H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub> et le 24-hydroxyméthyl-H<sub>2</sub>B<sub>1b</sub>. On retrouve également en grand nombre un mono-saccharide du 24-hydroxyméthyl-H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub>, le 24-hydroxyméthyl-H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub>-MS. Ces 3 métabolites polaires représentent plus de 50% du total des métabolites présents dans le foie des bovins. Le reste est un mélange complexe de métabolites mineurs présents en faibles concentrations. Le tableau 4 présente l'évolution du pourcentage de résidus sous forme parentale présents dans le foie au cours du temps.

Cependant, la part de molécules parentales dans la totalité des résidus après injection SC reste supérieure à 50% pendant au moins 14 jours.

Le temps de demi-vie dans le foie est de 4.8 jours pour les résidus totaux.

Temps (jours)	Résidus totaux (en ng/kg)	Pourcentage des résidus totaux		
		H <sub>2</sub> B <sub>1a</sub>	H <sub>2</sub> B <sub>1b</sub>	Total des résidus sous forme parentale
7	622 ± 223	56	7.7	63.7
14	104 ± 43	49	3.4	52.4
21	48 ± 17	36	3.9	39.9
28	31 ± 18	37	2.5	39.5

TABLEAU 4 : résidus radioactifs totaux (en ng/kg) et H<sub>2</sub>B<sub>1</sub> présents dans le foie de veaux mâles ayant reçu une injection sous-cutanée de 300 µg/kg d'ivermectine tritiée, d'après Chiu et Lu (1989)

#### *Dans le tissu adipeux*

Les molécules parentales représentent au moins 50% des résidus totaux durant les 14 jours qui suivent l'injection SC. Le tableau 5 présente l'évolution du pourcentage de résidus sous forme parentale présents dans le tissu adipeux au cours du temps. Le pourcentage décroît ensuite

plus vite que dans le foie. Le temps de demi-vie des résidus totaux est de 7.6 jours dans le tissu adipeux.

Temps (jours)	Résidus totaux (en ppb)	Pourcentage des résidus totaux		
		H <sub>2</sub> B <sub>1a</sub>	H <sub>2</sub> B <sub>1b</sub>	Total des résidus sous forme parentale
7	220 ± 58	61	5.9	66.9
14	88 ± 6	50	2.3	52.3
21	45 ± 21	18	0.9	18.9
28	33 ± 9	18	1.1	19.1

TABLEAU 5 : résidus radioactifs totaux (en ng/kg) et H<sub>2</sub>B<sub>1</sub> présents dans le tissu adipeux de veaux mâles ayant reçu une injection sous-cutanée de 300 µg/kg d'ivermectine tritiée, d'après Chiu et Lu (1989)

Un groupe de métabolites non polaires de structure proche représente la majorité des métabolites présents dans le tissu adipeux (60 à 70 %). Un traitement par saponification, ou par action d'une cholestérol-estérase, de ces métabolites produit des métabolites dont le profil chromatographique est très proche de celui des métabolites polaires hépatiques. L'ensemble de ces résultats a conduit à l'hypothèse selon laquelle les métabolites polaires de l'ivermectine produits dans le foie sont estérifiés en esters d'acides gras et accumulés dans le tissu adipeux sous forme de métabolites non polaires.

### 3.2.4 Élimination (Halley et al., 1989)

Les profils d'excrétion fécale et urinaire de l'ivermectine sont présentés dans le tableau 6. La voie d'élimination prépondérante de l'ivermectine est l'excrétion fécale. L'élimination urinaire varie entre 0.5 et 2 % selon la voie utilisée.

Les principaux composants retrouvés dans les fèces sont les molécules parentales, auxquelles s'ajoutent des métabolites polaires variés ainsi que des molécules apparentées à l'ivermectine. Il apparaît donc nécessaire de s'interroger sur les éventuelles conséquences de ce rejet.

voie	Dose administrée	Pourcentage de la dose excrétée		Pourcentage des composants intervenant dans la radioactivité		
		urine	fèces	Ivermectine	Métabolites polaires	Molécules apparentées
SC	300 µg/kg	1.5	62	39-45	54	5
IR	300 µg/kg	0.5	80	ND	ND	ND

TABLEAU 6 : Profils d'excrétion et composition des résidus radioactifs dans les matières fécales et l'urine de bovins traités avec de l'ivermectine tritiée pendant les 7 jours suivant le traitement, d'après Halley et al. (1989)

### 3.2.5 Récapitulatif

On retiendra principalement de cette étude les caractéristiques suivantes :

- L'ivermectine est une molécule à caractère lipophile marqué, ce qui entraîne une distribution large dans l'organisme, une résorption lente au niveau du site d'injection et une accumulation dans le tissu adipeux, tout ceci concourant à augmenter sa durée d'action.
- Les modalités de son excrétion sont à l'origine d'une importante élimination de molécules encore actives dans le milieu extérieur par les fèces. Il est donc nécessaire de s'interroger sur les conséquences de cette élimination.

Le tableau 7 récapitule les valeurs des principaux paramètres pharmacocinétiques obtenus après injection IV de 0.2 mg/kg.

Volume de distribution	2.2 L/kg
Temps de demi-vie	2.3 jours
Aire sous la courbe	254 ng.j/ml
Clairance	0.79 L/kg/jour

TABLEAU 7 : paramètres pharmacocinétiques de l'ivermectine après injection IV de 200 µg/kg à des bovins, d'après Wilkinson et al. (1985).

### 3.2.6 Conséquences du rejet d'ivermectines dans les bouses

- ❖ Action sur la faune non-cible

Comme nous l'avons vu précédemment, le métabolisme des avermectines entraîne une élimination fécale importante de molécules parentales, donc actives. Ces molécules actives sont donc susceptibles d'exercer leur activité une fois rejetées dans le milieu extérieur. Elles ont alors une action reconnue sur :

- l'écosystème aquatique, où l'on observe une faible toxicité envers une algue d'eau douce nommée *Chlorella pyrenoidosa*, ainsi qu'une toxicité plus marquée envers certains organismes animaux (*Salmo gairdneri*, *Daphnia magna*) (Halley, 1989). Cependant, la contamination des milieux aquatiques n'est ni très fréquente ni très importante en terme d'intensité.
- L'écosystème prairial (cf infra)

Les avermectines engendrant, de par leur utilisation, majoritairement un risque pour l'écosystème prairial, nous nous intéresserons par la suite à cet unique aspect de leur écotoxicité.

#### ❖ Action sur l'écosystème prairial

La faune présente dans les bouses de ruminants est principalement constituée d'insectes coprophages (coléoptères et diptères) et d'annélidés (Lumaret, 2002). La part des coléoptères (« scarabées ») est plus importante dans les régions chaudes et sèches, tandis que celle des annélidés (« vers de terre ») est plus importante dans les régions plus tempérées.

L'activité de cette faune permet la dégradation des bouses, associée à d'autres facteurs physiques, tels que la pluie, le froid, la neige, ou éventuellement l'action d'oiseaux ou de petits mammifères. Dans les régions tropicales, la dégradation des bouses est essentiellement le fruit de l'activité de cette faune, du fait de la faible action de ces autres facteurs (surtout la pluie).

De nombreuses études ont démontré l'effet néfaste des avermectines (principalement de l'ivermectine) sur la colonisation des bouses d'animaux traités par ces coprophages.

Cependant, cet effet dépend du mode d'administration du produit :

En 1989, une étude publiée par Wall, où les bovins ont reçu un bolus libérant 40 µg/kg/jour, indique que la colonisation ne peut se faire sur les bouses collectées avant 80-100 jours post-traitement.

En 1993, une étude publiée par Barth, où les bovins ont reçu un bolus libérant 12 mg par jour, nous indique que les bouses collectées à 119 jours après traitement sont encore bien moins

colonisables par les coprophages, et surtout par les annelidés, que des bouses d'animaux non traités.

En 1993, une étude publiée par Sommer, où les bovins ont reçu une injection SC de 0.2 mg/kg, nous indique que les bouses d'animaux traités ne contiennent aucune larve vivante d'*Ontophagus gazella* (coléoptère) lorsqu'elles sont collectées à J2 et J7 post traitement, mais qu'elles en contiennent une quantité comparable à celle des bouses provenant d'animaux non traités à partir de J16. Cela peut s'expliquer par la diminution rapide de l'élimination fécale de l'ivermectine après injection SC : en effet, après injection de 0.3 mg/kg en SC, on obtient 8 µg/g de fèces à J2 puis 2.5 µg/g à J7 (Lumaret, 2002).

D'autres études ont voulu estimer la dégradation des bouses issues d'animaux traités à l'ivermectine :

Dans l'étude de Wall (1989), les bouses issues de bovins non traités ont déjà subi une forte dégradation au bout de 40 jours, tandis que celles provenant d'animaux traités sont encore solides après 100 jours sur la pâture.

Selon Lumaret (2002), l'ajout d'ivermectine (aux quantités que l'on retrouve chez un animal traité) sur les bouses entraîne une dégradation toujours incomplète après 340 jours, alors qu'elle l'est à 80 jours sans ajout d'ivermectine.

Cependant, d'autres auteurs n'ont pas relevé de différence significative dans les vitesses de dégradation entre des bouses issues d'animaux traités et des bouses provenant d'animaux non traités :

En 1988, une étude publiée par McKeand, effectuée sur des veaux au pâturage ayant reçu un traitement en pour-on à 3, 8 et 13 semaines après la mise à l'herbe, nous indique que l'évolution de la taille et du poids des bouses issues de veaux traités et de veaux non traités ne sont pas significativement différentes. Cependant, il convient d'ajouter que lors de cette expérimentation, il a plu 40 jours sur 65. Dans ces conditions, on peut supposer que la colonisation par les bousiers ne soit pas le facteur déterminant la dégradation des bouses.

Enfin, il a été démontré (Fincher, 1992 ; Lumaret, 2002) que l'ivermectine n'entraîne pas de mortalité des adultes, mais a plutôt un effet négatif sur l'émergence des adultes de la génération suivante, soit par mortalité accrue des larves, soit par une diminution de leur capacité à évoluer.

Il convient de rappeler que, parmi les avermectines, la moxidectine semble présenter un moindre impact sur la faune non-cible ; en effet, il a été reporté que l'injection SC de 0.2 mg/kg de moxidectine n'avait pas d'effet sur l'émergence d'adultes chez *Ontophagus gazella* et *Euoniticellus intermedius*, contrairement à l'ivermectine. Des résultats similaires ont été obtenus en évaluant la survie et les capacités de développement des larves de *Musca vetustissima* et *M. domestica* (Lumaret, 2002).

#### ❖ Conséquences envisageables

Elles sont principalement de deux types : sanitaire et économique.

##### *Conséquences sanitaires*

La destruction des coprophages entraîne un risque de défaut de recyclage de l'azote au sein de la prairie, et donc une possible contamination des nappes phréatiques (Lumaret, 2002).

De plus, la mauvaise dégradation des fèces est un facteur propice à la multiplication des mouches du bétail.

##### *Conséquences économiques*

Un défaut de recyclage des fèces entraîne une moindre fertilisation naturelle du sol, et donc une moindre rentabilité de la pâture.

De plus, l'accumulation des fèces non ou mal dégradées est susceptible d'augmenter le nombre de zones de refus sur la pâture, d'où, là encore, une utilisation non optimale de cette pâture.

### **3.3 Problématique du léchage**

#### **3.3.1 Rappels sur le comportement de léchage des bovins (Bralet D, 2002)**

Il existe deux types de léchage : le léchage social (ou allo-grooming) et le léchage individuel (ou self-grooming).

##### *Allo-grooming :*

Il consiste en un toilettage d'un animal par un autre. Le plus souvent, il s'effectue après que le bovin léché a sollicité le bovin lécheur, mais ce n'est pas systématique. La propension à lécher est très variable d'un individu à un autre, et les deux extrêmes sont rencontrés (Sato, 1984). De plus, les propensions à lécher et à se faire lécher sont à peu près identiques. Le rôle

de ce léchage social est le nettoyage du léché, ainsi que son apaisement. En moyenne, le léchage survient 1 à 15 fois par jour, pour une durée totale de l'ordre de 1 à 1.5 minutes. Les zones le plus souvent léchées sont les suivantes : cou, tête, dos, croupe (Sato, 1991). La fréquence des actes de léchage augmente avec l'augmentation du nombre de repas journaliers, car les bovins se font souvent lécher dans le dernier tiers d'une phase d'alimentation.

Pour une vache, les interactions s'effectuent d'abord avec sa descendance, puis avec des individus apparentés. La préférence d'une vache pour son veau ne diminue d'ailleurs pas après le sevrage ou après la naissance de veaux suivants (Reinhardt, 1981). Cependant, les vaches peuvent établir des préférences pour des animaux qui leur sont totalement non apparentés, mais ces relations préférentielles entre deux vaches sont unidirectionnelles, c'est-à-dire que la vache « préférée » d'une autre ne « préférera » pas forcément celle-là. Enfin, dans le cas des mâles, le léchage s'effectuera évidemment nettement plus sur des vaches en chaleur.

#### *Self-grooming :*

Le self-grooming concerne principalement les zones suivantes : dos, flancs, pis (Krohn, 1994). La durée moyenne de chaque séquence de léchage du dos est 2 à 3 fois supérieure pour les animaux en stabulation, mais les séquences sont moins fréquentes. Globalement, le temps total de self-grooming du dos est tout de même plus grand en stabulation libre, alors qu'il n'est pas modifié pour les autres parties du dos selon le type de logement.

En conclusion, le léchage chez les bovins a un rôle majeur, tant hygiénique que social et comportemental. Il ne peut donc être négligé, mais ne peut pas non plus être prévu, tant son apparition et son intensité sont aléatoires.

### **3.3.2 Premières interrogations sur les pour-on**

En 1996, une étude publiée par Herd et al. compare les concentrations fécales et plasmatiques d'ivermectine après administration pour-on, injection SC ou bolus.

Les cinétiques plasmatiques et fécales de l'ivermectine sont présentées dans les figures 9a et 9b.

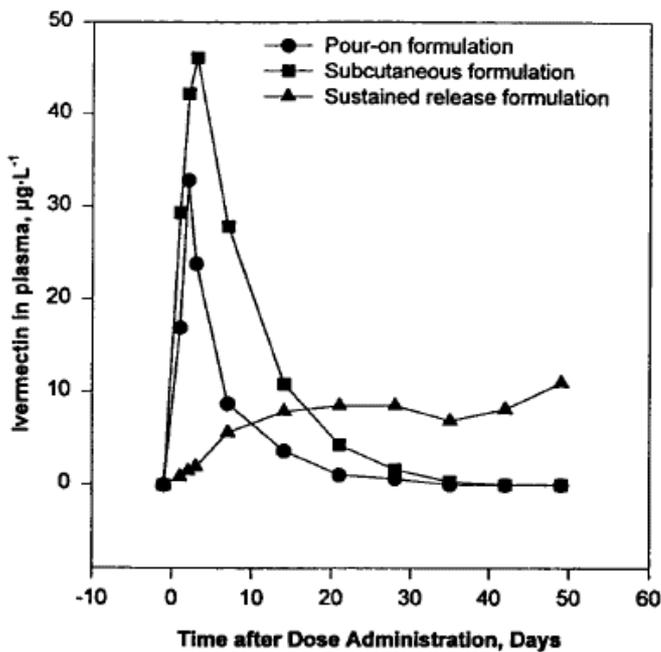


FIGURE 9a

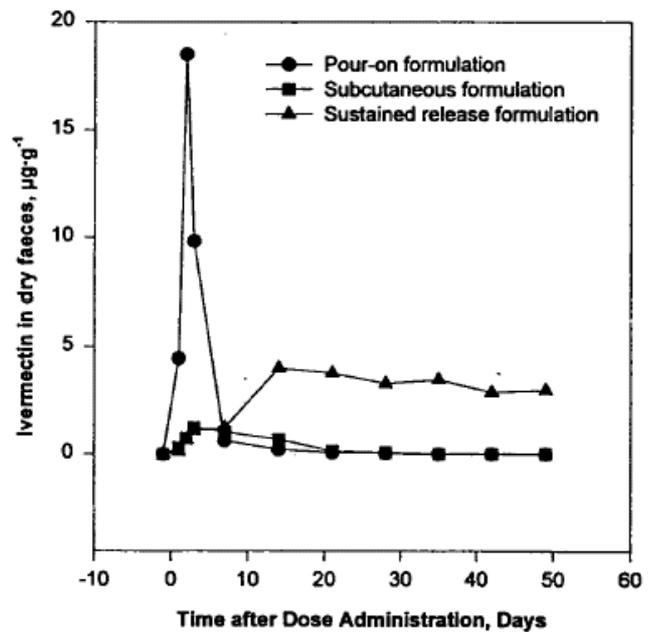


FIGURE 9b

FIGURE 9a : cinétique plasmatique de l'ivermectine après injection sous-cutanée (0.2 mg/kg), application en pour-on (0.5 mg/kg) et administration d'un bolus relarguant 12.7 mg/j pendant 135 jours, d'après Herd et al., 1996.

FIGURE 9b : cinétique fécale de l'ivermectine après injection sous-cutanée (0.2 mg/kg), application en pour-on (0.5 mg/kg) et administration d'un bolus relarguant 12.7 mg/j pendant 135 jours, d'après Herd et al., 1996.

Dans les 3 jours suivant le traitement, on observe des concentrations fécales supérieures chez les animaux traités en pour-on, alors que les concentrations plasmatiques sont supérieures chez les animaux traités en SC. Ce résultat est tout à fait surprenant, si l'on suppose que la concentration plasmatique d'ivermectine est la seule force motrice de l'excrétion fécale.

En 1999, une étude publiée par Williams et al. compare les diminutions d'excrétion fécale d'œufs de strongles (en opg) sur des animaux traités avec 4 lactones macrocycliques (ivermectine, moxidectine, doramectine, eprinomectine) et sur un groupe d'animaux non traités. Chaque groupe de traitement est mélangé sur 5 pâtures séparées. De façon surprenante, les animaux non traités voient leurs opg diminuer significativement après le traitement des autres animaux, avec une moyenne arithmétique passant de 193.7 opg (J0) à

96.8 opg (J7). Selon l'auteur, le fait que les diminutions d'opg aient été relativement homogènes chez les non traités rendait l'hypothèse de léchage peu probable, et il attribua plutôt ce phénomène à un changement de fourrage et à une bonne réponse immunitaire des animaux.

L'apparente contradiction entre les cinétiques d'ivermectine plasmatiques et fécales (Herd, 1996), ainsi que l'observation d'un « effet anti-parasitaire » chez des bovins théoriquement non traités, ont conduit certains auteurs à explorer l'éventualité d'une interaction entre le comportement de léchage et la cinétique de l'ivermectine administrée en pour-on.

### 3.3.3 Mise en évidence de l'interaction entre léchage et formulation pour-on (Laffont et al., 2001)

Une étude menée à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse a comparé les profils de concentrations plasmatiques et fécales d'ivermectine après administration en IV (200 µg/kg) puis en pour-on (500 µg/kg) sur deux groupes de 6 bovins : un groupe de bovins à l'attache, équipé de colliers en bois les empêchant de se lécher, et sans voisins immédiats, et un groupe de bovins pouvant se lécher et lécher ses deux voisins immédiats. Les valeurs moyennes des paramètres pharmacocinétiques furent les suivantes :

paramètres	Lécheurs (n=6)		Non-lécheurs (n=6)	
	IV	Pour-on	IV	Pour-on
T <sub>1/2</sub> (h)	137 ± 2.7	154 ± 7.4	144 ± 3.0	363 ± 16.2
AUC (ng.h/mL)	18429 ± 3652	14283 ± 6424	18749 ± 3036	9146 ± 3078
Cl <sub>totale</sub> (mL/kg/j)	274 ± 68.8	-	264 ± 47.4	-
F (%)	-	33 ± 18.5	-	19 ± 4.9
C <sub>max</sub> (ng/mL)	-	39 ± 20.9	-	16 ± 6.4
T <sub>max</sub> (j)	-	147 ± 43.6	-	191 ± 15.2

TABLEAU 8 : Paramètres pharmacocinétiques (moyenne ± SD) de l'ivermectine suite à l'administration d'ivermectine aux 6 bovins « lécheurs » et à leurs 6 jumeaux « non-lécheurs » ; T<sub>1/2</sub> : temps de demi-vie plasmatique, AUC : aire sous la courbe des concentrations plasmatiques, Cl<sub>totale</sub> : clairance plasmatique, F : fraction biodisponible, C<sub>max</sub> : concentration plasmatique maximale, T<sub>max</sub> : temps correspondant à C<sub>max</sub>.

Les principales observations sont les suivantes :

- Chez les lécheurs, la clairance fécale après administration pour-on a été supérieure à la clairance plasmatique totale. Ces résultats démontrent qu'une large fraction de l'ivermectine éliminée dans les fèces ne provient pas du plasma. Cette fraction représente 57 % de la dose administrée. Chez les non-lécheurs, les clairances fécales sont similaires après administrations pour-on et IV, ce qui permet de conclure qu'une quantité importante de l'ivermectine administrée par voie topique est en réalité ingérée par les « lécheurs ». Cependant, il est impossible de savoir si cette absorption provient majoritairement d'un auto-léchage (self-grooming) ou du léchage d'un voisin (allo-grooming).
- L'absorption chez les lécheurs a été plus rapide que chez les non-lécheurs, ce qui implique que l'absorption au travers de la peau est un processus extrêmement lent.
- La biodisponibilité systémique a été plus forte chez les lécheurs, ce qui indique qu'une part significative de la quantité ingérée par léchage a été absorbée à partir du tube digestif.
- La prévention du léchage a entraîné une réduction importante de la quantité d'ivermectine excrétée dans les fèces.

### **3.3.4 Mise en évidence d'un transfert d'endectocides entre individus**

(Bousquet-Mélou et al., 2004)

Les auteurs ont évalué l'importance du transfert de principes actifs entre bovins suite à l'administration d'avermectines-milbemyzines (Doramectine, Ivermectine et Moxidectine) en pour-on. Pour ce faire, quatre lots de deux bovins ont été constitués ; chaque lot a reçu une avermectine différente, excepté le lot contrôle qui n'a rien reçu. Les quatre lots furent ensuite placés sur une même pâture. Les concentrations plasmatiques et fécales de chaque molécule furent suivies pendant une période de 48 jours.

- Chez tous les animaux, au moins une molécule non administrée a été détectée dans le plasma et les fèces
- Chez les deux animaux témoins (donc non traités), les trois molécules furent détectées, le cumul des trois molécules ingérées chez ces deux animaux représentant 21.6 % et 27.4 % d'une dose en pour-on.
- Les quantités totales de Doramectine, d'Ivermectine et de Moxidectine ingérées par des animaux non traités représentèrent respectivement 29 %, 19 % et 8.6 % de la quantité totale de produit administré.

Ces observations démontrent sans ambiguïté l'existence d'un transfert d'ivermectines après administration pour-on, dont les conséquences sont multiples : variabilité de la dose absorbée avec risque de sous-dosage, contamination possible d'animaux non traités.

Comme énoncé précédemment, le léchage entre individus entraîne un risque de sous-dosage, soit pour l'animal traité qui se fait lécher, soit pour un animal non traité qui absorberait par léchage une dose conduisant à des concentrations sub-thérapeutiques d'ivermectine. La question se pose alors d'une apparition éventuelle de populations de nématodes résistants chez ces animaux.

Il est donc nécessaire d'effectuer un rapide état des lieux de la situation en terme de résistances aux anthelminthiques, et de voir quelles sont les perspectives qui en découlent pour la lutte contre les nématodes gastro-intestinaux.

### **3.4 Résistance aux anthelminthiques**

#### **3.4.1 État des lieux dans le monde**

Le premier cas rapporté de résistance de nématodes aux ivermectines fut décrit en 1988, en Afrique du Sud, sur des petits ruminants (Kaplan, 2004). Depuis, le nombre de cas ne cesse de grandir, même si pour l'instant les résistances aux ivermectines sont nettement moins fréquentes que pour d'autres familles d'anthelminthiques. En particulier, les résistances aux benzimidazoles sont très fréquentes dans certaines parties du globe, comme par exemple dans les Antilles françaises, où la totalité des élevages caprins étudiés en 1997 présentaient de la résistance aux benzimidazoles (Jacquiet, 2004). Cependant, toutes les familles d'anthelminthiques sont concernées par le problème : chez le mouton et la chèvre, l'espèce *Haemonchus contortus* a réussi à développer des résistances aux cinq familles d'anthelminthiques et certaines populations, notamment en Afrique du sud, ne peuvent plus être contrôlées par la voie chimique. On a également trouvé des populations de *Teladorsagia circumcincta* multirésistantes en Nouvelle-Zélande.

Chez les bovins, le problème est pour l'instant moins important ; pour autant, des populations de *Cooperia spp.*, *Haemonchus placei*, *Ostertagia ostertagi* et *Trichostrongylus axei* ont déjà montré de la résistance aux benzimidazoles. La résistance au lévamisole est décrite chez *H. placei* et *O.ostertagi*. La résistance aux ivermectines n'a pour l'instant été observée que sur le genre *Cooperia*, principalement dans l'hémisphère Sud (Afrique du sud, Nouvelle-Zélande)

mais également, pour la première fois en Europe, en Angleterre, durant l'année 2001 (Coles et Al., 2001).

### **3.4.2 Mécanismes de sélection et de diffusion de la résistance (Jacquet, 2004)**

#### *Mode d'élevage*

Les modes d'élevage influent sur la dynamique des populations de strongles gastro-intestinaux en soumettant ou en soustrayant plus ou moins la fraction la plus jeune du troupeau aux larves infestantes sur les pâtures, ce qui augmentera ou diminuera la pression parasitaire et modifiera donc le nombre de traitements annuels nécessaires.

#### *Introduction*

L'émergence de résistances dans un élevage peut simplement être la conséquence de l'introduction d'un animal porteur de vers résistants.

#### *Administration de l'anthelminthique*

Deux pratiques favorisent la résistance :

- L'emploi fréquent, voire systématique, de la même famille de molécules.
- Le sous-dosage, qui est tout particulièrement fréquent en espèce caprine, du fait des extrapolations de posologie du mouton à la chèvre, qui sont souvent faites sans tenir compte des différences de métabolisme et d'élimination des xénobiotiques, notamment dans le cas des avermectines.

#### *Notion de refuge*

A chaque fois qu'un traitement est administré, une fraction de la population parasitaire n'y est pas soumise ; on dit qu'elle se trouve dans un « refuge ». Cette fraction est constituée des formes de vie libre et d'une proportion plus ou moins importante des L4 chez l'hôte, selon l'antiparasitaire utilisé (cf Tableau 2). Plus la population dans un refuge est élevée, plus la contribution des allèles de résistance à la génération suivante sera diminuée.

### **3.4.3 Mécanismes de résistances aux avermectines**

Des études génétiques de populations d'*H. contortus* ont montré une association entre l'expression de gènes de la P-glycoprotéine et l'acquisition de résistance aux avermectines (Wolstenholme, 2004). Cette protéine pourrait intervenir en permettant une excrétion plus rapide de la molécule par le nématode.

L'autre hypothèse principale met en jeu des mutations sur les gènes codant pour les récepteurs au GABA et au Glutamate des canaux chlore (cf chap. 3.1.4) (Wolstenholme, 2004).

L'accroissement du nombre de nématodes résistants à certaines familles d'anthelminthiques et du nombre de molécules concernées font du traitement antiparasitaire un acte qui relève plus que jamais de la prescription raisonnée et non du simple traitement « de routine ».

**DEUXIEME PARTIE**  
**ETUDE EXPERIMENTALE**

# 1 OBJECTIFS

Suite à la mise en évidence des conséquences du comportement de léchage sur l'absorption de l'ivermectine pour-on (Laffont, 2001), et sur les possibilités de transfert d'endectocides entre animaux (Bousquet-Mélou, 2004), nous avons voulu observer les conséquences de ce phénomène sur les populations parasitaires d'un groupe d'animaux traités et non traités au moyen d'une application pour-on d'ivermectine. Les parasites étudiés ont été *O.ostertagi* et *C.oncophora*.

Les travaux présentés dans cette thèse ont été réalisés grâce à une collaboration entre l'UMR INRA/ENVT 181 Physiopathologie et Toxicologie Expérimentales, l'UMR INRA/ENVT 1225 Interactions Hôtes-Agents Pathogènes et l'UR INRA 66 Pharmacologie et Toxicologie. Ce projet a été soutenu par un financement de la Région Midi-Pyrénées (Appel d'Offre 2002-2003).

## 2 MATERIELS ET METHODES

### 2.1 Matériels

#### 2.1.1 Animaux

L'expérimentation comprenait 10 bovins de sexe femelle.

Neuf d'entre elles sont arrivées à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT) le 14 mars 2003 et étaient de race Prim Holstein. La dixième, de race Limousine, est arrivée à l'ENVT le 05 avril 2003.

L'âge des animaux à leur arrivée était de 95 à 221 jours.

Le poids de chaque animal a été contrôlé régulièrement (environ tous les quinze jours). Le poids moyen des animaux était de 201 kg le 07 avril 2003 (date de première pesée) et de 293 kg le 23 juillet 2003 (date de dernière pesée), ce qui équivaut à un GMQ moyen de 0.92 kg.

### **2.1.2 Hébergement et soin des animaux**

Tous les animaux ont reçu à leur arrivée une administration d' Oxfendazole (Synanthic ND) à la posologie de 5 mg/kg par voie orale. Ils ont été maintenus sur une parcelle de terre battue, afin de limiter les possibilités de recyclage des strongles lors du déroulement de l'expérimentation. Durant toute la durée de celle-ci, les possibilités de contacts entre bovins furent proches de celles qui existent en élevage.

Leur ration quotidienne était composée de foin à volonté distribué au râtelier, de 2 kg de concentré TONIFORME<sup>®</sup> et de 50 g d'AMV Cristal 14/14 SE<sup>®</sup> semoulette, tous deux distribués dans une auge située sur la parcelle.

Des traitements à visée thérapeutique ont été utilisés si nécessaire, mais uniquement après accord du directeur de l'étude.

Un des bovins de l'expérimentation est mort dans la nuit du 19 au 20 juin 2003. Son autopsie à l' ENVT a abouti à la conclusion suivante : broncho-pneumonie interstitielle d'extension marquée et d'évolution aiguë. Les autres bovins n'ont jamais présenté de signes cliniques de broncho-pneumonies.

Pour la réalisation des différents prélèvements, les bovins étaient rentrés dans un hangar attenant à la parcelle et attachés dans des stalles individuelles, permettant une contention et une manipulation faciles des animaux, puis relâchés immédiatement afin de limiter au minimum les possibilités de léchage entre bovins.

### **2.1.3 Principe actif**

La spécialité Ivomec<sup>®</sup> pour-on bovin (Merial) a été utilisée. Il s'agit d'une solution à 0.5 % d'ivermectine (22-23 dihydroavermectine B<sub>1a</sub>) dont la formulation permet une application topique.

Les flacons ont été stockés à température ambiante et à l'abri de la lumière.

La posologie utilisée a été celle prévue par l'AMM, soit 0.5 mg/kg, ce qui représente 1 mL pour 10 kg de poids vif.

## 2.2 Protocole expérimental

### 2.2.1 Infestation des animaux

Les bovins ont été infestés le 07 avril 2003 dans l'après-midi par voie orale avec 20 000 L3 d'*O.ostertagi* et 20 000 L3 de *C.oncophora*.

### 2.2.2 Traitement

L'application d'Ivomec<sup>®</sup> a été réalisée sur quatre bovins, choisis de façon aléatoire, après randomisation du poids et du dernier résultat de coproscopie, le 12 mai 2003, soit 35 jours après l'infestation.

L'expérimentation a donc été composée de trois phases principales, qui sont résumées dans la figure 10.

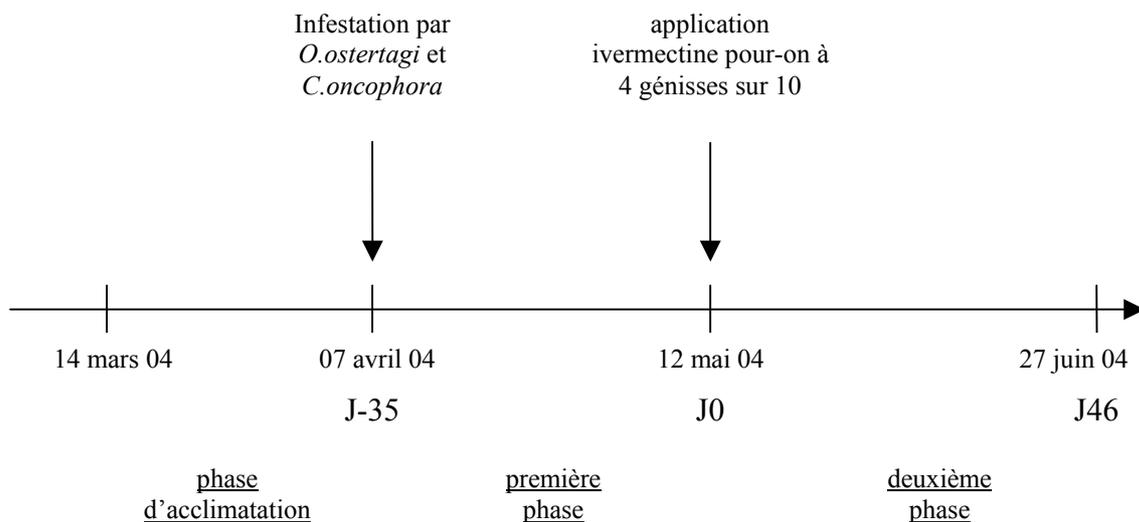


FIGURE 10 : chronologie du protocole expérimental.

### 2.2.3 Prélèvements réalisés

#### ➤ Fèces

Les fèces des bovins ont été prélevées aux dates suivantes :

J-56 ; J-12 ; J-7 ; J-5 ; J0 ; J1 ; J2 ; J3 ; J4 ; J5 ; J6 ; J7 ; J8 ; J9 ; J10 ; J11 ; J12 ; J13 ; J14 ; J16 ; J24 ; J27 ; J31 ; J34 ; J38 ; J41.

Tous les prélèvements réalisés l'ont été uniquement par voie rectale entre 08h00 et 09h00.

Les prélèvements furent stockés à 4°C, et analysés dans les trois heures qui suivaient le prélèvement.

#### ➤ Sang

Les prises de sang sur tubes secs utilisées pour le dosage du pepsinogène sérique ont été effectuées aux dates suivantes :

J-35 ; J-24 ; J-17 ; J-5 ; J0 ; J2 ; J5 ; J9 ; J16 ; J25 ; J32 ; J39.

Les prises de sang sur tubes héparinés utilisées pour le dosage de l'ivermectine plasmatique ont été effectuées aux dates suivantes :

J0 ; J1 ; J2 ; J3 ; J4 ; J5 ; J6 ; J7 ; J8 ; J9 ; J10 ; J11 ; J12 ; J13 ; J14 ; J16 ; J22 ; J25 ; J29 ; J32 ; J36.

Les prises de sang ont toutes été réalisées à la veine jugulaire, entre 08h00 et 09h00. Les tubes furent refroidis et centrifugés dans la demi-heure qui suivait. Des fractions aliquotes (trois pour le dosage d'ivermectine et deux pour le dosage de pepsinogène) ont été prélevées dans des tubes Eppendorf, puis congelées immédiatement à -20°C, jusqu'à l'analyse.

## 2.3 Analyses

### 2.3.1 Coproscopies

Les coproscopies ont été réalisées sur lame de Mac-Master (Méthode de Mac-Master modifiée de Raynaud, 1970), en utilisant une solution de NaCl concentrée de façon à obtenir une densité de 1.20.

Les principales étapes de l'analyse sont reprises dans l'annexe 1.

### 2.3.2 Coprocultures et diagnose des larves

Après l'examen coproscopique, un échantillon de chaque prélèvement fut conservé à température ambiante et dans des conditions d'humidité suffisantes pendant 10 jours. Les larves furent ensuite extraites en utilisant la méthode de Baerman, afin de réaliser un comptage des larves de chaque genre (*Ostertagia* ou *Cooperia*).

La diagnose se fit en premier lieu sur la taille et la forme de la queue (plus longue et effilée chez *Cooperia* que chez *Ostertagia*), puis lorsque ce premier critère ne permettait pas de conclure, sur la présence ou non de corps réfringents sur la partie antérieure de l'œsophage, caractéristiques du genre *Cooperia*.

### **2.3.3 Dosage du pepsinogène**

Le dosage du pepsinogène fut effectué selon la méthode de Kerboeuf (Kerboeuf, 1979) (cf chap. « outils diagnostiques ») dont les principales étapes sont reprises dans l'annexe 2.

### **2.3.4 Dosage de l'ivermectine plasmatique**

Les concentrations d'ivermectine (22-23 dihydroavermectine B<sub>1a</sub>) du plasma ont été mesurées en utilisant une technique HPLC (Alvinerie et al., 1987). La limite de détection était de 0.05 ng/mL.

### **2.3.5 Calcul des différents paramètres**

Les AUC d'opg et de concentrations plasmatiques d'ivermectine ont été calculées en utilisant la méthode des trapèzes. Celle-ci consiste à approcher l'AUC par une somme de rectangle de largeur  $X_n - X_{n-1}$  et de hauteur  $(Y_n + Y_{n+1})/2$ , pour une courbe du type  $Y=f(X)$ .

Les paramètres C<sub>max</sub> et T<sub>max</sub> ont été observés pour chaque individu à partir des courbes de dosage d'ivermectine plasmatique.

## **3 RESULTATS**

### **3.1 Parasitologiques**

#### **3.1.1 Coproscopies**

Le récapitulatif des données brutes obtenues est présenté dans l'annexe 3.

- Intensité moyenne de l'excrétion d'œufs des deux groupes

Les moyennes des opg (Œufs Par Gramme) des deux groupes sont représentées sur la figure 11 (pour des raisons de clarté, les écarts-type ne sont pas présentés sur le graphique ; ils sont disponibles sur l'annexe 3) :

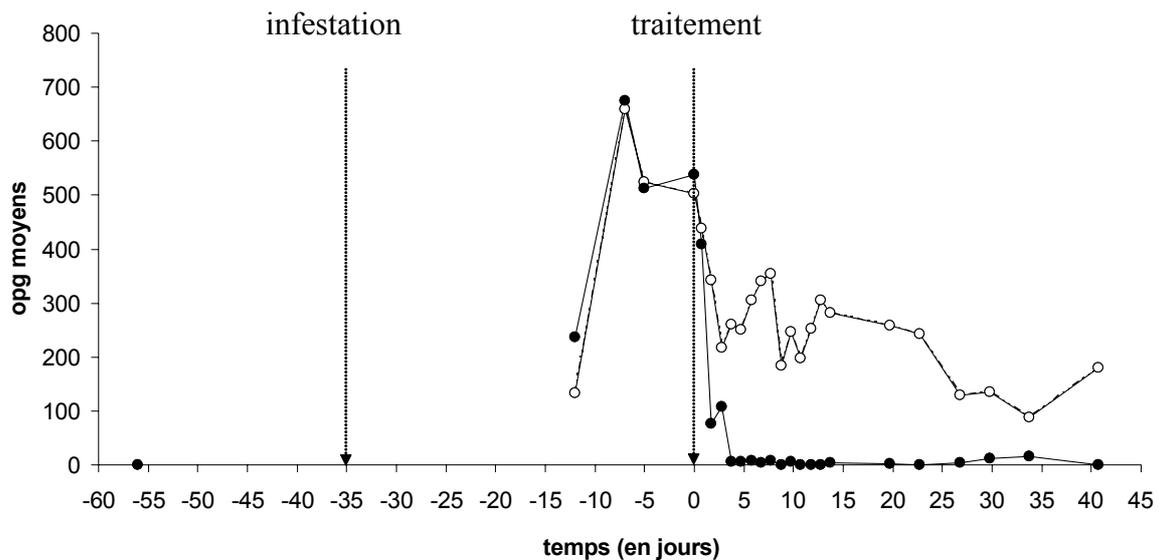


FIGURE 11 : Intensité moyenne de l'excrétion d'œufs des 4 animaux traités (symboles pleins) et des 6 animaux non traités (symboles ajourés) sur la totalité de la période d'expérimentation, J0 représentant le jour du traitement.

Les opg du groupe traité s'effondrent après le traitement pour atteindre 0 ou presque en 4 jours, alors que les animaux non traités continuent à excréter pendant le reste de l'expérimentation.

Cependant, on observe une diminution des opg avant l'application de l'ivermectine, que ce soit dans le groupe des non traités ou dans celui des traités.

- Opg individuels
  - Groupe traité

L'évolution (après traitement) des opg des 4 bovins traités est représentée sur la figure 12.

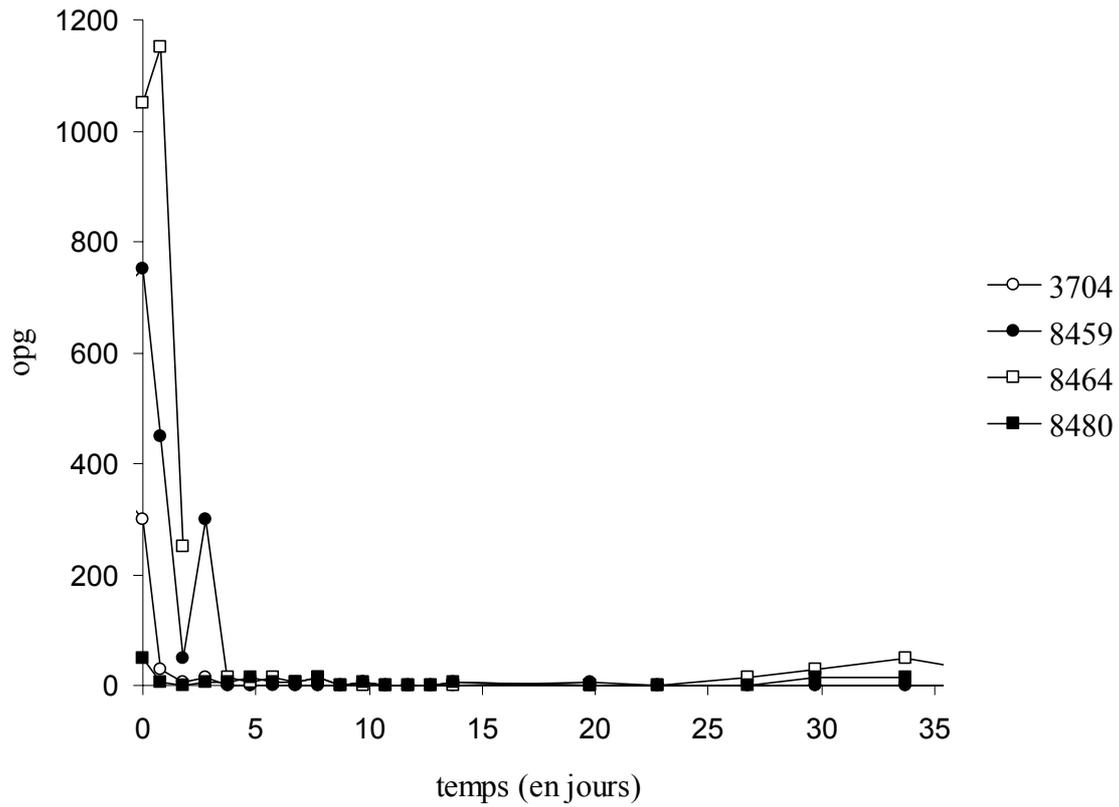


FIGURE 12 : évolution de l'excrétion d'œufs des 4 bovins traités, ayant reçu à JO une administration d'ivermectine pour-on à la dose de 0.5 mg/kg.

L'administration d'ivermectine entraîne chez tous les animaux une forte chute de la quantité d'œufs excrétés, jusqu'à atteindre 0. On observe cependant que certains animaux traités excrètent encore des œufs en quantité non négligeable 4 jours après le traitement.

- Groupe non traité

L'évolution (après traitement) des opg des 6 bovins non traités est représentée sur la figure 13.

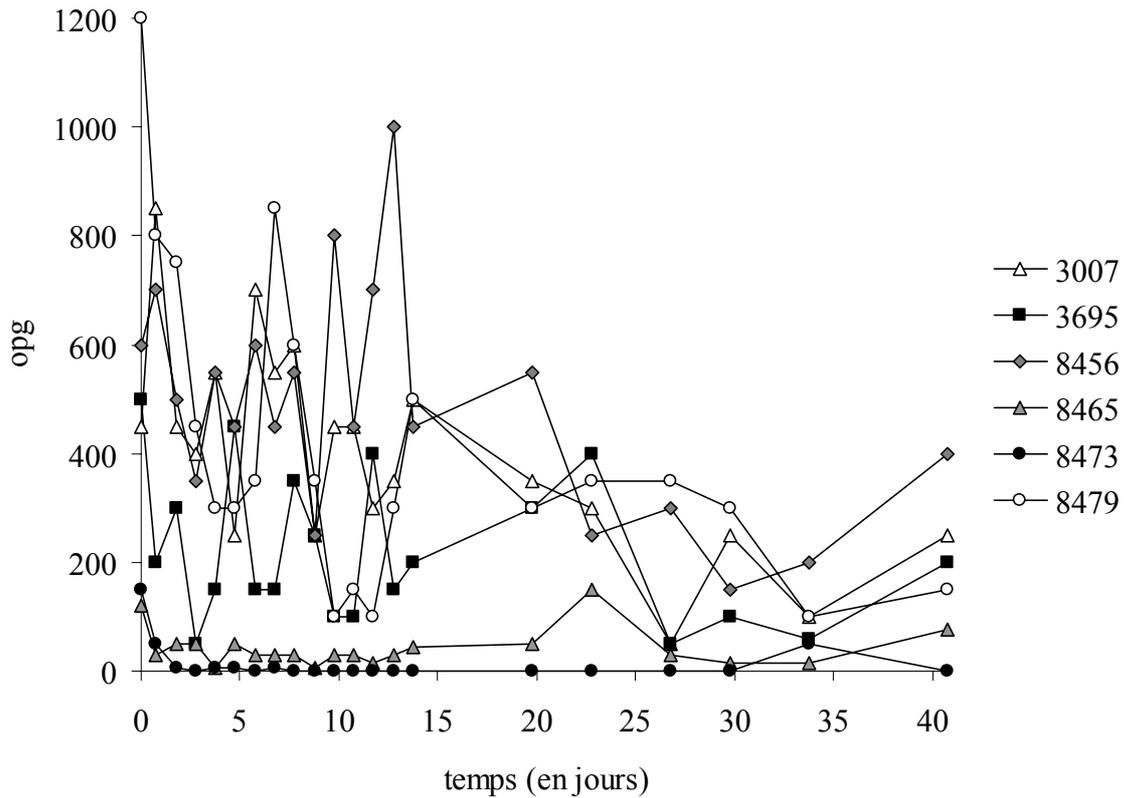


FIGURE 13 : évolution de l'excrétion d'œufs des 6 bovins non traités après traitement des 4 autres bovins, J0 représentant le jour du traitement.

La variabilité individuelle des excrétions d'œufs est très importante. On observe que les bovins 8473 et 8465 ont des profils quasiment similaires à ceux des bovins traités. Les opg du bovin 3695 semblent diminuer fortement, puis reprennent des valeurs intermédiaires jusqu'à J26. Enfin, les opg des bovins 3007, 8479 et 8456 restent à des valeurs élevées ( $\geq 250$ ) jusqu'à J30-J34.

### 3.1.2 Coprocultures

Les rendements de coproculture ont été très faibles, tant pour la première phase que pour la deuxième. On ne peut donc imputer ce résultat à la possible exposition des larves à l'ivermectine. Par conséquent, il s'est avéré nécessaire de regrouper, pour chaque bovin, les échantillons de plusieurs dates afin d'obtenir suffisamment de larves observables. Les observations ont donc porté sur les 4 périodes suivantes : du 30.04.04 au 05.05.04, du 05.05.04 au 07.05.04, du 07.05.04 au 12.05.04 et du 12.05.04 au 27.06.04. Une seule observation (la dernière) a donc été réalisée après traitement. Les données brutes de comptage des larves sont présentées dans les annexes 6 et 6 bis.

La figure 14 présente les proportions relatives d'*O.ostertagi* et de *C.oncophora*, sur les périodes « avant traitement » et « après traitement », pour les deux groupes d'animaux (traités et non traités).

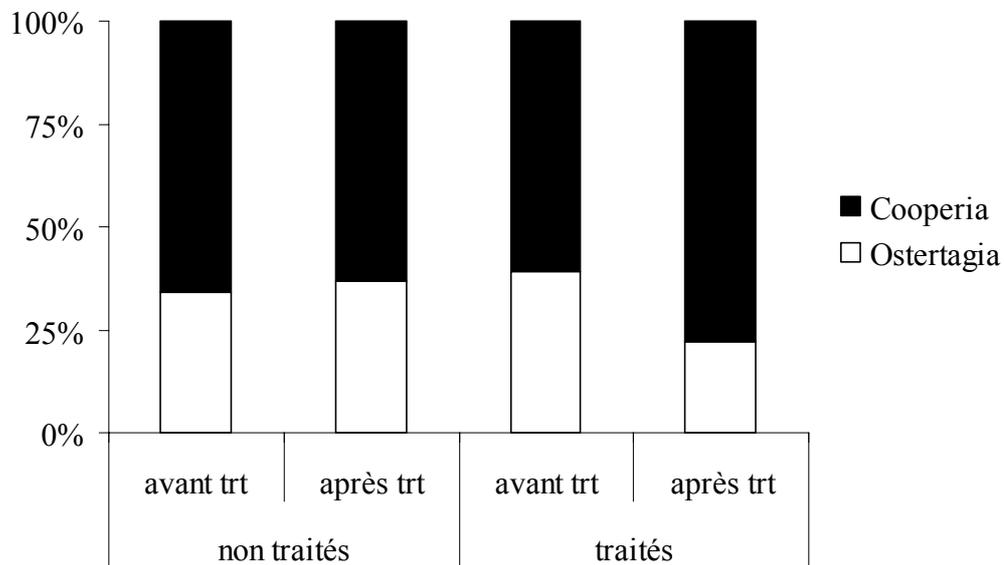


FIGURE 14 : proportions relatives d' *O.ostertagi* (en blanc) et de *C.oncophora* (en noir) après mises en coproculture des fèces prélevés sur les deux périodes, « avant traitement » et « après traitement », chez les bovins ayant reçu une administration d'ivermectine pour-on à la dose de 0.5 mg/kg (traités) et chez les bovins non traités.

Les coprocultures réalisées montrent une prédominance des larves de *C.oncophora* (proportion moyenne après réunion de tous les résultats disponibles sur la période de l'expérimentation : 64.5%).

De plus, on peut observer chez les bovins traités une nette augmentation de la proportion de *C.oncophora* après le traitement (proportion avant traitement = 61.9 ; proportion après traitement = 78).

Chez les bovins non traités, aucune différence significative n'est observée entre les deux périodes (avant et après traitement).

### 3.1.3 Pepsinogène

Le récapitulatif des données obtenues est présenté dans l'annexe 4.

Les taux moyens de pepsinogène sérique des deux groupes durant la durée de l'expérimentation (traité et non-traité) sont représentés sur la figure 15 (pour des raisons de clarté, les écarts-type ne sont pas présentés sur le graphique ; ils sont disponibles sur l'annexe 4):

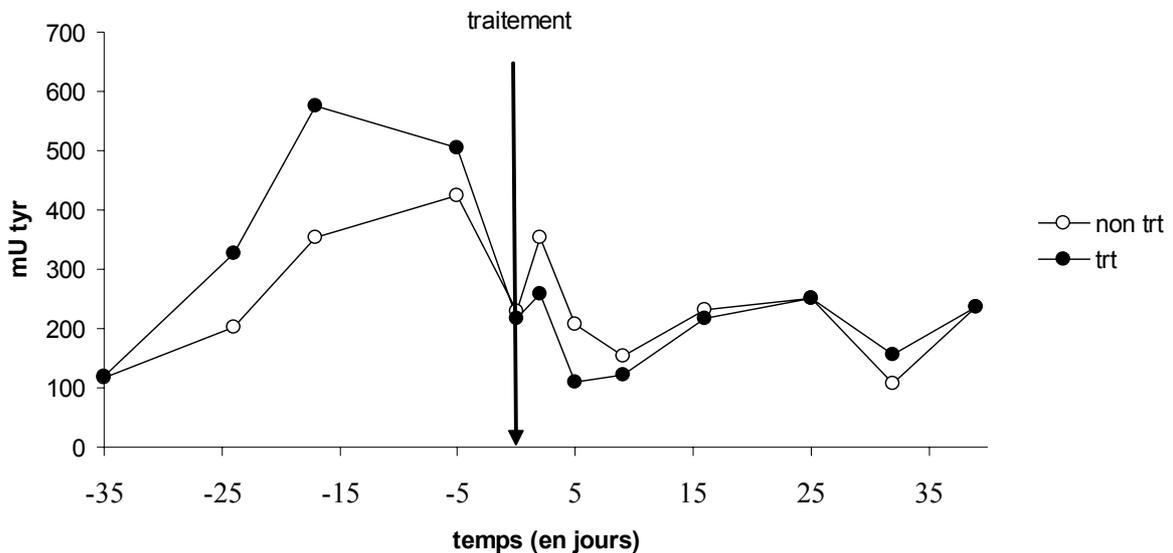


FIGURE 15 : Taux moyens de pepsinogène sanguins des 4 animaux traités (symboles pleins) et des 6 animaux non traités (symboles ajourés) sur la totalité de la période d'expérimentation, J0 représentant le jour du traitement.

Les taux de pepsinogène moyens pour chaque groupe diminuent de façon notable avant l'administration du pour-on, et sont globalement peu élevés.

De plus, la comparaison entre les groupes traités et non traités ne montre pas de différence significative. Cela peut s'expliquer par l'importante variabilité individuelle du taux de pepsinogène plasmatique, qui en fait un moyen diagnostique de troupeau et non individuel, ainsi que par les faibles valeurs obtenues lors de l'expérimentation.

### 3.2 Pharmacocinétiques

Le récapitulatif des données brutes obtenues est présenté dans les annexes 5 et 5bis.

L'évolution des concentrations plasmatiques au cours du temps sont présentés dans les figures 16.a (échelle arithmétique) et 16.b (échelle semi-logarithmique).

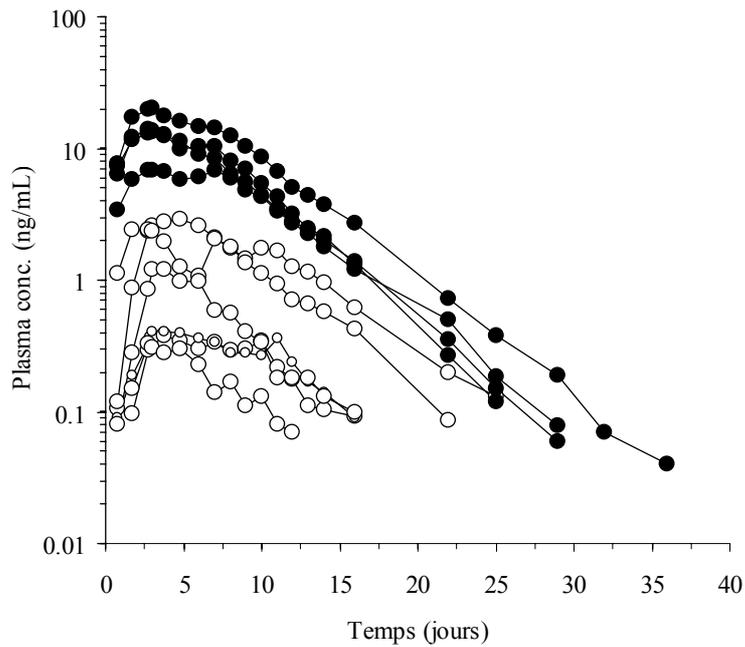
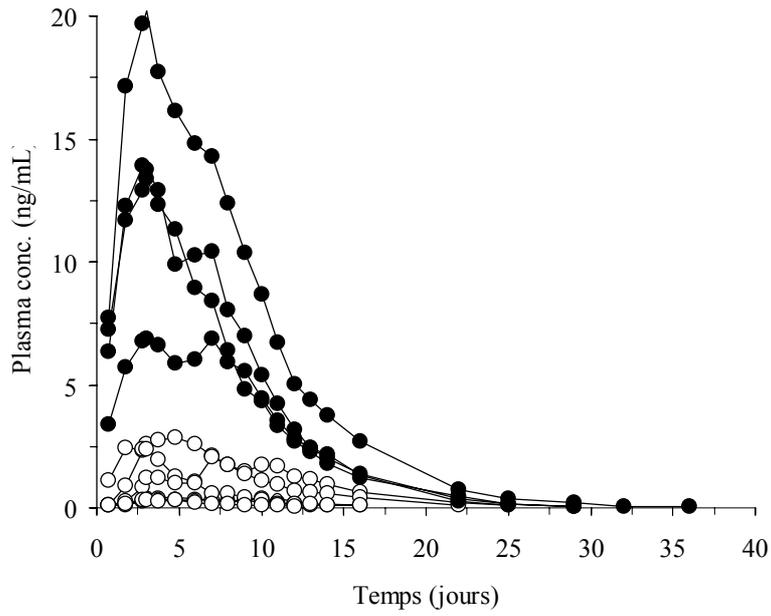


FIGURE 16 : comparaison des concentrations plasmatiques d'ivermectine au cours du temps chez les 6 bovins non traités (symboles ajourés) et chez les 4 bovins traités (symboles pleins) pendant une période de 36 jours après l'administration d'une dose unique d'ivermectine pour-on de 0.5 mg/kg de poids vif.

16a : échelle arithmétique.

16b : échelle semi-logarithmique.

La première observation est que les animaux non traités sont exposés.

Les animaux traités montrent une exposition plus élevée que les animaux non traités. Cependant, on observe chez trois des animaux non traités une exposition non négligeable ( $C_{max} = 2.17 \pm 0.86$  ng/ml ; aire sous la courbe (AUC) =  $17.74 \pm 9.26$  ng.j/ml). Ces résultats nous ont conduit à séparer le groupe des non traités en deux sous-groupes : « exposés » et « peu exposés ».

Le tableau 9 donne les valeurs des paramètres pharmacocinétiques pour les groupes « traités » et « non traités », et, au sein du groupe « non traité », pour les sous-groupes « exposés » et « peu exposés ».

	traités	non traités		
		ensemble	« exposés »	« peu exposés »
$C_{max}$ (ng/ml)	$13.69 \pm 5.45$	$1.27 \pm 1.12$	$2.17 \pm 0.86$	$0.37 \pm 0.04$
$T_{max}$ (h)	$70.5 \pm 3$	$78 \pm 24.3$	$76 \pm 36.17$	$80 \pm 12.49$
AUC (ng.j/ml)	$112.5 \pm 39.8$	$10.5 \pm 9.88$	$17.7 \pm 9.26$	$3.27 \pm 1.08$

TABLEAU 9 : Paramètres pharmacocinétiques (moyenne  $\pm$  écart-type) de l'ivermectine, chez les animaux traités et les animaux non traités. Ces derniers ont été séparés en « exposés » et « peu exposés ».

### 3.3 Conséquences des résultats de pharmacocinétique

Les résultats de pharmacocinétique nous ont conduit à séparer le groupe des animaux non traités en deux sous-groupes ; « exposés » et « peu exposés ».

#### ❖ Retour sur les résultats d'opg moyens

La figure 17 présente l'évolution des opg à partir de l'administration d'ivermectine (J0), après séparation du groupe non traité en « exposés » et « non exposés ».

Les allures des courbes d'excrétion d'œufs des deux sous-groupes sont très différentes, avec un profil d'excrétion chez les « exposés » qui se rapproche plus de celui des traités que de celui des « peu exposés ».

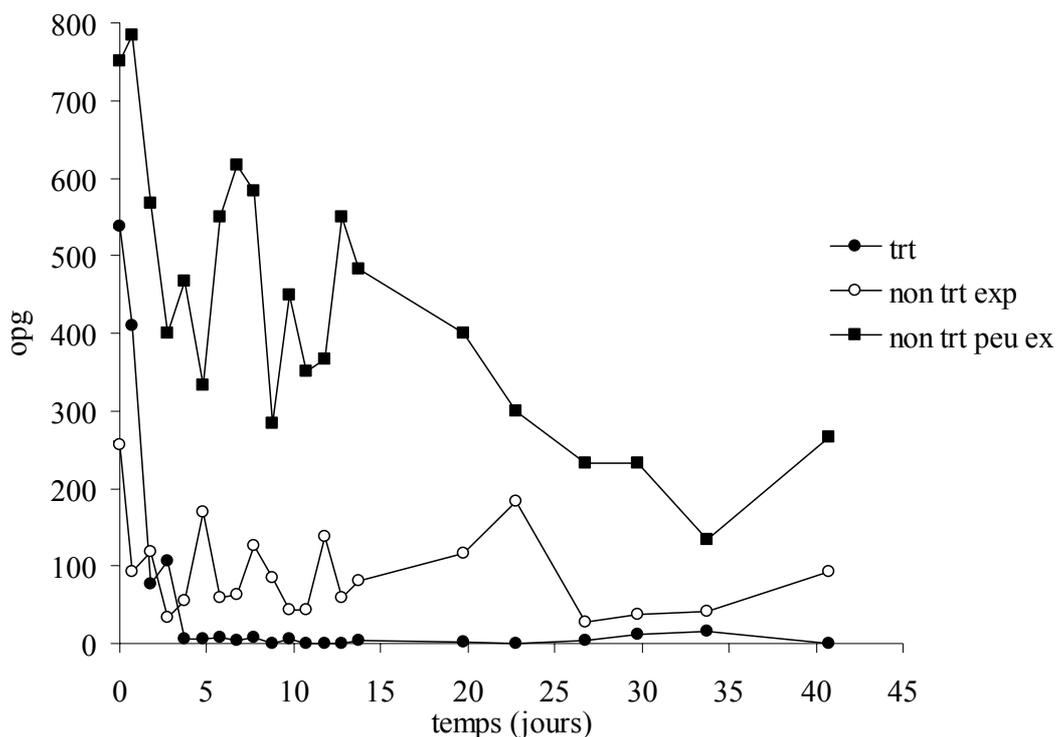


FIGURE 17 : évolution des opg après traitement (J0) des 4 bovins traités par administration de 0.5 mg/kg d'ivermectine pour-on (cercles pleins), des 3 bovins non traités « exposés » (cercles ajourés) et des 3 bovins non traités « peu exposés » (carrés).

Une analyse de variance en données répétées (Systat 9) a été effectuée sur les valeurs d'opg des 10 animaux répartis comme suit :

Traités : groupe 1

Non traités exposés : groupe 2

Non traités peu exposés : groupe 3

Etant donné le faible effectif présent dans chaque groupe (groupe 1: 4 ; groupe 2: 3 ; groupe 3: 3), il n'a pas été possible de réaliser cette analyse sur la totalité de la période après traitement.

L'analyse de variance a donc été réalisée sur deux périodes :

- « avant traitement » : 30.04.03 - 12.05.03 (4 dates de collecte : 30.04.03, 05.05.04, 07.05.04, 12.05.04)
- « après traitement » : 13.05.03 - 20.05.04 (7 dates de collecte : 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 et 20.05.04)

L'analyse de la période « avant traitement » n'a pas révélé d'effet groupe significatif ( $p=0.693$ ). Par contre, l'analyse de la période « après traitement » a montré un effet groupe

significatif ( $p=0.001$ ). La comparaison entre groupes a ensuite été réalisée pour la période « après traitement », puisqu'un effet groupe avait été démontré.

Les résultats de l'analyse de variance sont présentés dans le tableau 10.

Période		30.04.03 - 12.05.03	13.05.03 - 20.05.04
Effet groupe		non significatif $p=0.69$	significatif $p=0.001$
Comparaisons inter-groupes	groupe 1-groupe 3		0.01
	groupe 1-groupe 2		0.96
	groupe 2-groupe 3		0.02

*TABLEAU 10 : résultats de l'analyse de variance effectuée sur les valeurs brutes d'o.p.g des 4 bovins traités par administration de 0.5 mg/kg d'ivermectine pour-on (groupe 1), des 3 bovins non traités « exposés » (groupe 2) et des 3 bovins non traités « peu exposés » (groupe 3).*

L'analyse entre groupes sur la deuxième période montre une différence significative entre le groupe traité et le groupe non traité peu exposé.

Elle montre également une différence significative, parmi les non traités, entre le groupe exposé et le groupe peu exposé, ce qui confirme les tendances observées sur la figure 16, à savoir que, chez des animaux non traités, le profil d'excrétion d'œufs varie selon l'importance de l'exposition à l'ivermectine.

L'analyse entre groupes sur la deuxième période ne montre cependant pas de différence significative entre le groupe traité et le groupe non traité exposé.

#### ❖ Corrélations entre la diminution de l'excrétion d'œufs et l'exposition à l'ivermectine

Pour chaque animal, le nombre total d'œufs excrétés sur la période « après traitement » a été évalué par calcul de l'aire sous la courbe ( $AUC_{opg}$ ) des opg, de J0 au dernier point (J41). Ce calcul a été fait en utilisant la méthode des trapèzes.

Pour chaque animal, l'exposition à l'ivermectine sur la période « après traitement » a été évaluée par l'AUC des concentrations plasmatiques d'ivermectine, de J0 jusqu'au dernier point (J39) ( $AUC_{ivermectine\ plasmatique}$ ).

Les résultats des AUC calculées sont présentés dans l'annexe 7.

Pour chaque animal, nous avons défini une AUC normalisée ( $AUC_{\text{opg norm.}}$ ), en divisant la valeur de l'AUC opg par le nombre d'opg à JO, ce qui revient à comparer des AUC de courbes ayant la même origine, afin d'avoir une variable qui soit plus représentative de la réponse au traitement, et moins de l'intensité de l'excrétion avant traitement.

La figure 18 montre la corrélation entre la réponse en terme d'excrétion d'œufs et l'exposition à l'ivermectine sur la période étudiée, après transformation logarithmique.

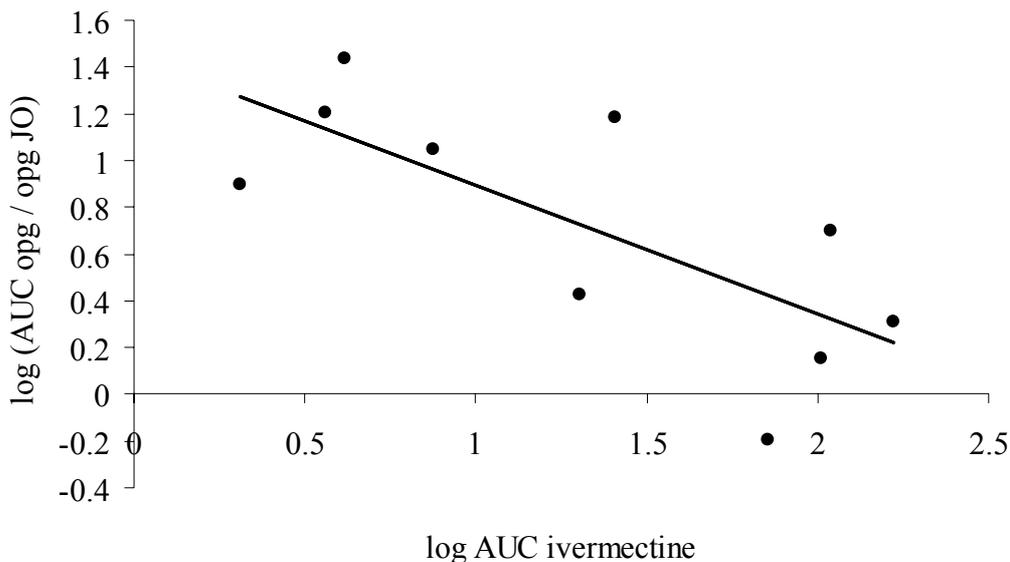


FIGURE 18 : corrélation entre la réponse en terme d'excrétion d'œufs et l'AUC des concentrations d'ivermectine plasmatique individuelles pour les 10 bovins sur une période de 41 jours après traitement.

Il y a une corrélation négative entre les valeurs de  $\log(AUC_{\text{ivermectine plasmatique}})$  et les valeurs  $\log AUC_{\text{opg norm.}}$  ( $R = -0.728$ ) chez l'ensemble des animaux. Le test de Bonferroni (Systat 8.0) effectué sur les deux matrices étudiées montre que cette corrélation est statistiquement significative ( $p=0.017$ ).

Ces résultats, ajoutés à ceux de l'analyse de variance, démontrent qu'il existe dans notre échantillon une corrélation négative entre le niveau d'excrétion d'œufs et le niveau d'exposition systémique à l'ivermectine.

## 4 DISCUSSION

Bien que l'ingestion d'ivermectines par des animaux non traités ait déjà été démontrée lorsqu'ils sont au contact d'animaux traités par des formulations topiques, il est important de signaler que lors de la présente étude, qui consista à ne traiter que quatre bovins sur dix, les dosages d'ivermectine plasmatique ont révélé la présence de la molécule chez la totalité des bovins. Cela rend compte de la forte prévalence du comportement de léchage, sans toutefois présager de sa fréquence ni de son intensité chez chaque individu.

Les coprocultures ont permis de montrer que, sur la totalité de la période étudiée et des animaux présents, la majorité des larves observées étaient du genre *Cooperia*. Cela peut expliquer la diminution des opg moyens observée (figure 11) avant traitement. En effet, nous avons vu dans la partie bibliographique que ce genre était caractérisé par une ponte rapide et forte, mais qu'il induisait une réponse immunitaire elle aussi rapide et forte, ayant pour conséquence de réduire notablement le nombre d'adultes. Dans la présente étude, la baisse de ponte s'observe à J28 après infestation, ce qui est assez rapide, mais il faut rappeler que l'infestation a été unique, ce qui n'est pas le cas lors de sortie des animaux sur une pâture infestée.

L'évolution des excréments d'œufs sur la période après traitement montre un rebond manifeste à partir de J35, qui concerne les animaux non traités et les animaux traités. Deux causes peuvent être à l'origine de ce phénomène :

Etant donné le délai post-traitement d'apparition du rebond (J35), une ré-infestation des animaux ne peut être exclue ; en effet, la rémanence de l'effet de l'ivermectine administrée en SC est de 14 jours, et cette valeur est diminuée en cas d'application topique. Le délai restant est donc de 20 à 25 jours, soit à peu près trois semaines, délai qui correspond à la période pré-patente des strongles étudiés. Cela signifierait que quelques œufs ont pu se développer en larves, qui elles-mêmes ont pu infester les bovins, en dépit des conditions peu propices (principalement, le paddock en terre battue).

L'autre explication pourrait être que l'ivermectine a seulement eu une action d'inhibition de la ponte sur une fraction des adultes, qui ont ensuite pu ré-excréter une fois qu'ils n'étaient plus soumis à la pression de l'endectocide. Cet état de tolérance chez certains

parasites est suspecté d'être le stade précurseur de l'état de résistance vraie. Cette hypothèse est d'ailleurs cohérente avec l'augmentation de la proportion de *Cooperia* chez les animaux traités suite à l'administration du pour-on, puisqu'il est le seul genre incriminé à l'heure actuelle dans des cas de résistances aux ivermectines chez les bovins.

Les faibles taux de pepsinogène observés ont deux explications principales :

Tout d'abord, la quantité de larves d'*O.ostertagi* administrée (20 000) n'était pas très importante. Il faut également être conscient que le pouvoir infestant (taux de L3 ingérées parvenant jusqu'au stade adulte) n'est jamais de 100%, et que les valeurs habituelles se situent plutôt autour de 40-50% en moyenne.

Les populations adultes d'*O.ostertagi* subissent un turn-over rapide, basé sur des re-contaminations régulières. Or, l'infestation n'a été que ponctuelle. Par conséquent, la diminution normale du nombre d'adultes présents dans la caillette (cohérente avec la diminution des opg avant traitement) n'a pu être compensée par de nouvelles arrivées, et les lésions abomasales ont pu cicatriser assez rapidement.

La moyenne des AUC des concentrations plasmatiques d'ivermectine pour le groupe traité est de  $2\,700 \pm 955.2$  ng.h/ml, après application de 0.5 mg/kg en pour-on. La comparaison avec les résultats obtenus par Laffont et al. (2001) sur le groupe lécheur, après administration de 0.5 mg/kg d'ivermectine en pour-on (AUC<sub>ivermectine plasmatique</sub> :  $14\,283 \pm 6424$  ng.h/ml) révèle à quel point la biodisponibilité systémique de l'ivermectine diminue (rapport de 1 / 5.3) quand les animaux sont mélangés à des animaux non traités, car la dose administrée est en quelque sorte « partagée », de façon très variable et inégale, entre tous les bovins.

L'analyse de variance en données répétées a révélé :

Une absence d'effet groupe avant traitement qui est cohérente avec le protocole établi, puisque la séparation entre les groupes n'a de justification qu'après l'administration d'ivermectine.

Une différence significative entre les sous-groupes « exposés » et « peu exposés ». Or, dans les conditions d'expérimentation choisies, le seul mécanisme pouvant expliquer l'exposition des bovins non traités était le léchage des bovins traités. Il est donc légitime de considérer que la séparation « exposés » - « peu exposés » équivaut à la séparation « lécheurs » - « peu lécheurs ».

Ceci démontre que la diminution marquée de l'excrétion d'œufs observée chez certains animaux non traités est bien la conséquence du léchage entre bovins.

Cela nous autorise également à considérer l'intensité du léchage comme la principale force motrice de l'AUC des concentrations plasmatiques d'ivermectine chez les bovins non traités. On peut donc conclure à l'existence, chez les bovins non traités, d'une corrélation négative entre l'intensité du léchage (des animaux traités) et l'intensité de l'excrétion fécale d'œufs d'*O.ostertagi* et de *C.oncophora*.

## CONCLUSION

Cette étude a porté sur 10 bovins pré-infestés par 20000 larves L3 d'*Ostertagia ostertagi* et 20000 larves L3 de *Cooperia oncophora*, répartis en deux lots : un lot traité à l'aide d'une spécialité d'ivermectine pour-on (Ivomec®) et un lot non traité. Les dix bovins ont été conduits sur une même parcelle, pendant une durée totale d'une centaine de jours.

L'observation des courbes d'opg des bovins non traités a montré une grande variabilité, certains de ces animaux se comportant comme des bovins traités. Les cinétiques d'ivermectine plasmatique ont permis de séparer le groupe non traité en deux sous-groupes, les « exposés » et les « peu exposés », qui dans les conditions de l'expérimentation pouvaient être considérés comme « lécheurs » et « peu lécheurs », puisque le léchage des bovins traités était la seule source d'exposition possible à l'ivermectine. L'analyse de variance en données répétées sur les 7 jours suivant le traitement a montré une différence significative entre les deux sous-groupes ( $p=0.02$ ). Les « lécheurs » et les « peu lécheurs » ont donc eu des cinétiques d'excrétion d'œufs significativement différentes. L'analyse n'a pas donné de différence significative entre le groupe traité et le groupe non traité lécheur ( $p=0.96$ ).

L'observation des aires sous la courbe (AUC) d'opg et d'ivermectine plasmatique sur la totalité de la période après traitement, représentatives de l'excrétion totale d'œufs et de l'exposition totale sur cette même période, a montré une corrélation négative ( $R = -0.72$ ) significative entre ces deux résultats chez les bovins non traités.

Ces résultats démontrent que les diminutions d'excrétion d'œufs observés chez certains non traités sont corrélées à l'intensité de l'exposition à l'ivermectine, et donc à l'intensité du léchage d'animaux traités.

Cette expérimentation démontre que lors d'application pour-on, la fraction ingérée par léchage exerce une pression sur les populations de parasites, ce qui est susceptible de favoriser l'apparition de résistances.

La prise en compte de ce phénomène, ainsi que d'autres conséquences négatives du léchage lors d'application d'endectocides en pour-on (augmentation de l'excrétion fécale, présence de résidus chez des animaux non traités) nous semble remettre en cause les conditions d'utilisation de ces formulations.

## Agrément administratif et scientifique

## **Annexe 1**

### Méthode analytique de l'examen coproscopique

- pesée de 5 g de matières fécales
- délitement des 5g dans 70 mL de la solution de NaCl
- homogénéisation puis filtrage des grosses particules végétales
- prélèvement à la pipette d'un volume suffisant pour remplir la lame
- observation au grossissement x40 et dénombrement des œufs :

-lorsque le nombre d'œufs était important, la lecture se faisait dans une cellule puis une multiplication par 50 permettait d'obtenir le nombre d'opg (œufs par gramme)

-lorsque le nombre d'œufs était moindre, la lecture se faisait sur la totalité de la lame puis une multiplication par 15 permettait d'obtenir le nombre d'opg

-lorsque aucun œuf n'était observé sur la lame, un test de flottation était réalisé : le mélange fèces-NaCl était versé dans un tube à essai jusqu'à le remplir et une lamelle était posée sur le sommet de ce tube. Après 10 minutes, la lamelle était observée à l'objectif x40 :

Si un œuf (ou plus) était observé, le nombre d'opg était fixé à 7.

Si aucun œuf n'était observé, le nombre d'opg était fixé à 0.

Sensibilité de la méthode : 7 opg



## Annexe 2.bis

Bien agiter les tubes et les placer à 38°C pendant 22 heures.

Après les 22 heures :

verser C dans B (après agitation)

ajouter 1 mL de TCA dans A et agiter

centrifuger A et B 5 min. à 2000 rpm

### ❖ Coloration

-Pour chacun des tubes A et B :      prélever 250  $\mu$ L de surnageant  
ajouter 500  $\mu$ L de NaOH 0.5 N  
ajouter 150  $\mu$ L de Folin dilué au 1/3  
agiter, laisser 30 min à température ambiante  
lecture sur plaques ELISA à 750 nm à raison de 200  $\mu$ L  
par puits

### ❖ Dosage par comparaison avec la courbe étalon

-Courbe étalon :                      mélanger 10 mg de tyrosine dans 100 mL de TCA 10%  
aliquoter à 2 mL par tube puis congeler  
faire la gamme suivante

Concentration solution ( $\mu$ g/mL)	0	10	20	30	40	50
Vol. Tyrosine (mL)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Vol. TCA (10% mL)	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5

pour chaque tube, ajouter 2 ml de NaOH 0.6 N et 0.6 mL de Folin dilué au 1/3

### Annexe 3

Résultats des coproscopies réalisées durant l'expérimentation (en opg)

n° bovin	non traités								traités					
	3007	3695	8456	8465	8473	8479	moy.	E.C	3704	8459	8464	8480	moy.	E.C
18-mar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30-avr	0	50	100	100	150	400	133	140	150	300	300	200	238	75
05-mai	150	1050	750	350	850	800	658	338	550	800	1150	200	675	401
07-mai	150	350	950	300	300	1100	525	396	550	550	900	50	513	350
12-mai	450	500	600	120	150	1200	503	392	300	750	1050	50	538	448
13-mai	850	200	700	30	50	800	438	386	30	450	1150	7	409	534
14-mai	450	300	500	50	7	750	343	284	7	50	250	0	76.8	118
15-mai	400	50	350	50	0	450	217	204	15	300	N.D	7	107	167
16-mai	550	150	550	7	7	300	261	249	0	0	15	7	5.5	7.14
17-mai	250	450	450	50	7	300	251	191	0	0	7	15	5.5	7.14
18-mai	700	150	600	30	0	350	305	296		0	15	7	7.33	7.51
20-mai	550	150	450	30	7	850	340	334	0	0	7	7	3.5	4.04
21-mai	600	350	550	30	0	600	355	279	0	0	15	15	7.5	8.66
22-mai	250	250	250	7	0	350	185	145	0	0	0	0	0	0
23-mai	450	100	800	30	0	100	247	316	7	7	0	7	5.25	3.5
24-mai	450	100	450	30	0	150	197	203	0	0	0	0	0	0
25-mai	300	400	700	15	0	100	253	271	0	0	0	0	0	0
26-mai	350	150	1000	30	0	300	305	368	0	0	0	0	0	0
28-mai	500	200	450	45	0	500	283	231	7	0	0	7	3.5	4.04
03-juin	350	300	550	50	0	300	258	204	0	7	0	0	1.75	3.5
06-juin	300	400	250	150	0	350	242	146	0	0	0	0	0	0
10-juin	50	50	300	30	0	350	130	153	0	0	15	0	3.75	7.5
13-juin	250	100	150	15	0	300	136	122	0	0	30	15	11.3	14.4
17-juin	100	60	200	15	50	100	87.5	63.9	0	0	50	15	16.3	23.6
24-juin	250	200	400	75	0	150	179	140	0	0	0		0	0

#### Annexe 4

Résultats des dosages de pepsinogène réalisés durant l'expérimentation (en mU Tyr)

n° bovin	non traités								traités					
	3007	3695	8456	8465	8473	8479	moy.	E.C	3704	8459	8464	8480	moy.	E.C
07-avr	N.D	121	98	20	227	N.D	117	85.4	124	199	71	87	120	57
18-avr	74	29	439	219	289	158	201	150	377	370	172	393	328	104
30-avr	576	117	401	539	97	391	354	205	352	716	613	625	577	157
07-mai	964	189	314	535	440	98	423	309	93	689	643	598	506	278
12-mai	485	150	212	160	167	201	229	128	256	195	121	301	218	78
14-mai	818	130	168	347	350	307	353	246	209	290	205	333	259	62.9
17-mai	477	225	65	134	130	N.D	206	162	225	16	80	114	109	87.5
21-mai	297	26	129	107	102	262	154	104	107	70	79	233	122	75.5
28-mai	349	168	312	143	225	189	231	82.5	231	217	83	334	216	103
06-juin	240	164	294	N.D	304	256	252	55.6	299	262	116	327	251	93.9
13-juin	95	116	199	32	58	151	109	61.1	339	11	27	247	156	163
20-juin	205	331	234	133	280	231	236	67.2	288	258	165	DCD	237	64.1

## Annexe 5

### Résultats des dosages d'ivermectine plasmatique réalisés durant l'expérimentation

#### BOVINS NON TRAITES

Protocole

experimental : Dose : 0 mg/kg  
Voie :  
Date : 12 Mai 2003

Protocole

Analytique : Volume Extrait : 200 ul  
Date : Novembre Decembre 2003

	IVERMECTINE						Moyenne ng/ml	Ecart - type
	3695	8456	8465	8473	8480	3007		
Temps	Concentration ng/ml	Concentration ng/ml	Concentration ng/ml	Concentration ng/ml	Concentration ng/ml	Concentration ng/ml		
Temoin								
18 h	0.11	0.09	0.12	1.11	0.08		<b>0.30</b>	0.45
42 h	0.10	0.19	0.88	2.41	0.28	0.15	<b>0.67</b>	0.90
66 h	0.29	0.33	2.35	2.38	0.86	0.33	<b>1.09</b>	1.01
72 h	0.36	0.41	2.60	2.38	1.21	0.31	<b>1.21</b>	1.05
90 h	0.38	0.41	2.77	1.94	1.20	0.28	<b>1.16</b>	1.02
114 h	0.34	0.40	2.88	1.27	0.98	0.30	<b>1.03</b>	0.99
J 6	0.30	0.36	2.59	1.06	0.98	0.23	<b>0.92</b>	0.89
J 7	0.34	0.34	2.10	2.04	0.59	0.14	<b>0.92</b>	0.90
J 8	0.29	0.28	1.75	1.77	0.56	0.17	<b>0.80</b>	0.75
J 9	0.30	0.28	1.46	1.36	0.41	0.11	<b>0.65</b>	0.60
J 10	0.34	0.27	1.73	1.12	0.34	0.13	<b>0.65</b>	0.63
J 11	0.22	0.36	1.68	0.93	0.18	0.08	<b>0.58</b>	0.62
J 12	0.18	0.24	1.25	0.71	0.18	0.07	<b>0.44</b>	0.46
J 13	0.11	0.17	1.14	0.65	0.18		<b>0.45</b>	0.44
J 14	0.10	0.14	0.95	0.57	0.13		<b>0.38</b>	0.37
J 16	0.09	0.09	0.62	0.42	0.10		<b>0.26</b>	0.24
J 22			0.20	0.09				
J 25			0.13					

## Annexe 5.bis

### Résultats des dosages d'ivermectine plasmatique réalisés durant l'expérimentation

#### BOVINS TRAITES

Protocole

experimental :      Dose : 0.5 mg/kg  
                               Voie : Pour-on  
                               Date : 12 Mai 2003

Protocole

Analytique :        Volume Extrait : 200 ul  
                               Date : Novembre Decembre 2003

	IVERMECTINE				Moyenne ng/ml	Ecart - type
	<b>3704</b>	<b>8459</b>	<b>8464</b>	<b>8480</b>		
Temps	Concentration ng/ml	Concentration ng/ml	Concentration ng/ml	Concentration ng/ml		
Temoin						
18 h	3.40	6.33	7.75	7.25	<b>6.18</b>	1.95
42 h	5.74	12.27	17.13	11.67	<b>11.70</b>	4.67
66 h	6.78	13.91	19.67	12.92	<b>13.32</b>	5.28
72 h	6.88	13.41	20.22	13.74	<b>13.56</b>	5.45
90 h	6.64	12.32	17.73	12.89	<b>12.39</b>	4.54
114 h	5.86	11.31	16.14	9.92	<b>10.81</b>	4.24
J 6	6.04	8.93	14.80	10.24	<b>10.00</b>	3.65
J 7	6.90	8.43	14.31	10.42	<b>10.01</b>	3.21
J 8	5.91	6.42	12.37	8.05	<b>8.19</b>	2.93
J 9	5.54	4.83	10.38	7.01	<b>6.94</b>	2.47
J 10	4.42	4.34	8.67	5.40	<b>5.71</b>	2.03
J 11	3.52	3.32	6.71	4.25	<b>4.45</b>	1.56
J 12	2.80	2.67	5.02	3.18	<b>3.42</b>	1.09
J 13	2.42	2.27	4.37	2.44	<b>2.88</b>	1.00
J 14	2.01	1.80	3.78	2.16	<b>2.44</b>	0.91
J 16	1.37	1.19	2.70	1.33	<b>1.65</b>	0.71
J 22	0.35	0.50	0.73	0.27	<b>0.46</b>	0.20
J 25	0.15	0.18	0.38	0.12	<b>0.21</b>	0.12
J 29	0.06	0.08	0.19		<b>0.11</b>	0.07
J 32			0.07			
J 36			0.04			

## Annexe 6

### Résultats des diagnoses de larves après coproculture

#### BOVIN NON TRAITES

		30.04 - 05.05	05.05 - 07.05	07.05 - 12.05	Proportions avant trt	12.05 - 27.06	Proportions après trt
3695	Ost	3	3	20	72.2 %	13	50 %
	Coo	0	2	8	27.8 %	13	50 %
	total	3	5	28		26	
8456	Ost	0	13	4	28.3 %	9	23.7 %
	Coo	0	15	28	71.7 %	29	76.3 %
	total	0	28	32		38	
8465	Ost	12	3	12	29.7 %	0	
	Coo	38	1	25	70.3 %	0	
	total	50	4	37		0	
8473	Ost	8	25	10	55.1 %	9	64.3 %
	Coo	4	25	6	44.9 %	5	35.7 %
	total	12	50	16		14	
8479	Ost	0	5	9	9.59 %	5	9.8 %
	Coo	0	41	91	90.4 %	46	90.2 %
	total	0	46	100		51	
3007	Ost	10	20	11	51.9 %	46	46 %
	Coo	0	6	32	48.1 %	54	54 %
	total	10	26	43		100	
Total des 6 bovins	Ost		168		34.3 %	82	35.8 %
	Coo		322		65.7 %	147	64.2 %
	total		490			229	

### Annexe 6.bis

#### Résultats des diagnostics de larves après coproculture

#### BOVIN TRAITES

		30.04 - 05.05	05.05 - 07.05	07.05 - 12.05	Proportions avant trt	12.05 - 27.06	Proportions après trt
3704	Ost	3	15	4	34.4 %	0	
	Coo	0	30	12	65.6 %	0	
	total	3	45	16		0	
8459	Ost	13	22	31	35.7 %	33	33 %
	Coo	22	28	69	64.3 %	67	67 %
	total	35	50	100		100	
8464	Ost	17	29	30	38 %	11	11 %
	Coo	33	21	70	62 %	89	89 %
	total	50	50	100		100	
8480	Ost	0	16	12	66.7 %	0	
	Coo	0	8	6	33.3 %	0	
	total	0	24	18		0	
Total des 4 bovins	Ost		192		39.1 %	44	22 %
	Coo		299		60.9 %	156	78 %
	total		491			200	

## Annexe 7

### Résultats des AUC opg et ivermectine plasmatique sur la période J0-J41

#### trt

	AUC plasma	AUC opg
3704	71.49	192.25
8459	102.92	1063.50
8464	166.84	2141.50
8480	108.75	249.38
moyenne	112.50	911.66
écart-type	39.75	911.36

#### exposés

	AUC plasma	AUC opg
8465	25.49	1840.25
8473	20.25	403
8479	7.48	13425
moyenne	17.74	5222.75
écart-type	9.26	7139.61

#### peu exposés

	AUC plasma	AUC opg
3695	3.62	7967.50
8456	4.13	16487.50
3007	2.05	3525.00
moyenne	3.27	9326.67
écart-type	1.08	6587.27

## **BIBLIOGRAPHIE**

ALVINERIE M., SUTRA J.F., GALTIER P., TOUTAIN P.L.

Determination of ivermectin in milk by high performance liquid chromatography.

Vet. Res., 1987, 18, 269-274.

ANDERSON R.C.

Nematodes parasites of vertebrates, their developpement and transmission, 2<sup>nd</sup> Edition, 2000.

BARBER S., ALVINERIE M.

Letter to the editor. Comment on “A comparison of persistent anthelmintic efficacy of topical formulations of doramectin, ivermectin, eprinomectin and moxidectin against naturally acquired nematode infections of beef calves” and problems associated with mechanical transfer (licking) of endectocides in cattle.

Vet. Parasitol. 2003, 112, 255-257.

BARTH D., HEINZE-MUTZ E.M., RONCALLI R.A., SCHLÜTER D., GROSS S.J.

The degradation of dung produced by cattle treated with an ivermectin slow-release bolus.

Vet. Parasitol., 1993, 48, 215-227.

BERGHEN P., HILDERSON H., VERCRUYSSSE J., DORNY P.

Evaluation of pesinogen, gastrin and antibody response in diagnosing ostertagiasis.

Vet. Parasitol, 1993, 46, 175-195.

BOUSQUET-MELOU A., MERCADIER S., ALVINERIE M., TOUTAIN P.-L.

Endectocides exchanges between grazing cattle after pour-on administration of Doramectin, Ivermectin and Moxidectine: therapeutic, scientific, safety and regulatory issues.

Int. J. Parasitol. 2004, 34, 1299-1307.

BRALET D.

Influence du léchage sur la pharmacocinétique de l'ivermectine pour-on chez les bovins.

Thèse vétérinaire, ENVT, 2002.

CAMUSET P.

Epidémiologie des strongyloses bovines.

Bulletin des GTV, 1991, 6, 31-47.

CAMUSET P., DORCHIES P.

La relation hôte-parasite dans les helminthoses bovines.

Bulletin des GTV, 1999, 4, 23-27.

CARRARD O.

Les nematodes du genre *Cooperia* ; biologie et rôle pathogène.

Thèse vétérinaire, ENVT, 1999.

CHIU S.H.L., LU A.Y.H.

Metabolism and tissue residues.

In : Campbell, W.C. Editor.

Ivermectin and Abamectin.

New-York : Springer-Verlag, 1989, 131-143.

COLES G.C., WATSON C.L., ANZIANI O.S.

Ivermectin-resistant *Cooperia* in cattle.

Vet. Rec., 2001, 148 : 283-284.

EUZEBY J.

Les maladies vermineuses des animaux domestiques, Tome I, fascicule II, 14-23, 1963.

EUZEBY J.

Diagnostic expérimental des helminthoses animales.

Edition "Informations Techniques des Services Vétérinaires", 1982, Paris, Tome 1.

EYSKER M.

The role of inhibited development in the epidemiology of *Ostertagia* infections.

Vet. Parasitol, 1993, 46, 259-269.

FINCHER G.T.

Injectable ivermectin for cattle: effects on some dung-inhabiting insects.

Environm. Entomol., 1996, 21, 871-876.

FINK D.W., PORRAS A.G.

Pharmacokinetics of Ivermectin in animals.

In : Campbell, W.C. Editor.

Ivermectin and Abamectin.

New-York : Springer-Verlag, 1989, 113-130.

FISHER M.H., MROZIK H.

Chemistry.

In : Campbell, W.C. Editor.

Ivermectin and Abamectin.

New-York : Springer-Verlag, 1989, 1-23.

FOX M.T.

Pathophysiology of infection with *Ostertagia ostertagi* in cattle.

Vet. Parasitol., 1993, 46, 143-158.

HALLEY B.A., NESSEL R.J., LU A.Y.H.

Environmental aspects of Ivermectin usage in livestock : general considerations.

In : Campbell, W.C. Editor.

Ivermectin and Abamectin.

New-York : Springer-Verlag, 1989, 162-172.

HERD R.P., SAMS R.A., ASHCRAFT S.M.

Persistence of ivermectin in plasma and faeces following treatment of cows with ivermectin sustained-release, pour-on or injectable formulations.

Int. J. Parasitol. 1996, 26 (10), 1087-1093.

HOSTE H., HUBY F., MALLET S.

Strongyloses gastro-intestinales des ruminants : conséquences physiopathologiques et mécanismes pathogéniques.

Le point vétérinaire, n° special "parasitologie des ruminants", 1997, 28, 53-59.

JACQUIET P.

La résistance aux anthelminthiques chez les strongles des ruminants : état des lieux en France et perspectives.

Proceeding des journées nationales des GTV, 581-588, 2004.

KAPLAN R.M.

Drug resistance in nematodes of veterinary importance : a status report.

Trends Parasitol., 2004, 20:10, 477-481.

KERBOEUF D.

Le dosage du pepsinogène sanguin, élément de diagnostic dans les strongyloses gastriques des ruminants.

Rev. Med. Vet., 1979, 130, 1359-1370.

KERBOEUF D.

Strongyloses gastro-intestinales des ruminants. Données nouvelles sur la physiologie des larves infestantes et leurs conséquences.

Bulletin des GTV, 1979, 2-B, 146, 33-42.

KERBOEUF D., MAGE C., LE GARFF

Dosage du pepsinogène et prévision du nombre de vers dans la caillette : cas des animaux en première et deuxième saisons d'herbe en élevage type allaitant.

Bulletin des GTV, 1982, 1-B-233, 13-21.

KERBOEUF D., HUBERT J., HOSTE H.

Le diagnostic de laboratoire des strongyloses des ruminants.

Le Point Vétérinaire, n° special "parasitologie des ruminants", 1997, 28, 89-96.

KLESIOUS P.H.

Immunity to *Ostertagia ostertagi*.

Vet. Parasitol., 1988, 27, 159-167.

KLESIOUS P.H.

Regulation of immunity to *Ostertagia ostertagi*.

Vet. Parasitol., 1993, 46, 63-79.

KROHN C.C.

Behaviour of dairy cows kept in extensive (loose housing / pasture) or intensive (tie stall) environment. III. Grooming, exploration and abnormal behaviour.

Appl. Anim. Behav. Sci., 1994, 42, 73-86.

LAFFONT C.M., ALVINERIE M., BOUSQUET-MELOU A., TOUTAIN P.-L.

Licking behaviour and environmental contamination arising from pour-on ivermectin for cattle.

Int. J. Parasitol. 2001, 31 (14), 1687-1692.

LUMARET J.P., ERROUISSI F.

Use of anthelmintics in herbivores and evaluation of risks for the non target fauna of pastures.

Vet. Res., 2002, 33, 547-562.

McKEAND J., BAIRDEN K., IBARRA-SILVA A.-M.

The degradation of bovine faecal pats containing ivermectin.

Vet. Rec., 1988, 122, 587-588.

RAYNAUD J.P.

Etude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le contrôle des infestations parasitaires des bovins, ovins, équins et porcins.

Annales de Parasitologie Humaine et Comparée, 1970, 45, 321-342.

RAYNAUD J.P.

Une nouvelle approche des strongyloses bovines : épidémiologie et prévention.

Les dossiers de l'élevage, 1981, vol 4, n°5.

RENAULT S.

Epidémiologie et prophylaxie des strongyloses digestives des bovins : Suivi dans trois élevages allaitants de Vendée.

Thèse vétérinaire, ENVN, 2001.

SATO S.

Social licking pattern and its relationships to social dominance and live weight gain in weaned calves.

Appl. Anim. Behav. Sci., 1984, 12, 25-32.

SATO S., SAKO K., MAEDA A.

Social licking patterns in cattle (*Bos taurus*) : influence of environmental and social factors.

Appl. Anim. Behav. Sci., 1991, 32, 3-12.

SOMMER C., GRØNVOLD J., HOLTER P., NANSEN P.

Effects of ivermectin on two tropical dung beetles, *Ontophagus gazella* and *Diastellopalpus quinquegens* (Coleoptera : Scarabeidae).

Vet. Parasitol., 1993, 48, 171-179.

TURNER M.J., SCHAEFFER J.M.

Mode of action of Ivermectin.

In : Campbell, W.C. Editor.

Ivermectin and Abamectin.

New-York : Springer-Verlag, 1989, 73-88.

WALL R., STRONG L.

Environmental consequences of treating cattle with the antiparasitic drug ivermectin.

Nature, 1987, 327, 418-421.

WILKINSON P.K., POPE D.G., BAYLIS F.P.

Pharmacokinetics of ivermectin administered intravenously to cattle.

J. Pharm. Sci., 1985, 74, 1105-1107.

WILLIAMS J.C., LOYACANO A.F., DeROSA A., GURIE J., CLYMER B.C., GUERINO F.  
A comparison of persistent anthelmintic efficacy of topical formulations of doramectin, ivermectin, eprinomectin and moxidectin against naturally acquired nematode infections of beef calves.

Vet. Parasitol. 1999, 85, 277-288.

WOLSTENHOLME A.J., FAIRWEATHER I., PRICHARD R., SAMSON-  
HIMMELSTJERNA G.V, SANGSTER N.C.

Drug resistance in veterinary helminths.

Trends Parasitol., 2004, 20:10, 469-476.