



## Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>  
Eprints ID : 13584

**To cite this version :**

Lacaille, Charlotte. *Parascaris equorum : un vieux ver toujours d'actualité*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2014, 204 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: [staff-oatao@inp-toulouse.fr](mailto:staff-oatao@inp-toulouse.fr).

# **PARASCARIS EQUORUM : UN VIEUX VER TOUJOURS D'ACTUALITÉ**

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

*par*

**LACAILLE Charlotte**

Née, le 22 mai 1987 à BEDARIEUX (34)

---

**Directeur de thèse : M. Philippe DORCHIES**

---

## **JURY**

PRESIDENT :  
**M. Alexis VALENTIN**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :  
**M. Philippe DORCHIES**  
**Mme Sophie PRADIER**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt  
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**

**Directeur** : M. Alain MILON

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- 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 1° CLASSE**

- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 2° CLASSE**

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

**PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

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

#### MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

#### MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
- Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*
- M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
- Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*
- M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

#### MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*
- Mme **FERNANDEZ Laura**, *Pathologie de la reproduction*

#### ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie*

# REMERCIEMENTS

**A Monsieur le professeur Alexis VALENTIN,**

Professeur des Universités,

Praticien Hospitalier,

Parasitologie-Mycologie,

*Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.*

*Hommages respectueux.*

**A Monsieur le professeur Philippe DORCHIES,**

Professeur Emérite à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Past-Président du collège européen de Parasitologie Vétérinaire,

Parasitologie,

*Qui a accepté d'encadrer ce travail et m'a guidée tout au long de sa réalisation. Pour sa patience, sa disponibilité et ses précieux conseils.*

*Sincères remerciements.*

**A Madame le Docteur Sophie PRADIER,**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Enseignant chercheur et clinicienne,

Médecine interne des équidés,

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

*Qu'elle soit assurée de ma grande reconnaissance.*

**Je remercie du fond du cœur ma famille et toutes les personnes que j'ai pu rencontrer au cours de ma vie. Vous avez grandement participé à l'aboutissement de ce projet et si aujourd'hui mon rêve se réalise, c'est grâce à vous.**

**A ma famille,**

*A mes parents,*

Pour votre amour et votre soutien inconditionnel. Merci pour tout, vous êtes plus que formidables, aucun mot n'est suffisamment fort pour exprimer ma gratitude. Je vous aime.

*Maman*, à nos conversations téléphoniques qui durent des heures, à tout ce qu'on a toujours partagé, y compris notre naïveté ! Parce que tu n'es pas seulement une maman parfaite mais aussi une sœur, une amie, confidente... Merci d'avoir toujours trouvé les mots pour me rassurer, merci de m'avoir toujours épaulée, merci de m'avoir tout donné, je ne te remercierai jamais assez.

*Papa*, à ta force et ta générosité, à nos traits de caractères partagés, à la chance infinie que j'ai d'avoir un papa si extraordinaire. Merci pour tes conseils, ta bienveillance, merci d'avoir cru en moi et de m'avoir toujours accompagnée dans mes choix. Parce que tu m'as inculqué des valeurs et des principes qui m'ont permis de réaliser mon rêve, ma réussite aujourd'hui, c'est aussi la tienne.

*A Arthur, mon petit frère*, à ton esprit libre, à tes idées étonnantes, à ta curiosité, ton ouverture d'esprit, à ce lien si fort qui nous uni, sans avoir besoin de parler, tu sais que tu pourras toujours compter sur moi. Parce que tu es ma deuxième moitié, mon complémentaire, merci d'être toi. Je suis fière d'être ta sœur.

*A mes grands parents,*

*Papy et Mamy, Pépé et Mémé*, merci d'avoir toujours cru en moi et même si on ne se voit pas souvent, vous tenez une grande place dans mon cœur.

*A vous tous que je ne vois pas souvent mais pour qui j'ai beaucoup d'affection.*

## A mes amis,

*A Diane et Blandine, mes chéries, à nos soirées à refaire le monde autour d'un bon blanc moelleux. Merci pour votre amitié et votre soutien sans faille.*

*Diane, ma Danette, à ton énergie débordante, à ta gentillesse à toute épreuve (enfin presque ☺), à tout ce qu'on a partagé. Merci de m'avoir toujours écoutée et soutenue. Je te souhaite tout simplement d'être heureuse.*

*Blandine, ma Blanblan, à l'Esmé, à ta force, à ta générosité. Merci de m'avoir toujours sortie de mes galères. J'espère que ce beau projet professionnel aboutira très vite.*

*A Aude et Pauline, ma dream team, à nos soirées, nos délires, nos discussions ultra-sérieuses bref à notre trio qui fonctionne si bien, merci de m'avoir tirée vers le haut. Vous êtes géniales, je vous adore mes poulettes !*

*Aude, à ce voyage inoubliable au Texas, ces moments de poney partagés, merci pour ton amitié, ta présence, et merci de me prouver que si le couple parfait ça existe !*

*Pauline, à notre complicité en toute circonstance, ton oreille attentive et tes conseils. Merci de m'avoir donné goût au running et merci d'être toujours là pour moi.*

*A Marion, Céline et Soàï, à notre road trip aux USA, nos repas de filles... pour vos soirées de folie et vos idées déjantées, je vous surkiffe !*

*Marion, à la légende du « Hé bannnnnjour » de l'ENVT qui est née grâce à toi. Merci pour tes conseils, ta force de caractère et ta capacité à toujours relativiser.*

*Céline, à ton naturel à toute épreuve, ta joie de vivre, tes tenues de boum improbables. Merci pour ta simplicité et tes talents d'organisatrice.*

*Soàï, à Maria, à ta bonne humeur, à tes anecdotes qui animent les repas. Merci pour tes petites attentions et tes gâteaux trop mignons !*

*A « la famille », à nos soirées au bloc, à Port Aventura, au Bazard, à la maison de Verfeil... merci pour tous ces moments inoubliables passés en votre compagnie, des moments si conviviaux pendant lesquels vous avez réellement été ma deuxième famille, je vous adore !*

*Bastien (alias Globi) et Héra, à St Sernin, à Clermont-Ferrand, au club ski, à nos bébés chiens qui font des bêtises, j'espère qu'on gardera toujours cette complicité.*

*Mathieu (alias Faygoune) et Taïs, à tes talents de chanteur, à ta gentillesse, à toutes ces balades de chiens, merci d'avoir été si attentionné, ne change rien tu es parfait !*

*Alexis (alias Alexissssss) et Grosette*, à ta bonne humeur légendaire depuis la première année, à nos pauses café-clope, à tes grands discours, merci d'avoir toujours été là.

*Oliv' (alias Bibil le nombril), Alison et Gatzbi*, à ton solex, à tes histoires qui font peur, à ton naturel presque aussi naïf que le mien, j'espère que notre amitié durera encore très longtemps.

*Clément (alias Duduss), Laurette et Etna*, à la chasse à l'ours, à ton accent Ch'timi, à ta descente d'escalier sur le bar, à ta délicatesse, je suis vraiment heureuse d'avoir partagé ces années avec toi.

*Doui (impossible de t'appeler Xavier, on est trop conditionnés !)* et *Mylène*, à Arcambal, à ton amour refoulé pour les poneys, à ton Poupi-poupi-poupipou, j'ai de la chance d'avoir croisé ta route.

*Claire*, à la brique de la bouille, au lap dance, à ta gentillesse et maintenant à ton mariage... Tous mes vœux de bonheur !

*Thibaud*, à ta sagesse, à ta bienveillance, au cerveau du groupe... J'espère avoir l'occasion de te voir de l'autre côté de l'Atlantique !

*A Marion et Marlène, la team poney*, pour votre humour inépuisable qui se potentialise en plus ! A notre A5 équine inoubliable. Ne changez rien vous êtes parfaites, je vous adore !

*Marion*, à tes histoires à dormir dehors, ces péripéties qui n'arrivent qu'à toi. Merci de m'avoir fait découvrir le puerto, la salsa... Je suis vraiment heureuse que tu rentres très bientôt sur le continent, vivement qu'on se fasse un MacDo sur Toulouse !

*Marlène*, à notre séjour à Libourne, à notre week-end en Bretagne, à tes petites gaffes, à ta gentillesse, ta douceur et tes Marlénades bien sur ! J'espère les entendre encore longtemps !

*A mes copromos et à mes poulots*, merci pour les brimades, les Clandé et les Reverses bien sur... Parce qu'on est la meilleure promo que l'ENVT n'ait jamais connue et que nos poulots nous ressemblent tellement, j'espère que la tradition des retrouvailles le temps d'un week-end perdurera encore longtemps.

*A Petite Marie, Elsa, Dodie, Laureline, Aurélie, Grande Marie*, à cette année riche en émotion, merci pour votre implication, votre entrain et votre bonne humeur, vous êtes juste géniales, je vous souhaite une belle réussite et beaucoup de bonheur pour la suite.

*A Claire, merci pour ton attention et ton sourire, même quand t'es au bout du rouleau t'es juste exceptionnelle, c'était vraiment un honneur d'être ta co-interne.*

*A Béa, à notre journée au ski, à ton franc-parler légendaire, merci pour tes conseils et ton amitié. Félicitations pour ton concours, je suis heureuse pour toi, ça annonce plein de bonnes choses à venir !*

*A Mélodie, mon amie de toujours, mon deuxième neurone, à toutes nos aventures, nos péripéties improbables, tes parades pour couvrir mes conneries, à nos longues discussions, nos délires débiles, à notre passion commune pour les chevaux. Merci pour ton soutien infailible, ton amitié de toujours, tes conseils irremplaçables. Je suis fière d'avoir grandi et évolué à tes côtés, j'espère partager cette complicité encore très longtemps.*

*A tous ceux qui ont influencé mes choix, façonné ma personnalité et sans qui je ne serais pas arrivée là aujourd'hui : Sandrine, Hélène, Gaston, Julien, Emilie et Benoit, Steph, Amandine, Dom, Damien, Arno, Lili, Julien...*

*A tous ceux que je n'ai pas cités mais qui comptent beaucoup aussi...*

## **A mes collègues, mes modèles,**

*A la Clinique vétérinaire du Colombier,*

*Clémentine, Evelyne et Coco,* merci de m'avoir donné ma chance, merci pour votre accueil et votre soutien, et merci de m'offrir l'opportunité de travailler dans une clinique super avec une ambiance de travail exceptionnelle. Merci de m'intégrer à cette équipe formidable... Je ne vous remercierai jamais assez.

*Sabrina, Emilie,* merci pour votre disponibilité et votre gentillesse face à mes questions, j'espère avoir l'occasion de travailler avec vous encore longtemps.

*A Julie,* merci de croire en moi, merci pour ta gentillesse, ta patience et ta bonne humeur... Et merci de me prouver qu'être une vétérinaire exemplaire, avoir un mari super sympa, des enfants adorables, une belle maison, une clientèle vraiment chouette, et tout ça en même temps c'est possible ! J'espère continuer à travailler avec toi pendant encore longtemps.

*A Alessandro,* au rugby, à l'Italie, au V&B, à notre anniversaire (mais alors t'as quel âge ? 31 ans ?!!), merci pour ton amitié et tes précieux conseils. Parce que ces deux années n'auraient jamais été aussi géniales sans toi, merci d'avoir été là... Je te souhaite plein de bonheur pour la suite et une belle réussite pour ta vie professionnelle.

*A Sophie,* merci pour ta bienveillance, pour tout ce que tu m'as appris, merci pour cette dernière année topissime, je suis vraiment heureuse que tu sois descendue à Toulouse et que nos routes se soient croisées.

*A Elodie,* merci pour ta fraîcheur et ton dynamisme, merci pour ton enseignement, je regrette vraiment de ne pas t'avoir rencontrée plus tôt, j'aurais aimé te connaître plus et travailler avec toi plus longtemps.

## **A mes Loulous, mes amours,**

*Gravina, Hastone et Félix qui me supportent tous les jours !*

# TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES .....	11
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	14
TABLE DES TABLEAUX .....	16
INTRODUCTION.....	17
<b>I. Définition.....</b>	<b>17</b>
<b>II. Epidémiologie .....</b>	<b>18</b>
1. L'âge.....	18
2. Les conditions climatiques .....	19
3. Les conditions d'élevage.....	20
<b>III. Agent responsable .....</b>	<b>20</b>
1. Classification.....	20
2. Morphologie .....	23
<b>IV. Biologie .....</b>	<b>25</b>
1. Hôtes.....	25
2. Localisation .....	25
3. Alimentation.....	26
4. Cycle évolutif .....	28
a) <i>Reproduction</i> .....	28
b) <i>Phase externe</i> .....	29
c) <i>Phase interne</i> .....	32
5. Facteurs de réceptivité, sensibilité, développement d'une immunité.....	36
6. Sources de parasites .....	39
7. Modes d'infestation, longévité et résistance .....	39
<b>V. Pathogénie .....</b>	<b>42</b>
1. Action pathogène des adultes.....	43
a) <i>Action mécanique ou action de masse</i> .....	43
b) <i>Action traumatique</i> .....	43
c) <i>Action bactérifère</i> .....	44
d) <i>Action spoliatrice</i> .....	44
e) <i>Actions toxique et antigénique</i> .....	45
2. Action pathogène des larves.....	45
a) <i>Action traumatique et irritative</i> .....	45
b) <i>Action bactérifère</i> .....	46
c) <i>Action antigénique</i> .....	46
<b>VI. Le tableau clinique .....</b>	<b>47</b>
1. Les ascaridoses imaginale.....	47
a) <i>Ascaridose banale</i> .....	48
b) <i>Ascaridose compliquée</i> .....	50
2. Les ascaridoses larvaires .....	53

<b>VII. Les lésions.....</b>	<b>54</b>
1. Les lésions générales .....	54
2. Les lésions locales .....	55
a) <i>Dues aux adultes</i> : .....	55
b) <i>Dues aux larves</i> : .....	57
<b>VIII. Le diagnostic .....</b>	<b>60</b>
1. Épidémiologique .....	60
2. Clinique et différentiel .....	60
3. Diagnostic coprologique .....	61
a) <i>Méthodes qualitatives</i> .....	64
b) <i>Méthodes quantitatives</i> .....	68
4. Modifications biologiques.....	78
a) <i>Hématologie</i> .....	78
b) <i>Paramètres biochimiques</i> .....	81
5. Imagerie.....	82
6. Autres examens complémentaires .....	83
7. Diagnostic nécropsique .....	84
<b>IX. Evolution/ Pronostic.....</b>	<b>85</b>
<b>X. Traitement.....</b>	<b>86</b>
1. Les différents groupes d'anthelminthiques .....	87
a) <i>Les benzimidazoles</i> .....	87
b) <i>Famille des dérivés de la tétrahydropyrimidine</i> .....	93
c) <i>Les lactones macrocycliques</i> .....	96
d) <i>Famille de la pipérazine</i> .....	112
e) <i>Les organophosphorés</i> .....	115
2. Posologie et efficacité .....	115
<b>XI. Prophylaxie sanitaire .....</b>	<b>117</b>
1. Gestion des animaux au pâturage.....	118
2. Hygiène des prairies .....	122
3. Gestion des animaux au box.....	123
<b>XII. Phénomène de résistance aux lactones macrocycliques.....</b>	<b>125</b>
1. Définitions générales.....	125
2. Apparition et transmission des résistances aux anthelminthiques .....	127
3. Facteurs de sélection des résistances.....	130
a) <i>La fréquence d'utilisation d'un antiparasitaire</i> .....	131
b) <i>L'utilisation de molécules rémanentes</i> .....	132
c) <i>Le choix de la dose</i> .....	132
d) <i>Les types de résistance</i> .....	134
e) <i>L'absence de refuge de sensibilité pour les parasites</i> .....	134
f) <i>La gestion zootechnique des animaux</i> .....	135
4. Suspecter un phénomène de résistance .....	136
a) <i>Tests in vivo</i> .....	136
b) <i>Tests in vitro</i> .....	142
5. Méthode de lutte contre les résistances aux lactones macrocycliques.....	143
a) <i>La vermifugation ciblée</i> .....	143
b) <i>Règles de base</i> .....	145

<b>CONCLUSION.....</b>	<b>148</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>150</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>160</b>

# TABLE DES ILLUSTRATIONS

<b>Figure 1 :</b> <i>Parascaris equorum</i> adultes, un mâle en haut et une femelle en bas (NIELSEN et al., 2014) .....	23
<b>Figure 2 :</b> Vue générale d'un ascaride mâle en coupe transversale (UNIVERSITE DE BORDEAUX 1, 2013) .....	24
<b>Figure 3 :</b> Extrémité antérieure de <i>Parascaris equorum</i> (JOHNSTONE, 1998) .....	25
<b>Figure 4 :</b> Métabolisme énergétique des ascarides (DORCHIES, 1991) .....	27
<b>Figure 5 :</b> Oeuf de <i>Parascaris equorum</i> (NIELSEN et al., 2014) .....	30
<b>Figure 6 :</b> Œufs de <i>Parascaris equorum</i> (CLAYTON, 1986) A gauche un œuf contenant une larve infestante, à droite, un œuf immature.....	32
<b>Figure 7 :</b> Schéma de la migration entéro-pneumo-trachéo-entérale effectuée par les ascarides .....	35
<b>Figure 8 :</b> Effet du compostage sur la viabilité des oeufs de <i>Parascaris equorum</i> au cours du temps (GOULD et al., 2013).....	41
<b>Figure 9 :</b> A gauche, un animal parasité par <i>Parascaris equorum</i> , à droite un animal témoin (CLAYTON, 1986) .....	49
<b>Figure 10 :</b> Posture caractéristique d'un poulain en colique (BARTMANN, 2002) .....	51
<b>Figure 11 :</b> Entérotomie réalisée dans le jéjunum afin de lever une obstruction d'ascarides (FREEMAN, 2012) .....	52
<b>Figure 12 :</b> Jetage observé chez un poulain infesté expérimentalement (16 jours après infestation) (CLAYTON, 1986).....	54
<b>Figure 13 :</b> Stade précoce d'une impaction d'ascarides dans le jéjunum (BARTMANN, 2002) .....	56
<b>Figure 14 :</b> Obstruction simple par un bouchon vermineux de <i>Parascaris equorum</i> adultes (TAMZALI, 2010) .....	56
<b>Figure 15 :</b> Nodule rond, surélevé et bien circonscrit et d'autres lésions plus diffuses sous capsulaires sur le foie d'un poulain infesté expérimentalement (14 jours après ingestion des éléments infestants) (CLAYTON, 1986) .....	58
<b>Figure 16 :</b> A gauche, un œuf de <i>Parascaris equorum</i> normal (88 x 77µm) A droite, un œuf de <i>Parascaris equorum</i> infertile et atypique (80 x 66µm) (GREINER, 2014).....	64
<b>Figure 17 :</b> Méthode de flottation (BEUGNET, 2004) .....	67
<b>Figure 18 :</b> Photographie d'une lame de Mac Master (ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON, 2008).....	68

<b>Figure 19</b> : Schéma d'une lame de Mac Master (BUSSIERAS et CHERMETTE, 1991).....	68
<b>Figure 20</b> : Composants physiques de l'appareil FLOTAC (CRINGOLI et <i>al.</i> , 2010) .....	73
<b>Figure 21</b> : Protocole d'utilisation de l'appareil FLOTAC (CRINGOLI et <i>al.</i> , 2010) .....	74
<b>Figure 22</b> : Matériel contenu dans le kit FECPAK (TECHION GROUP, 2014) .....	75
<b>Figure 23</b> : Nombre d'éosinophiles dans le sang après infestation expérimentale par <i>Parascaris equorum</i> (CLAYTON et DUNCAN, 1977) (Les flèches indiquent les infestations répétées) .....	79
<b>Figure 24</b> : Taux d'éosinophiles circulants mesuré après une infestation expérimentale avec 100 000 éléments infestants (SRIHAKIM et SWERCZEK, 1978) .....	80
<b>Figure 25</b> : Image échographique d'ascarides dans la lumière de l'intestin grêle chez un poulain en colique (NIELSEN et <i>al.</i> , 2014) .....	82
<b>Figure 26</b> : Structure chimique de base des benzimidazoles.....	87
<b>Figure 27</b> : Structure chimique du Mébendazole (Méthyl 5-benzoyl-2-benzimidazolecarbamate).....	89
<b>Figure 28</b> : Structure chimique du Fenbendazole (C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S).....	90
<b>Figure 29</b> : Structure de base des dérivés de la tétrahydropyrimidine .....	93
<b>Figure 30</b> : Structure de l'embonate de pyrantel .....	94
<b>Figure 31</b> : Structure chimique de l'ivermectine (C <sub>95</sub> H <sub>146</sub> O <sub>28</sub> ).....	99
<b>Figure 32</b> : Structure chimique de la moxidectine .....	108
<b>Figure 33</b> : Pourcentage de chevaux dont l'excrétion fécale des œufs de strongles dépasse le seuil de détection après un traitement anthelminthique avec la moxidectine ou avec l'ivermectine (DI PIETRO et <i>al.</i> , 1997).....	109
<b>Figure 34</b> : Structure chimique de la pipérazine (1,4-diazacyclohexane hexahydropirazine) .....	113
<b>Figure 35</b> : Structure chimique du praziquantel (C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	114
<b>Figure 36</b> : Evolution du pourcentage d'allèles de résistance au cours d'un processus de sélection lent (type gène de détoxification) (BEUGNET, 2006) .....	126
<b>Figure 37</b> : Evolution du pourcentage d'allèles de résistance au cours d'un processus de sélection rapide (type gène de récepteur) (BEUGNET, 2006).....	127
<b>Figure 38</b> : Emploi d'un ruban à mesurer le poids (SENDEL, 2010).....	146
<b>Figure 39</b> : Mesures du périmètre thoracique et de la longueur du cheval (SENDEL, 2010) .....	146

# TABLE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b> : Tableau récapitulatif des différents procédés de conservation des prélèvements (BEUGNET et <i>al.</i> , 2004).....	62
<b>Tableau 2</b> : Nombre de larves d'ascaride regagnant l'intestin grêle chez 15 poulains infestés expérimentalement avec 1500 +/- 298 œufs de <i>Parascaris equorum</i> par animal.....	91
<b>Tableau 3</b> : Résumé du pourcentage de réduction du nombre de parasites (à l'exception des petits strongles) chez les animaux traités à l'ivermectine par rapport aux animaux non traités (KLEI et <i>al.</i> , 2001) .....	102
<b>Tableau 4</b> : Nombre de comprimés à administrer en fonction du poids du cheval.....	105
<b>Tableau 5</b> : Nombre de comprimés à administrer en fonction du poids du cheval.....	105
<b>Tableau 6</b> : Nombre de parasites comptés à l'autopsie chez les chevaux témoins et chez les chevaux traités, pourcentage d'efficacité de la moxidectine (DORCHIES et <i>al.</i> , 1998).....	110
<b>Tableau 7</b> : Molécules anthelminthiques utilisées aux États-Unis contre <i>Parascaris equorum</i> .....	115
<b>Tableau 8</b> : Tableau récapitulatif des spécialités disponibles sur le marché français en 2014 .....	116
<b>Tableau 9</b> : Nombre moyen d'œufs par gramme chez des chevaux mis en pâture avec des ovins pendant un temps plus ou moins long (DE ALMEIDA et <i>al.</i> , 2009).....	121
<b>Tableau 10</b> : Comparaison des comptages d'œufs dans les matières fécales avant et après traitement (BOERSEMA et <i>al.</i> , 2002) .....	128
<b>Tableau 11</b> : Méthode d'évaluation de l'efficacité d'un anthelminthique contre divers parasites gastro-intestinaux (DUNCAN et <i>al.</i> , 2002) .....	141

# INTRODUCTION

L'ascaridose est une parasitose due aux ascarides, elle est propre aux mammifères et sévit surtout chez les jeunes. Chez les équidés, l'ascaridose est due à *Parascaris equorum*. Cette parasitose est en effet très spécifique, les ascarides ne peuvent devenir adultes et se reproduire que chez l'hôte adapté à leur espèce.

*Parascaris equorum* est un ver qui peut atteindre 50 cm de long, il est de loin, le plus grand parasite qui existe chez les équidés. Les adultes vivent dans l'intestin grêle de leur hôte, ils se nourrissent du chyme intestinal de celui-ci et sont très prolifiques. Ils sont principalement retrouvés chez les animaux de moins de 2 ans car ces derniers présentent un défaut d'immunité.

Le rôle pathogène de *Parascaris equorum* est direct avec des incidences sur la santé des animaux (amaigrissement, dégradation de l'état général, coliques...) et indirect avec des complications bactériennes ou virales possibles.

L'ascaridose entraîne des problèmes économiques dans les élevages dus aux retards de croissance, à la mortalité occasionnelle et aux frais de traitements et de prophylaxie.

## I. Définition

Il existe deux catégories d'ascaridoses : l'ascaridose larvaire et l'ascaridose imaginaire.

L'ascaridose larvaire est due à des migrations de larves d'ascarides spécifiques ou non spécifiques. Les larves sont capables de commencer leur développement chez des animaux qui ne sont pas leurs hôtes spécifiques, et même si elles finissent par dégénérer chez les hôtes anormaux, elles peuvent leur infliger des lésions sévères. On parle de micro-ascaridoses ou encore de larva-migrans ascaridiennes. Ce phénomène a été observé chez les rongeurs de laboratoire mais aucun cas de larva migrans due à *Parascaris equorum* n'a été décrit chez l'homme (CLAYTON, 1978).

L'ascaridose imaginaire est due à la présence d'ascarides adultes, localisés normalement dans l'intestin grêle. Les localisations erratiques en diverses annexes du tube

digestif, comme par exemple, les voies biliaires sont rares chez *Parascaris equorum*. Une ascaridose larvaire peut devenir imaginaire chez l'hôte spécifique.

## II. Epidémiologie

L'ascaridose est banale, fréquente, présente en toute saison, dans tous les pays. Elle se retrouve surtout chez les jeunes, notamment au sevrage car c'est une période de fragilisation pour l'animal. Les adultes peuvent être porteurs et sont donc des sources de contamination pour les jeunes.

Elle concerne aussi bien les animaux vivants à l'intérieur comme ceux vivants à l'extérieur. Elle ne touche pas des cas isolés et souvent lors d'ascaridose dans un élevage tous les jeunes sont touchés.

Différents facteurs influencent la prévalence de l'ascaridose, notamment l'âge des animaux, les conditions climatiques et les conditions d'élevage.

### 1. L'âge

L'ascaridose touche les poulains de 2 mois à 2 ans, ensuite les sujets acquièrent une immunité suffisante. Cette parasitose est particulièrement importante chez les jeunes chevaux immédiatement après le sevrage car c'est une période où les poulains sont très sensibles.

En effet, les œufs d'ascarides peuvent être retrouvés dans les fèces à partir de 80 jours d'âge, ce qui laisse suggérer que l'infestation peut avoir lieu très tôt après la naissance. Le nombre d'œufs compté dans les crottins augmente ensuite et devient maximal entre 6 et 12 mois d'âge. Au-delà de cet âge, les études expérimentales ont montré que même sans exposition précédente, une bonne immunité se mettait en place et le nombre d'œufs dans les crottins diminue (CLAYTON, 1978).

Chez les adultes, les vers ont tendance à être éliminés spontanément, ils meurent in situ et sont transportés le long du tractus intestinal pour être excrétés dans les fèces

souvent partiellement digérés. Les adultes hébergent rarement des vers en nombre important. Ils sont alors souvent porteurs sains sauf en cas de baisse de l'immunité acquise. En effet, chez les vieux chevaux et chez les chevaux immunodéprimés, il est possible de voir évoluer une ascaridose clinique ou massive (CLAYTON, 1986, BUSSIERAS et CHERMETTE, 1988).

Des études menées en Normandie de 1987 à 1997, à partir d'observations recueillies à l'autopsie sur un effectif de 1604 chevaux ont permis de calculer une prévalence de l'ascaridose dans cette région. Celle-ci a alors été estimée à 12% chez les chevaux âgés de 1 mois à 2 ans et à 1% chez les chevaux de plus de deux ans (COLLOBERT, 1998).

## **2. Les conditions climatiques**

L'épidémiologie est peu influencée par les saisons, en effet, les animaux hébergeant les ascarides adultes, qui ont une durée de vie plutôt longue, excrètent des œufs toutes l'année et comme les œufs sont très résistants, ils deviennent une source de contamination non négligeable tout au long de l'année sauf si les conditions climatiques sont vraiment mauvaises pour le développement de l'élément infestant, comme par exemple des périodes de gel-dégel successives, de très fortes chaleurs sèches...

Dans les pays à climat tempéré, on considère que c'est au mois de juillet et d'août que l'évolution des parasites est optimale, par conséquent l'infestation est contractée au début de l'automne. Les conditions biologiques pour le développement de l'élément infestant assurent donc que la majorité des œufs soient mûres durant les mois les plus chauds de l'année, lorsque parallèlement les poulains sont les plus sensibles (CLAYTON, 1986).

Des études ont été effectuées aux quatre coins du monde, dans plusieurs pays avec différents climats. Cette ascaridose est cosmopolite, fréquente en Europe, Amérique du Nord et Amérique du Sud. Elle est également très présente en Australie, où la prévalence de la maladie chez les poulains est estimée proche de 100% et diminue ensuite avec l'âge des chevaux, comme dans les autres pays (ARUNDEL, 1985).

### 3. Les conditions d'élevage

Les ascarides femelles sont très prolifiques : une femelle peut pondre plus de 100000 œufs par jour. Un poulain infesté par une centaine d'ascarides femelles peut donc disséminer par ses crottins plus de 10 millions d'œufs par jour ! (CLAYTON, 1978, LAJOIX-NOUHAUD, 2011).

Il y a une contamination possible de tous les lieux où vivent les animaux, et en grande quantité. De plus, les œufs embryonnés peuvent survivre jusqu'à 2 ans dans le milieu extérieur, ils sont résistants aux conditions climatiques et aux désinfectants. Cet élément infestant possède également une couche protéique externe qui lui confère des propriétés adhésives qui facilitent sa dispersion passive (transport par les chaussures, par les outils dans les écuries...) (CLAYTON, 1986).

Dans les écuries, l'évolution des œufs au stade infestant est possible toute l'année, l'infestation est donc également possible toute l'année.

Les conditions d'élevage sont donc déterminantes pour la pérennité de *Parascaris equorum*, en effet un manque d'hygiène, de mauvaises vermifugations, le surpeuplement, la promiscuité des jeunes avec leur mère, les carences en phosphore, en calcium, en vitamine A et B1 qui peuvent pousser au pica, facilitent les infestations (EUZEBY, 1963, BUSSIERAS et R. CHERMETTE, 1988).

## III. Agent responsable

### 1. Classification

L'ascaride du cheval se classe de la façon suivante (EUZEBY, 2008, BUSSIERAS et CHERMETTE, 1988) :

- **Règne Animal** : être vivant hétérotrophe, c'est-à-dire qu'il se nourrit de substances organiques.

- **Sous règne des Métazoaires** : organismes eucaryotes, pluricellulaires et mobiles. Ces organismes se reproduisent par des cellules différenciées appelées gamètes qui ont subi une réduction chromatique de  $2n$  à  $n$ .
- **Phylum des Helminthes** : groupe très hétérogène plutôt défini par des caractères négatifs. Les organismes appartenant à ce groupe n'ont pas de patte, pas d'appareil rotateur céphalique ni de ciliature somatique chez les formes adultes.
- **Sub-phylum des Némathelminthes** : être vivant dont le corps est allongé avec une symétrie bilatérale et une cavité générale.
- **Embranchement des Nématodes** : vers non segmentés, dont la section est circulaire. Ils possèdent une vaste cavité viscérale, appelée pseudo-cœlome, dans laquelle on trouve du liquide cœlomique et un tube digestif complet. L'enveloppe pariétale est composée de trois couches : la cuticule, la sous-cuticule ou hypoderme et la couche musculaire. Les sexes sont séparés, les individus sont mâles ou femelles.
- **Classe des Secernentea** : vers parasite ayant des organes sensoriels, tels que des phasmides (organe glandulo-sensoriel situé latéralement dans la région caudale du corps, ouvert par une fente ou un pore), des amphides (organe glandulo-sensoriel situé dans la région céphalique du corps, le plus souvent sur les côtés de la bouche), et des papilles caudales qui sont surtout nombreuses chez le mâle. Les œufs sont dépourvus de bouchon polaire et sont rarement operculés.
- **Ordre des Ascaridida** : les adultes parasitent la lumière intestinale des mammifères et des oiseaux. Ils ont une bouche trilabée, c'est-à-dire entourée de trois lèvres (une dorsale et deux ventro-latérales).

- **Sous ordre des Ascarides** : la cavité buccale est peu développée et non cuticularisée, mais avec trois lèvres bien saillantes. L'œsophage est peu ou pas renflé à sa partie distale. Les œufs ont une épaisse coque et ils sont non segmentés au moment de la ponte et de l'évacuation.
- **Famille des Ascaridés** : les individus de ce groupe sont de taille moyenne voire de grande taille (5 à 25 cm de longueur et 1,5 à 5 mm de diamètre). Ils ont une cuticule épaisse, lisse et de couleur blanche-laiteuse. Au niveau de la bouche, les lèvres sont bien développées et séparées par de petits lobes interlabiaux. Ils possèdent un œsophage simple et cylindrique. Les mâles ont deux spicules, tandis que les femelles ont une vulve antérieure. Les œufs sont globuleux ou ellipsoïdes, ils évoluent dans le milieu extérieur jusqu'au stade de larve L3, inclus dans l'œuf et l'infestation des hôtes se fait par l'ingestion de cet élément infestant.
- **Sous-Famille des Ascaridinés** : vers parasites de mammifères terrestres. Les lèvres sont divisées en une partie antérieure et une partie postérieure par des incisions latérales. Le tube digestif est dépourvu de caecum. Les mâles ne présentent pas de gubernaculum c'est-à-dire qu'ils n'ont pas d'élément sclérifié au niveau de la poche spiculaire servant de rail de guidage pour les spicules lors de l'accouplement.
- **Genre Parascaris** : vers de grande dimension (en moyenne 20 à 40 cm de longueur et environ 6 à 8 mm de diamètre) avec de grandes lèvres incisées par un sillon à bord libre denticulé. Les œufs sont globuleux, à coque mamelonnée, de 90µm de diamètre.
- **Espèce *Parascaris equorum*** : l'adulte est caractérisé par des lèvres saillantes simulant une grosse tête et par des spicules dont l'extrémité est arrondie. Il est parasite de l'intestin grêle des équidés.

## 2. Morphologie

Les adultes présents dans l'intestin grêle sont de très grande taille, et peuvent mesurer de 15 à 50 cm de long et font environ 8 mm de diamètre. Les femelles sont plus grandes que les mâles, ces derniers mesurent en général 15 à 28 cm de long tandis que les femelles atteignent 20 à 50 cm de long (Fig. 1). Ce sont des vers ronds, blanchâtres, rigides, ils se remarquent bien quand ils sont rejetés dans les crottins.



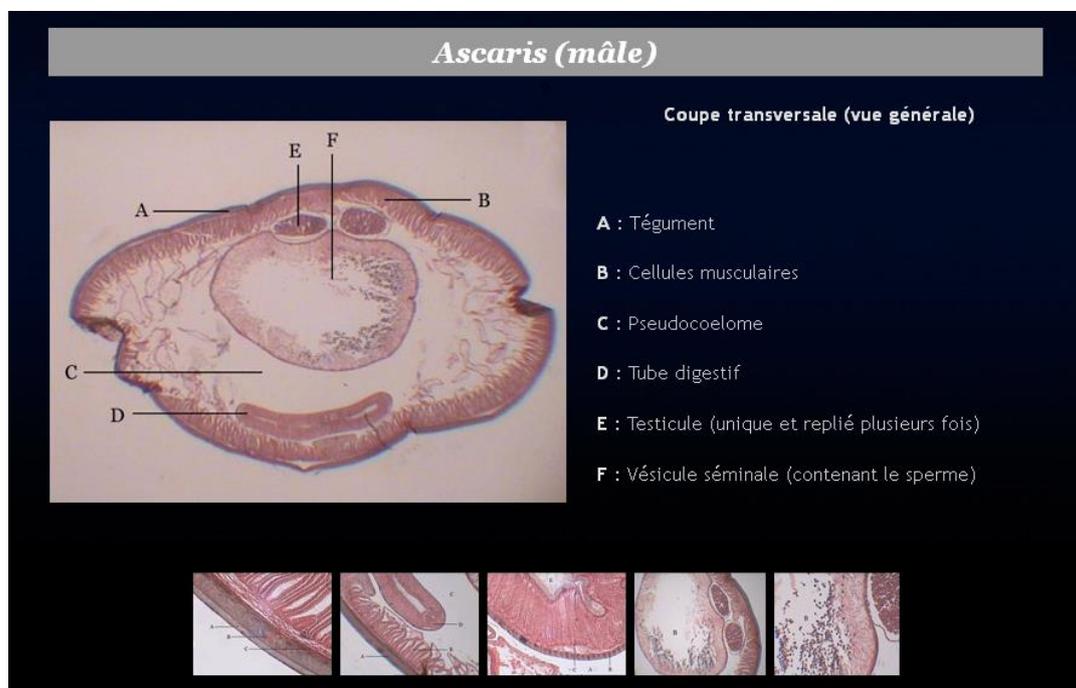
Figure 1 : *Parascaris equorum* adultes, un mâle en haut et une femelle en bas (NIELSEN et al., 2014)

Le tégument des ascarides comprend une seule couche de cellules épidermiques appelée hypoderme et une cuticule très épaisse faite d'un collagène fibreux associé à d'autres protéines comme la kératine. La cuticule porte des structures sensorielles ou papilles.

Les ascarides possèdent 2 lignes latéro-longitudinales qui renferment les cordons excréteurs et 2 autres lignes longitudinales, une dorsale et une ventrale, qui sont des cordons nerveux. Ces quatre lignes délimitent 4 espaces dans lesquels se placent les cellules myoépithéliales : ce sont des cellules à propriété contractile semblables à celle des cellules musculaires lisses. Ces cellules possèdent également de fins prolongements cytoplasmiques qui s'attachent sur les différents organes. Il y a donc une vaste cavité

viscérale qui contient les viscères attachés par les prolongements cytoplasmiques des cellules musculaires et un plasma constitué de cellules sanguines et de substances qui se sont révélées toxiques et hémolytiques pour l'hôte.

Chez les ascarides, les sexes sont séparés. Les mâles possèdent un testicule unique : un cordon qui se renfle vers l'extrémité postérieure formant une vésicule séminale permettant une accumulation de sperme (Fig. 2). L'organe copulateur est formé de spicules qui sortent du cloaque pour l'accouplement. Les femelles possèdent des ovaires qui sont eux aussi des cordons qui s'ouvrent sur un utérus dont l'orifice, appelée vulve, est situé au niveau du premier tiers du corps sur la ligne médioventrale (EUZEBY, 2008).



**Figure 2 : Vue générale d'un ascaride mâle en coupe transversale (UNIVERSITE DE BORDEAUX 1, 2013)**

L'ascaride des équidés est surtout caractérisé par l'aspect de son extrémité antérieure. Il possède en effet 3 lèvres très volumineuses de couleur grise sombre, qui simule une grosse tête (d'où l'ancienne dénomination d'ascaride *megalocephale*). Chaque lèvre est divisée en 2 parties par un sillon horizontal (G, Fig. 3), qui parcourt leur face interne et échancre leurs bords latéraux sans se prolonger sur la face externe, formant ainsi une partie antérieure (A, Fig. 3) et une partie postérieure (B, Fig. 3). La face interne des bords libres est denticulée. Les lèvres sont, de plus, pourvues de papilles sensorielles,

disposées en un cercle interne de 6 petits éléments et un cercle externe de 4 doubles-papilles proéminentes.



Figure 3 : Extrémité antérieure de *Parascaris equorum* (JOHNSTONE, 1998)

## IV. Biologie

### 1. Hôtes

Les parasites sont spécifiques : le développement complet ne peut avoir lieu que chez les chevaux, les ânes, les mulets, ou les zèbres. Ce n'est pas le cas des larves qui peuvent en effet parfois effectuer leur migration sur un hôte inhabituel, mais celle-ci ne permet pas la formation d'adultes. Les migrations anormales pourraient alors entraîner des troubles dans les organes touchés (EUZEBY, 1963).

### 2. Localisation

L'habitat normal des vers adultes est l'intestin grêle, généralement dans le duodénum et le jéjunum proximal car le pH est neutre, les parasites adultes recherchent en effet cette neutralité. On ne les trouve donc pas dans la fin de l'intestin où le pH est plus alcalin sauf en cas d'élimination par les fèces. En effet, lorsque le nombre de vers est très important dans la lumière de l'intestin, la compétition pour l'espace et l'alimentation et la possible intervention du système immunitaire de l'hôte conduisent à la mort de

nombreux parasites. Ces derniers transitent alors, par le jeu du péristaltisme, le long du tube digestif et apparaissent finalement dans les crottins.

Les ascarides adultes ne sont pas fixés à la paroi intestinale, ils sont libres dans la lumière du tube digestif. Ils peuvent tout de même s'immobiliser de façon temporaire en pinçant entre leur lèvre un pli de la muqueuse mais cela est rare.

Ils sont capables de se déplacer et d'occuper des localisations erratiques : dans l'estomac par exemple, quand la population parasitaire est élevée ou en cas de troubles digestifs, mais cela n'est pas leur localisation préférentielle car le pH est trop acide pour le parasite, mais aussi l'œsophage, le pharynx, le larynx, la trachée... Mais on peut aussi les trouver dans le canal cholédoque ou le canal pancréatique (canal de Wirsung), les conséquences cliniques sont alors importantes. Ces migrations erratiques seraient favorisées par un état fébrile dont est éventuellement atteint l'hôte. Il est connu depuis longtemps, notamment en médecine humaine, que les vers se mobilisent en cas d'hyperthermie importante de leur hôte, comme s'ils cherchaient à fuir l'organisme de celui-ci (EUZEBY, 1963).

Les larves, quant à elles, accomplissent dans l'organisme des migrations par divers organes comme le foie, les poumons... puis retournent enfin dans l'intestin grêle pour terminer leur développement. Elles sont très ubiquistes et les premières phases de migrations peuvent s'accomplir chez de nombreuses espèces animales, bien que leur évolution soit abortive chez ces hôtes anormaux.

### **3. Alimentation**

Les ascarides se nourrissent du chyme intestinal de leur hôte. Ils sont capables d'absorber quelques particules solides, mais c'est surtout d'aliments prédigérés que se nourrissent les vers adultes. Il est vraisemblable qu'ils soient capables de digérer les grosses molécules puisque leurs sécrétions digestives renferment une amylase, une lipase, une estérase, une protéase et des peptidases. On a longtemps cru que ces parasites étaient hématophages car il peut arriver qu'en pinçant la muqueuse intestinale avec leurs lèvres

puissantes et denticulées, ils provoquent de petites hémorragies et absorbent incidemment de petites quantités de sang, mais ils ne possèdent effectivement pas d'hémolysine.

Dans le chyme intestinal de l'hôte, ils trouvent alors leurs sources énergétiques avec les lipides et glucides, leurs sources protéiques avec les protides et acides aminés, leurs sources de biocatalyseurs avec les vitamines et les minéraux (phosphore et calcium notamment) et tous ces éléments sont donc utilisés au détriment de l'hôte.

Les ascarides semblent opérer un choix préférentiel sur les glucides : glucose, maltose... qui leur permettent de synthétiser le glycogène de leurs tissus. Cette synthèse est activée par des vitamines du groupe B, également absorbé avec le chyme de l'hôte. La spoliation glucidique peut être assez importante pour parfois provoquer une hypoglycémie chez l'hôte (EUZEBY, 1963).

En effet, la source d'énergie utilisée par les ascarides adultes et les larves L4 est le glucose. La voie métabolique principalement utilisée est la glycolyse anaérobie. Dans cette voie, le glucose est transformé en Phospho-énol-pyruvate (PEP) à l'extérieur de la mitochondrie et entre ensuite dans un processus de fermentation anaérobie qui n'a pas son équivalent chez les vertébrés. Cela conduit à la formation d'ATP au sein de la mitochondrie.

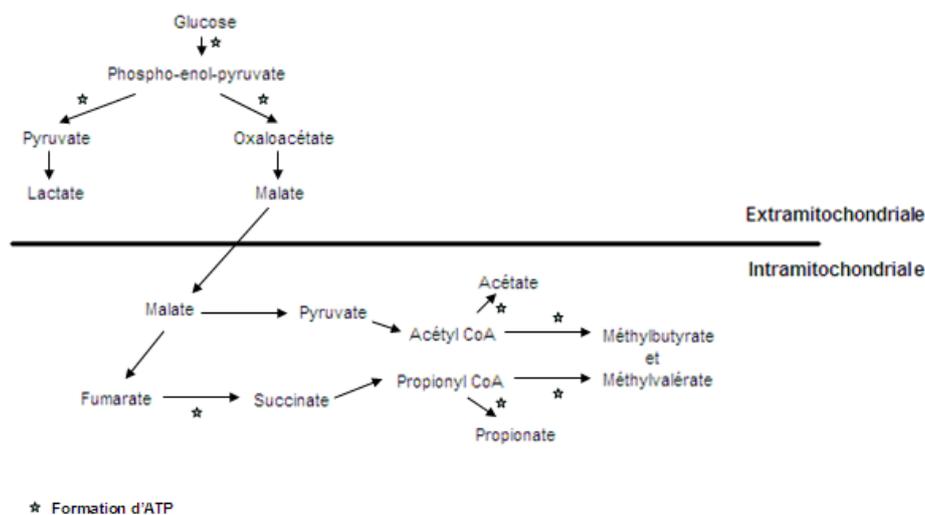


Figure 4 : Métabolisme énergétique des ascarides (DORCHIES, 1991)

L'absorption des nutriments se fait par voie buccale, par le jeu de l'aspiration œsophagienne. L'hypothèse d'une absorption transcuticulaire n'a jamais été démontrée. Il est prouvé, au contraire, que la cuticule est imperméable au glucose et qu'elle ne laisse pas passer le phosphore. Elle serait par contre perméable à l'eau et à divers ions ( $\text{Cl}^-$  et  $\text{Na}^+$  surtout,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , et un peu  $\text{K}^+$ ) et, du fait de sa consistance lipidique, elle pourrait laisser passer certaines substances hydrophobes.

Enfin, tant que les vers sont vivants, la cuticule est résistante aux enzymes protéolytiques de l'hôte (pepsine, trypsine...) mais elle devient perméable et sensible à ces enzymes après la mort des parasites.

Toutes ces données sont valables pour les parasites adultes, on ne connaît pas la nutrition des stades parasitaires pré-imaginaux (EUZEBY, 1963).

## **4. Cycle évolutif**

### **a) Reproduction**

L'accouplement des mâles et des femelles s'opère dans la lumière intestinale. Le mâle dépose son sperme dans les voies génitales de la femelle grâce à ses spicules, la fécondation est interne et amphimixique. Les femelles fécondées sont extrêmement prolifiques. Les œufs sont ensuite pondus librement, puis rejetés en grande quantité dans les matières fécales des animaux infestés. Ils ne subissent aucun développement au cours de leur transit intestinal.

Le cycle évolutif est constitué de deux phases : une phase externe ou exogène et une phase interne ou endogène. La première phase, externe ou exogène, s'effectue sur le sol, l'œuf se transforme en élément infestant. Puis la phase interne ou endogène, débute après l'ingestion de l'élément infestant par l'hôte et aboutit à l'acquisition de sa localisation définitive et de sa maturité sexuelle.

## b) Phase externe

### ▪ L'œuf

Les œufs fécondés sont globuleux, de diamètre de 90 à 100 $\mu$ m, ils possèdent une coque épaisse et finement mamelonnée, irrégulière. Cette paroi lui confère une grande résistance aux facteurs chimiques et environnementaux, elle est constituée de 3 couches concentriques :

- Une couche externe protidique, épaisse et de couleur ocre : cette pigmentation brune jaunâtre est acquise lors de sa descente le long de l'intestin. En effet, celle-ci n'existe pas sur les œufs directement prélevés dans l'utérus de l'ascaride femelle. La coque subirait donc des modifications lors de son transit dans le tube digestif, la membrane externe prendrait notamment la couleur des sécrétions biliaires de l'hôte, à l'origine de cette coloration.

- Une couche moyenne chitineuse et transparente : cette enveloppe est épaisse et possède d'importantes propriétés de résistance chimique. Elle est homogène la plupart du temps mais peut parfois paraître stratifiée. Elle est entourée d'une membrane appelée « membrane de fécondation » qui se forme après la fécondation, elle est de nature scléroprotéique.

- Une membrane interne ou vitelline, riche en granulations lipidiques, contenant de l'acide acrylique.

La plupart du temps, l'œuf n'est pas segmenté à la ponte, c'est-à-dire qu'il est constitué d'une seule cellule, bien ronde et bien définie, qui peut être un peu excentrée. En effet, généralement, l'œuf n'a pas évolué dans l'organisme de son hôte, mais il peut y arriver qu'il y ait deux cellules lorsque celui-ci est expulsé dans les fèces. On peut également trouver dans les fèces des œufs non fécondés, ils apparaissent alors sous une forme différente (EUZEBY, 1963).



Figure 5 : Œuf de *Parascaris equorum* (NIELSEN et al., 2014)

### ▪ Développement

Le blastomère se transforme en morula puis en larve L1, appelée rhabditoïde, c'est-à-dire pourvue d'un œsophage bulbeux contenant un appareil valvulaire. L1 mue ensuite en larve L2 (toujours à l'intérieur de l'œuf), elle aussi rhabditoïde, celle-ci correspond à l'élément infestant. L2 serait entourée d'une gaine, mais l'existence de cette enveloppe est discutée, certains auteurs considèrent cette formation comme un simple artéfact, résultant du gonflement ou de la fissure de la cuticule larvaire.

Trois facteurs sont importants pour que cette évolution ait lieu :

- L'intervalle de température permettant le développement des œufs est assez large, il est compris entre 15 et 35°C. Des températures inférieures à -10°C et supérieures à 50°C détruisent les œufs. L'exposition de boues résiduaire expérimentalementensemencées avec des œufs de *Parascaris equorum* à différentes températures (10, 25, 35, 45 et 55°C) montre que leur développement est optimal entre 25 et 35°C. Toutefois, à 35°C, le pourcentage d'œufs viables est plus élevé et la période d'embryonnement est plus courte qu'à 25°C. Ces expériences ont montré qu'à 10 et 55°C, les œufs ne parviennent pas au stade infestant et lorsque les auteurs testent leur viabilité, celle-ci est nulle. En effet, les œufs incubés à 10°C entament une embryogenèse très lente, mais dégénèrent au bout de 7 semaines sans parvenir au stade larvaire et à 55°C, la segmentation se déclenche dans les premières heures d'incubation mais les embryons se dégradent au bout de deux jours (KHALLAAYOUNE et FETHI, 1995). La contamination est donc favorable en été et s'arrête momentanément quand les températures sont basses.

- L'humidité du sol est également un facteur essentiel à l'évolution des œufs en élément infestant. La contamination est favorisée à proximité des points d'eau ou lors des rosées. Le taux d'humidité doit être d'autant plus élevé que la température est haute, par exemple : il faut un taux d'hygrométrie de 90 à 95% à 30°C et de 80 à 85% à 18/20°C (EUZEBY, 1963).

- Enfin, la présence d'oxygène est nécessaire à la transformation du blastomère en larve infestante. En anaérobiose, on a pu obtenir le début de développement de *Parascaris equorum* mais ce développement s'est interrompu avant la formation de la larve L2. En effet, le métabolisme de la larve est particulièrement important au moment de la mue qui conduit à la formation de l'élément infestant. La consommation d'oxygène diminue ensuite et l'œuf infestant entre dans une période de métabolisme ralenti. C'est grâce à cette période de quiescence que les œufs infestants ont une longue durée de vie sur le sol, sauf s'ils sont exposés à des facteurs létaux. Ainsi, en milieu anaérobie, les œufs d'ascarides ne deviennent pas infestant, il n'y a donc pas d'aboutissement possible des œufs dans les tas de fumiers (absence d'O<sub>2</sub>, de plus la température est supérieure à 50°C) ni dans les plans d'eau de plus de 3 à 4 cm de profondeur ou dans un sol compact où l'air ne circulerait pas (EUZEBY, 1963).

Lorsque les conditions optimales sont réunies, à une température de 35°C, le stade infestant est atteint en 9 jours. Mais en conditions réelles, le développement dure au moins une quinzaine de jours (ARUNDEL, 1985). A des températures inférieures au degré thermique optimal, le développement est retardé, et il l'est d'autant plus qu'on s'éloigne de ce degré. Il faut, par exemple, 18 à 20 jours pour que l'œuf aboutisse à l'élément infestant à 30 - 32°C et cette durée passe à 30 voire 40 jours pour des températures de 18 - 20 °C (EUZEBY, 1963).

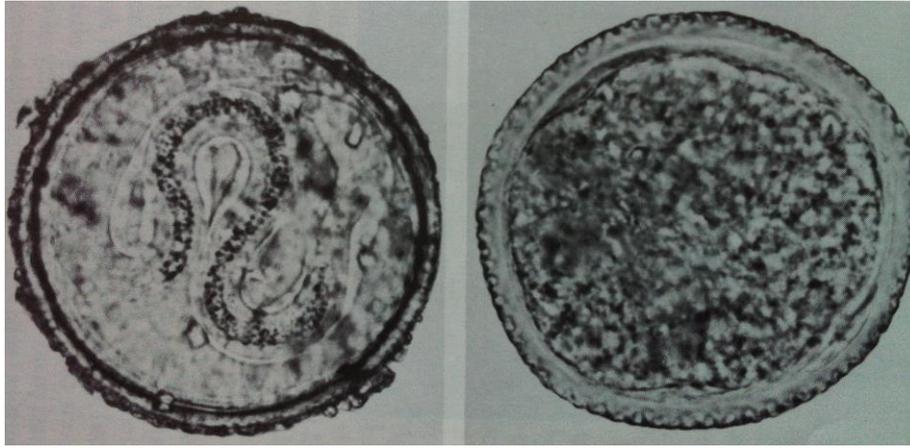


Figure 6 : Œufs de *Parascaris equorum* (CLAYTON, 1986) A gauche un œuf contenant une larve infestante, à droite, un œuf immature

### c) Phase interne

Elle débute avec l'ingestion de l'œuf renfermant la larve L2 infestante. Le développement ne reprend que si l'œuf est ingéré par un hôte réceptif. L'augmentation de température, la pression exercée sur l'œuf et le contenu digestif provoquent la libération de la larve qui commence à migrer.

L'éclosion débute dans l'estomac de 3 à 8 heures après l'absorption des œufs. Elle se poursuit dans l'intestin grêle. Les traumatismes dus au péristaltisme intestinal, l'action des sucs gastriques de l'hôte et les sécrétions enzymatiques synthétisées par la larve (« fluide d'éclosion » contenant une chitinase, une estérase et une protéase) fragilisent la coque. Elle va perdre de sa rigidité, devenir lamelleuse et se déformer sous l'effet des mouvements de la larve. L2 perfore alors les enveloppes, moyenne et externe, de l'œuf puis se libère de la membrane interne grâce à l'éperon situé à son extrémité céphalique. L2 se libère en environ 48h.

La larve L2, nouvellement éclosée mesure environ 300µm de long et 15µm de diamètre. Les larves ne se développent pas directement dans le tube digestif, elles fuient ce milieu, qui semble impropre à l'évolution et même à la survie des jeunes larves. C'est pourquoi, elles vont migrer en d'autres points de l'organisme et ainsi acquérir une forme

leur permettant de subsister dans le tube digestif. La larve de *Parascaris equorum* suit une migration complexe appelée entéro-pneumo-trachéo-entérale (EUZEBY, 1963).

Le premier stade de la migration est le franchissement de la paroi digestive. Celui-ci s'accomplit dans l'intestin grêle et dans le caecum, il permettrait à la larve L2 de se libérer de sa gaine. Puis le parasite va gagner le foie, où il va séjourner 3 à 4 jours avant de gagner le cœur droit, ce trajet peut être effectué de 3 façons :

- L2 traverse la paroi et passe dans le sang. Via les capillaires-porte, elle gagne la veine porte puis le foie en 18 à 24h. Puis la majorité gagne la veine sus-hépatique (un petit nombre de larves sont arrêtées par le filtre capillaire hépatique) et passe par la veine cave postérieure pour atteindre le cœur droit.
- L2 peut passer par la cavité péritonéale, beaucoup de larves s'y égarent mais certaines atteignent le foie et gagnent le parenchyme hépatique en traversant la capsule de Glisson. Elle cherche alors à atteindre les capillaires sus-hépatiques et migre ensuite par la veine cave postérieure et atteint le cœur droit.
- L2 pourrait également passer par les vaisseaux lymphatiques. Elle gagnerait alors les chylifères puis le canal thoracique, la veine cave antérieure et rejoindrait enfin le cœur droit.

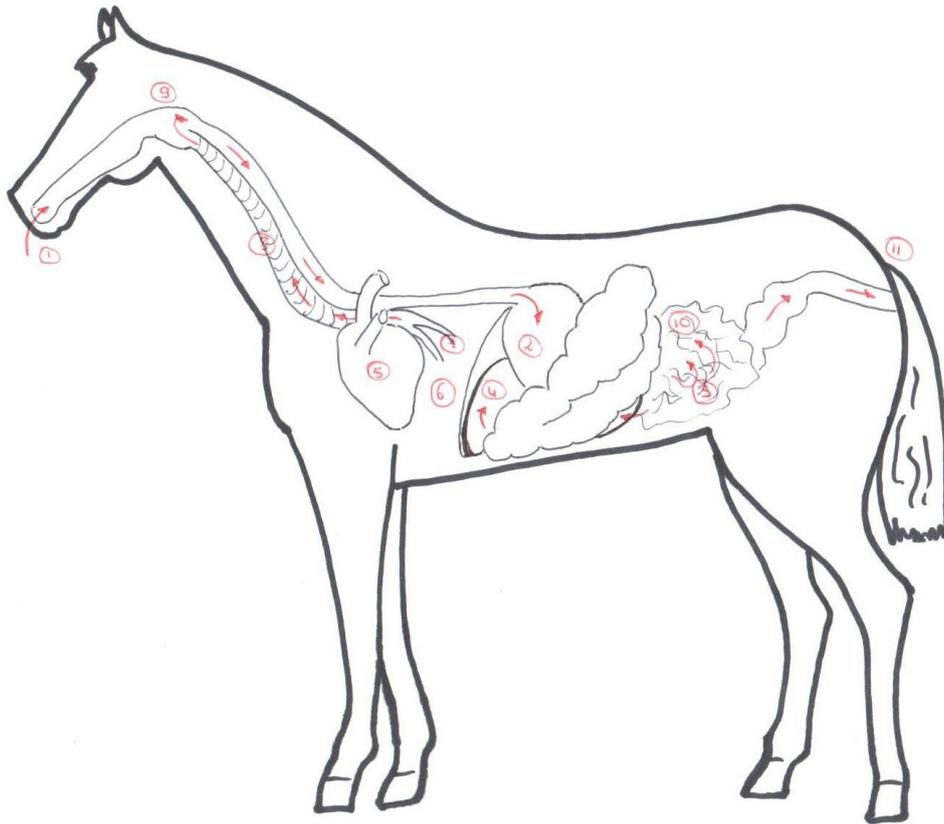
La voie sanguine est la plus souvent utilisée. Dans tous les cas, la larve atteint le cœur droit. De là, elle emprunte l'artère pulmonaire et finalement, entre le 7<sup>ème</sup> et le 14<sup>ème</sup> jour après son ingestion, la larve L2 atteint le poumon (CLAYTON, 1978).

L2 envahit les capillaires pulmonaires et y séjournerait pendant une semaine environ. Dans ces capillaires, L2 se transforme en L3, elle mesure alors environ 430µm. L3 traverse alors la paroi alvéolaire, et entre dans les alvéoles. Elle se transforme en L4, qui atteint alors 1,3mm de long, et remonte l'arbre bronchique jusque dans la trachée puis jusqu'au pharynx.

La larve est alors déglutie et bascule ainsi dans le tube digestif en passant par l'œsophage au cours de la quatrième semaine post infestation.

Finalement, le parasite revient donc dans l'intestin sous une forme qui lui permet d'y subsister. L4 descend alors dans l'intestin grêle au 23<sup>ème</sup> jour au plus tôt (ARUNDEL, 1985) et lors d'une dernière mue elle se transforme en L5 appelée jeune adulte immature 5 à 10 jours après l'arrivée du vers dans l'intestin soit environ 1 mois après l'ingestion des œufs. Elle deviendra ensuite sexuellement mûre 2 mois à 2 mois et demi après l'ingestion de l'élément infestant. En effet, en quelques semaines, le parasite va passer de 2 mm à 20 cm de long et acquérir sa maturité sexuelle (CLAYTON, 1978).

La période prépatente, c'est-à-dire de l'ingestion de l'élément infestant à l'atteinte de l'état d'adulte qui se reproduit, est de 2 mois à 2 mois et demi. Dans les conditions expérimentales, la période prépatente a été estimée entre 72 et 115 jours selon les auteurs. La période patente, quant à elle, débute lors de l'émission d'œufs dans les selles, témoin de la maturité sexuelle des adultes, et s'établit jusqu'à ce qu'il n'y ait plus émission d'œuf ou que les vers adultes soient rejetés dans le milieu extérieur.



**Figure 7 : Schéma de la migration entéro-pneumo-trachéo-entérale effectuée par les ascarides**

1. Ingestion de l'élément infestant
2. Ecllosion de l'œuf, libération de la larve L2 en 48h
3. Traversée de la paroi intestinale par L2 au niveau de l'intestin grêle
4. Invasion du foie par L2 et séjour pendant quelques jours (taille moyenne des larves : 1mm)
5. Passage par le cœur droit
6. Invasion des capillaires pulmonaires par L2 entre le 7<sup>ème</sup> et le 14<sup>ème</sup> jour et transformation en L3 (taille moyenne des larves : 2,5mm)
7. Passage dans les alvéoles pulmonaires et transformation en L4
8. Remontée de l'arbre bronchique, trachée, pharynx,
9. Déglutition et retour dans l'intestin grêle durant la 4<sup>ème</sup> semaine
10. Mue de L4 en L5 5 à 10 jours après l'arrivée du vers dans l'intestin soit environ 1 mois après l'ingestion des œufs et acquisition de la maturité sexuelle : 2 mois à 2,5 mois post infestation
11. Ponte des œufs et excrétion dans les crottins

Le cycle de *Parascaris equorum* est donc de type monoxène, puisqu'il peut s'accomplir chez un seul hôte, et semi-direct, puisqu'il comporte la nécessité de migrations larvaires avant la formation des vers adultes matures dans le tube intestinal.

Occasionnellement, des œufs peuvent être retrouvés dans les fèces d'animaux très jeunes, d'un âge inférieur à la période prépatente. Il serait alors possible que ces animaux ingèrent des œufs, que l'éclosion n'ait pas lieu, et ces derniers se retrouveraient alors dans les crottins, inchangés après la traversée du tube digestif (CLAYTON, 1978).

Chez un hôte inhabituel, l'évolution est toujours incomplète : elle ne donne jamais un ver adulte dans l'intestin à la fin du cycle. L'éclosion des œufs et la libération des larves L2 a lieu comme chez des hôtes normaux, puis le parasite commence sa migration. Les larves L2 peuvent s'arrêter et s'enkyster dans le foie et les poumons. Mais il est également connu que dans les autres espèces d'ascarides, les larves L2 peuvent aussi continuer leur migration dans divers organes, elles peuvent par exemple gagner les yeux, le système nerveux central... où elles sont à l'origine de lésions graves. Mais le plus souvent, elles rejoignent bien le tube digestif, sous la forme L4, et elles sont alors finalement expulsées sous cette forme dans les fèces des hôtes anormaux (EUZEBY, 1963).

## **5. Facteurs de réceptivité, sensibilité, développement d'une immunité**

L'espèce animale est tout d'abord une condition même de la réceptivité. Puis, les jeunes sont plus réceptifs et plus sensibles que les adultes. Ainsi, ils manifestent cliniquement l'infestation, et leurs symptômes sont plus graves. Tout état pathologique intercurrent entraîne également une augmentation de la réceptivité et de la sensibilité. Il existe également des facteurs extrinsèques comme l'alimentation, le pouvoir infestant des œufs, l'intensité du parasitisme, le mode d'élevage et les conditions d'entretien.

L'âge : les ascaridoses sont avant tout des maladies des jeunes. Il semble qu'au delà d'un certain âge, les animaux soient capables de se débarrasser spontanément de leurs parasites. En effet, les infestations à *Parascaris equorum* sont trouvées occasionnellement chez les chevaux adultes, mais cette maladie concerne surtout les animaux de moins de 2 ans et plus particulièrement les poulains de moins de 6 mois. En effet, les études expérimentales ont montré que, même sans exposition précédente à *Parascaris equorum*,

une bonne immunité se mettait en place à partir de 6 mois d'âge (CLAYTON et DUNCAN, 1979a).

L'état de santé : les individus en mauvais état de santé, atteints de parasitisme, d'infections diverses, de troubles digestifs... semblent plus réceptifs. En ce qui concerne les troubles digestifs, l'insuffisance biliaire et l'hypo-péristaltisme sont des facteurs primordiaux. Ils surviennent notamment lorsque les jeunes sont sevrés trop tôt avec un régime alimentaire auquel leur tube digestif n'est pas encore adapté.

L'alimentation : les carences augmentent fortement la réceptivité. Les régimes alimentaires déséquilibrés et notamment carencés en vitamine A et/ou en vitamines du groupe B favorisent le parasitisme. En effet, plusieurs mécanismes seraient impliqués : les carences provoqueraient une diminution de la résistance organique générale, des défauts de phagocytose des larves migratrices (notamment par manque de vitamine A) et une diminution du péristaltisme intestinal favorisant ainsi le maintien des parasites. Au contraire, un régime lacté rend moins réceptif à l'ascaridose. La fermentation lactique acidifie le milieu intestinal et cause des difficultés d'évolution pour les larves nouvellement écloses.

Le pouvoir infestant des œufs : il diminue au fur et à mesure de leur vieillissement, cet affaiblissement paraît lié à une diminution des réserves lipidiques des larves.

L'influence du mode d'élevage et des conditions d'entretien peut augmenter les chances d'infestation par le surpeuplement des locaux et surtout la proximité des jeunes animaux avec leur mère (EUZEBY, 1963).

Enfin, les animaux parasités semblent être capables, un certain temps après l'ingestion des œufs, d'expulser de nombreux parasites. En effet, lors d'infestations expérimentales, CLAYTON et DUNCAN ont constaté qu'environ 45 jours après l'ingestion des éléments infestants, les animaux présentaient une diminution du nombre de parasites présents dans l'organisme, accompagnée d'un rejet important de vers dans les fèces. Expérimentalement, le nombre de parasites passe de 4150 au jour 37 à seulement 123 au jour 146. Cette élimination importante d'ascarides est due à l'acquisition d'une immunité antiparasitaire, notamment lors des deux dernières mues. Cependant, la compétition des parasites pour l'espace et les nutriments est également un facteur influençant le nombre de

vers rejetés dans les crottins. En effet, les parasites étant en croissance et la taille du tube digestif de l'hôte n'étant pas extensible, la population parasitaire est ainsi limitée (CLAYTON and DUNCAN, 1979b).

Une immunité est donc rapidement acquise après une infestation initiale à *Parascaris equorum*, les animaux mettent en place des phénomènes de défense permettant de lutter contre les parasites. Cependant cette immunité est de courte durée et certains mécanismes peuvent être néfastes pour l'hôte.

La mise en place de l'immunité acquise diffère, en précocité et en intensité, en fonction de l'espèce parasitaire concernée. On pourrait ainsi classer les parasites internes des équidés en trois groupes : ceux pour lesquels l'immunité développée est forte et précoce, ceux qui induisent une réponse lente et incomplète et ceux pour lesquels aucune immunité acquise ne semble se mettre en place. Dans le cas des ascarides, la réponse protectrice est de forte intensité et s'installe précocement, ils appartiennent au premier groupe (COLLOBERT-LAUGIER et *al.*, 2002, KLEIT, 2000).

Le système immunitaire reconnaît les parasites grâce à leurs antigènes de surface, leurs molécules structurales ou les enzymes qui apparaissent quand il y a destruction du parasite et leurs produits de sécrétion. Des mécanismes effecteurs de la réponse immunitaire se mettent alors en place. La réponse est complexe : elle est à la fois humorale, cellulaire et locale.

La réaction humorale fait intervenir des anticorps qui peuvent avoir deux rôles. Ils peuvent être neutralisants, comme les immunoglobulines G, car ils sont capables de bloquer la pénétration des parasites, d'inhiber les enzymes nécessaires à leur métabolisme et diminuent ainsi la charge parasitaire. Mais ils peuvent aussi être cytotoxiques, c'est le cas des immunoglobulines M, G et E qui agissent en présence du complément. L'immunité cellulaire est principalement menée par les lymphocytes T. Ils interagissent avec l'antigène via un récepteur spécifique appelé récepteur T ou Ti.

Une immunité locale se met également en place. Cette dernière correspond à l'ensemble des phénomènes intervenant en surface ou en profondeur des muqueuses et ayant pour but de lutter contre l'agent pathogène. Par exemple, le système immunitaire du tractus digestif du cheval comprend de nombreuses cellules lymphoïdes et apparentées, qui peuvent soit se trouver dans des formations tissulaires bien définies comme les plaques

de Peyer, soit être plus ou moins libres dans la lamina propria de la muqueuse intestinale. Lors de stimulation par un antigène, une réaction immuno-inflammatoire va se développer. Les lymphocytes T stimulent la sécrétion de mucus, l'association des lymphocytes B et T permet d'activer des éosinophiles, des mastocytes et la production d'IgE, ce qui entraîne une vasodilatation locale et une augmentation du péristaltisme et finalement ce phénomène inflammatoire favorise l'expulsion des vers (PASTORET et *al.*, 1990, PIETREMENT, 2004).

## **6. Sources de parasites**

Les principales sources de parasites sont les animaux atteints d'ascaridose imaginaire, celles-ci sont très importantes car la prolifération des ascarides est énorme. Les sujets atteints excrètent beaucoup mais les porteurs latents sont aussi dangereux pour les animaux sensibles car ils disséminent les parasites sans qu'ils n'aient été suspectés. A cet égard, le rôle des mères est très important car elles vivent en promiscuité avec leur poulain.

La transmission a lieu via les matières fécales, renfermant les œufs infestants. La dissémination des éléments infestants se fait par les animaux atteints d'ascaridose imaginaire mais aussi par des vecteurs. Des vecteurs inertes comme la litière souillée (épandage de fumier trop frais : pas de stérilisation biothermique par exemple), eau, fourrage... mais aussi des vecteurs animés. Ces vecteurs sont des hôtes de transit, qui ingèrent les œufs et les rejettent tels quels, comme des insectes (mouches, blattes), des oiseaux...

## **7. Modes d'infestation, longévité et résistance**

L'ingestion de l'élément infestant se produit essentiellement par l'alimentation et parfois par l'eau de boisson contenant des œufs embryonnés. L'infestation peut se faire dans le milieu extérieur comme dans les locaux. A l'intérieur, c'est l'ingestion de litière ou le simple léchage des murs, du sol... qui permet l'infestation. Celle-ci est donc entretenue en permanence si les règles d'hygiène ne sont pas respectées (nettoyage, désinfection). A

l'extérieur, ce sont les pâturages et le sol lui-même qui sont à l'origine de l'infestation : par la consommation de végétaux, d'eaux ou de terres souillées d'œufs embryonnés. De plus, en climat tempéré, l'infestation du sol persiste quasiment toute l'année.

Chez *Ascaris suum*, une autre espèce d'ascarides, il est connu que la principale source de contamination des porcelets est la mamelle souillée de matières fécales de la truie. Une autre voie de contamination du poulain pourrait donc être la succion des mamelles souillées de déjection ou de débris de litière contaminée.

La longévité des adultes dans le tube digestif de leur hôte est assez difficile à évaluer en raison des occasions permanentes de réinfestation des animaux, entraînant un allongement apparent de la période patente. Mais on pense que la durée de vie des adultes est assez longue, elle est évaluée entre 55 et 65 semaines.

Quant à la survie des œufs dans le milieu extérieur, de nombreux facteurs peuvent l'influencer : la température, l'humidité, la texture des sols, l'ensoleillement, l'existence dans le substrat de processus biologiques générateurs d'anaérobioses.

En pays tempéré, dans de bonnes conditions, la survie des œufs peut atteindre plusieurs années. Cependant un été très chaud, sec et ensoleillé ou un hiver dont les oscillations thermiques favoriseraient les phénomènes de gel et dégel est néfaste pour la survie des œufs.

En effet, la température, les rayons ultra-violets et la dessiccation sont des facteurs ayant des actions complémentaires : lorsque la température est élevée et l'ensoleillement important, les œufs résistent peu à la dessiccation, ces différents facteurs exercent une action létale sur les œufs en quelques heures.

Les sols meubles, ombragés et humides (paille, fumier, terre avec une fine pellicule d'eau...) favorisent la survie des œufs car ces substrats créent un environnement favorable et une protection pour les œufs qui ne sont alors pas directement exposés aux facteurs létaux (EUZEBY, 1963).

Cependant, dans les fumiers et les composts la stérilisation des fèces s'opère spontanément en raison de l'anaérobiose et de la chaleur engendrées par les processus de fermentation. Les études montrent que la viabilité des œufs dans les composts diminue

très rapidement pour être finalement nulle en une semaine environ, que ces derniers soient constamment exposés aux facteurs testés expérimentalement ou de façon intermittente.

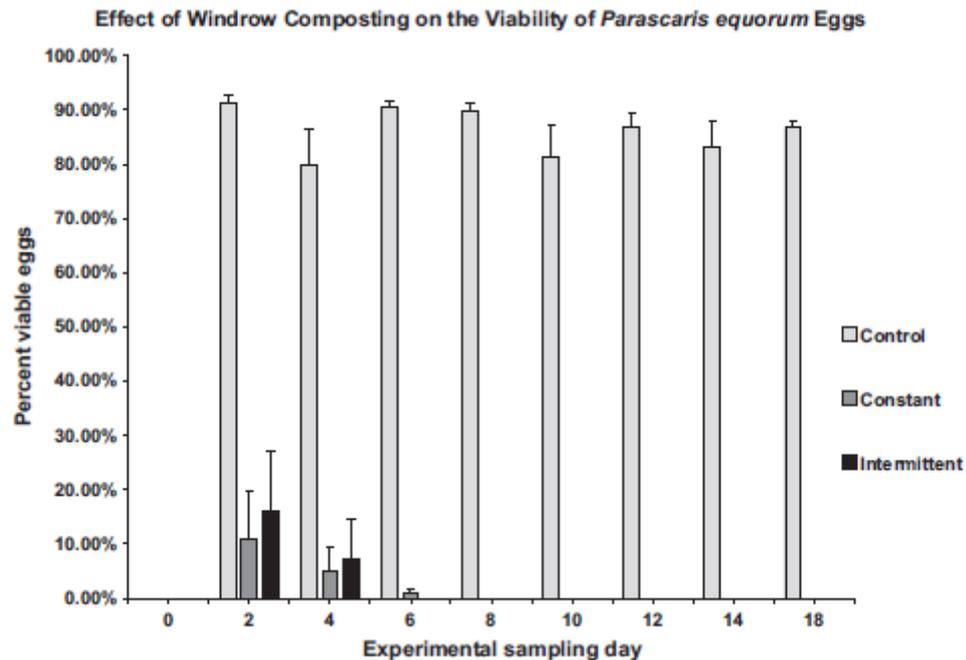


Figure 8 : Effet du compostage sur la viabilité des œufs de *Parascaris equorum* au cours du temps (GOULD et al., 2013)

La résistance des œufs aux agents chimiques est généralement considérée comme très élevée, les désinfectants classiques sont pour la plupart totalement inefficaces. Le rôle de protection, outre la coque, provient de la membrane vitelline. Ainsi, les agents chimiques minéraux lysent les couches superficielles de la coque provoquant une déformation ovulaire mais n'attaque pas la membrane vitelline, la membrane lipidique joue alors toujours son rôle protecteur. On peut même dire que les antiseptiques usuels augmentent la longévité des œufs lorsqu'ils sont ajoutés au substrat dans lequel ils se trouvent car ils détruisent les bactéries de putréfaction qui pourraient créer un milieu anaérobie.

En fait, les œufs sont sensibles à trois groupes de corps chimiques : les agents réducteurs, les solvants des lipides et les vapeurs toxiques. Mais ces composés agissent mieux en laboratoire que dans la nature car les œufs sont moins protégés par les matières organiques.

Les agents réducteurs privent le milieu d'oxygène. On peut par exemple citer le nitrite de sodium, qui est utilisé à des concentrations comprises entre 0,25 et 1‰. Les solvants des lipides sont des désinfectants organiques à base de phénol ou de ses dérivés. Ils sont capables de dissoudre les lipides et vont donc altérer la membrane vitelline. Les composés les plus utilisés sont le crésol 10%, le 2,4 dichloro-phénol à 5‰, l'hexyl-résorcinol à 5‰, le 2,4 dinitro-hexylphénol à 0,125 ou 0,250‰, le 2,4 dinitro-o-crésol à 0,015‰ ou 0,03‰ et le pentachlorophénol à 0,01‰. Des agents tensio-actifs peuvent être additionnés à ces produits pour en augmenter l'efficacité en rendant la coque ovaire plus perméable. Les substances solubles dans les lipides sont donc capables d'atteindre le cytoplasme de l'œuf ou la larve. Les molécules utilisées appartenant à ce groupe sont des esters alcooliques de l'acide isosulfocyanique tels que l'isosulfocyanate d'allyle ou le tolyl-isosulfocyanate d'allyle, des esters phénoliques de l'acide isosulfocyanique comme le thio-cyano-ortho-crésol ou le thio-cyano-méta-crésol, des esters phosphoriques comme le chlorthion utilisé à une concentration de 1‰ et l'iode et ses dérivés iodés. Les vapeurs toxiques sont aussi très efficaces contre les œufs car elles ont également un fort pouvoir de pénétration dans les lipides mais elles ne sont aujourd'hui plus utilisées. On peut tout de même citer le bromure de méthyle et le dibromo-méthane (EUZEBY, 1963).

Cependant la désinfection efficace des bâtiments et le traitement des pâtures sont illusoires car la manipulation en routine de ces spécialités est difficile (temps de contact très long, produits dangereux pour le manipulateur, risques environnementaux importants).

## V. Pathogénie

Le pouvoir pathogène s'exerce sous les deux états évolutifs de *Parascaris equorum*. Les formes adultes sont les agents d'une ascaridose imaginaire, affectant essentiellement l'intestin grêle et incidemment quelques localisations erratiques notamment les voies biliaires et pancréatiques. L'ascaridose larvaire est due aux larves migratrices, que l'on peut aussi appeler *larva migrans* ascaridienne ou micro ascaridose et contrairement à l'ascaridose imaginaire, elle n'est pas spécifique.

## **1. Action pathogène des adultes**

### **a) Action mécanique ou action de masse**

Elle est importante car les vers sont de grande taille. Elle peut entraîner des irritations, des obstructions et des perforations.

Par sa présence, ses mouvements à la surface de l'épithélium et les traumatismes occasionnés par ses puissantes lèvres sur la muqueuse intestinale, le parasite est considéré comme un corps étranger et induit des réactions inflammatoires. Il cause alors une entérite catarrhale, qui peut être associée à de la diarrhée et des troubles de l'absorption intestinale. De plus, lorsqu'un ver touche la muqueuse intestinale, il provoque de petites excitations locales à l'origine de spasmes douloureux susceptibles d'induire des coliques.

Les vers adultes, souvent nombreux, peuvent former des pelotes. Il peut donc se former des bouchons vermineux, qui obstruent l'intestin, arrêtant ainsi le transit. En amont de ces obstructions, on peut parfois observer une dilatation avec un amincissement de la paroi intestinale voire même une déchirure de celle-ci.

Parfois les vers peuvent remonter le canal cholédoque ou le canal de Wirsung et les obstruer de manière plus ou moins totale. En bloquant un de ces conduits, ils peuvent ainsi provoquer un ictère par rétention ou une pancréatite (EUZEBY, 1963).

### **b) Action traumatique**

En pinçant la muqueuse intestinale avec leurs lèvres, les parasites peuvent être responsables de perforation. Pas directement, car leur bouche n'est pas assez puissante pour trouer la paroi intestinale, mais ils fragilisent la muqueuse et les zones lacérées sont des portes d'entrée pour les bactéries. Des germes peuvent alors s'y multiplier, formant ainsi des micro-abcès qui peuvent s'ouvrir au niveau de la séreuse, il en résulte une perforation intestinale (EUZEBY, 1963).

### **c) Action bactérifère**

Comme nous venons de le décrire ci-dessus, les traumatismes causés par les vers peuvent être le nid d'infections. L'action bactérifère des vers adultes s'exerce essentiellement dans l'intestin grêle mais elle existe aussi lors des localisations erratiques. Par exemple, les ascarides peuvent être à l'origine d'infection des voies biliaires ou des canaux pancréatiques en érodant la muqueuse du canal cholédoque ou du canal de Wirsung. De plus, ils favorisent les affections ascendantes en transportant sur leur cuticule des bactéries intestinales (EUZEBY, 1963).

### **d) Action spoliatrice**

La spoliation par un petit nombre de parasites est faible puisqu'on estime qu'une femelle prélève environ 100 g de chyme par an. Cependant, l'action spoliatrice devient non négligeable lorsque les individus sont lourdement parasités et elle l'est d'autant plus que ces animaux sont souvent très jeunes ou débilisés, leurs besoins nutritionnels sont donc accrus.

De plus, cette spoliation est sélective. Elle peut en particulier provoquer une hypoglycémie chez l'hôte car les parasites prélèvent préférentiellement des glucides dans le chyme intestinal. Mais les vers seraient également capables de perturber le métabolisme glucidique de l'hôte, en provoquant par exemple une hyperactivité des îlots de Langerhans, en inhibant la glycogénolyse hépatique ou encore en empêchant la reconstitution du glucose à partir de l'acide lactique, ce qui renforcerait le phénomène d'hypoglycémie (EUZEBY, 1963).

Cette spoliation sélective explique également les troubles de l'ossification chez les jeunes animaux très infestés car les parasites absorbent préférentiellement certaines vitamines et certains minéraux. Ils sont notamment responsables de carences en vitamine C et en phosphore. Ils prélèvent également de manière préférentielle certains acides aminés comme la méthionine, ce qui perturbe le métabolisme protéique de l'hôte d'où le

manque d'état et les retards de croissance observés chez les animaux parasités (NIELSEN et *al.*, 2014).

### **e) Actions toxique et antigénique**

L'hypothèse d'un pouvoir toxigène de *Parascaris equorum* reste controversée mais des « syndromes toxiques », avec une atteinte de l'état général, ont parfois pu être observés chez les animaux parasités. L'origine de cet état est due aux rejets des produits du métabolisme des vers adultes et à leurs produits de désintégration contenus dans le liquide coelomique et libérés lors de la lyse des parasites. Des phénomènes allergiques, et éventuellement toxiques, voire des accidents anaphylactiques peuvent en particulier être observés après vermifugation, lorsque les animaux avaient déjà été sensibilisés au parasite ou lorsqu'ils sont massivement infestés. On peut alors constater chez l'hôte des troubles circulatoires, notamment une bradycardie associée à une hypotension, des troubles digestifs tels que de la diarrhée ou au contraire des stases digestives..., des troubles sanguins, des troubles de la thermogénèse ou encore des troubles nerveux et neuromusculaires comme des phénomènes convulsifs (EUZEBY, 1963).

## **2. Action pathogène des larves**

### **a) Action traumatique et irritative**

Les larves causent des dommages dans les organes par lesquels elles effectuent leur migration. Le processus pathogénique est directement lié au cheminement des larves dans les différents parenchymes qu'elles traversent (intestin, foie et poumon) car elles causent des traumatismes et des irritations créant des réactions inflammatoires répondant le plus souvent à des phénomènes immunitaires (EUZEBY, 1963).

## **b) Action bactérifère**

Les larves créent un milieu favorable aux infections en fragilisant les différents tissus qu'elles traversent. Dans le tube digestif, les larves offrent des portes d'entrée aux germes lorsqu'elles perforent la muqueuse au début de leur migration, elles favorisent par exemple les infections par des salmonelles. Mais la migration larvaire cause principalement des dommages sur les voies respiratoires : suite aux lésions, il peut se développer des infections dues à des germes normalement présents dans les bronches et les poumons ou induire des pneumonies par d'autres agents pathogènes. Cette parasitose a par exemple été incriminée dans la pathogénèse de *Rhodococcus equi* chez les poulains. Des infections secondaires par des virus, des bactéries (Rickettsies, Streptocoques...) ou des protozoaires peuvent en effet s'installer plus facilement après le passage des larves.

De plus, elles peuvent entraîner des agents infectieux à partir du tube digestif. Il est possible qu'elles se chargent de bactéries et/ou de virus à partir de l'intestin et qu'elles puissent les transporter dans les différents tissus où elles accomplissent leurs migrations, induisant ainsi des infections comme des hépatites bactériennes ou des pneumonies à virus (EUZEBY, 1963).

## **c) Action antigénique**

Lors de leur migration, les larves sont en contact étroit avec leur hôte. Les antigènes de surface, les molécules rejetées par leur métabolisme actif et les antigènes libérés lors de la mue ou lors de la mort des parasites conduisent à de fortes réactions immunitaires. On peut notamment observer la présence de granulomes éosinophiliques dans les différents organes traversés par les larves.

Ces réactions immunitaires, qu'elles soient cellulaires ou humorales, permettent de lutter contre l'infestation. En effet, à partir de 6 mois d'âge, lorsque les poulains sont capables de développer une immunité suffisante, de nombreuses larves sont tuées au cours de leur migration, en particulier dans le foie et les poumons (CLAYTON et DUNCAN, 1979a).

Mais cette réaction de défense peut également avoir des conséquences défavorables, elle peut être à l'origine de phénomènes allergiques. En effet au cours de leurs migrations, les larves sensibilisent l'organisme, et lors d'un nouveau contact avec l'antigène, par exemple lors d'une réinfestation ou lors de la lyse de nombreux parasites après vermifugation, l'hôte peut présenter des symptômes de nature allergique qui peuvent aller jusqu'à l'atteinte de l'état général, tels que les accidents anaphylactiques que nous avons décrit plus tôt (EUZEBY, 1963).

## **VI. Le tableau clinique**

Les symptômes observés lors d'ascaridose sont très variables. Ils peuvent se traduire par de la toux, de la fièvre, du jetage, des coliques, une perte d'état, une faiblesse généralisée... Quelques cas fatals sont rapportés dans la littérature, COLLOBERT rapporte un taux de mortalité de 0,8% chez les poulains (COLLOBERT, 1998). On rappelle que les signes cliniques sont surtout observés chez les jeunes, ils sont rares chez les animaux plus âgés. On décrira tout d'abord le tableau clinique dû à la présence d'ascarides adultes dans l'organisme puis celui dû à la présence de larves.

### **1. Les ascaridoses imaginale**

On désigne sous cette appellation le syndrome clinique lié à la présence d'ascarides adultes dans l'organisme. Elle se manifeste chez le poulain à partir du deuxième mois de la vie et peut prendre 2 formes : l'ascaridiose banale et l'ascaridiose compliquée. En effet, la plupart du temps, on observe les formes atténuées des ascaridoses imaginale se caractérisant par : une infestation faible qui passe le plus souvent inaperçue, des animaux adynamiques, un appétit capricieux, un retard de croissance, et la présence d'œufs à l'examen coproscopique. Mais les symptômes peuvent varier en fonction de la charge parasitaire, de l'âge, de l'état de l'animal... allant jusqu'à la présentation de formes plus graves que l'on appelle ascaridoses compliquées.

## a) **Ascaridose banale**

Au cours des infestations légères, aucun symptôme n'est visible, seul le rejet occasionnel de quelques ascarides dans les crottins peut attirer l'attention des propriétaires.

Dans les infestations plus importantes, de moins en moins fréquentes aujourd'hui, les ascaridoses imaginales sont caractérisées par un affaiblissement progressif, un poil piqué et terne, une peau sèche et des troubles digestifs. Plus rarement, on peut observer des troubles nerveux et des troubles osseux.

La baisse de l'état général se traduit par un abattement, une adynamie et un amaigrissement malgré une bonne alimentation. Chez les jeunes équidés, la croissance et le développement sont ralentis. Lors d'infestations expérimentales, on a pu constater que le gain de poids des animaux parasités pouvait être diminué de moitié par rapport à un lot témoin sur une période de 3 mois (CLAYTON, 1978). On observe parfois également une diminution de l'appétit des animaux et du pica. Dans les formes plus sévères, les muqueuses sont décolorées car un syndrome anémique peut évoluer. Les animaux touchés sont alors apathiques, ils ont tendance à être rapidement essoufflés et présentent parfois des crises sudorales.

Ces observations cliniques résultent de l'hypoprotéinémie et des autres carences dues à l'action spoliatrice des ascarides adultes sur les animaux parasités et celles-ci peuvent, de plus, être renforcées par un appétit parfois capricieux.

Enfin, à cause de la dénutrition générale, la peau devient sèche et perd son élasticité. Le pelage prend un aspect terne et les poils s'arrachent facilement, on parle de poil piqué.



**Figure 9 : A gauche, un animal parasité par *Parascaris equorum*, à droite un animal témoin (CLAYTON, 1986)**

Les troubles digestifs sont ceux d'un catarrhe intestinal chronique, se traduisant par l'émission de crottins ramollis, pâteux et de flatulences fétides. On peut parfois même observer une véritable diarrhée, habituellement de coloration claire, mais qui peut parfois évoluer en entérite hémorragique.

Ce catarrhe intestinal peut également alterner avec des périodes de constipation pendant lesquels l'individu n'expulse que des crottins petits, secs et coiffés de mucus. Les animaux parasités présentent parfois de plus un ballonnement de l'abdomen, on parle de « poulains avec un ventre de vache ».

On constate souvent également des borborygmes nombreux et sonores, des animaux qui baillent fréquemment, voire du ptyalisme. En effet, la présence du parasite dans le tube digestif engendre une modification de sa motricité.

Ces troubles se traduisent par des coliques légères, intermittentes, à répétitions, accompagnées de bâillements. Ces coliques débutent brusquement, sans cause apparente et en général, elles disparaissent rapidement aussi, sous l'effet d'un traitement symptomatique (EUZEBY, 1963).

Dans les troubles nerveux, on inclue le comportement anormal des poulains, de la nervosité, des mordillements... On peut également voir apparaître des symptômes de vertige et de la prostration.

Finally, chez certains sujets lourdement parasités, on observe un syndrome d'ostéodystrophie. Il se traduit par des signes de rachitisme chez les poulains, et d'ostéomalacie chez les adultes, en particulier chez les jeunes juments lors de gestation.

## **b) Ascaridose compliquée**

Les complications qui peuvent apparaître sont de plusieurs types. Elles peuvent être mécanique et traumatique, elles donnent alors lieu à une ascaridose chirurgicale, ou d'ordre toxique et allergique et on l'appelle alors l'ascaridose « toxémique ».

### **▪ Complications mécaniques et traumatiques**

Les ascarides adultes peuvent causer des impactions, des intussusceptions, des abcédations voire des perforations de l'intestin qui peuvent parfois même évoluer en déchirure intestinale. Les signes cliniques apparaissent alors brutalement, de façon dramatique et on observe un syndrome typique de colique par obstruction.

On note donc une diminution voire une absence de bruits digestifs à l'auscultation, un reflux gastrique généralement positif (qui peut contenir des vers entiers), les signes d'une atteinte de l'état général tels que de la tachycardie, de la tachypnée, une déshydratation progressive, un abattement et des signes de douleur (RYU, 2004). On observe en particulier chez les poulains en colique une position caractéristique de décubitus dorsal.



**Figure 10 : Posture caractéristique d'un poulain en colique (BARTMANN, 2002)**

En fait, l'animal présente souvent un abattement extrême entrecoupé par des crises d'agitation intense liées à la douleur. On peut aussi constater une augmentation de la température rectale.

Finalement, des signes de choc comme des muqueuses sèches et foncées, une élévation de l'hématocrite et des protéines totales, une augmentation du temps de remplissage capillaire, un pouls faible, des extrémités froides et une dépression générale peuvent être observés.

La rupture intestinale peut avoir lieu lors d'un coucher très brutal, lorsque le poulain se laisse tomber pendant un épisode de colique. La mort survient alors rapidement par hémorragie interne ou péritonite.

Le traitement de ces complications est chirurgical la plupart du temps, d'où le nom d'ascaridose chirurgicale. En effet, les occlusions peuvent parfois être levées avec un traitement médical, occasionnellement associé à une typhlotomie, mais lors d'obstruction plus sévère, une entérotomie est nécessaire (Fig. 11). Celle-ci peut s'accompagner d'une entérectomie lorsqu'une résection des parties devitalisées est indispensable.



**Figure 11 : Entérotomie réalisée dans le jéjunum afin de lever une obstruction d'ascarides (FREEMAN, 2012)**

L'ascaridose chirurgicale concerne les animaux de 4 à 24 mois, avec un âge médian de 5 mois. On a pu remarquer que les mâles étaient plus touchés que les femelles (67% des poulains atteints d'ascaridose chirurgicale sont des mâles).

Il a également été noté que 75% des cas surviennent à la fin de l'été ou en automne et il a été observé que 54% des signes cliniques apparaissent dans les 6 jours suivants un traitement anthelminthique. Cependant, ce type de complication peut également survenir sans historique de traitement (REINEMEYER et NIELSEN, 2009).

Le pronostic est bon lorsque le traitement médical est un succès mais il devient très réservé lors d'intervention chirurgicale, en effet 92% des poulains opérés ne survivent pas. Les principales complications observées après la chirurgie sont des nécroses de l'intestin, des adhérences, la formation d'abcès et l'apparition de péritonite (FREEMAN, 2012).

Par ailleurs, lorsque les parasites occupent des localisations erratiques, les symptômes que l'on peut observer sont assez différents. Les signes cliniques sont ceux d'un ictère par rétention lorsqu'un ascaride obstrue le canal cholédoque, ou encore ceux d'une insuffisance pancréatique lors de l'obstruction du canal de Wirsung. On peut notamment

observer des muqueuses jaunes, de l'anorexie, de la dépression, de la fièvre et des symptômes de coliques. Lors de pancréatite aigue, les douleurs abdominales sont particulièrement fortes et on peut également remarquer des signes de choc et un reflux naso-gastrique. Lors de cholangiohépatite, l'animal peut également présenter des symptômes neurologiques dus à l'accumulation de molécules neurotoxiques, comme par exemple de l'ataxie, un pousser au mur, de l'amaurose ou une marche en cercle (AXON et PALMER, 2008, MAIR et LOVE, 2012).

#### ▪ **Les accidents toxémiques et allergiques**

Ces accidents toxémiques et allergiques surviennent lors d'« ascaridose toxémique ». La maladie prend alors l'allure d'un syndrome toxique. Elle est d'évolution aiguë, avec une atteinte de l'état général et accompagnée d'hyperthermie : la température rectale peut dépasser 40°C.

L'examen de l'appareil cardiovasculaire laisse apparaître des signes de choc comme de la tachycardie ou à l'inverse, une bradycardie, des muqueuses congestionnées et sub-ictériques... On observe également des symptômes digestifs notamment une violente entérite avec une diarrhée jaune paille d'odeur fétide, le cheval manifeste alors des signes de douleur abdominale sévères.

Ces symptômes peuvent être accompagnés de troubles nerveux comme des contractures musculaires involontaires, voire des crises convulsives, entrecoupées de période de torpeur. La mort est possible ou bien on observe une amélioration en 24 à 48 h avec en général l'élimination de nombreux ascarides morts (EUZEBY, 1963).

## **2. Les ascaridoses larvaires**

Le plus souvent, elles passent inaperçues et se caractérisent par des troubles respiratoires sans atteinte de l'état général. Les signes cliniques sont frustes et apparaissent entre le deuxième et la quatrième semaine après l'ingestion des éléments infestants.

En effet, les signes respiratoires sont généralement discrets et sont dus à la migration des larves dans les voies aériennes supérieures. Une toux, rauque, sèche et quinteuse est fréquemment rapportée (CLAYTON et DUNCAN, 1977). Elle peut être accompagnée d'une légère hyperthermie et d'un discret jetage muco-purulent.

Lorsque l'infestation est plus importante ou lors de complications, les signes respiratoires sont plus sévères, le jetage devient abondant, épais et grisâtre, on observe une atteinte de l'état général et une toux plus profonde.



**Figure 12 : Jetage observé chez un poulain infesté expérimentalement (16 jours après infestation) (CLAYTON, 1986)**

En effet, la migration des larves dans les poumons favorise les infections secondaires par des germes opportunistes, on peut par exemple citer les surinfections bactériennes à *Streptococcus equi equi* ou virales par le virus de la grippe, des adénovirus ou des rhinovirus. Les symptômes observés sont alors ceux d'une broncho-pneumonie, avec notamment une dyspnée, une faiblesse et de l'anorexie. Il est alors difficile d'attribuer les symptômes aux ascarides et aux agents de surinfection (CLAYTON, 1978).

## VII. Les lésions

### 1. Les lésions générales

Le plus souvent, les lésions générales sont discrètes, les chevaux peuvent ne présenter qu'un poil piqué, une peau sèche ou un léger retard de croissance. Mais lors d'infestation massive, les lésions observées peuvent être plus sévères : on peut voir évoluer un syndrome anémique, voire ictérique, une véritable cachexie, du rachitisme ou une ostéomalacie.

## **2. Les lésions locales**

### **a) Dues aux adultes**

Les lésions dues aux parasites adultes sont principalement retrouvées dans l'intestin grêle, leur localisation préférentielle. Les parasites sont visibles dès l'ouverture du tube digestif, ils sont retrouvés en nombre variable, libres dans la lumière. La paroi intestinale est épaissie, la quantité de contenu alimentaire est diminuée, les nœuds lymphatiques mésentériques sont hypertrophiés et réactionnels.

La muqueuse intestinale est recouverte de mucus et peut présenter des aires congestives, des ponctuations hémorragiques et parfois des ulcérations voire même de petits abcès.

En effet, microscopiquement, on retrouve des zones oedématisées, des infiltrations séro-sanguinolentes et des infiltrats cellulaires de granulocytes éosinophiliques, neutrophiliques ou de cellules mononuclées. Ces lésions sont surtout présentes en portion terminale de l'intestin grêle.

Dans les formes compliquées, les vers engendrent une obstruction et une stase alimentaire. Les impactions se produisent souvent dans la partie distale du jéjunum ou dans l'iléon mais elles peuvent également avoir lieu dans une autre partie du tube digestif comme la courbure pelvienne du colon. La paroi peut alors se dévitaliser et évoluer à terme vers une nécrose, il faut donc rapidement lever l'impaction par entérotomie ou si l'intervention a été trop tardive, il faudra effectuer une entérectomie pour retirer la zone violacée et non viable.



**Figure 13 : Stade précoce d'une impaction d'ascarides dans le jéjunum (BARTMANN, 2002)**

Dans les cas de volvulus ou d'intussusception, l'évolution est rapide, on observe tout d'abord des lésions hémorragiques puis une tuméfaction des tissus. Dans les cas les plus graves, on peut observer une déchirure de la paroi intestinale. Celle-ci peut tout d'abord être incomplète, il se forme alors une poche, sous la séreuse où les vers et des débris digestifs s'accumulent. Ces derniers peuvent se déverser dans la cavité péritonéale en cas d'éclatement de la séreuse : la déchirure est alors complète, à bords irréguliers, tuméfiés (Fig. 14). Dans ce cas, le taux de mortalité est élevé, on observe alors dans la cavité abdominale des abcès, des adhérences et des signes de péritonites.



**Figure 14 : Obstruction simple par un bouchon vermineux de *Parascaris equorum* adultes (TAMZALI, 2010)**

Les lésions observées lorsque les ascarides occupent des localisations erratiques concernent le foie et le pancréas. En effet, le foie se congestionne et les voies biliaires se dilatent quand les ascarides obstruent le canal cholédoque. Une obstruction du canal de

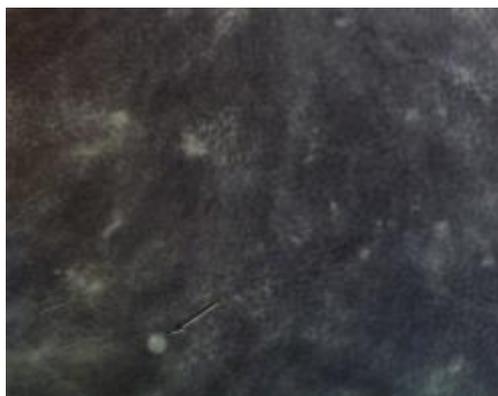
Wirsung peut engendrer une pancréatite, avec des zones de nécrose dans le pancréas dues à l'action des sucs pancréatiques s'écoulant par les canaux déchirés sous la capsule du pancréas.

## **b) Dues aux larves**

Quelques heures après l'éclosion des œufs dans la lumière du tube digestif, on peut constater la présence de larves au niveau des villosités intestinales, un œdème et des infiltrations cellulaires de la paroi de l'intestin grêle et de la partie glandulaire de l'estomac. On rappelle que ces infiltrats sont principalement constitués de cellules mononuclées et de granulocytes éosinophiles. Un peu plus tard, les nœuds lymphatiques mésentériques présenteront un infiltrat cellulaire semblable à celui retrouvé dans la paroi intestinale et on pourra même observer la présence de larves dans la partie corticale du tissu (SRIHAKIM et SWERCZEK, 1978).

Au début de leur migration, les larves atteignent les lobules hépatiques principalement via les ramifications de la veine porte. Elles rejoignent ensuite la veine centrolobulaire en empruntant les capillaires sinusoides. Ainsi, les larves provoquent dans le foie de petites lésions hémorragiques, rendant parfois visible des trajets sinueux sous la capsule. Ces dernières sont observables dès le deuxième jour après l'ingestion de l'élément infestant (CLAYTON and DUNCAN, 1979b). Par ailleurs, les nœuds lymphatiques hépatiques sont hémorragiques, inflammatoires et hypertrophiés. Leur taille peut atteindre deux à trois fois la taille normale (SRIHAKIM et SWERCZEK, 1978).

Ces lésions se transforment ensuite en foyers nécrotiques, évoluant alors en tâches grises à blanchâtres. Elles peuvent finalement prendre deux formes : ronde et discrète ou diffuse et irrégulière.



**Figure 15 : Nodule rond, surélevé et bien circonscrit et d'autres lésions plus diffuses sous capsulaires sur le foie d'un poulain infesté expérimentalement (14 jours après ingestion des éléments infestants) (CLAYTON, 1986)**

Plus tard, de la fibrose et des infiltrations cellulaires autour de la triade portale pourront être observées. Ces infiltrats sont principalement composés de lymphocytes et de granulocytes éosinophiles, mais on trouve aussi des plasmocytes et des mastocytes (ARUNDEL, 1985). Ces lésions disparaissent généralement en quelques semaines en l'absence de réinfestation. A l'inverse, si l'animal se réinfeste, le nombre de lésions dans le parenchyme hépatique tend à augmenter.

Chez les animaux plus âgés, il semble qu'une immunité forte se mette en place. On retrouve en effet des lésions comme des nodules lymphoïdes ou des granulomes autour de larves mortes qui évoquent une importante réponse du système immunitaire de l'hôte (ARUNDEL, 1985).

La pénétration des larves dans les poumons, entre le septième et le quatorzième jour après l'ingestion des éléments infestants, cause des hémorragies pétéchiales et ecchymotiques à la surface et dans le parenchyme pulmonaire. Les septa interlobulaires sont également épaissis. Ces lésions semblent plus nombreuses dans les parties crânielles des poumons.

En effet, en début d'évolution, on observe un œdème des septa interlobulaires et de l'espace sous pleural avec une infiltration diffuse de granulocytes éosinophiles. Un large nombre d'éosinophiles migrants s'accumulent autour des artères et des veines pulmonaires.

Dans les plus petites voies respiratoires, on peut observer des foyers d'atélectasie où les alvéoles sont collabées et infiltrées d'éosinophiles. Ces lésions sont souvent accompagnées de petites hémorragies.

Les bronches et les bronchioles subissent également des infiltrations éosinophiliques et parfois quelques granulocytes éosinophiles sont même retrouvés dans la lumière de ces voies aériennes. Ces dernières peuvent de plus présenter un épithélium hyperplasique et des larves en migration directement visibles au microscope.

Puis les granulocytes éosinophiles vont peu à peu être remplacés par des lymphocytes et des macrophages. Ces cellules ont tendance à s'accumuler autour des vaisseaux et des bronchioles. Dans les stades plus avancés, la formation de nodules lymphoïdes pourra également être constatée. Ils sont constitués de lymphocytes entourés d'une fine capsule fibreuse et d'une couronne de granulocytes éosinophiles. Quelques éosinophiles peuvent également être retrouvés au sein même des lésions.

Ces nodules peuvent se former autour de débris cellulaires ou de restes de larves de parasites qui sont mortes ou ont été détruites par le système immunitaire de l'hôte. Cette réponse peut être le reflet du statut immunologique de l'hôte, car les nodules sont plus nombreux lors de réinfestation.

Les nodules lymphoïdes apparaissent sphériques, surélevés, translucides ou gris verdâtres à la surface des poumons mais on les retrouve également dans le parenchyme pulmonaire. Ils peuvent mesurer plus d'un centimètre de diamètre. Ils sont trouvés à partir de 4 à 6 semaines post-infestation et peuvent persister plusieurs mois. 95 à 100 jours après l'ingestion des éléments infestants, on constate que de nombreux nodules sont calcifiés.

Les nœuds lymphatiques bronchiques et médiastinaux sont hypertrophiés, réactionnels et infiltrés de granulocytes éosinophiles. Ils peuvent également être le siège de nodules lymphoïdes, semblables à ceux trouvés sur les poumons.

Lors d'infestations expérimentales, les auteurs ont également parfois observé des foyers de pneumonie caractérisés par des collapsus alvéolaires, une rougeur et une consolidation du tissu pulmonaire, associés à des lésions de bronchite et de bronchiolite.

Ce deuxième type de modifications pathologiques des tissus a été retrouvé sur les lobes crâniens et accessoire des poumons. La présence d'un agent de pneumonie enzootique, par exemple un virus commun des voies respiratoires ou un mycoplasme, dont le pouvoir pathogène a pu être exacerbé par la migration des larves d'ascarides, a été suggérée (NICHOLLS *et al.*, 1978).

## VIII. Le diagnostic

### 1. Épidémiologique

C'est un diagnostic de suspicion, plusieurs éléments vont pouvoir orienter le praticien. Le jeune âge de l'animal, son état physiologique et la faiblesse de son statut immunitaire (période de sevrage par exemple), une récente introduction dans l'effectif seront en faveur d'une ascaridose. Mais le type de population atteinte, la gestion de l'alimentation (possibles carences), le protocole de vermifugation et l'hygiène des locaux sont également des points à évaluer par le praticien lors d'une première visite dans l'élevage.

### 2. Clinique et différentiel

Une ascaridose imaginaire peut être suspectée chez les jeunes animaux, maigres, présentant un retard de croissance, une sécheresse de la peau, un poil piqué, un ballonnement de l'abdomen, des signes d'entérite... Mais le diagnostic clinique est peu spécifique. Dans les formes compliquées, celui-ci est plus difficile encore, ces formes n'évoquant pas du tout l'allure habituelle d'une maladie vermineuse. Cependant lorsque le praticien se trouve face à un syndrome occlusif chez un poulain, il doit penser à une éventuelle obstruction intestinale par des parasites.

Le diagnostic clinique de l'ascaridose larvaire est également extrêmement difficile. On peut avoir une plus forte suspicion lorsque les symptômes respiratoires sont associés à des signes d'atteinte digestive, mais l'ascaridose larvaire est sous-diagnostiquée.

Dans le diagnostic différentiel, on peut inclure les autres infestations parasitaires comme par exemple les strongyloses ou les strongyloïdoses. Les symptômes digestifs peuvent également avoir une origine alimentaire ou microbienne (salmonelles, colibacilles...), même si ces affections peuvent parfois être associées. Enfin, il faut aussi penser à des malformations dentaires, à un phénomène de compétition pour la nourriture... qui peuvent aussi causer un mauvais état général.

### **3. Diagnostic coprologique**

L'examen coproscopique a pour but de mettre en évidence la présence d'éléments parasitaires dans les crottins. Dans le cas d'une suspicion d'ascaridose, on cherchera en particulier la présence d'œufs dans les fèces, confirmant ainsi la présence d'ascarides adultes chez l'animal. C'est l'examen complémentaire de choix lors de forte suspicion. De plus, cet examen est facile à réaliser, peu coûteux et permet d'obtenir un diagnostic de certitude (ZENNER et BOURGOIN, 2012).

Le prélèvement s'effectue de préférence directement dans le rectum car lorsqu'il est effectué sur le sol, il peut être souillé par des parasites de végétaux, des grains de pollen ou d'autres débris végétaux qui peuvent être confondus avec les œufs. Cela permet également d'éviter les contaminations par des nématodes de l'environnement et donc éventuellement l'obtention de faux positifs (EUZEBY, 1981).

On prélève une quantité assez importante de fèces à l'aide d'un gant de fouille qui une fois retourné, fera office de récipient. On peut par exemple prélever plusieurs dizaines de grammes de matière fécale, pour un cheval produisant 10 à 20 kg de selles par jour, cela

évite les erreurs liées à une inégale répartition des œufs dans le bol fécal (BUSSIERAS et CHERMETTE, 1991).

L'idéal est d'analyser le prélèvement dans l'heure, si ce n'est pas le cas, le prélèvement doit subir un procédé permettant sa conservation et il sera de préférence maintenu en conditions anaérobies (on peut simplement faire un nœud avec le gant après avoir chassé l'excès d'air).

L'échantillon peut tout d'abord être conservé par le froid, en le réfrigérant à 4°C mais il devra alors être analysé dans les 2 à 3 jours suivant la collecte. Il est également possible de congeler le prélèvement, à -15°C, les fèces peuvent alors être gardées pendant plus d'un an, mais certains éléments peuvent être abîmés par la congélation et la coproculture est impossible ultérieurement. Enfin, la conservation par le formol à 10% est aussi possible, cela permet une conservation longue en vue d'un examen différé lors d'un transport ou d'une expertise par exemple. Mais avec ce procédé de conservation, la coproculture et la coproscopie quantitative ne sont plus réalisables par la suite.

Cette étape est importante pour préserver les éléments parasitaires, cependant, les œufs de *Parascaris equorum* étant très résistants, un défaut de conservation est rarement à l'origine de résultats faussement négatifs.

	Durée de conservation	Avantages	Inconvénients
<b>Réfrigération (+ 4°C)</b>	Conservation courte(2 à 3 jours)	- Possibilité de coproculture ultérieure. - Pas d'altération des formes parasitaires.	- Faible durée de conservation.
<b>Congélation (- 15°C)</b>	Conservation longue(au delà d'une année)	- Permet de conserver les fèces en vue d'un examen différé ex : expertise.	- Risque de provoquer l'éclatement de certains éléments. - Nécessite une congélation précoce. - Pas de coproculture possible ultérieurement.
<b>Formol à 10%</b> (= Formol 100 mL, NaCl 8 g, eau qsp 1000 mL)	Conservation longue	- Permet de conserver les fèces en vue d'un examen différé ex : expertise. - Transposable en dehors du cabinet.	- Pas de coproculture possible ultérieurement. - Pas d'analyse quantitative possible ultérieurement (dilution).

**Tableau 1 : Tableau récapitulatif des différents procédés de conservation des prélèvements (BEUGNET et al., 2004)**

L'examen macroscopique doit être systématique. Il permet d'évaluer la qualité du prélèvement (consistance, coloration, conservation) et de repérer déjà d'éventuels ascarides adultes qui peuvent parfois être retrouvés dans les crottins. Cette première observation est simple et rapide mais elle est extrêmement peu sensible, c'est pourquoi il faut ensuite effectuer un examen microscopique.

Pour l'étude microscopique, on peut procéder à une analyse qualitative ou quantitative. Cet examen permet en effet d'identifier les œufs de *Parascaris equorum* voire même de les dénombrer. La liste du matériel nécessaire est assez simple, d'où l'accessibilité de l'analyse en clinique vétérinaire. Elle comporte effectivement des lames et des lamelles, de la verrerie classique de type verres à pied, un agitateur, des tubes à essai, un tamis type passoire à thé (de préférence en acier inoxydable), une balance, un pilon et un mortier, des produits consommables (gants, compresses, pipettes...) et un microscope muni des objectifs x4, x10, x40 et x100 (objectif à immersion). Puis, selon la méthode employée, l'examen peut nécessiter quelques équipements particuliers tels que la lame de Mac Master, des liquides denses, une centrifugeuse... (BUSSIERAS et CHERMETTE, 1991).

L'identification des œufs au microscope est facile mais il y a quelques variations morphologiques possibles à connaître. On pourra observer des œufs fécondés normaux, globuleux, pourvus d'une coque épaisse, finement ponctuée et irrégulière, jaune brun, contenant une ou deux cellules parfois excentrées, mais aussi des œufs non fécondés, qui ont une coque plus mince, plus allongée et un cytoplasme amorphe et diffus. De plus, leur coque ne possède ni la membrane de fécondation, ni la seconde membrane limitante, située autour de la couche vitelline, que possèdent habituellement les œufs fécondés. Ces derniers finissent par dégénérer et on peut occasionnellement constater cette lyse, une granulation au centre de l'œuf est alors visible. Enfin, il est également possible d'observer des œufs dépourvus de leur membrane externe et dont la coque apparaît ainsi amincie et parfaitement lisse.



**Figure 16 : A gauche, un œuf de *Parascaris equorum* normal (88 x 77μm) A droite, un œuf de *Parascaris equorum* infertile et atypique (80 x 66μm) (GREINER, 2014)**

Ainsi, la visualisation d'un de ces éléments à l'examen microscopique témoigne d'une infestation de l'animal prélevé par *Parascaris equorum*. Toutefois, il faut faire attention à ne pas les confondre avec des éléments du milieu extérieur, comme des spores de champignon par exemple. Cependant, ces derniers sont plus petits que les œufs d'ascarides et portent à leur surface de petites aiguilles pointues. Le pollen de quelques phanérogames peut également être confondu avec les œufs d'ascarides mais les grains sont plus petits que les œufs et on ne peut voir aucun élément cellulaire à travers leur épaisse paroi.

### **a) Méthodes qualitatives**

#### **▪ Technique sans enrichissement**

L'observation directe consiste simplement à délayer une petite quantité de matière fécale, équivalente à un demi grain de riz, dans deux gouttes de soluté physiologique sur une lame. Il faut ensuite recouvrir l'ensemble d'une lamelle et enfin l'observer au microscope. Cette technique est très simple, très rapide et peu coûteuse puisqu'elle exige très peu de manipulations. Cependant les résultats sont souvent décevants car les éléments infestants sont rarement observés. En effet, le volume d'échantillon analysé est très faible et de nombreux débris peuvent gêner la lecture de la préparation (BUSSIERAS et

CHERMETTE, 1991). Il est donc préférable d'utiliser une technique avec enrichissement afin de concentrer les éléments parasitaires pour les rendre plus facilement détectables.

#### ▪ **Méthode de sédimentation**

Le principe de cette méthode est de diluer le prélèvement dans une solution aqueuse de faible densité afin de concentrer les éléments parasitaires, de densité supérieure, dans le culot du tube. Pour cela, on délite 1 volume de fèces dans 10 à 15 volumes de solution. Puis le mélange est tamisé à travers une passoire recouverte d'une gaze double et laissé au repos au moins 6 heures. Pour diminuer le temps d'attente, il est aussi possible de centrifuger la solution obtenue après filtration (5 minutes à 2000 tours par minute). Enfin le culot est observé au microscope.

Cette technique est également très simple et peu coûteuse. Les principaux inconvénients sont le long temps d'attente lorsqu'on n'utilise pas la centrifugation et la quantité importante de débris qui peuvent se retrouver dans le culot malgré la filtration. La sensibilité de cette méthode est donc assez moyenne (BUSSIERAS et CHERMETTE, 1991).

#### ▪ **Méthode par flottation**

Cette technique est très souvent utilisée, en effet, elle est particulièrement efficace pour observer les œufs de *Parascaris equorum*. Elle consiste à diluer une petite quantité de prélèvement dans une solution de densité élevée afin de concentrer à la surface du liquide les éléments parasitaires alors que les débris coulent au fond. Cette méthode est facile à réaliser, peu coûteuse, rapide et sensible. Cependant, le choix de la solution est primordial car si elle n'est pas assez dense, les éléments parasitaires ne vont pas remonter à la surface, mais si elle est trop dense, elle risque d'endommager les éléments parasitaires en provoquant leur déformation voire leur lyse. Les principaux liquides utilisés sont donc :

- la solution de saccharose : 130g de saccharose + 1g de Phénol dilués dans 100mL d'eau, de densité de 1,117,

- le liquide de Faust : c'est une solution de sulfate de zinc à 33% de densité de 1,18,
- le liquide de Willis : solution aqueuse de chlorure de sodium à saturation de densité de 1,20,
- la solution de nitrate de sodium, également de densité de 1,20 : 315g de nitrate de sodium sont dilués dans de l'eau pour obtenir un litre de solution finale,
- la solution de Rinaldi, de densité égale à 1,25, est une solution de saccharose et d'iodo-mercurate de potassium. Pour confectionner cette solution, on prépare tout d'abord une solution de 100g de bi-iodure de mercure auquel on ajoute 63mL d'eau puis 78g d'iodure de potassium. On prélève 20mL de cette solution pour l'adjoindre à 600g de saccharose dilué dans 600mL d'eau. Cependant, la solution de Rinaldi n'est que rarement utilisée. En effet, compte tenu du danger potentiel des sels de mercure pour l'environnement, sa toxicité envers l'homme et l'animal, son usage nécessite des conditions de stricte biosécurité. Les manipulations se font donc uniquement sous hôte et la récupération et la régénération des solutions sont obligatoires.
- la solution de sulfate de Magnésium à saturation de densité de 1,28 : 350g de sulfate de magnésium sont dissous dans de l'eau pour obtenir une solution finale d'un litre,
- la solution de sulfate-acétate de zinc : 33g de sulfate de zinc + 15g d'acétate de zinc dilués dans 100mL d'eau, d'une densité finale de 1,33,
- Ou encore la solution de sulfate de zinc à saturation d'une densité allant de 1,35 jusqu'à 1,39 : 685g de sulfate de zinc heptahydraté sont dissous dans 685mL d'eau.
- La solution d'iodo-mercurate de potassium, composée de 150g de bi-iodure de mercure, de 111g d'iodure de potassium et de 399 g d'eau, d'une densité finale de 1,44, a été peu à peu abandonnée par les laboratoires pour les raisons de toxicité précédemment citées.
- De même, la solution de sulfate de zinc et d'iodo-mercurate de potassium n'est que très peu utilisée. Pour obtenir une telle solution, on réalise une première solution qui est constituée de 100g de bi-iodure de mercure, de 63mL d'eau et de 78g d'iodure de potassium. Une deuxième solution est ensuite réalisée en ajoutant 600g de sulfate de zinc heptahydraté à 600mL d'eau. On réunit ensuite les deux solutions pour obtenir la solution finale, de densité égale à 1,45.

Pour exécuter la méthode par flottation, il suffit de déliter 5g de matières fécales dans 70mL de solution dense dans un verre à pied. Le mélange est ensuite tamisé à l'aide d'une passoire doublée d'une gaze, puis un tube est rempli à ras bord avec la solution obtenue, en formant un ménisque convexe. On recouvre alors le ménisque avec une lamelle en prenant soin de ne pas emprisonner de bulles d'air. Il faut finalement laisser reposer l'ensemble 20 à 30 min. On récupère alors la lamelle sur laquelle les éventuels éléments parasitaires sont restés collés et on l'observe sur une lame au microscope.

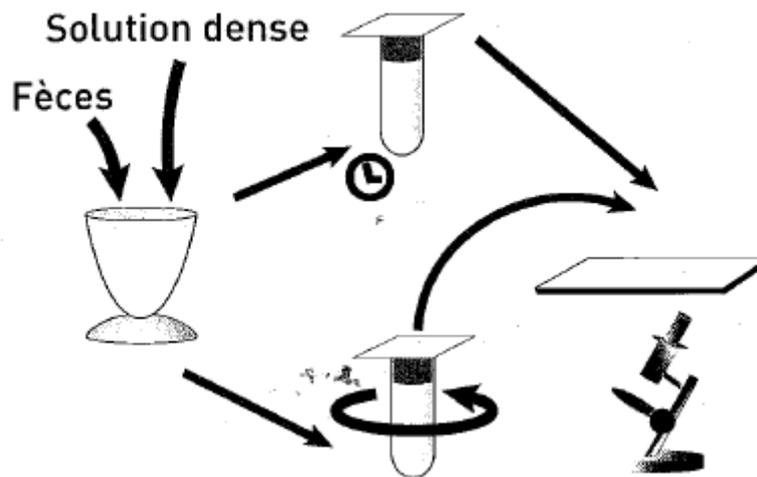


Figure 17 : Méthode de flottation (BEUGNET, 2004)

Les résultats sont généralement très bons. Pour écourter le temps de manipulation et pour augmenter encore la sensibilité de l'examen en diminuant la quantité de débris végétaux, il est possible de centrifuger la solution.

On trouve dans le commerce des kits, comme par exemple OVASSAY® *Plus* Kit (Annexe 2), qui fournissent le matériel nécessaire à l'examen et le liquide dense.

Il est possible de combiner plusieurs techniques pour augmenter encore la sensibilité de l'analyse. On peut par exemple associer les méthodes de sédimentation et de flottation, en récupérant le culot du premier examen pour le soumettre à une dilution dans un liquide dense. On termine ensuite l'analyse comme lors d'une technique par flottation classique.

## b) Méthodes quantitatives

### ▪ Méthode de Mac Master

Cette technique est très souvent utilisée. Elle permet, par un procédé très simple, de déterminer le nombre moyen d'œufs par gramme de matière fécale analysée, celui-ci est noté o.p.g..

Le principe de cette méthode est basé sur la technique d'enrichissement par flottation avec une solution diluée au 1/15<sup>ème</sup>. Elle nécessite alors l'emploi d'une lame spéciale : la lame de Mac Master. Celle-ci est formée de deux compartiments, séparés par une cloison, le volume total de la lame est de 1mL. Sur chaque compartiment, une grille divisée en 6 colonnes de 1,7 mm de large est gravée, délimitant ainsi deux cellules de comptage, chacune d'entre elle permettant l'observation d'un volume égal à 0,15mL.

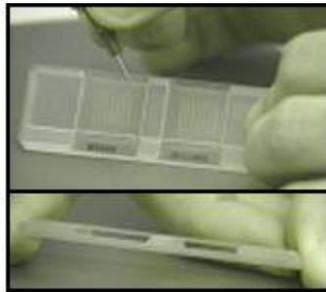


Figure 18 : Photographie d'une lame de Mac Master (ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON, 2008)

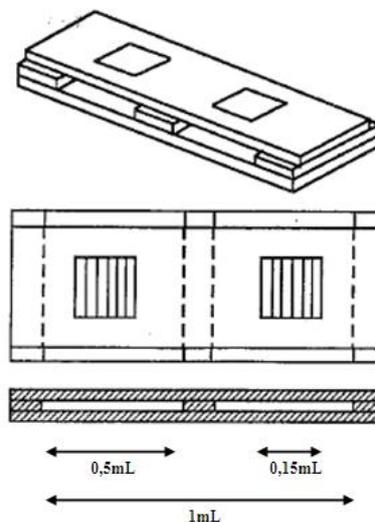


Figure 19 : Schéma d'une lame de Mac Master (BUSSIERAS et CHERMETTE, 1991)

Pour réaliser la solution, 5 grammes de l'échantillon sont prélevés puis délités dans 70mL de solution dense. La suspension obtenue est ensuite tamisée, et après avoir homogénéisé le mélange, on en extrait une petite quantité pour remplir les cellules de la lame de Mac Master, en prenant soin de ne pas former de bulles.

Au bout d'une dizaine de minutes, les éléments parasites sont remontés sous l'effet de la densité et sont venus se coller sous la lame supérieure. La lame est alors examinée au microscope à faible grossissement (objectif x10). On compte les œufs observés sous les deux carrés gravés en faisant défiler successivement les 6 bandes de chaque cellule, la largeur des colonnes étant alors tout juste contenues dans le champ du microscope.

Pour obtenir le nombre d'œufs par gramme de fèces, il faut multiplier le nombre d'œufs comptés par 50. En effet, le volume d'une chambre correspond à 0,15mL de solution diluée au 1/15<sup>ème</sup> donc pour obtenir la quantité d'œufs contenue dans un gramme de fèces, il faut multiplier le nombre d'œufs observés dans un compartiment par 100, mais la sensibilité de la technique est meilleure si on compte les œufs contenus dans les deux cellules et qu'on multiplie ce nombre par 50.

Il est également possible de compter les œufs présents sur la totalité de la lame, on obtient alors le nombre d'œufs contenu dans 1mL de solution. Ce comptage est un peu plus laborieux mais il permet d'augmenter encore la sensibilité de la technique, surtout pour un opérateur expérimenté. Le nombre d'œufs par gramme correspond alors au nombre d'œufs comptés multiplié par 15.

Cette méthode est rapide, facilement réalisable et permet d'obtenir un résultat quantitatif. Cependant afin d'obtenir un nombre statistiquement significatif, il est recommandé de pratiquer plusieurs lectures de lames et d'en effectuer la moyenne. Par ailleurs, le coût de la lame de Mac Master est relativement important (entre 45 et 230 euros) (ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON, 2008).

## ▪ Méthode de Stoll

Cette technique consiste à dénombrer les œufs contenus dans des matières fécales par l'examen d'un volume défini d'une suspension de concentration bien connue de cet échantillon de fèces. Pour cela, on utilise une solution de soude à 0,4%. Cette solution décinormale contient 4 grammes d'hydroxyde de sodium pur pour un litre d'eau. Elle présente l'avantage d'éclaircir les débris végétaux et donc de faciliter l'observation des éléments parasitaires au microscope.

Pour réaliser cette technique, 5 grammes de matières fécales sont placés dans un verre à pied, 70mL de solution de soude à 0,4% sont ensuite ajoutés et la suspension obtenue est mélangée avec un agitateur pour libérer les éléments parasitaires. Une filtration est ensuite effectuée à l'aide d'une passoire à thé et de gazes.

A l'aide d'une pipette très précise, on récupère 0,15mL de la solution filtrée. Ce prélèvement est alors déposé sur une lame porte objet et recouvert d'une lamelle. Puis, au microscope, à faible grossissement (objectif x10), on effectue un balayage complet et minutieux de la préparation. Le comptage des œufs est ainsi réalisé, chaque œuf observé correspondant à 100 œufs par gramme. Le résultat peut être affiné par la préparation et la lecture de 4 lames, il faut alors multiplier le nombre d'œufs observés par 25 pour obtenir le nombre d'œuf par gramme de fèces (SALEM *et al.*, 2011).

Il est également possible d'utiliser une lame de Mac Master pour définir un volume précis de solution et compter le nombre d'œufs présent dans cette quantité. Dans ce cas, après avoir rempli les deux chambres de la lame, on laisse la préparation reposer quelques instants afin qu'une sédimentation s'opère. Puis pour effectuer la lecture de la lame au microscope, on fera un balayage méticuleux d'un champ en faisant la mise au point sur la lame inférieure. On pourra par exemple examiner l'intégralité de la lame, soit 1mL de solution, et dans ce cas, le nombre d'œufs par gramme correspondra au nombre total d'œufs observés multiplié par 15.

Cette méthode est moins sensible que celle de Mac Master. En effet, on estime que la sensibilité de cette technique est de 200 œufs par gramme tandis que celle de Mac Master se situe entre 10 et 50 œufs par gramme (DORCHIES *et al.*, 2012).

#### ▪ **Méthode de Cornell-Wisconsin**

Cette méthode de coproscopie quantitative associe la technique de flottation décrite précédemment et une centrifugation de la préparation.

En effet, pour procéder à cet examen, il faut mélanger 5 grammes de matières fécales dans 15mL d'eau pour déliter le prélèvement, et bien agiter pour obtenir un mélange homogène. La solution est ensuite filtrée à travers un tamis métallique puis le filtrat est centrifugé à 860 tours par minute pendant 3 minutes. Après cette centrifugation, le surnageant est éliminé, sans que le culot ne soit remis en suspension. De l'eau sucrée à saturation, de densité égale à 1,27, est alors ajoutée afin de remplir le tube jusqu'à sa moitié, puis le tube est agité pour remettre les éléments parasitaires en suspension. Le tube est ensuite complètement rempli d'eau sucrée, jusqu'à l'obtention d'un ménisque convexe. On dépose enfin une lamelle à l'extrémité du tube et on centrifuge à nouveau la préparation à 860 tours par minutes pendant 5 minutes. La lamelle peut finalement être examinée au microscope en la disposant sur une lame. Les œufs sont dénombrés en parcourant attentivement la totalité de la lamelle. Le nombre d'œufs par gramme est alors obtenu en divisant le nombre d'œufs observés par 5 et en multipliant ce résultat par 1,6.

Plusieurs expériences, réalisées avec des échantillons de matières fécales renfermant une quantité bien connue d'œufs par gramme, ont montré qu'aucun faux négatif n'était obtenu avec des fèces contenant plus de 7 œufs par gramme, la sensibilité de cette technique est donc excellente. Cependant, il a été observé que seulement 60 à 69% des œufs de l'échantillon, en moyenne 62,6%, étaient observables. En effet, environ 30% des œufs restent pris dans le tamis lors de la filtration et environ 3 à 5% restent dans le surnageant après la centrifugation. Des essais ont été effectués en modifiant la méthode dans le but d'obtenir un meilleur pourcentage d'œufs piégés contre la lamelle, mais les résultats obtenus n'ont pas montré de différence significative.

Cette technique, ayant une sensibilité évaluée à 1,6 œuf par gramme, est donc à privilégier en cas de faible excrétion fécale. A l'inverse, si l'excrétion est très importante, il ne faudra pas utiliser cette méthode car il y aura trop d'œufs à compter sur la lamelle et le

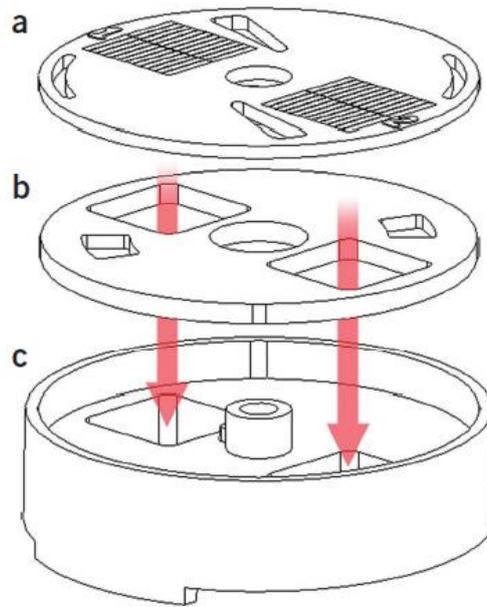
manque de précision du à l'absence de grille pourra conduire à un mauvais résultat. La deuxième centrifugation est une étape délicate, on peut donc laisser reposer le tube et laisser agir la densité pour que les œufs remontent d'eux même et viennent se coller sur la lamelle (EGWANG et SLOCOMBE, 1982).

#### ▪ **Technique FLOTAC**

Cette méthode récente s'inspire de la méthode de Mac Master, elle nécessite cependant des étapes de centrifugation. Elle a été initialement développée par des vétérinaires mais elle a récemment été étendue à la parasitologie humaine. La sensibilité de cette technique est de 1 œuf par gramme, elle est donc extrêmement sensible, cependant elle n'est pas commercialisée et n'est pas réalisable en routine car elle nécessite un appareillage complexe, notamment une centrifugeuse adaptée, seuls les laboratoires de parasitologie sont donc capables d'effectuer ce protocole.

La technique FLOTAC permet d'examiner un gramme de matières fécales, dilué dans une solution dense. Le dénombrement des éléments parasitaires est facilement réalisé à l'aide des grilles de lecture situées au dessus des chambres de flottation de l'appareil FLOTAC.

L'appareil FLOTAC est un dispositif cylindrique constitué de 3 composants : la base, le disque de translation et le disque de lecture.



**Figure 20 : Composants physiques de l'appareil FLOTAC (CRINGOLI et al., 2010)**

a. Disque de lecture

b. Disque de translation

c. Base

 Chambres de flottation

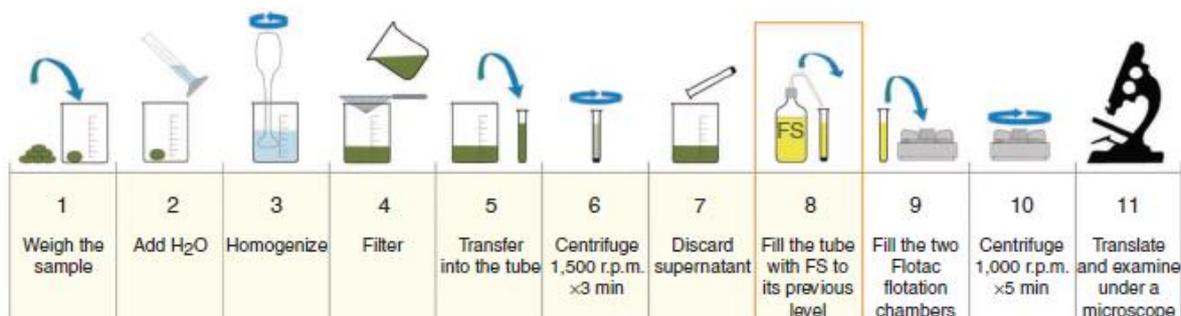
L'appareil FLOTAC est accompagné de plusieurs accessoires permettant d'adapter le dispositif au matériel de laboratoire et rendant alors possible son utilisation (adaptateur au microscope, à la centrifugeuse, clé pour faire pivoter les disques...). Il existe deux versions de l'appareil FLOTAC : le FLOTAC-100 qui permet une meilleure visualisation des éléments parasitaires avec un grossissement x100 et le FLOTAC-400 qui est plus adapté à un grossissement plus important (x400). Le FLOTAC-100 sera donc plus utilisé pour le dénombrement des œufs d'helminthes tandis que le FLOTAC-400 est plutôt réservé à l'observation des protozoaires (Annexe 3).

Pour réaliser cette méthode, 10 grammes de matières fécales doivent être délités dans 90mL d'eau du robinet, la suspension est ensuite filtrée pour enlever les débris. 11mL de solution filtrée sont alors placés dans un tube et mis à centrifugés 2 à 3 minutes à 1500 tours par minute. Il est nécessaire de prévoir 1mL de plus pour remplir plus facilement les 2 chambres du dispositif qui ont un volume de 5mL chacune. Le surnageant est ensuite jeté, le culot est gardé et complété avec une solution dense pour arriver finalement à une

préparation de 11mL. Après avoir bien homogénéisé la suspension, l'ensemble est réparti dans les deux chambres de l'appareil FLOTAC et cet appareil est soumis à centrifugation (5 minutes à 1000 tours par minute).

Après cette centrifugation, les éléments parasites sont remontés et venus se coller au disque de lecture tandis que les débris se retrouvent au fond des chambres, il faut alors faire pivoter simultanément le disque de translation et celui de lecture de 45° vers la droite. Cette manipulation permet d'obtenir les éléments parasites facilement visibles sous un microscope, directement à partir de l'appareil FLOTAC.

Les grilles de lecture sont constituées de 12 lignes transparentes disposées à équidistance. Ce quadrillage facilite le comptage des œufs. L'échantillon de fèces ayant été dilué au dixième, la lecture d'une grille correspond à 5mL de solution et donc à 0,5g de fèces. Le nombre d'œufs alors observés sera donc multiplié par deux pour obtenir le nombre d'œufs par gramme, avec une sensibilité de 2 œufs par gramme. La lecture des deux carrés quadrillés permet d'obtenir le nombre d'œufs par gramme avec une sensibilité égale à 1 œuf par gramme (ESPOSITO et *al.*, 2013).



**Figure 21 : Protocole d'utilisation de l'appareil FLOTAC (CRINGOLI et *al.*, 2010)**

Le nombre de faux négatifs obtenu avec ce protocole est très faible, démontrant ainsi l'excellente sensibilité de cette méthode. De plus, les résultats obtenus après plusieurs analyses d'un même échantillon de fèces varient très peu, ce qui montre la bonne précision de cette technique. Par ailleurs, des études comparatives utilisant la méthode FLOTAC semblent montrer une meilleure efficacité lorsque la solution de Rinaldi ou la solution dense de nitrate de sodium est employée (CRINGOLI et *al.*, 2010).

## ▪ Technique FECPAK

Cette technique de coproscopie quantitative dérive également de la méthode de Mac Master, mais, contrairement à la méthode FLOTAC, elle a été adaptée pour être plus sensible et réalisable sur le terrain, directement dans l'élevage, à condition d'avoir une personne compétente pour l'identification des parasites (PRESLAND et *al.*, 2005). Elle a donc été commercialisée sous forme de kit, contenant tout le matériel nécessaire à la réalisation du dénombrement (y compris le microscope).



Son emploi est rapide et simple, le matériel est réutilisable et facilement exploitable sur le terrain, on peut ainsi tester successivement tous les chevaux d'un effectif, il est donc particulièrement intéressant à utiliser dans un élevage équin afin de suivre de près le taux de parasitisme des chevaux du troupeau (Annexe 4).

Cette méthode consiste à peser 15 à 20 grammes de fèces dans un sac, au minimum 10g, on ajoute ensuite 3 ou 4 volumes d'eau. Le sac est alors complètement et hermétiquement fermé, et on l'agite pour mélanger. 45 mL du mélange sont versés dans un récipient adapté et 185 mL de solution saline saturée sont ajoutés pour ainsi obtenir une suspension de 230mL. Le contenu est homogénéisé puis filtré à travers un tamis de 1

mm pour enlever les débris grossiers. Après avoir mélangé correctement, les deux côtés de la lame FECPAK sont remplis. Cette lame est équipée de chambres de comptage d'un volume total de 1mL sous des grilles de lecture. Après 30 secondes, les éléments parasitaires sont remontés et les œufs présents sous chaque grille peuvent alors être comptés. Le facteur multiplicateur utilisé pour obtenir le nombre d'œufs par gramme dépend de la dilution effectuée, dans le cas d'une dilution avec 3 volumes d'eau, on multiplie le nombre d'œufs observés par 20, et par 25 si l'échantillon a été dilué dans 4 volumes d'eau (IROLA, 2010, PRESLAND et *al.*, 2005).

Cette technique permet l'analyse d'une plus grosse quantité de fèces que la technique de Mac Master car le volume observé est plus important. Une étude comparative, réalisée avec plusieurs échantillons de fèces dont le nombre d'œufs par gramme est bien connu, a montré une bonne sensibilité de la méthode FECPAK, celle-ci a été estimée à 25 œufs par gramme. En effet, lors de cette étude, les auteurs ont utilisé des échantillons de matières fécales renfermant 50 o.p.g., 100 o.p.g. et 200 o.p.g.. Tous ont été analysés cinq fois avec chacune des 2 méthodes. Les œufs ont été détectés à chaque fois avec la technique FECPAK alors que 6 faux négatifs ont été obtenus avec la méthode de Mac Master, 3 avec des échantillons contenant 50 o.p.g. et 3 avec des échantillons renfermant 100 o.p.g..

A partir de ces expériences et en utilisant la loi de Poisson, les auteurs ont alors établi que lors de l'analyse d'un échantillon de fèces contenant 50 o.p.g., on a 37% de chance d'obtenir un faux négatif avec la méthode de Mac Master, alors qu'avec la méthode FECPAK ce pourcentage tombe à 14%. Puis le pourcentage de faux négatifs obtenu avec la méthode FECPAK lors de l'examen d'un échantillon de fèces avec 100 o.p.g. est de 2%, et celui-ci devient inférieur à 0,01% lorsque l'échantillon renferme 200 o.p.g. (PRESLAND et *al.*, 2005).

La technique FECPAK est donc relativement sensible, même à de faibles excréments. De plus, d'autres expérimentations ont montré que le nombre d'œufs comptés avec cette méthode était plus proche de la réalité qu'avec la méthode de Mac Master. La technique FECPAK est donc dite plus précise que la méthode de Mac Master, même à de fortes concentrations.

Il existe donc de nombreuses méthodes pour évaluer le nombre d'éléments parasitaires contenus dans les matières fécales. Elles peuvent être relativement pratiques et facilement utilisables sur le terrain ou réservées aux laboratoires spécialisés. Elles permettent de diagnostiquer l'éventuel parasitisme des animaux et également d'avoir une idée de leur infestation.

En effet, à l'échelle de l'individu, l'examen quantitatif permet d'évaluer le degré d'excrétion, si celui-ci est très important (plusieurs milliers d'œufs par gramme), l'ascaridose peut alors être considérée comme grave. Cependant le résultat quantitatif n'est pas toujours corrélé aux signes cliniques et directement mis en relation avec la gravité des symptômes. En effet, le nombre d'œufs retrouvés dans les matières fécales peut être faible alors que la charge parasitaire de l'individu peut être élevée, car il ne prend pas en compte les formes immatures, les larves en migration, et il y a une variation parfois importante de la ponte des femelles ascarides. De plus, la gravité des signes n'est pas forcément directement reliée au nombre de parasites présents dans l'organisme, par exemple, certaines complications traumatiques de l'ascaridose, comme la perforation intestinale, l'obstruction cholédocienne ou pancréatique, sont possibles même en cas de paucifestions (EUZEBY, 1981).

Le diagnostic coprologique est également très intéressant lorsqu'il est mis en œuvre sur tous les chevaux d'un effectif. En effet, à l'échelle du troupeau, il permet de mieux apprécier l'importance des infestations dans l'effectif, de reconnaître les chevaux faibles excréteurs (500 à 600 œufs par gramme de fèces) et les chevaux fortement excréteurs (4000 à 5000 œufs par gramme de fèces), afin d'adapter au mieux les mesures hygiéniques, la gestion du troupeau et les traitements. Les examens coproscopiques pourront également être réalisés périodiquement, par exemple tous les 2 à 3 mois, afin de suivre l'efficacité des traitements employés et l'évolution du niveau de parasitisme dans l'élevage. Ces analyses répétées permettront également d'identifier précocement un éventuel phénomène de résistance des parasites vis-à-vis des molécules antiparasitaires.

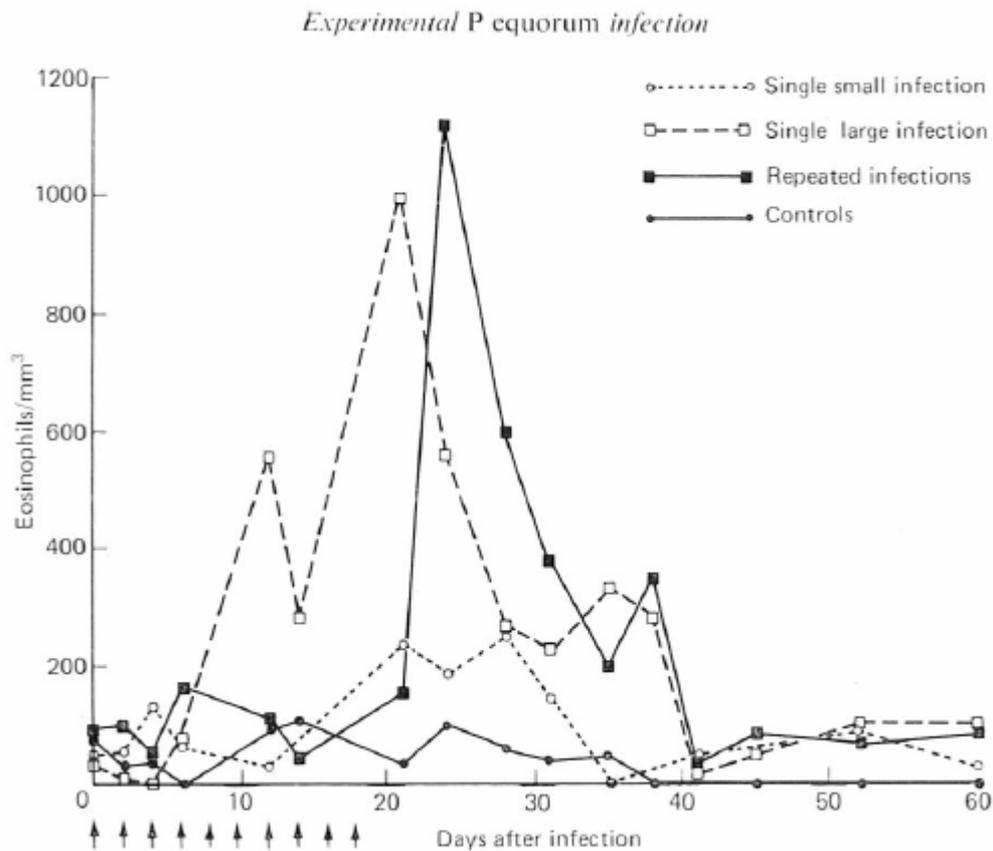
## 4. Modifications biologiques

### a) Hématologie

Les modifications biologiques et cytologiques éventuellement observées sont les témoins d'une infestation parasitaire. Elles ne permettent pas le diagnostic de certitude car les changements constatés ne sont ni systématiques ni spécifiques d'une infestation à *Parascaris equorum* mais ils apportent cependant une indication de plus pour aboutir au diagnostic.

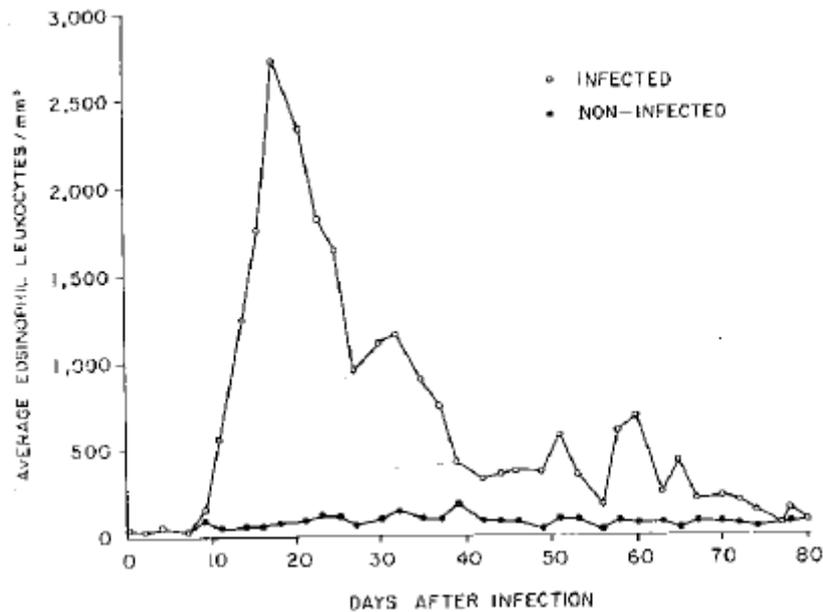
La première modification qui peut être observée est l'augmentation du pourcentage d'éosinophiles circulants. L'éosinophilie sanguine est particulièrement importante lors de la phase migratoire des larves. En effet, l'augmentation du nombre d'éosinophiles dans le sang apparaît 10 à 40 jours après l'ingestion des éléments infestants et correspond globalement à la migration des larves dans les poumons (CLAYTON, 1986). Cette réponse immunologique de l'hôte est fréquemment observée, elle est significative et proportionnelle à l'importance de l'infestation. Cependant, elle est transitoire, et après avoir atteint un pic, le taux d'éosinophiles circulants redescend à un niveau physiologique.

Lors d'infestations expérimentales, une augmentation très marquée du pourcentage d'éosinophiles dans le sang périphérique a pu être constatée chez les chevaux ayant reçu une importante dose d'éléments infestants (une administration unique de 8000 œufs ou des administrations répétées pendant 20 jours de 160 œufs un jour sur deux), tandis que les chevaux témoins gardaient un pourcentage d'éosinophiles bas et constant tout au long de l'étude. Une éosinophilie a également été observée chez les chevaux infestés avec une petite dose d'éléments parasitaires, mais celle-ci était bien plus faible.



**Figure 23 : Nombre d'éosinophiles dans le sang après infestation expérimentale par *Parascaris equorum* (CLAYTON et DUNCAN, 1977) (Les flèches indiquent les infestations répétées)**

D'autres expériences ont pu mettre en évidence l'apparition d'un deuxième pic du pourcentage d'éosinophiles circulants. Celui-ci a été observé autour du 60<sup>ème</sup> jour post-infestation, il est moins marqué que le premier et correspond alors à la dernière phase de la migration des larves, lorsque celles-ci regagnent l'intestin et effectuent leur dernière mue. Le nombre de granulocytes éosinophiliques retourne finalement à des valeurs normales après 70 jours post-infestation.



**Figure 24 : Taux d'éosinophiles circulants mesuré après une infestation expérimentale avec 100 000 éléments infestants (SRIHAKIM et SWERCZEK, 1978)**

Les éosinophiles représentent normalement moins de 1000 cellules par  $\mu\text{L}$  de sang c'est-à-dire que les valeurs usuelles sont comprises entre 0 et  $1.10^9$  granulocytes éosinophiliques par litre. Une augmentation de ce type de cellules est observée dans de nombreux cas de migrations de larves d'helminthes, mais aussi lors de phénomènes allergiques. Toutefois, les éosinophilies les plus marquées sont rencontrées lors de parasitoses, notamment celles à *Parascaris equorum* et elles sont d'autant plus significatives que l'infestation est importante. Cet élément permet donc d'avoir une bonne suspicion. Cependant, cette modification biologique reste un phénomène transitoire et l'absence d'éosinophilie ne doit pas écarter la possibilité d'une ascaridose.

D'autres modifications de la lignée blanche peuvent être observées lors d'infestation à *Parascaris equorum*. Certains auteurs décrivent une leucopénie, et notamment une neutropénie tandis que d'autres observent plutôt une leucocytose, en particulier une leucocytose neutrophilique. Cette variation de la quantité de leucocytes dans le sang est sujette à controverse. Une légère lymphocytose est également parfois rapportée (CLAYTON, 1978). Cependant, lors de surinfection des lésions causées par les parasites, on peut par exemple citer les pneumonies parasitaires avec complications bactériennes, les auteurs s'accordent à dire que l'on observe ordinairement une nette

neutrophilie, et celle-ci est en général associée à une hyperfibrinogénémie (BOYLE et HOUSTON, 2006).

En ce qui concerne la lignée rouge, une anémie est fréquemment décrite. Lors des infestations expérimentales, la diminution du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite a été observée à partir du 25<sup>ème</sup> jour post infestation et ces valeurs ont continué à baisser tout au long de l'étude (SRIHAKIM et SWERCZEK, 1978).

## **b) Paramètres biochimiques**

Le taux des enzymes hépatiques dans le sang peut être élevé car les larves peuvent endommager le foie lors de leur migration, on peut alors par exemple constater une augmentation des phosphatases alcalines (PAL), des aspartates aminotransférases (ASAT) et des gamma glutamyl transférases (GGT) dans le sang, qui sont des marqueurs de souffrance hépatique fréquemment dosés.

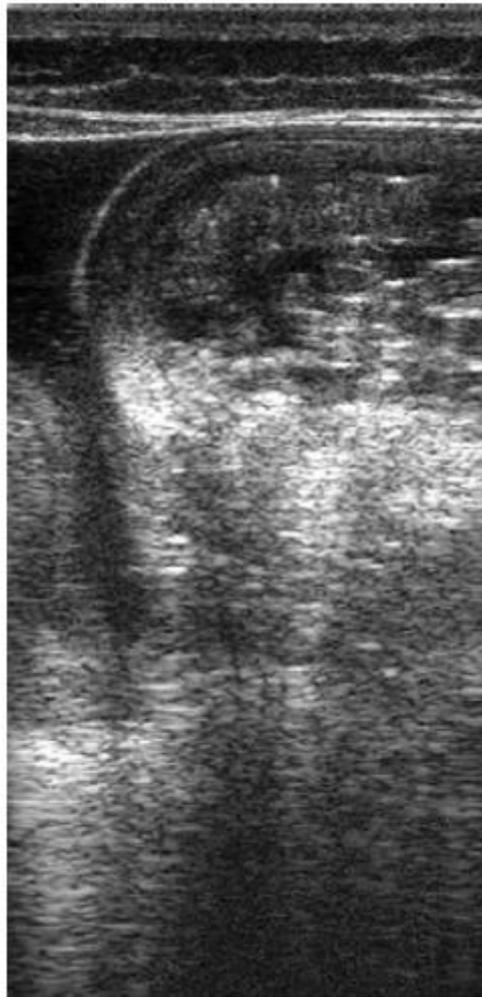
Les animaux infestés sont souvent en hypoprotéïnémie du fait des pertes digestives, d'une augmentation du catabolisme protéique et des carences nutritionnelles. On constate en particulier une hypoalbuminémie et un rapport albumine/globulines qui tend à s'inverser. En effet, ce rapport est beaucoup plus faible chez les animaux parasités que chez les animaux sains à cause d'une diminution de la quantité d'albumine d'une part et à l'augmentation du nombre de globulines d'autre part.

Enfin, on peut observer une élévation du taux de fibrinogène dans le sang, marqueur de l'inflammation qui peut apparaître lors de parasitose. Selon les méthodes de dosage, les valeurs usuelles sont comprises entre 2 et 4 g/L et lors d'infestation parasitaire, on peut voir sa valeur augmenter significativement en quelques jours. Mais encore une fois, les modifications observées ne sont pas pathognomoniques d'une infestation à *Parascaris equorum* (EUZEBY, 1963).

## 5. Imagerie

L'imagerie est particulièrement utile lors de syndrome occlusif chez les poulains. En effet, la palpation transrectale étant impossible dans la plupart des cas, ces examens complémentaires apportent de précieuses informations. Le diagnostic de bouchon vermineux par des ascarides reste cependant très difficile et est souvent découvert lors de la laparoscopie.

Tout d'abord la radiographie abdominale permet de mettre en évidence une obstruction intestinale voire même d'identifier le segment atteint. L'échographie abdominale révèle fréquemment une distension intestinale et une hypomotilité de l'intestin grêle, et elle permet parfois également de visualiser directement les parasites (WILSON, 2012).



**Figure 25 : Image échographique d'ascarides dans la lumière de l'intestin grêle chez un poulain en colique (NIELSEN *et al.*, 2014)**

Enfin, des radiographies de contraste peuvent également être effectuées. Les clichés sont réalisés après administration de sulfate de baryum à 5mL/kg, en solution à 30% par sondage naso-gastrique lors de suspicion d'obstruction haute, ou après lavement avec 5 à 20mL/kg de sulfate de baryum en solution à 30%, par voie rectale à l'aide d'un cathéter de Foley pour visualiser une obstruction basse (BARTMANN, 2002). Ce dernier examen laisse parfois deviner des silhouettes d'ascarides dans l'intestin (EUZEBY, 1963).

Enfin, en cas de suspicion d'une affection des voies respiratoires profondes chez les poulains, des radiographies des poumons peuvent être réalisées. Lors de pneumonie parasitaire, celles-ci révèlent fréquemment un pattern broncho-interstitiel qui n'est, là encore, pas spécifique d'une infestation à *Parascaris equorum* (BOYLE et HOUSTON, 2006).

## 6. Autres examens complémentaires

Lors de syndrome occlusif, le sondage naso-gastrique est systématique. Il révèle parfois un reflux contenant des ascarides, le diagnostic est alors évident mais cela reste relativement rare. Par exemple, lors d'une étude rétrospective sur 25 chevaux atteints d'obstruction intestinale par *Parascaris equorum*, tous les animaux de l'étude ont été sondés, 7 sur 25 présentaient du reflux, en moyenne 6L, et sur deux d'entre eux, des ascarides ont pu être observés (CRIBB et *al.*, 2006).

Une abdominocentèse peut être réalisée lors de suspicion de parasitose intestinale. L'analyse du liquide de paracentèse peut alors parfois révéler une augmentation de la quantité de protéines totales (supérieure à 25g/L) et/ou une augmentation de la cellularité (supérieure à  $3.10^9$  cellules/L) mais cela n'est pas spécifique d'une infestation à *Parascaris equorum* (WILSON, 2012).

Cet examen peut également être réalisé dans le cadre d'un syndrome occlusif, on s'attache alors à regarder l'aspect du prélèvement. Le liquide de paracentèse est

normalement jaune clair et translucide et, lors d'ascaridose compliquée, il peut prendre un aspect séro-sanguinolent, devenir trouble ou contenir du matériel alimentaire mais encore une fois, ces anomalies ne sont pas spécifiques d'une obstruction intestinale dues aux ascarides (CRIBB et *al.*, 2006).

Enfin, lors de signes respiratoires, les examens complémentaires de choix peuvent être une endoscopie des voies aériennes, un lavage broncho-alvéolaire ou un lavage trans-trachéal.

L'observation d'une éosinophilie à l'analyse cytologique des liquides prélevés oriente le diagnostic vers une affection parasitaire. En effet, lors de pneumonies parasitaires, le nombre d'éosinophiles comptés dans les liquides de lavage peut être très augmenté. Celui-ci est normalement inférieur à 1% du nombre total de cellules dans le prélèvement d'un lavage broncho-alvéolaire, et inférieur à 2% dans le liquide de lavage trachéal, et lors d'affection parasitaire, le pourcentage de cellules éosinophiliques peut parfois atteindre 88%. Cependant, cette anomalie n'est pas spécifique d'une infestation à *Parascaris equorum*.

Il peut arriver que l'on observe des larves d'ascarides au frottis ou à l'examen cytologique du liquide de lavage, auquel cas, on obtient un diagnostic de certitude. L'endoscopie des voies respiratoires permet parfois également de visualiser les larves du parasite, mais la plupart du temps, on constate seulement la présence de mucus dans la trachée et les bronches (BOYLE et HOUSTON, 2006).

## **7. Diagnostic nécropsique**

La réalisation d'une autopsie lors d'une suspicion d'ascaridose permet d'aboutir à un diagnostic de certitude et d'apporter de précieuses informations pour le reste du troupeau. Le diagnostic est alors réalisé directement par l'observation des parasites, mais il est également possible d'identifier les lésions dont ils sont responsables.

Le tube digestif doit donc être incisé et examiné dans sa totalité. Lors d'ascaridose, les parasites adultes sont alors visibles dans la lumière de l'intestin et les lésions sont généralement concentrées sur l'intestin grêle. La muqueuse intestinale est inflammatoire, la paroi est épaissie et oedématiée et on peut éventuellement observer des lésions plus sévères telles que des ulcérations, des abcès voire même des déchirures de la paroi intestinale qui ont pu causer la mort de l'animal.

Le péritoine pariétal, le pancréas, le parenchyme hépatique, les canaux biliaires, les vaisseaux mésentériques doivent également être minutieusement inspectés. Sur le foie, les lésions hémorragiques peuvent former des trajets sinueux évoquant le passage des larves. D'autres lésions, facilement observables directement sous la capsule ou plus profondément après incisions dans le parenchyme hépatique, témoignent d'une infestation plus ancienne, comme des petits foyers nécrotiques, des nodules ou des zones fibrosées. Il est parfois possible d'observer dans la cavité abdominale des lésions plus graves comme des lésions de péritonite, des abcès, des adhérences... qui ont pu être responsables de la mort de l'animal.

Le bloc cœur-poumon doit également faire l'objet d'une attention toute particulière. Tout comme le foie, les poumons peuvent présenter des lésions hémorragiques causées par le passage des larves. De plus, des zones oedématiées et du mucus en quantité importante peuvent être mis en évidence en incisant la trachée, les bronches et le parenchyme pulmonaire. A cette occasion, on peut parfois directement observer les larves du parasite. Les foyers d'atélectasie, les zones de fibrose et les nodules témoignent quant à eux d'une migration larvaire plus ancienne.

Des prélèvements peuvent être réalisés en vue d'analyses histologiques, ces examens permettent de mettre en évidence les désordres tissulaires provoqués notamment par les migrations larvaires (CLAYTON et DUNCAN, 1977).

## **IX. Evolution/ Pronostic**

Dans les formes banales, l'évolution est lente et progressive, elle peut conduire à un état de profonde dénutrition si les malades ne reçoivent pas, en temps utile, un traitement

adéquat. Mais lorsque celui-ci est effectué, l'état général s'améliore très rapidement, et en effet, de nos jours, le pronostic est habituellement bénin.

Les cas graves sont assez peu fréquents actuellement, cependant, dans les formes compliquées, l'évolution est souvent beaucoup plus rapide et le pronostic nettement moins bon. En cas d'obstruction intestinale par les parasites, les symptômes apparaissent de façon aiguë et le pronostic est toujours réservé. Il est relativement bon lorsque la colique peut être résolue médicalement mais il diminue franchement lors d'intervention chirurgicale. En effet, dans ce cas, on estime que le pourcentage de poulains survivants à long terme est situé entre 10 et 33%. Les complications qui peuvent survenir après la chirurgie sont en effet nombreuses et fréquentes, on peut citer les adhérences, les coliques chroniques, les endotoxémies, les entérites sévères diffuses, les foyers d'entérite nécrosante, les perforations intestinales, les complications de la plaie chirurgicale et les pneumonies, et celles-ci conduisent généralement à l'euthanasie de l'animal (WILSON, 2012).

L'évolution la plus rapide est observée lors d'ascaridose toxémique, elle peut aller jusqu'à constater une mort subite, cependant si le poulain survit, les troubles disparaissent souvent en 24 à 48h en même temps que sont rejetés en nombre important des ascarides morts (EUZEBY, 1963).

## **X. Traitement**

La lutte contre le parasitisme passe par une prophylaxie médicale associée à des mesures sanitaires.

Il existe de nombreux produits actifs contre les ascarides, contenant différents principes actifs, différents excipients... L'anthelminthique idéal aurait : une excellente efficacité, un coût raisonnable, un large spectre d'activité, une administration facile et ne serait ni toxique pour l'animal ni pour l'environnement.

# 1. Les différents groupes d'anthelminthiques

## a) Les benzimidazoles

Tous les composés de cette famille contiennent la même structure de base : un noyau benzène associé à un hétérocycle imidazole. La première molécule utilisée a été le thiabendazole au début des années 1970. Par la suite, plus de 100 composés ont été développés car ils avaient l'avantage d'être large spectre, d'une grande efficacité et d'une faible toxicité. Ils ont donc été très utilisés pendant plus de 40 ans, on peut par exemple citer l'albendazole, l'oxfendazole, l'oxibendazole, le tioxidazole, le cambendazole mais ils ne disposent plus aujourd'hui d'autorisation de mise sur le marché en France pour les chevaux.

Les composés aujourd'hui disponibles en France sont le mébendazole et le fenbendazole, qui restent très largement employés. Toutefois, dès 1965, des résistances aux benzimidazoles ont été constatées, elles se sont aujourd'hui répandues et peuvent expliquer un certain déclin dans l'utilisation de ces molécules.

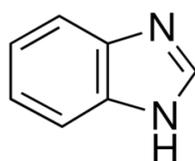


Figure 26 : Structure chimique de base des benzimidazoles

Les benzimidazoles interfèrent avec la tubuline des parasites, en particulier avec la bêta-tubuline. En se liant à cette protéine, ils empêchent sa polymérisation en microtubules. Or les microtubules sont nécessaires au maintien des différents organites dans la cellule, à l'architecture même de celle-ci et sont aussi responsables du transport des nutriments et d'autres éléments à travers les cellules.

Les microtubules sont des structures présentes chez les animaux, les végétaux et les champignons, mais les benzimidazoles n'ont pas d'action sur la synthèse des microtubules des cellules des mammifères à la température corporelle de l'hôte. En effet, dans ces

conditions, ces composés ont une affinité nettement plus grande pour les tubulines des parasites que pour les tubulines des mammifères, ce qui explique leur toxicité sélective.

De plus, les benzimidazoles semblent pouvoir également inhiber la sécrétion de l'acétylcholinestérase des parasites ainsi que l'activité de certaines enzymes comme la fumarate réductase, la malate déshydrogénase, la phospho-énol-pyruvate et la succinate déshydrogénase, des enzymes qui sont nécessaires à la production d'énergie des cellules car elles interviennent dans le processus de fermentation chez les nématodes.

Ces mécanismes conduisent donc à la désintégration des cellules des nématodes en 15 à 24 h. Ces composés ont donc comme particularité de tuer lentement les parasites (REINEMEYER et COURTNEY, 2001).

Après une administration par voie orale, les benzimidazoles sont rapidement absorbés par le tube digestif de l'hôte, distribués aux tissus par voie sanguine puis rapidement métabolisés, leur demi-vie est en effet relativement courte. Les métabolites alors produits ont quant à eux une distribution plasmatique et une durée de vie dans les tissus de l'hôte plus longues. Les premiers métabolites sont en général produits par oxydation et hydroxylation, ils sont alors beaucoup plus polaires et hydrosolubles que le composé primaire. La deuxième phase de transformation consiste en des conjugaisons avec des glucuronides et/ou des sulfates, ce qui augmente encore leur polarité et permet alors leur excrétion biliaire ou urinaire (LANUSSE et *al.*, 2009a).

Il a été montré que la diffusion trans-cuticulaire était la principale voie d'entrée des benzimidazoles dans les parasites. En effet, leur pénétration à travers la cuticule est facilitée par leur caractère lipophile et de cette façon, ces composés sont actifs contre de nombreux parasites. Ce groupe de molécules a en effet le plus large spectre d'action des anthelminthiques équins : la plupart sont efficaces contre les formes adultes et immatures des nématodes digestifs (oxyures, ascarides, strongles et strongyloïdes), ainsi que sur certains nématodes respiratoires, trématodes et cestodes (LANUSSE et *al.*, 2009a).

De nombreuses formulations ont donc été développées mais seuls le mébendazole et le fenbendazole possèdent aujourd'hui une autorisation de mise sur le marché pour les

chevaux en France. Les autres anthelminthiques qui ne sont aujourd'hui plus utilisés ou utilisés dans d'autres pays ou pour d'autres espèces concernent le thiabendazole, l'albendazole, le ricobendazole, l'oxfendazole, l'oxibendazole, le flubendazole, le nétobimin et le fébantel. Les deux dernières molécules sont des pro-benzimidazoles, c'est-à-dire que ces pro-drogues ne deviennent actives qu'une fois métabolisées. En effet, leur biotransformation permet l'acquisition du cycle benzimidazole et leur mode d'action devient alors identique à celui des composés décrits ci-dessus (DMV, 2013).

- **Le mébendazole**

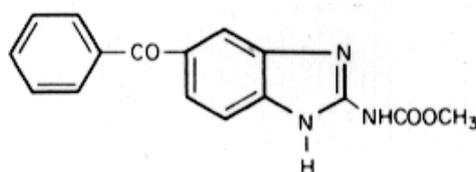


Figure 27 : Structure chimique du mébendazole (Méthyl 5-benzoyl-2-benzimidazolecarbamate)

La posologie recommandée pour les chevaux est de 8,8 mg/kg. Le pic de concentration plasmatique du mébendazole est atteint en 2 à 4 heures après une administration orale. A cette posologie, le mébendazole est actif sur les adultes et larves L4 des nématodes gastro-intestinaux, notamment contre les adultes et les larves L4 de *Parascaris equorum* (95-100%), contre les grands strongles (*Strongylus* spp. adultes et larves L4) et les oxyures (*Oxyuris equi*, adultes et larves L4). Cette molécule est également active contre les formes adultes et larves L4 des strongles respiratoires (*Dictyocaulus arnfieldi*) et des petits strongles (*Cyathostomum* spp., *Cylicocyclus* spp.), mais avec une efficacité plus faible (REINEMEYER et COURTNEY, 2001).

L'index thérapeutique du mébendazole est extrêmement large : aucun signe d'intoxication n'a été observé après l'administration de doses 40 à 90 fois supérieures à la dose thérapeutique en dose unique ou en administrations répétées sur 15 jours (BENNETT et al., 1974).

Il est cependant recommandé de ne pas utiliser la molécule chez les animaux présentant une hypersensibilité connue au principe actif ou dans le cas où l'on suspecte

une résistance aux benzimidazoles. Le poids corporel doit également être évalué aussi précisément que possible afin d'administrer la dose adéquate de produit et il est conseillé de ne pas utiliser cette spécialité chez les individus de moins de 400kg.

Le mébendazole est commercialisé dans le TELMIN ND sous forme de pâte orale ou de granulés, développé par LILLY FRANCE (ELANCO VETERINAIRE) à la posologie recommandée de 8 mg de mébendazole par kg de poids vif en une administration unique :

- TELMIN® Granulés. Un sachet de 20 g contient 2 g de mébendazole, il est donc recommandé de donner 2 sachets de 20 g pour un cheval adulte. Il faut mélanger le médicament à l'aliment habituel pour que le cheval l'accepte mieux.

- TELMIN® Pâte orale. Une seringue de 18g contient 3,6 g de mébendazole, il est donc recommandé de donner une seringue complète pour un cheval adulte, en introduisant la seringue, en l'absence de toute nourriture, dans l'espace inter-dentaire et en déposant la quantité de pâte requise à la base de la langue afin que tout le produit soit avalé (DMV, 2013).

#### ▪ Le fenbendazole

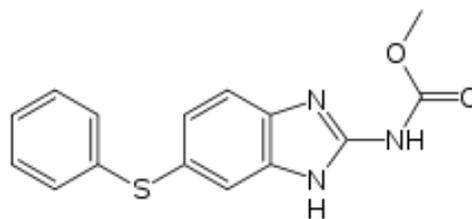


Figure 28 : Structure chimique du fenbendazole (C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S)

Le fenbendazole est utilisé oralement chez les chevaux, à la posologie de 5mg/kg lorsque l'on cible les grands strongles, les petits strongles et les oxyures. Il est employé à de plus grosses doses pour les ascarides (10mg/kg) (REINEMEYER, 2009) et à cette dose, répétée sur 5 jours consécutifs, il est particulièrement actif sur les formes immatures, notamment celles de *Parascaris equorum* en migration et celles des cyathostomes, qui peuvent être en hypobiose dans la muqueuse intestinale.

En effet, les études expérimentales ont montré une bonne efficacité du fenbendazole sur les larves en migration lorsqu'il est employé à la dose de 10mg/kg pendant 5 jours consécutifs. On peut par exemple citer une étude sur 15 poulains infestés expérimentalement par *Parascaris equorum* puis répartis en 3 groupes : un groupe témoin, un groupe traité avec une dose unique de fenbendazole le 11<sup>ème</sup> jour post-infestation et un groupe traité sur 5 jours (du 11<sup>ème</sup> au 15<sup>ème</sup> jour post-infestation).

Groupes	Traitement		
	Aucun traitement	10mg de fenbendazole/kg	
		1 administration le 11 <sup>ème</sup> jour post-infestation	Administrations successives du 11 <sup>ème</sup> jour au 15 <sup>ème</sup> jour post-infestation
<b>A</b>	484	777	0
<b>B</b>	307	0	0
<b>C</b>	802	662	0
<b>D</b>	284	7	1
<b>E</b>	623	695	6
<b>Moyenne</b>	500 <sup>a</sup>	428 <sup>a</sup>	1 <sup>b</sup>

**Tableau 2 : Nombre de larves d'ascaride regagnant l'intestin grêle chez 15 poulains infestés expérimentalement avec 1500 +/- 298 œufs de *Parascaris equorum* par animal**  
les lettres indiquent un résultat significatif (b) ou non significatif (a)

Les résultats ont mis en évidence une réduction significative du nombre de larves retournant dans le tube digestif chez les poulains traités durant 5 jours et les auteurs ont également observé une amélioration des symptômes respiratoires chez tous les animaux traités, ce qui prouve bien l'efficacité du fenbendazole sur les larves d'ascarides en migration (VANDERMYDE et *al.*, 1987).

En effet, le fenbendazole est faiblement et lentement absorbé dans le tube digestif de l'hôte, le pic de concentration plasmatique est atteint en 15 à 30 heures, ainsi, lors de traitement prolongé, sur 5 jours consécutifs, le fenbendazole s'accumule et devient alors plus efficace. Le composé et ses métabolites sont tout de même rapidement éliminés car ils ont une demi-vie plasmatique relativement courte. On estime en effet que ses derniers sont complètement éliminés 96 heures après la fin du traitement (DMV, 2013).

Le fenbendazole est également une molécule très sûre puisque des doses de 1000 mg/kg ont été administrées sans provoquer de signes apparents de toxicité (DI PIETRO, 1987). Il n'y a pas de contre-indication particulière à l'utilisation de cette molécule, le fenbendazole peut être administré aux juments en gestation, en lactation et aux jeunes poulains. En effet, les études menées chez les animaux de laboratoire n'ont pas mis en évidence d'effets embryotoxiques ou tératogènes aux doses thérapeutiques et l'innocuité chez la jument pendant la gestation et l'allaitement a également été étudiée.

Il faut cependant faire attention lors d'un traitement larvicide car des réactions d'hypersensibilité, locales ou systémiques, peuvent survenir à la mort des larves en migration. C'est en particulier vrai pour la cyathostomose larvaire, où après le traitement on peut observer une forte inflammation intestinale avec de nombreuses ulcérations due à la sortie massive des larves de la muqueuse (DMV, 2013).

En France, le fenbendazole est commercialisé dans le PANACUR® EQUINE GUARD sous forme de suspension buvable pour équins ou dans le PANACUR® 10 %, commercialisés par MSD Santé Animale (INTERVET) avec la même composition (100 mg de fenbendazole par millilitre). Ces spécialités sont surtout destinées à l'usage larvicide, avec une administration répétée sur 5 jours. La dose recommandée par le fabricant est de 7,5 ml pour 100 kg de poids vif par jour (soit 7,5 mg de fenbendazole/kg/jour) pendant 5 jours consécutifs, et à cette posologie, ces spécialités seraient efficaces sur les cyathostomoses larvaires (action contre les larves de *Cyathostomum spp.*, et de *Cylicocyclus spp.*, y compris sur les formes L3 inhibées et enkystées dans la muqueuse de l'intestin), et sur les autres larves en migration comme celles de *Parascaris equorum*, de *Strongylus spp.*, ou de *Strongyloides westeri*. De plus, le fenbendazole, utilisé de cette façon, aurait également une action contre les strongles pulmonaires (adultes et larves L4 de *Dictyoaulus arnfieldi*) (DMV, 2013).

Le fenbendazole est également commercialisé dans PANACUR® Pâte, une pâte orale aromatisée pour les chevaux par MSD Santé Animale (INTERVET). Cette spécialité, qui contient 187,5 mg de fenbendazole pour 1 g d'excipient, est à utiliser en dose unique.

On utilise alors 4 g de pâte par 100 kg de poids vif (soit 7,5 mg/kg de fenbendazole) (DMV, 2013).

## b) Famille des dérivés de la tétrahydropyrimidine

Le premier composé de cette classe à être développé fut le pyrantel. Il a été introduit initialement en 1966 pour lutter contre les parasites digestifs du mouton et fut ensuite commercialisé pour d'autres espèces. Il a alors été très utilisé chez les chevaux, cependant, une baisse d'efficacité a été constatée, notamment aux Etats-Unis, suggérant donc l'apparition de parasites résistants à la molécule (LYONS et *al.*, 2008, CRAIG et *al.*, 2007).

Le pyrantel a été synthétisé sous forme de plusieurs sels : chlorhydrate, pamoate, tartrate... mais on ne le trouve aujourd'hui commercialisé en France que sous forme d'embonate de pyrantel. D'autres composés de la même famille, comme le morantel ou l'oxantel, furent également mis sur le marché mais ne sont aujourd'hui plus utilisés (LANUSSE et *al.*, 2009a).

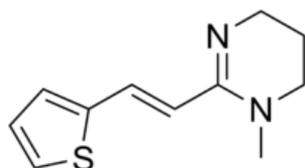
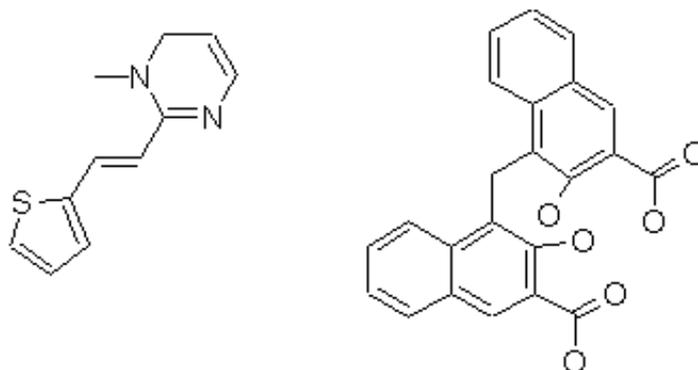


Figure 29 : Structure de base des dérivés de la tétrahydropyrimidine

Le pyrantel est un E-1,4,5,6-tétrahydro-1-méthyl-2[2-(2-thienyl)vynil]pyrimidine, c'est un agoniste des récepteurs nicotiques à l'acétylcholine, son mode d'action est donc celui d'un cholinomimétique. En effet, il se fixe sur les récepteurs nicotiques des jonctions neuromusculaires des parasites et provoque une dépolarisation des cellules. Cependant, l'action du pyrantel est 100 fois plus puissante que celle de l'acétylcholine, il cause donc une contraction importante des cellules musculaires et finalement une paralysie spastique chez les nématodes. De plus, cet état est irréversible puisque le

pyrantel ne peut pas être lysé par l'acétylcholinestérase. Le parasite ne peut alors plus se maintenir dans sa niche écologique et est expulsé de l'organisme de l'hôte.



**Figure 30 : Structure de l'embonate de pyrantel**

Ce mode d'action est bien connu et fut largement étudié. Il concerne également une autre classe de molécules, de structure chimique voisine, celle des imidazothiazoles. Cette famille est représentée par le lévamisole, un composé qui fut longtemps utilisé car il présentait des propriétés pharmacologiques comparables à celles des tétrahydropyrimidines. Cependant, ce cholinomimétique ne possède aujourd'hui plus d'autorisation de mise sur le marché en France pour les chevaux (LANUSSE et *al.*, 2009a).

Le pyrantel est commercialisé sous forme de pâte à administration orale. La dose recommandée est de 6,6 mg/kg de pyrantel (LANUSSE et *al.*, 2009a). L'embonate de pyrantel a une très faible absorption orale (environ 10%) et la fraction absorbée est ensuite très vite métabolisée par le foie. L'élimination est finalement urinaire et fécale.

Différentes études ont mis en évidence une bonne efficacité de ce composé sur les ascarides (plus de 90%) (SLOCOMBE, 2007, LIND et CHRISTENSSON, 2009). En effet, le nombre d'œufs excrétés par les poulains infestés est significativement plus faible après traitement même si la réduction du nombre d'œufs dans les fèces n'est pas de 100% (BOERSEMA et *al.*, 2002). Le pyrantel a également une action contre les grands strongles, les petits strongles et les oxyures. On peut noter cependant que son efficacité est très limitée sur les larves, en particulier de *S. edentatus* et des petits strongles.

Le pyrantel peut également être utilisé en administration quotidienne à la dose de 2,64 mg/kg, afin de prévenir la migration des larves, notamment pour *Parascaris equorum*. Ce protocole aurait également une efficacité contre les stades adultes et larvaires L4 des oxyures, des grands et des petits strongles. Cette prophylaxie fut très utilisée aux Etats-Unis, sur les poulains de 2-3 mois, mais l'apparition de mutants chimiorésistants fut constatée et cette pratique largement remise en cause (REINEMEYER, 2009).

Le pyrantel est une molécule très bien tolérée, puisqu'aucun effet toxique n'a été constaté avec l'administration de doses 7 fois supérieures à la dose thérapeutique. Les premiers signes de toxicité, observés à de très fortes concentrations, sont de l'ataxie, une hypersudation, et une tachypnée. De plus, l'innocuité du composé aux doses thérapeutiques a également été prouvée sur les jeunes poulains, les juments gestantes ou en lactation, et sur les étalons à la reproduction. Le pyrantel peut donc être employé sans danger sur des chevaux et des poneys de tout âge et sur les animaux à la reproduction (LANUSSE et *al.*, 2009a).

Les recommandations émises par le fabricant sont celles d'un anthelminthique classique : il ne faut pas l'utiliser chez les animaux présentant une hypersensibilité connue au principe actif, le poids des animaux doit être évalué aussi précisément que possible afin de calculer la dose appropriée et des résistances peuvent se développer lors d'utilisations fréquentes et répétées d'un antiparasitaire d'une même famille (DMV, 2013).

Le seul produit ayant une autorisation de mise sur le marché pour les chevaux en France est le STRONGID® Chevaux Pâte orale, un anthelminthique nématocide à base d'embonate de pyrantel produit par ZOETIS. Il est donc présenté comme un applicateur de 26 g permettant de traiter un cheval adulte de 600 kg (1g de spécialité contient 152,3 mg de pyrantel) en administration unique (soit 6,6 mg de pyrantel/kg). Chaque graduation de l'applicateur permet de traiter 150 kg de poids vif (DMV, 2013).

### c) Les lactones macrocycliques

Les lactones macrocycliques sont des macrolides naturels, produits par les fermentations d'une bactérie de l'ordre des Actinomycètes, puis parfois légèrement modifiés chimiquement par semi synthèse. Ces composés sont très largement utilisés en médecine vétérinaire car ils ont l'avantage de présenter un spectre très large : ils agissent sur les parasites internes comme sur les parasites externes et à de faibles concentrations. Cette particularité leur a valu le nom d'endectocide.

Les composés de cette famille se répartissent en deux groupes : celui des avermectines et celui des milbémycines. Les avermectines sont les produits de fermentation de *Streptomyces avermitibis* éventuellement modifiés chimiquement, on peut citer l'abamectine, l'ivermectine, la doramectine, l'éprinomectine et la sélamectine. Les milbémycines diffèrent des avermectines par quelques changements structurels, mais elles partagent le même mode d'action et ont des propriétés physicochimiques et une efficacité semblables. En effet, tout comme les avermectines, les milbémycines sont actives contre les nématodes et les arthropodes à de très faibles concentrations. On peut nommer la némadectine, la moxidectine et l'oxime de milbémycine (MARRINER, 1986).

Ces molécules provoquent une toxicité sélective chez les nématodes, les acariens et les insectes, elles ne sont cependant pas efficaces contre les trématodes ni contre les cestodes. Les lactones macrocycliques induisent une réduction de l'activité motrice puis une paralysie flasque permanente des parasites, en bloquant des canaux ioniques de leurs cellules nerveuses et musculaires en position ouverte. Le flux d'ions entrant dans les cellules empêche alors leur dépolarisation et donc finalement la contraction musculaire, c'est pourquoi on parle de paralysie flasque.

Plus précisément, les lactones macrocycliques agissent en se fixant sur les canaux chlorure glutamate-dépendants des arthropodes et des nématodes, et en se liant aux récepteurs à GABA (Acide Gamma-Amino-Butyrique) de leurs cellules nerveuses et musculaires. Cependant, la fixation sur les récepteurs des neurotransmetteurs GABA est obtenue à de plus fortes concentrations car l'affinité des lactones macrocycliques est plus

importante pour les canaux chlorure glutamate-dépendants. Il en découle toutefois une action GABA agoniste, même à de faibles doses.

En effet, les lactones macrocycliques vont provoquer une entrée massive d'ions chlorures dans les cellules via les canaux chlorure glutamate-dépendants alors ouverts et éventuellement via les canaux ioniques couplés aux récepteurs GABA ainsi stimulés. Cette hyperpolarisation va bloquer le bon fonctionnement des cellules neuromusculaires et la contraction musculaire devient alors impossible. Les parasites sont alors incapables de se nourrir et ne parviennent plus à se maintenir dans leur niche écologique. Ils finissent par mourir et sont finalement expulsés de l'organisme de l'hôte (LANUSSE et *al.*, 2009b).

Les deux familles de lactones macrocycliques ont des propriétés similaires mais pas identiques. En effet, elles diffèrent légèrement par leur spectre d'activité et leur potentiel de persistance de l'action antiparasitaire. Il a été constaté que la moxidectine avait un potentiel pharmacodynamique plus important que l'ivermectine et particulièrement contre les mutants résistants à l'ivermectine. Il semble en effet que la moxidectine soit 2,5 fois plus efficace sur les canaux chlorures glutamate-dépendants que l'ivermectine. De plus, les glycoprotéines-P, agissant comme des pompes de transport qui diminuent la concentration des lactones macrocycliques au site d'action, semblent avoir une meilleure capacité de liaison avec l'ivermectine qu'avec la moxidectine, la persistance du principe actif est donc plus importante avec la moxidectine qu'avec l'ivermectine.

Après une administration par voie orale, les lactones macrocycliques se concentrent dans le plasma et sont distribuées aux tissus par voie sanguine. Elles s'accumulent alors principalement dans la muqueuse du tube digestif, dans le tissu pulmonaire, le tissu adipeux et la peau. Ainsi, les lactones macrocycliques sont très efficaces contre les nématodes digestifs, tels que *Parascaris equorum*, *Oxyuris equi*, *Draschia megastoma*, *Habronema spp.*, *Trichostrongylus axei*, *Strongyloides westeri* et contre les nématodes pulmonaires (*Dictyocaulus arnfieldi*). Elles sont également particulièrement efficaces contre les grands strongles, au stade adulte ou larvaire (*Strongylus vulgaris*, *Strongylus edentatus*, *Strongylus equinus*), contre les petits strongles à l'état adulte (*Cyathostomum spp.*) et contre *Gastrophilus nasalis* et *Onchocerca spp.*

(EGERTON et *al.*, 1981). La moxidectine semble plus efficace que l'ivermectine et son spectre d'action s'étend également aux larves de cyathostomes et aux larves de gastérophiles (DI PIETRO et *al.*, 1997).

Ces composés sont très peu métabolisés, en fait, ils sont majoritairement éliminés par la bile et les fèces sous forme inchangée. La glycoprotéine-P participe beaucoup à l'élimination des lactones macrocycliques en les fixant dans la circulation sanguine et en favorisant leur excrétion biliaire et intestinale. Ce cycle entéro-hépatique permet une bonne exposition des parasites digestifs au principe actif.

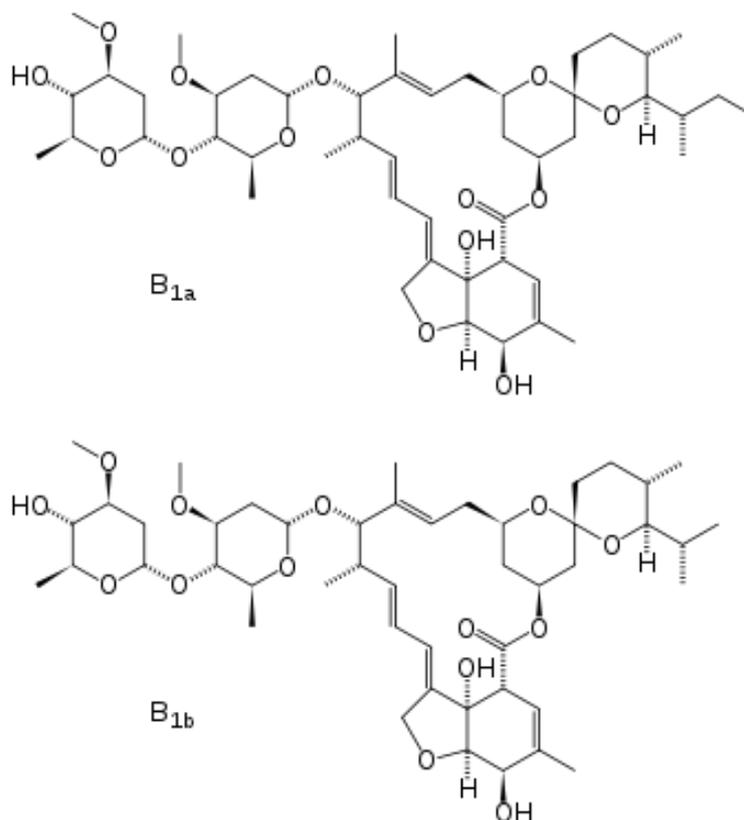
La marge de sécurité des substances actives de cette famille est attribuable à l'absence de récepteurs au glutamate chez les mammifères et à la faible affinité des lactones macrocycliques pour les autres récepteurs des canaux à chlorures. En effet, l'action sur les récepteurs GABA des mammifères n'est obtenue qu'à de fortes doses et en général la dose toxique est au moins dix fois supérieure à la dose thérapeutique. Dans ce cas, les signes de toxicité que l'on pourra observer sont de la dépression, de l'ataxie, des tremblements, du ptyalisme, une mydriase, et dans les cas sévères, le coma et la mort. De plus, aucun effet néfaste n'a été observé sur les juments à la reproduction, gestantes ou en lactation ni sur la qualité du sperme des mâles reproducteurs.

#### ▪ a) Famille des avermectines

Les avermectines sont classées en 2 groupes : celles du groupe A, qui possèdent un groupement méthoxyle en 5<sup>ème</sup> position et celles du groupe B où un groupement hydroxyle se situe en 5<sup>ème</sup> position.

L'ivermectine, qui est issue de la classe B1 des avermectines, fut la première molécule parmi les lactones macrocycliques à être commercialisée et aujourd'hui, c'est la seule molécule de cette famille ayant une autorisation de mise sur le marché pour les équidés en France.

L'ivermectine est en fait le nom générique donné à un mélange de deux composés chimiquement modifiés par semi-synthèse. Ce mélange contient au moins 80% de 22,23-dihydro-avermectine B1a et moins de 20% de son homologue 22,23-dihydro-avermectine B1b.



**Figure 31 : Structure chimique de l'ivermectine (C<sub>95</sub>H<sub>146</sub>O<sub>28</sub>)**

Cette molécule a été introduite de façon importante sur le marché car elle présente de nombreux avantages. Elle a un spectre d'action très large à la posologie usuelle de 0,2mg/kg et a un index de toxicité également important. Son administration se fait par voie orale, le pic de concentration plasmatique est atteint en quelques heures et elle est ensuite largement distribuée dans tout l'organisme.

En effet, divers paramètres ont été mesurés après l'administration des spécialités disponibles pour les chevaux sur le marché français. Ces derniers diffèrent légèrement selon les études, mais on peut noter que la concentration plasmatique en ivermectine atteint une concentration maximale C<sub>max</sub> d'environ 40 ng/ml (elle varie de 12 ng/ml à 81,1 ng/ml selon les auteurs) en un temps moyen T<sub>max</sub> de 9 ±6 heures. Ce pic redescend

progressivement jusqu'à un niveau moyen de 3 ng/ml à 10 jours, puis d'environ 1,3 ng/ml à 21 jours et les taux deviennent finalement non détectables au plus tard 28 jours après l'administration de la spécialité (DMV, 2013).

Selon les études, la demi-vie d'élimination de l'ivermectine varie entre 2 et 5 jours. Un effet de stockage avec une élimination lente du principe actif est effectivement décrit, notamment dans le foie et les tissus graisseux, l'ivermectine aurait donc une certaine rémanence de par son caractère lipophile. De nombreuses études ont alors mis en évidence un effet antiparasitaire prolongé sur les strongles, mais ce n'est en revanche pas vrai pour les ascarides. En effet, l'administration d'ivermectine permet de réduire le nombre d'œufs de *Parascaris equorum* excrété dans les crottins à zéro, mais il a été constaté une réapparition de l'excrétion des œufs au bout de 10 à 12 semaines, correspondant à la période prépatente du parasite, il est donc probable que les animaux puissent se réinfester peu de temps après le traitement anthelminthique (DI PIETRO et *al.*, 1997).

Une étude au Brésil a montré une nette réduction du nombre d'œufs excrétés dans les crottins après une administration d'ivermectine à la posologie recommandée : celui est passé d'une moyenne de 1600 o.p.g. à 0 en 7 jours et ce nombre restait nul jusqu'à la fin de l'étude c'est-à-dire 14 jours après le traitement. A l'autopsie, il a été observé que l'ivermectine était efficace contre de nombreuses espèces de nématode : une efficacité de 100% contre les stades adultes et immatures de *Trichostrongylus axei*, *Oxyuris equi*, *Parascaris equorum*, *Strongylus edentatus*, *S. vulgaris* and *Triodontophorus* spp., une efficacité de 99,6% contre *Habronema muscae* et une efficacité de 99,2% contre *Strongyloides westeri* ont été constatées. Une bonne action contre les larves intraluminales et les adultes de Cyathostominae (21 espèces) a également été prouvée (99.7%). Les 21 espèces de Cyathostominae identifiées dans cette étude étaient *Coronocylus coronatus*, *Coronocylus labiatus*, *Coronocylus labratus*, *Cyathostomum pateratum*, *Cyathostomum catinatum*, *Cylicocylus nassatus*, *Cylicocylus ashworthi*, *Cylicocylus ultrajectinus*, *Cylicocylus insigne*, *Cylicocylus elongatus*, *Cylicocylus leptostomum*, *Cylicocylus radiatus*, *Cylicodontophorus bicoronatus*, *Parapoteriostomum euproctus*,

*Parapoteriostomum mettami*, *Petrovinema poculatum*, *Cylicostephanus minutus*, *Cylicostephanus calicatus*, *Cylicostephanus longibursatus*, *Cylicostephanus goldi* and *Poteriostomum imparidentatum*. Une efficacité de 100% sur *Gyalocephalus capitatus* a également été constatée (COSTA et *al.*, 1998).

Ces résultats ont été confirmés plus récemment par des auteurs cherchant à réévaluer l'efficacité de cet anthelminthique car, de par ses nombreux avantages, l'ivermectine a été abondamment utilisée pendant plus de 20 ans et de nombreuses études ont constaté l'apparition de mutants résistants à cette molécule.

Lors de cette étude, il a alors été démontré que l'ivermectine gardait une excellente efficacité contre les parasites gastro-intestinaux des chevaux. Les auteurs ont en effet constaté que les animaux traités avec l'ivermectine à la dose de 200µg/kg présentaient une nette réduction du nombre d'œufs excrétés : le pourcentage de réduction du nombre d'œufs par gramme était supérieur à 99% pour les petits strongles (*Coronocylus* spp incluant *C. coronatus*, *C. labiatus*, *C. labratus*, *Cyathostomum* spp incluant *C. catinatum*, *C. pateratum*; *Cylicocylus* spp incluant *C. ashworthi*, *C. elongatus*, *C. insigne*, *C. leptostomum*, *C. nassatus*, *C. radiatus*, *Cylicodontophorus bicoronatus*, *Cylicostephanus* spp incluant *C. asymmetricus*, *C. bidentatus*, *C. calicatus*, *C. goldi*, *C. longibursatus*, *C. minutus*; *Gyalocephalus capitatus*, *Parapoteriostomum* spp incluant *P. euproctus*, *P. mettami*, *Petrovinema poculatum*; *Poteriostomum* spp incluant *P. imparidentatum*, *P. ratzii*) et les grands strongles (*Strongylus edentatus*, *Strongylus vulgaris*, *Triodontophorus* spp incluant *T. brevicauda*, *T. serratus*, *Craterostomum acuticaudatum*). Les autopsies réalisées au 14<sup>ème</sup>, 15<sup>ème</sup> et 16<sup>ème</sup> jour post-traitement confirmaient cette réduction du nombre d'œufs excrétés dans les fèces et mettaient également en évidence une très bonne efficacité du produit (94% à 100% d'efficacité) contre *Gasterophilus intestinalis*, *Habronema* spp., *Oxyuris equi* et *Parascaris equorum*.

Parasite	Moyenne géométrique du nombre de parasites comptés chez les chevaux du groupe témoin	Moyenne géométrique du nombre de parasites comptés chez les chevaux traités	Pourcentage de réduction	Valeur-p
<i>Craterostomum acuticaudatum</i> (adulte)	17,6	0	100	<0,01
<i>Gasterophilus intestinalis</i> (L2)	2,1	0	100	<0,01
<i>Gasterophilus intestinalis</i> (L3)	143,3	8,5	94	<0,05
<i>Habronema spp</i> (L4)	83,1	0	100	<0,01
<i>Oxyuris equi</i> (adulte)	8,6	0,1	99	<0,01
<i>Oxyuris equi</i> (L4)	32,5	0	100	<0,01
<i>Parascaris equorum</i> (adulte)	2,9	0	100	<0,01
<i>Strongylus edentatus</i> (adulte)	34,7	0	100	<0,01
<i>Strongylus vulgaris</i> (adulte)	28,8	0	100	<0,01
<i>Trichostrongylus axei</i> (adulte)	25,9	0	100	<0,01
<i>Triodontophorus brevicauda</i> (adulte)	32,5	0	100	<0,01
<i>Triodontophorus serratus</i> (adulte)	74,5	0	100	<0,01

**Tableau 3 : Résumé du pourcentage de réduction du nombre de parasites (à l'exception des petits strongles) chez les animaux traités à l'ivermectine par rapport aux animaux non traités (KLEI et al., 2001)**

Les spécialités disponibles sur le marché pour les chevaux aujourd'hui recommandent d'utiliser l'ivermectine en une seule prise, à une dose de 0,2 mg/kg. Elles peuvent être administrées chez les chevaux et les poneys de tout âge et sur les animaux à la reproduction. En effet, des chevaux adultes et des poulains ayant reçu jusqu'à 5 fois la dose recommandée n'ont montré aucun effet indésirable, l'administration d'une dose équivalente à 3 fois celle recommandée, à des juments à intervalles de 14 jours pendant toute la durée de la gestation et de la lactation, n'a provoqué aucun avortement, aucun effet secondaire sur la gestation ou lors du poulinage ni sur l'état de santé des juments. Aucune malformation chez les poulains n'a été observée et enfin, l'ingestion du produit n'affecterait pas la fertilité des mâles. En effet, lors d'administration à des étalons d'une dose équivalente à 3 fois celle recommandée, il n'a été constaté aucun effet indésirable, notamment sur les performances de reproduction.

Les effets indésirables sont rares à la posologie recommandée. Mais des coliques, des diarrhées et des anorexies ont pu être observées dans de très rares cas après le traitement, en particulier chez les chevaux lourdement infestés. Les fabricants recommandent également de ne pas utiliser cette molécule chez des chevaux présentant

une hypersensibilité connue au principe actif car des réactions allergiques peuvent survenir telles que de l'hypersalivation, de l'urticaire, un œdème lingual, de la tachycardie, une congestion des muqueuses... Lors de surdosages, on peut observer des signes légers et transitoires tels que des réactions pupillaires ralenties à la lumière et de la dépression. Ils ont été observés à des doses de 1,8 mg/kg (9 fois la dose recommandée). D'autres signes comme de la dysorexie ou une hyperthermie ont été observés chez les chevaux traités deux fois avec l'ivermectine en pâte orale à 10 fois la dose recommandée (soit 2 mg/kg de poids corporel). Tous les signes avaient disparu dans les 5 jours. Des symptômes plus graves tels que de l'ataxie, des tremblements, la stupeur, le coma et la mort ont été notés à des posologies bien supérieures (DMV, 2013).

Les produits contenant de l'ivermectine et ayant une autorisation de mise sur le marché pour les équidés sont nombreux en France. Ils sont parfois commercialisés avec un autre principe actif pour avoir un spectre d'action encore plus large.

Il s'agit de :

- BIMECTINE® Pâte, un antiparasitaire à base d'ivermectine, en pâte orale pour chevaux, développé par CEVA Santé animale. Il contient 18,7mg de principe actif par gramme et chaque applicateur permet de délivrer 120mg d'ivermectine, soit la quantité suffisante pour traiter un cheval de 600kg.

- DIVAMECTIN® 18,7 mg/g Pâte orale pour chevaux, cette spécialité est commercialisée par les Laboratoires BIOVÉ, elle se présente également sous forme de seringue graduée où chaque graduation permet de délivrer la dose recommandée pour traiter 100 kg de poids vif.

- EQVALAN® Pâte : un anthelminthique oral contenant également 18,7mg d'ivermectine par gramme de produit, mis sur le marché par MERIAL SAS. De même, le contenu d'une seringue permet de traiter les équins pesant jusqu'à 600 kg et des graduations sont indiquées à des intervalles de 100 kg de poids vif.

- ERAQUELL® 18,7 mg/g Pâte orale, un anthelminthique avec ivermectine pour chevaux développé par VIRBAC FRANCE. L'applicateur, contenant 7,49 g de pâte, permet de traiter 700kg de poids vif et s'utilise comme les formulations citées précédemment.

- FUREXEL® Pâte orale, une spécialité contenant 1,87 % d'ivermectine et également présentée sous forme de seringue facilitant l'administration par voie orale, aujourd'hui commercialisée par Merial SAS.

- NOROMECTIN® 1,87 % Pâte orale pour équidés, développée par Bayer Santé Division Santé animale, présentée dans un applicateur contenant 140mg d'ivermectine et permettant donc de délivrer une quantité suffisante pour traiter 700kg de poids vif.

- HIPPOMECTIN®, un gel oral pour les chevaux composé de 12mg d'ivermectine par gramme de produit, présenté sous forme de seringue graduée où chaque graduation permet de traiter 60kg de poids vif. Cette spécialité, dont le principe actif est légèrement moins concentré, a été récemment mise sur le marché par AUDEVAR.

Ces spécialités se présentent donc dans une seringue graduée pour faciliter l'administration du produit. Les graduations inscrites sur l'applicateur permettent de choisir la dose à délivrer par cheval. Il faut déverrouiller l'anneau moleté en faisant 1/4 de tour et le remonter le long de l'axe du piston jusqu'à la graduation indiquant le poids désiré puis tourner de nouveau l'anneau moleté en faisant 1/4 de tour pour le refermer. L'administration est facile : on insère l'applicateur dans la bouche du cheval dans l'espace interdental et on pousse le piston aussi loin que possible, afin de déposer le médicament sur la base de la langue. Il faut ensuite soulever immédiatement la tête de l'animal pendant quelques secondes pour favoriser la déglutition.

Il existe aussi des antiparasitaires, contenant de l'ivermectine, sous forme de comprimés à croquer :

- ERAQUELL® Tabs 20 mg, un anthelminthique oral en comprimés à croquer pour chevaux mis au point par Virbac France. Cette formulation contient 20 mg d'ivermectine par comprimé. Il faut donc donner 1 comprimé pour 100 kg de poids vif, en une administration unique, ce qui permet de délivrer 200 µg d'ivermectine/kg, selon le tableau suivant :

Poids	Dose
Jusqu'à 100 kg	1 comprimé
101 - 200 kg	2 comprimés
201 - 300 kg	3 comprimés
301 - 400 kg	4 comprimés
401 - 500 kg	5 comprimés
501 - 600 kg	6 comprimés
601 - 700 kg	7 comprimés
701 - 800 kg	8 comprimés

**Tableau 4 : Nombre de comprimés à administrer en fonction du poids du cheval**

- VECTIN® 22,75 mg Comprimé à croquer pour chevaux, un antiparasitaire oral avec ivermectine pour chevaux développé par MSD Santé Animale (INTERVET). Ces comprimés à croquer contiennent chacun 22,75 mg d'ivermectine. Pour une dose minimale de 0,2 mg/kg d'ivermectine, il faut donc donner 1 comprimé pour le traitement d'un cheval pesant jusqu'à 110 kg. Pour des poids plus élevés, un nombre de comprimés à croquer correspondant doit être déterminé en fonction du tableau posologique suivant :

Poids vif (kg)	Nombre de comprimés à administrer
60 à 110	1
111 à 220	2
221 à 330	3
331 à 440	4
441 à 550	5
551 à 660	6

**Tableau 5 : Nombre de comprimés à administrer en fonction du poids du cheval**

L'administration est également facile puisque ces comprimés sont assez appétants. Le produit contient en effet un arôme et est pris spontanément par la plupart des chevaux. Le poids vif doit être déterminé avec la plus grande précision possible afin d'assurer un bon dosage. Le comprimé est présenté dans la paume de la main, comme une friandise, ou

mélangé avec un peu d'aliment. Proposer un comprimé à la fois permet au cheval de l'accepter plus facilement, mais l'administration de plusieurs comprimés en même temps est également possible. Le même geste est répété jusqu'à administration de la dose complète. Si la dose requise n'était pas ingérée, un traitement alternatif devrait être administré.

Cependant cette formulation ne peut pas être utilisée chez les poulains de moins de 2 semaines et chez des poulains ou des chevaux de petite taille, pesant moins de 50 kg, car ils peuvent ne pas être en mesure d'ingérer des comprimés.

Les autres produits à base d'ivermectine présents sur le marché aujourd'hui sont associés au praziquantel. En effet, aucune interférence pharmacologique n'a été notée entre l'ivermectine et le praziquantel. Le spectre d'action est alors élargi aux cestodes, cependant les fabricants précisent qu'il ne faut pas utiliser ces produits sur les poulains de moins de 2 semaines chez qui l'innocuité du produit n'a pas été testée. Ces produits sont :

- EQUIMAX® Gel oral pour chevaux, développé par VIRBAC FRANCE. Cette formulation contient 18,7 mg d'ivermectine et 140,3 mg de praziquantel pour 1 g d'excipients. La posologie recommandée est alors 1,07 g de pâte par 100 kg en une administration unique, c'est-à-dire 200 µg d'ivermectine et 1,5 mg de praziquantel par kg. La seringue de 7,49 g est suffisante pour traiter 700 kg de poids vif.

- EQVALAN® Duo, un antiparasitaire oral commercialisé par Merial SAS. Cette pâte orale contient 15,5 mg d'ivermectine et 77,5 mg de praziquantel pour 1 g d'excipient. Il faut alors administrer 1,29 g de pâte pour 100 kg de poids vif (soit 200 µg d'ivermectine/kg et 1 mg de praziquantel/kg) en une administration unique. Le contenu d'une seringue permet cette fois de traiter un cheval de 600 kg.

- FUREXEL™ Combi Pâte orale, développée par Merial SAS. Une seringue de 7,74 g contient alors 0,12 g d'ivermectine et 0,6 g de praziquantel, il est donc recommandé d'administrer 1,29 g de pâte pour 100 kg (soit 200 µg d'ivermectine et 1 mg de praziquantel/kg) en administration unique. Le contenu d'une seringue permet de traiter des chevaux pesant jusqu'à 600 kg.

- EQUIMAX® Tabs 150 mg/20 mg. Ces comprimés à croquer pour chevaux ont été mis au point par VIRBAC FRANCE. Chaque comprimé contient 20 mg d'ivermectine et

150 mg de Praziquantel. La posologie recommandée est de 1 comprimé par 100 kg (soit 200 µg/kg d'ivermectine et 1,5 mg/kg de praziquantel) en une administration unique. Il faut bien sûr déterminer le poids vif avec la plus grande précision possible (DMV, 2013).

Ces médicaments ont été spécialement formulés pour un emploi chez les chevaux, il faut donc être vigilant lors de son utilisation, car les chiens, en particulier les Colleys, les Bobtails et les races apparentées, les chats mais également les tortues de mer ou terrestres peuvent subir des effets indésirables très graves causés par la concentration en ivermectine dans ce produit, s'ils ingèrent un peu de pâte tombée ou ont accès à des seringues usagées. De plus, l'ivermectine étant extrêmement dangereuse pour les poissons et les organismes aquatiques, les animaux traités ne doivent pas avoir accès direct aux eaux de surface et aux fossés durant leur traitement.

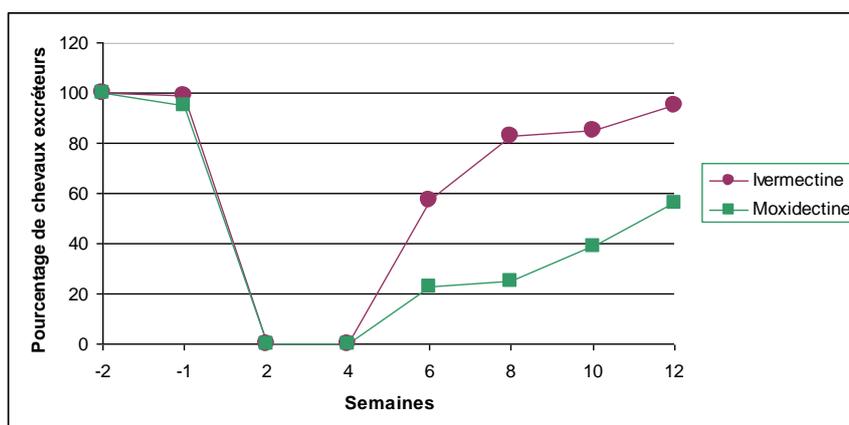
Des résistances à l'ivermectine concernant *Parascaris equorum* chez le cheval ont été rapportées. La résistance des parasites à différentes classes d'anthelminthiques peut se développer après une utilisation fréquente et répétée d'un anthelminthique de cette classe. Des précautions doivent donc être prises afin d'éviter les pratiques suivantes car elles augmentent le risque de développement de résistance : usage trop fréquent et répété d'anthelminthiques de la même classe pendant une durée prolongée, un sous-dosage pouvant être lié à une sous-estimation du poids vif, une mauvaise administration du produit, un manque d'étalonnage du dispositif de dosage... Tous les cas cliniques suspects de résistance aux anthelminthiques doivent faire l'objet d'analyses complémentaires en effectuant les tests appropriés et en cas de suspicion forte de résistance à un anthelminthique particulier, un anthelminthique appartenant à une autre classe pharmacologique et présentant un autre mécanisme d'action devrait être utilisé (DMV, 2013).

- **b) Famille des milbémécines**



être métabolisée par hydroxylation avant d'être éliminée. La seule voie d'excrétion significative est représentée par les fèces (DMV, 2013).

Cette longue rémanence permet une action plus importante sur les strongles, notamment sur les larves de cyathostomes enkystées et il semble que ce composé puisse également supprimer l'excrétion des œufs dans les fèces pendant une période prolongée après l'administration du traitement. La moxidectine semble en effet avoir une action encore plus longue sur les strongles que l'ivermectine car on a pu constater qu'après l'administration d'un de ces composés, le nombre d'œufs excrétés dans les crottins restait nul jusqu'à 4 semaines après le traitement, puis celui-ci augmente peu à peu dans le deux cas mais le pourcentage de chevaux dont la ré-excrétion devient détectable augmente moins rapidement chez les chevaux ayant reçu de la moxidectine que chez les chevaux traités avec l'ivermectine.



**Figure 33 : Pourcentage de chevaux dont l'excrétion fécale des œufs de strongles dépasse le seuil de détection après un traitement anthelminthique avec la moxidectine ou avec l'ivermectine (DI PIETRO et *al.*, 1997)**

Cependant cette particularité n'est pas valable pour les ascarides et il semble que ces derniers puissent ré-infester leur hôte peu de temps après l'administration du principe actif (DI PIETRO et *al.*, 1997).

Finalement, il a été montré que la moxidectine était très efficace sur les nématodes gastro-intestinaux puisque le nombre d'œufs excrétés dans les fèces diminue de façon très significative après un traitement avec ce principe actif. Pour les strongles, cette réduction

du nombre d'œufs varie de 99,8% à 100% en 3 à 14 jours après le traitement (DORCHIES et al., 1998). A l'autopsie, on a également pu constater que son efficacité était de 100% contre *Trichostrongylus axei* et contre *Triodontophorus* spp., de plus de 99,9% contre les cyathostomes adultes et leurs larves L5 (21 espèces identifiées), de 99 à 100% contre les stades adultes et immatures de *Parascaris equorum*, *Strongylus vulgaris*, *Craterostomum acuticaudatum*, *Gyalocephalus capitatus* et *Strongyloides westeri* et il en est de même pour *Oxyuris equi* et leur larves L4 et L5. Les *Strongylus edentatus* adultes étaient également complètement éliminés après le traitement ainsi que 92% de leurs larves. Enfin, l'efficacité de cette molécule a été évaluée de 92 à 95% contre *Gasterophilus intestinalis* et a 100% contre *Habronema muscae* (COSTA et al., 1998, BAUER et al., 1998).

Parasite	Nombre d'équidés infestés	Moyenne géométrique du nombre de parasites comptés chez les chevaux du groupe témoin	Nombre d'équidés infestés	Moyenne géométrique du nombre de parasites comptés chez les chevaux traités	Pourcentage d'efficacité de la moxidectine
<i>T. axei</i>	4	16	0	0	100
<i>Triodontophorus</i> spp	5	144	0	0	100
<i>Cyathostomes</i>					
L4	0	0	0	0	-
L5	6	6230	5	63	99
Adultes	6	52138	3	7	>99,9
Total		70625		85	>99,9
<i>S. edentatus</i> (L5)	5	18	3	1	92
<i>S. vulgaris</i>					
L4	6	20	5	8	62
L4 - L5	5	9	4	8	12
L5	5	9	4	3	66
Adultes	2	4	0	0	100
Total		56		16	72
<i>P. equorum</i>	3	6	0	0	100
<i>Habronema</i> spp	5	14	0	0	100
<i>O. equi</i>					
L4	4	167	1	2	99
L5	2	7	0	0	100
Adultes	0	0	0	0	-
Total		181		2	98
<i>G. pecorum</i>	2	2	0	0	100
<i>G. intestinalis</i>	6	187	6	14	92
<i>G. nasalis</i>	3	1	0	0	100

Tableau 6 : Nombre de parasites comptés à l'autopsie chez des chevaux témoins et chez des chevaux traités, pourcentage d'efficacité de la moxidectine (DORCHIES et al., 1998)

La moxidectine est donc très utilisée car elle a l'avantage d'avoir un spectre d'action très large, cependant les produits disponibles aujourd'hui en France ne disposent pas d'autorisation de mise sur le marché pour les poulains de moins de 4 mois. En effet, son index thérapeutique est relativement faible et on a pu constater l'apparition de signes de surdosage avec l'administration de doses 2 fois supérieures à la dose recommandée chez les poulains et avec 3 fois la dose recommandée chez les adultes. A cette occasion, les symptômes observés ont été de la dépression, une hypothermie, une perte d'appétit, de l'ataxie et une flaccidité de la lèvre. Ces derniers sont apparus 8 à 24 heures après l'administration du principe actif. Toutefois, l'innocuité de la molécule pour les femelles en gestation et en lactation a été démontrée, le composé peut donc être utilisé chez les animaux à la reproduction.

A la posologie recommandée, il est tout de même rare d'observer des effets indésirables. Lors des différentes études effectuées afin d'évaluer l'efficacité de la molécule, les auteurs n'ont remarqué aucun effet néfaste sur les animaux aux doses thérapeutiques. Cependant les fabricants notent qu'il est possible de constater, dans de rares cas, de l'ataxie, de la dépression, des signes de douleur abdominale, des trémulations musculaires, une flaccidité de la lèvre et œdème du museau après l'administration de la dose recommandée. Les poulains semblent plus souvent affectés que les chevaux adultes. Ces effets secondaires sont toutefois transitoires et disparaissent spontanément dans la plupart des cas. Le rétablissement est généralement complet dans les 24 à 72 heures. Il est donc nécessaire d'estimer aussi précisément que possible le poids des animaux, en particulier chez les poulains de faible poids ou chez les poulains de poneys, afin d'éviter tout surdosage.

Dans les cas de fortes infestations, la destruction des parasites peut provoquer des coliques modérées et transitoires et des fèces ramollies chez les animaux traités. Enfin, comme pour l'ivermectine, il est possible d'observer des réactions allergiques, il ne faut donc pas donner de produit à base de moxidectine dans le cas d'hypersensibilité connue au principe actif, aux autres milbémycines ou aux excipients du médicament.

Les produits disposant de l'autorisation de mise sur le marché pour les équidés aujourd'hui en France sont :

- EQUEST® Gel oral, un gel à base de moxidectine pour chevaux commercialisé par ZOETIS France SAS. Cette spécialité contient 18,92 mg de moxidectine pour 1 g d'excipients. Une seringue permet de traiter un cheval de 700 kg et celle-ci possède des graduations correspondant à 25 kg de poids vif afin d'administrer une dose précise de principe actif.

- EQUEST® PRAMOX Gel oral, un antiparasitaire pour chevaux où la moxidectine est associée au praziquantel, développé par ZOETIS France SAS. Ce gel oral contient 19,5 mg de moxidectine et 121,7 mg de praziquantel pour 1 g d'excipient. Il est alors recommandé d'utiliser une dose unique de 400 µg/kg de moxidectine et de 2,5 mg/kg de praziquantel, une seringue permet de traiter un cheval de 700 kg. Le spectre d'activité de l'anthelminthique s'étend alors aux cestodes (*Anoplocephala perfoliata*, *A. magna* et *Paranoplocephala mammillana*).

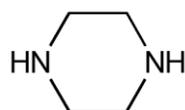
Tout comme pour l'ivermectine, le médicament a été formulé spécifiquement pour une utilisation chez les chevaux. Il faut donc être attentif lors de la manipulation de ces spécialités car les chiens ou les chats peuvent présenter des effets secondaires dus à la concentration de moxidectine dans ce médicament s'ils ingèrent du gel répandu sur le sol ou s'ils ont accès à des seringues entamées. En effet, des signes neurologiques (ataxie, trémulations musculaires et convulsions) ainsi que des signes digestifs (une hypersalivation par exemple) ont été observés. De même, la moxidectine est toxique pour les poissons ou les organismes aquatiques, il ne faut donc pas contaminer les plans et cours d'eau avec le produit ou les seringues usagées (DMV, 2013).

#### **d) Famille de la pipérazine**

La phénothiazine fut peut être le premier composé à démontrer clairement une activité contre les nématodes gastro-intestinaux. Elle fut largement utilisée pour contrôler les parasites digestifs des bovins, des ovins, des chevaux, des chèvres et de la volaille depuis 1938. Sa toxicité a cependant grandement limité son utilisation chez les autres espèces. Puis, l'apparition de mutants résistants et le développement de nouvelles

molécules anthelminthiques à spectre plus large a remarquablement diminué son utilisation et ce composé n'est aujourd'hui plus employé (LANUSSE et *al.*, 2009a).

La pipérazine fut découverte dans les années 1900 mais ses propriétés nématocides ne furent reconnues qu'en 1954. Une bonne efficacité de ce composé contre les ascarides chez toutes les espèces d'animaux domestiques a été constatée. Son faible coût et sa toxicité réduite ont permis son extension dans le monde entier malgré son spectre d'action très étroit.



**Figure 34 : Structure chimique de la pipérazine (1,4-diazacyclohexane hexahydropirazine)**

Sa structure chimique est très simple, c'est un diéthylénediamine. La pipérazine est donc une base libre relativement instable et pour augmenter sa stabilité, elle est usuellement formulée sous forme de sels (adipate, citrate, phosphate, hexahydrate, et sulfate) (LANUSSE et *al.*, 2009a).

Le mode d'action de la pipérazine est celui d'un agoniste sélectif des récepteurs GABA. Celle-ci provoque une hyperpolarisation des cellules neuromusculaires et empêche donc la contraction des muscles. Les parasites sont alors immobilisés, atteints de paralysie flasque, ils sont incapables de se maintenir dans leur environnement et meurent (DORCHIES, 1991).

Les vers adultes sont plus sensibles que les parasites immatures. La dose recommandée pour l'utilisation de la pipérazine est de 110mg/kg. A cette dose chez les chevaux, différents sels de pipérazine montrent une action contre les ascarides, les cyathostomes et les oxyures dans la lumière intestinale. Mais l'efficacité de la pipérazine est particulièrement importante sur les ascarides puisqu'une seule administration est efficace à 100% sur *Parascaris equorum*.

Les nombreuses études effectuées ont montré un large index thérapeutique de cette molécule. Sa faible toxicité permet donc d'employer ce composé sur de très jeunes animaux sans craindre d'effets indésirables (MARRINER, 1986).

La diéthylcarbamazine, souvent présentée sous forme de citrate de diéthylcarbamazine, dérive de la pipérazine. Ce composé a été particulièrement utilisé pour le traitement des parasites pulmonaires chez les bovins. Cependant, le lévamisole et l'ivermectine ont montré une meilleure efficacité et l'utilisation de la diéthylcarbamazine fut peu à peu abandonnée (MARRINER, 1986).

Le praziquantel est un dérivé du noyau isoquinoline et de la pipérazine, il est aujourd'hui utilisé comme anthelminthique chez diverses espèces animales, avec de nombreuses autorisations de mise sur le marché en France.

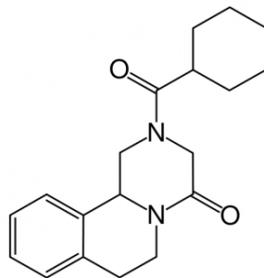


Figure 35 : Structure chimique du praziquantel (C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Après administration, le praziquantel est distribué dans tout l'organisme, ce qui explique son action sur tous les stades parasitaires. Ce composé traverse la cuticule du parasite en s'insérant entre les couches lipidiques des cellules et va être distribué de façon homogène dans le parasite. Il va alors causer de nombreuses lésions tégumentaires et va modifier l'absorption du glucose et du calcium, ce qui conduit à une dérégulation du métabolisme parasitaire et à une paralysie des vers. Les parasites ainsi fragilisés deviennent sensibles aux enzymes digestives et aux défenses immunitaires de l'hôte. Ils sont finalement éliminés sous forme fragmentaire en moins de 24 heures (MARRINER, 1986).

Cette molécule, à spectre étroit, est connue pour sa grande efficacité contre les cestodes, mature et immature, même si elle est un peu moins efficace contre les stades larvaires. Elle n'a en revanche pas d'action contre les autres parasites, en particulier contre les nématodes car ces derniers ont une cuticule beaucoup plus épaisse qui ne laisse pas passer la molécule. La posologie recommandée est de 1 à 1,5mg/kg, à cette dose, le

praziquantel a montré une efficacité de 100% contre *Anoplocephala perfoliata*, *Anoplocephala magna* et contre *Paranoplocephala mamillana* (LANUSSE et al., 2009a).

### e) Les organophosphorés

Les organophosphorés ont initialement été utilisés comme pesticides, et c'est seulement plus tard, qu'une activité anthelminthique à spectre étroit fut découverte. Parmi les organophosphorés exploités en médecine vétérinaire, on peut citer le dichlorvos, le trichlorfon, l'haloxon, le coumaphos, naphthalophos et crufomate. Les deux premiers ont initialement été utilisés chez les chevaux pour leur bonne efficacité sur les nématodes digestifs, en particulier contre *Parascaris equorum*, mais ces molécules ne sont aujourd'hui plus utilisées (LYONS et al., 1976).

## 2. Posologie et efficacité

Les molécules décrites précédemment et disponibles actuellement sur le marché sont résumées dans les tableaux suivants.

Classe chimique	Composé	Posologie	Efficacité sur <i>P. equorum</i>
Les benzimidazoles	Fenbendazole	5mg/kg	nécessite une dose de 10mg/kg
	Oxfendazole	10mg/kg	oui
	Oxibendazole	10mg/kg	oui
Les composés hétérocycliques	Pipérazine	88mg/kg	oui
Les lactones macrocycliques	Ivermectine	0,2mg/kg	oui
	Moxidectine	0,4mg/kg	oui
Les tétrahydropyrimidines	Pamoate de pyrantel	6,6mg/kg	Oui
	Tartrate de pyrantel	2,64mg/kg/jour	Oui

Tableau 7 : Molécules anthelminthiques utilisées aux États-Unis contre *Parascaris equorum* (NIELSEN et al., 2014)

Principe actif	Nom déposé	Forme pharmaceutique	Indications	Posologie
<b>Fenbendazole</b>	PANACUR EQUINE GUARD®	Suspension buvable (flacon)	Stades luminaux et larves en migration	posologie recommandée 7,5mg/kg 1 fois par jour pendant 5 jours mais dose efficace contre les stades larvaires 10mg/kg (hors AMM)
	PANACUR® 10%	Suspension buvable (bidon)	Stades luminaux et larves en migration	10mg/kg 1 fois par jour pendant 5 jours (Hors AMM)
	PANACUR® pâte	Pâte orale (applicateur)	Stades luminaux	posologie recommandée 7,5mg/kg mais dose efficace contre les stades larvaires 10mg/kg (hors AMM)
<b>Mébéndazole</b>	TELMIN® Pâte	Pâte orale (applicateur)	Stades luminaux	8mg/kg. Contre indiquée chez les animaux de moins de 400kg
	TELMIN® Granulés	Granulés (sachets)	Stades luminaux	8mg/kg. Contre indiquée chez les animaux de moins de 400kg
<b>Pyrantel</b>	STRONGID® Chevaux pâte orale	Pâte orale (applicateur)	Stades luminaux	6,6mg/kg
<b>Ivermectine</b>	BIMECTINE® Pâte	Pâte orale (applicateur)	Stades luminaux et larves en migration	0,2mg/kg
	DIVAMECTIN® 18,7 mg/g Pâte orale	Pâte orale (applicateur)	Stades luminaux et larves en migration	0,2mg/kg
	EQVALAN® Pâte	Pâte orale (applicateur)	Stades luminaux et larves en migration	0,2mg/kg
	ERAQUELL® 18,7 mg/g Pâte orale	Pâte orale (applicateur)	Stades luminaux et larves en migration	0,2mg/kg
	FUREXEL® Pâte orale	Pâte orale (applicateur)	Stades luminaux et larves en migration	0,2mg/kg
	NOROMECTIN® 1,87 % Pâte orale	Pâte orale (applicateur)	Stades luminaux et larves en migration	0,2mg/kg
	HIPPOMECTIN®	Pâte orale (applicateur)	Stades luminaux et larves en migration	0,2mg/kg
	ERAQUELL® Tabs 20 mg	Comprimés à croquer	Stades luminaux et larves en migration	0,2mg/kg
	VECTIN® 22,75 mg Comprimé à croquer	Comprimés à croquer	Stades luminaux et larves en migration	0,2mg/kg
	EQUIMAX® Gel oral pour chevaux	Pâte orale (applicateur)	Stades luminaux et larves en migration	0,2mg/kg d'ivermectine associée au praziquantel
	EQVALAN® Duo	Pâte orale (applicateur)	Stades luminaux et larves en migration	0,2mg/kg d'ivermectine associée au praziquantel
	FUREXELTM Combi Pâte orale	Pâte orale (applicateur)	Stades luminaux et larves en migration	0,2mg/kg d'ivermectine associée au praziquantel
EQUIMAX® Tabs 150 mg/20 mg	Comprimés à croquer	Stades luminaux et larves en migration	0,2mg/kg d'ivermectine associée au praziquantel	
<b>Moxidectine</b>	EQUEST® Gel oral	Pâte orale (applicateur)	Stades luminaux et larves en migration	0,4mg/kg, contre indiqué chez les poulains de moins de 4 mois d'âge
	EQUEST® PRAMOX Gel oral	Pâte orale (applicateur)	Stades luminaux et larves en migration	0,4mg/kg de moxidectine associée au praziquantel contre indiqué chez les poulains de moins de 4 mois d'âge

**Tableau 8 : Tableau récapitulatif des spécialités disponibles sur le marché français en 2014**

De nombreuses formulations sont donc disponibles actuellement en France. Les efficacités de ces composés ont été évaluées au cours de différentes études, en particulier contre les ascarides et plusieurs spécialités ont alors été commercialisées.

Pour une bonne utilisation de ces produits, quelques points sont à respecter. Il est par exemple préférable de ne pas utiliser la moxidectine chez les jeunes poulains, de par son faible index thérapeutique, et il est conseillé, lors du traitement d'animaux lourdement infestés, de ne pas utiliser un anthelminthique qui lyse rapidement les vers afin de ne pas risquer de provoquer de phénomène d'hypersensibilité. Il est alors recommandé d'utiliser un composé qui paralyse les vers sans les lyser, comme le pyrantel (ou le lévamisole si ce produit était utilisable chez les équidés). Un deuxième traitement pourra être effectué environ 3 semaines plus tard, avec une molécule de la famille des lactones macrocycliques par exemple, car elles ont l'avantage de provoquer également une mort relativement lente des parasites et sont généralement très efficaces (BARTMANN, 2002).

De plus, de nombreux phénomènes de résistance ont pu être constatés, partout dans le monde, et ils concernent toutes les molécules précédemment citées. Il faudra donc porter une attention particulière sur la façon d'utiliser ces molécules, s'assurer de leur bonne efficacité et développer les mesures sanitaires pour contrôler le parasitisme des animaux.

## **XI. Prophylaxie sanitaire**

La prévention sanitaire est un élément fondamental pour la lutte contre les parasites. En effet, vermifuger ne suffit pas, il faut placer les chevaux dans des conditions telles qu'ils ne puissent pas se recontaminer trop vite. Et surtout, avec l'apparition des problèmes de résistance, l'utilisation des molécules antiparasitaires doit être limitée au maximum, il faut donc être encore plus exigeant concernant les mesures sanitaires.

Une partie du cycle de *Parascaris equorum* se réalise dans l'environnement, les mesures sanitaires qui peuvent être prises vont donc avoir un impact important sur la lutte contre les parasites.

## 1. Gestion des animaux au pâturage

Pour limiter la charge parasitaire acquise au pâturage, plusieurs moyens, plus ou moins contraignants sont applicables.

Tout d'abord, il faut porter une attention particulière aux poulinières. En effet, les juments suitées non vermifugées peuvent être des porteuses saines très importantes et elles constituent une source d'infestation privilégiée pour la contamination du poulain.

Le degré de contamination des pâtures dépend également de la densité de chevaux sur l'aire disponible. En effet, plus l'espace laissé aux chevaux est petit, plus la concentration des éléments infestants sur le sol est importante. Il faut donc diminuer le nombre de chevaux par unité de surface. De plus, le fait de diminuer la surface disponible pour les chevaux augmente le risque de contamination, parce que ces derniers ne peuvent plus suivre un comportement normal qui consiste à respecter une aire pacage et une aire de défécation. Ce phénomène a été surtout étudié dans le cadre des modalités d'infestations par les strongles. Il a été montré que les larves de ces helminthes sont rassemblées dans un rayon de 30 cm autour de leur lieu d'émission dont 89% se situent dans un rayon de 15 cm. La surpopulation, qui oblige les chevaux à enfreindre cette règle de refus des aires de défécation pour se nourrir, accroît ainsi considérablement le risque de contamination. Il faut donc éviter le surpâturage en mettant maximum un cheval par hectare (ENGLISH, 1979).

Pour limiter la charge parasitaire au sol, il est possible de mélanger des animaux de différents âges sur une même parcelle, le principe étant de grouper des animaux sensibles

et des animaux moins sensibles dans le même espace. En effet, le rassemblement d'animaux très sensibles sur une même parcelle conduit à la contamination sévère de cette surface, ces animaux étant de véritables multiplicateurs de parasites. Au contraire, l'association de poulains et de chevaux adultes permet de garder un niveau de contamination de la parcelle relativement bas car ces derniers sont beaucoup moins sensibles et ne permettent pas une multiplication aussi importante que les jeunes dont le système immunitaire est immature. Ainsi, par effet de dilution, le poulain ingère moins d'éléments infestants que s'il pâturait avec d'autres poulains de son âge (BARGER, 1997, LOVE et DUNCAN, 1992).

Lorsque les chevaux sont rentrés pour l'hiver et mis à l'herbe pour la belle saison, on peut également pratiquer « la mise à l'herbe tardive » aussi appelée « sortie tardive sur le regain ». Cette pratique consiste à sortir les chevaux en début d'été et non au printemps, lorsque la récolte des fourrages et les premières chaleurs sont déjà passées. Les larves survivantes se font alors plus rares et ont été « diluées » par la repousse de l'herbe, ainsi les chevaux sont moins exposés aux parasites. Cette pratique permet donc de réduire la charge parasitaire des pâturages surtout lorsque ces derniers ne peuvent pas être laissés au repos un an complet (DUPHOT, 2009b).

La rotation des pâtures est une stratégie supplémentaire permettant de contrôler la charge parasitaire. Cependant, celle-ci doit être raisonnée car il est évident que l'introduction d'animaux parasités sur des parcelles saines assure la contamination rapide du milieu et l'introduction d'animaux sains sur une parcelle contaminée assure l'infestation rapide des animaux.

Cette stratégie consiste à changer les chevaux de pré avant que celui-ci ne devienne trop dangereux, la prévention est alors basée sur une fuite en avant. Les parcelles quittées sont alors laissées en jachère afin qu'elles redeviennent relativement saines, l'idéal étant de les laisser suffisamment longtemps au repos pour qu'elles aient subi des conditions climatiques permettant leur assainissement. Par exemple, un été chaud où le soleil et la sécheresse pourront tuer les parasites et/ou un hiver dont les alternances de gel et de dégel auront de même assaini la pâture. Cependant, il est souvent très difficile de laisser une

prairie longtemps inoccupée, et, même si les conditions climatiques n'étaient pas favorables à la survie des œufs, il est impossible de savoir si la parcelle reste contaminante ou non (BARGER, 1997).

On peut par exemple effectuer des rotations de 2 – 3 semaines car le terrain ne sera alors utilisé que pendant le laps de temps où les éléments parasitaires excrétés au sol ne sont pas encore infestants. Toutefois, le temps d'évolution de l'œuf en élément infestant est imprévisible et cela suppose de disposer de nombreuses parcelles.

Le principe de rotation des pâtures est donc simple mais la réalisation difficile. On estime que cette stratégie est efficace et permet de réduire la charge parasitaire de la prairie dans les régions de climat chaud (DUPHOT, 2009b).

Cette rotation peut être associée ou non à un traitement antiparasitaire. La théorie du « dose and move » a été évoquée pour la première fois par MICHEL en 1969 pour le contrôle des nématodes gastro-intestinaux chez les bovins (MICHEL, 1969), elle fut ensuite reprise par THOMAS et BOAG en 1973 pour lutter contre le parasitisme des ovins (BOAG et THOMAS, 1973). Elle consiste à introduire sur des parcelles saines, des animaux nouvellement vermifugés. Ce mouvement est préférentiellement réalisé avant que la pâture d'origine ne devienne trop contaminée, notamment en milieu d'été au moment du pic d'infestation. Cette stratégie permettrait de limiter grandement la contamination de la nouvelle pâture mais elle fut largement remise en cause avec l'apparition des mutants résistants aux anthelminthiques (BARGER, 1997).

La rotation peut également être effectuée en alternance avec d'autres espèces. En effet, le pâturage de ruminants sur la prairie permet d'interrompre le cycle parasitaire de nombreux parasites. L'ingestion des éléments infestants par des bovins ou des ovins permet de réduire significativement la charge parasitaire de la pâture et la plupart des parasites sont spécifiques et ne pourront pas terminer leur évolution chez d'autres espèces.

Cette stratégie est très efficace sur les ascarides, pour qui les ruminants sont des culs-de-sacs épidémiologiques. On peut par exemple changer les chevaux de prairie tous les 2 à 6 mois, en alternant avec le pâturage de ruminants, mais un rythme annuel est également possible. Cependant, cette pratique permet l'accroissement de la population des

parasites communs aux deux espèces. Notamment, si la rotation est effectuée entre des chevaux et des ruminants, on peut voir se développer des parasites tels que la grande douve, surtout en terrain humide, ou *Trichostrongylus axei* (BARGER, 1997, DORCHIES, 2011).

Le pâturage mixte, c'est-à-dire l'association des équidés et des ruminants sur le même terrain au même moment, montre également une réduction significative du niveau d'infestation des chevaux. Cette stratégie permet de diminuer la probabilité d'ingestion des larves infestantes par les chevaux et permet d'interrompre le cycle parasitaire des éléments parasites lorsque ces derniers sont ingérés par les ruminants (DUPHOT, 2009b). Récemment, de bons résultats ont été constatés chez des chevaux partageant leur pâture avec des ovins. On a effectivement observé que plus les moutons étaient laissés longtemps en pâture avec les chevaux, plus le nombre d'œufs excrétés dans les crottins des chevaux était faible.

Numéro du paddock	Nombre de chevaux	Moyenne d'o.p.g. de <i>P. equorum</i>	Temps de pâturage des ovins
1	5	400 a	+
2	8	162,5 a	++
3	4	0 b	+++
4	6	16,7 b	+++
5	6	683,3 a	++
6	3	400 a	++
7	3	533,3 a	+

Les lettres indiquent un résultat significatif (b) ou non significatif (a)

+ correspond à un temps de pâturage de moins de 2 heures, ++ entre 2 à 4 heures et +++ à plus de 6 heures

**Tableau 9 : Nombre moyen d'œufs par gramme chez des chevaux mis en pâture avec des ovins pendant un temps plus ou moins long (DE ALMEIDA et al., 2009)**

Ces pratiques d'alternance ou de pâturage simultané avec des ruminants, pourtant très efficaces, ne sont aujourd'hui que trop peu appliquées. Par exemple, au Danemark, elles sont seulement utilisées par 18% des détenteurs d'équidés (LENDAL et al., 1998).

## 2. Hygiène des prairies

Tout d'abord, pour limiter la charge parasitaire de la prairie, il faut abolir les conditions propices au développement des éléments infestants, c'est-à-dire supprimer les endroits humides et détruire la végétation qui pourrait servir d'abri (assécher les mares, éliminer les mousses et les friches...).

Le hersage des pâtures est une pratique controversée, elle a longtemps été considérée comme une bonne pratique d'hygiène car elle expose les éléments infestants à l'air libre en égrainant les crottins. Mais celle-ci étant souvent effectuée à la fin des saisons de pâture, à l'automne, lorsque les conditions de développement du parasite sont favorables, permet tout simplement la dissémination des éléments parasites sur toute la parcelle et augmente alors le risque de contamination des chevaux. Le hersage est donc intéressant à condition que l'environnement présente des conditions très néfastes à la survie du parasite, comme par exemple un climat chaud et très sec, où le soleil permettra l'assainissement de la pâture.

Le fauchage des prés serait également un moyen de diminuer la charge parasitaire de la prairie. Le principe est de priver les parasites de leur abri végétal et de les exposer ainsi aux conditions climatiques, mais tout comme le hersage, cette pratique est discutée.

L'assainissement des pâtures par épandage de produits larvicides comme de la chaux vive ou du cyanamide calcique coûte cher et n'a montré qu'une efficacité très faible. De plus, cela conduit souvent au refus de l'herbe traitée par les chevaux, cette pratique est donc rarement employée (D'ABLON, 2011).

Toutefois, la pratique ayant montré les meilleurs résultats pour lutter contre la contamination des pâtures est le ramassage des crottins dans les prés. Il a été prouvé que le ramassage hebdomadaire des crottins diminuait fortement les comptages coproscopiques des œufs de strongles et d'ascarides, et cette pratique est particulièrement efficace lors

qu'elle est réalisée deux fois par semaine (NIELSEN et *al.*, 2010, DUPHOT, 2009a). En effet, le ramassage des crottins diminue considérablement le nombre d'éléments infestants dans le milieu extérieur, et cette pratique a encore plus d'intérêt dans les paddocks où la quantité d'herbe est limitée ou en cas de surpâturage, lorsque les aires de refus ne sont plus respectées par les animaux.

Cette pratique est malheureusement trop peu exécutée. Elle demande en effet une certaine exigence car le ramassage doit être réalisé au minimum une fois par semaine pour montrer une diminution significative du niveau d'infestation. Elle peut s'effectuer à la pelle ou à l'aide un tracteur muni d'un système d'aspiration. Cet engin est surtout utilisé en Angleterre, dans les prairies relativement grandes.

Il est de plus possible de faire du compost avec les matières fécales recueillies car après deux semaines passées en système clos, les œufs et les larves sont complètement détruites grâce à la chaleur dégagée. En effet, des études ont montré que le compost détruit efficacement les œufs de *Parascaris equorum*, du fait des nombreuses réactions chimiques qui ont lieu, en quelques jours les températures du compost peuvent atteindre 55°C et ainsi détruire les œufs (GOULD, 2013).

### **3. Gestion des animaux au box**

Les locaux doivent être maintenus propres et secs, car l'humidité favorise le développement des parasites. Les mangeoires et les abreuvoirs doivent être protégés des matières fécales. La litière des boxes doit être entretenue régulièrement et gardée propre et saine, pour cela les boxes peuvent être curés entièrement environ 2 fois par semaines, mais il est également possible de les débarrasser quotidiennement des crottins et de la litière souillée. Il est recommandé de profiter du curage pour nettoyer et désinfecter les structures, par exemple avec un jet à haute pression et haute température. En effet, il est prouvé qu'une bonne hygiène des écuries permet grandement de lutter contre les ascarides du cheval (NIELSEN et *al.*, 2010).

Une attention toute particulière doit être portée au box de poulinage : il nécessite un nettoyage minutieux et un ramassage quotidien des crottins ! En effet, les poulains nouveaux nés sont particulièrement fragiles et sensibles aux agents pathogènes, il est donc nécessaire de maintenir leur environnement aussi propre que possible et le ramassage quotidien des crottins permet notamment de limiter la contamination du box par la mère, qui est une source d'infestation privilégiée pour son poulain.

De plus, il est important de lutter contre les insectes volants comme les mouches car celles-ci favorisent la dissémination des œufs d'ascarides dans les locaux.

Le bon entretien et la propreté des structures permettent donc de limiter le niveau d'infestation des chevaux. Cependant, il est impossible de prévenir le parasitisme en gardant les chevaux au box toute l'année. En effet, la stabulation permanente est une conduite réalisable chez les bovins, mais impossible à appliquer chez les chevaux, ces derniers ont besoin de sortir et les éleveurs n'accepteraient pas de garder les animaux en box, surtout à la belle saison, après les poulinages (DUPHOT, 2009b).

Le fumier devra être stocké un an avant son épandage sur les prés ou avoir subi un traitement particulier tel que le compostage, sinon l'utilisation du fumier sera limitée aux aires non pâturées et dont les voies de drainage n'aboutissent pas aux lieux d'entretien des chevaux (D'ABLON, 2011).

Finalement, les mesures sanitaires doivent être adaptées à la structure, à son mode de fonctionnement et également aux conditions climatiques ! Mais le respect des règles d'hygiène et la mise en place de quelques bonnes pratiques permettent grandement de lutter contre le parasitisme. Malheureusement, celles-ci sont encore trop peu appliquées car la plupart des détenteurs d'équidés les considèrent trop compliquées, chronophages et contraignantes. Les propriétaires estiment souvent qu'il est plus facile de vermifuger systématiquement à l'aveugle, en respectant un calendrier de vermifugation. Cependant, cette pratique de vermifugation intensive est largement remise en cause avec l'apparition de parasites résistants aux molécules anthelminthiques (VERCRYUSSE et DORNY, 1999).

## XII. Phénomène de résistance aux lactones macrocycliques

### 1. Définitions générales

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, la résistance aux antimicrobiens, en anglais antimicrobial resistance (AMR), est la résistance d'un micro-organisme à un médicament auquel il était jusque là sensible. Ces micro-organismes résistants (bactéries, virus, champignons et parasites) sont capables de résister à l'attaque des antimicrobiens tels que les antibiotiques, les antiviraux, les antipaludéens... de sorte que les traitements classiques deviennent inefficaces et que les infections persistent et peuvent se propager. La résistance aux antimicrobiens est facilitée par une utilisation et surtout une mauvaise ou une utilisation inappropriée des médicaments, par exemple lors de sous dosages, lors de mauvaises prescriptions ou lorsque le traitement est arrêté trop tôt (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

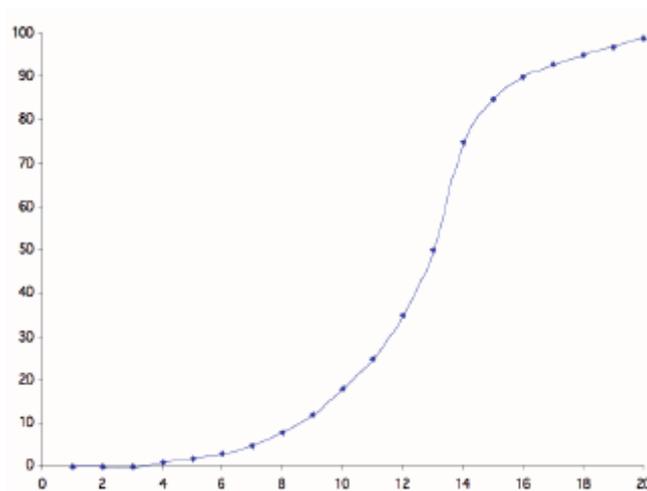
Ce phénomène de résistance est une préoccupation mondiale. En effet, lors de résistance au traitement, la maladie de l'individu est prolongée, la période de contagiosité est donc accrue, le risque de transmission des micro-organismes résistants est donc augmenté et le risque de mortalité aussi. Le développement des échanges et des voyages au niveau mondial permet une propagation rapide vers des pays et des continents éloignés (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

La résistance aux antimicrobiens est un phénomène ancien puisque pendant des milliards d'année, les micro-organismes ont développé des mécanismes de protection et de résistance pour survivre aux attaques d'autres micro-organismes. Des souches sensibles peuvent devenir résistantes par le biais de mutations de gènes existants, c'est-à-dire que lors de mutations, aléatoires et spontanées, un individu pourra acquérir une capacité de résistance, ou par l'acquisition d'un gène résistant provenant d'un autre organisme déjà

résistant. Celle-ci pourra se transmettre à sa descendance (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

En effet, la chimiorésistance repose sur un processus de sélection génétique au sein d'une population d'individus, les mutants résistants apparaissent avec une fréquence de l'ordre de 1 individu pour 1 à 10 millions d'individus. La pression de sélection, exercée par les programmes de lutte antiparasitaires, favorise la multiplication de ces mutants dont la fréquence augmente progressivement jusqu'à devenir plus importante que celle des individus chimiosensibles. Ce processus dynamique peut donc prendre plusieurs années et aboutit finalement à des échecs thérapeutiques. Le phénomène de résistance ira d'autant plus vite que la vitesse de renouvellement de la population parasitaire est rapide (BEUGNET, 2006).

Dans le cas des parasites gastro-intestinaux des chevaux, l'évolution d'une population d'individus chimiorésistants peut être plus ou moins longue selon le processus de sélection impliqué. En effet, lorsque la capacité de résistance concerne un système régi par plusieurs gènes ayant chacun plusieurs allèles, où les allèles de résistance sont généralement récessifs, l'apparition d'individus résistants est lente. Elle nécessite jusqu'à 20 ans.



**Figure 36 : Evolution du pourcentage d'allèles de résistance au cours d'un processus de sélection lent (type gène de détoxification) (BEUGNET, 2006)**

Dans le cas d'un système régi par un nombre de gènes limités et par des allèles de résistance bien souvent co-dominants, la sélection d'individus résistants peut être rapide. Elle nécessite de 10 à 15 ans. Ces allèles sont par exemple responsables d'une modification des récepteurs des antiparasitaires qui n'agissent alors plus.

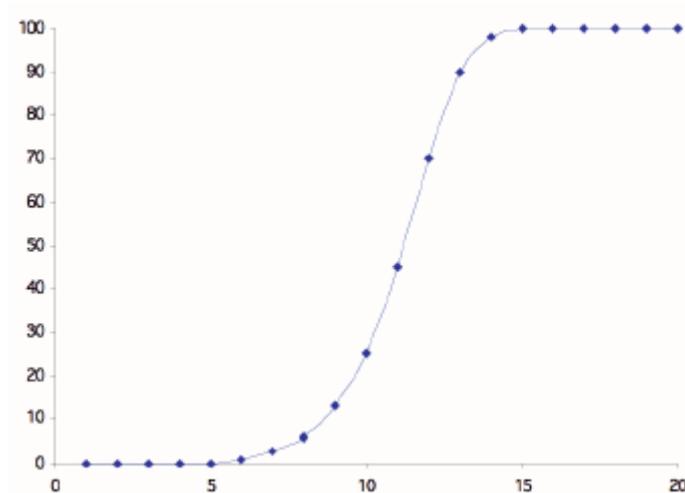


Figure 37 : Evolution du pourcentage d'allèles de résistance au cours d'un processus de sélection rapide (type gène de récepteur) (BEUGNET, 2006)

## 2. Apparition et transmission des résistances aux anthelminthiques

Chez les chevaux, les premiers problèmes de résistance ont concerné les cyathostomes, ces phénomènes ont été décrits il y a 50 ans, lorsqu'on constatait des échecs de traitement. Cependant, ces cas restaient sporadiques et n'avaient pas d'importance épidémiologique. L'émergence de populations de petits strongles résistants aux benzimidazoles concernant l'écurie entière, dans les années 80, est devenue beaucoup plus préoccupante. Puis, rapidement, ce phénomène de résistance aux benzimidazoles fut décrit à travers le monde, on peut par exemple citer les études d'UHLINGER et JOHNSTONE aux Etats-Unis (UHLINGER et JOHNSTONE, 1984, UHLINGER et JOHNSTONE, 1985), de BAUER et *al.* en Allemagne (BAUER et *al.*, 1986), de BOERSEMA et *al.* aux Pays-Bas (BOERSEMA et *al.*, 1991), de FISHER et *al.* en Angleterre

(FISHER et *al.*, 1992), de BJORN et *al.* au Danemark (BJORN et *al.*, 1991), de COLLOBERT-LAUGIER en France (COLLOBERT-LAUGIER, 1999)...

Après plusieurs années d'expansion des résistances aux benzimidazoles, on constate aujourd'hui l'émergence de résistances aux lactones macrocycliques. Les premières suspicions de résistances aux avermectines chez *Parascaris equorum* ont été publiées il y a une dizaine d'année (SLOCOMBE et *al.*, 2007, VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et *al.*, 2007, HEARN et PEREGRINE, 2003, STONEHAM et COLES, 2006).

De nettes diminutions de l'efficacité de l'ivermectine contre les ascarides ont été constatées et les mêmes observations ont été réalisées plus tard pour la moxidectine. De nombreuses études comparent le nombre d'œufs excrétés dans les matières fécales avant et après un traitement anthelminthique à l'aide d'une de ces deux molécules et les auteurs n'ont effectivement montré qu'une faible réduction du comptage d'œufs fécaux, mettant alors en évidence un défaut d'action des lactones macrocycliques.

Chevaux	Nombre d'œufs de <i>P. equorum</i> par gramme de fèces			
	26-oct.	02-nov.	09-nov.	16-nov.
4	2100*	1500 <sup>±</sup>	-	-
20	1300*	3950 <sup>±</sup>	<50	200
13	1950 <sup>+</sup>	1050 <sup>±</sup>	250	50
26	1350 <sup>+</sup>	1250 <sup>±</sup>	450	350
7	300	<50	-	-
9	<50	-	50	50
25	200	200	-	-

\* Traitement avec une spécialité à base de moxidectine ce jour

<sup>+</sup> Traitement avec une spécialité à base d'ivermectine ce jour

<sup>±</sup> Traitement avec une spécialité à base de pamoate de pyrantel ce jour

- Examen coproscopique négatif

**Tableau 10 : Comparaison des comptages d'œufs dans les matières fécales avant et après traitement (BOERSEMA et *al.*, 2002)**

La plupart des études mettent donc en évidence la non réduction du nombre d'œufs dans les crottins après un traitement anthelminthique mais il a également été observé, au

cours d'examens nécropsiques, que la diminution du nombre d'ascarides adultes présents dans l'intestin après le traitement était aussi souvent non significative (REINEMEYER, 2009, SLOCOMBE et *al.*, 2007). Finalement, aujourd'hui, les phénomènes de résistance des ascarides aux lactones macrocycliques sont avérés dans plusieurs pays.

Plusieurs types de mécanismes ont été développés par les parasites pour échapper à l'action des antiparasitaires. Les principales stratégies de résistance identifiées sont : des changements moléculaires affectant la capacité de l'anthelminthique à s'accumuler au site d'action, des modifications de l'activité enzymatique des parasites, des changements de nombre, de structure et/ou d'affinité des récepteurs cellulaires aux anthelminthiques, et l'amplification des gènes cibles permettant de compenser les effets de l'anthelminthique (LANUSSE et *al.*, 2009b).

La résistance aux benzimidazoles, ayant une importance mondiale, a été largement étudiée. Des modifications qualitatives des récepteurs aux antiparasitaires ont alors été identifiées chez ces mutants chimiorésistants. En effet, la pression de sélection a conduit à une modification des béta-tubulines des nématodes, empêchant la fixation des benzimidazoles à ces dernières et bloquant donc leur action. Le gène concerné par cette mutation a été très précisément identifié et on sait que l'altération de la béta-tubuline et cette perte de haute affinité pour les benzimidazoles est due à une mutation des acides aminés 200 ou 167 (phénylalanine ou tyrosine) sur le gène codant pour les béta-tubulines (LANUSSE et *al.*, 2009b).

Chez les parasites résistants aux lactones macrocycliques, les mécanismes de résistance font intervenir une modification du récepteur des canaux chlorure glutamate-dépendants et une détoxification enzymatique accrue des lactones macrocycliques au sein des cellules parasitaires (BEUGNET, 2006).

Cette détoxification met en jeu les P-glycoprotéines, qui sont des complexes protéiques transmembranaires ayant une activité de pompe ATP dépendante, permettant le rejet extracellulaire de composés considérés comme toxiques par la cellule. La

surexpression de cette glycoprotéine est donc une stratégie permettant d'échapper à l'action des lactones macrocycliques.

Des variations des sous-unités des canaux chlorure glutamate-dépendants ont également été identifiées chez des individus chimiorésistants, les lactones macrocycliques perdent alors leur capacité de liaison à ce récepteur et leur action est ainsi bloquée. Une altération des récepteurs GABA a également pu être constatée chez certaines souches de mutants résistants aux lactones macrocycliques, mais cela semble rester plus anecdotique (LANUSSE *et al.*, 2009b).

On a donc vu au départ l'apparition de résistances isolées, puis elles sont apparues de plus en plus nombreuses, de manière indépendante dans de multiples endroits, notamment dans les élevages où la pression de sélection était très forte. Mais la prévalence de ces résistances étant de plus en plus importante, le risque de transmission est également de plus en plus fort et la peur des éleveurs qui craignent l'importation de résistance dans leur structure s'avère alors totalement justifiée.

Les principales sources de transmission de ces ascarides résistants sont les poulains de moins d'un an, qui sont de véritables multiplicateurs de parasites. Cependant, les poulains des juments suitées sont des sources de dissémination redoutables car ils peuvent être porteurs de parasites immatures. En effet, les parasites n'étant pas sexuellement matures, l'examen coproscopique des poulains est négatif et ils pourront ainsi excréter les éléments parasitaires résistants sans que l'on ne les ait suspectés. Cette voie de contamination est particulièrement préoccupante dans les races où la reproduction doit être faite en monte naturelle pour que le produit soit enregistré au stud-book, les juments mises à l'étalon sont souvent suitées et les parasites résistants peuvent alors facilement contaminer l'environnement (REINEMEYER, 2009).

### **3. Facteurs de sélection des résistances**

L'évolution de populations de nématodes résistants aux anthelminthiques dépend de nombreux facteurs, mais le moteur premier d'apparition de mutants résistants est la pression de sélection exercée sur les parasites. Celle-ci est augmentée par :

### **a) La fréquence d'utilisation d'un antiparasitaire**

Plus la fréquence d'utilisation d'un antiparasitaire est importante, plus la pression de sélection est importante. De très nombreuses structures utilisant les anthelminthiques de façon intensive ont effectivement constaté l'apparition de parasites chimiorésistants.

L'utilisation quotidienne de pyrantel afin de prévenir les migrations des larves de nématodes fut par exemple largement incriminée dans l'apparition de parasites résistants à cette molécule. De même, les benzimidazoles ont longtemps été utilisés toutes les 6 à 8 semaines pour lutter contre les infestations à *Strongylus vulgaris* mais cette pratique, qui fut tout d'abord satisfaisante puisque des diminutions de la mortalité et de la morbidité des animaux ont été observées, fut largement remise en cause avec l'apparition de nombreux nématodes résistants à cette molécule (KAPLAN, 2002).

La plupart des élevages utilisent en effet les antiparasitaires de façon intensive, surtout chez les jeunes. La pratique courante est de vermifuger les poulains de moins d'un mois, tous les deux mois voire tous les mois, avec différentes molécules jusqu'à l'âge d'un an. Les lactones macrocycliques, qui ont l'avantage d'être efficaces contre de nombreux parasites et ont une action contre les larves d'ascarides, sont très souvent employées, ce qui augmente le risque d'apparition de résistance envers ces composés.

Cette pratique excessive favorise grandement la pression de sélection et le risque est d'autant plus important que la fréquence d'utilisation de l'antiparasitaire est inférieure à la période prépatente du parasite car le traitement étant larvicide, les individus sensibles perdent l'opportunité de se reproduire et donc lorsque le traitement est répété, cela réduit l'effet « refuge » à l'environnement. Il est donc nécessaire de réduire la fréquence des

traitements, en privilégiant par exemple les mesures sanitaires et les contrôles coproscopiques (REINEMEYER, 2009).

## **b) L'utilisation de molécules rémanentes**

Un traitement permanent ou une molécule rémanente augmente la pression de sélection par rapport à un traitement discontinu. En effet, lors de la persistance de l'activité et lors de la décroissance lente de la concentration de l'antiparasitaire, ce qui est couramment appelé l'« effet de queue », le temps de contact entre la molécule et les parasites est alors prolongé, mais surtout le temps de contact avec des doses non létales augmente, ce qui favorise la sélection de mutants résistants à la molécule.

Les lactones macrocycliques, et notamment la moxidectine, sont aujourd'hui les composés ayant le temps de résidence dans l'organisme le plus long des anthelminthiques disponibles chez les chevaux. En effet, leurs propriétés physico-chimiques permettent la persistance de la molécule dans l'organisme mais inévitablement, les concentrations aux sites d'actions diminuent progressivement, et les parasites, alors exposés à des concentrations sub-thérapeutiques, sont plus à même de développer des résistances à la molécule (REINEMEYER, 2009).

## **c) Le choix de la dose**

La question de la dose est complexe, on a longtemps pensé que les sous dosages importants étaient le principal moteur à l'apparition de résistance. En réalité, cela semble plus complexe, et il semblerait même que les surdosages peuvent également favoriser la sélection de mutants, et notamment dans le cas de résistance aux lactones macrocycliques.

On sait aujourd'hui que les sous-dosages favorisent la sélection d'individus chimiorésistants en ne détruisant qu'une partie de la population. Ils permettent notamment la survie d'individus hétérozygotes portants des allèles de résistance dominants ou co-dominants. Mais cela a surtout été constaté en cas de légers sous dosages, c'est-à-dire avec une dose létale supérieure à 50% car les sous dosages trop importants

laissent survivre un grand nombre d'individus chimiosensibles. Or ceux-ci ayant souvent une capacité de reproduction supérieure à celle des individus chimiorésistants, ils se multiplient alors plus rapidement.

En fait, les biostatisticiens ont défini 3 seuils, qui sont propres à une molécule et pour un parasite donné. Le premier seuil correspond au dosage qui tue les premiers homozygotes sensibles, cela correspond donc à une faible dose d'anthelminthique. Le second seuil correspond au dosage qui élimine tous les homozygotes sensibles et les premiers hétérozygotes. Et le troisième se définit comme la dose permettant de supprimer tous les hétérozygotes, passé ce seuil, la population n'est alors plus constituée que par des homozygotes résistants.

Lorsque le taux d'allèles résistants est très faible dans la population, la dose qui risque le plus de sélectionner ces allèles se situe autour du second seuil. Alors que lorsque le taux d'allèles résistants est plus important, la dose la plus dangereuse se situerait autour du troisième seuil, car elle accélère grandement le processus de sélection (BEUGNET, 2006).

De nombreux facteurs entrent en jeu pour définir la dose la plus appropriée et la moins risquée en ce qui concerne l'apparition de résistance. De plus, les erreurs de dosage, qui peuvent être dues à une mauvaise estimation du poids du cheval, une mauvaise administration, l'utilisation d'une spécialité hors AMM, une métabolisation qui peut varier selon les animaux... sont également des facteurs favorisant l'apparition de population résistante par un dosage inadéquat (NIELSEN et *al.*, 2010).

Enfin, les anthelminthiques les plus utilisés sont dits « large spectre », ils présentent le plus souvent une efficacité contre quatre groupes de parasites cibles : les grands strongles, les cyathostomes ou petits strongles, les oxyures et les ascarides. Mais cette efficacité n'est pas la même sur tous les parasites cibles puisque ces parasites ne nécessitent pas tous le même dosage pour aboutir à leur mort. Il y a donc toujours un parasite qui nécessite un dosage plus important que les autres, ce parasite définira donc la dose contenue dans le produit commercialisé, on parle de dose limitée par ce parasite, en anglais « dose-limiting parasites ».

Les anthelminthiques à base de benzimidazole illustrent bien cet exemple. En effet, dans ces spécialités, c'est *Parascaris equorum* qui définit la dose limite. Chez les chevaux, un dosage de proche de 5 mg/kg permet de traiter efficacement les grands strongles, les oxyures et est susceptible de traiter les cyathostomes, mais le dosage recommandé pour éliminer complètement les ascarides est proche de 10 mg/kg.

C'est donc l'espèce qui définit la dose limite qui sera la plus susceptible de faire évoluer des individus résistants (REINEMEYER, 2009).

#### **d) Les types de résistance**

Plusieurs types de résistance sont décrits selon les capacités des parasites à développer un mécanisme de survie : une résistance à une unique substance est appelée résistance simple, une résistance à un groupe de substances ayant le même mode d'action est une résistance de famille et lorsque les parasites sont résistants à plusieurs composés ayant des modes d'action différents, on parle de résistance multiple.

La plupart du temps, les résistances sont « de famille ». Ainsi, il semblerait que lorsque les parasites deviennent résistants à une lactone macrocyclique comme par exemple l'ivermectine, l'efficacité d'une autre molécule de la même famille comme la moxidectine serait de courte durée et, même en augmentant les doses, celle-ci deviendrait rapidement inactive (BEUGNET, 2006).

#### **e) L'absence de refuge de sensibilité pour les parasites**

Lorsque le parasite, en tout stade de son développement, se trouve en contact avec la molécule antiparasitaire, la pression de sélection augmente. D'ailleurs, la chimiorésistance des ascarides du cheval a longtemps été considérée comme peu probable car, ayant une grande résistance des œufs dans l'environnement, ce cycle présente un « refuge de sensibilité » et les parasites n'étaient donc pas prédisposés à développer des résistances (LIND et CHRISTENSSON, 2009, HEARN et PEREGRINE, 2003).

En effet, lorsque les parasites, à un moment du cycle, ne sont pas exposés à l'anthelminthique, ils subissent une pression de sélection moindre et permettent alors le maintien d'une population parasitaire sensible car ces parasites contribueront largement à la prochaine génération parasitaire (NIELSEN *et al.*, 2010).

#### **f) La gestion zootechnique des animaux**

Plus les animaux sont parasités, en grand nombre et avec une fréquence importante, plus le risque d'apparition de résistances est élevé. Toutes les mauvaises pratiques d'élevage comme la surpopulation, les défauts d'hygiène des locaux... vont augmenter le risque d'apparition et de transmission des résistances. D'autant plus que cet état de parasitisme va obliger les éleveurs à traiter les animaux plus intensivement (NIELSEN *et al.*, 2010).

La pratique du « dose and move » fut largement remise en cause avec l'apparition de nématodes résistants aux anthelminthiques. On rappelle que cette pratique consiste à vermifuger les animaux et à effectuer une rotation de pâture 48 à 72 heures après le traitement. Or, la nouvelle pâture, considérée comme saine, ne va être contaminée que par des parasites résistants à la molécule administrée. Les parasites ayant survécus aux traitements, présentant les allèles de résistance, vont donc coloniser ce nouvel environnement. Il serait donc préférable de laisser les chevaux dans la même pâture afin de préserver un refuge de sensibilité, constitué par les parasites de l'environnement non soumis à l'antiparasitaire (DUPHOT, 2009b).

Il en est de même pour les autres pratiques alternatives, il faut en faire un usage raisonné afin de diminuer les risques d'apparition de résistance. Par exemple, il est prouvé que le ramassage des crottins diminue de façon importante la charge parasitaire de la parcelle, mais il faut surtout la mettre en pratique après une vermifugation. En effet, après la vermifugation, les œufs contenus dans les crottins sont issus des parasites ayant survécus au traitement et donc possiblement résistants, il est donc très intéressant de les éliminer,

tandis que les œufs excrétés avant le traitement contiennent des parasites sensibles, ils peuvent donc être laissés en place pour obtenir un effet de dilution et ainsi constituer une prochaine génération parasitaire sensible (NIELSEN et *al.*, 2010).

## 4. Suspecter un phénomène de résistance

Diagnostiquer un problème de résistance n'est pas facile, car, comme on l'a vu précédemment, l'échec thérapeutique est tardif, la résistance naît puis progresse lentement. La résistance anthelminthique est généralement la première hypothèse suspectée lorsqu'un éleveur ne constate sur ses animaux qu'une amélioration clinique insignifiante après un traitement anthelminthique. Mais cela peut aussi être attribué au fort potentiel de réinfestation des poulains par le parasite, à une dose administrée inadéquate... Finalement, lors de suspicion de résistance à un antiparasitaire, celle-ci doit absolument être évaluée par des tests objectifs.

### a) Tests in vivo

Le test de réduction du nombre d'œufs dans les fèces (Fecal Egg Count Reduction Test = FECRT en anglais ou Test de Réduction de l'Excrétion Fécale des Oeufs = TREFO en français) est actuellement le test de référence pour détecter les résistances des parasites gastro-intestinaux des chevaux. Il est donc utilisé pour *Parascaris equorum*, et toutes les molécules anthelminthiques peuvent être étudiées grâce à cette méthode.

Il consiste à comparer le nombre d'œufs par gramme excrétés en moyenne avant et après l'administration d'un traitement antiparasitaire. Ce test est facilement réalisable en routine, cependant il n'est significatif que si 25% des parasites intestinaux sont résistants à la molécule testée (COLES et *al.*, 2006).

Pour réaliser ce test, l'idéal est de choisir au moins 6 animaux dont le nombre d'œufs excrétés dans les crottins avant traitement est de plus de 150 œufs par gramme. Les animaux choisis ne doivent pas avoir subi de traitement antiparasitaire dans les 4 dernières

semaines précédant le test et si cela est possible, il est recommandé de constituer en plus un groupe témoin, formé d'animaux qui ne seront donc pas traités. Toutefois, si ces conditions ne sont pas réalisables, le test de réduction du nombre d'œufs dans les fèces peut tout de même être réalisé sur de plus petits effectifs.

On effectue alors le comptage des œufs contenus dans les fèces des animaux choisis, le jour du traitement, et on renouvelle cette opération 7 à 21 jours plus tard. Le délai adopté pour effectuer les comptages après le traitement varie selon les auteurs et selon les molécules anthelminthiques testées. Par exemple, il est conseillé d'effectuer le deuxième examen coproscopique 8 à 10 jours après un traitement à base de benzimidazole et 14 à 17 jours après l'administration d'une lactone macrocyclique (COLES *et al.*, 2006).

En effet, un certain temps doit être laissé avant d'effectuer les comptages post-traitement car il faut évidemment prendre en compte le temps d'action de la molécule testée sur les parasites, mais on cherche en plus à éviter les chutes de pontes momentanées. En effet, les femelles adultes peuvent s'arrêter de pondre momentanément suite à la vermifugation, cela pourrait donc être traduit par une efficacité apparente de la molécule utilisée. Or ces parasites ne sont pas considérés comme chimiosensibles, c'est pourquoi il faut absolument que leurs pontes soient prises en compte. Toutefois, le délai d'attente ne doit pas non plus être excessivement long, car au-delà d'un certain temps, de nouvelles infestations peuvent avoir lieu.

On calcule ensuite la moyenne du nombre d'œufs par gramme avant le traitement et celle après traitement des animaux choisis. La formule permettant d'obtenir le pourcentage de réduction du nombre d'œufs, c'est-à-dire le pourcentage d'efficacité de l'anthelminthique utilisé est alors :

$TREFO = (M1 - M2) / M1 \times 100$	M1 : nombre d'œufs excrétés par les animaux avant traitement
	M2 : nombre d'œufs excrétés par les animaux après traitement

Certains auteurs préfèrent choisir 2 groupes d'animaux d'au moins 6 animaux chacun, afin d'avoir un groupe témoin et un groupe traité. Le principe reste le même, les comptages sont effectués pour le groupe témoins et 7 à 21 jours après le traitement pour le

groupe vermifugé. Les formules suivantes permettent d'obtenir l'efficacité de l'anthelminthique utilisé :

$\text{TREFO} = (M1-M2)/M1 \times 100$	M1 : nombre d'œufs excrétés par les animaux du groupe témoin M2 : nombre d'œufs excrétés par les animaux du groupe traité après traitement
--	---

Ou encore :

$\text{TREFO} = ((T1-T2)/T1) \times C1/C2$	T1 : nombre d'œufs des animaux du groupe traité avant traitement T2 : nombre d'œufs des animaux du groupe traité après traitement C1 : nombre d'œufs des animaux du groupe témoin à J0 C2 : nombre d'œufs des animaux du groupe témoin au moment des comptages T2
--	--

Selon les auteurs, le pourcentage en dessous duquel les parasites sont considérés comme résistants peut varier. Le phénomène de résistance est avéré si celui-ci est inférieur à 90% mais un résultat inférieur à 95% est tout de même suspect. En réalité, il serait préférable d'adapter le seuil en fonction de l'anthelminthique testé, et si l'efficacité attendue de l'anthelminthique est supérieure à 99%, l'obtention d'un résultat inférieur à 95% au test de réduction du nombre d'œufs dans les fèces permet de conclure que les parasites sont résistants (COLES et *al.*, 2006).

Finalement, lorsque la réduction du nombre d'œufs dans les fèces est supérieure à 95%, la population parasitaire testée est dite chimiosensible. Mais ces résultats ne sont validés que si l'indice de confiance est supérieur à 90%. Les résultats semblent plus fiables lorsque les comptages coproscopiques sont réalisés avec la méthode FECPAK qu'avec la méthode de Mac Master.

Cependant, ce test manque encore de standardisation. Il est aujourd'hui nécessaire de définir divers paramètres, tels que la sensibilité du test, le délai de comptage des éléments parasitaires à respecter après le traitement, la méthode d'examen coproscopique à appliquer... afin de faciliter l'interprétation de ce test et de le rendre universel (DUNCAN et *al.*, 2002).

Finalement, ce test est donc rapide, simple et peu coûteux, mais son interprétation n'est pas toujours facile. D'une part, comme évoqué ci-dessus, à cause d'un manque de standardisation, et d'autre part, parce que l'excrétion des œufs dans les fèces dépend de nombreux paramètres. Notamment pour *Parascaris equorum*, le nombre d'œufs n'est pas proportionnel au nombre d'adultes et peut facilement varier en fonction des conditions physiologiques de l'hôte, des moments de la journée, des co-infestations... et de nombreux autres facteurs. Ces variations, qui peuvent donc être mesurées lors du test, peuvent alors faire suspecter une résistance anthelminthique lors de prolificité accrue, ou au contraire peuvent faire croire à une efficacité lors de diminution de la ponte (REINEMEYER, 2009).

Le test de contrôle de l'efficacité d'un anthelminthique réalisé grâce à l'autopsie des animaux est le « gold standard » des tests permettant d'évaluer la résistance des parasites à un anthelminthique. Cependant, ce test est très coûteux et n'est pas toujours réalisable. Il est plus fréquemment effectué dans l'espèce ovine dans laquelle les animaux sont plus facilement sacrifiés.

Pour réaliser ce test, on utilise 2 groupes d'animaux, un groupe de chevaux témoins et un groupe de chevaux traités, d'au moins 6 animaux chacun mais idéalement constitués de 10 chevaux. Le traitement à évaluer est administré uniquement au deuxième groupe et l'autopsie des animaux doit être réalisée 2 à 6 semaines après l'administration de la molécule (COLES et *al.*, 2006).

L'efficacité du composé étudié est alors déterminée par comparaison du nombre de parasites comptés de tube digestif des animaux témoins avec le nombre de parasites encore présents dans la lumière intestinale des animaux traités. Le pourcentage d'efficacité contre chaque espèce de parasite est alors calculé selon la formule suivante (DUNCAN et *al.*, 2002) :

$$E(\%) = \frac{\text{Moyenne du nombre de vers des témoins} - \text{moyenne du nombre de vers des traités}}{\text{Moyenne du nombre de vers des témoins}} \times 100$$

Il existe aussi de nombreuses variantes de ce test (on peut utiliser différentes doses d'anthelminthiques, autopsier les animaux à différents moments, on peut également infester les animaux artificiellement pour ensuite étudier l'efficacité d'une molécule...).

Le test critique est un test basé sur le même principe que le test de contrôle de l'efficacité d'un anthelminthique mais dans ce cas, l'animal est son propre témoin. En effet, après l'administration de la molécule testée, toutes les fèces de l'animal sont collectées jusqu'à son autopsie, généralement réalisée 7 jours post-traitement. L'efficacité de la molécule est alors calculée à partir du nombre de parasites comptés à l'autopsie et dans les crottins collectés selon la formule suivante (DUNCAN *et al.*, 2002) :

$$E(\%) = \frac{\text{nombre de parasites expulsés}}{\text{nombre de parasites expulsés} + \text{nombre de parasites comptés à l'autopsie}} \times 100$$

Cette méthode est laborieuse et prend beaucoup de temps, cependant, elle est très efficace pour évaluer l'efficacité d'un anthelminthique sur les formes adultes et larvaires des parasites de la lumière digestive et, contrairement au test de contrôle, elle donne en plus une bonne idée de l'efficacité de la molécule sur les parasites en développement dans la muqueuse intestinale. L'efficacité de la molécule peut être évaluée pour chacune des espèces parasitaires identifiées à l'autopsie, la difficulté de ce test est alors le comptage et l'identification de certains nématodes trouvés partiellement digérés dans l'estomac ou le reste de l'intestin.

Localisation	Parasite	Infestation naturelle				Infestation expérimentale			
		Test critique		Test de contrôle		Test critique		Test de contrôle	
		Adultes	Larves	Adultes	Larves	Adultes	Larves	Adultes	Larves
Estomac	<i>Gasterophilus</i> spp.	Non applicable	+	Non applicable	+	Non applicable	-	Non applicable	+
	<i>Habronema, Draschia</i>	-	-	+	+	-	-	-	-
	<i>Trichostrongylus axei</i>	-	-	+	+	-	-	+	+
Intestin grêle	<i>Parascaris equorum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Strongyloides westeri</i>	-	-	+	-	-	-	+	-
	<i>Anoplocephala</i> spp. <sup>b</sup>	+	Non applicable	+	Non applicable	-	-	-	-
Caecum/colon	<i>Strongylus</i> spp.	+	-	+	+	+	-	+	+
	<i>Triodontophorus</i> spp., etc.	+	±	+	+	Possible		Possible	
	<i>Cyathostomum</i> spp.	+	±	+	+ <sup>a</sup>	Possible		Possible	
	<i>Oxyuris equi</i>	+	± <sup>a</sup>	+	+ <sup>a</sup>	-	-	-	-
	<i>Probstmayria vivipara</i>	-	-	+	Non applicable	-	-	-	-

a : le test critique peut démontrer une efficacité contre les larves lumenales des petits strongles et d'*Oxyuris equi* tandis que le test de contrôle peut également indiquer une activité contre les larves en développement dans la muqueuse digestive

b : aussi trouvé dans le colon et le caecum

**Tableau 11 : Méthode d'évaluation de l'efficacité d'un anthelminthique contre divers parasites gastro-intestinaux (DUNCAN et al., 2002)**

Pour *Parascaris equorum*, l'évaluation de l'efficacité d'une molécule contre les stades larvaires en migration à travers le foie et les poumons est extrêmement difficile. Elle peut toutefois être réalisée en reprenant le principe du test de contrôle précédemment décrit. Après une infestation expérimentale, le traitement contenant la molécule à tester devra alors être administré 1 à 2 semaines plus tard et il faudra ensuite compter le nombre de larves qui sont capables de retourner dans la lumière intestinale en réalisant une autopsie 4 à 6 semaines post-infestation (DUNCAN et al., 2002).

## b) Tests in vitro

Ces tests ont été développés car la plupart des anthelminthiques inhibent le développement des parasites. Le principal inconvénient est la difficulté de faire développer des parasites in vitro, en effet il faut que le parasite se développe dans un milieu aussi proche que possible de celui de son hôte afin qu'il n'y ait pas de faux positif et que le test soit le plus objectif possible.

Le test d'éclosion des œufs consiste à mettre des œufs en contact avec des concentrations croissantes d'anthelminthique. L'effet est alors mesuré sur la capacité d'éclosion. A chaque concentration, le pourcentage d'œufs évoluant jusqu'à l'éclosion est compté. Ces mesures permettent de construire la courbe dose-effet et d'ainsi déterminer la DL50 de la population testée envers la molécule en question. Cependant ce test n'est utilisable que pour tester l'efficacité des benzimidazoles et n'a pas été mis au point pour les lactones macrocycliques ni pour les éléments parasitaires de *Parascaris equorum* (COLES et *al.*, 2006).

Les tests de développement évaluent l'évolution des parasites de L1 en L3, de L3 en L4 ou de L4 en adulte. Un anthelminthique est ajouté dans le milieu de culture, l'ensemble est placé en incubation à 27°C pendant 7 jours et on évalue l'efficacité de la molécule. Un anthelminthique efficace empêche la croissance des parasites. Il est possible d'effectuer seulement le test avec la concentration d'anthelminthique à tester, c'est-à-dire la concentration déterminante, ou avec plusieurs concentrations d'anthelminthique dans le milieu, tout comme pour le test d'éclosion des œufs où on mesure alors le pourcentage de larves capables de se développer, afin de déterminer la DL50. De même que pour le test d'éclosion des œufs, l'évaluation de la survie des ascarides dans un tel milieu n'a pas été étudiée et ces tests n'ont pas été mis au point pour les lactones macrocycliques (COLES et *al.*, 2006).

Les tests moléculaires actuellement réalisables pour détecter une population parasitaire résistante à un anthelminthique sont basés sur la PCR (Polymerase Chain Reaction). Ils permettent uniquement de mettre en évidence le gène responsable de la

résistance face aux benzimidazoles, codant pour la bêta-tubuline modifiée. Ils n'ont pas été mis au point pour les autres anthelminthiques contre lesquels les parasites ont développé des stratégies de résistance plus complexes, notamment, les mécanismes de résistance des nématodes contre les lactones macrocycliques sont encore relativement mal connus (COLES et *al.*, 2006).

## **5. Méthode de lutte contre les résistances aux lactones macrocycliques**

C'est l'usage raisonné de ce groupe qui permettra d'en prolonger son utilisation, il faudra ne pas vermifuger à outrance, utiliser ces molécules à bon escient et associer mesures sanitaires et vermifugations pour contrôler le parasitisme digestif. Les bonnes pratiques comme le ramassage des crottins ou l'utilisation d'autres espèces sur les aires pâturées par les chevaux, doivent être fortement encouragées car elles permettent de diminuer la fréquence des traitements et de maintenir un niveau de parasitisme très bas dans la structure.

### **a) La vermifugation ciblée**

Les détenteurs d'équidés ont longtemps cherché à éradiquer totalement la population parasitaire car les propriétaires de chevaux craignent les maladies parasitaires et souhaitent optimiser les performances de leurs animaux. La vermifugation est donc souvent pratiquée de façon intensive, comme une mesure préventive, et la majorité des éleveurs suivent un programme de vermifugation prédéfini, par exemple avec des administrations systématiques d'anthelminthique à tout l'effectif toutes les 8 à 13 semaines (BARGER, 1997, VERCRUYSSSE et *al.*, 1995). Les molécules employées étant relativement sûres, efficaces et d'un coût raisonnable, elles ont donc été abondamment utilisées. Mais on sait aujourd'hui que la vermifugation intensive, à l'aveugle, pose de nombreux problèmes.

Il faut donc repenser totalement notre façon d'utiliser les molécules anthelminthiques, la vermifugation ne doit plus être considérée comme un acte banal mais comme un véritable traitement, raisonné et utilisé à bon escient, c'est-à-dire au bon moment, avec la bonne molécule, à la bonne posologie. On préconise donc aujourd'hui de ne plus vermifuger au hasard, mais seulement après un examen coproscopique et lorsque le nombre de parasites trouvés dans les crottins dépasse un certain seuil.

En effet, il est prouvé qu'il est préférable de maintenir un faible niveau de parasitisme dans la structure équestre plutôt que de vouloir éliminer totalement les parasites, notamment car la limitation du contact parasite-hôte diminue le développement de l'immunité. On a donc défini un seuil en dessous duquel on tolère le parasitisme, celui-ci est assez bas pour être sans conséquence clinique, mais assez important pour favoriser le développement de l'immunité des animaux et permettre en plus un effet refuge avec le maintien d'une population sensible chez les animaux faiblement parasités.

On évalue alors les animaux individuellement, par un examen clinique et un examen coproscopique et on traitera uniquement les animaux fortement infestés ou en mauvaise condition physique, les autres seront seulement sous surveillance. Les études ont montré que le seuil de traitement se situe entre 100 et 300 œufs par gramme de fèces à l'examen coproscopique (KAPLAN, 2002). Mais la plupart des parasitologistes s'accordent à dire que l'on peut choisir le seuil de 200 œufs par gramme pour décider d'un traitement.

Le protocole de vermifugation doit donc être sélectif, ciblé et adapté en fonction des examens coproscopiques. On respecte un seuil, en dessous duquel on ne traite pas, mais cela reste à évaluer au cas par cas et cette évaluation sera régulièrement renouvelée, par exemple tous les 2 ou 3 mois. C'est donc le suivi coproscopique qui déterminera les intervalles de traitement, en fonction des résultats obtenus (NIELSEN et *al.*, 2010, DUPHOT, 2009a).

Il a été montré que les animaux faiblement infestés présentaient une très forte probabilité de rester faibles excréteurs. En effet, plusieurs études ont montré que lorsque deux examens coproscopiques consécutifs étaient négatifs, il y a plus de 80% de chance pour que le troisième soit également d'excrétion faible, c'est-à-dire en dessous de 200 œufs par gramme, et donc ne nécessitant toujours pas de traitement (MOLENTO et *al.*, 2008, NIELSEN et *al.*, 2010, KAPLAN, 2002).

Les protocoles de vermifugation ciblée diminuent donc généralement la fréquence et le nombre de chevaux traités. Ils présentent ainsi de nombreux avantages : après l'identification des animaux faibles excréteurs, les coûts sont inférieurs aux coûts des protocoles de vermifugations systématiques, ils permettent le développement de l'immunité de l'hôte et sont un moyen de lutter contre les résistances. Toutefois, avec cette stratégie, on prend tout de même le risque d'observer des parasitoses cliniques, notamment sur les animaux plus sensibles, chez qui l'immunité parasitaire n'est pas efficace (poulains, vieux chevaux, animaux débilités par une gestation ou une maladie intercurrente...) (MOLENTO et *al.*, 2008, NIELSEN et *al.*, 2010, KAPLAN, 2002).

## **b) Règles de base**

Lorsqu'on décide de vermifuger, il faut vermifuger correctement. Pour cela, il faut tout d'abord bien estimer la dose d'anthelminthique à administrer puis veiller à ce que le cheval l'ingère entièrement. Pour bien choisir la dose à administrer, l'idéal est de peser le cheval, mais cela n'est pas toujours possible, plusieurs solutions sont alors envisageables pour bien estimer le poids du cheval (Annexe 5).

Des ruban-mesures sont aujourd'hui facilement disponibles sur le marché, ils se placent autour du thorax du cheval, comme un surfaix, et donnent directement le poids du cheval en kilogramme. Cette estimation est proche de la réalité la plupart du temps, surtout sur les chevaux de gabarit moyen. Mais malheureusement, cette bande de circonférence est encore trop rarement utilisée (NIELSEN et *al.*, 2010).

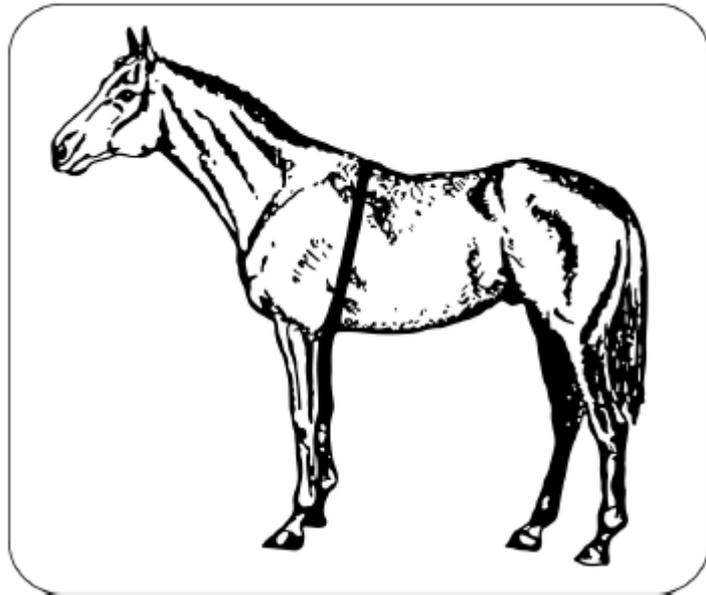


Figure 38 : Emploi d'un ruban à mesurer le poids (SENDEL, 2010)

Il est également possible de calculer le poids du cheval à partir de différentes mesures. Par exemple, celui-ci peut être obtenu à partir de la mesure de son périmètre thoracique, de la longueur de la pointe de l'épaule à la pointe de la fesse... Une des formules permettant d'obtenir le poids du cheval en kilogramme est alors :

Poids cheval adulte (kg) = $\frac{(\text{périmètre thoracique en cm})^2 \times \text{longueur en cm}}{11900}$
---

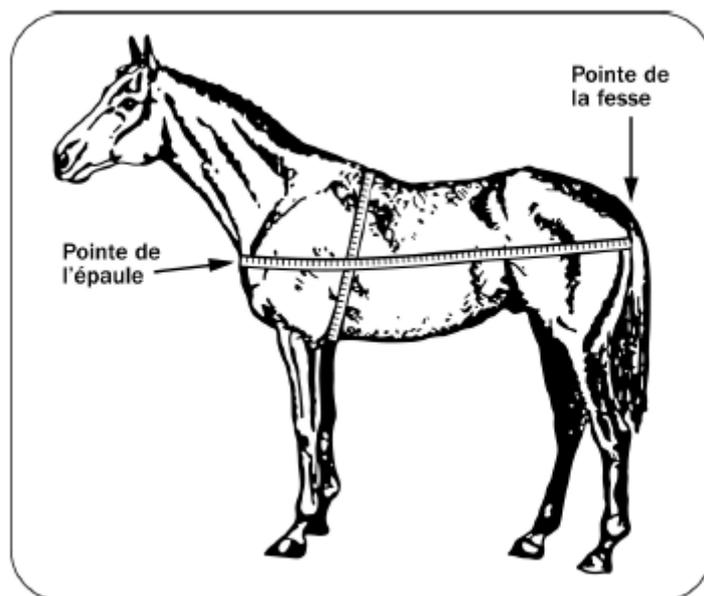


Figure 39 : Mesures du périmètre thoracique et de la longueur du cheval (SENDEL, 2010)

La question du choix de l'anthelminthique a également longtemps été étudiée et on sait aujourd'hui qu'il faut alterner les principes actifs pour garder une bonne efficacité et pour notamment limiter l'apparition de résistance chez les parasites. Cependant, le rythme d'alternance des composés est sujet à controverse.

En effet, une rotation trop rapide exerce une forte pression de sélection sur une seule génération, en exposant une même population parasitaire à plusieurs molécules, ce qui pourrait donc engendrer des résistances multiples. Au contraire, une rotation trop lente, c'est-à-dire l'utilisation de la même molécule de façon répétée sur une période trop longue sélectionne des résistances envers ce principe actif. Il est donc préférable d'utiliser le même produit sur la même génération de vers (NIELSEN et *al.*, 2010).

Finalement, le bon compromis entre efficacité et résistance semble être une rotation relativement lente des molécules. De nombreux modèles informatiques ont été réalisés et il semblerait que le changement de principe actif tous les ans, c'est-à-dire que l'on administre la même molécule pendant un an et on change de principe actif l'année suivante, donnent les meilleurs résultats quant à l'apparition de population parasitaire résistante (KAPLAN, 2002).

Afin d'éviter la propagation de mutants chimiorésistants d'une structure à une autre, tout cheval nouvellement arrivé dans l'élevage devra être traité et maintenu en quarantaine pendant au moins 72h heures. Pendant cette période, il est préférable de garder le cheval en box pour éviter d'introduire des parasites dans le reste de la structure. Le traitement proposé dans ce cas est alors l'administration de fenbendazole à la dose de 10 mg/kg pendant 5 jours consécutifs pour obtenir également une action sur les larves des parasites (REINEMEYER, 2009). On cherche en effet à débarrasser le cheval de tous ses parasites, adultes comme immatures, et pour s'en assurer, il est même recommandé d'administrer une spécialité à base de moxidectine à la fin de ce traitement. En effet, la probabilité que les parasites survivent à ce traitement est très faible (KAPLAN, 2002).

Le même traitement peut être administré aux juments poulinières avant l'entrée dans le box de poulinaage, pour diminuer le risque de contamination du poulain, et lorsque l'on se trouve face à un individu suspect. Cependant, il est de plus préférable d'objectiver le phénomène de résistance par le test de réduction du nombre d'œufs dans les fèces.

Enfin, au vu de l'importance des résistances aux antiparasitaires aujourd'hui dans le monde, il est conseillé d'effectuer un test de dépistage par an, pour chaque établissement et pour chaque classe d'anthelminthique. Il est recommandé de réaliser le test de réduction du nombre d'œufs dans les fèces sur au moins 6 individus de la structure. Cela est d'autant plus important si l'élevage a un historique de vermifugation intensive (BEUGNET, 2006).

## CONCLUSION

Les phénomènes de résistance de *Parascaris equorum* aux lactones macrocycliques étant aujourd'hui avérés à travers le monde, l'utilisation de ces antiparasitaires doit être totalement repensée. C'est l'usage sérieux et raisonné de ces molécules qui permettront de préserver leur efficacité. Les détenteurs d'équidés doivent donc être conscients de ce risque et comprendre l'enjeu d'une vermifugation ciblée.

Les vétérinaires sont également largement impliqués dans cette prise de conscience et ne doivent plus considérer l'administration d'un anthelminthique comme un acte à réaliser à la légère. Notamment pour les chevaux de compagnie, il est possible de médicaliser la vermifugation avec un examen clinique, un examen coproscopique, une pesée ou une bonne estimation du poids de l'animal et l'administration d'un anthelminthique si cela est nécessaire.

La clé pour maintenir un niveau de parasitisme tolérable dans l'élevage et diminuer ainsi la fréquence des vermifugations est l'application de bonnes mesures sanitaires. L'hygiène de l'écurie, l'entretien des pâtures, la rotation avec d'autres espèces, en particulier les ruminants... sont des stratégies qui ont largement fait leurs preuves et qui doivent aujourd'hui être adoptées par les managers de structures équestres.

Les mentalités doivent donc évoluer et même si l'abolition de coutumes appliquées pendant de nombreuses années est très difficile, le vétérinaire a un devoir d'information, il doit agir à la lumière des connaissances actuelles de la science et favoriser l'application des bonnes pratiques dans les établissements équestres.

# BIBLIOGRAPHIE

1. ARUNDEL JH (1985). *Parasitic diseases of the horse*. Sydney [Aus] : Veterinary review n°28, 150 pages.
2. AXON JE, PALMER JE (2008). Clinical pathology of the foal. *Veterinary Clinics of North America : Equine Practice*. **24** (2) 357 – 385.
3. BARGER I (1997). Control by management. *Veterinary Parasitology*, **72**, 493 – 506.
4. BARTMANN CP (2002). Diagnosis and surgical management of colic in the foal : literature review and a retrospective study. *Clinical Techniques in Equine Practice*, **1** (3), 125 – 142.
5. BAUER C, MERKT JC, JANKE-GRIMM G, BURGER H-J (1986). Prevalence and control of BZ resistant small strongyles on German thoroughbred studs. *Veterinary Parasitology*, **21**, 189 – 203.
6. BAUER C, CIRAK VY, HERMOSILLA C, OKORO H (1998). Efficacy of a 2 per cent moxidectin gel against gastrointestinal parasites of ponies. *The Veterinary Record*, **143**, 558 - 561.
7. BENNETT DG, BICKFORD AA, LUND JE. (1974). Safety evaluation of mebendazole in horses. *American Journal of Veterinary Research*. **35** (7) 1003 - 1004.
8. BEUGNET F, POLACK B, DANG H (2004). *Atlas de coproscopie*. Clichy [Fra] : Kalianxis, 277 pages, ISBN 2-915758-02-6.
9. BEUGNET F (2006). La résistance aux antiparasitaires chez les parasites des chevaux. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, **159** (1) 77 - 84.
10. BJORN H, SOMMER C, SCHOUGARD H, HENRIKSEN SA, NANSEN P (1991). Resistance to benzimidazole anthelmintics in small strongyles (*Cyathostominae*) of horses in Denmark. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **32**, 253 – 260.
11. BOAG B, THOMAS RJ (1973). Epidemiological studies on gastro-intestinal nematode parasites of sheep. The control of infection in lambs on clean pasture. *Research in Veterinary Science*, **14** (1) 11 - 20.

12. BOERSEMA JH, BORGSTEEDE FHM, EYSKER M, ELENA TE, GAASENBEEK CPH, VAN DEN BURG WPJ (1991). The prevalence of anthelmintic resistance of horse strongyles in the Netherlands. *Veterinary Quarterly*, **13**, 209 – 217.
13. BOERSEMA JH, EYSKER M, NAS JWM (2002). Apparent resistance of *Parascaris equorum* to macrocyclic lactones. *The Veterinary Record*, **150**, 279-281.
14. BOYLE AG, HOUSTON R (2006). Parasitic pneumonitis and treatment in horses. *Clinical techniques in equine practice*, **5**, 225 - 232.
15. BUSSIERAS J, CHERMETTE R (1988). *Abrégé de parasitologie vétérinaire. Fascicule III : helminthologie*, Paris [Fra] : Informations techniques des services vétérinaires, 267 pages.
16. BUSSIERAS J, CHERMETTE R (1991). *Abrégé de parasitologie vétérinaire. Fascicule I : Parasitologie générale*. Maisons-Alfort [Fra] : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 75 pages, ISBN 2-900793-00-9.
17. CLAYTON HM, DUNCAN JL (1977). Experimental *Parascaris equorum* infection of foals. *Research in Veterinary Science*, **23**, 109-114.
18. CLAYTON HM (1978). Ascariasis in foals. *Veterinary record*, **102** (25) 553 – 556.
19. CLAYTON HM, DUNCAN JL (1979a). The development of immunity to *Parascaris equorum* infection in the foal. *Research in Veterinary Science*, **26**, 383-384.
20. CLAYTON HM, DUNCAN JL (1979b). The migration and the development of *Parascaris equorum* in the horse. *International Journal for Parasitology*, **9**, 285-292.
21. CLAYTON HM (1986). Ascarids. Recent advances. *The Veterinary Clinics of North America : Equine Practice*, **2** (2) 313-328.
22. COLES GC, JACKSON F, POMROY WE, PRICHARD RK, VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G, SILVESTRE A, TAYLOR MA, VERCRUYSSSE J (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance, *Veterinary Parasitology*, **136**, 167 – 185.
23. COLLOBERT C (1998). Importance du parasitisme digestif à l'autopsie : prévalence des différentes espèces parasitaires et signification pathologique des lésions associées. *Bulletin des GTV*, (4) 85 – 88.

24. COLLOBERT-LAUGIER C (1999). Rôle du parasitisme dans les coliques du cheval : prévalence et pouvoir pathogène des principales espèces parasitaires. *Le nouveau Praticien Vétérinaire Equine n° spécial Coliques*, **31**, 123 - 134.
25. COLLOBERT-LAUGIER C, HOSTE H, SEVIN C, DORCHIES P (2002). Immunité anti-parasitaire chez le cheval : bilan des connaissances actuelles – premiers résultats sur la réponse cellulaire pariétale du gros intestin lors d’infestation naturelle par les cyathostomes. *28<sup>ème</sup> journée de la recherche équine*, 27 février 2002, Paris : Les haras nationaux, 3-14.
26. COSTA AJ, BARBOSA OF, MORAES FR, ACUNA AH, ROCHA UF, SOARES VE, PAULLILO AC, SANCHES A (1998). Comparative efficacy evaluation of moxidectin gel and ivermectin paste against internal parasites of equines in Brazil. *Veterinary Parasitology*, **80**, 29-36.
27. CRAIG TM, DIAMOND PL, FERWERDA NS, THOMPSON JA (2007). Evidence of ivermectine resistance by *Parascaris equorum* on a Texas horse farm. *Journal of Equine Veterinary Science*, **27** (2) 67 – 71.
28. CRIBB NC, COTE NM, BOURE LP, PEREGRINE AS (2006). Acute small intestinal obstruction associated with *Parascaris equorum* infection in young horses : 25 cases (1985 – 2004). *New Zealand Veterinary Journal*, **54** (6) 338 - 343.
29. CRINGOLI G, RINALDI L, MAURELLI MP, UTZINGER J (2010). FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nature protocols*, **5**, 503 – 515.
30. D’ABLON X (2011). Hygiène et désinfection. In *Guide des bonnes pratiques sanitaires pour les détenteurs d’équidés : l’outil indispensable pour agir et moins subir les exigences de la santé et de la sécurité des équidés*. Réseau d’épidémiologie-surveillance en pathologie équine, Paris : Fédération Nationale du Cheval, 190 pages.
31. DE ALMEIDA GL, MOLENTO MB, FILHO JOJ, FLORES WN (2009). Effect of simultaneously sheep raising as a strategy to control *Parascaris equorum* in horses, *Revista Acadêmica : Ciências Agrárias e Ambientais*, **7** (3) 305 – 310.
32. DI PIETRO JA, TODD KS (1987). Anthelmintics used in treatment of parasitic infections of horses. *Veterinary clinics of North America : Equine Practice*, **3** (1) 1 - 14.

33. DI PIETRO JA, LOCK TF, TODD KS, SANECHI RK (1988). Evaluation of ivermectin for larvicidal effect in experimentally induced *Parascaris equorum* infections in pony foals. *American Journal of Veterinary Research*, **49**, 1983 – 1985.
34. DI PIETRO JA, HUTCHENS DE, LOCK TF, WALKER K, PAUL AJ, SHIPLEY C, RULLI D (1997). Clinical trial of moxidectin oral gel in horses. *Veterinary Parasitology*, **72**, 167 - 177.
35. DMV (2013). Dictionnaire des médicaments vétérinaires et des produits de santé animale commercialisés en France, 18<sup>ème</sup> édition, Maisons-Alfort : Ed. du Point Vétérinaire, 2415 pages, ISBN 978-2-86326-331-0.
36. DORCHIES P (1991). Les progrès de la chimiothérapie antiparasitaire à la lumière d'ICOPA VII. *Journées nationales G.T.V*, **4**, 53-62.
37. DORCHIES P, DUCOS DE LAHITTE J, FLOCHLAY A, BLOND-RIOU F (1998). Efficacy of moxidectin 2% equine gel against natural nematode infections in ponies. *Veterinary Parasitology*, **74**, 85 - 89.
38. DORCHIES P (2011). Principes de la lutte alternative contre les vers des équidés. In *Guide des bonnes pratiques sanitaires pour les détenteurs d'équidés : l'outil indispensable pour agir et moins subir les exigences de la santé et de la sécurité des équidés*. Réseau d'épidémiologie-surveillance en pathologie équine, Paris : Fédération Nationale du Cheval, 190 pages.
39. DORCHIES P, DUNCAN J, LOSSON B, ALZIEU JP (2012), *Vade-mecum de Parasitologie clinique des bovins*, Paris : Editions Med'com, 341 pages, ISBN 978-2-35403-079-7.
40. DUNCANA JL, ABBOTT EM, ARUNDEL JH, EYSKER M, KLEI TR, KRECEK RC, LYONS ET, REINEMEYER C, SLOCOMBE JOD (2002). World association for the advancement of veterinary parasitology (WAAVP) : second edition of guidelines for evaluating the efficacy of equine anthelmintics. *Veterinary Parasitology*, **103**, 1 – 18.
41. DUPHOT V (2009a). Lutte contre les helminthes : le traitement doit être sélectif, La Dépêche Vétérinaire [en ligne], n°1044, <http://www.depecheveterinaire.com/> (consulté le 29/04/2014).

42. DUPHOT V (2009b). Lutte contre les helminthes : ne pas miser sur les stratégies d'évasion, La Dépêche Vétérinaire [en ligne], n°1045, <http://www.depecheveterinaire.com/> (consulté le 10/04/2014).
43. ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON (2008). Coproscopie parasitaire [en ligne]. Disponible sur : <http://www2.vetagro-sup.fr/etu/copro/sommaire/techniques/analyse/> (consulté le 03/03/2014).
44. EGERTON JR, BROKKEN ES, SUHAYDA D, EARY CH, WOODEN JW, KILGORE RL (1981). The antiparasitic activity of ivermectin in horses. *Veterinary Parasitology*, **8**, 83 - 88.
45. EGWANG TG, SLOCOMBE JOD (1982). Evaluation of the Cornell-Wisconsin Centrifugal Flotation Technique for Recovering Trichostrongylid Eggs from Bovine Feces. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, **46**, 133 – 137.
46. ENGLISH AW (1979). The epidemiology of equine strongylosis in southern Queensland. 1. The bionomics of the free-living stages in faeces and on pasture. *Australian Veterinary Journal*, **55**, 299 - 309.
47. ESPOSITO S, NOVIELLO S, LEONE S, PASCALE R, RUSSO E, GUALDIERI L (2013). Intestinal helminths in immigrants in Naples (Italy): a comparison between two different diagnostic techniques. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, **3** (6) 441 - 443.
48. EUZEBY J (1963). *Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine, tome I, Maladies dues aux Némathelminthes, Fascicule II*. Paris [Fra] : Vigot frères, 843 pages.
49. EUZEBY J (1981). *Diagnostic expérimental des helminthoses animales. Travaux pratiques d'helminthologie vétérinaire. Tome I : généralités, diagnostic ante-mortem*. Paris [Fra] : Informations Techniques des Services Vétérinaires, 340 pages.
50. EUZEBY J (2008). *Grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire*. Tec & Doc ; Cachan. Paris : Éditions médicales internationales, 818 pages, ISBN 978-2-7430-1044-7.
51. FISHER MA, JACOBS DE, GRIMSHAW WTR, GIBBONS LM (1992). Prevalence of benzimidazole resistance in equine cyathostomes in south east England. *The Veterinary Record*, **130**, 315 – 318.

52. FREEMAN DE (2012). Chapter 36 : small intestine. In *Equine Surgery*, Fourth Edition, Elsevier, pages 416 – 453, ISBN 978-1-4377-0867-7.
53. GOULD JC, ROSSANO MG, LAWRENCE LM, BURK SV, ENNIS RB, LYONS ET (2013). The effects of windrow composting on the viability of *Parascaris equorum* eggs, *Veterinary Parasitology*, **191**, 73 – 80.
54. GREINER EC (2014). Chapter 54 - Laboratory diagnosis of parasitic diseases. In *Equine Infectious Diseases*. Second Edition, St Louis, Missouri : Elsevier, pages 449-455, ISBN 978-1-4557-0891-8.
55. HEARN FPD, PEREGRINE AS (2003). Identification of foals infected with *Parascaris equorum* apparently resistant to ivermectin. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **223**, 482 - 485.
56. IROLA E (2010). *Le diagnostic et le traitement des parasitoses digestives des équidés*. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine de Créteil, 190 pages.
57. JACQUIET P (2009), Les nématodes, Cours de parasitologie, Ecole nationale vétérinaire de Toulouse.
58. JOHNSTONE C. *Parasites and Parasitic Diseases of Domestic Animals* [en ligne]. Disponible sur : <http://cal.vet.upenn.edu/projects/merial/Ascarids/> (consulté le 29/10/2013).
59. KAPLAN RM (2002). Anthelmintic resistance in nematodes of horses. *Veterinary Research*, **33**, 491 - 507.
60. KHALLAAYOUNE K, FETHI F (1995). Viabilité des œufs d'Ascaris dans les boues résiduelles. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, **15** (4) 15-19.
61. KLEIT TR (2000). Equine immunity to parasites. *Veterinary clinics of North America Equine Practice*, **16** (1) 69-77.
62. KLEI TR, REHBEIN S, VISSER M, LANGHOLFF WK, CHAPMAN MR, FRENCH DD, HANSON P (2001). Re-evaluation of ivermectin efficacy against equine gastrointestinal parasites. *Veterinary Parasitology*, **98**, 315 - 320.
63. LAJOIX-NOUHAUD E (2011). *Epidémiologie, diagnostic et traitement de quelques parasitoses équinés : étude expérimentale menée en Limousin*, Thèse d'exercice : Pharmacie, Université de Limoges, 194 pages.
64. LANUSSE CE, ALVAREZ LI, SALLOVITZ JM, MOTTIER ML, SANCHEZ BRUNI SF (2009a). Section 10 : Chemotherapy of Parasitic diseases. Antinematodal drugs. In

- Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, Ninth Edition, Ames Iowa USA : Wiley-Blacwell, pages 1053 – 1094.
65. LANUSSE CE, LIFSCHITZ AL, IMPERIALE FA (2009b). Section 10 : Chemotherapy of Parasitic diseases. Macrocyclic Lactones : Endectocide compounds. In *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, Ninth Edition, Ames Iowa USA : Wiley-Blacwell, pages 1119 – 1144.
66. LENDAL S, LARSEN MM, BJORNA H, CRAVEN J, CHRIEL M, OLSEN SN (1998). A questionnaire survey on nematode control practices on horse farms in Denmark and the existence of risks factors for the development of anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology*, **78**, 49 - 63.
67. LIND EO, CHRISTENSSON D (2009). Anthelmintic efficacy on *Parascaris equorum* in foals on Swedish studs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **51** (1) 45.
68. LOVE S, DUNCAN JL (1992). The development of naturally acquired cyathostome infection in ponies, *Veterinary Parasitology*, **44** (1 – 2) 127 - 142.
69. LYONS ET, DRUDGE JH, TOLLIVER SC (1976). Studies on the development and chemotherapy of larvae of *Parascaris equorum* (Nematoda : Ascaridoidea) in experimentally and naturally infected foals. *The Journal of Parasitology*, **62** (3) 453 - 459.
70. LYONS ET, TOLLIVER SC, IONITA M, COLLINS SS (2008). Evaluation of parasitocidal activity of fenbendazole, ivermectin, oxbendazole, and pyrantel pamoate in horse foals with emphasis on ascarids (*Parascaris equorum*) in field studies on five farms in Central Kentucky in 2007. *Parasitology Research*, **103** (2) 287 - 291.
71. MAIR TS, LOVE S (2012). Chapter 3 : Gastroenterology 2. Hepatic and intestinal Disorders. In *Equine Medicine, Surgery and Reproduction*, Second Edition, Elsevier, pages 49 – 65, ISBN 978-0-7020-2801-4.
72. MARRINER S (1986) Anthelmintic drugs. *The Veterinary Record*, **118**, 181 - 184.
73. MICHEL JF (1969). The control of some nematode infections in calves. *The Veterinary Record*, **85**, 326 - 328.
74. MOLENTO MB, ANTUNES J, BENTES RN, COLES GC (2008). Anthelmintic resistant nematods in Brazilian horses. *The Veterinary Record*, **162**, 384 – 385.

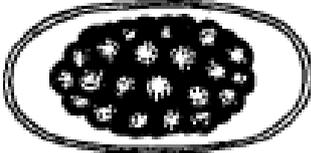
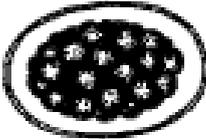
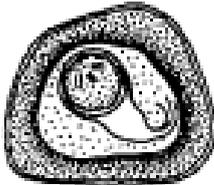
75. NICHOLLS JM, CLAYTON HM, PIRIE HM, DUNCAN JL (1978). A pathological study of the lungs of foals infected experimentally with *Parascaris equorum*. *Journal of Comparative Pathology*, **88** (2) 261 – 274.
76. NIELSEN MK, FRITZEN B, DUNCAN JL, GUILLOT J, EYSKER M, DORCHIES P, LAUGIER C, BEUGNET F, MEANA A, LUSSOT-KERVERN I and VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G (2010). Practical aspects of equine parasite control : A review based upon a workshop discussion consensus. *Equine veterinary Journal*, **42** (5) 460 – 468.
77. NIELSEN MK, REINEMEYER CR, SELTON DC (2014). Chapter 57 – Nematodes. In *Equine Infectious diseases*. Second Edition, St Louis, Missouri : Elsevier, pages 475 – 489, ISBN 978-1-4557-0891-8.
78. PASTORET P-P, GOVAERTS A, BAZIN H (1990). *Immunologie animale*. Paris : Flammarion, 740 pages, ISBN 2-257-10221-5.
79. PIETREMENT H (2004). *Parasitisme digestif équin et modifications immunologiques*. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude-Bernard Lyon I, 194 pages.
80. PRESLAND SL, MORGAN ER, COLES GC (2005). Counting nematode eggs in equine faecal samples. *The Veterinary Record*, **156**, 208 - 210.
81. REINEMEYER CR, COURTNEY CH (2001). Section 11 : Chemotherapy of parasitic diseases. Antinematodal drugs. In *Veterinary pharmacology and therapeutics*, 8th edition, Ames Iowa USA : Wiley, pages 947-979.
82. REINEMEYER CR (2009). Diagnosis and control of anthelmintic-resistant *Parascaris equorum*. *Parasites & Vectors* [en ligne], **2** (Suppl 2) S8, p 1 – 6, <http://www.parasitesandvectors.com/content/2/S2/S8> (consulté le 2/11/2013).
83. REINEMEYER CR, NIELSEN MK (2009). Parasitism and colic, *Veterinary Clinics of North America : Equine Practice*, **25** (2) 233 – 245.
84. RYU S-H, JANG J-D, BAK U-B, LEEL C-W, YOUN H-J, LEE YL (2004). Gastrointestinal impaction by *Parascaris equorum* in a Thoroughbred foal in Jeju, Korea. *Journal of Veterinary Science*, **5** (2), 181 – 182.
85. SALEM A, CHAUVIN A, BRAUN JP, JACQUIET PH, DORCHIES PH (2011). Comparaison de six méthodes de dépistage de *Fasciola hepatica* chez les bovins naturellement infestés, *Revue de Médecine Vétérinaire*, **162** (1) 18 - 24.

86. SENDEL T (2010). Estimation du poids vif des chevaux. Ontario, Fiche technique n°10-086, <http://www.omafra.gov.on.ca/> (Consulté le 31/05/2014).
87. SLOCOMBE JO, DE GANNES RV, LAKE MC (2007). Macrocyclic lactone-resistant *Parascaris equorum* on stud farms in Canada and effectiveness of fenbendazole and pyrantel pamoate. *Veterinary Parasitology*, **145** (3 – 4) 371 - 376.
88. SRIHAKIM S, SWERCZEK TW (1978). Pathologic changes and pathogenesis of *Parascaris equorum* infection in parasite-free pony foals. *American journal of Veterinary Research*, **39** (7) 1155 – 1160.
89. STONEHAM S, COLES G (2006). Ivermectin resistance in *Parascaris equorum*. *The Veterinary Record*, **158**, 572.
90. TAMZALI Y (2010), Affections de l'intestin grêle, Cours de médecine équine, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
91. TECHION GROUP (2014). FECPAK. FECPAK International [en ligne]. Disponible sur : [http://www.techiongroup.co.nz/product\\_pages/](http://www.techiongroup.co.nz/product_pages/) (Consulté le 23/05/2014).
92. UHLINGER C, JOHNSTONE C (1984). Failure to reestablish benzimidazole susceptible population of small strongyles after prolonged treatment with non-benzimidazole drugs. *Journal of Equine Veterinary Science*, **4**, 7 - 9.
93. UHLINGER C, JOHNSTONE C (1985). Prevalence of benzimidazole resistant small strongyles in horses in a southeastern Pennsylvanian practice. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **187**, 1362 – 1366.
94. UNIVERSITE DE BORDEAUX 1. Collection de l'UFR de sciences biologiques de l'université de Bordeaux 1 [en ligne]. Disponible sur : [http://www.u-bordeaux1.fr/collections\\_biologie/Fiches-lames/](http://www.u-bordeaux1.fr/collections_biologie/Fiches-lames/) (consulté le 29/10/2013).
95. UNIVERSITY OF NAPLES FEDERICO II (2011). FLOTAC. Veterinary Parasitology and Parasitic Diseases, Department of Pathology and Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine [en ligne], [www.flotac.unina.it](http://www.flotac.unina.it) - [www.parassitologia.unina.it](http://www.parassitologia.unina.it) (Consulté le 26/01/2014).
96. UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA (2004). Fecal Examination Using "Ovassay Plus" brand Fecal Float. Synbiotics corporation [en ligne], <http://cal.vet.upenn.edu/> (Consulté le 22/01/2014).

97. VANDERMYDE CR, DI PIETRO JA, TODD KS, LOCK TF (1987). Evaluation of Fenbendazole for larvacidal effect in experimentally induced *Parascaris Equorum* infections in pony foals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **190** (12) 1548 - 1549.
98. VERCRUYSSSE J, HILDERSON H, CLAEREBOUT E, ROELANTS B (1995). Control of gastrointestinal nematodes in first-season grazing calves by two strategic treatments with doramectin. *Veterinary Parasitology*, **58**, 27 - 34.
99. VERCRUYSSSE J, DORNY P (1999). Integrated control of nematode infections in cattle : A reality ? A need ? A futur ?. *International Journal for Parasitology*, **29**, 165 - 175.
100. VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G, FRITZEN B, DEMELER J, SCHÜRMAN S, ROHN K, SCHNIEDER T, EPE C (2007). Cases of reduced cyathostomin egg-reappearance period and failure of *Parascaris equorum* egg count reduction following ivermectin treatment as well as survey on pyrantel efficacy on German horse farms. *Veterinary Parasitology*, **144**, 74 – 80.
101. WILSON DA (2012). Chapter 389 - Small intestine : Ascarid impaction. In *Clinical Veterinary Advisor*, St Louis, Missouri : Elsevier, pages 544 – 546.
102. WORLD HEALTH ORGANIZATION (2014). *Antimicrobial resistance : global report on surveillance 2014*. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 257 pages, ISBN 978-92-4-156474-8.
103. ZENNER L, BOURGOIN G (2012). Technique la coproscopie chez le cheval. *Le nouveau praticien vétérinaire, équine*, **8** (29) 52 - 56.

# ANNEXES

## Annexe 1 : Coprologie chez le cheval (BUSSIERAS et CHERMETTE, 1991)

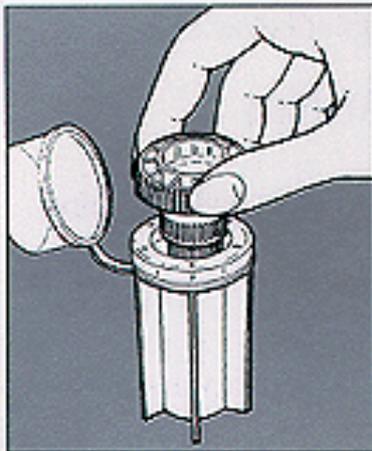
		Dimensions (en microns)	Coque	Contenu
<i>Pamascaris equorum</i>		90 - 100	épaisse, foncée, surface irrégulière	1 cellule
<i>Strongyles digestifs</i> ( <i>Cyathostomines</i> )		100 - 110 x 40 - 45 (longueur > double du diamètre)	mince, côtés rectilignes, pôles égaux	morula emplissant incomplètement la coque, 8-16 blastomères
<i>Strongyles digestifs</i> ( <i>Strongylus sp.</i> )		80 - 90 x 45 - 50 (longueur < double du diamètre)	mince, côtés convexes, pôles égaux	morula emplissant incomplètement la coque, 8-16 blastomères
<i>Oxyuris equi</i>		90 x 40	mince, asymétrique, 1 opercule	embryon
<i>Anoplocephala sp.</i>		50 - 80	épaisse, complexe, un appareil piriforme	embryon hexacanthé
<i>Strongyloides westeri</i>		40 - 50 x 30 - 40	mince	embryon

### La coprologie chez le Cheval

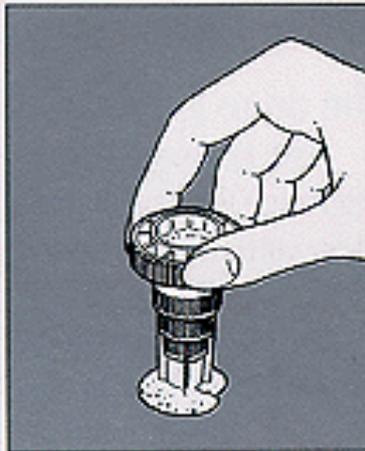
On peut en outre observer occasionnellement chez les Equidés :

- des œufs d'un autre strongle dig. : *Trichostrongylus axei* (pôles inégaux, morula à 32 blastomères),
- des œufs embryonnés (90 µm) et larves (400 µm) de *Dictyocephalus armfieldi* (surtout chez l'âne)
- des œufs embryonnés (35 µm) et larves (100 µm) d'*Habronema sp.*
- des oocystes d'*Exmeria feuckarti*, très volumineux (80 x 60 µm) et à coque brun foncé.

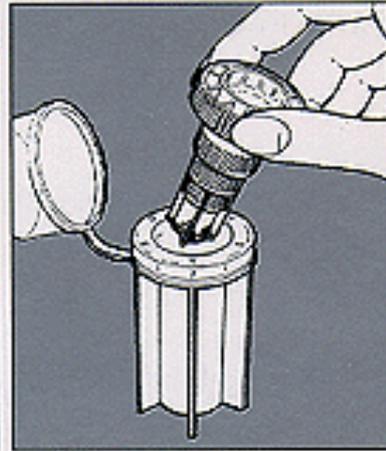
## How to Collect a stool sample



1. Remove insert. Note the little cup-like area which forms the bottom of the insert.



2. Fill small end by pressing it into stool. Loose stools may need to be scooped into the small end of insert.



3. Place loaded insert back into the device. Close the leakproof cap. Write pet's name on the cap and return loaded device to your veterinarian.

### Importance of regular OVASSAY<sup>®</sup> *Plus* fecal examinations:

Fecal analysis of stool from the puppy and kitten, and periodic exams in the adult, are important for your pet's health. Intestinal parasites may cause vague signs of illness or even threaten your pet's life!

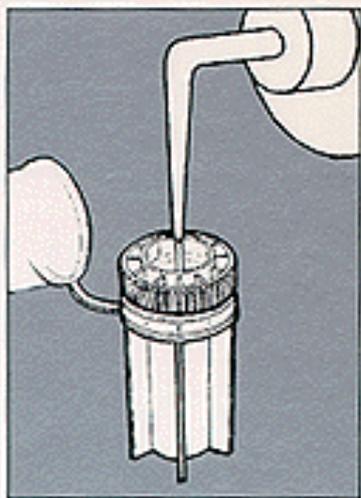
#### How can my pet get parasites?

Depending upon the type of parasite, infection may be transmitted from the mother, from contact with infected feces, soil or water, or, in the case of tapeworms, from fleas.

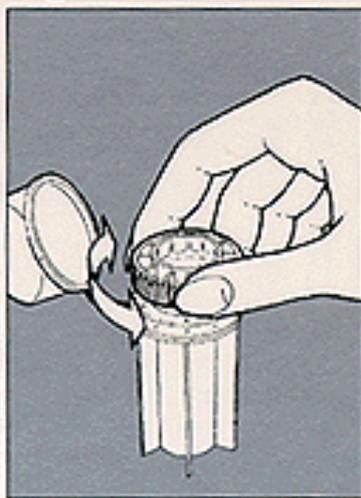
**SYNBIOTICS**  
CORPORATION

# OVASSAY<sup>®</sup> Plus

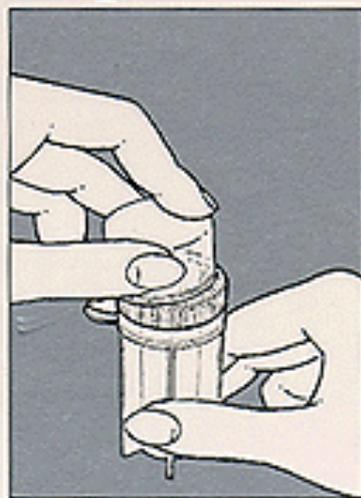
## Analyzing the Fecal Sample



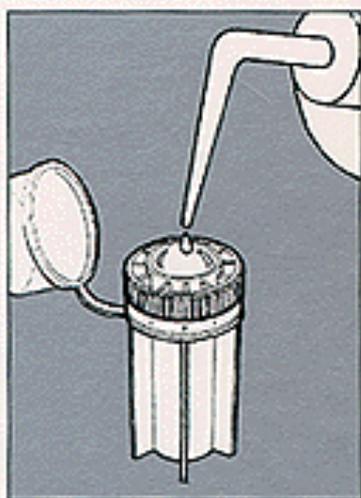
1. With the filled insert in place, add OVASSAY<sup>®</sup> Plus Zinc Sulfate Solution until fluid level reaches about half way up the device.



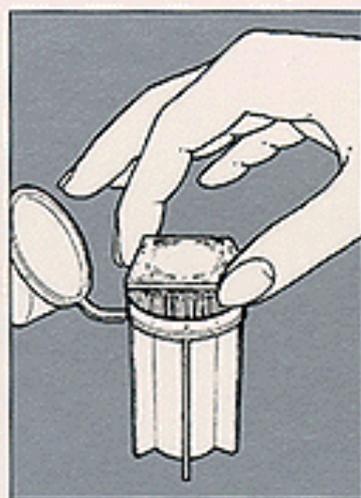
2. Mix thoroughly by rotating the insert. This separates eggs and cysts from fecal sample.



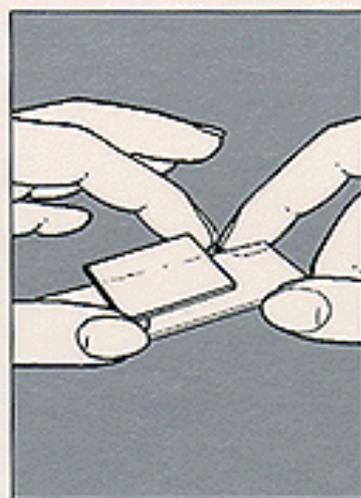
3. With the bottom edge of the cap, apply pressure on the insert until it is firmly seated in the device.



4. Carefully fill the device to the brim with flotation solution. Form a meniscus.



5. Place a cover slip on the meniscus for 5 minutes.



6. Then transfer cover slip to slide for microscopic examination. Close the cap tightly for easy disposal.

## Annexe 3 : FLOTAC (UNIVERSITY OF NAPLES FEDERICO II, 2011)



# FLOTAC®

Veterinary Parasitology and Parasitic Diseases  
Department of Pathology and Animal Health  
Faculty of Veterinary Medicine, University of Naples Federico II  
Via della Veterinaria, 1 - 80137 Naples, Italy  
[www.flotac.unina.it](http://www.flotac.unina.it) - [www.parassitologia.unina.it](http://www.parassitologia.unina.it)

## FLOTAC®

## PREFACE

The FLOTAC Manual is divided into two parts:

The first part describes (a) basic principles; (b) components; (c) accessories; (d) assembly; and (e) positions and steps of the FLOTAC®.

The second part describes the Flotac techniques, i.e., new multivalent, copromicroscopic [coproq; copros = faeces] techniques which use the FLOTAC®. These techniques are based upon the centrifugal flotation of the sample and the subsequent translation of the apical portion of the floating suspension, and can give parasitic element counts directly in faecal aliquot quantities of 0.5 - 1 grams or more.

Flotation solutions (FS) play a fundamental role in determining the sensitivity, precision and accuracy of any copromicroscopic technique (qualitative and/or quantitative) based upon flotation. The key role of FS is further discussed in the Flotac faecal egg count calibration section of this Manual.

Flotac techniques augment the efficiency of the various FS regarding the flotation of large numbers of parasitic elements, but they can also augment the negative aspects of some FS regarding the turbidity of readings, and the flotation of small and large faecal debris. As a consequence, not all the FS used in parasitological labs can be used with the Flotac techniques. The Flotation Solutions section of this Manual reports the chemical composition of the 9 FS that give the best results using the Flotac techniques with respect to the clarity of readings, sensitivity, precision and accuracy.

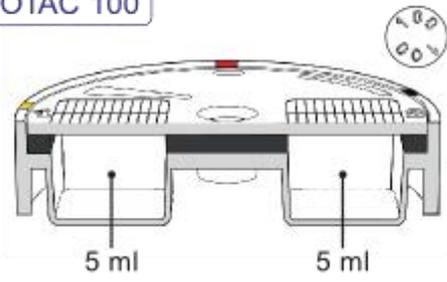
The Appendix: Flotation Solutions and Parasitic Elements (in a separate booklet), reports the schemes that show the most efficient FS for the most common parasitic elements eliminated with faeces from different herbivorous species.

The Flotac techniques are designed for use by researchers, and all laboratory technicians who need highly accurate and precise results, where such results are more important than the simplicity or cost of the technique chosen.

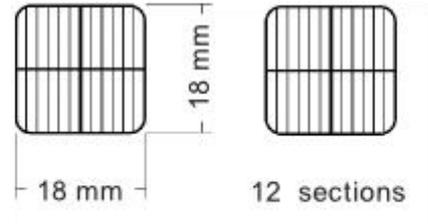
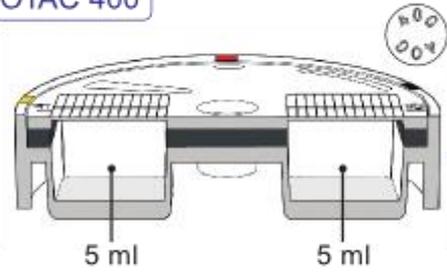
It is our fond hope that the use of the Flotac techniques will help the advancement of knowledge in the fields of human and veterinary parasitology.

Prof. Giuseppe Cringoli

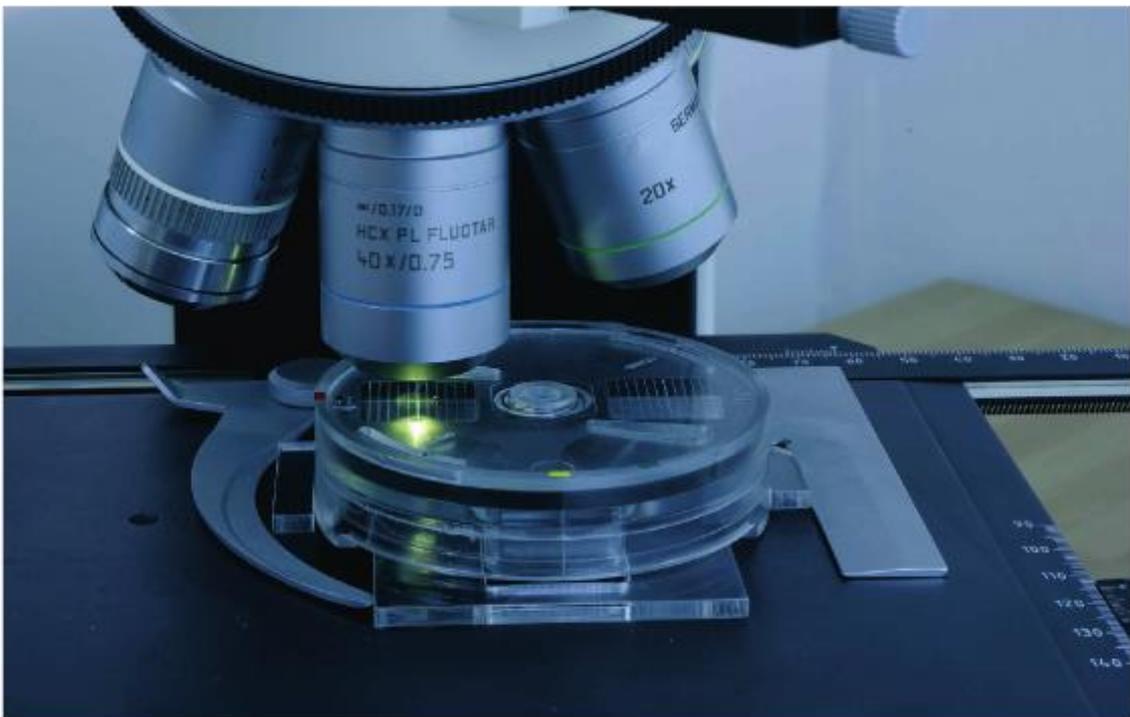
FLOTAC 100



FLOTAC 400



4



1<sup>st</sup> Part - FLOTAC® technical aspects and functioning

Basic principles .....	p. 11
Components .....	p. 14
Accessories .....	p. 20
Assembly .....	p. 25
Operating steps .....	p. 31

2<sup>nd</sup> Part - Flotac techniques

Introduction .....	p. 41
Faecal sampling .....	p. 45
Flotac basic technique .....	p. 49
Flotac dual technique .....	p. 53
Flotac double technique .....	p. 57
Fat faeces .....	p. 61
Faecal sample dilution .....	p. 64
Flotac faecal egg count calibration .....	p. 67
Flotation solutions .....	p. 75

IN ORDER TO SAVE TIME AND COST, PLEASE READ  
THIS MANUAL BEFORE USING THE FLOTAC®

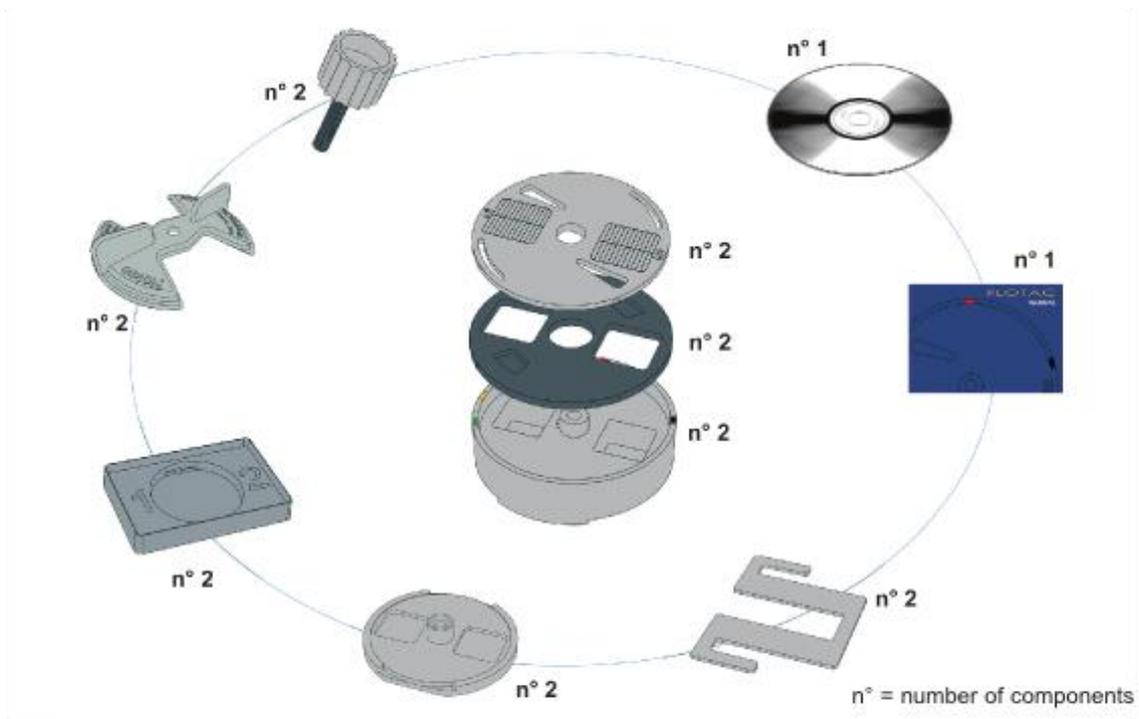
The following laboratory equipment is required for the Flotac techniques:

1. FLOTAC 100 and/or FLOTAC 400
2. Centrifuge: large volume centrifuge (with buckets of at least 75 mm diameter) or benchtop centrifuge with rotor for microtitre plates
3. Microscope: conventional optical microscope with a travel range of at least 25 mm (FLOTAC® is 19 mm high)

# 1<sup>st</sup> Part

## FLOTAC<sup>®</sup> Technical aspects and functioning

### Checking Supplied FLOTAC<sup>®</sup> Components and Accessories



Traditional tube flotation methods use a coverslip which is removed from the top of the faecal suspension tube and then placed on a microscope slide.

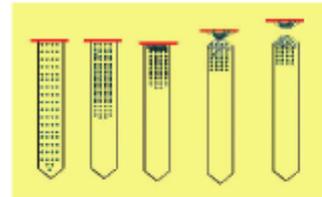
Potential problems with this method include:

- not all of the parasitic elements (cysts, oocysts, eggs and larvae) float to the top of the suspension;
- not all of the floated parasitic elements adhere to the underside of the coverslip.

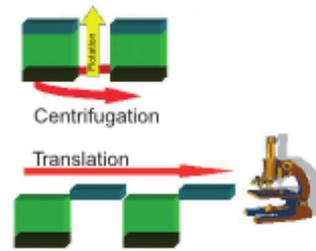
However:

- when flotation takes place in a centrifuge, all parasitic elements float to the top;
- if the top portion of the flotation suspension is cut transversally (i.e. translated), all parasitic elements can be collected and observed under the microscope.

Traditional tube flotation



Flotac techniques

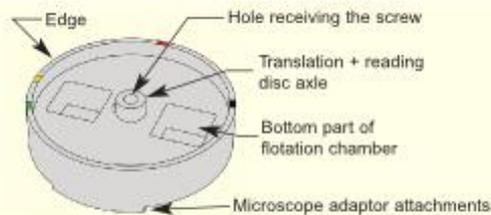


FLOTAC® was developed in order to:

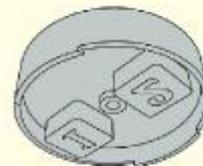
- carry out the flotation in a centrifuge;
- cut the top portion of the flotation suspension transversally (i.e. translation);
- examine the entire translated suspension under the microscope.

Base

Upper side

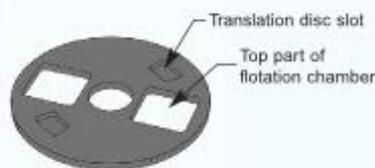


Lower side



Translation disc

Upper side

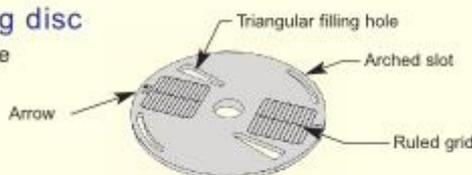


Lower side



Reading disc

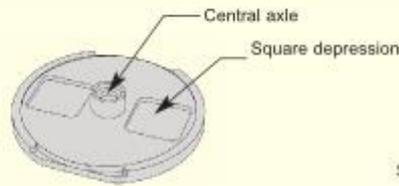
Upper side



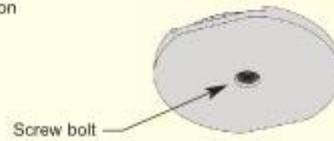
Lower side



**Bottom**  
Upper side

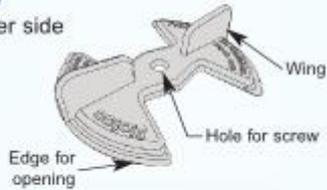


Lower side

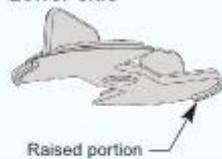


**Key**

Upper side



Lower side

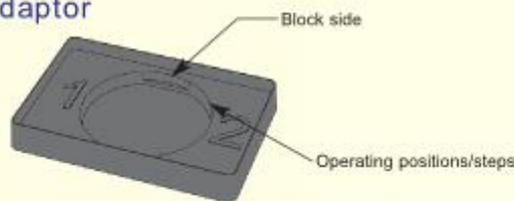


**Screw**

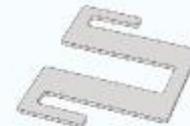


**Centrifuge adaptor**

Upper side



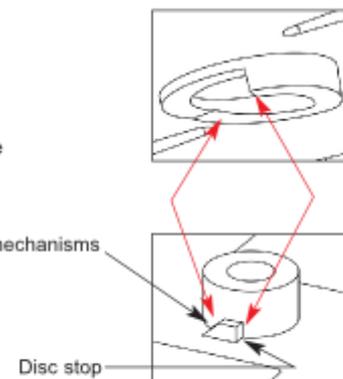
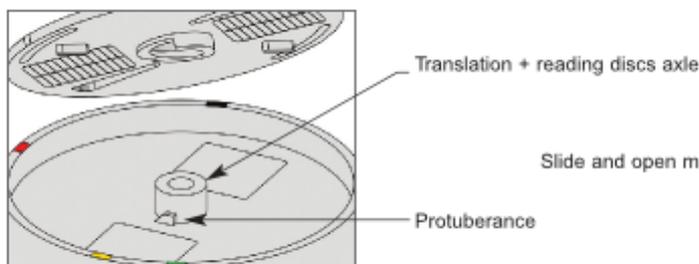
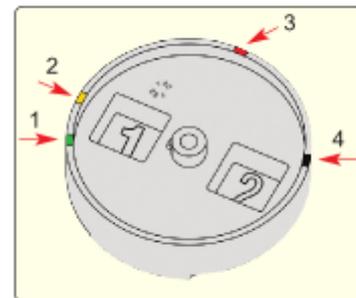
**Microscope adaptor**



The two bottom parts of the flotation chambers in the **Base** have upward and outward directed trapezoidal walls whose low frictional resistance allows for better flotation of the parasitic elements.

The chambers are labelled 1 and 2, respectively; these numbers are printed in transparent relief on the outer side of the **Base**.

The translation + reading disc axle at the centre of the **Base** has a hole designed to receive the **Screw**. The protuberance on the axle is asymmetrical because it both serves to stop the two FLOTAC® discs at the end of the translation step, and allows these discs to slide freely until the FLOTAC® apparatus is opened.

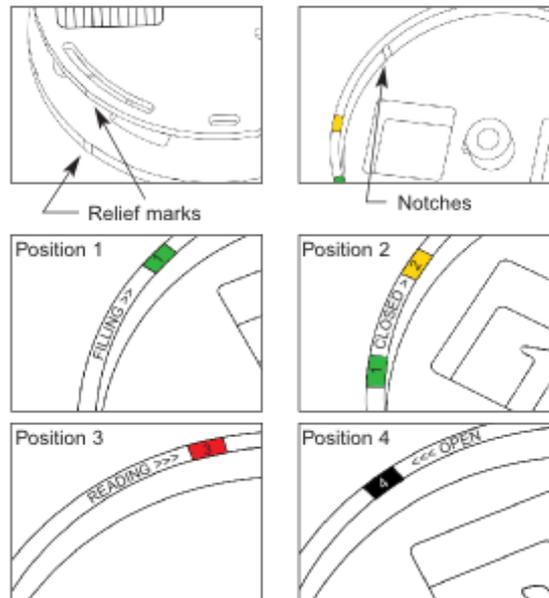
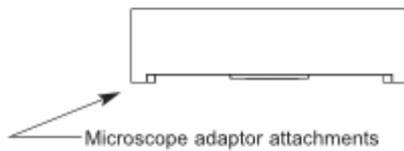


The upper **Base** wall holds the **Translation disc** and the **Reading disc**. It also has four notches at 90° from each other which function together with the four relief marks on the **Translation disc** and the two relief marks on the **Reading disc**. These notches and relief marks serve to check and control the disc movements.

The edge of the upper **Base** wall is inscribed with four words and four numbers that are marked with four colours that name the four FLOTAC® operating positions:

FILLING (n. 1 - green), CLOSED (n. 2 - yellow), READING (n. 3 - red), and OPEN (n. 4 - black).

The edge of the lower **Base** wall has two raised sections which are the **Microscope adaptor** attachments that serve to secure the FLOTAC® apparatus to the **Microscope adaptor** under the microscope.

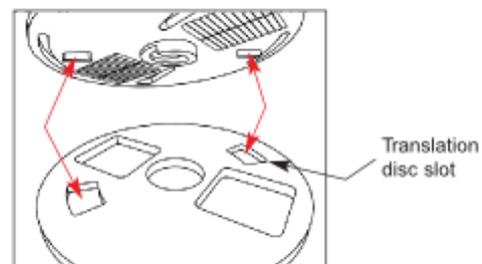
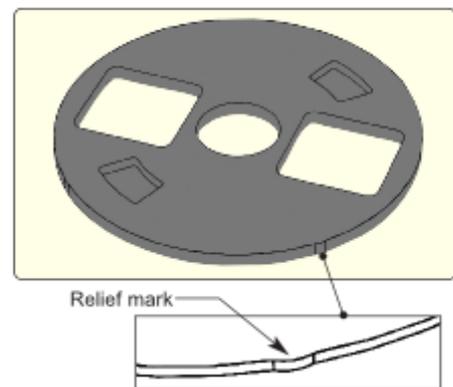
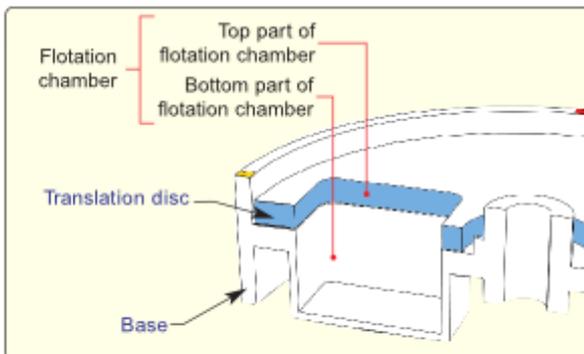


There are two versions of the **Base**: (a) **Base 100X**, which is used together with the **Reading disc 100X**; and (b) **Base 400X**, which is used together with the **Reading disc 400X**. The only difference between the two Bases is the thickness of the bottom of the flotation chambers: the **Base 400X** has a thicker bottom than the **Base 100X**.

The **Translation disc** has a central hole, which fits on the translation + reading disc axle, and two square openings which form the tops of the two flotation chambers.

The upper side of the disc has two **Translation disc** slots which receive the two raised portions on the lower side of the **Reading disc**. These mechanisms are operative in the translation step.

The circumference edge of the **Translation disc** has four relief marks at 90° from each other which correspond to the four notches on the upper **Base** wall.

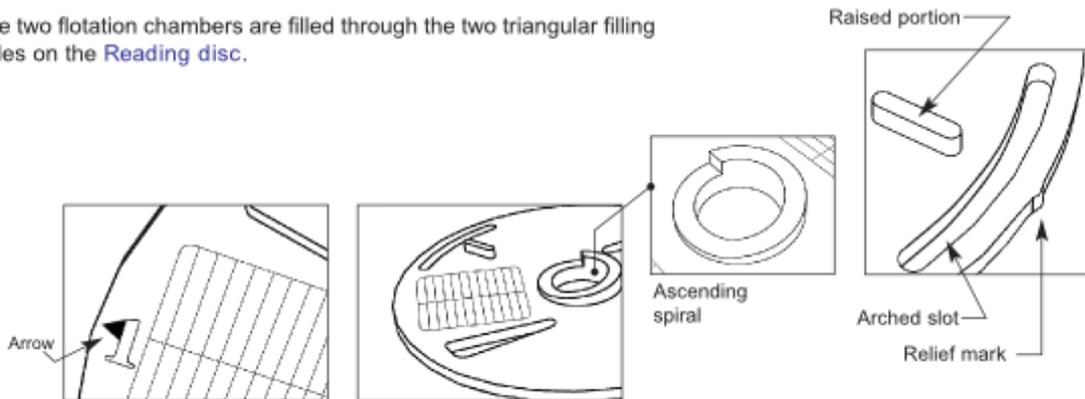
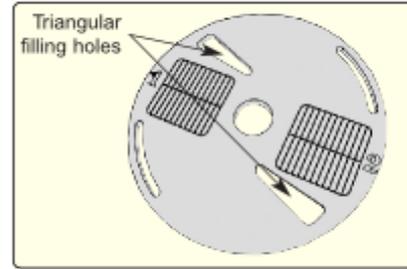


The lower side of the **Reading disc** is engraved with two ruled grids. This side also has two raised portions which are operative in the translation step, and an ascending spiral around the central hole that both serves to stop the translation step, and to open the FLOTAC® apparatus.

The circumference of the disc has two relief marks which are spring actuated to work together with the four notches on the upper **Base** wall.

The two arched slots on the **Reading disc** receive the two raised portions of the **Key**.

The two flotation chambers are filled through the two triangular filling holes on the **Reading disc**.



17

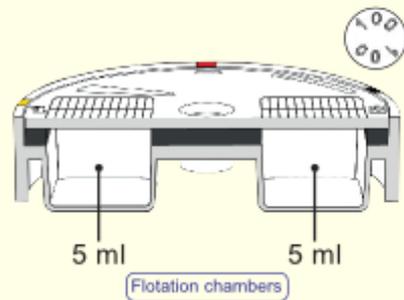
Each ruled grid is 18 x 18 mm and is divided into 12 parallel sections by means of transparent lines which is relief



**FLOTAC 100**

When FLOTAC® is assembled with the **Reading disc 100X** and with the **Base 100X** it is referred to as **FLOTAC 100**.

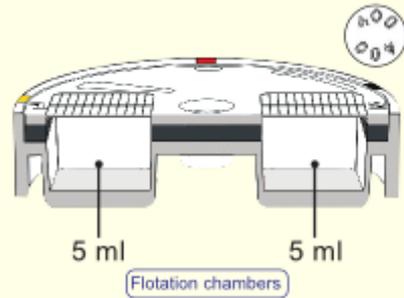
It has two flotation chambers which are 5 ml each  
- total volume = 10 ml



**FLOTAC 400**

When FLOTAC® is assembled with the **Reading disc 400X** and with the **Base 400X** it is referred to as **FLOTAC 400**.

It has two flotation chambers which are 5 ml each  
- total volume = 10 ml



The **Translation disc** and the FLOTAC® accessories can be used both with **FLOTAC 100** and **FLOTAC 400**.

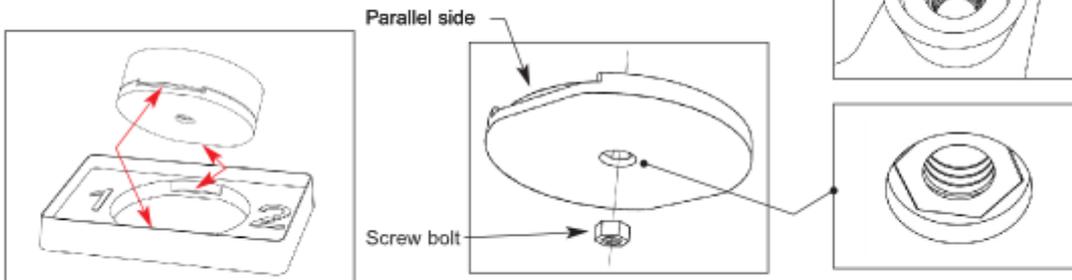
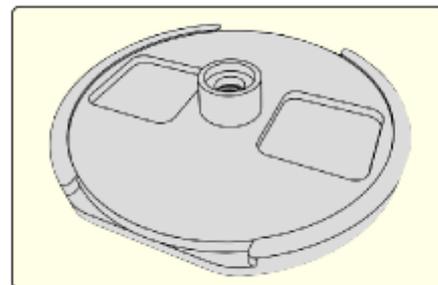
**FLOTAC® Accessories**

**BOTTOM AND SCREW BOLT**

The **Bottom** is relatively thick because it has to sustain the deformation forces arising during centrifugation. The upper side has two square depressions which receive and support the bottoms of the two flotation chambers of the **Base**.

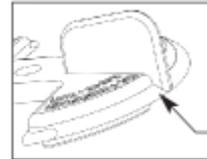
The circumference of the **Bottom** has two parallel sides which serve to lock the FLOTAC® apparatus onto the **Centrifuge adaptor**.

The centre axle of the **Bottom** contains a **Screw bolt** which receives the **Screw** thus guaranteeing that the FLOTAC® apparatus is sealed during centrifugation.

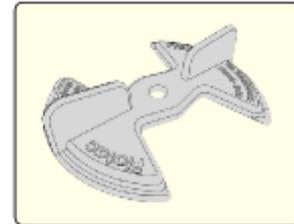


The **Key** has three main functions:

- 1) It seals the FLOTAC® apparatus during centrifugation.
- 2) It activates the four FLOTAC® operating positions (FILLING, CLOSED, READING and OPEN).
- 3) It opens the FLOTAC® apparatus.



Edge for opening



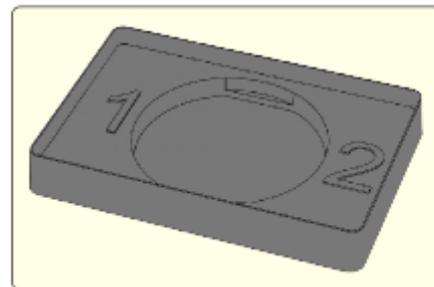
The **Screw** holds the entire FLOTAC® apparatus tightly together during centrifugation.



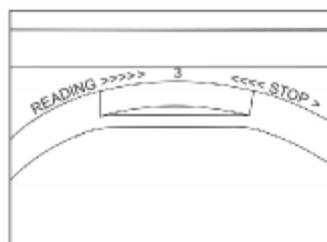
The **Centrifuge adaptor** is rectangular in shape with a circular depression at its center.

The **Centrifuge adaptor** has three main functions:

- 1) It adapts the FLOTAC® apparatus to microtitre centrifuge holders.
- 2) It duplicates, in larger letters, the operating position words found on the edge of the upper **Base** wall.
- 3) Since the FLOTAC® apparatus can be held in this adaptor during all the operating steps, it serves as a collector of any overflow of faecal suspension.

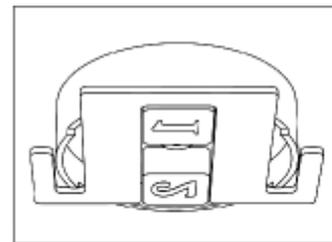
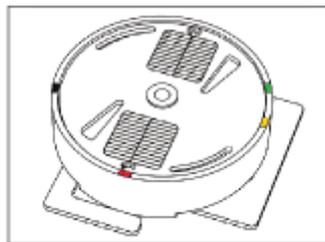
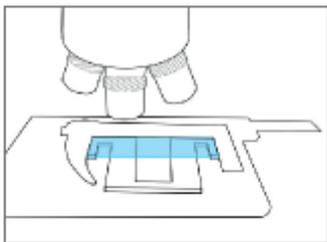
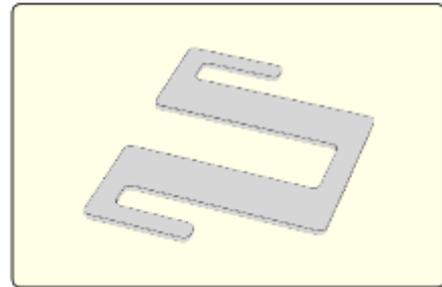


FLOTAC® operating positions/steps

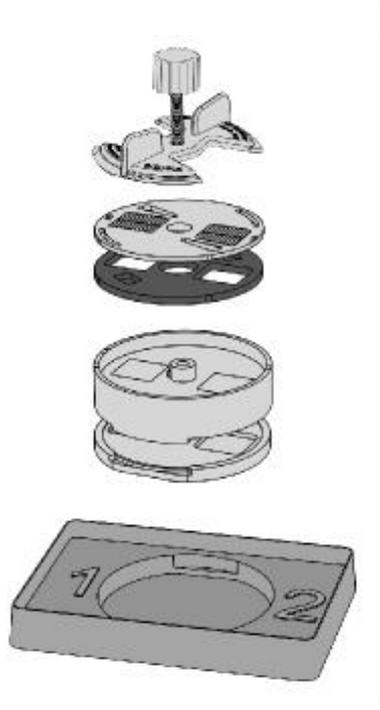
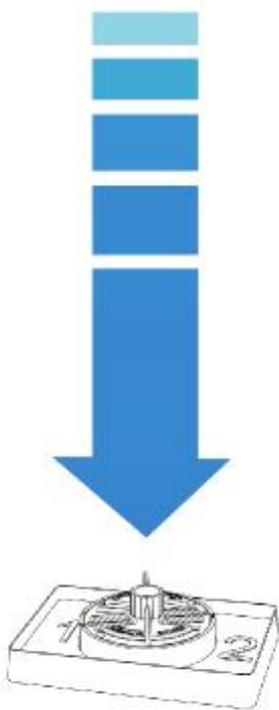


The **Microscope adaptor** maintains the FLOTAC® apparatus securely under the microscope, and it is transparent in colour in order to allow the unhindered passage of the microscope light.

If the **Microscope adaptor** is inconsistent with the microscope translation table, the FLOTAC® can be placed over a microscope slide on the microscope translation table.



23

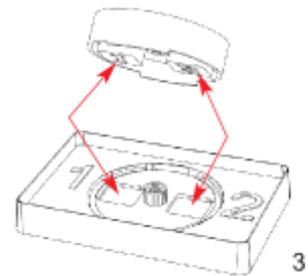
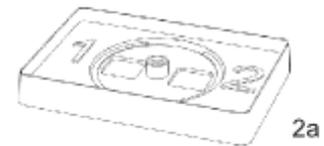
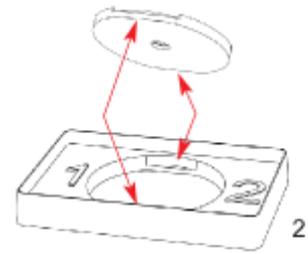
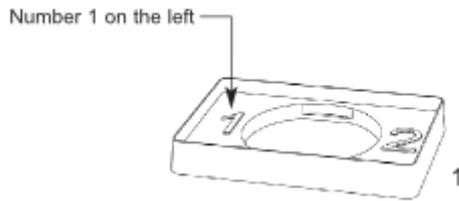


- SCREW
- KEY
- READING DISC
- TRANSLATION DISC
- BASE
- BOTTOM
- CENTRIFUGE ADAPTOR

25

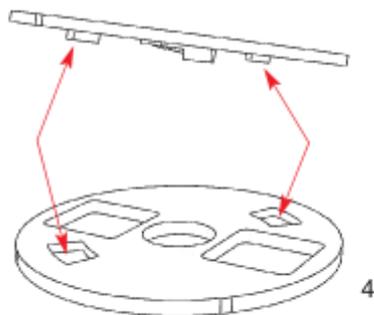
In order to avoid damage to any of the FLOTAC® components during assembly, it is important to adhere to the following instructions:

- 1) Place the **Centrifuge adaptor** on the work table with the number 1 to the left.
- 2) Place the **Bottom** onto the **Centrifuge adaptor**.
- 3) Place the **Base** on the **Bottom** so that the undersides of the two flotation chambers enter into the square depressions of the **Bottom** with chamber 1 on the left.



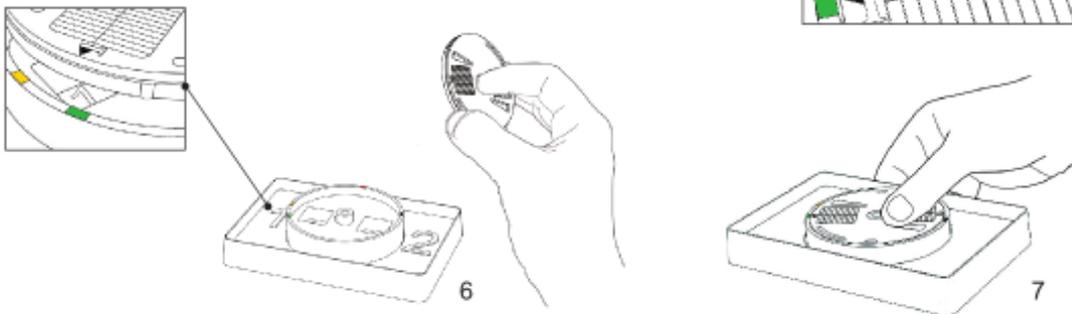
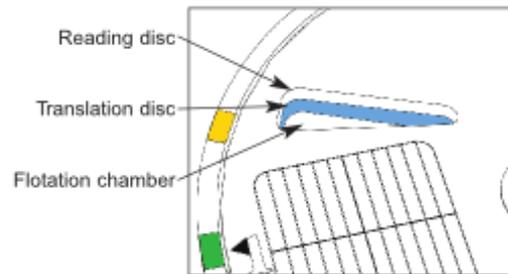
26

- 4) Place the lower side of the **Reading disc** onto the upper side of the **Translation disc**, so that the two raised portions of the **Reading disc** enter the two **Translation disc** slots.
- 5) Turn only the **Reading disc** counter-clockwise (about 30°) until the raised portions of the **Reading disc** stop further movement.



5  
27

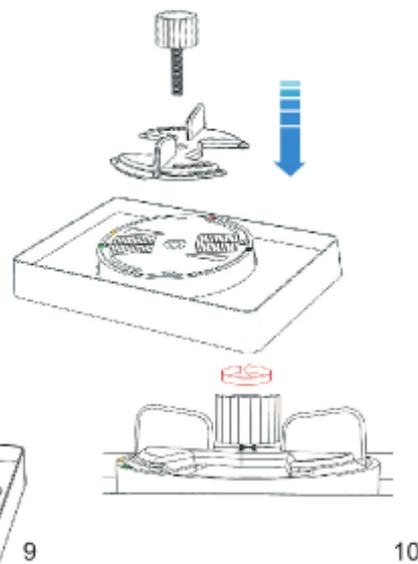
- 6) Place the two disc assembly on the **Base** with the number 1 arrow aligned to the n. 1 (green mark) on the **Base** edge.
- 7) Press the assembly to snap it closed. The filling holes and the flotation chambers are now fully aligned.



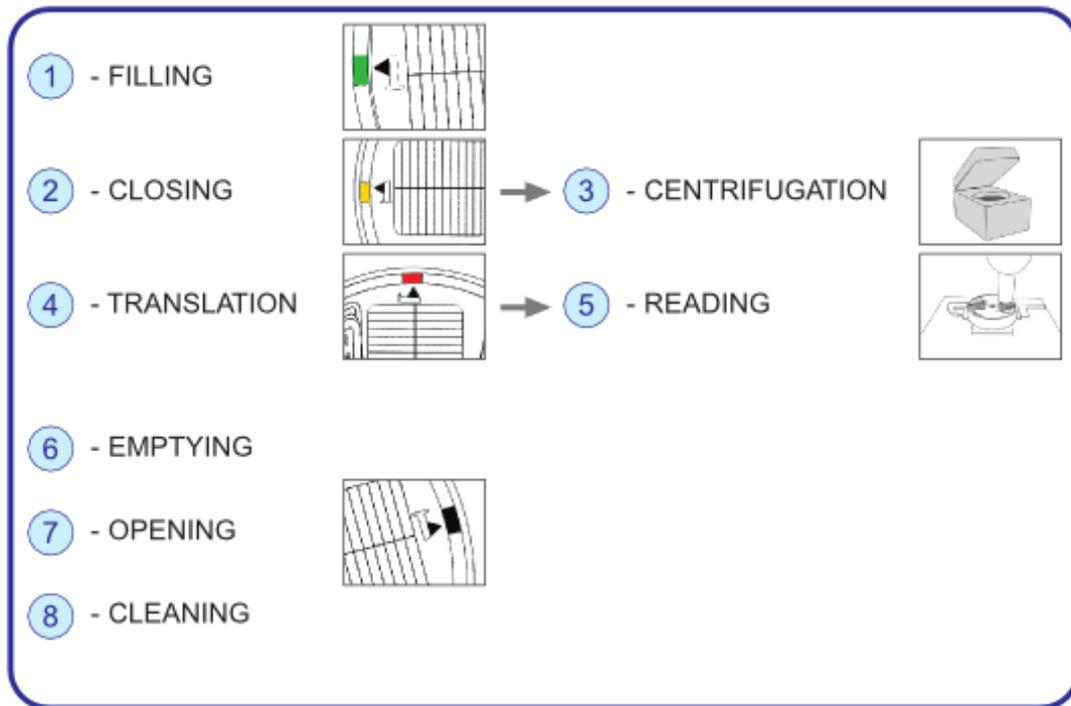
It is advisable to moisten the **Translation disc** with tap water before assembly.

- 8) Place the **Key** on the assembly so that the raised portions on the underside of the **Key** fit into the arched slots on the **Reading disc**.
- 9) Insert the **Screw** into the center of the axle, and tighten until closure is firm. This seals the two discs to the **Base**.
- 10) Now slightly loosen the **Screw** in order to allow the **Key** to rotate.

The FLOTAC® chambers are now ready to be filled.



Note - If the chambers are not fully aligned, rotate the two discs on the right (until n. 3 - red mark - on the **Base** edge) and then on the left until the arrow returns at its first position (i.e. until n. 1 - green mark - on the **Base** edge). With this movement, the **Reading disc** trails the **Translation disc** and the chambers will be fully aligned.



31

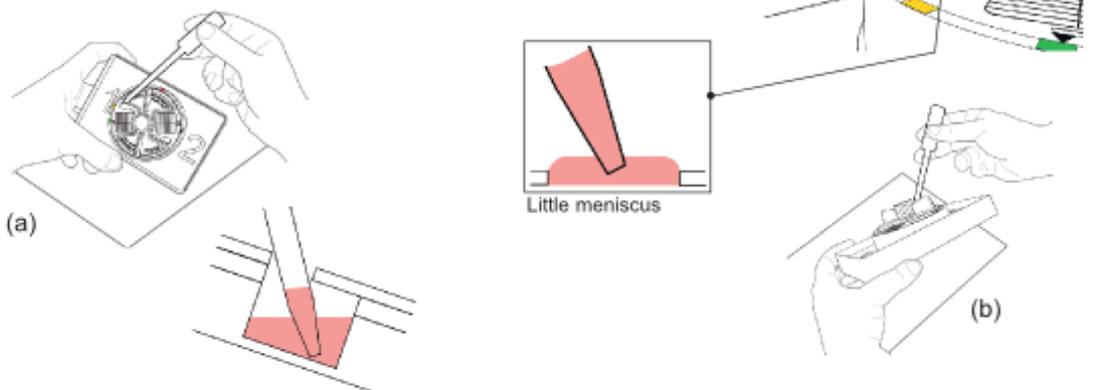
Operating steps

1 - FILLING

When the **Arrow** is aligned with the number 1 on the **Base** edge (green mark), the filling holes are fully opened, and the flotation chambers can be filled with the faecal suspension using a pipette until a little meniscus is formed.

In order to avoid the formation of air bubbles, chamber 1 must be filled with the FLOTAC® apparatus on the **Centrifuge adaptor** inclined towards the technician (a), and chamber 2 must be filled with the FLOTAC® apparatus on the **Centrifuge adaptor** inclined away from the technician (b).

Note: when using FLOTAC 400, greater inclinations are required.

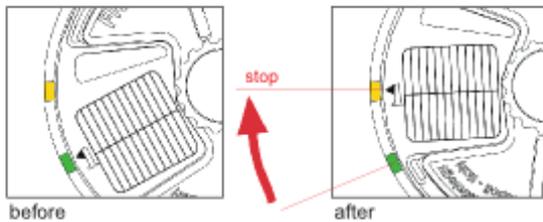


32

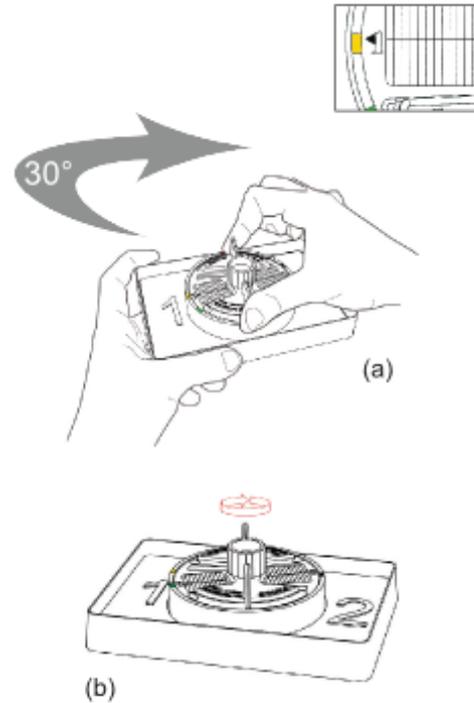
- a) After the chambers are filled, the **Key** is used to turn the **Reading disc** clockwise (about 30°) until the arrow is aligned with the number 2 on the **Base** edge (yellow mark - CLOSED)\*.

The two ruled grids are now super imposed over the two flotation chambers.

- b) Tighten the **Screw**, and aspirate the residual faecal suspension from the filling holes.



\* In this step, only the **Reading disc** must be rotated. Don't press on the **Key** during the closing. The **Translation disc** must be firm.



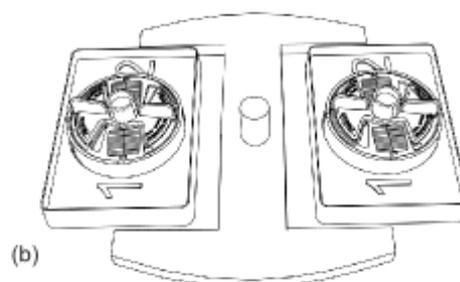
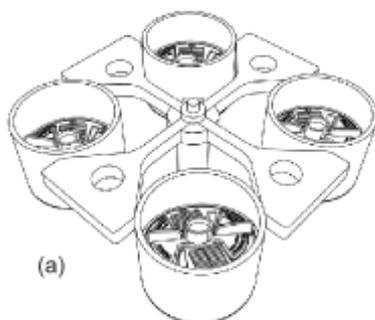
The FLOTAC® apparatus is then centrifuged for 5 min at 1,000 rpm (about 120 g).

Centrifugation can take place in either a large volume centrifuge (a) or in a microtitre centrifuge (b).

The centrifugation causes the debris to sink to the bottom of the flotation chambers, and the parasitic elements to float to the top under the two ruled grids.

If (i) the two flotation chambers of the FLOTAC® are completely filled, (ii) there is not residual suspension over the filling holes and (iii) the **Centrifuge adaptors** are cleaned, the FLOTAC® are already balanced for centrifugation.

5 minutes  
1000 rpm  
(~ 120 g)



## Operating steps

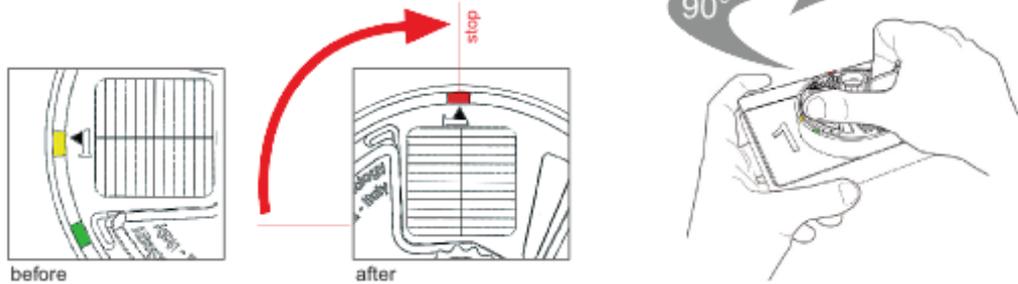
## 4 - TRANSLATION

After centrifugation, the **Screw** is loosened, and the **Key** is used to turn the discs clockwise until the **Arrow** is aligned with the number 3 on the **Base** edge (red mark - **READING**)\*.

Thus, the top parts of the two floated suspensions (i.e. the parts which contain the parasitic elements) have been translated 90° and are now completely separated from the rest of the flotation chambers (i.e. the parts which contain the faecal debris).

In this step the **Reading disc** trails also the **Translation disc**.

Turn firmly with one movement! Do not force further on n. 3 (red mark), otherwise the stop mechanism may be damaged!



\* It is advisable to add some drops of the flotation solution(s) used into the two triangular filling holes before translation.

35

## Operating steps

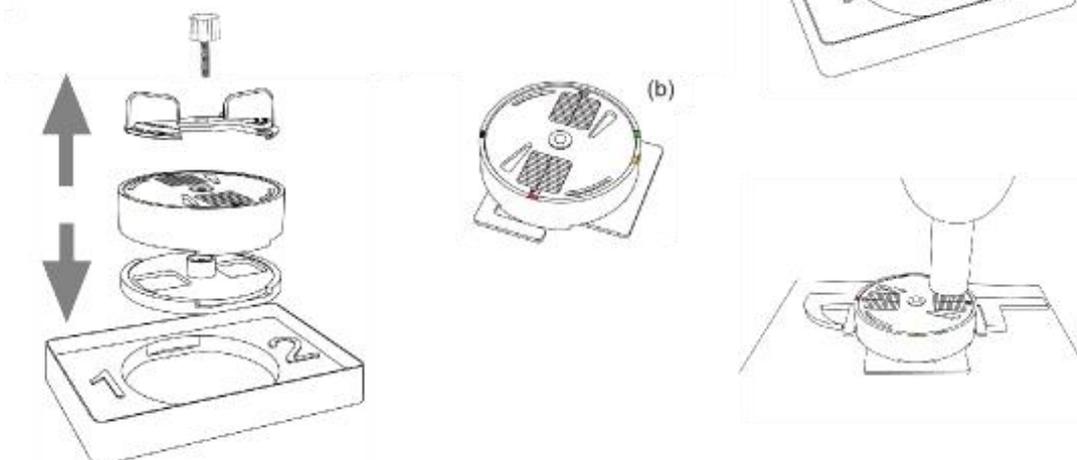
## 5 - READING

Turn the **Screw** counter-clockwise until it turns freely (a).

Remove the **Screw** and the **Key**.

Attach the **Microscope adaptor** to the microscope, and place the **FLOTAC**® apparatus on the **Microscope adaptor** with the ruled grid n.1 on the left (b).

If the **Microscope adaptor** is inconsistent with the microscope translation table, the **FLOTAC**® can be placed over a microscope slide on the microscope translation table.



36

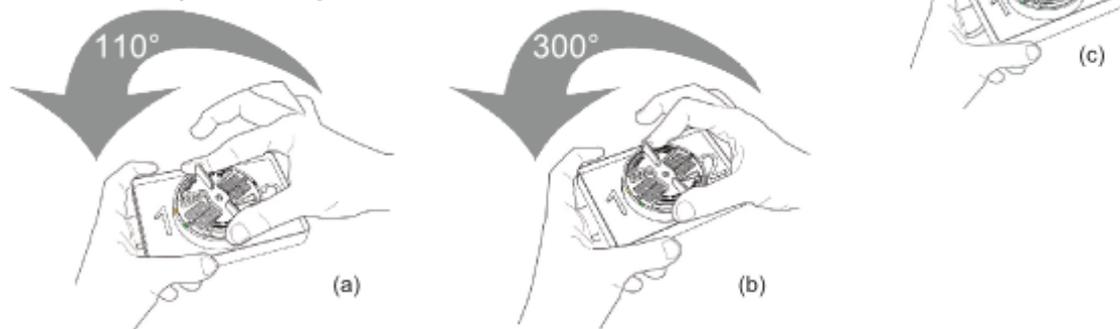
After the reading, remove the FLOTAC® apparatus from the Microscope adaptor and place it again on the Bottom, in the Centrifuge adaptor with the arrow pointing away from the technician. The Key is used to turn the discs counter-clockwise.

The FLOTAC® can be emptied in two positions:

(a) the Arrow is aligned with the n.1 (green mark = FILLING; turning the discs counter-clockwise, about 110°)

(b) the Arrow is aligned with the n.4 (black mark = OPEN; turning the discs counter-clockwise, about 300°).

(c) In these positions, the flotation chambers are opened; insert a pipette in the filling holes and aspirate the suspension. The use of an aspirator with a picker is advisable.



(a) The Reading disc is slightly elevated above the Base near the n.1 on the Base edge (green mark) and is ready to be removed using the edge of the Key as a lever (b).

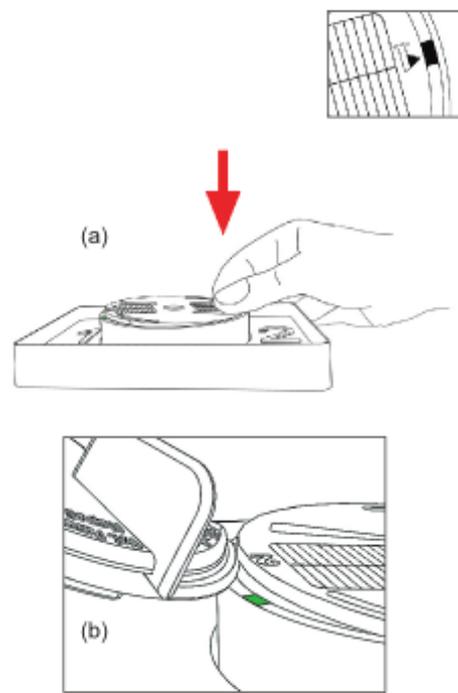
After removing the Reading disc, the Translation disc can easily be removed by hand.

The FLOTAC® components and the FLOTAC® accessories can be washed in cold and hot water. All kinds of laboratory soaps can be used.

The FLOTAC® apparatus can be sterilized by using sodium hypochlorite (1 - 4%).

Important: do not boil and do not sterilize in an autoclave the FLOTAC® components or accessories.

Mild anti-calcareous solutions can be used in order to remove calcareous deposits caused by the cleaning with hard water.



## 2<sup>nd</sup> Part

# Flotac techniques

## FLOTAC TECHNIQUES

## INTRODUCTION

### Introduction

Faecal egg count techniques are widely used for the study and diagnosis of parasites in humans and animals.

All coprological counting and/or estimating techniques give the number of parasitic elements (PE), such as eggs, larvae, oocysts and cysts, per gram of faeces (EPG, LPG, OPG, and CPG).

This second part of the Manual describes all the Flotac techniques, i.e., the Flotac basic technique, the Flotac dual technique, the Flotac double technique, the Flotac pellet techniques, and the Flotac faecal egg count calibration.

The FLOTAC<sup>®</sup> has been developed to easily carry out the flotation of the sample in a centrifuge, the translation of the apical portion of the floating suspension, and the subsequent examination under the microscope.

As described in the 1<sup>st</sup> part of this Manual, the FLOTAC<sup>®</sup> is a cylindrical-shaped instrument composed of three physical components: the **Base**, the **Translation disc** and the **Reading disc**. These components form the two **flotation chambers** which are designed for the optimal examination of 5 ml of faecal suspension in each flotation chamber (total volume = 10 ml).

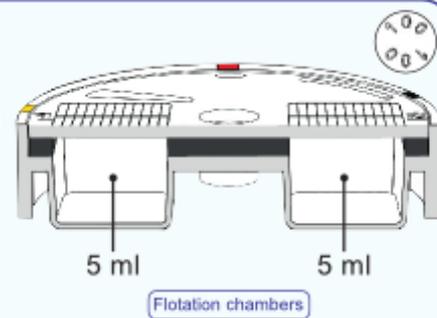
There are two versions of the **Reading disc**: (a) **Reading disc 100X**, which permits a maximum magnification of 100X; and (b) **Reading disc 400X**, which permits a maximum magnification of 400X. The only difference between the two discs is the fineness of the ruled grids: the **Reading disc 400X** has a finer ruled grid than the **Reading disc 100X**.

There are two versions of the **Base**: (a) **Base 100X**, which is used together with the **Reading disc 100X**; and (b) **Base 400X**, which is used together with the **Reading disc 400X**. The only difference between the two Bases is the thickness of the bottom of the flotation chambers: the **Base 400X** has a thicker bottom than the **Base 100X**.

**FLOTAC 100**

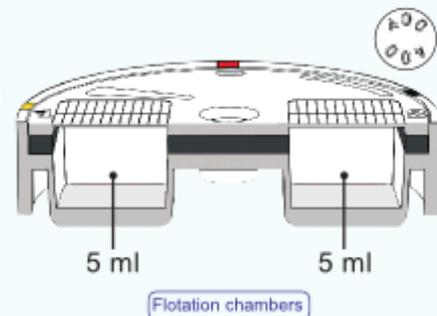
When FLOTAC® is assembled with the **Reading disc 100X** and with the **Base 100X** it is referred to as **FLOTAC 100**.

It has two flotation chambers which are 5 ml each  
- total volume = 10 ml

**FLOTAC 400**

When FLOTAC® is assembled with the **Reading disc 400X** and with the **Base 400X** it is referred to as **FLOTAC 400**.

It has two flotation chambers which are 5 ml each  
- total volume = 10 ml



The **Translation disc** and the FLOTAC® accessories can be used both with **FLOTAC 100** and **FLOTAC 400**.

42

The FLOTAC® is a highly precise instrument based on original technical solutions, and made with high quality materials that guarantee consistent accurate performance.

**FLOTAC 400** is a recent improvement over **FLOTAC 100**. The use of **FLOTAC 100** however is suggested for the study of helminth eggs and larvae, and for teaching purposes because the **FLOTAC 100** has:

- (a) a more robust **Reading disc**;
- (b) flotation chambers that are easier to fill.

All the Flotac techniques can be used with either the **FLOTAC 100** or the **FLOTAC 400**.

When a faeces dilution of 1:10 is used with the Flotac basic technique, the readings of the two ruled grids (two flotation chambers = 1 gram of faeces) give rise to an analytic sensitivity of 1EPG, 1LPG, 1OPG, and 1CPG, i.e., **the international units of reference**.

The Flotation solutions (FS) have a fundamental role in determining the **analytic sensitivity**, i.e., the smallest amount of PE in a sample that can accurately be assessed by a technique, the **precision**, i.e., how well repeated observations agree with one another, and the **accuracy**, i.e., how well the observed value agrees with the true value, of all the copromicroscopic techniques (qualitative and/or quantitative) based upon flotation.

It should be noted that not all the FS used in parasitological labs can be utilized with the Flotac techniques. The final part of this Manual lists the 9 FS suggested for the optimal use of the Flotac techniques.

The most efficient FS for the most common PE eliminated with faeces from different herbivorous species are listed in different **Appendix: Flotation Solutions and Parasitic Elements** (in separate booklets).

Flotac techniques can be used for a wide range of PE. However, if one is interested in the diagnosis of a PE not listed in the above mentioned **Appendix**, or not cited in the scientific literature, the Flotac faecal egg count calibration is essential.

43

In this second part of the FLOTAC® Manual, we present the [faecal sampling](#) and the [Flotac techniques](#), specifically:

[Flotac basic technique](#)

[Flotac dual technique](#)

[Flotac double technique](#)

[Flotac faecal egg count calibration](#)

Each technique is summarized on two pages; the first page describes the operating steps of the technique, and the second page shows a scheme of the steps.

### Collection and preservation of faecal samples

The accuracy of any copromicroscopic technique (in terms of how well the observed values agree with the true values) greatly depends on the use of correct modes of faecal sampling and preservation. Whenever possible, it is important to observe the following instructions.

Faecal material should be collected as fresh (rectal or only just excreted faecal samples, if possible) and without contaminants (e.g. free-living soil nematodes, fly larvae, mites, etc.)

The total amount of faecal material (TFM) from which samples are taken should, if possible, be the total amount of faeces eliminated within a 24 hour period, in particular for young animals (calves/foals/lambs/kids).

#### Sheep - Goats

Procure disposable gloves and collect faecal samples (as much as possible) directly from rectum. Alternatively (in particular for young animals), collect faecal samples (as much as possible) on a dry, clean floor.

Turn the gloves inside out, tie in knots, label with the animal ID, date, etc.

For routine shipment to the laboratory, samples can be cooled to 4°C and then packed with ice or other coolant (blue ice) for shipment via any of the 24- to 48-hour transport service.

Once at laboratory, the faecal sample is thoroughly homogenized and 5-10 grams of these faeces (depending on herbivorous species) are sampled and used for the chosen Flotac technique.

## FAECAL SAMPLING

### Cattle - Buffaloes - Horses

Procure disposable gloves and collect faecal samples (as much as possible) directly from rectum. Alternatively (in particular for young animals), collect faecal samples (as much as possible) on a dry, clean floor.

Turn the gloves inside out, tie in knots, label with the animal ID, date, etc.

For routine shipment to the laboratory, samples can be cooled to 4°C and then packed with ice or other coolant (blue ice) for shipment via any of the 24- to 48-hour transport service.

Once at laboratory, the faecal sample is thoroughly homogenized and 5-10 grams of these faeces (depending on ruminant species) are sampled and used for the chosen Flotac technique.

In herbivorous, the Flotac techniques can be performed on fresh (or stored at 4°C for 1-3 days) faecal samples and/or preserved (fixed) faecal samples. Do not freeze!!

Faecal samples should be preserved as follows: 1 part of faeces and 3 parts of fixative (formalin 5%, formalin 10% or SAF). It is important to note that complete homogenization of faeces and fixative is required. In addition, faecal samples should be homogenized in the fixative as soon as they are put into the containers.

### Sample homogenization in "liquid phase"

Particular care should be given to the homogenization of the total faecal material (TFM) before sample collection and weighing.

Since parasitic elements (PE) are not evenly distributed in faeces, an optimal homogenization of the TFM is better guaranteed if performed in a liquid phase:

- 1 - place the TFM collected (preferably faeces eliminated within a 24 hour period) in a suitable cleaned container (preferably disposable and biodegradable), weigh and add an equal amount of liquid (tap water), and

46

## FAECAL SAMPLING

homogenize the suspension thoroughly using a spatula.

[If a scale is not available, the following alternative procedure can be used:

- a) - procure a graduated container;
- b) - transfer the TFM and add a known volume of tap water: in any case, less than the estimated volume of the TFM;
- c) - homogenize the suspension and measure the total volume;
- d) - calculate the volume of the TFM by subtracting the volume of the tap water added from the total volume;
- e) - add water until a final dilution ratio of 1:2 is reached (1 volume of TFM + 1 volume of tap water) and homogenize thoroughly].

- 2 - place 20 ml (= 10 grams of faecal sample), or a multiple, in a suitable container.

In order to fix, add 2 parts of fixative (final dilution ratio 1:4 = 1 part of faeces + 3 parts of water and fixative). In this circumstance, the concentration of the fixative should be increased by 1/3 (e.g., if the fixative used is "formalin 5%", the solution of formalin should be brought to 6.7%).

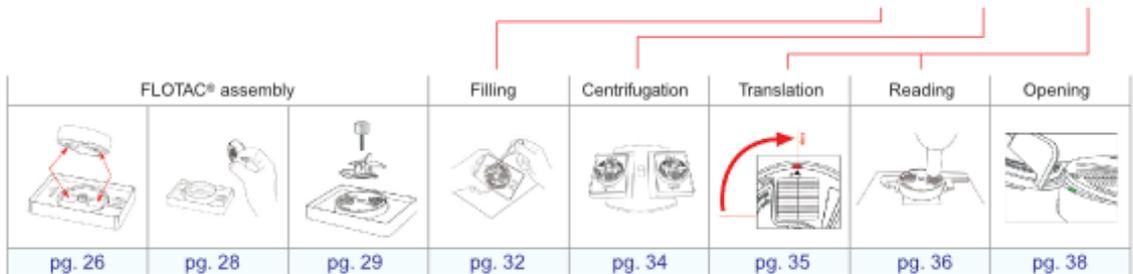
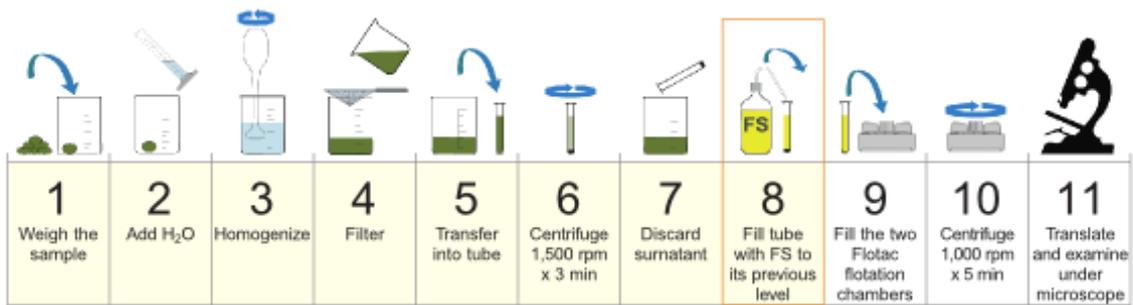
Homogenization of the sample in liquid phase is strongly suggested for research and/or diagnosis on faeces taken from large and medium sized dogs, and in the case of low or very low quantities of PE in the faeces.

It is important to note that the fixative used can markedly influence the sensitivity, precision and accuracy of any copromicroscopic technique based on either flotation or sedimentation.

Regarding the Flotac techniques, formalin 5%, formalin 10% and SAF\* give the best results in terms of sensitivity, precision and accuracy.

47

## THE BASIC STEPS OF THE FLOTAC TECHNIQUES



FLOTAC<sup>®</sup> Manual 1<sup>st</sup> part

The Flotac techniques are new multivalent, highly sensitive and accurate quantitative copromicroscopic techniques which utilize the FLOTAC<sup>®</sup>

48

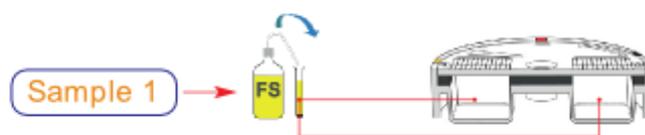
## FLOTAC BASIC TECHNIQUE

### Flotac basic technique

The Flotac basic technique uses, during the performance of the technique, **one flotation solution (FS)**. This technique is especially suggested for the study and/or diagnosis of faecal samples containing a low or very low number of parasitic elements (PE) from a single parasitic species (natural or experimental mono-infection), or from faecal samples containing a low or very low number of various types of PE which all have the same behaviour with respect to the FS used.

The analytic sensitivity of the Flotac basic technique is: 1EPG, 1LPG, 1OPG, and 1CPG.

EPG, LPG, OPG, CPG = eggs, larvae, oocysts, and cysts per gram of faeces.



49

## FLOTAC BASIC TECHNIQUE

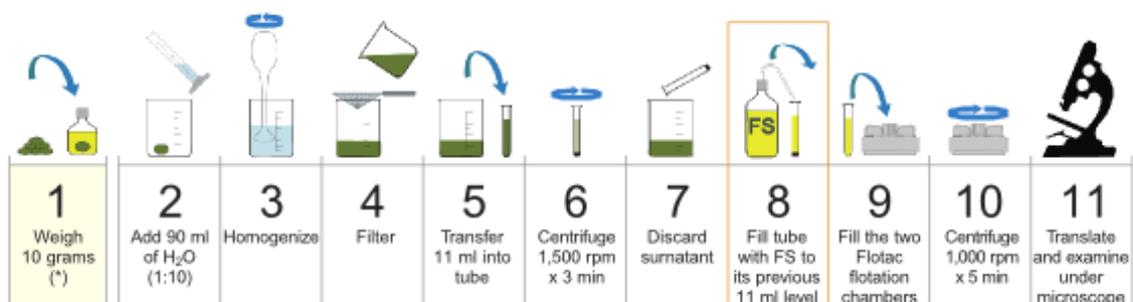
- 1 - Weigh 10 grams of fresh faeces taken from a larger amount of faecal material and thoroughly homogenize (preferably in liquid phase). When working with fixed samples use formalin 5% or formalin 10% or SAF at a dilution ratio of 1:4 (formalin 5% is suggested).
- 2 - Add 90 ml of tap water (dilution ratio = 1:10).  
If less than 10 grams of faeces are available, use the final dilution ratio 1:10.  
If the faecal sample is fixed, use the final dilution ratio 1:10 (1 part of faeces + 9 parts of water and fixative).
- 3 - Homogenize the suspension thoroughly (a house-hold mixer is suggested).
- 4 - Filter the suspension through a wire mesh (aperture = 250 µm).
- 5 - Place 11 ml of the filtered suspension into a conic tube. The two flotation chambers of the FLOTAC® require 5 ml each (total volume 10 ml = 1 gram of faeces); 1 ml more is necessary in order to easily fill the two flotation chambers.
- 6 - Centrifuge the tube for 3 min at 1,500 rpm (about 170 g).
- 7 - After centrifugation, discard the supernatant, leaving only the sediment (pellet) in the tube.
- 8 - Fill the tube with the chosen flotation solution (FS) to the previous 11 ml level.
- 9 - Homogenize the suspension and fill the two flotation chambers of the FLOTAC®.
- 10 - Close the FLOTAC® and centrifuge for 5 min at 1,000 rpm (about 120 g).
- 11 - After centrifugation, translate the top parts of the flotation chambers and read under the microscope.

The analytic sensitivity of the Flotac basic technique is: 1EPG, 1LPG, 1OPG, and 1CPG.

For the FLOTAC® steps 9 - 11 see FLOTAC® Manual 1<sup>st</sup> part pgs. 32 - 36 For FS see pg. 75 and Appendix

50

## FLOTAC BASIC TECHNIQUE



Multiplication Factor

X 1



Multiplication Factor

X 2



(\*) If necessary fix 1:4

See FS pg. 75 and Appendix

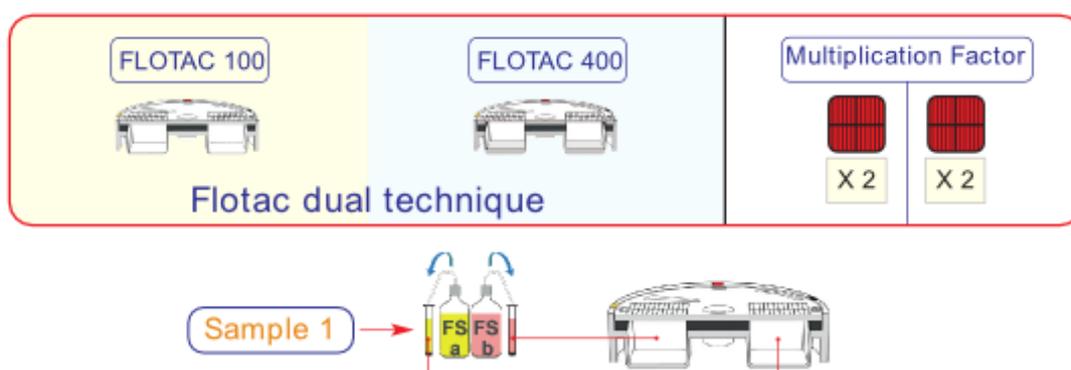
51

## Flotac dual technique

The Flotac dual technique is based upon the use, during the performance of the technique, of two flotation solutions that have complementary specific densities (or efficiencies), and are used in parallel on the same faecal sample. This technique is especially suggested for diagnostic purposes or epidemiological surveys in order to perform a wide parasitological screening of different parasitic elements in a single faecal sample.

The analytic sensitivity of the Flotac dual technique is: 2EPG, 2LPG, 2OPG, and 2CPG.

EPG, LPG, OPG, CPG = eggs, larvae, oocysts, and cysts per gram of faeces.



53

## FLOTAC DUAL TECHNIQUE

- 1 - Weigh 10 grams of fresh faeces taken from a larger amount of faecal material and thoroughly homogenize (preferably in liquid phase). When working with fixed samples use formalin 5% or formalin 10% or SAF at a dilution ratio of 1:4 (formalin 5% is suggested).
- 2 - Add 90 ml of tap water (dilution ratio = 1:10).  
If less than 10 grams of faeces are available, use the final dilution ratio 1:10.  
If the faecal sample is fixed, use the final dilution ratio 1:10 (1 part of faeces + 9 parts of water and fixative).
- 3 - Homogenize the suspension thoroughly (a house-hold mixer is suggested).
- 4 - Filter the suspension through a wire mesh (aperture = 250 µm).
- 5 - Place 2 aliquots, 6 ml each, of the filtered suspension into two conic tubes. The two flotation chambers of the FLOTAC® require 5 ml (= 0.5 grams of faeces) each; 1 ml more is necessary in order to easily fill each flotation chamber.
- 6 - Centrifuge the two tubes for 3 min at 1,500 rpm (about 170 g).
- 7 - After centrifugation, discard the supernatant, leaving only the sediments (pellets) in the tubes.
- 8 - Fill the two tubes with two different flotation solutions (FS), FSa and FSb, to the previous 6 ml level.
- 9 - Thoroughly homogenize the suspensions and fill the two flotation chambers of the FLOTAC® with the two suspensions: chamber 1 with suspension in FSa, and chamber 2 with suspension in FSb.
- 10 - Close the FLOTAC® and centrifuge for 5 min at 1,000 rpm (about 120 g).
- 11 - After centrifugation, translate the top parts of the flotation chambers and read under the microscope.

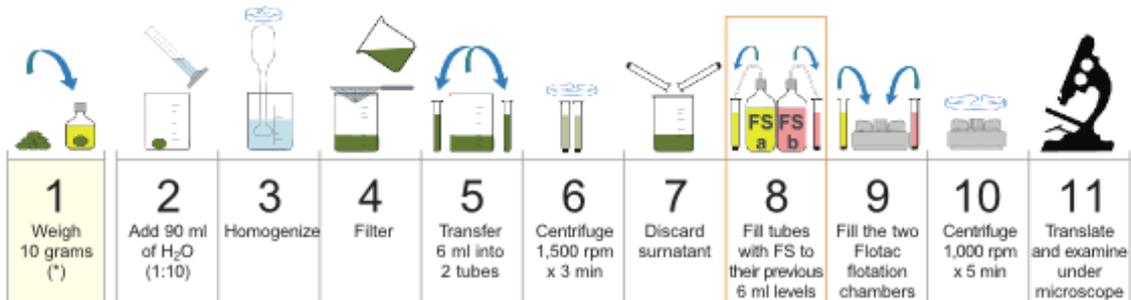
With the Flotac dual technique, the reference unit is the single flotation chamber (volume 5 ml = 0.5 grams of faeces).

The analytic sensitivity of the Flotac dual technique is: 2EPG, 2LPG, 2OPG, and 2CPG.

For the FLOTAC® steps 9 - 11 see FLOTAC® Manual 1<sup>st</sup> part pgs. 32 - 36 For FS see pg. 75 and Appendix

54

## FLOTAC DUAL TECHNIQUE



(\*) If necessary fix 1:4

See FS pg. 75 and Appendix

Multiplication Factor

X 2

55

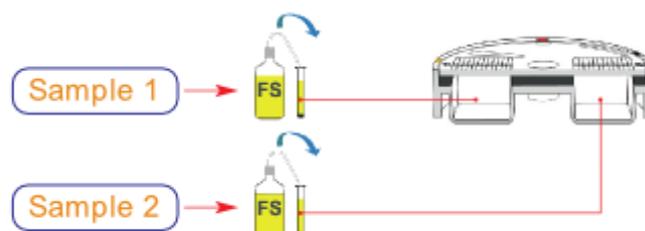
## FLOTAC DOUBLE TECHNIQUE

### Flotac double technique

The Flotac double technique is based on the simultaneous examination of **two different faecal samples from two different hosts** using the same FLOTAC® apparatus. With this technique, the two faecal samples are each assigned to its own single flotation chamber, using the same flotation solution.

The analytic sensitivity of the Flotac double technique is: 2EPG, 2LPG, 2OPG, and 2CPG.

EPG, LPG, OPG, CPG = eggs, larvae, oocysts, and cysts per gram of faeces.



57

## FLOTAC DOUBLE TECHNIQUE

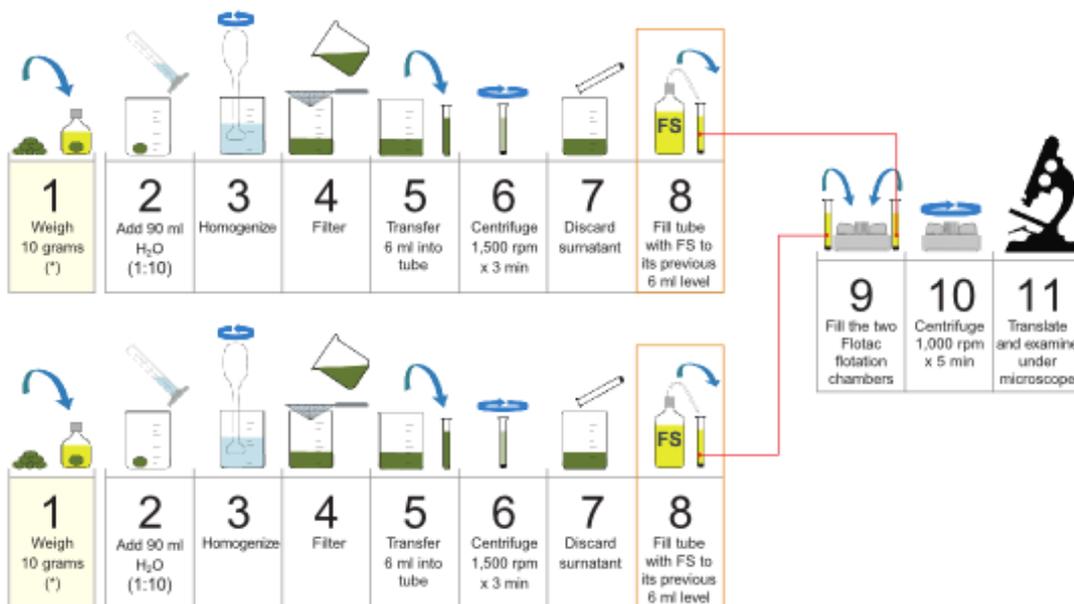
The steps n. 1 to n. 8 are performed on two different faecal samples.

- 1 - Weigh 10 grams of fresh faeces taken from a larger amount of faecal material (preferably in liquid phase). When working with fixed samples use formalin 5% or formalin 10% or SAF at a dilution ratio of 1:4 (formalin 5% is suggested).
  - 2 - Add 90 ml of tap water (dilution ratio = 1:10).  
If less than 10 grams of faeces are available, use the final dilution ratio 1:10.  
If the faecal sample is fixed, use the final dilution ratio 1:10 (1 part of faeces + 9 parts of water and fixative).
  - 3 - Homogenize the suspension thoroughly (a house-hold mixer is suggested).
  - 4 - Filter the suspension through a wire mesh (aperture = 250 µm).
  - 5 - Place 6 ml of the filtered suspension into a conic tube.
  - 6 - Centrifuge the tube for 3 min at 1,500 rpm (about 170 g).
  - 7 - After centrifugation, discard the surnatant, leaving only the sediment (pellet) in the tube.
  - 8 - Fill the tube with the chosen flotation solution (FS) to the previous 6 ml level.
  - 9 - Fill the two flotation chambers of the FLOTAC®: flotation chamber n. 1 with the first sample; flotation chamber n. 2 with the second sample.
  - 10 - Close the FLOTAC® and centrifuge for 5 min at 1,000 rpm (about 120 g).
  - 11 - After centrifugation, translate the top parts of the flotation chambers and read under the microscope.
- With the Flotac double technique, the reference unit is the single flotation chamber (volume 5 ml = 0.5 grams of faeces).  
The analytic sensitivity of the Flotac double technique is: 2EPG, 2LPG, 2OPG, and 2CPG.

For the FLOTAC® steps 9 - 11 see FLOTAC® Manual 1<sup>st</sup> part pgs. 32 - 36 For FS see pg. 75 and Appendix

58

## FLOTAC DOUBLE TECHNIQUE



(\*) If necessary fix 1:4

See FS pg. 75 and Appendix

Multiplication Factor

X 2

59

# Procedures for preparing faeces rich in fats for the Flotac techniques

Whenever faecal samples are rich in fats (e.g., faecal samples from lactating calves/foals/lambs/kids), it is advisable to prepare the pellet with ether or ethyl acetate after step n. 7 of all the Flotac techniques.

61

## FAT FAECES

### Procedures for preparing faeces rich in fats for the Flotac techniques

If faecal samples are rich in fats (e.g., faecal samples from lactating calves/foals/lambs/kids), after step n. 7 of all the Flotac techniques, use ether (E) or ethyl acetate (EA) as a lipid removing agent, as follows:

- 7a - Add 10 ml of physiological saline (SAL) and either 2 ml of E – C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>(2O) – or EA (or alternatively, 7 ml of SAL + 3 ml of E/EA) to the pellet; stir vigorously for 30 - 60 sec if by hand, or at least 15 sec if on vortex.
- 7b - Centrifuge at 1,500 rpm for 3 min. Three layers should result: the sediment layer containing the parasitic elements (PE); a layer of fats in the middle; and a layer of E/EA at the top.
- 7c - Discard the supernatant leaving only the pellet in the tube and clean the edges of the tube using cotton to remove the fat residues.

Continue with the other steps of the chosen Flotac technique.

#### Optional:

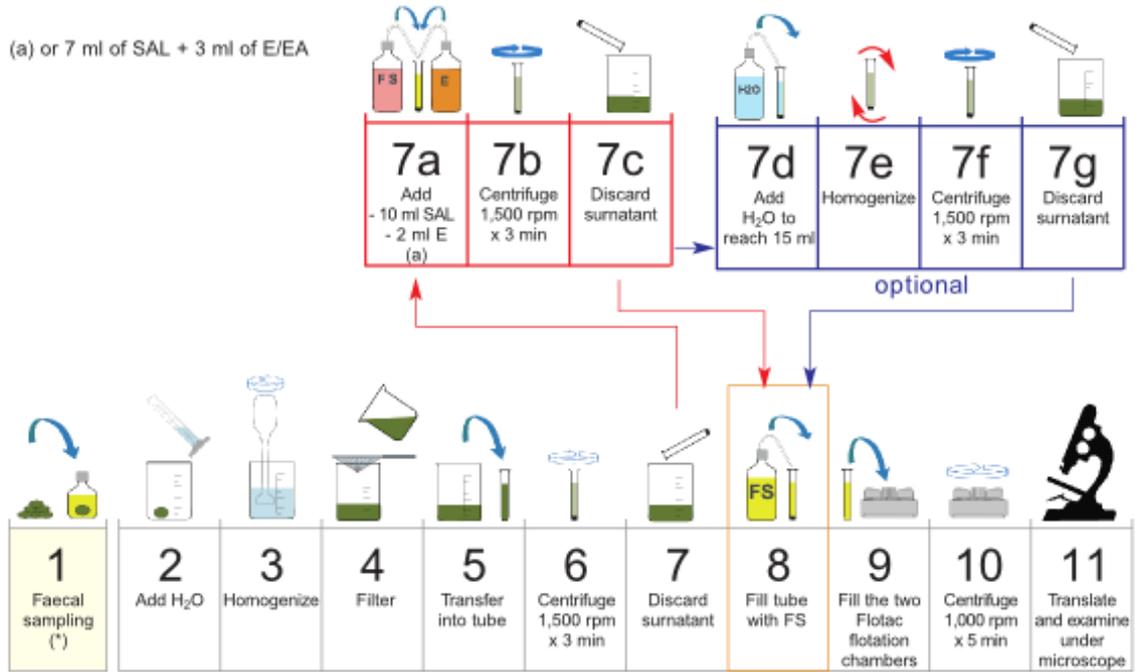
if it is necessary to remove the E/EA residual from the pellet, wash it with water or SAL as follows:

- 7d - Add tap water or SAL to reach a final volume of 15 ml.
- 7e - Homogenize the suspension thoroughly.
- 7f - Centrifuge at 1,500 rpm for 3 min.
- 7g - Discard the supernatant.

Note - This procedure is recommended only in the case of faecal samples that are very rich in fats. The use of E, and even more so, of EA, may damage some types of PE (e.g., Hookworm eggs, etc.). In addition, the repeated use of E and/or EA may damage the FLOTAC® discs.

62

(a) or 7 ml of SAL + 3 ml of E/EA



(\*) If necessary fix 1:4

See FS pg. 75 and Appendix

## FAECAL SAMPLE DILUTION

### Faecal sample dilution

With regard to all the Flotac techniques, the number of Parasitic elements (PE = eggs, larvae, oocysts, and cysts) under examination can effect the accuracy of the count. In particular, count results are accurate when the number of PE is under 500 PE per gram of faeces (PEG), i.e., PE = 250 per ruled grid.

When PEG levels are greater than 500 (a situation occurring especially for sheep and goats), it is advisable to dilute the sample suspension at step n. 2 of each Flotac technique, as specified in the table on the opposite page (pg. 65).

## FAECAL SAMPLE DILUTION

Range of number of parasitic elements per gram of faeces	Dilution ratio of faecal sample at step 2 of each Flotac technique		Reading area and multiplication factor		
	FLOTAC 100 	FLOTAC 400 			
1 - 500		1 : 10	x 1	x 2	ns
500 - 1000		1 : 20	x 2	x 4	ns
1000 - 1500		1 : 30	x 3	x 6	ns
1500 - 2000		1 : 40	x 4	x 8	ns
2000 - 3000		1 : 50	x 5	x 10	x 20
> 3000		1 : 100	ns	ns	x 40

ns = not suggested

65

## FLOTAC FAECAL EGG COUNT CALIBRATION

### Flotac faecal egg count calibration



67

## FLOTAC FAECAL EGG COUNT CALIBRATION

### Flotac faecal egg count calibration (FFECC) and choice of the flotation solutions

Flotation solutions (FS) play a key role in determining the sensitivity, precision and accuracy of any copromicroscopic technique (qualitative and/or quantitative) based upon flotation.

Usually, in the manuals of diagnostic parasitology or in the scientific literature, only the specific gravity (s.g.) and/or density is reported for FS. It is common believed that the efficiency of a FS in terms of the capacity to float parasitic elements (PE = eggs, larvae, oocysts and cysts) increases as the s.g. of the FS increases. However, PE are not "inert elements"! The interactions between the elements within a floating faecal suspension (FS components, PE, fixative, and residues of the host alimentation) are still unknown. However, it should be noted that:

- 1) As a rule, diverse FS with the same s.g., do not produce the same results with respect to the same PE, even when the same technique is used.
- 2) Usually, a given FS which is very efficient with respect to a given PE, using a given technique, does not produce the same results if the technique is changed.
- 3) Usually, a given FS which is very efficient with respect to a given PE, using a given technique, in a sample examined as fresh, does not produce the same results if the method of faeces preservation changes (e.g., frozen, fixed in formalin or in other fixatives).
- 4) It may happen that a given FS which is very efficient with respect to a given PE, using a given technique, does not produce the same results if the diet of the host changes.

As a result, when a copromicroscopic technique based upon flotation is used, each PE must be considered independently with respect to (a) the FS, (b) the technique, and (c) the method of faeces preservation used. What is known for a given PE cannot be used either for a "similar" PE, or for the same PE when the technique or the faecal preservation method changes.

68

## FLOTAC FAECAL EGG COUNT CALIBRATION

Flotac techniques augment the efficiency of the various FS with respect to clarity of reading, sensitivity, flotation of high numbers of PE, precision and accuracy; but they also augment the negative aspects of some FS (turbidity of reading, floating of small and large faecal debris, etc.). As a consequence, not all the FS used in parasitological labs can be used with the Flotac techniques.

The section [Flotation Solutions](#) of this Manual (pg. 75) reports the chemical composition of the 9 FS (chosen from the 14 FS listed in the paper by Cringoli et al., *Vet Parasitol* 2004, 123: 121-131) that give the best results using the Flotac techniques with respect to the clarity of reading, sensitivity, precision and accuracy.

The most efficient FS for the most common PE eliminated with herbivorous faeces are shown in the schemes located in the [Appendix](#).

In these schemes, the 9 FS are divided into 4 groups based upon their efficiency as determined by a series of FFECC performed on composite faecal samples from different herbivorous species.

The Flotac techniques can be used for a wide range of PE eliminated with faeces from different herbivorous species.

For dog PE not listed in the above mentioned Appendix or in scientific publications the FFECC is necessary.

The FFECC consists in a preliminary screening of the 9 FS on the PE of interest, carrying out at least 6 replicates, for each FS. A single flotation chamber of the FLOTAC 100 or FLOTAC 400 is utilized for each replicate (analytic sensitivity = 2 parasitic elements per gram of faeces). In addition, the method of faeces preservation should be considered.

69

## FLOTAC FAECAL EGG COUNT CALIBRATION

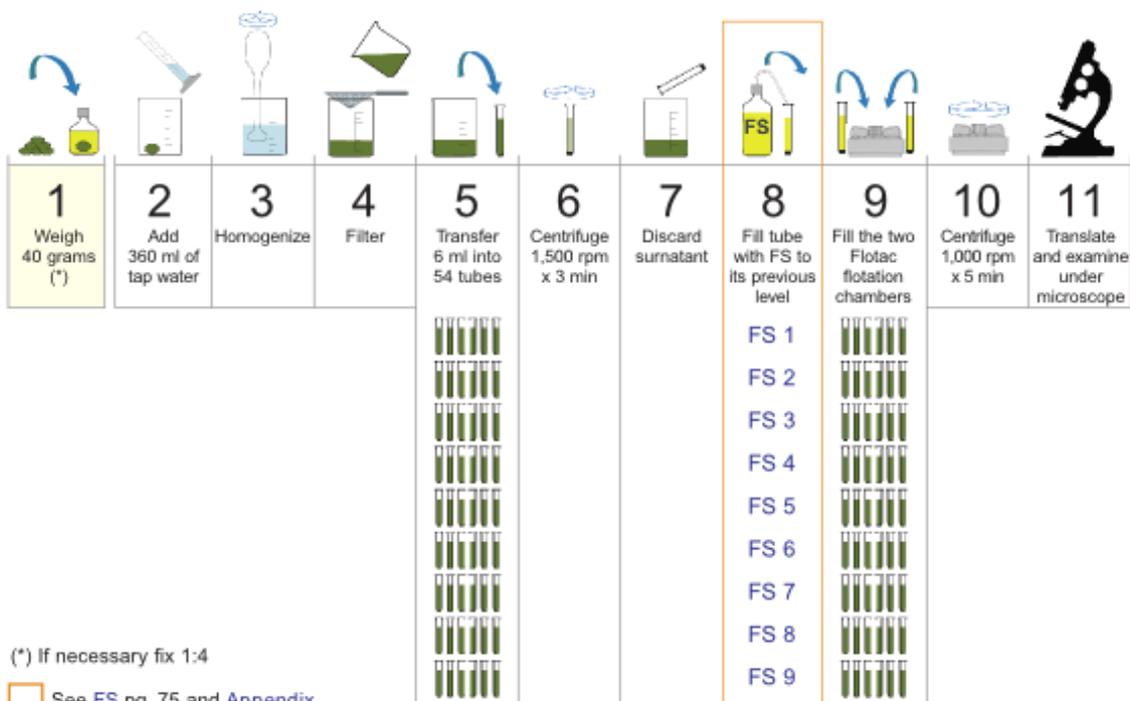
- 1 - Weigh 40 grams of faecal sample with the parasitic element of interest.  
If necessary, add the chosen fixative [formalin 5%, formalin 10%, SAF, etc.: 1 part of faecal sample + 3 parts of fixative (120 ml); final volume = 160 ml], homogenize thoroughly and leave the faeces and fixative in contact for the necessary period of time (12 - 24 hour period).
- 2 - Add 360 ml of tap water (dilution ratio = 1:10)  
(for fixed faeces as above described, add 240 ml of tap water; final dilution ratio 1:10)
- 3 - Homogenize the suspension thoroughly (a house-hold mixer is suggested).
- 4 - Filter the suspension through a wire mesh (aperture = 250 µm).
- 5 - Divide the suspension into 54 aliquots in order to have 6 replicates of each of the 9 flotation solutions (FS): each aliquot is 6 ml, and is placed into a 15 ml conic tube.
- 6 - Centrifuge the 54 tubes for 3 min at 1,500 rpm (about 170 g).
- 7 - After centrifugation, discard the supernatant, leaving only the sediments (pellets) in the tubes.
- 8 - Randomly assign each of the 9 groups of 6 tubes containing a pellet to a different FS; i.e., 6 replicates for each FS.
- 9 - For each replicate, add the chosen FS to the tube (to reach 6 ml) and fill one flotation chamber of the FLOTAC®.
- 10 - Close the FLOTAC® and centrifuge for 5 min at 1,000 rpm (about 120 g).
- 11 - After centrifugation, translate the top of the faecal suspension and read under the microscope.

The analytic sensitivity during FFECC is: 2EPG, 2LPG, 2OPG, and 2CPG.

For the FLOTAC® steps 9 - 11 see FLOTAC® Manual 1<sup>st</sup> part pgs. 32 - 36 For FS see pg. 75 and Appendix

70

## FLOTAC FAECAL EGG COUNT CALIBRATION



71

## FLOTAC FAECAL EGG COUNT CALIBRATION

In order to evaluate the results of any FFECC, the first element to be considered is the clarity of reading produced by a given FS. Indeed, the FS which produce the flotation of a large amount of either small or large debris must be excluded.

The technical parameters which should be considered in the evaluation of each FS are:

- 1) The mean number (derived from 6 replicates) of parasitic elements per gram of faeces (PEG).
- 2) The coefficient of variation [ $CV = (\text{standard deviation} / \text{mean PEG}) \times 100$ ]. CV values indicate the precision (how well repeated observations agree with one another) of the technique, when utilizing a given FS for a specific PE. The lower the CV, the more precise is the technique; values of CV below 5% should be considered as optimal.

Comparative evaluation of the FS is made using the following steps:

- a) Compare the mean values of PEG produced by different FS and organize the values into statistically homogeneous groups. The FS producing the highest PEG values should be included in the first choice group - the gold standard - (blue); they are followed by the FS of second choice (green), third choice (yellow), fourth choice (white), which progressively produce lower PEG values.
- b) Within each group, for each FS, mark the CV range with a letter: (A) CV below 5%; (B) CV between 5% and 10%; (C) CV between 10% and 15%; (D) CV between 15% and 20%; and (E) CV above 20% (see schemes in [Appendix](#)).

During the FFECC it is important to consider the following critical steps of the technique:

72

## FLOTAC FAECAL EGG COUNT CALIBRATION

**Step n. 5** - This is a delicate step, because it is advisable to have the same number of PE in each tube (replicate). Thus, it is very important to thoroughly homogenize the faecal suspension before filling the tubes. Magnetic stirrers should be avoided; even though they are very useful for preparing solutions, they should not be used for homogenizing suspensions.

Best results are obtained with two technicians working together: one technician transfers the suspension into two containers over and over again (avoid foam formation); the second technician aspirates the required amount of faecal suspension (6 ml) using a calibrated pipette.

**Step n. 9** - Fill the two flotation chambers quickly, and then quickly close the FLOTAC®.

**Summarizing:** after the FFECC is performed, the FS in the first choice group are the most efficient (producing the highest mean PEG values), the most precise (producing the lowest CV values), and give the best clarity of reading.

The first choice FS are especially recommended for research and/or diagnosis (with Flotac basic technique and/or Flotac double technique) when the faecal samples contain PE from a single parasitic species (natural or experimental mono-infection), or when the faecal samples contain different PE that have the same behaviour with respect to the FS used.

The second choice FS and/or the subsequent choice FS are useful for research and/or diagnoses which utilize the Flotac dual technique (using the FS in parallel with the first choice and/or other choice FS) to perform a wide parasitological screening of different PE.

The modern concept of **quality with respect to parasitological diagnosis** and of **standardization of copromicroscopic techniques based upon flotation** requires that the "Calibration of FS" should always be performed regardless of the technique utilized (e.g., McMaster technique, etc.), and should always be performed for each method of faecal preservation used.

73

# Flotation Solutions

Flotation solutions play a key role in determining the sensitivity, precision and accuracy of any copromicroscopic technique (qualitative and/or quantitative) based upon flotation.

Among the 14 flotation solutions listed in the paper by Cringoli et al. (Vet Parasitol 2004, 123: 121- 131), the following 9 flotation solutions give the best results with the Flotac techniques with respect to clarity of reading sensitivity, precision and accuracy.

75

## FLOTATION SOLUTIONS

Flotation solutions		Specific gravity (s.g.)
FS 1	Sheather's Sugar Solution	1.200
FS 2	Saturated Sodium Chloride	1.200
FS 3	Zinc Sulphate 1.200	1.200
FS 4	Sodium Nitrate	1.200
FS 5	Sucrose and Potassium Iodomercurate (Rinaldi)	1.250
FS 6	Magnesium Sulphate	1.280
FS 7	Zinc Sulphate 1.350	1.350
FS 8	Potassium Iodomercurate	1.440
FS 9	Zinc Sulphate and Potassium Iodomercurate (Tampieri - Restani)	1.450

76

## FS 1 - Sheather's Sugar Solution (s.g. - 1.200)

- 1 - Combine 355 ml of water and 454 grams of granulated sugar (sucrose). Corn syrup and dextrose are not suitable substitutes.
- 2 - Dissolve the sugar in the water by stirring on a magnetic stirrer over low or indirect heat (e.g., the top half of a double boiler). If the container is placed on a high direct heat source, the sugar may caramelize instead of dissolving in the water.
- 3 - After the sugar is dissolved and the solution has cooled to room temperature, add 6 ml of formaldehyde (40%) USP to prevent microbial growth.
- 4 - Check the s.g. with a hydrometer.

## FS 2 - Saturated Sodium Chloride (NaCl, s.g. - 1.200)

- 1 - Combine 1000 ml of warm water and about 500 grams of salt until no more salt goes into solution and the excess settles on the bottom of the container.
- 2 - Dissolve the salt in the water by stirring on a magnetic stirrer.
- 3 - To ensure that the solution is fully saturated, it should be allowed to stand overnight at room temperature. If the remaining salt crystals dissolve overnight, more can be added to ensure that the solution is saturated.
- 4 - Check the s.g. with a hydrometer, recognizing that the s.g. of saturated solution will vary slightly with environmental temperature.

FS 3 - Zinc Sulphate ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ , s.g. - 1.200)

- 1 - Combine 500 ml of water and 330 grams of zinc sulphate.
- 2 - Dissolve the zinc sulphate in the water by stirring on a magnetic stirrer.
- 3 - Add water to reach a final volume of 1000 ml.
- 4 - Check the s.g. with a hydrometer.

77

## FLOTATION SOLUTIONS

FS 4 - Sodium Nitrate ( $NaNO_3$ , s.g. - 1.200)

- 1 - Combine 500 ml of water and 315 grams of sodium nitrate.
- 2 - Dissolve the sodium nitrate in the water by stirring on a magnetic stirrer.
- 3 - Add water to reach a final volume of 1000 ml.
- 4 - Check the s.g. with a hydrometer.

## FS 5 - Sucrose and Potassium Iodomercurate (Rinaldi) (s.g. 1.250)

- 1 - Combine 600 ml of water and 600 grams of sucrose.
- 2 - Dissolve the sugar in the water by stirring on a magnetic stirrer over low or indirect heat (e.g., the top half of a double boiler). If the container is placed on a high direct heat source, the sugar may caramelize instead of dissolving in the water.
- 3 - After the sugar is dissolved and the solution has cooled to room temperature, add 20 ml of solution B (see below).
- 4 - Check the s.g. with a hydrometer.

## Solution B

- 1 - Combine 100 grams of mercuric iodide and 63 ml of water.
- 2 - Stir vigorously.
- 3 - Add 78 grams of potassium iodide and stir again.

FS 6 - Magnesium Sulphate ( $MgSO_4$ , s.g. - 1.280)

- 1 - Combine 500 ml of water and 350 grams of magnesium sulphate.
- 2 - Dissolve the magnesium sulphate in the water by stirring on a magnetic stirrer.
- 3 - Add water to reach a final volume of 1000 ml.
- 4 - Check the s.g. with a hydrometer.

78

**FS 7 – Zinc Sulphate (ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, s.g. - 1.350)**

- 1 - Combine 685 ml of water and 685 grams of zinc sulphate.
- 2 - Dissolve the zinc sulphate in the water by stirring on a magnetic stirrer.
- 3 - Check the s.g. with a hydrometer.

**FS 8 – Potassium Iodomercurate (s.g. - 1.440)**

- 1 - Combine 399 ml of water and 150 grams of mercuric iodide.
- 2 - Stir vigorously.
- 3 - Add 111 grams of potassium iodide and stir again.
- 4 - Check the s.g. with a hydrometer.

**FS 9 – Zinc Sulphate and Potassium Iodomercurate (Tampieri - Restani) (s.g. - 1.450)**

- 1 - Combine 600 ml of water and 600 grams of zinc sulphate (ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O).
- 2 - Dissolve the zinc sulphate in the water by stirring on a magnetic stirrer.
- 3 - After the zinc sulphate is dissolved add the solution B (see below).
- 4 - Check the s.g. with a hydrometer.

**Solution B**

- 1 - Combine 100 grams of mercuric iodide and 63 ml of water.
- 2 - Stir vigorously.
- 3 - Add 78 grams of potassium iodide and stir again.

# Annexe 4 : FECPAK (TECHION GROUP, 2014)

## Quick and easy testing with the FECPAK unit

Because it is a complete 'on-the-spot' assessment tool for sheep, goats, cattle and horses, it gives you instant information unique to your farm, and valuable information.

The FECPAK unit gives you two types of data, individual testing and mob average testing.

Individual Testing which consists of taking individual samples and processing them, and gives you:

- Individual sample results
- Range of sample results across the animals tested

Mob Average Testing which consists of a composite sample collection so only one sample is processed.

This gives you:

- Mob average results – a statistical advantage
- Results in 10 minutes
- Ability to monitor a number of different mobs parasite output



## Getting started

Getting started is easy. Just phone 0800 332 725 or email [sales@fecpak.co.nz](mailto:sales@fecpak.co.nz) for no obligation advice on how the FECPAK system can help you make every drench count.

Once you get started, you will soon be making informed decisions by measuring your own results and applying the right course of action.

The FECPAK system gives you foolproof testing with uncompromised results when you need them. So you can get on with the business of farming.

Call now 0800 332 725 or [sales@fecpak.co.nz](mailto:sales@fecpak.co.nz)



World leading technology

Informed decisions

Higher productivity



FECPAK International  
570 Hillside Road  
PO Box 5057  
Dunedin 9058  
New Zealand

Freephone: 0800 332 725  
Phone: +64 3 477 7555  
Fax: +64 3 456 3849  
E-mail: [sales@fecpak.co.nz](mailto:sales@fecpak.co.nz)  
[www.fecpak.com](http://www.fecpak.com)

Are parasites causing production losses on your property?

Is your current parasite management approach sustainable?

FECPAK

Part of your success

## The FECPAK unit?

The FECPAK unit is a complete "on the spot" parasite assessment tool, for sheep, goats, cattle and horses which allows unique and instant information.

## FECPAK unit benefits

- Instant FEC results
- No on-going costs
- Allows regular monitoring
- Simple to use
- Cost savings - financial and labour
- Full product backup
- Client support package (free audit service, tutorial DVD etc)
- Access to the latest technical information via "FECPAK Updates"



## The FECPAK system is all about managing worms on your farm.

Parasites are a constantly changing issue, so regular FEC information assists you to gain an understanding of what factors can trigger a parasite problem.

The FECPAK system gives you quick results so you can make decisions based on sound evidence. The results are unique to your farm so you can take control with information.

By knowing when to drench, and drenching only when it's necessary to do so, you can save yourself time and money.



## Why drench?

There are a number of reasons for drenching – production losses, quarantine drenching or because your pastures are being polluted by high FEC outputs - but the main outcome you'll be looking for is increased productivity which comes from animals not fighting a worm burden.

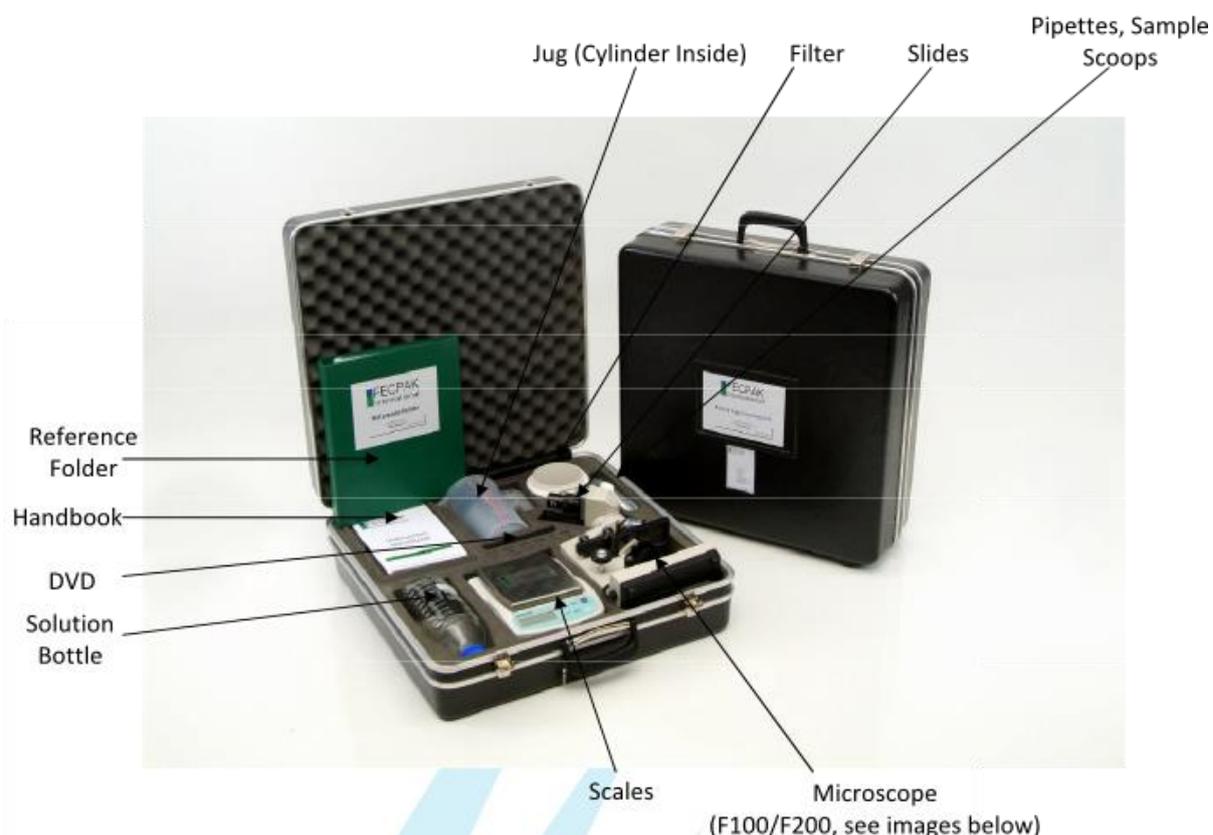
## What is the FECPAK system?

The FECPAK system is the integration of FEC information combined with operational and worm knowledge that means you can drench your animals only when they need it – not when you think they need it.

Worms – "The damage is done when they come over the tongue. By reducing FEC pollution on pasture, animals consume less larvae = higher productivity and less drenching.



**What your unit should contain:**



**Base Unit Contents:**

- Electronic scales 4kg
- Solution bottle
- Filter
- Pipettes
- Jug 1 litre
- Measuring cylinder and label
- Instruction handbook
- Sample scoops
- Counting Slide(s) (FECPAK and/or SPORPAK)
- Training DVD(s) (FECPAK and/or SPORPAK)
- Unit Case
- Reference folder
  - Count sheets
  - Training count sheets
  - Reference Charts (FECPAK and/or SPORPAK)
  - Updates CD

**FECPAK Contents (extra to the base unit contents):**

- FECPAK Slide
- FECPAK Instruction Handbook
- FECPAK Tutorial DVD
- Reference folder Contents
  - FECPAK Reference Charts
  - Updates CD
  - Software – Sheep and/or cattle (if relevant)

**SPORPAK Contents (extra to the base unit contents):**

- SPORPAK Slide
- SPORPAK Instruction Handbook
- SPORPAK Tutorial DVD
- Reference Folder Contents
  - SPORPAK Reference Charts
- 16x Eye Piece (*under filter*)

**Current Microscope Types:**



F100 Microscope



F200 Microscope

## Estimation du poids vif des chevaux

T. Sendel

### Fiche technique

COMMANDE N° 10-086 AGDEX 420/28 NOVEMBRE 2010

(Fiche technique remplaçant la fiche n° 98-094 du MAAARO, qui porte le même titre)

#### IMPORTANTANCE DU POIDS VIF DES CHEVAUX

##### Santé et gestion

Le poids d'un cheval peut être un indicateur important de santé. Le fait de connaître le poids d'un cheval et de pouvoir déceler tout gain ou perte de poids peut aider à déterminer la présence de problèmes de santé. Le poids d'un cheval peut être inférieur ou supérieur à son poids optimal pour diverses raisons.

Un faible poids peut être attribuable :

- à des problèmes de santé (maladie ou déséquilibre hormonal);
- à un âge avancé;
- à des parasites;
- à un inconfort ou à une maladie dentaire;
- à un abus de travail;
- à une alimentation mal équilibrée;
- à une sous-alimentation (parfois causée par la faible position dans l'ordre social du troupeau);
- à l'hérédité.

Un surplus de poids peut être attribuable :

- à des problèmes de santé (maladie ou déséquilibre hormonal);
- à un manque d'exercice;
- à une alimentation mal équilibrée;
- à une suralimentation;
- à l'hérédité.

#### Calcul de la posologie

La posologie des vermifuges ou des antibiotiques est calculée en fonction du poids du cheval. Une estimation incorrecte du poids peut se traduire par l'administration d'une dose excessive ou insuffisante à l'animal.

Le surdosage de remèdes peut être toxique et causer des coliques ou d'autres complications graves, y compris la mort. Une dose insuffisante n'entraînera pas les effets escomptés et peut même, dans le cas des antibiotiques, provoquer une résistance à ces derniers.

#### DÉTERMINER LE POIDS D'UN CHEVAL

##### Balance

La balance est la façon la plus exacte de déterminer le poids d'un cheval. Il faut toujours peser le cheval dans les mêmes conditions, comme deux heures après toute consommation d'aliments et d'eau, afin de réduire les variations trompeuses entre les lectures.

On peut aussi peser les chevaux à des endroits où l'on trouve des balances, comme à des silos éleveurs et à des sites d'enfouissement, bien que cette façon de faire soit rarement pratique. Les autres méthodes décrites ci-après fournissent une estimation du poids vif qui sera suffisamment précise et sûre pour déterminer les quantités d'aliments à administrer, ainsi que la posologie des remèdes ou des vermifuges.

##### Ruban à mesurer le poids

Le ruban à mesurer le poids est un moyen simple et efficace d'évaluer le poids d'un cheval, à une fraction du coût d'une balance et avec un effort minime (Figure 1). On trouve facilement ces rubans dans la plupart des magasins de harnachement et d'aliments pour animaux.

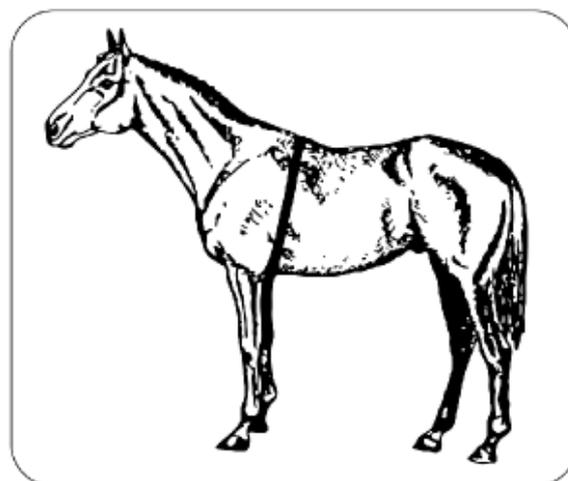


Figure 1. Emploi d'un ruban à mesurer le poids

Enrouler le ruban autour du passage des sangles (périmètre thoracique) du cheval, directement derrière le coude, en faisant chevaucher les extrémités du ruban, puis lire le poids résultant. Faire la lecture alors que le ruban est en place et bien ajusté, et après l'expiration complète du cheval.

L'exactitude de la mesure au ruban dépend de l'utilisateur, de la taille du garrot, ainsi que de la race et de l'âge du cheval. Le ruban est inefficace pour les chevaux miniatures et les poulains.

#### Mesure du passage des sangles

Utiliser le Tableau 1, Estimation du poids d'un cheval sans ruban à mesurer (tiré de *Feeding and Care of the Horse*, 2<sup>e</sup> édition, par Lon Lewis), pour estimer le poids d'un cheval en mesurant son périmètre thoracique sans ruban à mesurer le poids.

#### Mesures du passage des sangles et de la longueur du corps

Le calcul suivant, qui tient compte de la mesure du passage des sangles et de la longueur du cheval, peut fournir une mesure légèrement plus précise que le ruban à mesurer.

Chevaux adultes :

Poids (kg)

$$= \frac{(\text{passage des sangles en cm})^2 \times (\text{longueur en cm})}{11\,900}$$

Poulain âgé de 0 à 60 jours :

Poids (kg)

$$= \frac{\text{passage des sangles en pouces} - 25}{0,07}$$

Tableau 1. Estimation du poids d'un cheval sans ruban à mesurer

Longueur du passage des sangles		Poids	
(pouces)	(cm)	(lb)	(kg)
30,0	76	100	45,5
40,0	102	200	91,0
45,5	116	300	136,5
50,5	128	400	182,0
55,0	140	500	227,0
58,5	148	600	273,0
61,5	156	700	318,0
64,5	164	800	364,0
67,5	171	900	409,0
70,5	178	1 000	455,0
73,0	185	1 100	500,0
75,5	192	1 200	545,0
77,5	197	1 300	591,0

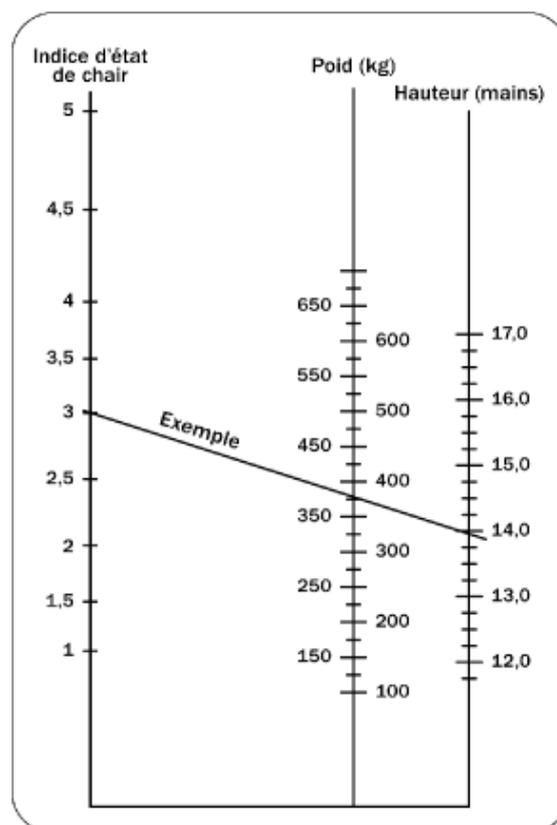


Figure 2. Nomogramme d'estimation du poids vif à partir de l'indice d'état de chair et de la mesure de la hauteur

#### Nomogrammes

Les nomogrammes servent à estimer le poids vif d'un cheval. Les deux nomogrammes illustrés dans la présente ont été conçus par C.L. Carroll et P. J. Huntington.

Le nomogramme de la Figure 2 repose sur l'évaluation de l'indice d'état de chair et de la hauteur au niveau du garrot. Il donne de bons résultats pour tous les chevaux, sauf ceux qui sont entraînés à la course. Plus la hauteur et l'indice d'état de chair sont établis avec exactitude, meilleure sera l'estimation du poids. Avant de mesurer la hauteur du cheval, veiller à ce qu'il se tienne bien d'aplomb sur un sol de niveau, qu'il soit détendu, la tête en position normale.

Tenir compte de l'épaisseur des sangles. Pour calculer le poids, tirer une ligne droite sur le nomogramme entre l'indice d'état de chair et la hauteur connus du cheval, et lire son poids sur l'axe du centre. Dans cet exemple, un cheval de 14 mains ayant un indice d'état de chair de 3 points aurait un poids vif estimé de 375 kg.

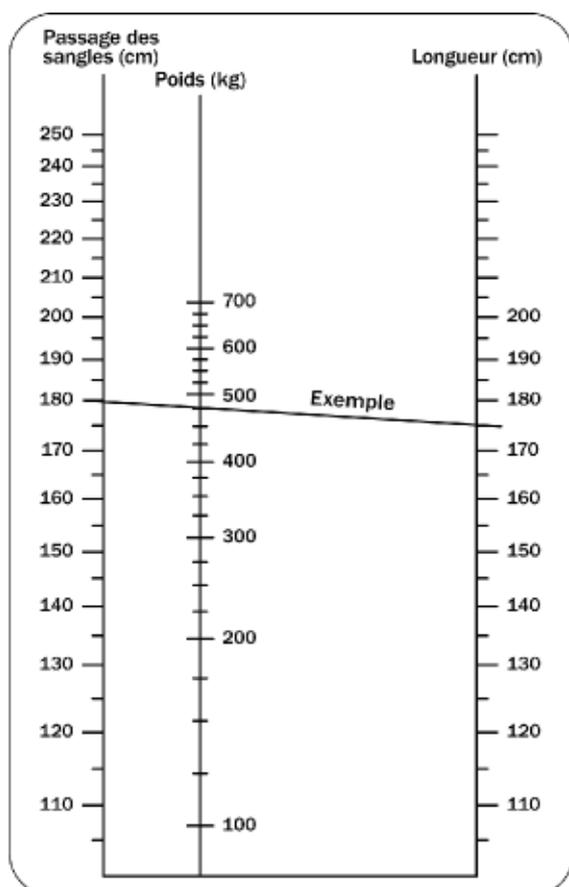


Figure 3. Nomogramme d'estimation du poids vif à partir des mesures du passage des sangles et de la longueur

Le nomogramme de la Figure 3, qui établit un rapport entre la mesure du passage des sangles et la longueur, est un peu plus exact et est la méthode à employer pour les chevaux de course en plein travail. La mesure du passage des sangles est prise immédiatement derrière le coude après l'expiration complète du cheval. La longueur est relevée entre la pointe de l'épaule et la pointe de la fesse (Figure 4). Pour calculer le poids, tirer une ligne droite sur le schéma entre les valeurs connues du passage des sangles et de la longueur. Dans cet exemple, un cheval ayant un passage des sangles de 180 cm et une longueur de 175 cm aurait un poids vif estimé de 475 kg.

Les méthodes décrites dans la présente fiche technique offrent plusieurs options pour mesurer et estimer le poids des chevaux, un aspect fondamental de l'élevage équin et de la gestion de la santé.

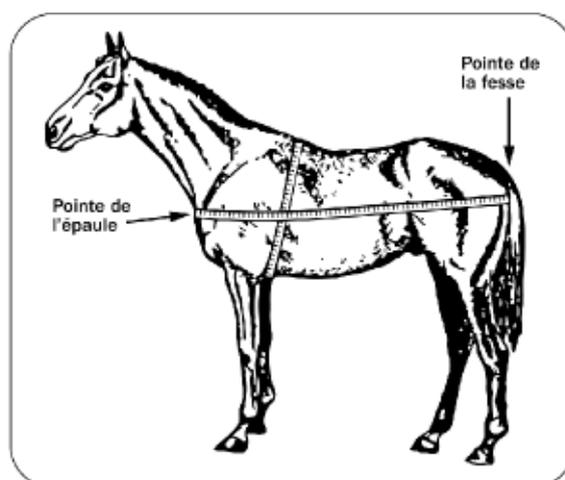


Figure 4. Mesure du passage des sangles et de la longueur (de la pointe de l'épaule à la pointe de la fesse)

#### SOURCES CONSULTÉES

Carroll, C.L., et P.J. Huntington. « Body Condition Scoring and Weight Estimation of Horses », *Equine Veterinary Journal*, 1988, vol. 20 (1), p. 41-45.

Henneke, D.R., G.D. Potter, J.L. Kreider et B.F. Yeates. « Relationship Between Condition Score, Physical Measurement and Body Fat Percentage in Mares », *Equine Veterinary Journal*, 1983, vol. 15, p. 371-372.

La mise à jour de la présente fiche technique a été coordonnée par Tania Sendel, Unité des sciences et des politiques vétérinaires, MAAARO, Guelph. La fiche technique originale a été rédigée par Bob Wright, Ph.D., vétérinaire, Prévention des maladies des chevaux et des animaux non traditionnels, MAAARO.

Centre d'information agricole :  
1 877 424-1300  
Courriel : [ag.info.omafra@ontario.ca](mailto:ag.info.omafra@ontario.ca)  
Bureau régional du Nord de l'Ontario :  
1 800 461-6132

[www.ontario.ca/maaaro](http://www.ontario.ca/maaaro)



POD  
ISSN 1198-7138  
Also available in English  
(Order No. 10-085)

**\* 10-086\***

**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussigné, **DORCHIES Philippe**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **LACAILLE Charlotte** intitulée « *Parascaris equorum : un vieux ver toujours d'actualité.* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 3 juillet 2014  
Professeur Philippe DORCHIES  
Enseignant chercheur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Ph. Dachy*

Vu :  
Le Directeur de l'Ecole Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
Professeur Alain MILON

*Alain Milon*



Vu :  
Le Président du jury :  
Professeur Alexis VALENTIN

*Alexis Valentin*

Vu et autorisation de l'impression :  
Le Président de l'Université  
Paul Sabatier  
Professeur Bertrand MONTHUBERT  
Par délégation, la Vice-Présidente du CEVU  
Madame Régine ANDRÉ OBRECHT



*Régine André Obrecht*

Melle **LACAILLE Charlotte**  
a été admis(e) sur concours en : 2008  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 21 juin 2012  
a validé son année d'approfondissement le : 17/10/2013  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

