




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's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/> 25590

To cite this version:

Desmolin, Anaëlle . *Évaluation de l'efficacité des lactones macrocycliques sur les strongles digestifs des ovins du rayon de Roquefort*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2019, 171 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

Évaluation de l'efficacité des lactones macrocycliques sur les strongles digestifs des ovins du rayon de Roquefort

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

DESMOLIN Anaëlle

Née, le 09/02/1994 à Vélizy-Villacoublay (78)

Directeur de thèse : Mr Philippe JACQUIET

JURY

PRESIDENT :

Mr Alexis VALENTIN

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mr Philippe JACQUIET

Mr Renaud MAILLARD

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directrice : **Madame Isabelle CHMITELIN**

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootechne*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

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

MAÎTRES DE CONFÉRENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*

- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
 M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
 M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
 M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
 M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
 Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
 Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
 M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
 M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
 Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
 Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
 Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
 M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
 M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
 Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
 Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et Industrie des aliments*
 Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
 M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie vétérinaire et comparée*
 Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
 Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
 Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
 M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
 M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
 Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
 Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
 M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
 Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
 Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
 M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire – Maladies animales règlementées*
 Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

- Mme **BORDE DORE Laura**, *Médecine interne des équidés*
 M. **GIANSETTO Thomas**, *Chirurgie*
 M. **JOLIVET Franck**, *Médecine interne*
 Mme **LECRU Line**, *Dermatologie*
 M. **LEYNAUD Vincent**, *Médecine interne*
 Mme **ROBIN Marie-Claire**, *Ophtalmologie*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **BLONDEL Margaux**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
 M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie-Imagerie médicale*
 M. **COMBARROS-GARCIA Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
 M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*
 M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
 M. **LESUEUR Jérémy**, *Gestion de la santé des ruminants – Médecine collective de précision*

Dédicaces et remerciements

A mon jury de thèse

A Monsieur le Professeur Alexis VALENTIN

Professeur des Universités,
Faculté de Pharmacie de Toulouse

Qui me fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.
Qu'il trouve ici l'expression de mes hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Philippe JACQUIET

Professeur à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse,
Parasitologie et Maladies Parasitaires

Qui m'a confié ce travail et m'a guidé dans son élaboration.
Qu'il trouve ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon plus profond respect.

A Monsieur le Professeur Renaud MAILLARD

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Pathologie des Ruminants et Médecine des Populations

Qui m'a fait l'honneur de participer à ce jury de thèse.
Qu'il trouve ici mes sincères remerciements.

Au Docteur Christel BOUCHER

Et

Au Docteur Elisabeth LEPETITCOLIN

Vétérinaires au sein du groupement UNICOR à Onet-le-Château (12)

Qui ont aimablement accepté de s'impliquer dans la réalisation de ce projet commun.
Mes plus sincères remerciements

A l'ensemble des personnes ayant contribué à ce travail

Au Docteur Marie-Lise BEAU

Vétérinaire au sein du groupement UNICOR à Onet-le Château (12)

Pour son aide dans la sélection des éleveurs ayant participé à l'étude et pour m'avoir fourni des informations les concernant.

Sincères remerciements

A Françoise PREVOT

Assistante Ingénieure à l'ENVT, *Parasitologie*

Et à Christelle GRISEZ

Ingénieure à l'ENVT, *Parasitologie*

Et à Marine MILHES

Master II Professionnel Université Toulouse III

Diagnostic microbiologique – Approches innovantes

Pour leur gentillesse, leurs conseils et leur aide précieuse dans la réalisation des coproscopies et des identifications des strongles,

Sincères remerciements

A Léa BORDES

Master II Professionnel Université Toulouse III

Diagnostic microbiologique – Approches innovantes

Pour son aide dans la réalisation des PCR et ses explications indispensables à la rédaction de cette thèse.

Sincères remerciements

A Chloé IMBOURG et Elisa GIRAUD

Deuxième année de BTS au Lycée agricole de Saint-Affrique (12)

Productions animales

Pour leur participation à la réalisation des prélèvements et la réalisation des questionnaires concernant les pratiques d'élevage.

Sincères remerciements.

A Mesdames et Messieurs les éleveurs ayant pris part à l'étude

Merci pour votre contribution à ce travail, votre gentillesse et votre accueil toujours chaleureux.

Profonde gratitude.

Table des matières

Liste des enseignants.....	3
Dédicaces et remerciements	5
Table des tableaux.....	15
Table des illustrations.....	17
Tables des annexes	19
Liste des abréviations.....	20
Introduction.....	21
Partie 1 : Importance des strongyloses gastro-intestinales en élevage ovin dans le bassin de Roquefort.....	23
1. Caractéristiques de l'élevage ovin dans le bassin de Roquefort.....	25
1.1 L'élevage ovin en France.....	25
1.1.1 Importance économique de l'élevage ovin français	25
1.1.2 La filière ovin lait.....	26
1.1.3 La filière ovin viande.....	27
1.2 L'élevage ovin dans le bassin de Roquefort	28
1.2.1 Le Rayon de Roquefort	28
1.2.2 La race Lacaune.....	29
La race Lacaune lait.....	30
La race Lacaune viande	30
2. Les strongles gastro-intestinaux des ovins.....	31
2.1 Classification des strongles gastro-intestinaux	31
2.2 Les trois principales espèces rencontrées chez les ovins en France.....	33
2.2.1 Trichostrongylus colubriformis.....	33
2.2.2 Teladorsagia circumcincta.....	33
2.2.3 Haemonchus contortus	34
2.3 Cycle de développement des strongles gastro-intestinaux.....	35

2.3.1	Déroulement général du cycle de développement.....	35
	La phase libre.....	36
	La phase parasitaire	37
2.3.2	Particularités du cycle pour les différentes espèces étudiées ici	37
2.3.3	Influence des facteurs environnementaux aux différents stades de la phase libre	39
	Eclosion	39
	Développement de la larve L1 à la larve infestante L3	40
	Survie de la larve infestante L3	41
3.	Les strongyloses gastro-intestinales des ovins.....	41
3.1	Modalités d'infestation des ovins par les strongles gastro-intestinaux.....	41
3.1.1	Liées à l'environnement	41
3.1.2	Liées à l'hôte	42
	Une distribution surdispersée des parasites	42
	Influence de la race	42
	Influence de l'âge.....	42
	Influence du stade physiologique	42
	Influence de la génétique de l'individu.....	43
3.2	Physiopathologie des strongyloses gastro-intestinales des ovins.....	43
3.3	Conséquences des strongyloses gastro-intestinales en élevage ovin	44
3.3.1	Manifestations cliniques.....	44
3.3.2	Conséquences économiques	44
4.	Diagnostic des strongyloses gastro-intestinales des ovins.....	45
4.1	Méthodes de diagnostic clinique.....	45
4.1.1	Indice d'état corporel : NEC.....	45
4.1.2	Indice de pâleur des muqueuses : méthode FAMACHA	46
4.1.3	Indice de salissure de l'arrière-train : « dag-score ».....	47
4.2	Méthodes de diagnostic de laboratoire.....	48

4.2.1 Analyses coprologiques.....	48
Réalisation et conservation des prélèvements	48
Méthodes de coproscopie quantitative.....	49
Cas particulier des coproscopies de mélange	50
Identification des œufs de strongles.....	51
Interprétation des résultats	52
4.2.2 Identification morphologique des larves L3.....	53
Réalisation des coprocultures	53
Identification morphologique des larves L3	53
Interprétation des résultats	54
4.2.3 Identification par PCR des larves L3.....	55
4.3 Diagnostic nécropsique	55
Partie 2 : Lutte contre les strongles gastro-intestinaux des ovins	57
1 La lutte chimique	59
1.1 Les différentes familles de molécules disponibles.....	59
1.1.1 Benzimidazoles et probenzimidazoles	59
1.1.2 Imidazo-thiazoles	60
1.1.3 Salicylanilides	61
1.1.4 Lactones macrocycliques.....	62
1.1.5 Dérivés amino acétonitriles	64
1.2 Les méthodes d'utilisation les plus courantes.....	65
1.3 Les limites de la lutte chimique	66
2. Résistance aux anthelminthiques	67
2.1 Etat des lieux des résistances aux anthelminthiques	67
2.1.1 Dans le monde	67
2.1.2 En Europe	68
2.1.3 En France.....	69
2.2 Les principaux mécanismes de résistance des strongles gastro-intestinaux ..	70

2.2.2 Mécanismes de résistance aux benzimidazoles.....	70
2.2.3 Mécanismes de résistance aux imidazo-thiazoles	71
2.2.4 Mécanismes de résistance aux lactones macrocycliques.....	71
2.2.5 Mécanismes de résistance au monépantel	73
2.3 Mise en évidence de l'existence de strongles résistants dans un élevage ovin	73
2.3.1 Evaluation de l'efficacité d'un traitement : le FECRT.....	74
2.3.2 Réalisation de coprocultures afin d'identifier les espèces résistantes	75
2.3.3 Protocole clinique complet de mise en évidence de parasites résistants .	76
Réalisation d'un dosage plasmatique de la molécule anthelminthique utilisée	76
Protocole de confirmation d'une résistance aux anthelminthiques	76
2.3.4 Mise en évidence moléculaire de la présence de strongles résistants	77
2.4 Bonnes pratiques limitant l'apparition de résistances en élevage.....	78
Partie 3 : Etude de l'efficacité de l'Eprinex Pour On dans 12 élevages ovins laitiers de race Lacaune du bassin de Roquefort	81
Sous-partie A : Etude préliminaire réalisée sur 12 élevages au cours de l'été 2017	83
1. Motivations de l'étude.....	83
2. Matériels et Méthodes	83
2.1. Sélection des exploitations participant à l'étude	83
2.2 Constitution des lots au sein d'un élevage	85
2.3 Protocole réalisé en élevages.....	86
2.3.1 Prélèvement des matières fécales	86
2.3.2 Traitements des animaux du lot Eprinex	86
2.4 Analyses de laboratoire	87
2.4.1 Réalisation des coproscopies de mélange et calcul du FECR	87
2.4.2 Réalisation des coprocultures et identification des différentes espèces de strongles	88
Réalisation des coprocultures	88

Extraction de l'ADN des larves L3	88
Préparation de la gamme étalon nécessaire à la réalisation de la PCR quantitative	88
Réalisation de la PCR quantitative	89
Vérification de la validité des résultats	92
Calcul du nombre de larves pour chacune des espèces	94
3. Résultats	95
3.1. Efficacité du traitement à l'Eprinex multi®	95
3.2 Evolution des résultats de FECRT en fonction des pratiques de traitements mises en place dans l'exploitation.....	96
3.2.1 Variation du FECR en fonction du nombre de traitements réalisés	96
3.2.2 Variation du FECR en fonction de la proportion d'utilisation d'ivermectines au cours des traitements réalisés	97
3.3. Helminthofaune présente dans les différentes exploitations étudiées à J0 et à J14.....	99
3.3.1 Helminthofaune présente à J0.....	99
3.3.2 Helminthofaune présente à J14.....	101
3.3.3 Evolution de l'helminthofaune entre J0 et J14	103
4. Discussion	104
4.1 Interprétation des tests de réduction d'excrétion fécale (FECRT)	104
4.2 Recherche de l'existence d'une corrélation entre les pratiques de traitement mises en place dans l'exploitation et les résultats du FECRT.....	105
4.3 Impact du traitement à l'Eprinex multi® sur l'helminthofaune.....	106
Sous-partie B : Confirmation des résultats dans 4 élevages au cours de l'automne 2017	109
1. Motivations de l'étude.....	109
2. Matériels et méthodes	109
2.1 Choix des élevages participant à l'étude et constitution des lots	109
2.2 Protocole réalisé en élevage	110

2.3 Méthodes d'analyse des prélèvements	110
2.3.1 Réalisation des coproscopies individuelles et calcul du FECR.....	110
2.3.2 Réalisation des coprocultures et identification des différentes espèces de strongles	111
3. Résultats	111
3.1 Test de réduction d'excrétion	111
3.2 Helminthofaune	112
4. Discussion	114
4.1 Evaluation de l'efficacité du traitement à l'aide d'Eprinex multi®	114
4.2 Impact du traitement anthelminthique sur l'helminthofaune des exploitations	114
Conclusion	116
Partie 4 : Etude de l'efficacité de l'Oramec® (ivermectine par voie orale) et de la Cydectine® orale (moxidectine) dans 9 élevages ovins allaitants de race Lacaune du bassin de Roquefort	117
1. Motivations de l'étude	119
2. Matériel et méthode	119
2.1 Choix des élevages participant à l'étude.....	119
2.2 Constitution des lots au sein d'un élevage	123
2.3 Protocole réalisé en élevage	123
2.3.1 Prélèvement des matières fécales	123
2.3.2 Traitements des animaux des lots O et C.....	124
2.4 Méthodes d'analyse des prélèvements	124
2.4.1 Réalisation des coproscopies et calcul du FECR	124
2.4.2 Réalisation des coprocultures et identification des différentes espèces de strongles	125
Réalisation des coprocultures et extraction de l'ADN des larves L3	125
Préparation de la gamme étalon nécessaire à la réalisation de la PCR quantitative	125

Réalisation de la PCR quantitative et vérification de la validité des résultats	127
3. Résultats	128
3.1 FECRT	128
3.1.1 Réalisation du FECRT dans les 9 exploitations ayant participé à l'étude	128
3.1.2 Confirmation du FECRT réalisé dans l'exploitation E à l'aide de coproscopies individuelles	129
3.1.3 Confirmation du FECRT réalisé dans l'exploitation A à l'aide de coproscopies individuelles	130
3.2 Evolution de l'helminthofaune entre le J0 et le J14	131
3.2.1 Helminthofaune présente à J0	131
3.2.2 Helminthofaune présente à J14	133
3.2.3 Impact des traitements réalisés sur les helminthofaunes des lots traités	135
4. Discussion	135
4.1 Evaluation de l'efficacité des traitements réalisés	135
4.2 Identification des espèces résistantes aux traitements	138
4.2.1 Apports de la PCR dans l'évaluation de l'efficacité des traitements	138
4.2.2 Modifications de l'helminthofaune entre J0 et J14 dans les lots témoins	139
4.3 Origine des résistances observées	141
4.4 Conséquences pour les exploitations C et E	143
5. Conclusion	144
Conclusion générale	145
Bibliographie	149
Annexes	157

Table des tableaux

Tableau 1 : quelques caractéristiques des principales espèces de strongles gastro-intestinaux des ovins en France.....	32
Tableau 2 : particularités du cycle de développement des espèces <i>H. contortus</i> , <i>T. circumcincta</i> et <i>T. colubriformis</i>	38
Tableau 3 : correspondance entre la note FAMACHA et l'hématocrite (Schoenian, 2005).....	46
Tableau 4 : éléments morphologiques permettant de distinguer les œufs des trois principales espèces de strongles gastro-intestinaux des ovins, d'après Thienpont <i>et al.</i> , 2003	52
Tableau 5 : caractéristiques morphologiques des larves L3 de <i>H. contortus</i> , <i>T. colubriformis</i> et <i>T. circumcincta</i> . D'après les informations de (Kerboeuf <i>et al.</i> , 1997), (van Wyk <i>et al.</i> , 2004) et (van Wyk and Mayhew, 2013)	54
Tableau 6 : posologie et restrictions d'utilisation des différentes molécules appartenant à la famille des benzimidazoles utilisables chez les ovins (d'après Jacquet <i>et al.</i> , 2014b et les recommandations des fabricants).....	60
Tableau 7 : posologie et restrictions d'utilisation des différentes molécules appartenant à la famille des imidazo-thiazoles utilisables chez les ovins (d'après Jacquet <i>et al.</i> , 2014b et les recommandations des fabricants).....	61
Tableau 8 : posologie et restrictions d'utilisation des différentes molécules appartenant à la famille des salicylanilides utilisables chez les ovins (d'après Jacquet <i>et al.</i> , 2014b et les recommandations des fabricants).....	62
Tableau 9 : posologie et restrictions d'utilisation des différentes molécules appartenant à la famille des lactones macrocycliques utilisables chez les ovins (d'après Jacquet <i>et al.</i> , 2014b et les recommandations des fabricants).....	63
Tableau 10 : posologie et restrictions d'utilisation des différentes molécules appartenant à la famille des sérivés amino acétonitriles utilisables chez les ovins (d'après les recommandations des fabricants).....	64
Tableau 11 : fréquence des résistances des strongles gastro-intestinaux dans les élevages ovins en France selon la région et le type d'anthelminthique (Jacquet <i>et al.</i> , 2014b)	69
Tableau 12 : nombre de brebis présentes dans les 12 exploitations sélectionnées pour cette étude, et traitements anthelminthiques utilisés sur les 5 dernières années.	85

Tableau 13 : séquence des amorces utilisées pour chacune des espèces recherchées lors de la qPCR (Milhes et al., 2017). La base Y signifie que l'on peut retrouver à cette position une base C ou une base T aléatoirement.	89
Tableau 14 : durées et températures appliquées pour les différentes étapes de la qPCR	92
Tableau 15 : résultats des coproscopies de mélange et valeur de FECRT calculée pour chacun des élevages	95
Tableau 16 : moyenne des FEC des lots Témoin et Eprinex dans chacune des exploitations et résultats du FECRT suite au traitement à l'Eprinex multi®.....	111
Tableau 17 : caractéristiques des différentes exploitations ayant participé à l'étude réalisée au cours de l'été 2018. Les cases marquées d'un symbole « * » correspondent aux éléments pour lesquels les données n'ont pas pu être fournies par l'éleveur.....	122
Tableau 18 : quantité de plasmides (en Unité Génome : UG) nécessaire afin d'obtenir pour chacune des trois espèces six échantillons contenant l'équivalent de 500, 250, 125, 62.5, 31 et 7.5 larves L3	127
Tableau 19 : résultats des coproscopies et valeurs de FECR calculées pour l'Oramec® et la Cydectine® dans chacune des exploitations	128
Tableau 20 : résultats des coproscopies individuelles réalisées dans l'exploitation E suite à une valeur de FECRT inférieure à 95% lors de l'utilisation de l'Oramec®.....	129
Tableau 21 : résultats des coproscopies individuelles réalisées dans l'exploitation A suite à une valeur de FECRT inférieure à 95% lors de l'utilisation de la Cydectine®.....	130

Table des illustrations

Illustration 1 : cheptels régionaux de brebis et agnelles saillies en novembre 2016 et évolution par rapport à 2015 (en pourcentage). Source : Idele , Corinne Maignet.....	26
Illustration 2 : Répartition des exploitations ovines comptant plus de 25 brebis laitières en France (Source : Idele)	27
Illustration 3 : implantation géographique du rayon de Roquefort (RA 2000 AGRESTE).....	28
Illustration 4 : Bélier Lacaune (France Génétique Elevage, Crédit Photo : OS Lacaune). On reconnaît la race principalement grâce à sa tête busquée recouverte de poils blancs et fins, l'absence de corne y compris chez les béliers, et la laine qui ne recouvre que les parties supérieures du corps.	29
Illustration 5 : coloration en rouge et blanche d'une femelle <i>Haemonchus contortus</i>	34
Illustration 6 : cycle de développement des strongles gastro-intestinaux (d'après cours de parasitologie, ENVT)	35
Illustration 7 : températures de survie et de développement des trois principales espèces de strongles gastro-intestinaux des ovins. (O'Connor et al., 2006) La boîte colorée correspond aux températures optimales de développement alors que les extrémités des bâtons représentent les températures limites pour lesquelles le développement est possible	40
Illustration 8 : Echelle de notation du niveau de salissure de l'arrière-train (Dag-score). Souce : (Pickering et al., 2013)	47
Illustration 9 : lame de MacMaster composée de deux chambres de 500 µL (a) contenant chacune un réseau de 150 µL (c). Source : France Génétique Elevage.....	50
Illustration 10 : œuf de strongle digestif d'un ovin observé au microscope optique. Source : service de parasitologie de l'ENVT	51
Illustration 11 : œuf de strongle au stade embryonné (photo personnelle)	51
Illustration 12 : schéma représentant une larve L3 de strongle digestif (van Wyk et al., 2004). Les éléments d'intérêt pour la réalisation de la diagnose sont la longueur totale de la larve (a), l'aspect de la terminaison de la queue de la larve (b), la longueur de la queue de gaine (c) et la longueur du filament terminal (d)	53
Illustration 13 : nombre moyen d'œufs pondus par femelle et par jour chez les trois espèces de strongles gastro-intestinaux des ovins (cours de parasitologie, ENVT)	54
Illustration 14 : localisation des différentes exploitations ayant participé à l'étude menée au cours de l'été 2017	84

Illustration 15 : plan de remplissage de la plaque de PCR.....	90
Illustration 16 : exemple de plan de plaque utilisé pour la réalisation de la qPCR sur les échantillons des exploitations A et B.....	91
Illustration 17 : courbe standard obtenue le 09/10/18 pour <i>Trichostrongylus spp.</i>	93
Illustration 18 : exemple de tableau de résultats obtenu pour les exploitations A et B.	94
Illustration 19 : distribution des valeurs de FECR en fonction du nombre moyen de traitements éprinomectine par brebis sur les 5 dernières années	96
Illustration 20 : distribution des valeurs de FECR en fonction du nombre moyen de de traitements réalisés par brebis à l'aide d'ivermectines sur les 5 dernières années	97
Illustration 21 : distribution des valeurs de FECR en fonction de la proportion d'utilisation d'éprinomectine parmi les traitements anthelminthiques réalisés les 5 dernières années.....	97
Illustration 22 : distribution des valeurs de FECR en fonction de la proportion d'utilisation d'ivermectines parmi les traitements anthelminthiques réalisés les 5 dernières années.....	98
Illustration 23 : helminthofaune dans les différentes exploitations à J0.	100
Illustration 24 : helminthofaune dans les différentes exploitations lors du contrôle réalisé 14 jours après le traitement.	102
Illustration 25 : helminthofaune dans les différentes exploitations à J0 lors de la confirmation réalisée pendant l'automne 2017.	112
Illustration 26 : helminthofaune dans les différentes exploitations à J14 lors de la confirmation réalisée pendant l'automne 2017.	113
Illustration 27 : localisation des 9 élevages participant à l'étude menée au cours de l'été 2018.....	121
Illustration 28 : séquence d'insertion présente sur le plasmide pUC57 commandé à Eurogentec.....	126
Illustration 29 : helminthofaune dans les différentes exploitations à J0 lors de l'étude menée pendant l'été 2018.....	132
Illustration 30 : helminthofaune dans les différentes exploitations à J14 lors de l'étude menée pendant l'été 2018.....	133

Tables des annexes

Annexe 1 : grille de notation permettant d'attribuer les NEC des ovins.....	157
Annexe 2 : colorations des muqueuses oculaires correspondant à l'attribution des notes de 1 à 5 dans la méthode FAMACHA (d'après Fondraz, 2012).....	158
Annexe 3 : Méthode de réalisation des coproscopies de mélange	159
Annexe 4 : méthode de réalisation des coprocultures	160
Annexe 5 : méthode de réalisation des coproscopies individuelles	161
Annexe 6 : Protocole d'extraction d'ADN avec le « PowerSoil® DNA Isolation Kit »	162
Annexe 7 : proportion des différentes espèces identifiées par PCR dans les différents lots de chaque exploitation étudiées lors de l'été 2017	163
Annexe 8 : méthode de calcul des intervalles de confiance à 95% des FECRT	165
Annexe 9 : résultats des coproscopies individuelles réalisées dans l'exploitation A au cours de l'automne 2017.	166
Annexe 10 : résultats des coproscopies individuelles réalisées dans l'exploitation B au cours de l'automne 2017.	166
Annexe 11 : résultats des coproscopies individuelles réalisées dans l'exploitation C au cours de l'automne 2017.	167
Annexe 12 : résultats des coproscopies individuelles réalisées dans l'exploitation D au cours de l'automne 2017.	167
Annexe 13 : proportion des différentes espèces identifiées par PCR dans les différents lots de chaque exploitation étudiées lors de l'automne 2017.....	168
Annexe 14 : proportion des différentes espèces identifiées par PCR dans les différents lots de chaque exploitation étudiées lors de l'été 2018.....	169
Annexe 15 : conditions de stockage des matières fécales depuis le prélèvement jusqu'aux différentes analyses réalisées.....	170
Annexe 16 : traitements anthelminthiques commandés entre 2013 et 2018 dans l'exploitation C.....	171
Annexe 17 : traitements anthelminthiques commandés entre 2013 et 2018 dans l'exploitation E.....	171

Liste des abréviations

AMM	autorisation de mise sur le marché
BV	bovin
CP	caprin
CV	équin
FEC	fecal egg count
FECR	fecal egg count reduction
FECRT	fecal egg count reduction test
IM	voie intra-musculaire
IV	voie intra-veineuse
OPG	œufs par gramme de matière fécale
OV	ovin
PC	porcin
PO	pour-on
VO	voie orale

Introduction

Le bassin de Roquefort constitue le cœur de la race Lacaune, très connue pour la production de lait nécessaire à la fabrication fromagère. L'élevage ovin représente une part non négligeable dans l'économie de ce secteur géographique et sa conduite dans les meilleures conditions possibles permettent de garantir une bonne production et par conséquent un apport financier important pour les éleveurs.

Parmi les problématiques devant être considérées dans la conduite d'un élevage ovin, la gestion des strongles gastro-intestinaux paraît incontournable. En effet ils sont à la fois responsables de pertes de production, que ce soit au niveau de la production laitière ou de la croissance des agneaux, mais également d'une atteinte au bien-être animal auquel on attache aujourd'hui de plus en plus d'importance.

Afin de lutter efficacement contre les strongyloses gastro-intestinales, des familles de molécules anthelminthiques ont été développées et sont utilisées de façon régulière par les éleveurs. On retrouve parmi celles-ci la famille des lactones macrocycliques, très employées en raison de leur facilité d'utilisation au travers de plusieurs formulations pharmaceutiques, leur sécurité d'emploi et leur bonne efficacité lors de la mise sur le marché.

Toutefois leur utilisation répétée n'est pas sans conséquence sur leur efficacité. Aujourd'hui la résistance des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques, dont les lactones macrocycliques, prend de plus en plus d'ampleur et conduit dans certaines régions du monde à l'abandon de l'élevage ovin pour cause d'impossibilité de lutte contre ces parasites. Dans le bassin de Roquefort ces phénomènes de résistance sont bien connus en ce qui concerne la famille des benzimidazoles, mais les études menées précédemment n'avaient pas pu mettre en évidence de défaut d'efficacité des lactones macrocycliques.

Après une présentation de l'élevage ovin dans le bassin de Roquefort, la problématique des strongyloses gastro-intestinales ainsi que les méthodes de luttés et leurs limites, deux études originales seront présentées. La première concerne l'évaluation de l'efficacité de l'éprinomectine dans les troupeaux ovins laitiers, et la deuxième l'évaluation de l'efficacité de la moxidectine et de l'ivermectine dans les troupeaux ovins allaitants.

Partie 1 :
Importance des strongyloses gastro-intestinales
en élevage ovin dans le bassin de Roquefort

1. Caractéristiques de l'élevage ovin dans le bassin de Roquefort

1.1 L'élevage ovin en France

1.1.1 Importance économique de l'élevage ovin français

A l'échelle mondiale, la production de viande ovine est dominée par l'Asie (48% de la production mondiale de viande ovine en 2014). L'Europe, quant à elle, a produit 14% de la production mondiale en 2014 (FranceAgriMer, 2015).

Depuis 1980, le secteur ovin a diminué de 25 millions de têtes dans l'Union Européenne. Ces dernières années, la population ovine s'est stabilisée autour de 86,5 millions d'animaux, avec le Royaume-Uni, l'Espagne, la France, la Roumanie et l'Irlande comme principaux producteurs. L'autosuffisance ovine en Europe est actuellement d'environ 87%, et les principales importations proviennent de Nouvelle-Zélande (FranceAgriMer, 2016).

En 2016, la France a produit 10% de l'offre ovine de l'Union Européenne, derrière le Royaume-Uni (35%) et l'Espagne (14%) (Corinne Maigret, 2018). La production ovine en France est bien inférieure à la production de viande issue des autres filières (bovine, aviaire, porcine), et ne permet la production que d'environ 45% de la viande ovine consommée au niveau national.

Depuis 1990 on constate une baisse du nombre d'élevages ovins sur le territoire français, en effet le nombre total d'exploitations ayant des ovins est passé de 95.700 en 2000 à 41.769 en 2016. Entre 1996 et 2016 le nombre total d'ovins est passé de 10 millions à 7 millions de têtes, ce qui représente une baisse considérable. (Corinne Maigret, 2018). Aujourd'hui on continue à observer un très net déclin de la production ovine dans certaines régions telles que la Normandie, alors que les bassins regroupant la majorité du cheptel ovin français (le grand sud-ouest) semble connaître une stabilisation voire une augmentation du nombre d'ovins présents sur leur territoire (Illustration 1).

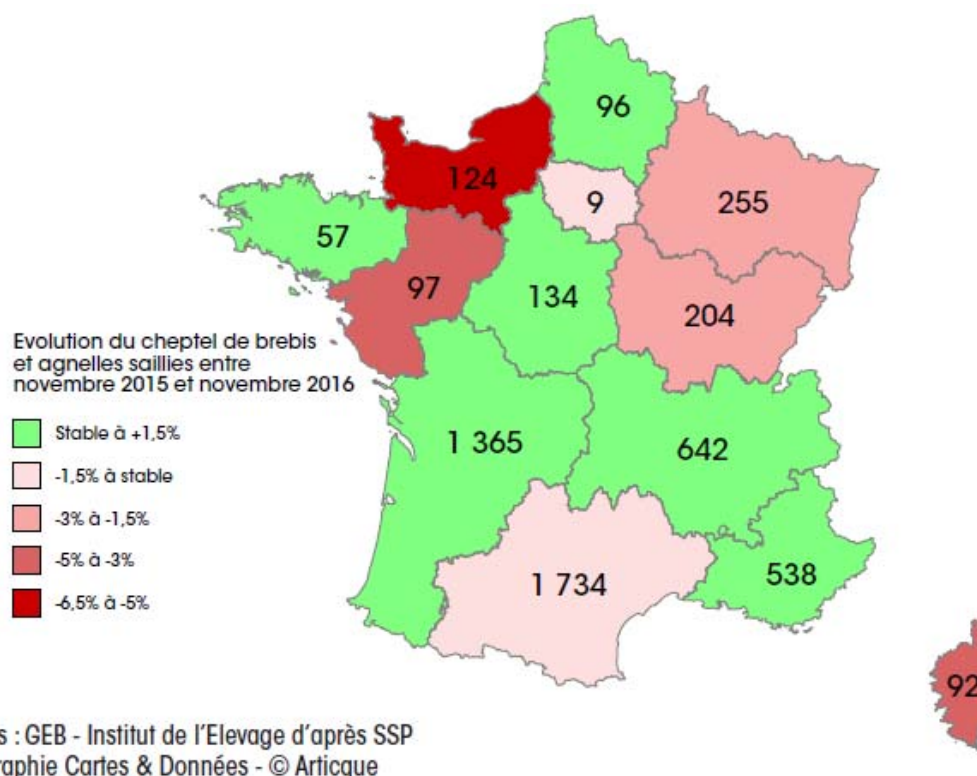


Illustration 1 : cheptels régionaux de brebis et agnelles saillies en novembre 2016 et évolution par rapport à 2015 (en pourcentage). Source : Idele , Corinne Maigret.

Afin de maintenir l'implantation de l'élevage ovin en France, le programme intitulé « reconquête ovine » a été mis en place en 2009. Aujourd'hui ce programme permet de mettre en avant deux grands enjeux : augmenter la production d'agneaux (+10% d'agneaux en 2020) et de lait afin de satisfaire la demande et créer de l'emploi sur le territoire, et améliorer le revenu et les conditions de travail des éleveurs afin d'augmenter l'attractivité de ce métier.

1.1.2 La filière ovin lait

Le cheptel ovin laitier compte 1.58 millions de brebis et agnelles saillies en 2016, sans évolution entre 2013 et 2016. La France est le 5^{ème} producteur européen de lait de brebis derrière la Grèce, l'Espagne, l'Italie et la Roumanie et la production est principalement répartie sur trois grands bassins : le Rayon de Roquefort, les Pyrénées-Atlantiques et la Corse, comme représenté au niveau de l'Illustration 2 ci-dessous. Dans tous ces bassins la très grande majorité du lait collecté est transformé en fromage (Interbev, 2017).

Localisation des exploitations ovines laitières

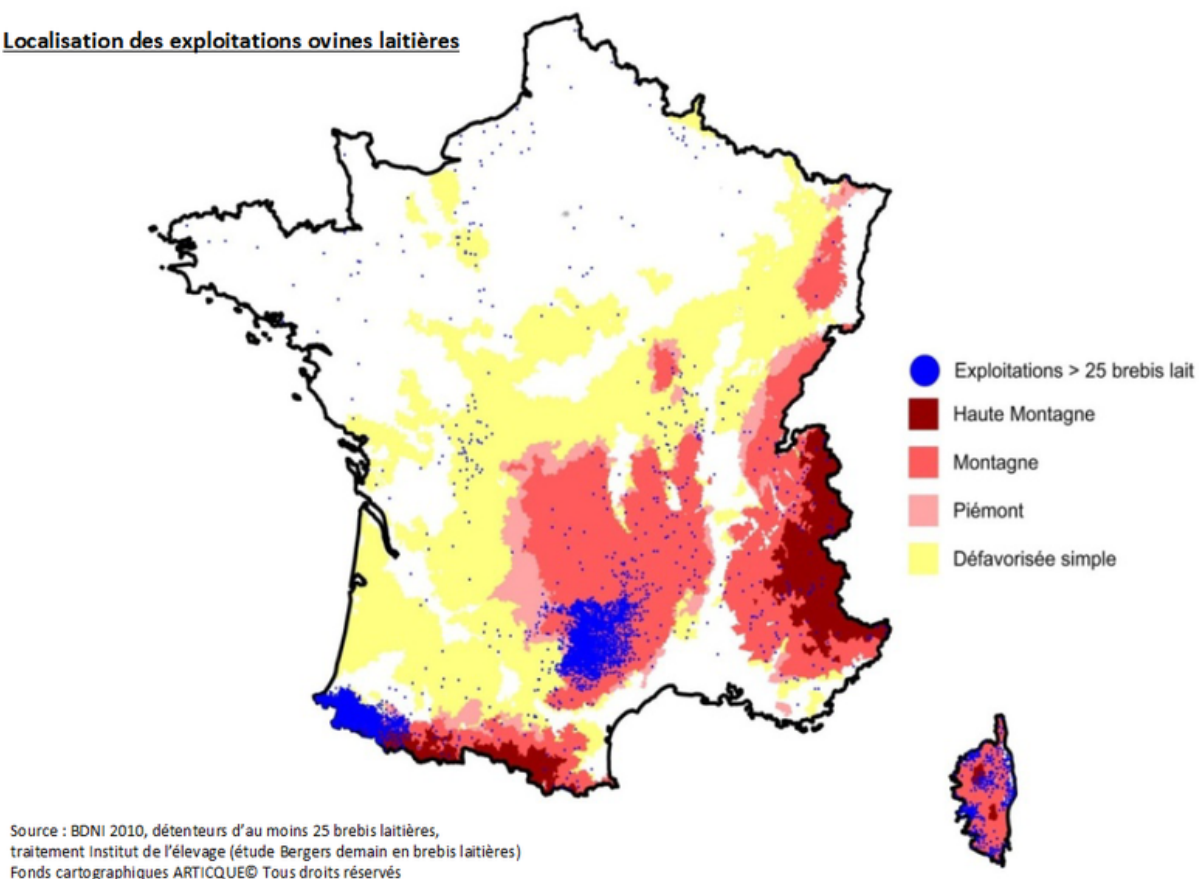


Illustration 2 : Répartition des exploitations ovines comptant plus de 25 brebis laitières en France (Source : Idele)

1.1.3 La filière ovin viande

Le cheptel ovin allaitant compte 3.78 millions de brebis et agnelles saillies en 2016, ce qui représente plus du double du cheptel laitier. En revanche la filière allaitante souffre davantage d'une diminution de l'effectif puisque le nombre de têtes a diminué de 8% entre 2013 et 2016, et le nombre d'exploitation a diminué de 28%.

La France se maintient malgré tout au troisième rang des producteurs de viande ovine en Europe derrière le Royaume-Uni et l'Espagne, les régions les plus productrices étant la Nouvelle-Aquitaine, l'Occitanie, la région Auvergne-Rhône-Alpes et la région PACA (Interbev, 2017).

production du lait de brebis dans le rayon de roquefort représente 63% de la production nationale.

Le fromage Roquefort est en partie vendu en France, mais il est également en partie exporté. En 2016 la production totale était de 16631 tonnes, dont 4183 tonnes ont été exportées principalement en Espagne, Allemagne, Belgique, Royaume-Unis ainsi qu'aux Etats-Unis (Interbev, 2017).

1.2.2 La race Lacaune

Historiquement la race Lacaune vient du regroupement de plusieurs races locales laitières qui vivaient dans le Tarn et l'Aveyron, et qui ont disparu aujourd'hui : la Ségala, la Lauragaise, la Causse et la Larzac. La Lacaune a été reconnue en tant que race pour la première fois en 1905 (Babo Daniel, 2000).

Depuis 1970 deux types de sélection sont effectués, ce qui a permis de faire la distinction entre la race Lacaune lait spécialisée dans la production laitière, et la race Lacaune viande spécialisée dans la production d'agneaux de boucherie. Le standard reste identique pour ces deux races, reconnaissables grâce à une longue tête busquée recouverte de poils blancs et fins, l'absence de cornes, et la laine qui ne recouvre que les parties supérieures du corps (cf Illustration 4)



Illustration 4 : Bélier Lacaune (France Génétique Elevage, Crédit Photo : OS Lacaune).
On reconnaît la race principalement grâce à sa tête busquée recouverte de poils blancs et fins, l'absence de corne y compris chez les béliers, et la laine qui ne recouvre que les parties supérieures du corps.

Le principal bassin de la race Lacaune reste celui du Rayon de Roquefort puisqu'il contient 90% de la population nationale, mais on compte aujourd'hui plus d'un million de brebis Lacaune (dont 800.000 Lacaune lait) réparties dans toute la France. De par leur qualité de production, elles sont également présentes dans 12 pays de l'Union Européenne (France Génétique Elevage, 2015).

La race Lacaune lait

La race Lacaune lait est encore principalement présente dans son bassin d'origine, le rayon de Roquefort. Sa production sert traditionnellement à la fabrication du fromage Roquefort, et le rythme de production est ainsi très lié à celui de la fabrication du fromage.

La période de lutte a lieu en juin-juillet pour les adultes, et elle est un peu plus tardive pour les agnelles qui sont mises à la reproduction à partir de 8 mois. Ainsi l'agnelage des brebis est centré en novembre- décembre et celui des agnelles en décembre-janvier afin d'avoir une production laitière maximale pendant les périodes d'ouverture des laiteries de Roquefort.

Les troupeaux sont menés en bâtiments pendant la période hivernale, et sont présents au pâturage en général de mars à septembre, voire octobre selon les conditions climatiques.

La sélection génétique de la race était historiquement tournée vers la quantité de lait produite par brebis, puis sur sa richesse et sur la résistance à la tremblante. Actuellement ces points sont satisfaisants, et ce sont les résistances aux mammites ainsi que la conformation de la mamelle qui sont privilégiées par les deux entreprises de sélection de la race : Confédération de Roquefort et Ovi-test (France Génétique Elevage, 2015).

La race Lacaune viande

La race Lacaune viande est utilisée pour son fort potentiel de croissance et de production de carcasses sans excès de gras. Les agneaux sont produits soit en race pure soit en croisement avec des races bouchères pour améliorer la conformation.

Le schéma d'élevage le plus fréquemment adopté est celui des trois agnelages en deux ans, en recherchant à produire des agneaux au moment où les prix seront les plus hauts. Les

troupeaux sont généralement rentrés en bergerie entre septembre et novembre selon les conditions climatiques, et sortis en pâturage en février ou mars.

Deux programmes de sélection génétique distincts existent pour la race Lacaune viande.

Le programme de sélection GEBRO favorise les brebis maternelles, rustiques et à bonne production bouchère. Les aptitudes bouchères sont prioritaires avec de bonnes vitesses de croissance, une bonne conformation et une optimisation du rendement des carcasses. Depuis 2003 il y a également sélection d'un gène culard afin d'optimiser les conformations.

Le programme de sélection OVI-TEST cherche à conserver la rusticité, le dessaisonnement et les qualités laitières d'origine, en renforçant les qualités bouchères. Tous les reproducteurs mâles utilisés sont également résistants à la tremblante, et des analyses sont effectuées afin de rechercher la présence d'un gène responsable de la taille des portées qui a pu être mis en évidence dans cette souche Ovi-test (France Génétique Elevage, 2015)

2. Les strongles gastro-intestinaux des ovins

2.1 Classification des strongles gastro-intestinaux

Les strongles gastro-intestinaux sont des vers ronds parasites du tube digestif des ruminants. Ils sont présents dans tous les troupeaux et sont source de pertes économiques pour l'éleveur, leur contrôle est donc aujourd'hui une préoccupation dans tous les élevages.

Ces parasites sont des vers ronds appartenant à la classe des nématodes et à l'ordre des Strongylida. On trouve au sein de cet ordre deux superfamilles d'intérêt vétérinaire (G.M. Urquhart et al., 1996) :

- ◇ Les vers de la superfamille des Trichostrongiloidea sont des petits vers parasites du tractus digestif, qui se reconnaissent grâce à leur capsule buccale absente ou rudimentaire. Ils peuvent provoquer des atteintes graves de l'état de santé des ovins, qui peuvent aller jusqu'à la mort en cas d'infestation importante. Les genres les plus fréquemment rencontrés sont *Ostertagia*, *Teladorsagia*, *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Cooperia* ou *Nematodirus*.

- ◇ Ceux appartenant à la superfamille des Strongyloidea sont parasites des tractus digestif ou respiratoire. Ils sont caractérisés par une capsule buccale de taille importante qui contient souvent des dents. Ils sont généralement peu pathogènes chez les ovins, et les genres les plus fréquents sont *Strongylus*, *Chabertia* et *Oesophagostomum*.

Les particularités des principaux strongles gastro-intestinaux rencontrés chez les ovins sont regroupées dans le tableau suivant (Tableau 1).

Tableau 1 : quelques caractéristiques des principales espèces de strongles gastro-intestinaux des ovins en France

Super-famille	Espèce	Localisation	Hôtes	Importance en France
Trichostrongyloidea	<i>Haemonchus contortus</i>	caillette	OV, CP	++++
	<i>Teladorsagia circumcincta</i>		OV, CP	+++
	<i>Trichostrongylus axei</i>		BV, OV, CP, CV, PC	++
	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	intestin grêle	BV, OV, CP	+++
	<i>Cooperia curticei</i>		OV, CP	+
	<i>Nematodirus battus</i>		OV, BV	+++ (jeune)
Strongyloidea	<i>Oesophagostomum venulosum</i>	gros intestin	OV, CP	+
	<i>Chabertia ovina</i>		BV, OV, CP	+

Les ovins constituent une espèce très sensible aux parasites, et le plus souvent ils sont parasités par plusieurs espèces en même temps. Les trois espèces les plus fréquemment retrouvés chez les ovins en France sont *Trichostrongylus colubriformis*, *Teladorsagia circumcincta* et *Haemonchus contortus*.

2.2 Les trois principales espèces rencontrées chez les ovins en France

2.2.1 *Trichostrongylus colubriformis*

Le genre *Trichostrongylus* fait partie des principaux strongles gastro-intestinaux des ruminants, mais il est rarement le strongle dominant lors d'infestations dans les régions tempérées. Dans les régions tropicales par contre il est souvent le principal parasite impliqué dans les infestations par les strongles gastro-intestinaux et son impact est plus important. (G.M. Urquhart et al., 1996)

T. colubriformis est présent dans l'intestin grêle des petits ruminants. Les adultes sont difficiles à observer du fait de leur petite taille, souvent inférieure à 8mm, et de leur finesse (Rufener et al.). Au niveau microscopique on le reconnaît grâce à son pore excréteur ventral, la présence d'un gubernaculum et ses spicules de moins de 300µm de long. Il ne possède pas de papille cervicale.

Il peut être difficile de diagnostiquer une infestation par *T. colubriformis* car les symptômes sont non spécifiques : on peut observer une légère faiblesse, de la diarrhée ou au contraire de la constipation. Dans le cas d'infestation chronique les animaux sont parfois anémiés suite à la malnutrition.

2.2.2 *Teladorsagia circumcincta*

Le genre *Teladorsagia* est très proche du genre *Ostertagia* présent essentiellement chez les bovins, ce qui explique que l'espèce *Teladorsagia circumcincta* très présente chez les ovins s'appelait auparavant *Ostertagia circumcincta* (Ian Sutherland and Ian Scott, 2010).

Ce sont des vers d'environ 1cm de long au stade adulte que l'on retrouve dans la caillette des ruminants. Ce sont des vers effilés recouverts d'une cuticule translucide, et de couleur brune. Les mâles sont plus petits que les femelles et possèdent des spicules rectilignes avec une extrémité trifurquée au niveau de leur bourse copulatrice (Kaufmann, 1996, Cabaret et al., 1986). La femelle est reconnaissable grâce à sa taille plus importante que celle du mâle, sa queue terminée en pointe et sa languette supra-vulvaire. Cette espèce de strongles gastro-intestinaux est relativement peu prolifique

Les vers adultes ne sont pas toujours faciles à voir dans la caillette à cause de leur petite taille, mais dans le cas d'une infestation par *Teladorsagia circumcincta* on peut remarquer la présence de nodules présents sur la muqueuse. Ces nodules sont formés par la

forme larvaire du parasite qui se développe pendant un temps variable dans les glandes productrices de mucus de la caillette (Scott et al., 2000). Cliniquement on peut observer une diarrhée profuse, parfois associée à de l'anémie ou à une hypoprotéïnémie. Dans les cas les plus sévères une infestation par *T. circumcincta* peut être mortelle mais le plus souvent elle occasionne seulement de la diarrhée associée à un amaigrissement.

2.2.3 *Haemonchus contortus*

Les vers du genre *Haemonchus* sont reconnaissables d'abord à leur localisation dans la caillette des ruminants, et leur longueur de 2 à 3 cm. On peut observer au microscope la présence d'un lobe dorsal asymétrique ainsi que des spicules égaux chez le mâle, et une languette supra-vulvaire chez la femelle. La couleur de la femelle est également très reconnaissable puisque le tractus génital blanc est enroulé autour de l'intestin de couleur rouge, ce qui lui donne un aspect de « vers mirliton » (cf Illustration 5).



Illustration 5 : coloration en rouge et blanche d'une femelle *Haemonchus contortus*
(source : parasitologie ENVT)

L'espèce la plus fréquemment rencontrée chez les ovins est *Haemonchus contortus*. C'est un des plus grands vers parasites de la caillette des petits ruminants, puisque la femelle peut mesurer jusqu'à 3 cm au stade adulte. C'est également un des nématodes les plus prolifiques, puisqu'une femelle peut pondre plusieurs milliers d'œufs par jour, ce qui entraîne une contamination rapide et importante des pâtures.

C'est également un des strongles gastro-intestinaux les plus pathogènes car les larves de stade quatre et les adultes sont hématophages et l'infestation d'un ovin par un grand nombre de parasites peut entraîner une anémie rapidement mortelle (Besier et al., 2016a). On estime qu'un ovin infesté par 5000 *H. contortus* peut perdre jusqu'à 250mL de sang par jour (G.M. Urquhart et al., 1996). Il n'est pas toujours facile de détecter une infestation massive par *H. contortus* car contrairement à d'autres espèces de strongles il n'entraîne pas de diarrhée importante, et le premier signe visible lors d'une infestation du troupeau est souvent un amaigrissement associé à des muqueuses pâles (Besier et al., 2016b), puis la mortalité brutale de certains individus (Zajac, 2006).

2.3 Cycle de développement des strongles gastro-intestinaux

2.3.1 Déroulement général du cycle de développement

Le cycle de développement est globalement identique pour les différentes espèces de strongles gastro-intestinaux d'intérêt vétérinaire. Il se compose d'une phase libre dans le milieu extérieure et d'une phase parasitaire au sein d'un hôte, comme décrit dans l'illustration 6.

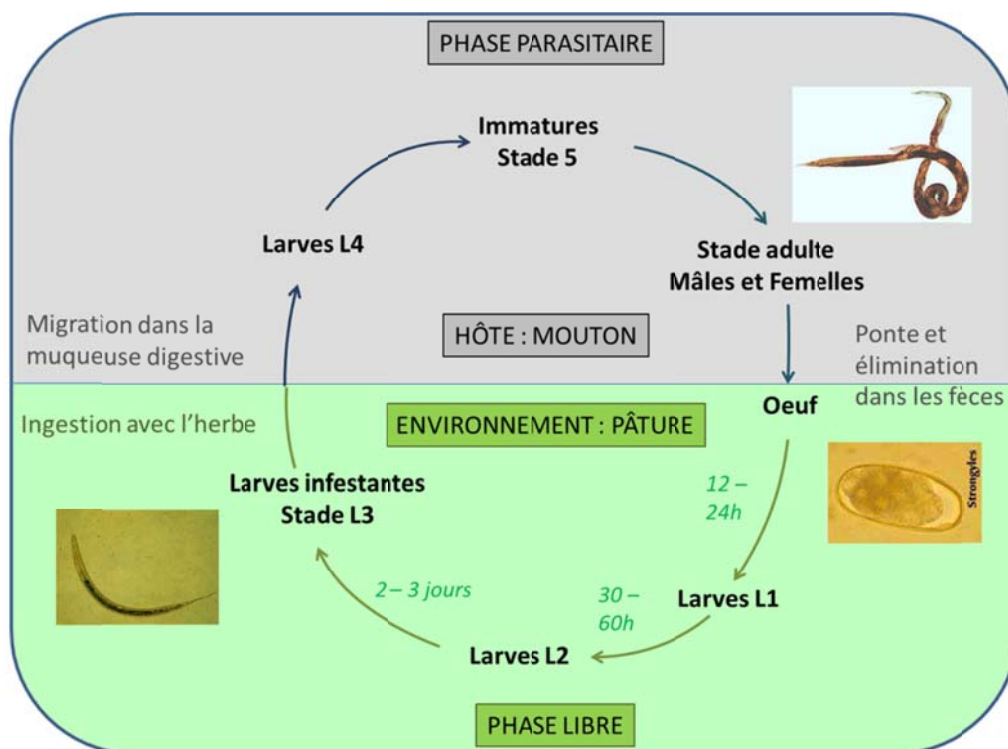


Illustration 6 : cycle de développement des strongles gastro-intestinaux (d'après cours de parasitologie, ENVT)

La phase libre

La phase libre commence lorsque les œufs sont libérés dans l'environnement avec les fèces. Toutes les phases de développement de l'œuf jusqu'au stade L3 se déroulent au sein des matières fécales qui constituent à la fois un apport nutritif et un abri. Au cours de cette phase, le parasite est relativement résistant aux stades œuf et L3, mais très fragiles aux stades L1 et L2 (Jacquiet, 1997).

Le développement de la larve L1 commence au sein de l'œuf, puis l'œuf éclot lorsqu'un stade d'évolution suffisant est atteint. Cela survient généralement 12 à 24h après la ponte mais ce délai est grandement influencé par les caractéristiques de l'environnement dans lequel l'œuf est placé (cf partie 1.3.3). Lorsqu'elle éclot la larve L1 mesure environ 300µm, et elle cherche très rapidement à se déplacer pour se nourrir de bactéries présentes dans les matières fécales qui lui servent de refuge.

Les passages du stade L1 au stade L2, et du stade L2 au stade L3, se déroulent selon le même schéma. Aux stades L1 et L2, les larves restent dans les fèces et occupent la majeure partie de leur temps à se nourrir de bactéries afin d'accumuler des réserves. Après cette période de nourrissage, la larve 2 entre dans une phase de léthargie. La cuticule qui entoure la larve se décolle alors de son épiderme, et une nouvelle cuticule est produite sous l'ancienne. Le passage du stade L2 au stade L3 survient lorsque l'ancienne cuticule se détache totalement de la larve.

Pour les trois espèces de strongles étudiées ici, la larve L3 est plus petite que la larve L2, et elle reste dans la gaine de cette dernière. Le stade L3 constitue le stade de survie du parasite sur le pâturage. Elle arrête de se nourrir et tire l'énergie nécessaire à ses déplacements des réserves constituées lors des stades larvaires précédents. La larve infestante effectue d'abord une migration horizontale pour s'écarter des fèces et quitter « l'anneau de répugnance ». Cet anneau désigne la zone proche des matières fécales, au niveau desquels les ruminants refusent généralement de paître. Le déplacement suivant des larves L3 est une migration verticale au cours de laquelle elles peuvent atteindre les extrémités hautes des brins d'herbe grâce au film de rosée. C'est à ce moment-là qu'elles peuvent être ingérées avec les brins d'herbe par leur hôte, et que la phase parasitaire du cycle débute (G.M. Urquhart et al., 1996) (Ian Sutherland and Ian Scott, 2010) (Zajac, 2006).

La phase parasitaire

Cette phase du cycle débute lorsque la larve L3 est ingérée par son hôte. Une fois dans le tractus digestif de l'hôte, la larve peut se débarrasser de sa gaine grâce aux paramètres physico-chimiques du milieu. Généralement cette perte de la gaine a lieu dans la portion du tube digestif qui précède directement la portion dans laquelle vivra le stade adulte (Hertzberg et al., 2002). Elle survient rapidement après l'ingestion de la larve par l'hôte, dans les 24h.

Le trajet de la larve varie ensuite selon les espèces de strongles, qui ne sont pas tous parasites de la même portion du tube digestif. Les lieux d'infestation des trois espèces considérées dans cette étude sont présentés dans la partie suivante (2.3.2).

La larve L4 donne ensuite un stade immature, qui donne par la suite le stade adulte. Une fois que les adultes mâles et femelles sont présents au niveau du tube digestif de l'hôte, la reproduction et la ponte commencent. Les œufs sont excrétés dans les fèces de l'hôte et permettent de maintenir la contamination de la pâture, et donc une ré-infestation des ovins présents sur la pâture.

2.3.2 Particularités du cycle pour les différentes espèces étudiées ici

Plusieurs paramètres peuvent varier d'une espèce de strongle à une autre, ce qui peut en partie expliquer les différences de pathogénicité entre les espèces.

Tout d'abord la vitesse à laquelle une espèce de strongles peut contaminer une pâture dépend de plusieurs éléments : la prolificité, la période prépatente et le temps de survie des adultes. En effet si le temps de survie d'un adulte dans le tube digestif est long, et que le nombre d'œufs pondus dans une journée est important, la contamination de la pâture sera plus rapide. D'autres moutons de la pâture seront alors contaminés et de nouveaux cycles se dérouleront pour le parasite. La prolificité des espèces prises en compte dans cette étude présente de grandes variabilités. Une femelle *T. colubriformis* pond en moyenne 100 œufs par jour, alors que cette valeur monte à 500 œufs par jour pour une femelle *T. circumcincta* et jusqu'à 5000 œufs par jour pour une femelle *H. contortus*. La contamination des pâtures à partir d'une brebis infestée sera donc plus importante pour *H. contortus* que pour les autres espèces (cf Tableau 2).

La période prépatente correspond au temps séparant l'ingestion d'un œuf par un hôte et l'excrétion d'œufs dans ses fèces. Globalement pour les strongles gastro-intestinaux cette période se situe entre 2 et 4 semaines. Plus la période prépatente est courte, plus le niveau de

contamination de la pâture augmente rapidement. Pour les trois espèces étudiées ici, les périodes prépatentes sont semblables, entre 2 et 3 semaines (Roeber et al., 2013) (cf Tableau 2).

Tableau 2 : particularités du cycle de développement des espèces *H. contortus*, *T. circumcincta* et *T. colubriformis*

	<i>Haemonchus contortus</i>	<i>Teladorsagia circumcincta</i>	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>
Proliféricité (œufs pondus par jour)	5000	500	100
Migration dans la muqueuse digestive	glandes mucosales région fundique ou pylorique	glandes mucosales région fundique ou pylorique	entre les glandes sécrétrices de l'intestin grêle
Phénomène d'hypobiose	++	+++ (jusqu'à 6 mois)	-
Période prépatente	18 – 21 jours	15 – 21 jours	15 – 23 jours
survie des adultes	quelques mois	quelques mois	1 an

Parfois cette période prépatente peut être rallongée suite au phénomène d'hypobiose. Ce phénomène correspond à un arrêt de développement de la larve au sein de l'hôte. Quelques temps après l'infection, après migration dans la muqueuse digestive, la larve peut devenir métaboliquement inactive pour une période plus ou moins longue, pouvant aller jusqu'à plusieurs mois. L'hypobiose a généralement lieu au début de la saison froide, lorsque les conditions du milieu extérieur deviennent défavorables au développement des œufs. La larve reste alors inactive jusqu'au retour de la période chaude, puis son cycle reprend normalement. Ce phénomène est fréquemment observé chez certaines espèces de strongles gastro-intestinaux, dont *H. contortus* et *T. circumcincta*. Dans les régions où l'hiver est trop froid pour permettre la survie et le développement des œufs en larves dans le milieu extérieur, les larves L4 migrent dans les glandes mucosales des régions fundiques ou pyloriques de la caillette, où elles entrent dans un état de dormance. Toutes ces larves se réveilleront dans un court laps de temps au retour des beaux jours, entraînant une infestation brutale et massive de l'hôte ainsi qu'une ré-infestation importante des pâtures (Zajac, 2006).

2.3.3 Influence des facteurs environnementaux aux différents stades de la phase libre

Éclosion

L'éclosion a lieu lorsqu'un stade de développement suffisant de la larve L1 est atteint. Elle est permise par une augmentation de la perméabilité des enveloppes de l'œuf, ce qui entraîne une entrée d'eau dans l'œuf et permet l'hydratation de la larve L1 (Ian Sutherland and Ian Scott, 2010). Une fois hydratée la larve L1 est capable de créer une ouverture dans l'enveloppe de l'œuf à la fois grâce à une activité musculaire et à la sécrétion de certaines enzymes (G.M. Urquhart et al., 1996) (Perry and Clarke, 1981).

Plusieurs paramètres environnementaux tels que la température ou le taux d'humidité jouent un rôle très important dans le déroulement de ces différentes étapes. Les étapes de l'éclosion exposées précédemment expliquent l'importance d'un degré d'humidité suffisant dans le milieu. En effet, si l'humidité n'est pas suffisante l'entrée d'eau dans l'œuf est plus difficile et la larve 1 risque de ne pas éclore. Les œufs étant présents dans les matières fécales des animaux, le degré d'humidité est suffisant pour permettre leur éclosion. La température du milieu dans lequel se trouve l'œuf joue également un rôle fondamental : la température optimale pour permettre l'éclosion des œufs est comprise entre 25 et 33°C, et la température minimale nécessaire pour permettre une éclosion varie entre 8 et 10°C. En-dessous de 4°C, aucun développement de l'œuf n'est possible, et à des températures supérieures à 40°C l'œuf meurt (Nielsen et al., 2007). Des variations existent selon les espèces de strongles considérées, comme exposé dans l'illustration 7 qui présente les températures optimales de développement de l'œuf en larve. On peut y voir que parmi les espèces qui nous intéressent, *T.circumcincta* est celle qui résiste le mieux aux températures froides alors que les œufs de *H. contortus* ont besoin de températures plus clémentes pour se développer.

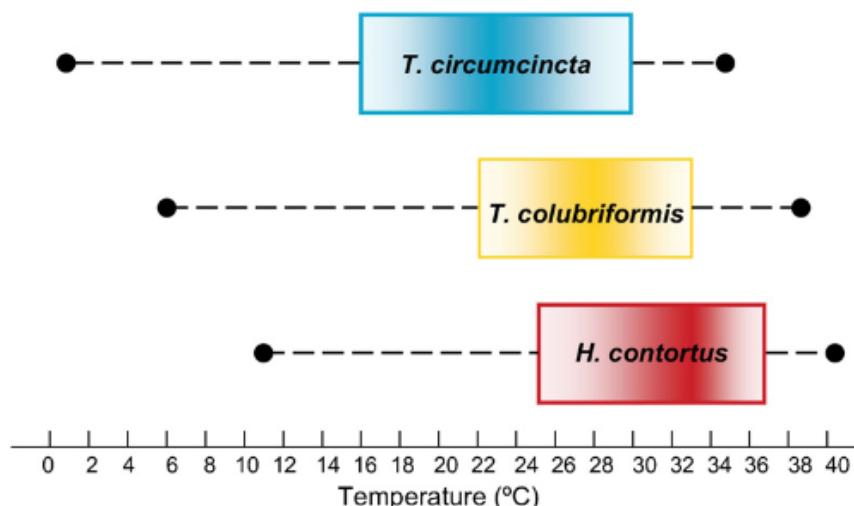


Illustration 7 : températures de survie et de développement des trois principales espèces de strongles gastro-intestinaux des ovins. (O'Connor et al., 2006) La boîte colorée correspond aux températures optimales de développement alors que les extrémités des bâtons représentent les températures limites pour lesquelles le développement est possible

Développement de la larve L1 à la larve infestante L3

La température et le degré d'humidité sont là-aussi des paramètres très importants pour permettre le passage d'un stade larvaire à un autre, jusqu'à atteindre le stade L3 qui est celui de la larve infestante.

Pour la majorité des espèces de strongles, les températures optimales pour obtenir un nombre maximal de larves L3 sont comprises entre 18°C et 26°C. Lorsqu'elles sont supérieures à 26°C, le développement des larves se déroule trop rapidement, et les larves rendues hyperactives par la chaleur épuisent trop rapidement leurs réserves lipidiques. Le taux de mortalité augmente alors rapidement et peu de larves survivent jusqu'au stade L3. Si au contraire les températures sont trop faibles (inférieures à 18°C), le cycle est ralenti. L'évolution d'un stade larvaire à un autre est impossible lors de températures inférieures à 10°C. Si elles chutent en-dessous de 5°C les mouvements et la consommation d'énergie sont minimaux, ce qui permet d'augmenter la durée de survie des larves.

Le taux d'humidité optimal pour permettre le passage d'un stade larvaire à un autre est de 100%, et pour la plupart des espèces le développement des larves est impossible pour des taux d'humidité inférieurs à 80%. Toutefois toutes ces étapes se déroulent au sein des fèces, ce qui permet une évolution dans un milieu plus humide. L'évolution de la larve L1 à la larve L3 est donc possible même sous des climats secs.

Survie de la larve infestante L3

Le stade L3 représente le stade de survie des larves des strongles gastro-intestinaux. En effet à ce stade la larve peut survivre dans le milieu même si les conditions climatiques sont plus difficiles qu'aux stades précédents. Elles peuvent par exemple survivre plusieurs mois dans de l'eau à une température de 3°C (Morgan and van Dijk, 2012). Cette résistance au froid peut varier selon l'espèce de strongles à laquelle on s'intéresse. Des études menées en laboratoire ont par exemple pu montrer que les larves L3 de *T. circumcincta* pouvaient survivre plus de 3 mois à une température constante de -10°C, alors qu'à cette température les larves de *H. contortus* survivent moins de 24h (O'Connor et al., 2006). Cette capacité à résister à des températures relativement froides peut permettre aux larves de survivre pendant la période froide et de recontaminer les hôtes lors de la mise à l'herbe au printemps. Ces larves supportent par contre beaucoup moins bien les températures élevées, leur taux de survie diminue rapidement lorsque l'on s'éloigne de leur température optimale.

Un autre paramètre environnemental important pour la survie des larves L3 dans le milieu extérieur est le degré d'humidité. Pour les trois espèces de strongles étudiées ici, les larves se développent de façon optimale dans des milieux humides mais elles résistent très mal à la dessiccation (Morgan and van Dijk, 2012).

3. Les strongyloses gastro-intestinales des ovins

3.1 Modalités d'infestation des ovins par les strongles gastro-intestinaux

3.1.1 Liées à l'environnement

Comme expliqué dans la partie précédente (partie 1.3.3), les paramètres environnementaux ont une forte influence sur l'évolution de l'œuf jusqu'à la larve infestante L3, et sur la survie des stades larvaires. Pour qu'une infestation de l'hôte soit possible, il faut qu'il y ait eu auparavant contamination de la pâture et que les conditions de l'environnement aient permis à la phase externe du cycle de se dérouler dans son ensemble.

3.1.2 Liées à l'hôte

Une distribution surdispersée des parasites

Les strongles gastro-intestinaux ne sont pas répartis de façon équivalente entre les différents individus d'un même troupeau. Dans la plupart des cheptels on observe que quelques individus possèdent la majeure partie des strongles présents dans le troupeau. Cette distribution surdispersée s'explique grâce à deux facteurs principaux. Tout d'abord l'ingestion au hasard des agrégats de larves infestantes sur le pâturage, qui n'est pas la même pour les différents individus du troupeau (Wilson et al., 2002). Le deuxième paramètre à prendre en compte est la résistance de l'hôte aux infestations par les strongles, qui varie beaucoup d'un individu à un autre. Cette variabilité peut en partie s'expliquer par l'influence de différents facteurs détaillés dans les paragraphes suivants.

Influence de la race

Toutes les races ovines ne sont pas aussi sensibles aux strongles gastro-intestinaux les unes que les autres. De nombreuses études ont étudié la sensibilité des ovins à *H. contortus* chez différentes races, et les différences sont si importantes que des lots avec de faibles nombres d'animaux suffisent pour mettre en évidence une différence significative entre les races. (Stear and Murray, 1994)

Influence de l'âge

Les ovins développent au cours de leur vie une immunité contre les strongles gastro-intestinaux. Lors de la première sortie au pâturage les jeunes rencontrent pour la première fois les parasites, et n'ont donc pas encore acquis d'immunité protectrice. Les jeunes en première saison de pâture sont ainsi plus sensibles aux infections par les strongles gastro-intestinaux que les adultes les ayant déjà rencontrés.

Influence du stade physiologique

On observe chez les brebis une baisse des défenses immunitaires autour de la mise-bas qui se manifeste par une augmentation de l'intensité d'excrétion d'œufs de strongles gastro-intestinaux. Ce phénomène, appelé « Periparturient Rise » (ou PPR) se met en place généralement 2 à 4 semaines avant la mise-bas et persiste pendant 6 à 8 semaines (Abbott et

al., 2012). Plusieurs études établissent un lien entre le PPR et l'utilisation importante de protéines pour la production laitière (Beasley et al., 2010). Il semblerait en effet que ce phénomène soit moins marqué chez des brebis complémentées en protéines, et qu'il disparaisse à la fin de la période de lactation.

On peut observer au moment du PPR une augmentation de la quantité d'œufs de strongles excrétés dans les fèces des brebis. Ce phénomène favorise donc la contamination des pâtures juste avant l'arrivée de jeunes animaux très sensibles à l'infestation par les strongles car n'ayant pas encore pu développer d'immunité.

Influence de la génétique de l'individu

Si l'on considère plusieurs individus d'une même race et d'un même âge, il continue à y avoir des différences de sensibilité aux strongles gastro-intestinaux. Cette différence peut venir de deux phénomènes : la résistance et la résilience. On parle de résistance si l'hôte a les capacités de diminuer l'installation, la fécondité ou la survie des parasites dans son organisme. Le phénomène de résilience concerne l'aptitude de l'hôte à maintenir des niveaux de productions normaux malgré l'existence d'une infestation par les strongles.

La présence d'un fond génétique dans la sensibilité des ovins aux strongles a pu être mise en évidence grâce à son caractère en partie héritable. Des schémas de sélection ont été mis en place dans plusieurs races grâce à l'identification de béliers sensibles et d'autres résistants aux parasites.

3.2 Physiopathologie des strongyloses gastro-intestinales des ovins

Les strongles gastro-intestinaux sont à l'origine d'actions pathogènes de différentes natures (Hoste et al., 1997). Ils sont tout d'abord à l'origine de lésions au sein des muqueuses digestives, provoquant une malabsorption. Les lésions de la caillette vont entraîner une augmentation du pH digestif ainsi que des phénomènes sécrétoires anormaux, tandis qu'au niveau de la muqueuse intestinale ils provoquent une abrasion des villosités intestinales, une fuite plasmatique et une diminution de l'activité enzymatique. Afin de lutte contre ces lésions, l'organisme de l'hôte va modifier son métabolisme afin de synthétiser au niveau du foie des protéines qui vont permettre la réparation des épithéliums digestifs.

On peut également observer une action chimique avec une modification des hormones gastro-intestinales, en particulier la cholecystokinine, à l'origine d'une baisse de l'appétit et d'un comportement de tri alimentaire de la part des animaux (Fox, 1997).

Certaines espèces de strongles sont de plus hématophages et vont donc entraîner une spoliation sanguine parfois importante, à l'origine d'une anémie et d'un affaiblissement de l'hôte (*H. contortus*).

3.3 Conséquences des strongyloses gastro-intestinales en élevage ovin

3.3.1 Manifestations cliniques

L'intensité des manifestations cliniques dépend à la fois du niveau d'infestation, du niveau de résilience de l'hôte (cf paragraphe 2.1.2) et de l'état de santé global des animaux. Si l'infestation est peu importante chez des animaux en bon état général, il n'y a généralement pas de symptômes visibles. Si les animaux sont plus fragiles ou infestés de façon plus importante on observe majoritairement des signes liés au phénomène de malabsorption décrit précédemment (diarrhée, perte de poids). On peut également observer une anémie lors d'infestation par des strongles hématophages.

On peut observer en début de printemps des formes plus graves liées à la levée de l'hypobiose. Dans ce cas de nombreux parasites enkystés depuis la fin de la saison de pâture précédente sortent de leur état de dormance en un court laps de temps, ce qui provoque chez l'hôte une infestation brutale et massive. Les animaux présentent alors une diarrhée intermittente, un manque d'appétit, une perte de poids ainsi qu'une anémie importante suite aux pertes sanguines provoquées par les lésions des muqueuses digestives. Cette forme clinique peut évoluer vers la mort de l'animal si le diagnostic et le traitement ne sont pas réalisés rapidement (Mage, 2016).

3.3.2 Conséquences économiques

Les pertes économiques liées aux infestations par les strongles gastro-intestinaux sont difficiles à évaluer précisément mais elles sont importantes et liées à différents paramètres.

Tout d'abord les baisses de production des animaux infectés. En 2015, un article reprenant les résultats obtenus par différentes études permet une estimation chiffrée de ces

pertes. La diminution des performances a été observée dans 86% des études réalisées, et est significative dans 43% d'entre-elles. Dans ces études, le GMQ est en moyenne diminué de 15%, la production de laine de 10% et la production laitière de 22% (Mavrot et al., 2015). Une étude réalisée en 2008 a également mis en évidence une diminution de la production laitière de 19% à 44% chez des brebis laitières naturellement infestées par les strongles par rapport à celles qui avaient été traitées (Cringoli et al., 2008).

Il faut ajouter aux pertes de production les coûts liés aux traitements anthelminthiques réalisés systématiquement par les éleveurs dans la majorité des exploitations ovines laitières ou allaitantes.

4. Diagnostic des strongyloses gastro-intestinales des ovins

4.1 Méthodes de diagnostic clinique

4.1.1 Indice d'état corporel : NEC

La note d'état corporel permet une estimation de l'état d'engraissement ainsi que du développement musculaire des animaux. La notation est établie selon une grille allant de 1 (animal très maigre) à 5 (animal très gras), le score optimal étant de 3. Ce score est mesuré en palpant les muscles recouvrant les apophyses transverses des vertèbres lombaires, ainsi que la proéminence du processus épineux. Le détail des notations est présenté en annexe (Thompson and Meyer, 1994).

La NEC est un indicateur intéressant car il peut se mesurer facilement et rapidement sur un grand nombre d'animaux. Plusieurs études ont montré une amélioration des NEC après un traitement anthelminthique (Cornelius et al., 2014), ce qui montre un certain lien entre la NEC et le parasitisme. Toutefois cet indicateur n'est absolument pas spécifique d'une strongylose car de nombreuses pathologies peuvent entraîner un amaigrissement plus ou moins rapide des animaux. Il ne peut donc pas suffire pour l'établissement d'un diagnostic mais il peut permettre d'établir une suspicion de strongylose en cas d'amaigrissement du troupeau.

4.1.2 Indice de pâleur des muqueuses : méthode FAMACHA

La méthode FAMACHA a d'abord été mise en place en Afrique du Sud, puis s'est étendue dans d'autres pays (Di Loria et al., 2009). Elle est surtout utilisée dans les régions où *H. contortus* est l'espèce majoritaire car elle permet de suspecter une anémie chez les ovins, ce qui peut être un signe d'infestation par des strongles gastro-intestinaux hématophages.

Cette méthode se base sur l'observation des muqueuses oculaires des ovins. Selon la couleur des muqueuses, une note pouvant varier de 1 (rouge) à 5 (blanc) est attribuée (grille de notation présentée en annexe). Grâce à des correspondances entre la notation FAMACHA et l'hématocrite présentée dans le Tableau 3 (Schoenian, 2005), cette notation permet d'obtenir une estimation de l'hématocrite des moutons en élevage sans réaliser aucun prélèvement sanguin.

Tableau 3 : correspondance entre la note FAMACHA et l'hématocrite (Schoenian, 2005)

Note	Couleur des muqueuses	Hématocrite	Recommandations de traitement
1	Rouge	> 28%	non
2	Rouge – rosé	23 – 27%	non
3	Rose	18 – 22%	éventuellement
4	Rose pâle	13 – 17%	oui
5	Blanc	< 12%	oui

Ce système a été proposé pour mettre en place des traitements sélectifs en ne traitant que les ovins obtenant un score de 4 ou 5. En France et dans les pays tempérés son utilisation est plus controversée car *H. contortus* n'est pas le seul strongle parasite des ovins, donc un traitement peut être nécessaire chez des animaux non anémiés en cas d'infestation importante par des strongles non hématophages (Papadopoulos et al., 2013).

Une autre limite de ce système concerne la sensibilité et la spécificité de la méthode. En effet les moutons anémiés sont détectés lorsque leur score atteint 4 ou 5, donc lorsque l'hématocrite est inférieur à 17%. Les suspicions d'haemonchoses sont ainsi émises tardivement et en cas d'infestation massive certains ovins peuvent mourir avant que l'anémie soit détectée. La spécificité n'est pas non plus très bonne car le système FAMACHA permet de mettre en évidence une anémie qui peut ne pas être liée à une strongylose mais à d'autres

parasitoses (fasciolose, parasites sanguins). Une étude menée sur des agneaux a mis en évidence des niveaux de sensibilité et spécificité bas qui suggèrent que cette méthode ne soit pas adaptée pour les jeunes animaux (Cintra et al., 2018).

Comme la mesure des notes d'état corporel, le système FAMACHA peut aider à émettre des suspicions de strongylose chez les ovins mais il ne permet pas à lui seul de poser un diagnostic fiable.

4.1.3 Indice de salissure de l'arrière-train : « dag-score »

Cet autre outil diagnostique permet de détecter les animaux présentant de la diarrhée, qui est un des symptômes les plus fréquents lors de strongylose gastro-intestinale. La notation varie de 0 (absence de souillure) à 5 (arrière-train très souillé), et s'effectue en recherchant la présence de souillure au niveau de la queue, de l'anus et de la zone péri-anale. Les correspondances entre le score obtenu et le niveau de salissure de l'arrière-train (Larsen et al., 1994) sont représentées dans l'illustration 8.

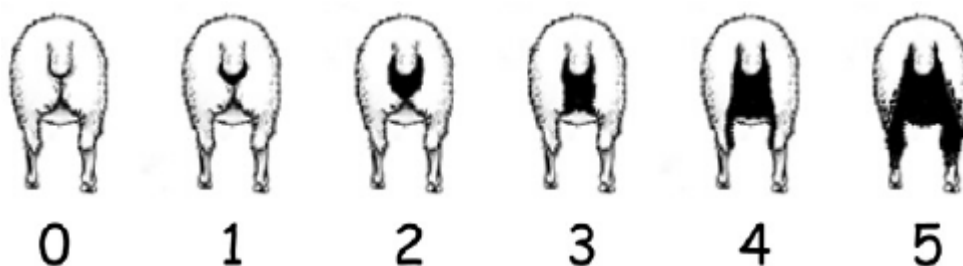


Illustration 8 : Echelle de notation du niveau de salissure de l'arrière-train (Dag-score).
Source : (Pickering et al., 2013)

En permettant de repérer les animaux présentant ou ayant présenté des signes de diarrhée, cette méthode peut aider à la mise en place d'un traitement ciblé sur les individus souffrant davantage du parasitisme. Elle présente toutefois un certain nombre de limites, liées principalement au fait qu'un animal présentant des signes de diarrhée n'est pas forcément parasité. De plus l'accumulation de matières fécales en région péri-anale ne dépend pas uniquement de la consistance des fèces, mais aussi de la conformation de l'animal (Broughan and Wall, 2007). Ainsi un animal possédant une queue et des poils long aura naturellement plus de souillures qu'un autre sans queue ou avec des poils courts.

Les trois méthodes de notations vues précédemment (NAC, FAMACHA et Dag-score) présentent l'intérêt commun de pouvoir être réalisées rapidement, sans matériel particulier en fournissant un résultat immédiat. Toutefois aucune d'elle ne permet d'affirmer avec certitude l'existence ou non d'une infestation parasitaire chez les animaux étudiés, car les strongyloses gastro-intestinales ne représentent qu'une des causes des symptômes qu'elles mettent en évidence.

Par conséquent il semble important d'utiliser d'autres techniques d'analyses plus spécifiques afin de pouvoir estimer le niveau d'infestation parasitaire d'un troupeau ovin.

4.2 Méthodes de diagnostic de laboratoire

4.2.1 Analyses coprologiques

Les analyses coprologiques regroupent les méthodes permettant de rechercher la présence d'éléments parasites dans les matières fécales. Ces méthodes peuvent être selon les cas quantitatives et ainsi permettre de connaître l'intensité de l'infestation des animaux, ou qualitative si l'on souhaite juste savoir si l'animal est parasité. Concernant les infestations des ovins par les strongles gastro-intestinaux, seules les méthodes quantitatives sont intéressantes car la décision de mettre en place un traitement dépend du niveau d'infestation des animaux, et non de la simple présence ou absence de parasites. Les méthodes de coproscopie quantitatives seront donc les seules présentées par la suite.

Réalisation et conservation des prélèvements

Les prélèvements de matières fécales doivent être réalisés de façon individuelle, que l'on travaille par la suite en coproscopie individuelle ou de mélange. Il faut pour cela privilégier le prélèvement intra-rectal qui permet à la fois de limiter le risque de contamination par des éléments environnementaux, et de s'assurer que les matières fécales proviennent bien de l'animal souhaité. Il est recommandé de prélever 5 à 10% du lot, à raison de 5 à 10 grammes de fèces par individu. Un examen macroscopique rapide des fèces peut être réalisé avant le conditionnement (présence de sang, de matières non digérées, de parasites), car l'aspect peut rapidement être modifié pendant que l'échantillon est conservé (Hendrix and Robinson, 2012)

Les prélèvements sont ensuite conditionnés de façon individuelle dans un récipient qui doit être conservé à 4°C et analysé le plus rapidement possible. La congélation doit à tout prix être évitée car elle entraîne un risque d'éclatement des œufs et empêche par la suite la réalisation de coprocultures.

Méthodes de coproscopie quantitative

Les différentes méthodes de coproscopies reposent sur l'observation au microscope des œufs de strongles présents dans les fèces. Afin de faciliter l'observation et le dénombrement de ces œufs, une première étape d'enrichissement est nécessaire (Kerboeuf et al., 1997). Pour cela deux grandes méthodes existent : la flottation et la sédimentation.

- Sédimentation : cette méthode repose sur la dilution de l'échantillon dans une solution peu dense (de l'eau) afin de concentrer les éléments parasitaires dans le culot du récipient. Elle est intéressante car ne nécessite pas de solution dense, mais la lecture est rendue difficile par la présence importante de débris dans le culot, les débris de densité inférieure à celle de l'eau étant les seuls à rester à la surface.
- Flottation : c'est la méthode d'enrichissement la plus utilisée en médecine vétérinaire. On utilise un liquide de flottation de densité supérieure aux œufs de strongles, par exemple une solution saturée en NaCl, afin de permettre aux œufs de flotter et de s'accumuler à la surface du récipient. Cette méthode est très intéressante car peu coûteuse et simple à réaliser, mais elle peut déformer les œufs et rendre l'observation plus difficile si la solution de flottation utilisée est trop dense

La méthode de coproscopie quantitative la plus utilisée aujourd'hui est la méthode MacMaster modifiée par Raynaud (Jacquiet et al., 2014a). Cette méthode de coproscopie à l'avantage, en plus d'être quantitative, d'être applicable à toutes les espèces de parasites excréant des œufs dans les fèces (Raynaud, 1970). On l'utilise ici dans le cadre de la détection des strongyloses, mais elle peut donc également être utilisée afin d'établir un bilan parasitaire plus global. Cette méthode utilise un enrichissement par flottation, puis la lecture se fait sur une lame de MacMaster (Illustration 9). Cette lame est constituée de deux chambres de 500 µL, contenant chacune un réseau de 150 µL. Après homogénéisation de la solution, les deux chambres doivent être correctement remplies à l'aide d'une pipette. Grâce à l'utilisation d'une solution dense les œufs de strongles vont remonter et se coller contre la paroi de lecture au bout d'une durée d'environ 5 minutes tandis que les débris restent dans le fond de la chambre, ce qui permet une lecture plus facile au microscope. La totalité des œufs de strongles présents dans les deux réseaux sont comptabilisés et la somme est multipliée par 50 afin d'obtenir le nombre d'œufs présents dans 1g de fèces de l'animal étudié. En cas

d'infestation plus faible il est possible de compter les œufs présents dans la totalité des deux chambres, il suffit ensuite de multiplier la somme par 15 pour obtenir la quantité d'œufs dans 1g de fèces.

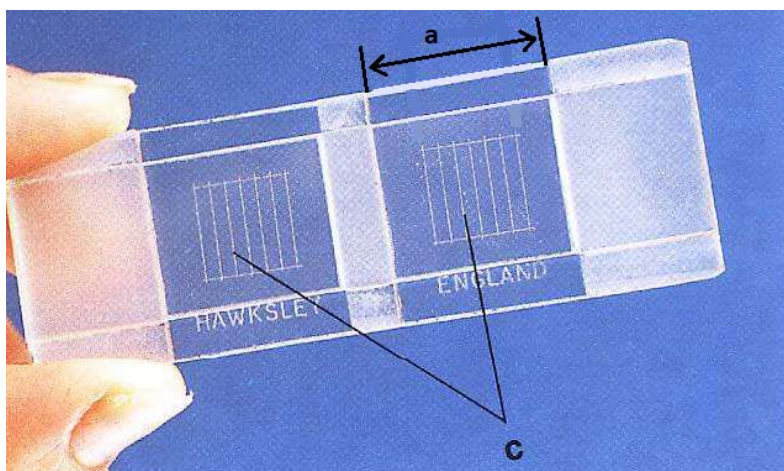


Illustration 9 : lame de MacMaster composée de deux chambres de 500 μL (a) contenant chacune un réseau de 150 μL (c). Source : France Génétique Elevage.

Cas particulier des coproscopies de mélange

Du fait de la distribution surdispersée des parasites au sein d'un troupeau, il est indispensable de réaliser ces analyses coprologiques sur un nombre minimal d'individus afin de pouvoir avoir une idée correcte du niveau d'infestation global du troupeau. Afin de limiter les coûts liés à la multiplicité du nombre d'analyses individuelles, il peut être intéressant d'utiliser des coproscopies de mélange. Dans ce cas les fèces doivent être prélevés et conditionnés de façon individuelle, puis un mélange homogène des fèces des différents individus prélevés est réalisé en laboratoire. La suite de la méthode est la même que celle exposée dans le paragraphe précédent à l'exception du fait que les fèces appartiennent à un groupe et non plus à un individu isolé.

Il est impératif de réfléchir à la composition des groupes lors de la réalisation de coproscopie de mélange afin qu'il soit représentatif du troupeau et que l'effectif permette d'avoir des résultats interprétables. Dans une étude menée en 2016 sur plusieurs fermes (Kenyon et al., 2016), la recherche de résistances aux anthelminthiques a été réalisée en comparant les coproscopies individuelles et de mélange. Il en ressort que dans certains cas les coproscopies individuelles mettent en évidence une résistance non détectée lors de la réalisation de mélanges, mais que le nombre d'individus présents dans le groupe influe sur l'efficacité de la coproscopie de mélange. Un nombre de 10 à 15 individus permet d'obtenir

les résultats les plus fiables. Dans l'étude menée par Rinaldi et al. en 2014 (Rinaldi et al., 2014), une très bonne corrélation a été mise en évidence entre les résultats obtenus par coproscopie individuelle et de mélange en utilisant la méthode de MacMaster présentée précédemment.

La coproscopie de mélange semble donc être une bonne alternative à la coproscopie individuelle lorsque des groupes de 10 à 15 animaux sont utilisés. Elle permet de réduire les coûts pour les éleveurs et donc de les encourager à utiliser plus fréquemment des méthodes de diagnostic.

Identification des œufs de strongles

Lors de la lecture au microscope, il faut distinguer les œufs de strongles des autres œufs de parasites et des débris. Un œuf de strongle est ellipsoïde de contour très régulier avec une paroi fine, et on distingue à l'intérieur une morula (Illustration 10 **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**) ou une larve dans le cas d'un œuf embryonné (Illustration 11). Ils ne possèdent pas de bouchons polaires et mesurent en moyenne 80-100 x 40-50µm.



Illustration 10 : œuf de strongle digestif d'un ovin observé au microscope optique. Source : service de parasitologie de l'ENVT



Illustration 11 : œuf de strongle au stade embryonné (photo personnelle)

Les éléments de diagnose des œufs des trois principales espèces de strongles gastro-intestinaux des ovins sont regroupés dans le Tableau 4 ci-dessous. Ces éléments rendent théoriquement possible l'identification de l'espèce grâce à l'observation des œufs (Thienpont et al., 2003) mais en pratique cette diagnose est extrêmement délicate et les erreurs sont fréquentes.

Tableau 4 : éléments morphologiques permettant de distinguer les œufs des trois principales espèces de strongles gastro-intestinaux des ovins, d'après Thienpont *et al.*, 2003

	<i>H. contortus</i>	<i>T. colubriformis</i>	<i>T. circumcincta</i>
taille	74µm x 44µm	87µm x 41µm	94µm x 49µm
pôles	larges et arrondis, pratiquement égaux	inégaux, un plus arrondi que l'autre	symétriques, relativement étroits
parois latérales	symétriques, fortement bombées	inégaux, une des deux aplatie	symétriques, légèrement bombées

Interprétation des résultats

Les méthodes de coproscopie quantitative, et plus précisément la méthode de MacMaster présentée précédemment, présentent un intérêt majeur par rapport aux méthodes qualitatives puisqu'elles permettent d'estimer le niveau d'infestation parasitaire de l'individu (pour les coproscopies individuelles) ou du groupe d'individus (pour les coproscopies de mélange). En effet les strongyloses sont très fréquentes dans les troupeaux ovins mais elles nécessitent un traitement uniquement à partir d'un certain niveau. Ainsi une infestation par les strongles gastro-intestinaux est qualifiée de faible à modérée si l'intensité d'excrétion des œufs est inférieure à 500opg, modérée à forte entre 500 et 1000opg, et forte au-dessus de 1000opg (Jacquie, 2015a). Si l'intensité de l'excrétion d'un cheptel ovin est inférieure à 500opg et que l'état des animaux est correct, il n'est donc pas nécessaire de mettre en place un traitement.

Le principal point négatif de cette méthode réside dans le fait qu'il est impossible de distinguer avec certitude les œufs des différentes espèces de strongles. Il est donc indispensable d'utiliser d'autres méthodes en complément si l'on souhaite savoir précisément quelles espèces de strongles gastro-intestinaux sont impliquées dans une infestation.

4.2.2 Identification morphologique des larves L3

Réalisation des coprocultures

La réalisation des prélèvements de matières fécales se déroule de la même façon que celle expliquée précédemment pour la réalisation de coproscopies. Les matières fécales sont ensuite placées dans des conditions d'humidité et de température favorables au développement des œufs en larves L1, puis L2 et L3 (généralement 22 à 25°C) pendant une dizaine de jours (Kerboeuf et al., 1997). La récupération des larves se fait ensuite selon la méthode de Baermann qui permet d'obtenir les larves L3 en suspension dans l'eau. Cette suspension peut être conservée à +4°C jusqu'à l'observation au microscope.

Identification morphologique des larves L3

La diagnose d'espèce se fait au microscope, et les principaux critères morphologiques utilisés sont la forme de l'extrémité antérieure ainsi que la queue de la larve, la présence de corps réfringents, la forme et la longueur de la queue de la gaine (Illustration 12).

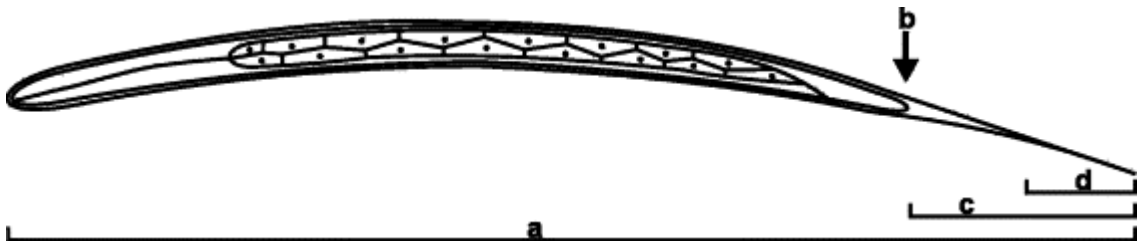


Illustration 12 : schéma représentant une larve L3 de strongle digestif (van Wyk et al., 2004). Les éléments d'intérêt pour la réalisation de la diagnose sont la longueur totale de la larve (a), l'aspect de la terminaison de la queue de la larve (b), la longueur de la queue de gaine (c) et la longueur du filament terminal (d)

Les principales caractéristiques des larves des trois espèces étudiées ici sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5 : caractéristiques morphologiques des larves L3 de *H. contortus*, *T. colubriformis* et *T. circumcincta*. D'après les informations de (Kerboeuf et al., 1997), (van Wyk et al., 2004) et (van Wyk and Mayhew, 2013)

	<i>H. contortus</i>	<i>T. colubriformis</i>	<i>T. circumcincta</i>
longueur totale	730µm	710µm	830µm
queue de gaine	longue	courte	moyenne
extrémité postérieure de la larve	queue infléchie	présence d'un appendice caudal	queue non infléchie
filament	présent	absent	absent
extrémité antérieure de la larve	extrémité arrondie	extrémité effilée	extrémité rectangulaire

Interprétation des résultats

L'utilisation de la coproculture permet l'identification des espèces présentes, ce qui constitue un avantage non négligeable par rapport à la réalisation de simples coproscopies. Il n'est par contre pas toujours évident de faire le lien entre la quantité de larves présentes et le niveau d'infestation des animaux. Il faut d'abord prendre en compte le fait que les différentes espèces de strongles ne sont pas aussi prolifiques les unes que les autres (Illustration 13). L'excrétion d'œufs dans les fèces sera donc beaucoup plus importante en cas d'infestation par *H. contortus* qui pond 5000 œufs par jour qu'en cas d'infestation par *T. circumcincta* qui n'en pond que 500.

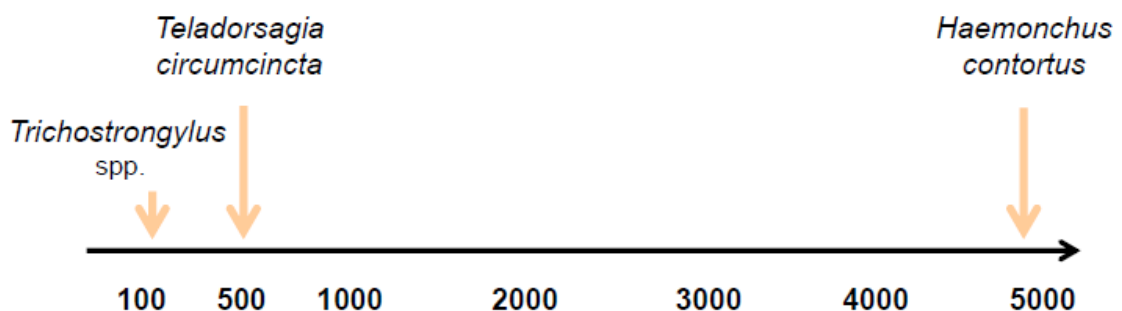


Illustration 13 : nombre moyen d'œufs pondus par femelle et par jour chez les trois espèces de strongles gastro-intestinaux des ovins (cours de parasitologie, ENVT)

Il peut aussi y avoir des différences entre la quantité d'œufs présents dans les matières fécales de l'animal et la quantité de larves observées, car le développement des larves au cours de la coproculture peut être plus ou moins bon selon des espèces (Roebber and Kahn, 2014), et il peut exister de la compétition entre les espèces (Kerboeuf et al., 1997)

4.2.3 Identification par PCR des larves L3

L'identification morphologique des larves L3 est très délicate et ne peut être réalisée que par une personne expérimentée, et n'est pas toujours possible avec certitude (Seesao et al., 2017). Plusieurs études telles que celles réalisées par Milhes et al (Milhes et al., 2017) ou Bisset et al (Bisset et al., 2014) ont permis de mettre en évidence une très bonne efficacité des méthodes moléculaires (par PCR et PCR temps réel) dans l'identification des larves L3 des principales espèces de strongles gastro-intestinaux.

De par le gain de temps considérable qu'elles permettent, ainsi que leurs très bonnes sensibilité et spécificité, les méthodes PCR permettent de rendre plus accessible et plus robuste l'identification des espèces présentes lors d'infestation parasitaire.

On peut donc distinguer au sein des techniques de laboratoire les coproscopies, qui permettent de quantifier le niveau d'infestation parasitaire d'un animal, et les techniques d'identification des larves L3 qui ont l'avantage de donner une indication sur la proportion des différentes espèces de strongles présentes, mais qui ne permettent pas d'estimer de façon très fiable l'intensité du parasitisme.

4.3 Diagnostic nécropsique

Il est toujours intéressant de rechercher la présence de strongles gastro-intestinaux dans le tractus digestif des animaux, quelle que soit la raison de l'autopsie. En cas de mortalité brutale on s'intéresse surtout à la quantité de strongles présents afin de savoir si une infestation massive peut être la cause de la mortalité observée. Dans tous les cas de figure, même si l'autopsie n'a pas pour but premier de permettre un diagnostic parasitologique, la recherche de strongles peut permettre de détecter une infestation dans un troupeau, et ainsi évaluer la nécessité de mettre en place un traitement sur le reste des animaux.

On peut tout d'abord s'intéresser à l'état général de la carcasse. En cas d'infestation parasitaire massive ou ancienne on observe généralement de la cachexie associée à une anémie parfois sévère (Brard and Chartier, 1997).

Un diagnostic de certitude peut être posé en cas de présence de strongles adultes dans le tractus digestif des animaux. On peut par exemple observer des vers rouges de 15 à 25mm de long sur la muqueuse de la caillette en cas d'haemonchose. Toutefois toutes les espèces de strongles ne sont pas faciles à distinguer, et les vers adultes peuvent s'être décrochés si l'autopsie a lieu tardivement après la mort de l'animal.

Dans le cadre de la recherche d'indicateurs de strongylose il faut également s'intéresser aux potentielles lésions causées par la migration des parasites au stade larvaire ou par les strongles adultes. Par exemple une infestation par *H. contortus* entraîne une inflammation ainsi qu'une congestion de la muqueuse de la caillette. Des ulcères ainsi que des zones hémorragiques peuvent également être visibles, correspondant aux points de fixation des strongles. Des petits nodules au niveau des glandes de la caillette peuvent être les témoins de la présence de larves enkystées (Brard and Chartier, 1997)

Il est également possible lors d'une autopsie de réaliser un bilan parasitaire (Kerboeuf et al., 1997). Il faut pour cela ouvrir les organes des animaux étudiés, récupérer leur contenu et effectuer un lavage de la paroi afin de récupérer un maximum d'adultes présents. Si l'on suspecte la présence de larves enkystées dans la muqueuse gastrique il faut la récupérer et réaliser une digestion pepsique. La totalité du volume de liquide de lavage est récupéré et plusieurs échantillons de volume connu sont réalisés afin de chercher la présence des adultes et estimer le niveau d'infestation de l'animal. Cette méthode est peu réalisée en pratique car elle est longue et coûteuse, mais c'est celle qui permet d'avoir le plus de renseignements sur le statut parasitaire d'un animal.

Partie 2 :
Lutte contre les strongles gastro-intestinaux des
ovins

1 La lutte chimique

La lutte contre les strongles gastro-intestinaux est un acte incontournable en élevage ovin afin de minimiser les pertes économiques liées aux strongyloses. Elle est réalisée depuis des années à l'aide de différentes molécules disponibles, réparties en six principales familles : les benzimidazoles, les imidazo-thiazoles, les dérivés amino-acétonitriles, les spiro-indoles, les salicylanilides, et les lactones macrocycliques. Les spiroindoles ne sont pas utilisés en France aujourd'hui mais le sont au Royaume-Uni.

Ces molécules ont été très largement utilisées de façon peu raisonnées, et l'efficacité de certaines d'entre-elles est aujourd'hui diminuée ce qui rend plus délicate leur utilisation dans les exploitations.

1.1 Les différentes familles de molécules disponibles

1.1.1 Benzimidazoles et probenzimidazoles

La famille des benzimidazoles est la première famille d'anthelminthique à avoir été utilisée suite à la découverte du thiabendazole en 1961 (Lacey, 1990). Depuis cette date ils ont été très largement utilisés dans le traitement des animaux d'élevage et de compagnie car ils présentent de nombreux avantages par rapport aux autres produits utilisés auparavant. Ils disposent en effet d'un index thérapeutique très élevé qui permet de les utiliser avec une grande sécurité. Ils sont de plus efficaces contre les stades immatures de certaines espèces et possèdent un large spectre d'action, associé à un faible coût (Campbell, 1990).

L'action anthelminthique de cette classe de molécules est obtenue grâce à leur liaison spécifique aux tubulines, ce qui entraîne une désorganisation des cellules tégumentaires et intestinales et donc la mort des parasites (Köhler, 2001). La tubuline est également nécessaire lors du phénomène de mitose qui intervient au cours du développement embryonnaire, ce qui explique l'action ovicide des benzimidazoles.

Il existe aujourd'hui une grande diversité de molécules commercialisées pour les ovins, avec une administration qui se fait uniquement par voie orale. Certaines de ces molécules, telles que le nétohimin, sont des pro-benzimidazoles, ce qui signifie qu'elles doivent être métabolisées avant d'être actives en tant qu'anthelminthiques (Gottschall et al., 1990).

Tableau 6 : posologie et restrictions d'utilisation des différentes molécules appartenant à la famille des benzimidazoles utilisables chez les ovins (d'après Jacquet et al., 2014b et les recommandations des fabricants).

Molécule	Dose	Temps d'attente		embryotoxicité
		viande	lait	
Fenbendazole	VO : 5mg/kg	16 jours	8,5 jours	non
Oxfendazole	VO : 5mg/kg	14 jours	8 jours	non
Mébéndazole (+ closantel)	VO : 15mg/kg	65 jours	interdit	non
Albendazole	VO : 3,8mg/kg	10 jours	interdit	oui pendant 1 ^{er} tiers gestation si utilisé à 15 mg/kg
Nétobimin	VO : 7,5mg/kg	6 jours	5 jours	oui pendant 1 ^{er} tiers gestation si utilisé à 20 mg/kg

Le Tableau 6 présente les posologies des différentes molécules de la classe des benzimidazoles utilisables chez les ovins, ainsi que les restrictions d'utilisation. A forte posologies, l'albendazole et le Netobimin doivent être utilisés avec précaution sur les femelles gestantes suite à une embryotoxicité démontrée dans le premier tiers de gestation. On remarque de plus que l'utilisation de cette classe d'anthelminthique est compliquée chez les brebis laitières de par l'interdiction de l'utilisation du mébéndazole et de l'albendazole, et l'existence de délais d'attente pour les autres molécules disponibles.

1.1.2 Imidazo-thiazoles

Le tétramisole est le premier imidazo-thiazole à avoir été utilisé en 1967. C'était un mélange à part égale entre deux isomères : le l-tétramisole et le d-tétramisole. Il a été découvert plus tard que les propriétés anthelminthiques de ce mélange étaient attribuables uniquement au l-tétramisole, aussi appelé lévamisole. La commercialisation de produits

contenant le lévamisole seul a ainsi permis de réduire de moitié les doses nécessaires par rapport à ce qui était distribué précédemment avec le tétramisole (Riviere and Papich, 2013).

Le lévamisole est ainsi aujourd’hui la seule molécule de la famille des imidazothiazoles à être commercialisée en médecine vétérinaire. Il possède un large spectre puisqu’il est actif contre les strongles gastro-intestinaux, mais aussi certains cestodes et trématodes. Il est disponible pour les ovins sous forme orale ou injectable, mais il n’est utilisable que dans les filières viandes puisqu’il est interdit chez les femelles productrices de lait de consommation, en lactation ou en période de tarissement ou chez les futures productrices de lait de consommation dans les 2 mois qui précèdent la mise-bas (Tableau 7).

Tableau 7 : posologie et restrictions d’utilisation des différentes molécules appartenant à la famille des imidazo-thiazoles utilisables chez les ovins (d’après Jacquet et al., 2014b et les recommandations des fabricants)

Molécule	Dose	Temps d’attente		embryotoxicité
		viande	lait	
Levamisole	IM ou VO : 7,5mg/kg	3 jours	interdit	non

Le lévamisole agit sur les récepteurs nicotiniques à l’acétylcholine présents au niveau des cellules musculaires des nématodes. Ces récepteurs sont activés par un ligand, de façon physiologique l’acétylcholine, ce qui permet le passage de Na⁺ et Ca²⁺, et ainsi la contraction musculaire. La fixation du lévamisole sur ces récepteurs induit une paralysie spastique à l’origine de l’expulsion des parasites par l’hôte (Abongwa et al., 2017,), (Kotze et al., 2014).

1.1.3 Salicylanilides

Cette classe d’anthelminthiques a été découverte dans les années 1970, principalement dans le but de traiter les trématodes au stade adulte. Ils peuvent également être utilisés dans le traitement de certains strongles hématophages dont *Haemonchus contortus* (Novobilský and Höglund, 2015).

Leur mode d’action est basé sur le découplage de la phosphorylation oxydative mitochondriale (Corbett and Goose, 1971). Ces molécules permettent le passage d’ions à

travers la membrane des mitochondries, ce qui perturbe fortement le métabolisme énergétique du parasite et empêche sa survie.

Tableau 8 : posologie et restrictions d'utilisation des différentes molécules appartenant à la famille des salicylanilides utilisables chez les ovins (d'après Jacquet et al., 2014b et les recommandations des fabricants)

Molécule	Dose	Temps d'attente		embryotoxicité
		viande	lait	
Closantel	SC, VO : 10mg/kg	107 jours	interdit en lactation, toléré en tout début de tarissement si celui-ci dure quatre mois	non
Nitroxinil	SC: 10mg/kg	50 jours	interdit	non évaluée

Le closantel et le nitroxinil sont utilisés principalement par voie sous-cutanée chez les bovins et par voie orale chez les ovins, pour le traitement contre les trématodes. Ils ne sont pas efficaces contre les espèces des genres *Trichostrongylus* et *Teladorsagia*, ce qui n'en fait pas un traitement de choix dans la lutte contre les strongles gastro-intestinaux des ovins. L'utilisation des molécules de cette famille est contraignante en élevage laitier puisqu'ils sont interdits en période de lactation, et autorisé en tout début de tarissement uniquement si celui-ci dure au moins quatre mois (Tableau 8).

1.1.4 Lactones macrocycliques

Les lactones macrocycliques constituent une famille de molécules antiparasitaires très utilisées en médecine vétérinaire, en partie grâce à leur très large spectre. Nous parlerons ici uniquement de leur action anthelminthique mais elles sont également efficaces contre de nombreux ectoparasites des ovins.

La famille des lactones macrocycliques englobe deux groupes de molécules tous deux utilisés chez les ovins : les avermectines, comprenant l'ivermectine, l'éprinomectine, la doramectine et la sélamectine, et les milbémycines qui comprennent principalement la moxidectine. Ils sont actifs par fixation sur les récepteurs au glutamate des canaux chlore

présents sur les synapses des cellules neuromusculaires (Riviere and Papich, 2013). L'entrée massive de chlore dans les cellules entraîne alors une hyperpolarisation, rendant impossible la contraction des cellules musculaires. Les parasites présentent alors une paralysie flasque qui provoque leur mort lorsqu'elle touche les muscles du pharynx (Martin, 1997).

Les lactones macrocycliques sont très largement utilisées car elles présentent de nombreux avantages. Le premier concerne leur sécurité d'utilisation puisqu'elles disposent d'un index thérapeutique très large, avec des signes de toxicité qui n'apparaissent qu'à partir de cinq fois la dose recommandée (Vercruysse and Rew, 2002). Cet aspect est particulièrement intéressant dans le contexte du traitement d'un lot d'animaux puisqu'il permet d'administrer une même dose à tous les individus, sans devoir l'adapter lors de petites variations de poids. Ces molécules sont également rendues intéressantes par leur rémanence de plusieurs semaines (2 à 5 selon les spécialités utilisées) à l'exception de l'ivermectine administrée par voie orale qui a une rémanence très limitée. Elles sont en effet lipophiles, ce qui leur permet d'être stockées dans le tissu adipeux des animaux traités puis d'être libérées progressivement dans le sang (Abbott et al., 2012).

Tableau 9 : posologie et restrictions d'utilisation des différentes molécules appartenant à la famille des lactones macrocycliques utilisables chez les ovins (d'après Jacquet et al., 2014b et les recommandations des fabricants)

Molécule	Dose	Temps d'attente		embryotoxicité
		viande	lait	
Ivermectine	VO : 0,2mg/kg	6 jours	interdit	non
	SC : 0,2mg/kg	28 jours	interdit	non
Doramectine	IM : 0,2mg/kg	70 jours	interdit	non
Eprinomectine	PO : 1mg/kg	2 jours	0 jour	non évaluée
Moxidectine	VO : 0,2mg/kg	14 jours	5 jours	non
	SC : 0,2mg/kg	82 jours	interdit	non

Elles sont disponibles sous plusieurs formes (Tableau 9) ce qui permet de les administrer par voie orale, par injection sous-cutanée mais aussi sous forme de pour-on depuis 2016 avec l'extension de l'AMM de l'Eprinex multi® aux ovins et caprins. La commercialisation de l'Eprinex multi pour les ovins a également permis d'obtenir une spécialité avec un temps d'attente de 0 jour en élevage laitier, ce qui n'était pas le cas avec les autres molécules commercialisées de cette famille.

1.1.5 Dérivés amino acétonitriles

Le monépantel est la première molécule de la famille des dérivés amino-acétonitriles commercialisée. Sa première mise sur le marché date de 2009 en Nouvelle-Zélande, et l'autorisation de mise sur le marché en France a été obtenue en 2010 mais le produit n'a pas été commercialisé en quantité suffisante ce qui a entraîné un rapide retrait du marché. Suite à l'apparition de résistances

. Le mode d'action des molécules appartenant à cette famille diffère des molécules anthelminthiques utilisées jusque-là, ce qui permet une efficacité sur les strongles gastro-intestinaux multirésistants aux anthelminthiques (Kaminsky et al., 2008).

Le monépantel agit sur la sous-unité Hco-MPTL-1 du récepteur à l'acétylcholine (Baur et al., 2015). De même que les molécules de la famille des imidazo-thiazoles, il induit ainsi une paralysie spastique puis l'expulsion et la mort du parasite. L'intérêt de cette nouvelle molécule vient du fait qu'elle n'agit pas sur les mêmes portions de ces récepteurs à l'acétylcholine que les familles d'anthelminthiques précédemment commercialisées, ce qui explique l'absence de mécanismes de résistances communs.

Tableau 10 : posologie et restrictions d'utilisation des différentes molécules appartenant à la famille des dérivés amino acétonitriles utilisables chez les ovins (d'après les recommandations des fabricants)

Molécule	Dose	Temps d'attente		embryotoxicité
		viande	lait	
Monépantel	VO : 2,5mg/kg	7 jours	interdit	non

Le monépanTEL est aujourd'hui commercialisé dans la plupart des pays producteurs de moutons dans la spécialité Zolvix®. Le traitement est possible uniquement par voie orale à la dose de 2,5mg/kg, chez les adultes et les agneaux de plus de 10kg. Cette spécialité est destinée aux cheptels allaitants, puisqu'elle est totalement interdite chez les femelles productrices de lait destiné à la consommation humaines (Tableau 10).

1.2 Les méthodes d'utilisation les plus courantes

De façon traditionnelle, le contrôle des strongles gastro-intestinaux dans les cheptels ovins repose exclusivement sur l'utilisation des molécules anthelminthiques présentées dans la partie précédente.

Il n'existe pas de protocole de traitement clairement défini et utilisé dans toutes les exploitations, mais certaines pratiques sont fréquemment observées. Les brebis sont généralement traitées 2 à 4 fois par an, dont au minimum une fois lors de la rentrée en bergerie aux alentours du mois de décembre. Le traitement est le plus souvent réalisé simultanément sur la totalité des animaux du cheptel. Le traitement des agneaux est le plus fréquemment réalisé en deux fois, une première fois en été lors du pic de contamination, et une deuxième fois lors de la rentrée en bergerie en décembre.

Dans un certain nombre d'exploitations une molécule est préférentiellement utilisée par l'éleveur en raison de son spectre d'action, ou de la facilité d'utilisation de la spécialité commercialisée. En raison des contraintes concernant les temps d'attente pour le lait en élevage ovin laitier, l'utilisation de l'éprinomectine en pour-on est devenue la méthode de traitement privilégiée dans la très grande majorité des exploitations laitières. En effet depuis l'obtention de l'AMM ovin en 2016, c'est la seule spécialité commercialisée qui possède un temps d'attente de 0 jour pour le lait.

Depuis quelques années les différentes professions intervenant autour des exploitations ovines (éleveurs, conseillers, vétérinaires) sont de plus en plus informées des limites de la lutte chimique présentées ci-après, et les protocoles de traitement présentés ici commencent à évoluer afin d'utiliser les molécules anthelminthiques de façon plus raisonnée, et de les coupler avec des méthodes de lutte non chimiques.

1.3 Les limites de la lutte chimique

Les molécules anthelminthiques présentées précédemment ont été très utilisées pendant de nombreuses années, mais avec le temps de plus en plus de limites concernant leur usage sont mises en évidence.

La principale concerne la difficulté à identifier de nouvelles molécules ou familles de molécules utilisables dans la lutte contre les strongles digestifs. L'arrivée des dérivés amino acétonitriles avec le Zolvix® (monépantel) marque la première innovation en termes de famille de molécule anthelminthique depuis 25 ans. Les autres molécules disponibles sur le marché sont les mêmes depuis plusieurs dizaines d'années. En plus de la difficulté à identifier de nouvelles molécules utilisables, de nouvelles contraintes réglementaires ont été mises en place et rendent plus compliqué le traitement des cheptels ovins laitiers. On peut par exemple noter l'augmentation des temps d'attente pour le lait de certains benzimidazoles. De plus les salicylanilides et les imidazothiazoles sont aujourd'hui interdits pendant tout le tarissement et jusqu'à un an avant le premier agnelage, alors qu'ils étaient auparavant interdits uniquement pendant la période de lactation (Jacquet et al., 2014b).

Les conditions d'utilisation des lactones macrocycliques sont également de plus en plus controversées à cause de leurs effets néfastes sur les écosystèmes. L'impact des anthelminthiques vétérinaires sur les espèces non-cibles est étudié depuis 1967 (Virlovet, 2005). Ce problème concerne principalement la famille des lactones macrocycliques, particulièrement toxique pour les insectes coprophages. En effet ces molécules sont éliminées principalement par voie fécale (Floate et al., 2005) et des molécules toxiques sont donc retrouvées en grande quantité dans les fèces des ovins traités. Parmi les lactones macrocycliques, ce phénomène semble beaucoup plus important pour l'ivermectine que pour la moxidectine, et les effets de l'éprinomectine sont intermédiaires (Floate et al., 2002). Cependant la moxidectine est maintenant considérée comme substance PBT (Persistance, bioaccumulable et toxique). Ses effets immédiats sur l'entomofaune coprophage sont donc plus faibles, mais ses effets à long terme sont plus préoccupants que ceux des autres molécules de la famille.

La mortalité des insectes coprophages qui se nourrissent de ces fèces a un impact direct sur l'écologie et le fonctionnement de la pâture. En effet elle contribue à sélectionner certaines espèces d'insectes par rapport à d'autres, et ralentit considérablement la dégradation des matières fécales, celles-ci s'accumulent ce qui nuit considérablement à la productivité de la pâture (Virlovet, 2005). La famille des lactones macrocycliques est aujourd'hui la plus

utilisée dans la lutte contre les strongles gastro-intestinaux chez les ovins, et il est donc important d'adapter les modes de traitements afin de minimiser ces effets néfastes sur l'environnement.

Le dernier point limitant l'utilisation des molécules anthelminthiques concerne les résistances des strongles gastro-intestinaux à celles-ci. Certaines spécialités autrefois très utilisées ne sont aujourd'hui plus efficaces à cause de ce phénomène qui devient de plus en plus préoccupant.

2. Résistance aux anthelminthiques

D'après Coles, 2006, on parle de population de strongles résistante à un anthelminthique si celle-ci montre une diminution significative de sa réponse à l'anthelminthique considéré, ou si l'efficacité de l'anthelminthique est moins importante sur cette population en comparaison à une population sensible. On parle de multi-résistance lorsque ce phénomène concerne plusieurs familles différentes de molécules anthelminthiques.

Ce phénomène de résistance est donc problématique en élevage ovin, puisque nous avons vu précédemment que la lutte contre les strongles gastro-intestinaux était indispensable afin de maintenir un état de santé et de productivité corrects du troupeau, et que l'utilisation de molécules anthelminthiques est la principale méthode de lutte.

2.1 Etat des lieux des résistances aux anthelminthiques

2.1.1 Dans le monde

Les résistances aux anthelminthiques sont étudiées depuis des années, le premier cas décrit de résistance aux anthelminthiques date de 1957 et concerne un cas d'*H. contortus* résistant à la phénothiazine (Drudge et al., 1957). En 2004, une synthèse publiée par Kaplan et al. classait déjà les ovins dans la catégorie des hôtes hébergeant des strongles gastro-intestinaux avec des hauts niveaux de résistance aux benzimidazoles et aux avermectines, et avec des résistances émergentes à la moxidectine (Kaplan, 2004).

Toutes les régions du monde dans lesquelles l'élevage ovin est présent sont touchées par le phénomène de résistance aux anthelminthiques. On retrouve parmi les pays les plus concernés l'Australie et la Nouvelle-Zélande. La proportion de strongles résistants à au moins

une famille de molécules anthelminthiques y est extrêmement élevée et la plupart des éleveurs sont obligés d'utiliser des traitements combinés à l'aide de plusieurs molécules afin de lutter contre les strongles (Playford et al., 2014), (Pomroy, 2006).

2.1.2 *En Europe*

Une synthèse des cas de résistance aux anthelminthiques connus en Europe a été publiée en 2012 et dresse déjà un tableau inquiétant pour la plupart des familles utilisées (Papadopoulos et al., 2012). Le Royaume-Uni est le pays étudié connaissant le plus de difficultés dans la réalisation des traitements anthelminthiques à cause de l'existence de résistance. On retrouve en effet des résistances aux benzimidazoles dans 97% des élevages testés, et des résistances au lévamisole et aux lactones macrocycliques ont également été mises en évidence. *Teladorsagia circumcincta* est l'espèce de strongles pour laquelle les traitements sont le moins efficaces, avec des cas identifiés de multi-résistance chez certaines souches. Lors de la publication de cette étude, l'efficacité des traitements anthelminthiques restait acceptable en France, en Espagne et en Italie où peu de cas de résistances à des familles autres que les benzimidazoles avaient été décrits.

D'autres études réalisées plus récemment démontrent une dégradation de la situation dans les pays Méditerranéens. L'une d'entre elles réalisée dans dix exploitations ovines de différentes régions d'Espagne met en évidence l'existence de résistance à au moins une famille anthelminthique dans la totalité d'entre eux. Plusieurs cas de multi-résistance ont également été identifiés dont un cas de résistance croisée à l'ivermectine et la moxidectine et un autre à toutes les familles utilisées (Martínez-Valladares et al., 2015).

Un autre bilan dressé en 2016 démontre que l'efficacité des lactones macrocycliques reste globalement satisfaisante mais que ces résistances, de plus en plus présentes en Europe, menacent la durabilité de l'élevage ovin dans certaines régions. La lutte contre les strongles est en effet indispensable dans de nombreux types de production et celle-ci ne peut pas être menée de façon suffisamment efficace dans certaines exploitations où des multi-résistances sont présentes (Traversa and von Samson-Himmelstjerna, 2016).

2.1.3 En France

Un état des lieux des résistances aux anthelminthiques chez les ovins en France a été publié en 2014 (Tableau 11). Cette publication met en évidence la forte présence de strongles gastro-intestinaux résistants aux benzimidazoles dans l'Aveyron, les Pyrénées Atlantiques et les Deux-Sèvres où la résistance est constatée dans la quasi-totalité des élevages ayant participé à ces enquêtes. La résistance au lévamisole est moins fréquente mais elle existe quand même dans les deux départements où cette molécule a été testée (le Val de Loire et les Deux-Sèvres), son utilisation peut donc être compromise d'ici quelques années si les sélections de souches résistantes se poursuivent. L'efficacité des lactones macrocycliques n'a été évaluée que dans quatre régions, et restait excellente en Aveyron, dans les Pyrénées Atlantiques et les Deux Sèvres. Dans la Loire par contre, une étude a mis en évidence des résultats plus préoccupants puisqu'elle a permis d'identifier le premier cas de résistance croisée à l'ivermectine et à la moxidectine connu en France (Paraud et al., 2016).

Tableau 11 : fréquence des résistances des strongles gastro-intestinaux dans les élevages ovins en France selon la région et le type d'anthelminthique (Jacquiet et al., 2014b)

(nombre d'élevages avec résistance / nombre total d'élevages dans l'enquête)

Région	Benzimidazole	Lévamisole	Lactones macrocycliques	Référence
● Val de Loire	2/18	1/18	non étudiée	Kerboeuf, coll. 1988 [10]
● Limousin	10/2010	non étudiée	non étudiée	Hubert, coll. 1991 [9]
● Lyonnais	2/7	non étudiée	non étudiée	Beugnet 1992 [2]
● Deux Sèvres	19/23	9/18	0/21	Chartier, coll. 1998 [4]
● Aveyron	5/5	non étudiée	0/5	Geurden, coll. 2014 [7]
● Pyrénées Atlantiques	5/5	non étudiée	0/5	
● Loire	non étudiée	non étudiée	1/1	Paraud, coll. 2014 [14]

Bien que la France soit moins touchée que certaines régions du monde, les résistances aux anthelminthiques risquent de constituer une problématique majeure en élevage d'ici quelques années si les pratiques de traitement n'évoluent pas afin de freiner leur évolution. La classe des lactones macrocyclique semblait épargnée jusqu'en 2014 mais depuis de nouvelles suspicions de résistance apparaissent, notamment dans les Pyrénées avec un cas de résistance croisée à l'ivermectine et aux benzimidazoles mis en évidence dans un troupeau ovin

(Cazajous et al., 2018) ainsi qu'une suspicion de résistance à l'éprinomectine dans un troupeau de chèvres laitières (Jacquet, communication personnelle).

La situation semble donc évoluer de plus en plus rapidement dans la plupart des régions du monde. Cette observation peut toutefois être accentuée par le fait que les vétérinaires et les éleveurs sont de plus en plus concernés, et ont tendance à faire d'avantage remonter les informations concernant cette problématique qu'il y a quelques années, lorsque les résistances aux anthelminthiques étaient considérées comme des problématiques exotiques.

2.2 Les principaux mécanismes de résistance des strongles gastro-intestinaux

Les mécanismes de résistance aux anthelminthiques se divisent en deux grandes catégories : les mécanismes non spécifiques, impliqués dans la résistance à plusieurs familles de molécules, et les mécanismes spécifiques qui permettent au parasite d'échapper spécifiquement à une molécule ou classe de molécule. Les mécanismes de résistance non spécifique font intervenir, entre-autres, la surexpression des protéines P-gp qui permet d'évacuer hors des cellules cibles les molécules anthelminthiques, la détoxification par le cytochrome P450 et la modification structurale des neurones sensoriels qui les rend moins sensibles aux molécules utilisées (Jacquet et al., 2014b).

2.2.2 Mécanismes de résistance aux benzimidazoles

Les mécanismes de résistance spécifiques constituent les principaux mécanismes de résistance des strongles gastro-intestinaux aux molécules de la famille des benzimidazoles (Jacquet et al., 2014b).

Plusieurs études ont montré une différence dans la structure moléculaire des bêta-tubulines présentes dans des souches de *H. contortus* résistantes aux benzimidazoles par rapport à des souches sensibles (Roos, 1990). Il est aujourd'hui établi qu'une seule mutation au niveau d'un des codons suivants 167, 198 ou 200 du gène codant pour la bêta-tubuline suffit à modifier la structure de la molécule, rendant difficile voire impossible la fixation et donc l'action anthelminthique des benzimidazoles. La modification la plus fréquemment rencontrée concerne le codon 200, normalement constitué de la séquence TTC. Le

changement de ce codon en TAC entraîne le remplacement d'une phénylalanine par une tyrosine, ce qui suffit à rendre impossible la fixation des benzimidazoles à leur site de liaison sur la molécule de bêta-tubuline (Furtado et al., 2016), (Aguayo-Ortiz et al., 2013). Seuls les individus possédant les deux allèles de résistance sont résistants aux benzimidazoles (Cabaret et al., 2009).

2.2.3 Mécanismes de résistance aux imidazo-thiazoles

Les résistances des strongles gastro-intestinaux aux imidazo-thiazoles sont aujourd'hui plus rares que pour les benzimidazoles malgré le fait que le lévamisole soit utilisé depuis plusieurs décennies. Encore récemment, l'acquisition de la résistance à cette famille était considérée comme beaucoup moins rapide et fréquente que pour la famille des benzimidazoles (Cabaret et al., 2009). Toutefois des études récentes laissent suggérer que les résistances au lévamisole pourraient actuellement sous-estimée, comme le montre une étude actuellement menée dans des troupeaux ovins du limousin où la résistance au lévamisole est aussi importante que celle aux benzimidazoles dans sept exploitations sur les neuf étudiées (Jacquie, communication personnelle)

Il semble que la résistance des strongles au lévamisole provienne d'une diminution de l'affinité d'un ou plusieurs récepteurs à l'acétylcholine pour le lévamisole. Il semblerait de plus que le nombre et la nature des gènes impliqués soient variables selon l'espèce de nématode considérée (Kotze et al., 2014).

Les récepteurs à l'acétylcholine sont composés de cinq sous-unités, et deux principaux mécanismes sont évoqués pour expliquer l'apparition de strongles résistants au lévamisole. Dans les deux cas de figure, la résistance au lévamisole est permise par une diminution de la transcription des sous-unités des récepteurs à l'acétylcholine et une modification de certaines de ces unités afin de diminuer l'affinité des molécules anthelminthiques pour les récepteurs à l'acétylcholine (Whittaker et al., 2017).

2.2.4 Mécanismes de résistance aux lactones macrocycliques

Sans qu'ils soient parfaitement connus, deux principaux mécanismes de résistance aux lactones macrocycliques ont pu être identifiés. Il s'agit de la surexpression de P-glycoprotéines (P-gp) impliquées dans l'efflux des lactones macrocycliques hors de la cible

d'une part, et de la mutation des gènes *Gluc1* codant pour les récepteurs au glutamate des canaux chlores, cibles des lactones macrocycliques d'autre part (Kiki-Mvouaka, 2009).

Les P-gp sont des protéines appartenant au groupe de transporteurs ABC qui participent à la perméabilité membranaire. Elles permettent ainsi d'évacuer les lactones macrocycliques hors de leur cellule cible, et donc d'empêcher leur action. Les principales hypothèses pouvant expliquer la surexpression de ces protéines sont une augmentation de l'augmentation de l'expression des ARNm permettant la synthèse de la protéine, ou une duplication des gènes codant pour cette protéine (Bygarski et al., 2014).

Les lactones macrocycliques ont pour cible les canaux chlores présents sur les cellules musculaires et neuronales des nématodes. Ces canaux sont constitués de deux sous unités, α et β , et il semblerait que le site de fixation des lactones macrocycliques soit présent au niveau de la sous unité α de ce canal. Une mutation du gène *Gluc1* codant pour la sous-partie α des canaux chlore empêche ou rend difficile la fixation des lactones macrocycliques au niveau de leur site d'action et contribue donc à la résistance observée chez certains parasites. (Blackhall et al., 1998). Toutefois aucune mutation ponctuelle de ces gènes n'a pour l'instant pu être identifiée dans les populations résistantes sur le terrain, et les mécanismes précis de résistance aux lactones macrocycliques restent pour l'instant inconnus (Luo et al., 2017).

Les strongles gastro-intestinaux possèdent en effet de nombreuses P-gp différentes et n'ayant pas la même implication dans les phénomènes de résistance aux anthelminthiques. Cinq d'entre-elles (P-gp-A, -B, -C, -D et -E) sont surexprimées dans des souches de *H. contortus* résistants et milbémycines et avermectines, et semblent donc jouer un rôle dans l'apparition de résistances. Le nombre de protéines impliquées dans les résistances de l'espèce *T. circumcincta* semble encore plus important puisque la surexpression de dix d'entre-elles est observée dans des souches résistantes aux lactones macrocycliques (Lespine et al., 2012).

Les résultats obtenus lors de la sélection de souches de *Haemonchus contortus* résistant en laboratoire semblent montrer que la résistance aux lactones macrocycliques concerne dans un premier temps les molécules du groupe des avermectines, puis celles du groupe des milbémycines. Cette apparition progressive des résistances peut être expliquée par une affinité différente des molécules de ces deux groupes pour les protéines P-gp, sans que l'on sache si certaines P-gp sont plus spécifiques à un groupe particulier de molécules. Les molécules du groupe des avermectines présenteraient une affinité plus forte et seraient donc

plus fortement impactée par sa surexpression que celles du groupe des milbémycines (Molento et al., 1999), (Ranjan et al., 2002).

Toutefois certaines études actuellement menées dans des élevages ovins du limousin mettent en évidence des résistances aux milbémycines tandis que les avermectines restent pleinement efficaces (Jacquet, communication personnelle). Les mécanismes précis de résistance aux lactones macrocycliques ne sont donc pas encore bien compris, en particulier en ce qui concerne les résistances croisées entre les avermectines et les mylbémécines.

2.2.5 Mécanismes de résistance au monépanтел

Le premier cas de résistance au monépanтел a été décrit en 2013 sur des troupeaux ovins et caprins de Nouvelle-Zélande (Bartley et al., 2015). Malgré un mode d'action différent des autres molécules disponibles sur le marché, des mécanismes de résistance au monépanтел sont donc apparus très rapidement après sa commercialisation chez les principales espèces de strongles gastro-intestinaux des ovins : *Haemonchus contortus*, ainsi que les genres *Teladorsagia* et *Trichostrongylus* (Scott et al., 2013), (Hamer et al., 2018).

Des essais ont été mis en place en laboratoire afin de déterminer les mécanismes de résistance mis en jeu (Raza et al., 2016). Cette étude mis en évidence deux souches différentes de *Haemonchus contortus* avec des niveaux de résistance différents au monépanтел, ce qui suggère l'existence d'au moins deux mécanismes moléculaires différents. La nature de ces mécanismes n'a pas pu être identifiée pour le moment.

2.3 Mise en évidence de l'existence de strongles résistants dans un élevage ovin

Le premier signe d'appel permettant de suspecter l'existence de strongles résistants dans un élevage ovin est généralement la persistance de signes cliniques liés au parasitisme malgré la réalisation correcte d'un traitement anthelminthique. Si on s'intéresse aux déclarations de pharmacovigilance réalisées en 2016 à propos de traitements effectués sur les ovins, on constate qu'une grande partie d'entre-elles concernent les antiparasitaires. Parmi ces déclarations, 56,8% concernent les anthelminthiques, dont plus d'un tiers pour une mauvaise efficacité (Fresnay, 2018). De plus en plus d'éleveurs semblent donc concernés par ces défauts d'efficacité des anthelminthiques.

Cette simple observation n'est néanmoins pas suffisante, les signes observés pouvant être liés à d'autres pathologies ou problèmes d'élevages. Il faut également s'assurer que les traitements réalisés sont bien efficaces contre les strongles gastro-intestinaux, et que les dosages des spécialités utilisées ont bien été respectés. Si la spécialité employée doit normalement être efficace et que le dosage utilisé était correct, alors différentes analyses de laboratoires peuvent être réalisées afin de confirmer la présence de strongles résistants à un anthelminthique considéré (Devos and Paraud, 2014).

2.3.1 Evaluation de l'efficacité d'un traitement : le FECRT

Le test de réduction d'excrétion fécale (Fecal egg count reduction test en anglais) est le seul test diagnostic réalisable directement en clientèle. Il consiste à comparer l'évolution de l'intensité d'excrétion des œufs, on parlera dans la suite de FEC (fecal egg counts) avant et après un traitement anthelminthique, chez un lot traité et un lot témoin ne recevant pas de traitement. Les modalités de réalisation de ce test sont décrites par Gerald Coles et ses collaborateurs dans un article publié en 2006 (Coles et al., 2006).

- La première étape de ce test concerne la constitution des lots. Seuls des animaux de 3 à 6 mois d'âge, ou ayant un FEC supérieur à 150opg avant traitement doivent être inclus dans les lots, et répartis soit aléatoirement soit en fonction de la valeur du FEC entre les lots témoin et traité, avec si possible au minimum 10 individus par lot.
- Une première visite est réalisée le jour du traitement (J0) afin de réaliser un prélèvement de matières fécales (idéalement 5g par animal) sur tous les animaux des deux lots. Les animaux du lot traité doivent ensuite être traités avec le produit duquel on souhaite vérifier l'efficacité.
- Les prélèvements doivent être ensuite stockés à 4°C et les coproscopies réalisées le plus rapidement possible.
- La deuxième visite est réalisée quelques jours après le traitement afin de prélever à nouveau des matières fécales sur les animaux des deux lots. Le délai entre les deux visites de doit pas être trop long afin de ne pas pouvoir observer de strongylose liée à une ré-infestation, mais pas trop court car certaines molécules utilisées peuvent avoir pour effet de stériliser les vers adultes présents dans le système digestif de l'hôte, sans les tuer, en cas de résistance. Cette deuxième visite doit

pour ces raisons être réalisée idéalement 8 à 10 jours après traitement pour les benzimidazoles, et 14 à 17 jours après traitement pour les lactones macrocycliques.

Différentes méthodes de calcul sont décrites pour obtenir une valeur de FECR, avec des résultats qui ne sont pas toujours identiques selon la méthode (Mejía et al., 2003). Le calcul le plus utilisé aujourd'hui est le suivant :

$$FECR (\%) = 100 * \left(1 - \frac{FEC \text{ lot traité}}{FEC \text{ lot témoin}}\right)$$

Où les FEC des lots traité et témoin correspondent aux valeurs moyennes des intensités d'excrétion mesurées lors de la visite post-traitement.

Une valeur de FECRT supérieure à 95% avec la borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95% (calcul fourni en annexe) supérieure à 90% indique que le traitement anthelminthique utilisé reste efficace pour contrôler les strongyloses gastro-intestinales. Un résultat inférieur permet au contraire de conclure à une baisse d'efficacité de la molécule utilisée.

Malheureusement ce test ne détecte pas les cas de résistance précoces, puisqu'on estime qu'il présente une diminution significative que lorsqu'au moins 25% des strongles présents sont résistants à la molécule testée (Devos and Paraud, 2014).

2.3.2 Réalisation de coprocultures afin d'identifier les espèces résistantes

Si la méthode précédente permet de mettre en évidence une baisse d'efficacité d'un anthelminthique vis-à-vis des strongles gastro-intestinaux, il peut être intéressant d'identifier la ou les espèces présentes après traitement. Il est dans ce cas nécessaire de faire évoluer les œufs jusqu'au stade L3 auquel une identification peut être réalisée (identification morphologique ou par PCR, cf partie 1 paragraphe 4.2).

Une fois les différentes espèces présentes identifiées il est théoriquement possible de déterminer l'efficacité de l'anthelminthique pour chacune d'entre-elles. La principale difficulté réside dans le fait que le développement des œufs de strongles en larve L3 peut ne pas se faire de la même façon selon les espèces (Coles et al., 2006). Les proportions relatives d'espèces identifiées au stade L3 peuvent ne pas être identiques à celles existant précédemment au stade des œufs observés lors de la coproscopie.

2.3.3 Protocole clinique complet de mise en évidence de parasites résistants

Réalisation d'un dosage plasmatique de la molécule anthelminthique utilisée

Les différentes spécialités anthelminthiques utilisées dans la lutte contre les strongyloses gastro-intestinales des ovins sont formulées afin d'obtenir une concentration suffisante de la molécule sur son lieu d'action et permettre l'action souhaitée.

Lorsque le FECRT est réalisé afin de tester l'efficacité d'une spécialité anthelminthique et montre une diminution d'efficacité, deux possibilités peuvent être envisagées. D'une part cette action insuffisante peut provenir de l'existence de souches de strongles gastro-intestinaux résistants à la molécule utilisée, rendant difficile voire impossible son action anthelminthique. D'autre part la formulation pharmacologique de la spécialité donnée peut ne pas permettre d'atteindre une concentration plasmatique suffisante de la molécule active, et empêcher ainsi une action correcte contre les strongles gastro-intestinaux. Cette action anormale peut provenir par exemple d'un défaut de la spécialité donnée, ou d'un état métabolique particulier chez les animaux traités.

Afin de discerner un défaut d'exposition d'une résistance avérée du parasite à la molécule considérée, il faut réaliser un dosage plasmatique de la molécule anthelminthique. En effet si la concentration obtenue est inférieure à celle permettant une action anthelminthique, la diminution du FECRT peut provenir d'un défaut d'absorption et / ou de distribution de la molécule chez l'hôte. Si par contre la concentration est suffisante pour permettre une action anthelminthique, cela est plus en faveur de la présence de strongles résistants dans le troupeau.

Protocole de confirmation d'une résistance aux anthelminthiques

Le FECRT et le dosage plasmatique de la molécule anthelminthique permettent d'établir une très forte suspicion de résistance. Il existe toutefois un protocole de confirmation, mis en place et détaillé par Paraud *et al* dans le cadre de la mise en évidence de résistance aux lactones macrocycliques dans le département de la Loire (Paraud *et al.*, 2016).

Ce protocole est mis en place après réalisation d'un FECRT et se déroule en plusieurs étapes.

- Les larves L3 obtenues après coproculture sur les matières fécales prélevées après traitement sont extraites et comptées.
- 12 échantillons de 5000 larves chacun sont ensuite constitués et chacun de ces échantillons est administré à un agneau de 2 mois n'ayant jamais pâturé.
- 35 jours après l'infestation expérimentale une coproscopie individuelle est réalisée pour chaque agneau et deux lots de 6 individus sont constitués en veillant à ce que les poids des agneaux et les FEC mesurés soient équilibrés entre les deux lots. L'un des lots est traité avec la molécule anthelminthique testée, tandis que l'autre ne reçoit aucun traitement et constitue le lot témoin.
- Des dosages plasmatiques les jours suivant l'administration du traitement sont réalisés afin de s'assurer que la concentration de la molécule anthelminthique atteint des niveaux suffisants pour permettre son action.
- 10 jours après le traitement tous les agneaux sont euthanasiés et autopsiés. Les strongles gastro-intestinaux adultes sont recherchés et une identification morphologique est réalisée sur 30 strongles mâles, si possible dans chaque portion du tractus digestif.

Ce protocole est donc très lourd à mettre en place et nécessite de sacrifier des animaux afin de pouvoir récupérer les vers adultes. Pour ces deux raisons il est très rarement utilisé, généralement les enquêtes de résistance n'utilisent que le FECRT et éventuellement le dosage plasmatique afin de conclure quant à l'efficacité d'un anthelminthique donné. (Devos and Paraud, 2014)

2.3.4 Mise en évidence moléculaire de la présence de strongles résistants

Cette méthode consiste à rechercher au niveau de l'ADN des larves obtenues par coproculture après traitement anthelminthique la présence de gènes connus pour être impliqués dans les mécanismes de résistance aux anthelminthiques des strongles gastro-intestinaux. Elle concerne principalement la mise en évidence de résistance aux benzimidazoles, les gènes impliqués dans les mécanismes de résistance aux lactones macrocycliques n'étant pour l'instant pas parfaitement connus (partie 2, paragraphe 2.2.4).

Les larves L3 sont obtenues par coproculture après réalisation des coproscopies sur les prélèvements de matières fécales réalisés après traitement. Leur ADN est ensuite extrait et

une PCR est utilisée en utilisant des amorces et sondes spécifiques aux séquences génétiques connues pour être impliquées dans les phénomènes de résistance. On peut ainsi savoir à l'issue de la PCR si les souches génétiques de strongles présents dans le troupeau concerné sont porteurs d'allèles de résistance (Coles et al., 2006).

2.4 Bonnes pratiques limitant l'apparition de résistances en élevage

Une fois la résistance à un anthelminthique donné bien établie dans une population de strongles gastro-intestinaux, il est très difficile de faire marche arrière et de pouvoir utiliser à nouveau cette molécule. Il est donc fondamental de sensibiliser les éleveurs sur les pratiques à mettre en place afin de limiter au maximum l'apparition de résistance aux anthelminthiques dans leur exploitation.

Afin de limiter la pression de sélection sur les strongles gastro-intestinaux il est nécessaire de conserver une population dite « refuge » (Besier, 2012). Cette population est constituée des parasites non exposés au traitement, qui continueront donc à infester la pâture. En effet l'apparition des mécanismes de résistance chez les strongles semble inévitable. Toutefois le fait de maintenir une contamination des pâtures avec des vers résistants et des vers sensibles permet de diversifier les souches de strongles présentes et ainsi de diluer les individus porteurs d'un allèle de résistance. Lorsqu'un traitement détruit une grande partie des parasites présents, seule la souche résistante se maintient sur la pâture et infeste par la suite les animaux. La lutte contre l'apparition de résistance aux anthelminthiques implique ainsi de maintenir une population refuge en veillant à maintenir un certain niveau d'infestation.

Pour cela plusieurs modes de traitements sont à éviter. Tout d'abord il est recommandé lorsque c'est possible de ne pas traiter la totalité du troupeau, mais seulement les animaux fortement infestés. Les animaux à traiter sont alors choisis selon leur état général, leur âge et leur état physiologique, et les individus non traités permettent de maintenir une certaine population refuge chez les strongles. Afin de limiter la pression de sélection appliquée sur les différentes espèces de parasites il est également nécessaire d'alterner les molécules anthelminthiques utilisées. Cette rotation est importante puisqu'elle permet d'éliminer des espèces de strongles éventuellement résistantes à une seule famille de molécules. C'est pour cette raison que l'emploi de formules longues actions est déconseillé. En effet ces produits anthelminthiques exercent une pression de sélection pendant une longue durée, donnant un

avantage de développement considérable aux souches résistantes par rapport aux autres souches présentes dans la pâture (Jacquiet, 2015b).

La sous-exposition des parasites à une molécule anthelminthique constitue un risque important de sélection d'une souche résistante (Silvestre et al., 2002). Afin d'éviter ce risque de sous-exposition il est également fondamental d'utiliser une dose suffisante de produit, en calculant la dose à partir des recommandations de l'AMM en se basant sur le poids de l'individu le plus lourd du lot à traiter.

Les facteurs favorisant l'apparition des mécanismes de résistance ne sont pour l'instant pas parfaitement connus, et il est par conséquent difficile de savoir exactement quels sont les points les plus importants à maîtriser. Bien que les mesures exposées précédemment semblent avoir un intérêt dans la lutte contre l'apparition de résistances, une méta-analyse publiée en 2014 met en évidence le fait que seule la fréquence d'utilisation des molécules anthelminthique est un facteur de risque significatif sur la vitesse d'apparition des résistances (Falzon et al., 2014).

Partie 3 :
Etude de l'efficacité de l'Eprinex Pour On dans
12 élevages ovins laitiers de race Lacaune du
bassin de Roquefort

Sous-partie A : Etude préliminaire réalisée sur 12 élevages au cours de l'été 2017

1. Motivations de l'étude

Depuis l'obtention de l'AMM de l'Eprinex Multi® en 2016, cette spécialité est devenue de loin la plus utilisée dans la lutte contre les strongles gastro-intestinaux dans les cheptels ovins laitiers en France. C'est en effet à ce jour la seule spécialité anthelminthique disposant d'un délai d'attente nul pour le lait, ce qui présente un atout majeur dans un grand bassin ovin laitier tel que celui de Roquefort. Des études précédentes avaient de plus montré une grande prévalence des résistances aux benzimidazoles dans le bassin de Roquefort (Geurden et al., 2014), ce qui a motivé de nombreux éleveurs à recourir à d'autres familles de molécules utilisables.

L'éprinomectine était utilisée hors AMM depuis 2010 dans certaines exploitations, et le groupement UNICOR avait déjà réalisé entre 2010 et 2015 des études concernant son utilisation, essentiellement pour comparer les voies d'administration en pour-on et orale, et d'évaluer la rémanence de cette molécule. Aucune de ces études ne visait cependant à vérifier l'efficacité correcte de cette molécule dans la lutte contre les strongles gastro-intestinaux.

L'objectif de cette étude est donc de vérifier que l'Eprinex Multi®, administré en pour-on selon les recommandations du fabricant, assure une protection correcte contre les strongles gastro-intestinaux. Les exploitations choisies pour l'étude sont volontairement celles qui l'utilisent de façon répétée depuis 5 ans, car ce sont celles qui sont le plus à risque de présenter des défauts d'efficacité.

2. Matériels et Méthodes

2.1. Sélection des exploitations participant à l'étude

Le choix des élevages participant à cette étude s'est fait grâce à la base de données UNICOR, en utilisant les ordonnances vétérinaires durant la période de 2012 à 2016. La sélection s'est faite en plusieurs étapes :

- ◇ L'éleveur doit avoir traité son troupeau ovin avec de l'éprinomectine au moins trois fois sur les cinq dernières années. Ces recherches faites sur les spécialités Eprinex multi®, Eprizéro® et Eprecis® ont permis de sélectionner 35 éleveurs. Ce nombre est

passé de 35 à 25 après avoir contacté les éleveurs par téléphone pour leur faire confirmer cette utilisation d'éprinomectine.

- ◇ Sur ces 25 élevages présélectionnés, deux avaient traité très récemment leurs brebis et ne pouvaient donc pas entrer dans l'étude. Trois autres n'ont pas souhaité y participer, ce qui porte le nombre d'élevages pouvant participer à l'étude à 20.
- ◇ Sur ces 20 élevages, une première coproscopie de mélange est réalisée afin de s'assurer que l'excrétion d'œufs de strongles gastro-intestinaux est suffisante pour permettre l'évaluation de l'efficacité de l'éprinomectine. Le seuil a été fixé à 300opg pour cette étude. Sept élevages ont alors été éliminés de la sélection car le niveau d'excrétion des œufs était trop faible.

Au final ce sont donc 13 élevages qui ont été sélectionnés pour participer à l'étude. L'un d'eux a été exclu par la suite car le protocole mis en place pour l'étude n'avait pas été respecté, ce qui explique que 12 élevages soient pris en compte dans les résultats. Par la suite ces élevages seront désignés par une lettre de A à L, leur localisation géographique est indiquée dans l'illustration 14.

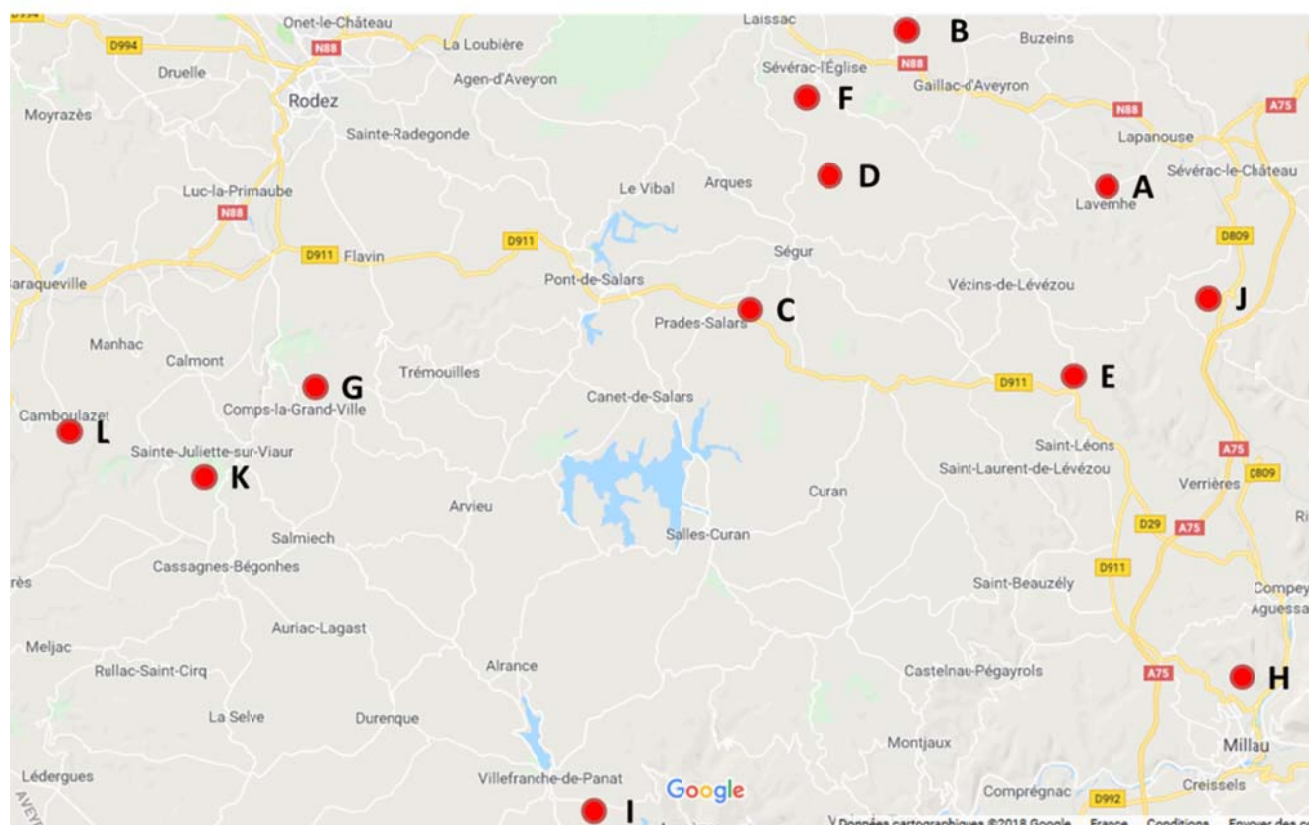


Illustration 14 : localisation des différentes exploitations ayant participé à l'étude menée au cours de l'été 2017

Parmi ces douze élevages, neuf réalisent un traitement de façon systématique sans vérifier auparavant le niveau d'infestation du troupeau, mais onze réalisent un traitement en ciblant spécifiquement les lots les plus à risque (en particulier les jeunes). Sept élevages utilisent l'éprinomectine depuis 5 ans, quatre depuis 6 ans et un seul élevage l'utilise depuis 7 ans (Tableau 12).

Tableau 12 : nombre de brebis présentes dans les 12 exploitations sélectionnées pour cette étude, et traitements anthelminthiques utilisés sur les 5 dernières années.

Exploitation	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
Effectif adultes	430	350	350	510	360	350	560	415	220	200	280	210
Effectif agnelles	160	80	140	170	100	100	220	155	80	40	120	68
Première utilisation éprinomectine	2013	2013	2012	2011	2013	2013	2013	2012	2013	2012	2012	2013
Nombre moyen de traitements éprinomectine / 5 ans	4,3	1,3	2,8	2	2,1	1,9	3,6	1,4	4,3	1,4	3,3	1,3
Nombre moyen de traitements par brebis	5,7	2,8	5,2	7,7	2,1	4,1	10	3	6,1	1,6	6,5	8,6
Nombre de molécules utilisées	2	3	3	4	1	2	4	2	3	2	3	3
Pourcentage utilisation éprinomectine (en %)	75,8	47,6	53,8	26	100	44,8	35,8	47,2	70,4	87,5	50,2	15,6
pourcentage utilisation avermectines (en %)	75,8	47,6	92,3	56,5	100	44,8	40,3	47,2	92,6	100	83,0	58,3

Le nombre de traitements moyens (avec de l'éprinomectine ou avec n'importe quel anthelminthique) est obtenu en divisant le nombre de doses achetées au cours des 5 dernières années par le nombre de brebis présentes dans le troupeau. Certains de ces traitements ont concerné la totalité du troupeau, d'autres ont été réalisés en ciblant certaines classes d'individus. Le nombre de molécules utilisées est estimé sur la base de 5 molécules vendues aux éleveurs : éprinomectine, moxidectine, ivermectine, benzimidazoles, imidazo-thiazole.

2.2 Constitution des lots au sein d'un élevage

Afin de pouvoir réaliser un FECRT le plus fiable possible, le niveau d'excrétion doit être suffisant avant le traitement des animaux. Pour cela seules les antenaises ont été

sélectionnées dans cette étude en raison de leur plus grande sensibilité aux strongles gastro-intestinaux.

Dans chaque élevages deux lots de 12 ou 13 individus sont constitués : le lot traité avec de l'éprinomectine (lot E) et le lot témoin (lot T). La répartition des antenaises dans chacun des deux lots s'est fait dans l'ordre d'arrivée des animaux au cornadis ou en salle de traite.

2.3 Protocole réalisé en élevages

2.3.1 Prélèvement des matières fécales

Lors de la première visite, correspondant au J0, les animaux sont bloqués par l'éleveur au cornadis ou en salle de traite. Les 12 premières antenaises sont marquées à l'aide d'une bombe de couleur et un prélèvement de matières fécales est réalisé en intra-rectal. Ces 12 animaux constituent le lot témoin. Puis les 12 antenaises suivantes sont identifiées à l'aide d'une bombe d'une autre couleur que les témoins, un prélèvement de matière fécale est réalisé de la même façon que pour celles du lot témoin puis les brebis sont traitées comme défini dans la partie suivante.

Tous les prélèvements sont placés dans des sachets et identifiés de manière individuelle avec le numéro de boucle de la brebis prélevée. Ils sont ensuite envoyés le plus rapidement possible à Aveyron Labo pour réalisation des coproscopies.

La deuxième visite est réalisée 12 à 14 jours plus tard uniquement si le niveau d'excrétion était supérieur à 300opg à J0, si ce niveau est plus faible l'étude est abandonnée dans l'élevage concerné car il serait trop difficile de réaliser un test de réduction d'excrétion fiable. Les animaux des deux lots E et T sont prélevés de la même façon qu'à J0, et les prélèvements sont à nouveau conditionnés et identifiés de manière individuelle avant d'être envoyés à Aveyron Labo.

2.3.2 Traitements des animaux du lot Eprinex

Le produit utilisé pour cette étude est Eprinex Multi®. C'est une solution pour-on à base d'éprinomectine ayant reçu une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) pour les ovins. Afin de s'assurer que tous les animaux reçoivent une quantité suffisante de produit, la dose est calculée à partir d'un poids surestimé pour des antenaises de race Lacaune. Le

traitement est réalisé avec une dose de 16mL ce qui correspond à la dose nécessaire pour traiter un ovin de 80kg si on se réfère à l'AMM.

Le traitement des animaux est ensuite réalisé conformément aux recommandations du fabricant de l'Eprinex Multi®. La ligne dorso-lombaire est tondu afin de permettre la pénétration du produit. La dose de 16 mL est ensuite déposée sur la totalité de la ligne dorso-lombaire à l'aide d'un pistolet automatique de marque Philips vidé, désinfecté et re-calibré à chaque changement d'élevage.

2.4 Analyses de laboratoire

Les prélèvements de matières fécales sont envoyés à Aveyron Labo qui réalise dans un premier temps des coproscopies selon la méthode détaillée en annexe, en réalisant une coproscopie de mélange par groupe (témoin ou eprinex) et par jour de prélèvement (J0 ou J14). Ce même laboratoire réalise les coprocultures par groupe et par date et la récolte des larves L3 (un contenant par groupe et par jour de prélèvement), qui sont ensuite envoyées à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse pour identification des espèces présentes par PCR selon la méthode décrite par Milhes et al., 2017.

2.4.1 Réalisation des coproscopies de mélange et calcul du FECR

Des coproscopies de mélange sont réalisées pour chacun des deux groupes témoin et traité, selon la méthode détaillée en annexe.

Le FECR est obtenu en comparant le niveau d'excrétion des brebis appartenant au lot traité par rapport à celles appartenant au lot témoin selon la formule suivante :

$$FECR = 100 * \left(1 - \frac{OPG \text{ lot traité}}{OPG \text{ lot témoin}} \right)$$

La valeur « OPG lot traitée » correspond au résultat de la coproscopie de mélange à J14 pour le lot traité, de même pour le lot témoin.

2.4.2 Réalisation des coprocultures et identification des différentes espèces de strongles

Réalisation des coprocultures

Des coprocultures sont réalisées dès la réception des matières fécales, selon la méthode détaillée en annexe. Les larves L3 sont récoltées 14 jours plus tard et sont par la suite stockées dans de l'eau à +4°C.

Une coproculture est réalisée à J0 et à J14 pour chacun des deux lots T et E, ainsi un contenant spécifique est utilisé pour chaque lot à J0 et à J14.

Extraction de l'ADN des larves L3

L'extraction d'ADN est réalisée à partir de la suspension de larve obtenue après coproculture, à l'aide du kit PowerSoil® DNA Isolation Kit, commercialisé par QIAGEN (ex MO BIO Laboratoires Inc., Saint-Quentin-en-Yvelines, France) et selon le mode opératoire recommandé par le fabricant, présenté en annexe. Les suspensions obtenues sont ensuite conservées à -20°C jusqu'à réalisation de la PCR.

Préparation de la gamme étalon nécessaire à la réalisation de la PCR quantitative

Afin de réaliser les solutions étalons permettant la réalisation de la PCR quantitative, des suspensions de souches pures sont utilisées pour chacune des espèces : la souche Humeau (sud-ouest de la France) pour *H. contortus*, Le Merle (sud de la France) pour *T. circumcincta*, et Weybridge (Angleterre) pour *T. colubriformis*.

Le protocole permettant la préparation de la gamme est identique pour les trois espèces. Pour cela une extraction d'ADN est réalisée sur une suspension de concentration en larves connue (2000 larves/mL) ce qui permet d'obtenir une solution contenant la quantité d'ADN correspondant à cette concentration. Cette solution subit ensuite une série de dilutions de 2 en 2, et les solutions conservées pour la réalisation de la gamme étalon sont celles pour lesquelles la quantité d'ADN correspond à une concentration en larves L3 de 500, 250, 125, 62.5, 31 et 7.5 larves / millilitre de solution.

Réalisation de la PCR quantitative

- Préparation de la plaque

La plaque de PCR utilisée comporte 96 puits répartis en 8 lignes (numérotées de 1 à 8) et 12 colonnes (de A à L). Dans deux colonnes successives (A et B, C et D, etc), le mélange réactionnel est déposé à l'identique afin d'obtenir des duplicats qui permettront de vérifier que la valeur de Ct obtenue n'est pas due au hasard mais bien à l'échantillon sur lequel est réalisée la mesure.

Chaque puit contient deux éléments : un « mix » composé des différents réactifs permettant la réalisation de la qPCR, et l'extraction d'ADN des larves L3 que l'on souhaite tester. On utilise un « mix » composé de quatre éléments :

- QuantiNova Probe PCR Master Mix, QIAGEN
- Eau BSA
- Amorces et sondes présentées ci-dessous

Ce « mix » est différent pour chacune des espèces recherchées car il contient entre autres les amorces et sondes spécifiques à chacune des espèces. Ces amorces et sondes doivent permettre d'amplifier une séquence génétique différente chez chacune des espèces, mais qui varie très peu entre les individus d'une même espèce. Ici la région choisie est la région ITS-2 de l'ADN ribosomal, qui remplit ces conditions, et les séquences des amorces mises au point par Milhes et al sont présentées dans le Tableau 13. Dans notre étude ce sont les amorces forward utilisant la technologie LNA qui ont été utilisées pour la réalisation de la qPCR.

Tableau 13 : séquence des amorces utilisées pour chacune des espèces recherchées lors de la qPCR (Milhes et al., 2017). La base Y signifie que l'on peut retrouver à cette position une base C ou une base T aléatoirement.

Primers and probes	References	Genus		
		<i>Haemonchus</i>	<i>Teladorsagia</i>	<i>Trichostrongylus</i>
Forward primer	McNally et al. (2013)	TCAAGAACATATACATGCA (Tm = 62.9 °C)	GTTCAGAATAACATATGC (Tm = 62.9 °C)	YAGTTYAAGAAYAATAYA (Tm = 60.9 °C)
	LNA forward primer	CA + TATACATGCAAC + G (Tm = 54 °C)	+CAGTT + CAAGAATAA + C (Tm = 51 °C)	AATGGT + CATTRTCAA + A (Tm = 53 °C)
Probe NC2	McNally et al. (2013) Gasser et al. (1993)	TGACATGTATGGCGACGAT	CCGTCGTAACGTTCTGAAT	CCTGTATGATGTGAACGTGT

+N locked nucleic acid

Deux zones peuvent alors être distinguées sur la plaque de PCR : les colonnes A à F sont dédiées à la recherche d'ADN des trois espèces étudiées dans les échantillons, tandis que les colonnes G à L permettent l'obtention de la courbe standard pour chacune des trois espèces. La composition de chacun des puits est représentée dans l'illustration 15.

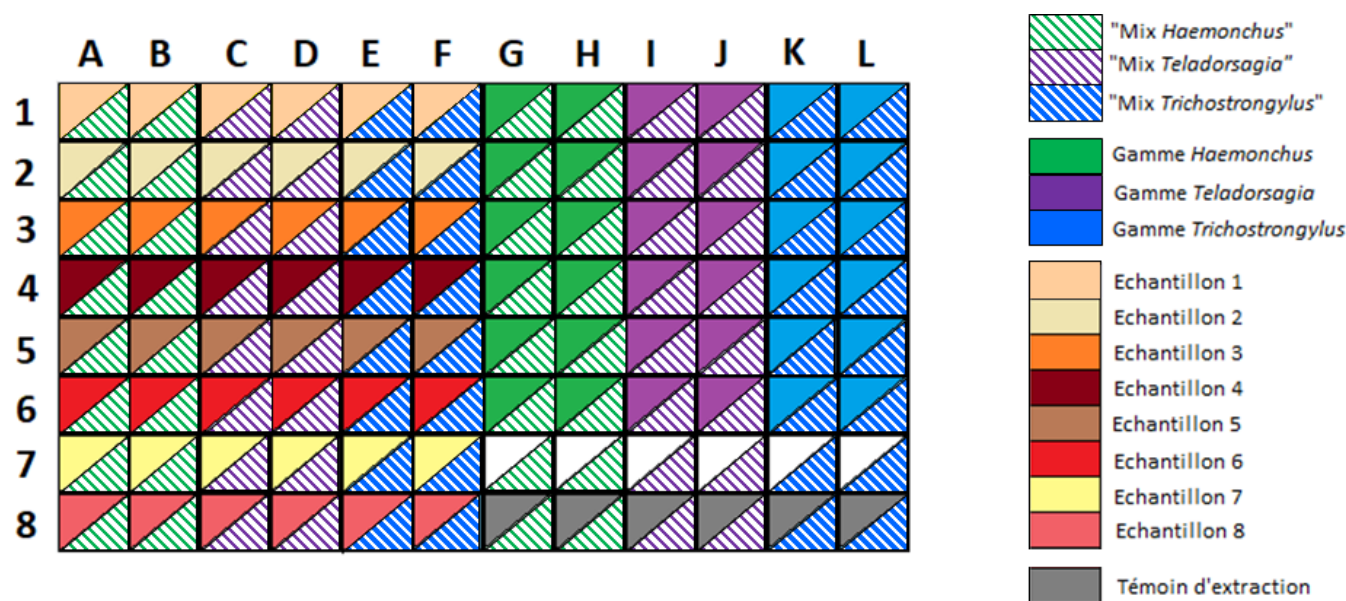


Illustration 15 : plan de remplissage de la plaque de PCR

- Remplissage de la première zone (colonnes A à F) : chaque puit est d'abord rempli de 17.5µL du « mix » adapté à l'espèce recherchée. Les colonnes A et B contiennent le « mix *Haemonchus* », C et D le « mix *Teladorsagia* », et E et F le « mix *Trichostrongylus* ». On ajoute ensuite dans chacun des puits 2.5µL de la suspension issue de l'extraction d'ADN des larves L3, en attribuant une ligne à chacune des suspensions. Un alignement de puits de A à F permet ainsi la recherche de l'ADN des trois espèces de strongles dans un groupe d'animaux à une date donnée. Un exemple de plan de plaque est donné en Illustration 16.
- Remplissage de la deuxième zone (colonnes G à L) : la première étape consiste, comme pour les colonnes précédentes, à distribuer 17.5µL de « mix *Haemonchus* » dans les puits des colonnes G et H, de « mix *Teladorsagia* » dans les colonnes I et J, et de « mix *Trichostrongylus* » dans les colonnes K et L. Chaque ligne de 1 à 6 reçoit ensuite une des suspensions constituant la courbe standard de chacune des espèces (*Haemonchus* pour les colonnes G et H, *Teladorsagia* pour I et J, et *Trichostrongylus* pour K et L). la ligne 1

Tableau 14 : durées et températures appliquées pour les différentes étapes de la qPCR

Etape	Durée	Température
Dénaturation (premier cycle)	2 minutes	95°C
Dénaturation (45 cycles)	30 secondes	95°C
Hybridation – Extension (45 cycles)	1 minute	53°C

Vérification de la validité des résultats

Plusieurs paramètres sont vérifiés avant la validation des résultats donnés par la PCR. Si l'un des points suivants n'est pas respecté, une nouvelle plaque est préparée afin de recommencer la PCR.

- Vérification des valeurs obtenues pour le témoin d'extraction et le témoin négatifs : on doit obtenir dans les puits correspondants des valeurs de Ct très importantes correspondant à un nombre nul de larves de strongles.

Des valeurs de Ct très élevées dans ces puits (valeurs supérieures à 35) permettent de s'assurer que le mix ainsi que le kit d'extraction utilisé pour l'extraction de l'ADN des larves n'étaient pas contaminés par de l'ADN contaminant.

Au contraire des valeurs de Ct basses au niveau des puits contenant le témoin négatif indiquent une contamination d'un des éléments du « mix » utilisé pour la réalisation de la PCR (MasterMix, eau BSA, amorce ou sonde), tandis que des valeurs basses au niveau des puits contenant le témoin d'extraction laissent suspecter une contamination du kit utilisé pour l'extraction d'ADN des larves. Dans ces deux cas de figure la PCR doit être recommencée avec un nouveau mix, après une nouvelle extraction d'ADN si la contamination concerne le kit d'extraction.

- Vérification des courbes standards réalisées pour chacune des espèces : pour chacune des espèces, la gamme permet au logiciel de tracer la courbe standard, dont l'équation est utilisée pour établir la corrélation entre les Ct mesurés et le nombre de larves présentes dans chacun des échantillons. Un exemple de courbe standard donnée par le logiciel est fourni en Illustration 17.

Afin de valider les résultats obtenus, l'efficacité de la PCR calculée par le logiciel doit se situer entre 80% et 120%, dans le cas contraire la manipulation est recommencée. Les points permettant de tracer la courbe doivent être correctement alignés, et il ne doit pas y

avoir d'écart trop important (au maximum 1 Ct) entre les deux valeurs obtenues pour chacun des points de la gamme.

- Vérification de la corrélation entre les deux valeurs pour un même échantillon : lors de la préparation de la plaque destinée à la PCR, deux puits sont remplis de façon identique pour chaque échantillon. Cela permet d'obtenir deux valeurs pour chacun des mélanges et de s'assurer de l'absence de valeur fausse liée à une erreur de manipulation dans un des puits.

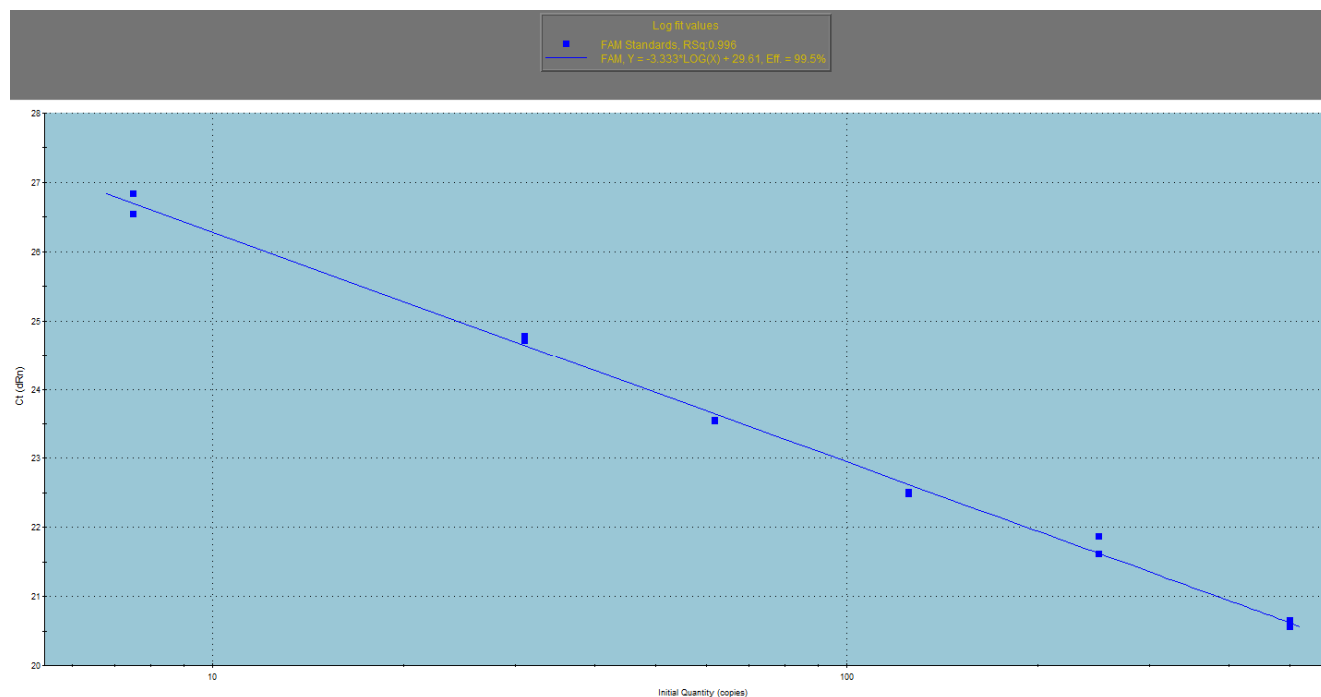


Illustration 17 : courbe standard obtenue le 09/10/18 pour *Trichostrongylus* spp.

Le logiciel trace la courbe standard (Illustration 17) avec en abscisse la concentration de larves contenues dans la gamme, et en ordonnée le log des Ct mesurés pour chacun des puits contenant la gamme *Trichostrongylus*. Il donne alors l'équation de la droite tracée (ici $Y = -3.333 \times \log(X) + 29.61$), et l'efficacité de la PCR (ici 99.5%).

Un comptage manuel des larves est réalisé en parallèle de la réalisation de la PCR afin de pouvoir comparer les résultats obtenus. Pour cela la suspension de larves est mise sous agitation puis une goutte de 40 μ L est placée entre lame et lamelle, et un comptage est réalisé à au grossissement 40. Cette manipulation est réalisée à 10 reprises, la valeur la plus haute et la plus basse sont éliminées puis la moyenne des 8 valeurs restantes est mesurée et multipliée par 25 afin d'obtenir le nombre de larves par millilitre de suspension.

Dans le cas où le comptage manuel des larves est très différent du comptage obtenu suite à la PCR, une identification morphologique des larves L3 est réalisée afin de s'assurer que la différence de comptage ne vient pas de la présence d'une espèce de strongle non prise en compte par la PCR (par exemple le genre *Oesophagostomum*). Dans le cas contraire, si le comptage réalisé par la PCR est différent du comptage manuel malgré l'absence d'autre espèce de strongles, une nouvelle extraction suivie d'une PCR sont réalisées pour la suspension de larve en question.

Calcul du nombre de larves pour chacune des espèces

Le calcul du nombre de larves de chaque espèce dans les différents échantillons est réalisé à l'aide d'un document excel préalablement programmé, dont un exemple est présenté en Illustration 18. Comme expliqué précédemment, deux valeurs de Ct sont disponibles pour chacun des échantillons, et la moyenne de ces deux valeurs est utilisée pour le calcul. Pour chacune des espèces l'équation de la courbe standard est obtenue sous la forme $Y = a * \log(X) + b$. Le calcul du nombre de larve est réalisé en appliquant la formule suivante : $Nb\ larves = 10^{(moyCt-b)/a}$

Echantillons	Haemonchus contortus				Teladorsagia circumcincta				Trichostrongylus colubriformis			
	Ct 1	Ct 2	Moyenne	Nb Larves	Ct 1	Ct 2	Moyenne	Nb Larves	Ct 1	Ct 2	Moyenne	Nb Larves
Exploitation A Eprinex 26/07/17	39,64	42,2	40,92	0,06113572	28,26	28,25	28,255	64,441985	21,75	21,66	21,705	5175,86772
Exploitation A Témoin 26/07/17	27,36	27,34	27,35	117,431119	24,19	24,15	24,17	560,831772	23,99	23,82	23,905	1261,62627
Exploitation A Eprinex 12/07/17	25,67	25,29	25,48	332,859485	21,59	21,51	21,55	2246,49539	20,58	20,47	20,525	11035,759
Exploitation A Témoin 12/07/17	23,46	23,31	23,385	1069,50097	22,11	22,1	22,105	1674,32624	20,58	20,69	20,635	10283,7044
Exploitation B Eprinex 10/07/17	16,16	15,85	16,005	65297,3371	18,92	18,89	18,905	9118,62071	22,2	21,98	22,09	4042,95578
Exploitation B Témoin 10/07/17	18,82	18,71	18,765	14030,3131	20,23	20,11	20,17	4665,99149	20,63	20,54	20,585	10618,9749
Exploitation B Eprinex 27/06/17	19,09	19,36	19,225	10858,3211	20,81	20,79	20,8	3342,15361	22,88	22,99	22,935	2350,88357
Exploitation B Témoin 27/06/17	17,3	16,97	17,135	34791,4952	18,72	18,59	18,655	10409,6496	21,97	22,08	22,025	4215,13904

Echantillons	Nb Hc	Nb tela	Nb Tricho	Nb total	% hc	% tela	% tricho
Exploitation A Eprinex 26/07/17	0	64	5176	5240	0,0	1,2	98,8
Exploitation A Témoin 26/07/17	117	561	1262	1940	6,0	28,9	65,1
Exploitation A Eprinex 12/07/17	333	2246	11036	13615	2,4	16,5	81,1
Exploitation A Témoin 12/07/17	1070	1674	10284	13028	8,2	12,8	78,9
Exploitation B Eprinex 10/07/17	65297	9119	4043	78459	83,2	11,6	5,2
Exploitation B Témoin 10/07/17	14030	4666	40619	59315	23,7	7,9	68,5
Exploitation B Eprinex 27/06/17	10858	3342	2351	16551	65,6	20,2	14,2
Exploitation B Témoin 27/06/17	34791	10410	4215	49416	70,4	21,1	8,5

Illustration 18 : exemple de tableau de résultats obtenu pour les exploitations A et B.

3. Résultats

3.1. Efficacité du traitement à l'Eprinex multi®

Le tableau 14 reprend les valeurs de FEC mesurés à J0 et J14 au sein des lots Eprinex et Témoin pour chacune des exploitations, ainsi que les FECR calculé pour le lot traité.

Tableau 15 : résultats des coproscopies de mélange et valeur de FECRT calculée pour chacun des élevages

Exploitation	Lot Eprinex		Lot témoin		FECR
	FEC à J0 (opg)	FEC à J14 (opg)	FEC à J0 (opg)	FEC à J14 (opg)	
A	850	110	250	425	76
B	800	125	850	375	67
C	4925	425	2425	1575	73
D	700	200	425	550	64
E	1100	75	735	2300	97
F	725	50	700	220	77
G	300	65	150	175	63
H	475	50	375	375	87
I	2150	175	925	800	78
J	850	7	550	250	97
K	425	75	825	300	75
L	900	45	900	650	93

Les valeurs des FEC mesurées à J0 sont toutes supérieures à 250 opg, ce qui valide le calcul des FECR pour chacune des exploitations.

Les valeurs de FECR calculées varient de 63% à 97%. Seules les exploitations E et J ont une valeur de FECR supérieure à 95%, ce qui témoigne d'une efficacité correcte de l'Eprinex multi®.

Pour les 10 autres exploitations ayant participé à l'étude les FECR sont compris entre 63% et 93%. Ces valeurs laissent suspecter un défaut d'efficacité de l'Eprinex multi® dans les élevages considérés.

3.2 Evolution des résultats de FECRT en fonction des pratiques de traitements mises en place dans l'exploitation

3.2.1 Variation du FECR en fonction du nombre de traitements réalisés

La répartition des valeurs de FECR calculées pour chaque exploitation en fonction du nombre de traitement incluant de l'éprinomectine réalisés sur les 5 dernières années est représentée sous forme de nuage de points dans l'illustration 19. On constate que les valeurs de FECR les plus élevées sont observées dans les exploitations ayant réalisé en moyenne moins de 2 traitements par brebis en utilisant de l'éprinomectine. Il ne semble cependant pas exister de corrélation statistiquement significative entre ces deux données.

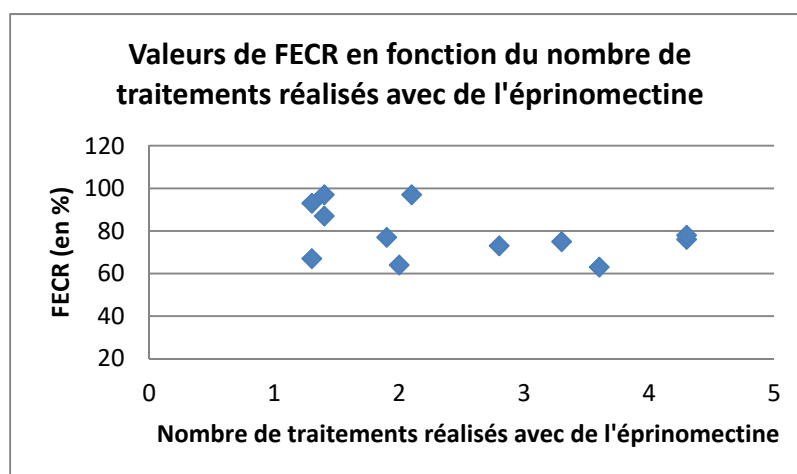


Illustration 19 : distribution des valeurs de FECR en fonction du nombre moyen de traitements éprinomectine par brebis sur les 5 dernières années

La répartition des valeurs de FECR calculées pour chaque exploitation en fonction du nombre de traitement incluant des molécules de la classe des avermectines réalisés sur les 5 dernières années est représentée sous forme de nuage de points dans l'illustration 20. Il ne semble pas y avoir de corrélation statistiquement significative entre ces deux groupes de données. On peut toutefois distinguer une tendance puisque les valeurs de FECR calculées dans les exploitations ayant réalisé 1 ou 2 traitements sur les cinq dernières années sont globalement plus élevées que celles calculées dans les élevages en ayant réalisé 4, 5 ou 6

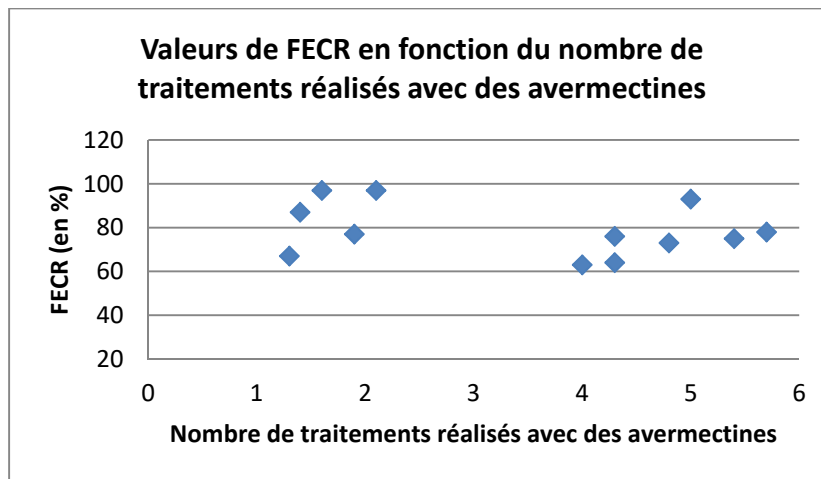


Illustration 20 : distribution des valeurs de FECR en fonction du nombre moyen de de traitements réalisés par brebis à l'aide d'ivermectines sur les 5 dernières années

3.2.2 Variation du FECR en fonction de la proportion d'utilisation d'ivermectines au cours des traitements réalisés

La répartition des valeurs de FECR calculées pour chaque exploitation en fonction de la proportion d'éprinomectine dans les molécules anthelminthiques utilisées pour la réalisation des traitements sur les 5 dernières années est représentée sous forme de nuage de points dans l'illustration 21. Bien qu'il n'y ait pas de corrélation significative entre ces deux groupes de données, une tendance semble se dessiner avec une augmentation des valeurs de FECR mesurées lorsque la proportion d'éprinomectine utilisée augmente.

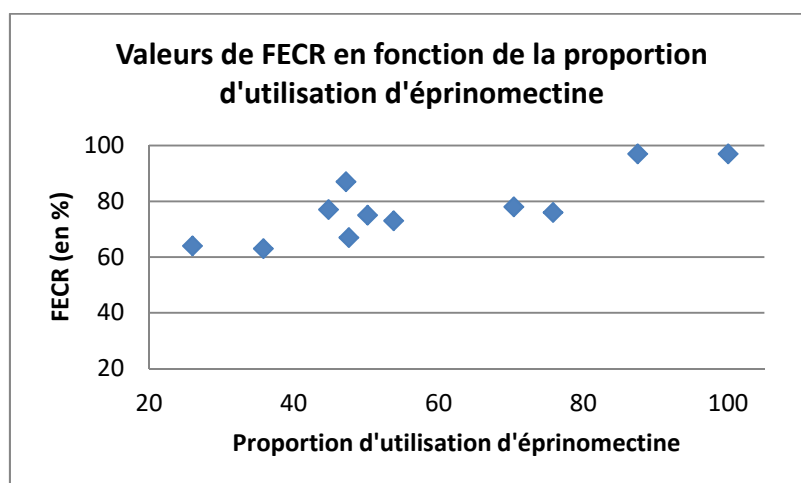


Illustration 21 : distribution des valeurs de FECR en fonction de la proportion d'utilisation d'éprinomectine parmi les traitements anthelminthiques réalisés les 5 dernières années

La répartition des valeurs de FECR calculées pour chaque exploitation en fonction de la proportion d'ivermectines dans les molécules anthelminthiques utilisées pour la réalisation des traitements sur les 5 dernières années est représentée sous forme de nuage de points dans l'illustration 22. On observe que les valeurs de FECR les plus basses sont obtenues dans des exploitations qui utilisent moins de 60% d'ivermectines, tandis que la valeur de FECR la plus haute est obtenue dans une exploitation n'utilisant que des ivermectines. Il n'existe cependant pas de corrélation statistiquement significative entre les valeurs de FECR et la proportion d'ivermectines utilisées dans une exploitation.

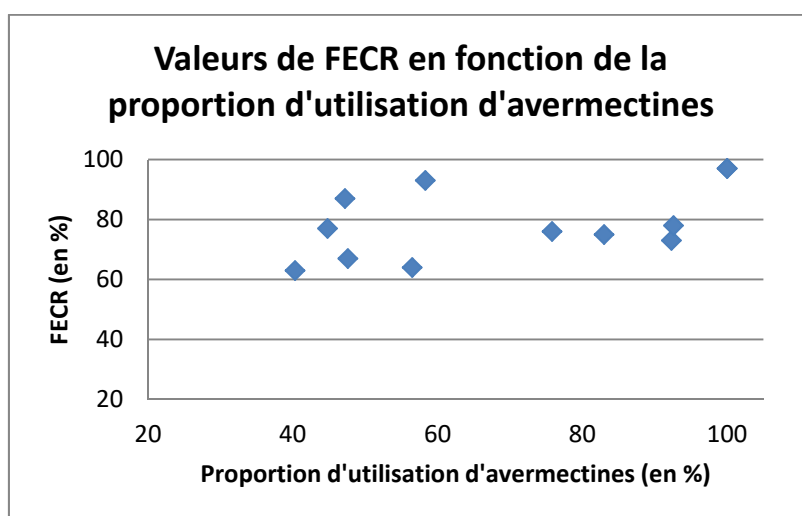


Illustration 22 : distribution des valeurs de FECR en fonction de la proportion d'utilisation d'ivermectines parmi les traitements anthelminthiques réalisés les 5 dernières années

3.3. Helminthofaune présente dans les différentes exploitations étudiées à J0 et à J14

Les proportions relatives des trois principales espèces de strongles gastro-intestinaux (*H. contortus*, *T. circumcincta* et *Trichostrongylus spp*) pour chacune des exploitations sont représentées par l'illustration 23 à J0, et l'illustration 24 à J14.

3.3.1 Helminthofaune présente à J0

Dans 10 des 12 exploitations (B, C, D, E, F, G, H, I, J, L), les résultats sont très semblables à J0 entre les lots témoins et Eprinex.

- Dans les exploitations C, D, L et I, on observe une helminthofaune constituée presque exclusivement par *H. contortus*, les autres espèces étant absentes ou présentes en proportion négligeable.
- Dans l'exploitation G, *T. circumcincta* est quasiment la seule espèce présente
- Dans l'exploitation H, *T. circumcincta* représente environ 90% de l'helminthofaune, le reste étant constitué de *Trichostrongylus spp*.
- Dans les exploitations F, B et E les trois espèces sont présentes en proportion non négligeables. *T. circumcincta* est l'espèce majoritaire dans les exploitations F et B, alors qu'il s'agit d'*H. contortus* dans l'exploitation E. Les deux espèces minoritaires sont présentes en proportion à peu près équivalents dans chacune de ces trois exploitations.

Dans les deux autres exploitations (A et K), on observe une variation de l'helminthofaune entre les lots témoins et Eprinex. Dans l'exploitation K celle-ci concerne uniquement la proportion de *T. circumcincta* qui est plus importante dans le lot témoins au détriment de celle de *Trichostrongylus spp*. Dans l'exploitation A les différences sont plus marquées puisque *H. contortus* est l'espèce majoritaire à 70% dans le lot témoin tandis que c'est le cas de *Trichostrongylus spp* dans le lot Eprinex. Dans les deux lots les deux espèces de strongles restantes sont présentes en quantités équivalentes.

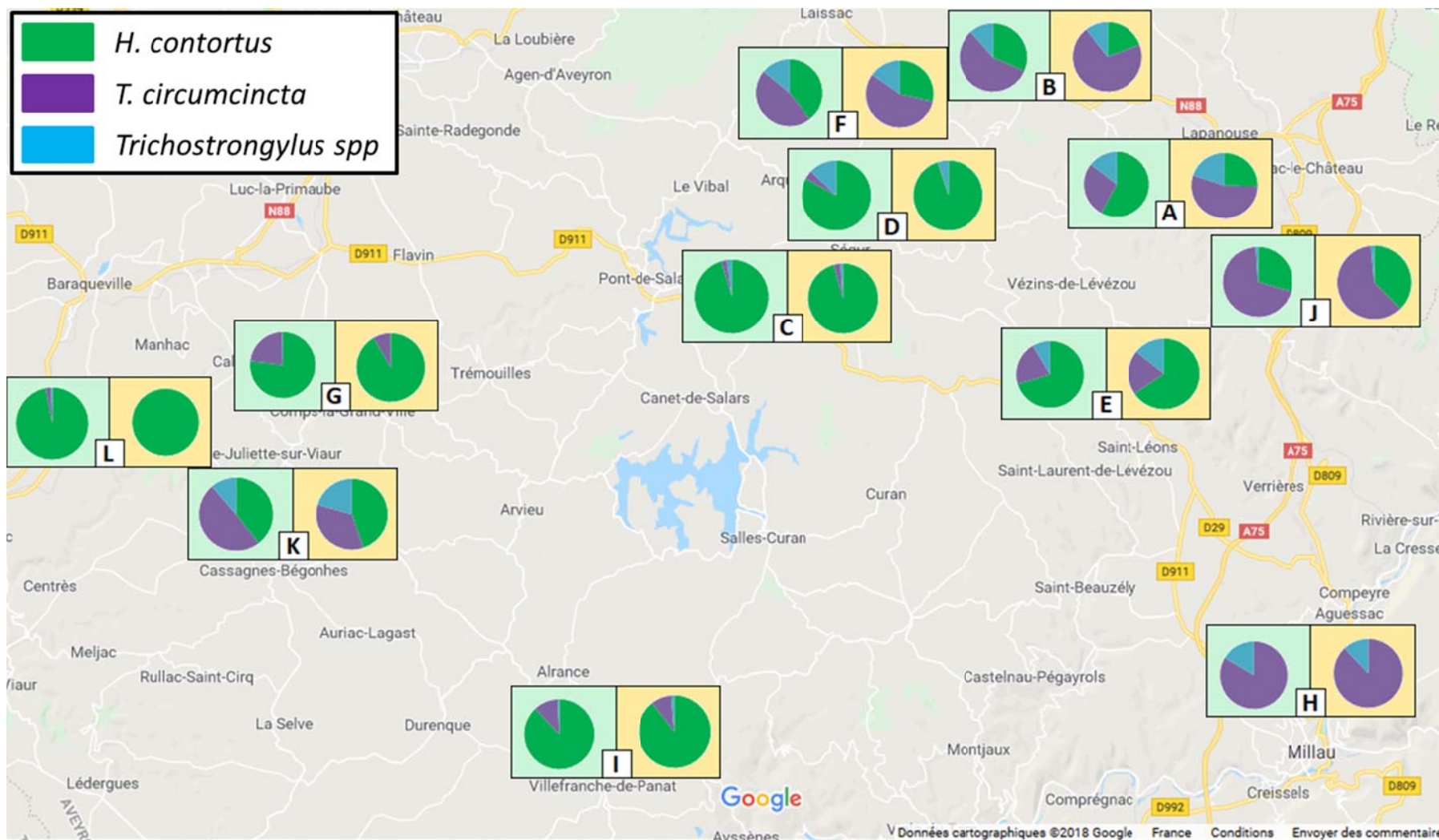


Illustration 23 : helminthofaune dans les différentes exploitations à J0. L'helminthofaune des lots témoins est représentée sur fond vert et celle des lots traités sur fond orange. Les proportions relatives des trois espèces de strongles recherchées sont représentées sous forme de camembert avec le code couleur suivant : vert pour *H. contortus*, violet pour *T. circumcincta* et bleu pour *Trichostrongylus spp.*

3.3.2 Helminthofaune présente à J14

Les proportions relatives des différentes espèces de strongles au sein de l'helminthofaune présente à J14 dans les lots traités et témoins sont représentées sous forme de camemberts dans l'illustration 24.

Dans les exploitations G et E, l'helminthofaune des lots témoins et traités sont pratiquement identiques. On observe dans l'exploitation G une majorité de *T. circumcincta* associée à la présence de *Trichostrongylus spp*, tandis que dans l'exploitation E, l'espèce *H. contortus* est très majoritaire mais on retrouve également les deux autres espèces en plus faibles proportions.

L'helminthofaune des 10 autres exploitations étudiée varie considérablement entre les lots témoins et traités à J14, leur étude va donc être réalisée en deux parties.

Concernant l'helminthofaune des lots témoins, les observations sont très semblables à celles réalisées à J0 pour les exploitations A, C, F, H, I, J et L. Dans les exploitations B et D les trois espèces de strongles sont présentes en proportions pratiquement équivalentes, avec une légère prédominance de *Trichostrongylus spp*. Dans l'exploitation K par contre seule l'espèce *T. circumcincta* est présente dans le lot témoin.

Plusieurs profils peuvent être distingués dans la répartition des espèces au sein des lots traités à J14 post-traitement :

- *Trichostrongylus spp* est l'espèce exclusivement ou quasi-exclusivement présente dans les exploitations A, B, F, H et L. Dans l'exploitation J il représente 75% des espèces présentes, le reste étant constitué principalement d'*H. contortus*
- *H. contortus* constitue l'espèce majoritaire dans les exploitations D et E. On retrouve également des *Trichostrongylus spp* dans ces deux exploitations, par contre *T. circumcincta* est présente dans l'exploitation E mais quasiment absente dans la D.
- Dans l'exploitation I on retrouve *T. circumcincta* et *Trichostrongylus spp* qui représentent chacune environ la moitié de l'helminthofaune.
- *T. circumcincta* constitue environ trois quarts de la population de strongles présents au niveau de l'exploitation G, le quart restant étant représenté par *Trichostrongylus spp*.
- Dans les exploitations C et K, les trois espèces sont présentes en proportions importantes. *T. circumcincta* est l'espèce minoritaire dans l'exploitation C et *Trichostrongylus spp* dans la K, les deux autres espèces étant présentes en quantité équivalente.

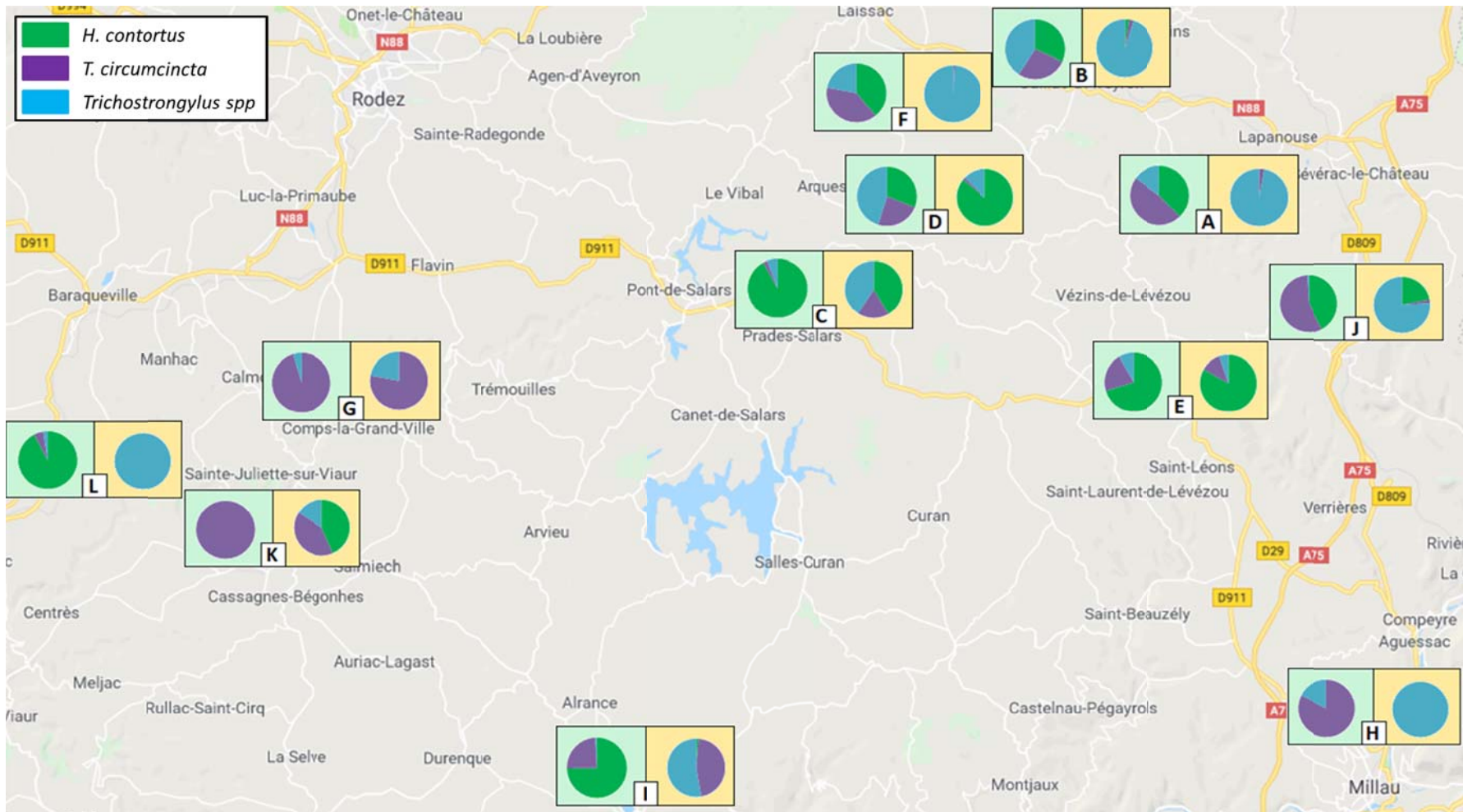


Illustration 24 : helminthofaune dans les différentes exploitations lors du contrôle réalisé 14 jours après le traitement. L'helminthofaune des lots témoins est représentée sur fond vert et celle des lots traités sur fond orange. Les proportions relatives des trois espèces de strongles recherchées sont représentées sous forme de camembert avec le code couleur suivant : vert pour *H. contortus*, violet pour *T. circumcincta* et bleu pour *Trichostrongylus spp.*

3.3.3 Evolution de l'helminthofaune entre J0 et J14

Concernant les lots témoins, on ne constate pas d'évolution dans la composition de l'helminthofaune entre J0 et J14 dans les exploitations C, E, F, H et I. La proportion d'*H. contortus* a diminué de façon discrète dans les exploitations A et L, modérée dans l'exploitation D et très fortement dans l'exploitation G où il a disparu alors qu'il s'agissait de l'espèce majoritaire à J0. Elle a par contre légèrement augmenté dans l'exploitation J.

L'espèce *T. circumcincta* est globalement plus présente à J14 qu'à J0 puisqu'elle a augmenté de façon très importante dans les exploitations G, et K dans laquelle c'est la seule espèce présente à J14. Elle a également progressé dans les exploitations A, D et L même si cette évolution est plus modérée, et elle a par contre diminué légèrement dans l'exploitation J.

En ce qui concerne *Trichostrongylus spp*, sa proportion a faiblement augmenté dans les exploitations B et D, et cette espèce est apparue à J14 dans l'exploitation G.

Les changements sont plus marqués en ce qui concerne les lots Eprinex, à l'exception de l'exploitation K où aucune évolution n'est constatée entre J0 et J14.

- On note globalement une augmentation de *Trichostrongylus spp*. Celle-ci est particulièrement importante dans les exploitations A, B, F, I et J, ainsi que dans les exploitations H où elle devient seule espèce présente, et dans l'exploitation L où elle représente la totalité de l'helminthofaune alors qu'elle y était absente à J0. Elle augmente également de façon moins marquée dans les exploitations C, D, E et G.
- L'espèce *T. circumcincta* a quant à elle pratiquement disparu dans les exploitations A, B, F, H et J alors que c'était l'espèce majoritairement présente à J0. Sa présence a uniquement augmenté dans les exploitations G et I.
- On note également une diminution globale de la proportion d'*H. contortus* dans les helminthofaunes puisque cette espèce a totalement disparu dans les exploitations A, B, G et L. Elle a nettement diminué dans l'exploitation C et de façon plus modérée dans les exploitations D, E et J.

4. Discussion

4.1 Interprétation des tests de réduction d'excrétion fécale (FECRT)

Les résultats des FECRT réalisés dans les 12 élevages ayant participé à l'étude sont préoccupants. En effet dans 10 d'entre-eux les valeurs obtenues sont inférieures à 95% ce qui correspond à une diminution d'efficacité de l'Eprinex multi® et l'existence d'une suspicion concernant la présence de strongles résistants à l'éprinomectine. Ce test seul ne permet toutefois pas d'affirmer qu'il s'agit d'un phénomène de résistance. La fiabilité du test dépend en grande partie de la prévalence de la résistance aux anthelminthique dans la région considérée. Ainsi un résultat de FECRT inférieur à 95% après utilisation de benzimidazoles en France suffit à établir une forte suspicion de résistance, celle-ci étant déjà bien installée dans de nombreuses régions. Il existe au contraire peu d'étude concernant l'efficacité de l'éprinomectine chez le mouton, ce qui permet d'émettre des interrogations concernant les résultats observés ici.

La diminution d'efficacité du traitement peut venir de plusieurs facteurs. La première question concerne l'application du produit en accord avec les recommandations du fabricant. Dans notre cas, ces conditions ont été appliquées, avec un léger surdosage afin de s'assurer que les brebis reçoivent une dose suffisante d'Eprinex multi®.

Une autre question concerne la formulation pour-on du produit. L'utilisation de la voie pour on est déjà controversée depuis quelques années chez les bovins, en raison du sous-dosage qu'elle peut engendrer. En effet son utilisation nécessite une application directement sur la peau en zone propre et non sur les poils, ce qui n'est pas forcément facile à mettre en œuvre en élevage. De plus même s'il est correctement appliqué le phénomène de léchage entre individus peut nuire à l'absorption de la totalité du produit appliqué, comme cela a pu être montré dans le cadre de l'application d'ivermectine en pour-on (Bousquet-Mélou et al., 2011). La question se pose donc de savoir si la formulation en pour-on de l'éprinomectine permet une absorption suffisante du produit pour permettre l'effet anthelminthique attendu, d'autant que plusieurs essais réalisés sur les caprins ont pu mettre en évidence que la voie pour-on ne semblait pas être la plus efficace lors de la réalisation de traitements à l'éprinomectine (Devos and Rostang, 2017). Pour répondre à cette question des études plus approfondies seraient nécessaires avec un dosage plasmatique de l'éprinomectine après traitement. Si celui-ci atteint la valeur seuil permettant un bon effet anthelminthique la formulation pour-on du produit ne pourra pas être mise en cause dans la diminution d'efficacité observée.

La famille des avermectines dont l'éprinomectine fait partie se caractérise par ailleurs par son caractère lipophile (Bassissi et al., 2004). Le stockage dans les graisses de l'animal traité et son relargage est important afin de permettre d'obtenir une concentration suffisante pour observer l'effet anthelminthique. Des brebis ayant une faible réserve graisseuse lors de l'administration du produit risquent donc de ne pas être correctement traitées contre les strongles. L'état corporel des brebis au moment du traitement n'a pas été scoré lors de cette étude, toutefois les personnes ayant procédé à la réalisation des prélèvements attestent d'un état d'engraissement globalement correct dans la plupart des élevages ayant participé à l'étude.

La diminution d'efficacité du traitement observée ici n'est donc pas nécessairement liée à la présence de strongles résistants à l'éprinomectine. Afin de s'en assurer il faudrait réaliser le protocole plus complet détaillé dans le paragraphe 2.3.3 de la partie 2. Il est toutefois important de savoir si la formulation Pour On de l'Eprinex multi® n'est pas à l'origine d'une biodisponibilité insuffisante de la molécule, auquel cas l'exposition répétée des strongles gastro-intestinaux à des doses duboptimales dans de nombreuses exploitations ovines pourrait constituer un facteur de risque important d'apparition de résistance. Une étude plus approfondie serait donc nécessaire afin de s'assurer de l'absorption correcte de l'éprinomectine en formulation pour-on.

4.2 Recherche de l'existence d'une corrélation entre les pratiques de traitement mises en place dans l'exploitation et les résultats du FECRT

Compte tenu des différences observées dans les valeurs des FECRT des différentes exploitations, la question se pose concernant un éventuel lien entre ces valeurs et les pratiques mises en place. Pour cela il faut bien sur prendre en compte les traitements réalisés à l'aide d'éprinomectine, mais dans le cadre d'une recherche de strongles résistants à cette molécule il est également important de prendre en compte les traitements réalisés à l'aide d'autres spécialités à base d'ivermectine. En effet les mécanismes de résistance aux anthelminthiques mis en place par les strongles sont identiques pour toutes les molécules de cette famille, et des traitements répétés à l'aide d'ivermectine ou de doramectine peuvent favoriser l'apparition d'une résistance à l'éprinomectine.

Aucun lien statistiquement significatif n'a pu être mis en évidence entre le nombre de traitements ou la proportion d'éprinomectine utilisée, et les valeurs de FECRT calculées. Les

valeurs de FECRT semblent toutefois diminuer lorsque le nombre de traitements à l'éprinomectine ou autres avermectines sur les cinq ans augmente. Cette observation est en accord avec les précédentes études concernant les facteurs de risque dans l'apparition de résistance aux anthelminthiques (Falzon et al., 2014).

On observe au contraire une augmentation du FECRT avec la proportion d'utilisation de l'éprinomectine dans les traitements réalisés. Ce résultat est plus étonnant étant donné que l'utilisation exclusive d'une molécule ou classe de molécules anthelminthiques semble constituer un facteur de risque à l'apparition de résistances (partie 2, paragraphe 2.4). Le faible nombre de valeurs impliquées dans la réalisation de ce graphique ne permet toutefois pas de conclure concernant cette évolution.

4.3 Impact du traitement à l'Eprinex multi® sur l'helminthofaune

La réalisation d'une identification par PCR des espèces de strongles présentes met en évidence une évolution entre J0 et J14. Cette observation permet de constater que malgré l'efficacité du traitement anormalement basse démontrée par le FECRT, le traitement réalisé a eu un impact sur l'helminthofaune au sein des brebis du lot Eprinex des différentes exploitations.

L'évolution présente dans les lots témoins démontre que le calcul des proportions des différentes espèces de strongles représente une photographie de la situation de l'élevage à un instant donné, mais que cette répartition n'est pas figée et évolue au cours du temps. Elle est également soumise aux conditions de stockage des prélèvements et les conditions d'ambiance lors de la réalisation de la coproculture (Roerber and Kahn, 2014). En effet les conditions de températures et d'humidité permettant un développement optimal des larves L3 varie selon l'espèce de strongle considérée (O'Connor et al., 2006). Si les paramètres d'ambiance appliqués lors de la réalisation des coprocultures ne sont pas strictement identiques entre le J0 et le J14 il y a donc un risque de sélectionner et donc d'augmenter la proportion d'une espèce par rapport aux autres. Un autre paramètre à prendre en compte concerne la nette variation du nombre total de larves comptabilisées entre J0 et J14 dans certaines exploitations. Dans les exploitations A, B, C, D, F, H et L les proportions sont calculées sur un nombre de larves plus faible à J14 qu'à J0 (données fournies en annexe). De plus cette diminution du nombre de larves n'est associée à une diminution du FEC que dans les exploitations B, C et F. Dans les autres, la diminution du nombre de larves n'étant pas associée à une diminution du nombre d'œufs, la question du rendement de la coproculture se pose. En effet si les conditions de

coproculture ont entraîné une diminution du rendement, il est possible que cette diminution se soit faite au profit d'une espèce par rapport aux autres.

Les évolutions observées dans les lots témoins démontrent la difficulté de mettre en œuvre une coproculture permettant d'établir les proportions exactes des différentes espèces de strongles présentes au sein des exploitations. Toutefois les variations des lots témoins sont beaucoup moins importantes que celles observées dans le lot eprinex, ce qui permet de constater que le traitement à l'aide d'Eprinex multi® semble avoir un impact différent selon l'espèce de strongles considérée. Dans sept des douze exploitations étudiées (A, B, F, H, I, J et L) *Trichostrongylus spp* est présente de façon nettement plus importante à J0 par rapport à J14, sans que cette évolution ne soit visible dans les lots témoins. Les conditions d'ambiance mises en place lors de la coproculture sont identiques pour les lots témoins et traités. Le fait qu'une espèce soit favorisée dans un lot et pas dans l'autre n'est donc pas en faveur de l'hypothèse selon laquelle cette augmentation des proportions serait liée aux conditions de manipulation.

Bien que l'augmentation des proportions de *Trichostrongylus spp* ne soit pas visible dans toutes les exploitations, il semblerait donc que le traitement à l'aide d'Eprinex Multi® présente une meilleure efficacité sur *H. contortus* et *T. circumcincta* que sur *Trichostrongylus spp*.

Sous-partie B : Confirmation des résultats dans 4 élevages au cours de l'automne 2017

1. Motivations de l'étude

L'étude précédente met en évidence des valeurs de FECR étonnamment basses alors que l'Eprinex multi® semblait jusqu'alors être un produit efficace dans le traitement des strongyloses gastro-intestinales des ovins dans le bassin de Roquefort. Ces valeurs ont toutefois été établies à l'aide de valeurs OPG obtenues lors de coproscopies de mélange, et malgré les fortes corrélations existantes entre les résultats obtenus par coproscopie individuelle et de mélange (Rinaldi et al., 2014), le calcul de l'OPG par coproscopie individuelle reste la méthode de référence dans l'évaluation de l'efficacité des traitements anthelminthiques.

Cette étude, réalisée au cours de l'automne 2017, a donc pour but de reprendre le protocole mis en place au cours de l'été 2017 en utilisant des coproscopies individuelles afin de vérifier l'exactitude des mesures de FECR calculées, et de pouvoir avancer sur l'étude de l'efficacité du traitement à base d'Eprinex multi® dans le contrôle des strongyloses gastro-intestinales des ovins laitiers du bassin de Roquefort.

2. Matériels et méthodes

2.1 Choix des élevages participant à l'étude et constitution des lots

Le choix des élevages participant à l'étude s'est fait en tenant compte des résultats obtenus lors de l'étude préliminaire. Nous avons tout d'abord voulu privilégier les élevages pour lesquels le FECR était le plus bas, afin de vérifier que le manque d'efficacité du produit était bien réel dans ces élevages, et ne venaient pas d'un biais de manipulation ou d'analyse.

Parmi ces élevages certains ne pouvaient pas être inclus dans cette étude suite à la réalisation récente d'un traitement antiparasitaire sur les animaux, ne permettant pas d'avoir un niveau d'excrétion suffisant pour le calcul correct d'un FECR.

Les quatre élevages ayant finalement été sélectionnés sont les élevages A, B, C et D pour lesquels les FECR calculés lors de l'étude préliminaire étaient respectivement de 76, 67,

73 et 64. Les caractéristiques principales de chacun de ces 4 élevages sont regroupées dans le Tableau 12.

Les lots au sein d'un élevage sont ensuite réalisés de la même façon que lors de l'étude préliminaire de l'été 2017. Les animaux sélectionnés afin de constituer les lots Eprinex et témoin ne sont donc pas nécessairement les mêmes lors de l'été 2017 et lors de l'automne suivant.

2.2 Protocole réalisé en élevage

Le protocole réalisé dans les élevages est le même que celui présenté dans la sous-partie A et détaillé dans les paragraphes 2.3.1 et 2.3.2.

2.3 Méthodes d'analyse des prélèvements

Cette fois, toutes les analyses ont été réalisées à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

2.3.1 Réalisation des coproscopies individuelles et calcul du FECR

Les coproscopies sont réalisées de manière individuelle pour chacun des deux groupes témoin et traité, selon la méthode de MacMaster modifiée par Raynaud détaillée en annexe.

Le FECR est obtenu en comparant le niveau d'excrétion des brebis appartenant au lot traité par rapport à celles appartenant au lot témoin selon la formule suivante :

$$FECR = 100 * \left(1 - \frac{OPG \text{ lot traité}}{OPG \text{ lot témoin}} \right)$$

La valeur « OPG lot traitée » est obtenue en faisant la moyenne des opg individuels obtenus à J14 pour chacun des animaux du lot traité, de même pour le lot témoin.

Pour chacun des FECR, un intervalle de confiance à 95% est calculé suivant la méthode détaillée en annexe.

2.3.2 Réalisation des coprocultures et identification des différentes espèces de strongles

Les coprocultures ainsi que l'identification des différentes espèces de strongles présentes dans les fèces sont réalisées selon les mêmes protocoles que ceux présentés dans l'étude préliminaire (sous partie-A, paragraphe 2.4.2).

3. Résultats

3.1 Test de réduction d'excrétion

Les moyennes ainsi que les intervalles de confiance à 95% des FEC mesurés dans les lots témoins et Eprinex de chacune des exploitations sont regroupés dans le Tableau 16. Les résultats des coproscopies individuelles ayant permis le calcul de ces FEC moyens sont présentés en annexe.

Tableau 16 : moyenne des FEC des lots Témoin et Eprinex dans chacune des exploitations et résultats du FECRT suite au traitement à l'Eprinex multi®

Exploitation	Lot Eprinex		Lot témoin		FECR (en %)	IC 95%
	FEC à J0 (en opg)	FEC à J14 (en opg)	FEC à J0 (en opg)	FEC à J14 (en opg)		
A	617	71	158	371	83,6	50,8 – 94,5
B	452	139	567	581	74,1	26,7 – 90,8
C	486	55	1050	506	84,6	49,8 – 95,2
D	414	29	108	39	Non évaluable	

Dans l'exploitation D les niveaux d'excrétion à J14 dans les lots témoin et Eprinex sont trop bas pour permettre de calculer correctement un FECR. L'efficacité du traitement n'est donc pas évaluable dans cet élevage.

Dans les exploitations A, B et C le FECR calculé varie entre 74,1% et 84,6%. De plus la borne inférieure de l'intervalle de confiance est comprise entre 26,7% et 50,8%. Le FECR est donc inférieur à 95% avec la borne inférieure de son intervalle de confiance inférieure à 90%, ce qui permet de conclure à diminution de l'efficacité de l'Eprinex Multi® dans chacun de ces trois élevages.

3.2 Helminthofaune

Les helminthofaunes des différentes exploitations à J0 sont représentées par l'illustration 25, tandis que celles présentes à J14 le sont par l'illustration 26. Les tableaux reprenant les valeurs détaillées ainsi que le nombre total de larves sont présentés en annexe. En raison du trop faible niveau d'infestation des brebis de l'exploitation D observé lors de la réalisation du FECRT, les coprocultures n'ont pas permis d'obtenir un nombre de larves suffisant pour une interprétation correcte de l'évolution de l'helminthofaune. Les résultats obtenus sont donc présentés en annexe mais ne sont pas pris en compte dans cette étude.

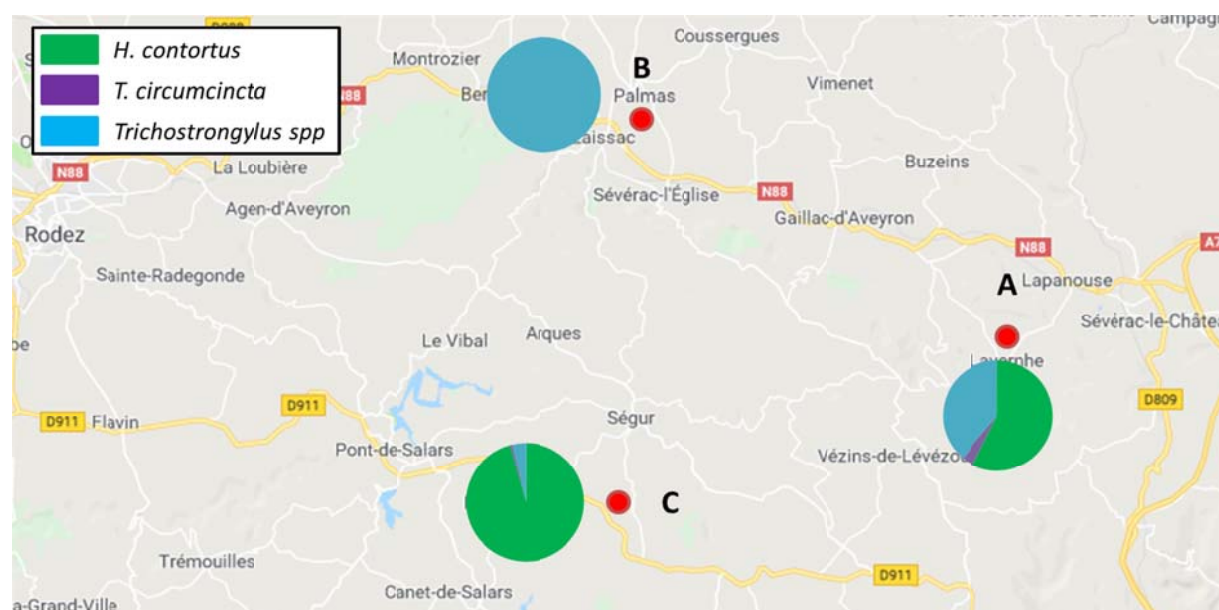


Illustration 25 : helminthofaune dans les différentes exploitations à J0 lors de la confirmation réalisée pendant l'automne 2017. Les proportions relatives des trois espèces de strongles recherchées sont représentées sous forme de camembert avec le code couleur suivant : vert pour *H. contortus*, violet pour *T. circumcincta* et bleu pour *Trichostrongylus spp*.

Les résultats à J0 étant très proches entre les lots témoin et eprinex à J0, seuls les helminthofaunes des lots Eprinex sont représentées par l'illustration 25.

Dans l'exploitation A deux espèces sont présentes en proportion importante (*Trichostrongylus spp* et *H. contortus*) tandis que *T. circumcincta* est présente en très faible quantité. Dans l'exploitation B on retrouve exclusivement *Trichostrongylus spp*, et dans l'exploitation C l'helminthofaune est composée à 95% d'*H. contortus*, *T. circumcincta* et *Trichostrongylus spp* étant présents mais en quantité négligeable.

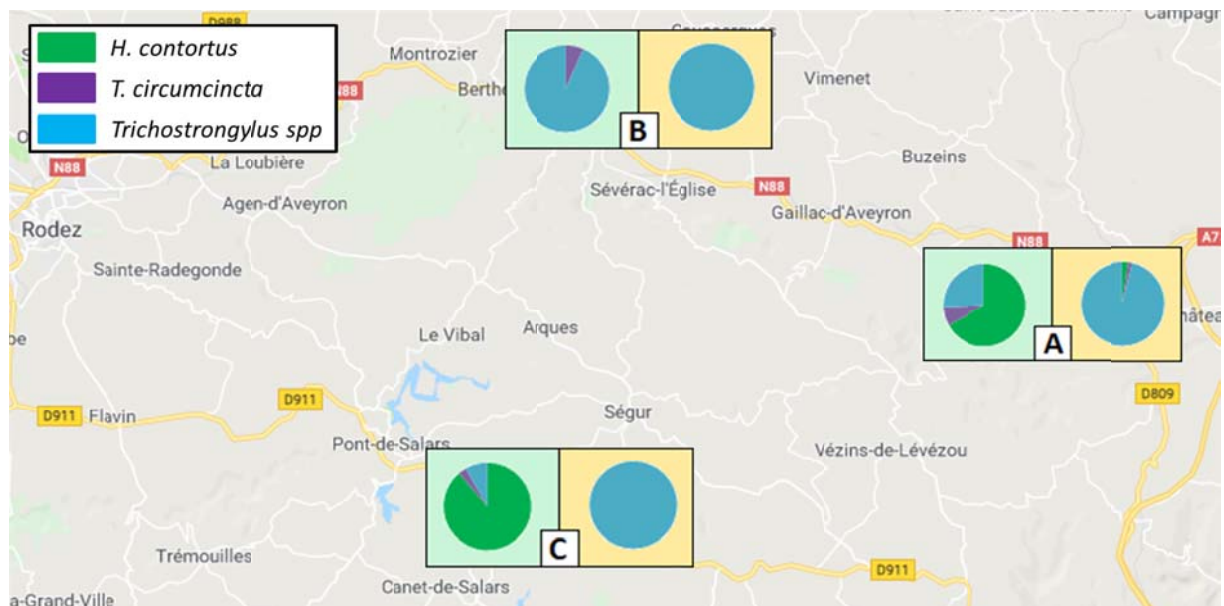


Illustration 26 : helminthofaune dans les différentes exploitations à J14 lors de la confirmation réalisée pendant l'automne 2017. Les résultats des lots témoins sont représentés sur fond vert et ceux des lots traités sur fond orange. Les proportions relatives des trois espèces de strongles recherchées sont représentées sous forme de camembert avec le code couleur suivant : vert pour *H. contortus*, violet pour *T. circumcincta* et bleu pour *Trichostrongylus spp*.

L'helminthofaune des lots témoins a globalement peu évolué entre le point de contrôle réalisé à J0 et celui réalisé à J14. La proportion d'*H. contortus* a un peu augmenté au détriment de celle de *Trichostrongylus spp* dans l'exploitation A, et on constate peu d'évolution dans l'exploitation C. *Trichostrongylus spp* reste très majoritaire dans l'exploitation B mais on note la présence en petite quantité de *T. circumcincta*, qui était absent à J0.

On constate à l'inverse une nette variation concernant les lots traités avec l'Eprinex mutli®. En effet *Trichostrongylus spp* devient l'espèce très majoritaire voire exclusivement présente dans toutes les exploitations. L'helminthofaune n'a donc pas été modifiée au niveau de l'exploitation B ou c'était déjà la seule espèce présente à J0, par contre l'évolution est nette dans les exploitations A et C. Dans l'exploitation C *Trichostrongylus spp* devient la seule espèce présente alors qu'elle était présente en très faible quantité à J0, et sa proportion dans l'exploitation A évolue de 39% à J0 vers 96% à J14.

4. Discussion

4.1 Evaluation de l'efficacité du traitement à l'aide d'Eprinex multi®

Cette deuxième partie de l'étude concernant l'efficacité de l'Eprinex multi® dans la lutte contre les strongles gastro-intestinaux a pour but de confirmer ou infirmer les résultats observés suite aux manipulations réalisées pendant l'été 2017 (partie 3, sous-partie A). Au moment de la réalisation de ces confirmations, seuls quatre exploitations parmi les douze ayant présenté des défauts d'efficacité de l'Eprinex multi® présentaient un FEC suffisant pour permettre la réalisation d'un FECRT.

Malgré la réalisation de coproscopies d'inclusion, les résultats des FEC obtenus dans l'exploitation D à J14 se sont révélés trop faibles pour la réalisation d'un FECRT exploitable. Cette exploitation a donc été exclue de l'étude.

Dans les exploitations A, B et C les résultats obtenus sont tous inférieurs à 95%. Ces confirmations ayant été réalisées à partir de coproscopies individuelles, des intervalles de confiance ont pu être calculés et la borne inférieure de cet intervalle est inférieure à 90% pour les trois exploitations. Le FECRT réalisé dans cette étude confirme donc l'existence d'un défaut d'efficacité de l'Eprinex multi® suspecté suite à l'étude de l'été 2017. Il ne permet cependant pas de répondre concernant l'origine de ce défaut d'efficacité. Celle-ci peut une nouvelle fois être liée à la formulation pour-on de l'Eprinex multi® qui ne permettrait pas une biodisponibilité suffisante de la molécule et une action anthelminthique correcte, ou à la présence de souches de strongles gastro-intestinaux ayant développé des mécanismes de résistance à l'éprinomectine.

4.2 Impact du traitement anthelminthique sur l'helminthofaune des exploitations

L'impact du traitement à l'Eprinex multi® sur l'helminthofaune des exploitations A, B et C est plus marqué dans cette étude que dans celle réalisée au cours de l'été. En effet *Trichostrongylus spp* est la seule espèce de strongles présente après traitement dans les exploitations B et C et représente environ 95% de l'helminthofaune dans l'exploitation A. Dans les exploitations A et C, *H. contortus* représentait l'espèce très majoritaire à J0 et a presque totalement disparu après traitement.

Ces évolutions de l'helminthofaune entre J0 et J14 pourraient éventuellement venir des conditions de réalisation des coprocultures, toutefois celles-ci ont été réalisées dans des conditions strictement identiques pour les lots Eprinex et témoin, et presque aucune variation n'est visible dans les lots témoins.

La sélection de *Trichostrongylus spp* n'étant donc à priori pas liée aux conditions d'analyse des prélèvements, elle renforce la suspicion de résistance établie suite à la réalisation du FECRT. En effet le traitement à l'Eprinex multi® étant efficace sur les espèces de strongles *T. circumcincta* et *H. contortus*, ce résultats conduit à suspecter l'existence d'une souche de *Trichostrongylus spp* qui pourrait être résistante à l'éprinomectine ou, tout au moins, en capacité de résister à de plus faibles expositions à l'éprinomectine, dans les exploitations considérées.

Les résistances à l'éprinomectine sont toutefois pour l'instant très présentes dans certaines régions du monde mais peu décrites sur le territoire français, bien que certaines suspicions de résistance aient récemment été établies dans un élevage caprin des Pyrénées (Philippe Jacquet, communication personnelle). Ce seul résultat ne suffit donc pas à conclure à l'existence d'une souche de *Trichostrongylus spp* résistante à l'éprinomectine dans ces exploitations. Une étude plus approfondie serait nécessaire, avec dans un premier temps un dosage plasmatique de l'éprinomectine afin d'exclure un défaut d'absorption de la molécule lié à la formulation pour-on, et dans le cas où cette mesure serait correcte, l'infestation expérimentale d'agneaux de bergerie afin de confirmer la résistance (comme décrit dans le paragraphe 2.3.3 de la partie 2).

Conclusion

Cette étude a permis de mettre en évidence des résultats préoccupants concernant l'efficacité de l'Eprinex Multi® dans la lutte contre les strongles gastro-intestinaux en élevage ovin laitier du rayon de Roquefort. Douze élevages ont participé à la première étude dans laquelle seules des coproscopies de mélange ont été réalisées, et un défaut d'efficacité a été observé dans dix d'entre-eux. Ces résultats ont par la suite été confirmés à l'aide de réalisation de coproscopies individuelles dans trois de ces exploitations.

Le protocole mis en place ne permet toutefois pas d'affirmer qu'il s'agit ici de résistance à l'éprinomectine, ce défaut d'efficacité pouvant également être dû à une mauvaise absorption de la molécule de par la formulation Pour-On de l'Eprinex Multi®. Afin de répondre de manière certaine à cette question une étude plus complète serait nécessaire avec au minimum un dosage plasmatique de l'éprinomectine qui permettrait de s'assurer de l'absorption correcte de la molécule. Cependant la sélection de *Trichostrongylus spp* après réalisation des traitements laisse suspecter l'existence de mécanismes de résistance dans une souche de cette espèce.

Une spécialité à base d'éprinomectine injectable déjà présente sur le marché pour l'espèce bovine devrait bientôt obtenir une AMM dans l'espèce ovine. La réalisation d'une étude plus approfondie serait donc intéressante afin de savoir si l'éprinomectine injectable présente une bonne efficacité dans ces élevages où l'Eprinex multi® ne semble plus suffire à une lutte correcte contre les strongles gastro-intestinaux.

Partie 4 :

**Etude de l'efficacité de l'Oramec® (ivermectine
par voie orale) et de la Cydectine® orale
(moxidectine) dans 9 élevages ovins allaitants de
race Lacaune du bassin de Roquefort**

1. Motivations de l'étude

Les résistances aux anthelminthiques constituent aujourd'hui un problème de plus en plus important en élevage ovin. En effet la lutte contre les strongles gastro-intestinaux est indispensable afin de maintenir un état de santé et une productivité correcte chez les animaux. Toutefois un grand nombre de molécules utilisées par le passé, en particulier celles de la famille des benzimidazoles, ne sont plus efficaces aujourd'hui. Une étude menée en Aveyron en 2012 avait mis en évidence une résistance aux benzimidazoles dans les 5 exploitations étudiées (Geurden et al., 2014).

L'utilisation des lactones macrocycliques s'est donc répandue, de par leur facilité d'usage et l'absence de résistance identifiée dans le bassin de Roquefort jusqu'à présent. Cette étude a donc pour objectif d'évaluer l'efficacité de deux lactones macrocycliques, l'ivermectine et la moxidectine, dans la lutte contre les strongles gastro-intestinaux des ovins dans le bassin de Roquefort. Ces molécules étant peu utilisées dans les exploitations ovines laitières en raison de temps d'attente dans le lait, les élevages inclus dans cette étude sont exclusivement ovins allaitants.

Cette étude a été menée avec les vétérinaires du groupement UNICOR, ainsi que Chloé Imbourg, étudiante en BTS « production animales » au lycée agricole de Saint-Affrique ayant réalisé son stage de BTS au sein du groupement UNICOR afin de participer à ce projet.

2. Matériel et méthode

2.1 Choix des élevages participant à l'étude

La sélection des éleveurs participant à l'étude a été réalisée en utilisant la base de données du groupement UNICOR. La première étape dans cette sélection était l'utilisation de lactones macrocycliques (Ivermectine et Moxidectine) de façon régulière depuis au moins cinq ans, afin de cibler les exploitations dans lesquelles les modes de traitement représentaient un risque d'apparition de strongles résistants. Les recherches effectuées sur les ventes de Cydectine® orale et d'Oramec® sur les cinq dernières années ont permis d'identifier 23 élevages correspondant à ce critère.

Les éleveurs ont par la suite été contacté par téléphone afin de vérifier leur utilisation régulière de ces deux spécialités, et de connaître la date du dernier traitement anthelminthique réalisé dans leur élevage. Enfin cette étude leur était présentée afin de savoir s'ils souhaitaient y participer.

Après avoir obtenu l'accord de l'éleveur, une coproscopie d'inclusion était réalisée afin d'estimer le niveau d'infestation parasitaire de l'élevage. Pour cela une coproscopie de mélange est réalisée à partir de prélèvements de matières fécales réalisés sur 15 antenaises choisies aléatoirement, envoyés en conditionnements individuels à Aveyron Labo. L'exploitation concernée n'est incluse dans l'étude que si le résultat de la coproscopie de mélange est supérieur à 150opg. Un résultat plus bas ne permet pas une évaluation fiable de l'efficacité des anthelminthiques. Les premières coproscopies d'inclusion ont été réalisées à partir de mi-juin 2018. Dans les exploitations présentant une excrétion insuffisante d'œufs de strongles, elles étaient à nouveau réalisées tous les 15 jours jusqu'à mi-juillet afin de vérifier si l'intensité de l'excrétion des œufs augmentait et permettait d'inclure l'exploitation dans l'étude.

Certains éleveurs n'ont pas souhaité participer à l'étude par manque de temps, d'autres n'ont pas pu y participer car l'effectif d'antenaises ne permettait pas la constitution de trois lots de 13 animaux. Enfin certaines exploitations ont présenté des résultats de coproscopies d'inclusion trop bas qui n'ont pas permis leur entrée dans l'étude.

Au final 9 exploitations ont pu être incluses dans l'étude, et seront par la suite nommées par une lettre de l'alphabet (de A à I) afin de conserver l'anonymat des éleveurs. Leur distribution géographique est présentée dans l'Illustration 27 ci-dessous.



Illustration 27 : localisation des 9 élevages participant à l'étude menée au cours de l'été 2018

Les principales caractéristiques de ces différents élevages sont présentées dans le Tableau 17 ci-dessous.

Les 9 exploitations sont de tailles variées avec un effectif d'adultes qui varie de 111 à 560 individus. On constate que les modes de pâturage sont assez différents, avec une majorité d'éleveurs qui pratiquent exclusivement le pâturage tournant (4 exploitations sur 9), un éleveur exclusivement le pâturage libre, un éleveur exclusivement le pâturage au fil et les trois éleveurs restants alternent entre différentes pratiques (au fil et tournant, libre et au fil, et libre et tournant).

Concernant le mode de traitement, seule une exploitation de l'étude (l'exploitation H) ne réalise pas de coproscopie préalable au traitement anthelminthique, toutes les autres essaient de ne pas traiter « en aveugle » mais uniquement lorsque le niveau d'infestation devient trop élevé. Ce constat est à moduler puisque deux exploitations (les exploitations D et E) traitent une fois par an de façon systématique en juin, et réalisent des coproscopies avant de traiter à d'autres périodes de l'année.

De plus dans 6 exploitations sur les 9 étudiées, les éleveurs réalisent une alternance dans l'utilisation des molécules anthelminthiques, ce qui permet là-encore de ralentir l'apparition de résistances. Toutefois n'ayant pas pu avoir accès au détail des molécules utilisées dans un grand nombre d'exploitations, il est difficile de savoir si cette rotation fait systématiquement intervenir des molécules appartenant à des classes anthelminthiques différentes ou si l'éleveur utilise différentes molécules appartenant à une seule famille, ce qui est d'aucun intérêt pour limiter la diffusion de la résistance à cette famille.

Tableau 17 : caractéristiques des différentes exploitations ayant participé à l'étude réalisée au cours de l'été 2018. Les cases marquées d'un symbole « * » correspondent aux éléments pour lesquels les données n'ont pas pu être fournies par l'éleveur.

exploitation	A	B	C	D	E	F	G	H	I
effectif adultes	289	340	248	400	140	111	160	295	560
effectif agnelles	80	80	74	100	40	30	50	34	100
mode de pâturage	tournant	tournant, libre	au fil, tournant	libre	tournant	tournant	libre, au fil	au fil	tournant
coprologie avant traitement	oui	oui	oui	oui	oui	oui	oui	non	*
traitement par lot	oui	non	non	non	non	non	non	non	oui
périodes de traitement	printemps, automne	juin	printemps, automne	juin	hiver, printemps, été	juin	printemps, automne	novembre, juin	*
alternance de molécules	oui	non	oui	non	oui	oui	oui	oui	oui
molécules utilisées	moxidectine, ivermectine, closantel, mébendazole lévamisole	moxidectine	moxidectine, ivermectine, closantel, lévamisole	moxidectine	moxidectine, ivermectine, closantel, nétohimin	*	*	moxidectine, closantel, mébendazole, nétohimin	moxidectine ivermectine, closantel nétohimin,

2.2 Constitution des lots au sein d'un élevage

Afin de pouvoir réaliser un FECRT le plus fiable possible, le niveau d'excrétion doit être suffisant avant le traitement des animaux. Pour cela seules les antenaises ont été sélectionnées dans cette étude en raison de leur plus grande sensibilité aux strongles gastro-intestinaux. Dans le cas où une exploitation ne comptait pas le nombre d'antenaises nécessaire à la constitution des lots, ces derniers ont été complétés avec des brebis nées l'année précédente.

Dans chaque élevages, trois lots de 12 ou 13 individus sont constitués : le lot traité avec de l'Oramec® (lot O), le lot traité avec de la Cydectine® orale (lot C) et le lot témoin (lot T). La répartition des antenaises dans chacun des trois lots a été réalisée de manière aléatoire tout en s'assurant que chacun des lots contient la même proportion d'antenaises et de brebis plus âgées dans les exploitations où le faible nombre d'antenaises a nécessité la sélection de brebis nées l'année précédente.

2.3 Protocole réalisé en élevage

2.3.1 Prélèvement des matières fécales

Lors de la première visite, correspondant au J0, les animaux sont bloqués par l'éleveur au cornadis. Les 12 premières antenaises sont marquées à l'aide d'une bombe de couleur verte et un prélèvement de matières fécales est réalisé en intra-rectal. Ces 12 animaux constituent le lot témoin. Les 12 antenaises suivantes sont identifiées à l'aide d'une bombe de couleur bleue et constituent le lot Oramec®, de même 12 antenaises sont marquées à l'aide d'une bombe de couleur rouge afin de constituer le lot Cydectine® orale. Un prélèvement de matière fécale est réalisé de la même façon que pour celles du lot témoin puis les brebis sont traitées comme défini dans la partie suivante.

Tous les prélèvements sont placés dans des sachets et identifiés de manière individuelle avec le numéro de boucle de la brebis prélevée. Ils sont ensuite acheminés le plus rapidement possible à l'ENVT pour la réalisation des coproscopies.

La deuxième visite est réalisée 12 à 14 jours plus tard uniquement si le niveau d'excrétion était supérieur à 150opg à J0. Lorsque ce niveau était plus faible, l'étude a été abandonnée dans l'élevage concerné car il était trop difficile de réaliser un test de réduction d'excrétion fiable. Les animaux des trois lots O, C et T sont prélevés de la même façon qu'à

J0, et les prélèvements sont à nouveau conditionnés et identifiés de manière individuelle avant d'être envoyés à l'ENVT.

2.3.2 Traitements des animaux des lots O et C

Les spécialités utilisées pour cette étude sont la Cydectine orale 0,1%® et l'Oramec®. Toutes les deux sont administrées par voie orale à l'aide d'un pistolet drogueur nettoyé et vérifié à chaque exploitation. Afin de s'assurer que les animaux reçoivent une quantité suffisante de produit et d'éliminer tout risque de sous dosage, les doses sont calculées pour un poids de 80kg, donc un poids surestimé pour des antenaises de race Lacaune.

Le traitement est administré lors de la visite réalisée à J0 juste après avoir prélevé les matières fécales. Pour cela les animaux sont bloqués au cornadis est le produit administré par voie orale à l'aide d'un pistolet drogueur. Les doses sont de 16mL par brebis pour la Cydectine® orale, et de 20mL par brebis pour l'Oramec®, ce qui correspond à la dose recommandée par le fabricant pour une brebis de 80kg.

2.4 Méthodes d'analyse des prélèvements

Toutes les analyses ont été réalisées à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

2.4.1 Réalisation des coproscopies et calcul du FECR

Pour chaque élevage, une coproscopie de mélange est réalisée pour chaque groupe présent (Témoin, Oramec et Cydectine orale), à J0 et à J14. Si un ou plusieurs œufs sont observés dans les lots Oramec ou Cydectine orale lors de la coproscopie de mélange réalisée à J14, des coproscopies individuelles sont réalisées en reprenant les échantillons de matières fécales prélevés à J0 et à J14 provenant de tous les animaux du groupe témoin et du groupe traité dont la coproscopie de mélange a donné un nombre d'opg non nul.

Le FECR est ensuite calculé pour chacun des traitements Oramec® et Cydectine® orale selon la formule suivante :

$$FECR = 100 * \left(1 - \frac{OPG \text{ lot traité}}{OPG \text{ lot témoin}} \right)$$

Lors du calcul du FECR permettant d'évaluer l'efficacité du traitement effectué avec de la Cydectine® orale, la valeur « OPG lot traité » correspond à la valeur obtenue après la coproscopie de mélange réalisée à J14 sur le lot Cydectine orale, et la valeur « OPG lot traité » correspond à la valeur obtenue après la coproscopie de mélange réalisée à J14 sur le lot témoin. Pour évaluer l'efficacité du traitement effectué avec de l'Oramec® on réalise le même calcul en prenant en compte le lot Oramec.

Dans les cas où des coproscopies individuelles ont été réalisées, le FECR est calculé comme présenté précédemment, et une deuxième valeur est calculée en prenant en compte la moyenne des opg obtenus lors des coproscopies individuelles au lieu de prendre en compte le résultat de la coproscopie de mélange.

2.4.2 Réalisation des coprocultures et identification des différentes espèces de strongles

Réalisation des coprocultures et extraction de l'ADN des larves L3

Les coprocultures et l'extraction des larves L3 est réalisée selon le même protocole que celui présenté dans la partie 3.

Une coproculture est réalisée pour chacun des groupes T, O et C à J0 et J14 ce qui permet d'avoir 6 suspensions de larves par exploitation. Par la suite l'extraction d'ADN est réalisée uniquement pour le groupe témoin à J0, et pour les trois groupes à J14. Les trois groupes étant constitués pour essayer d'avoir un parasitisme équivalent, on considère que les proportions de larves L3 dans les groupes Oramec et Cydectine orale seront les mêmes que celles du groupes Témoin à J0.

Préparation de la gamme étalon nécessaire à la réalisation de la PCR quantitative

Lors de la réalisation des PCR pour cette étude, la gamme étalon présentée dans le matériel et méthode de la partie 2 n'était plus disponible. Un autre type de gamme étalon a alors été mis au point par Léa Bordes dans le cadre de son stage de Master réalisé au laboratoire de parasitologie de l'Ecole Vétérinaire de Toulouse.

Afin de réaliser cette gamme, une séquence nucléotidique complète contenant trois séquences spécifiques des trois espèces ou genre cibles (fournie en Illustration 28) est commandée à Eurogentec afin d'obtenir des plasmides contenant le gène de synthèse sous

format lyophilisé. Ces plasmides contiennent une origine de réplication afin de pouvoir se multiplier, un gène de résistance à l'ampicilline afin de permettre la sélection des bactéries l'ayant correctement intégré, et un gène lacZ servant à l'insertion de la séquence génétique souhaitée.

```

5'GAATTC CATATACATGCAACGTGATGTTATGAAATTGTAACATTCCTGAATGATATGAAC
ATGTTGCCACTATTTGAGTGTACTCAGCGAATATTGAGATTGACTTAGATAGTGACATGTA
TGCGCAGCATGTTCTTTTATCATTGTATAATGCAACCTGAGCTCAGGCGTGATTACCCGC
TGAACCTAAGCATATCATTAGCGGAGGAAAAGAACTAA GAATTC CAGTTCAAGAATA
ACATATGCAACATGACGTACGACGGTATTACCGTCGTAACGTTCTGAATGATATGAACG
CGTATTGCTACTATTTGAATGTACTCAATGAATATGAGATTGATTCAGATAGAGACATGTA
TGTAATATATGTTCAATGTATCATTGTATTGCAACCTGAGCTCAGGCGTGATTACCCGC
TGAACCTAAGCATATCATTAGCGGAGGAAAAGAACTAA GAATTC AATGGTCATTGTC
AAATATTGTGATGATTCCCATTTCAAGTTCAAGAATAATACATGCAACATGATGTTAATGCT
GTAATGACATTAATGTTCTGTATGATGTGAACGTGTTGTTACTGTTTGAATGTACTCAGT
GAATTTGAGATTGATTTAAACAGGGACATGTATAACAATAATGTTCAATTATCATTGTATT
GCAACCTTAACCTCAGGCGTGATTACCCGCTGAACCTAAGCATATCACTTAGCGGAGGAA
AAGAACTAA GAATTC 3'

```

Illustration 28 : séquence d'insertion présente sur le plasmide pUC57 commandé à Eurogentec. Cette séquence contient trois séquences spécifiques à chacune des espèces de strongles recherchées (en vert pour *Haemonchus contortus*, violet pour *Teladorsagia circumcincta* et bleu pour *Trichostrongylus spp*), séparées par un site de restriction (GAATTC).

Ce plasmide est intégré à des *E. coli DH5α* compétentes (ThermoFischer Scientist) en faisant subir aux bactéries en cultures un choc thermique alors que le plasmide est présent dans le milieu. Ce choc entraîne la formation de pores dans la paroi des bactéries, permettant l'entrée des plasmides. La mise en culture est par la suite réalisée dans un milieu riche de culture LB (Luria Bertani), contenant de l'ampicilline à une concentration de 100µg/mL de milieu de culture, afin de sélectionner les bactéries ayant correctement intégré le plasmide. Afin de vérifier que la résistance à l'ampicilline ne provient pas d'une mutation ponctuelle, une des colonies résistante est récupérée et soumise à une enzyme de restriction. La séquence génétique utilisée comporte plusieurs sites de restrictions donc la comparaison de la taille des fragments obtenus avec ceux théoriquement présents permet de s'assurer que la résistance à l'ampicilline est bien liée à l'intégration du plasmide par la bactérie.

Après croissance bactérienne et préparation de cultures liquides, le kit NucleoSpin Plasmid (Machery-Nagel) est utilisé pour extraire les plasmides pUC57 – Strongles en grande quantité. Les éluas d'extraction sont ensuite dosés à l'aide du µDrop Plate (Thermo Fischer Scientific) pour connaître la concentration d'ADN plasmidique extrait.

Une fois la concentration de l'élua obtenue, on peut en connaissant la masse d'un seul plasmide ($3,78 \cdot 10^{-9}$ nanogrammes) obtenir le nombre total de plasmides présents dans la suspension (en unité génome : UG).

Des dilutions sont enfin réalisées pour obtenir pour chaque espèce de strongles étudiés (*H. contortus*, *T. circumcincta* et *T. colubriformis*) les 6 échantillons permettant de réaliser la gamme étalon, avec pour chaque strongle une quantité de plasmides correspondant à 500, 250, 125, 62,5, 31 et 7,5 larves. Les correspondances entre la quantité de plasmide et le nombre de larves sont présentées dans le Tableau 18.

Tableau 18 : quantité de plasmides (en Unité Génome : UG) nécessaire afin d'obtenir pour chacune des trois espèces six échantillons contenant l'équivalent de 500, 250, 125, 62,5, 31 et 7.5 larves L3

Nombre de larves	500	250	125	62,5	31	7,5
quantité de plasmides (UG) pour <i>H. contortus</i>	176.000	88.000	44.000	22.000	11.000	2.750
quantité de plasmides (UG) pour <i>T. circumcincta</i>	440.000	220.000	110.000	55.000	27.500	6.875
quantité de plasmides (UG) pour <i>T. colubriformis</i>	64.000	32.000	16.000	8.000	4.000	1.000

Réalisation de la PCR quantitative et vérification de la validité des résultats

Excepté le changement de gamme étalon présenté ci-dessus, la PCR quantitative et la vérification de la validité des résultats obtenus sont réalisées de la même façon que pour l'étude présentée en partie 3 (sous partie A, paragraphe 2.4.2).

3. Résultats

3.1 FECRT

3.1.1 Réalisation du FECRT dans les 9 exploitations ayant participé à l'étude

Les résultats des coproscopies de mélange réalisées à J0 et J14 pour les lots témoin et Oramec® et Cydectine Orale®, ainsi que les valeurs de FECR calculées pour chacune des exploitations, sont regroupés dans le Tableau 19.

Tableau 19 : résultats des coproscopies et valeurs de FECR calculées pour l'Oramec® et la Cydectine® dans chacune des exploitations

Exploitation	lot témoin (opg)		lot cydectine (opg)			lot oramec (opg)		
	J 0	J 14	J 0	J 14	FECR	J 0	J14	FECR
A	450	1000	350	50	92	150	0	100
B	7750	1250	3050	0	100	3600	0	100
C	250	450	300	0	100	300	0	100
D	950	2500	2150	0	100	1100	0	100
E	600	500	1100	0	100	900	50	87
F	550	1250	850	0	100	650	0	100
G	750	1200	500	0	100	1200	0	100
H	250	100	150	0	100	150	0	100
I	800	1550	400	0	100	300	0	100

Dans toutes les exploitations étudiées, les FEC mesurés à J0 sont supérieurs à 150opg, ce qui permet la réalisation correcte du FECRT.

Dans les exploitations B, C, D, F, G, H et I, les FECR calculés sont de 100% que ce soit après traitement à l'Oramec® ou à la Cydectine® orale. Le FECR calculé après traitement à l'aide de Cydectine® orale dans l'exploitation A est de 92%, ce qui laisse suspecter un défaut d'efficacité de ce produit. Après traitement à l'Oramec® dans l'exploitation E, le FECR calculé n'est que de 87%, ce qui est également trop faible pour conclure à une efficacité correcte de la spécialité utilisée.

En raison d'un FECR inférieur à 95%, des coproscopies individuelles ont été réalisées dans les exploitations A et E.

3.1.2 Confirmation du FECRT réalisé dans l'exploitation E à l'aide de coproscopies individuelles

Les résultats des coproscopies individuelles réalisées dans l'exploitation E sont regroupés dans le Tableau 20.

Tableau 20 : résultats des coproscopies individuelles réalisées dans l'exploitation E suite à une valeur de FECRT inférieure à 95% lors de l'utilisation de l'Oramec®

Lot témoin					Lot Oramec				
brebis	J 0 (opg)		J 14 (opg)		brebis	J 0 (opg)		J 14 (opg)	
	individuels	moyenne	individuels	moyenne		individuels	moyenne	individuels	moyenne
71124	50	669	100	362	71076	150	691	0	46
71016	700		1200		71051	1100		0	
71100	0		100		71027	650		0	
71021	150		0		71074	600		100	
71108	400		100		71046	100		0	
71085	200		150		71031	200		0	
71102	350		250		71071	400		0	
71116	100		200		71094	250		0	
71005	300		200		71011	1100		300	
71081	600		450		71087	300		0	
71082	4900		1550		71009	-		0	
71052	850		-		71107	550		100	
71086	100		50		71098	2900		100	

La réalisation des coproscopies individuelles sur les prélèvements réalisés à J0 et à J14 dans les lots témoin et Oramec de l'exploitation E ont permis d'évaluer la proportion de brebis continuant à excréter des œufs de strongles après traitement, et de calculer une valeur de FECR.

On constate ainsi que 4 brebis sur les 13 constituant le lot Oramec ont un FEC non nul après traitement, bien que celui-ci ait diminué entre le J0 et le J14. Le FEC a ainsi diminué de 83% chez la brebis 71074, 73% chez la brebis 71011, 82% chez la brebis 550 et 97% chez la brebis 71098.

Le calcul de FECR pour le lot Oramec est réalisé en ne prenant en compte que les individus ayant pu être prélevés à J0 et à J14, et ayant un FEC supérieur à 150opg à J0.

L'intervalle de confiance est mesuré selon la méthode détaillée en annexe. On obtient alors le résultat suivant :

$$FECR = 88,8\% [56,6 - 97,1]$$

On constate donc que le FECR est inférieur à 95% avec la borne inférieure de l'intervalle de confiance inférieure à 90% ce qui sous-entend une diminution de l'efficacité de l'Oramec® dans cette exploitation.

3.1.3 Confirmation du FECRT réalisé dans l'exploitation A à l'aide de coproscopies individuelles

Les résultats des coproscopies individuelles réalisées dans l'exploitation A sont regroupés dans le Tableau 21. Seuls les prélèvements réalisés à J14 ont pu être analysés. En effet les prélèvements réalisés à J0 étaient trop dégradés au moment de la confirmation, quelques coproscopies ont pu montrer qu'il restait des œufs en très faible quantité, et tous étaient présents sous forme embryonnée.

Tableau 21 : résultats des coproscopies individuelles réalisées dans l'exploitation A suite à une valeur de FECRT inférieure à 95% lors de l'utilisation de la Cydectine®

Lot témoin			Lot Oramec			Lot Cydectine		
brebis	J 14		brebis	J 14		brebis	J 14	
	individuels	moyenne		individuels	moyenne		individuels	moyenne
78083	1700	1218	72189	0	0	72025	0	86
72040	3900		72104	0		72073	-	
72044	1950		72098	0		72121	950	
72099	1200		72029	0		72210	-	
72115	0		72014	0		72258	0	
72016	150		72117	0		72033	0	
72021	1750		72163	0		72197	0	
72017	900		72119	0		72200	0	
72116	200		72065	0		72227	0	
72062	-		72028	0		72277	0	
62154	-		62177	0		62174	0	
62152	1150		62218	0		62150	0	
62163	500		62019	0		62143	0	

Toutes les brebis traitées avec de l’Oramec ont un FEC nul 14 jours après le traitement, ce qui confirme que la valeur de 100% obtenue lors du calcul du FECR à l’aide des coproscopies de mélange.

Les coproscopies de confirmation ont pu être réalisées sur 11 brebis du lot Cydectine orale®. Parmi ces 11 brebis une seule présente un FEC non nul : la 72121 pour lequel le FEC est de 950 opg.

La valeur de FECR a pu être recalculée à partir de ces résultats individuels en prenant en compte les prélèvements dont le comptage pouvait être réalisé dans de bonnes conditions, ce qui correspond aux lignes sur fond coloré dans le Tableau 21. L’intervalle de confiance est mesuré selon la méthode détaillée en annexe. On obtient alors le résultat suivant :

$$FECR = 92,9\% [40,6 - 99,1]$$

On constate donc que le FECR est inférieur à 95% avec la borne inférieure de l’intervalle de confiance inférieure à 90% ce qui sous-entend une diminution de l’efficacité de la Cydectine® orale dans cette exploitation.

3.2 Evolution de l’helminthofaune entre le J0 et le J14

3.2.1 Helminthofaune présente à J0

Seules les helminthofaunes des lots témoins ont été étudiées à J0 et sont représentées sous forme de camembert dans l’Illustration 29.

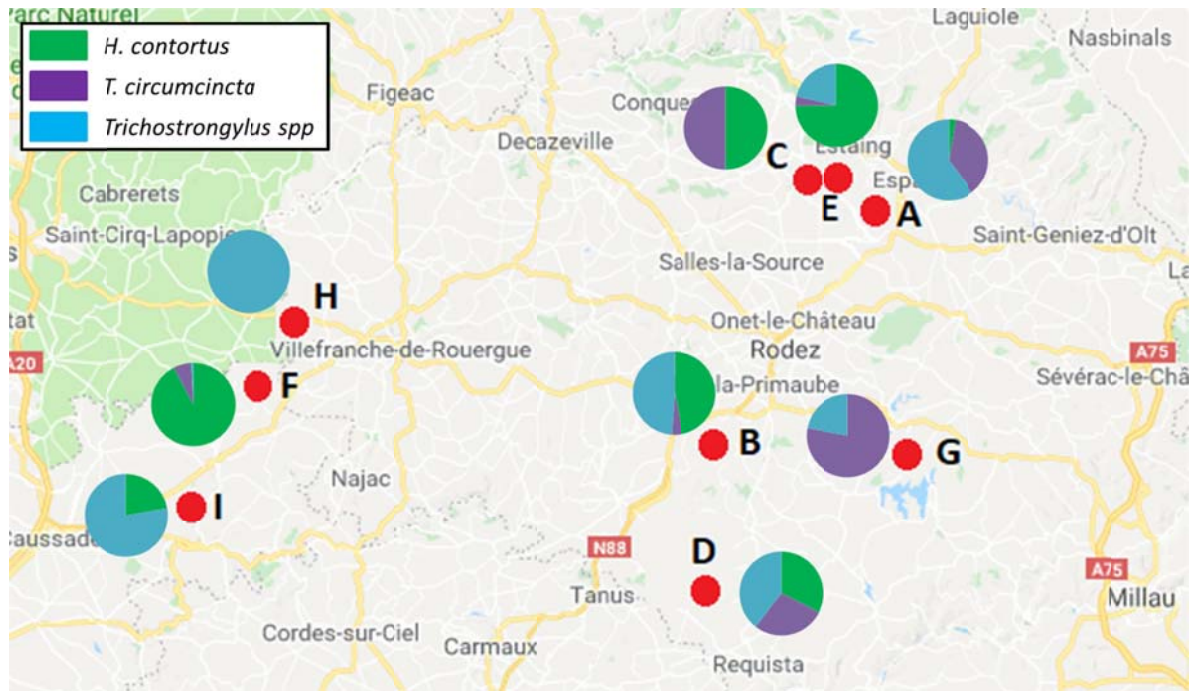


Illustration 29 : helminthofaune dans les différentes exploitations à J0 lors de l'étude menée pendant l'été 2018. Les proportions relatives des trois espèces de strongles recherchées sont représentées sous forme de camembert avec le code couleur suivant : vert pour *H. contortus*, violet pour *T. circumcincta* et bleu pour *Trichostrongylus spp.*

Les helminthofaunes dans chacune des exploitations présentent des profils très variés.

- Dans les exploitations F et H, une espèce est très majoritaire voire seule présente. Il s'agit de *Trichostrongylus spp.* qui est la seule espèce présente dans l'exploitation H, et *H. contortus* qui représente 95% des larves présentes dans l'exploitation F.
- Dans les exploitations A, B et C deux espèces sont présentes en quantité importante. On retrouve ainsi *Trichostrongylus spp.* dans les exploitations A et B, *H. contortus* dans les exploitations B et C, et *T. circumcincta* dans les exploitations C et A.
- Dans les exploitations E, G et I la répartition est encore différente puisqu'une espèce représente environ 75% de l'helminthofaune et une deuxième les 25% restants. Il s'agit respectivement de *H. contortus* et *Trichostrongylus spp.* pour E, *T. circumcincta* et *Trichostrongylus spp.* pour G, et *Trichostrongylus spp.* et *H. contortus* pour I.
- Dans l'exploitation D, les trois espèces étudiées sont présentes en proportions équivalentes.

3.2.2 Helminthofaune présente à J14

Les helminthofaunes des lots témoins sont représentées sous forme de camembert au niveau de l'illustration 30, de même que celles des lots traités pour lesquels des larves L3 ont été identifiées dans les prélèvements réalisés 14 jours après traitement.

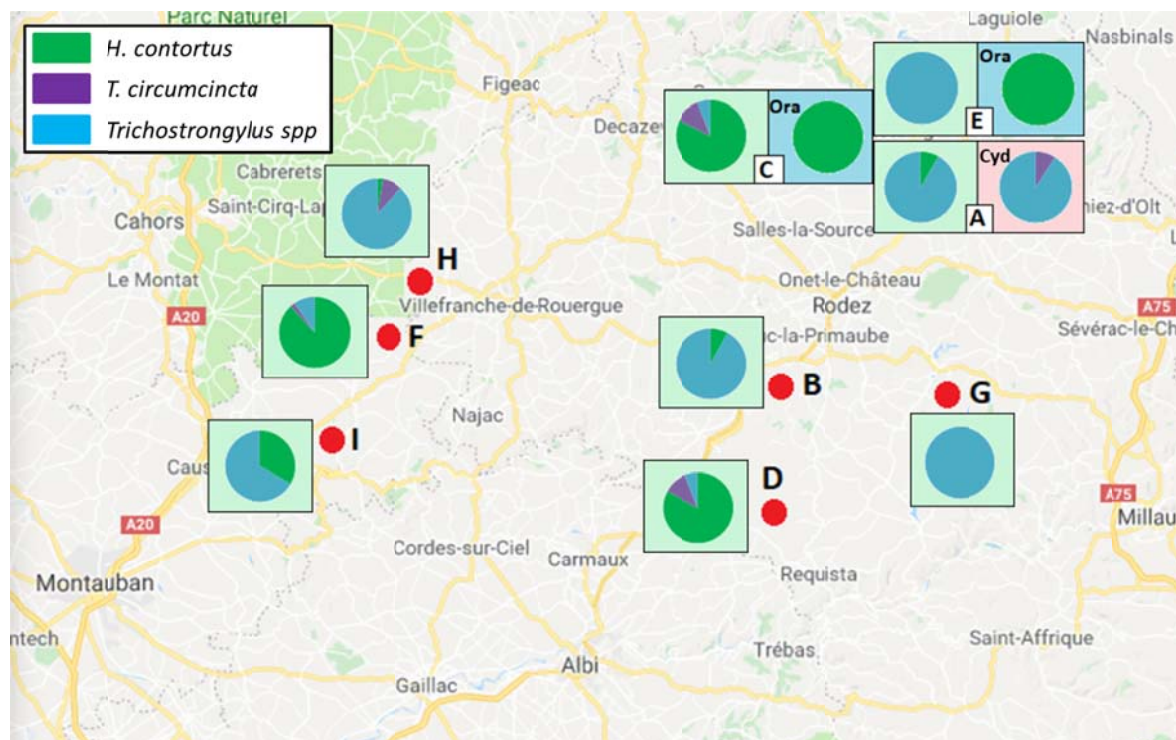


Illustration 30 : helminthofaune dans les différentes exploitations à J14 lors de l'étude menée pendant l'été 2018. Les résultats des lots témoins sont représentés sur fond vert. Lorsque des larves sont présentes dans les lots traités, leur répartition est représentée sur la droite, sur fond bleu avec l'abréviation « Ora » s'il s'agit du lot Oramec et sur fond rouge avec l'abréviation « Cyd » s'il s'agit du lot Cydectine.

Les proportions relatives des trois espèces de strongles recherchées sont représentées sous forme de camembert avec le code couleur suivant : vert pour *H. contortus*, violet pour *T. circumcincta* et bleu pour *Trichostrongylus spp.*

Si on s'intéresse aux lots témoins (sur fond vert) on peut constater qu'une espèce est majoritaire pour chacune des exploitations. Il s'agit dans la majorité des cas (exploitations A, B, E, G, H et I) de *Trichostrongylus spp.*, bien que ce soit moins net dans l'exploitation I où *H. contortus* reste présent en quantité importante. On retrouve également *H. contortus* en très faible proportion dans les exploitations A et B.

Dans les exploitations C, D et F *H. contortus* est au contraire présent comme espèce majoritaire et *Trichostrongylus spp.* en faible proportion.

T. circumcincta est globalement très peu présent dans les helminthofaunes visibles à J14 puisqu'on ne le retrouve qu'en proportion presque négligeable dans l'exploitation F, et elle représente environ 5% des espèces présentes dans les exploitations C, D et H.

Concernant l'évolution de l'helminthofaune des lots témoins entre J0 et J14, on remarque qu'elle semble inexistante dans l'exploitation I où les proportions sont équivalentes lors des deux points de contrôle. Dans les autres exploitations on peut identifier différentes évolutions selon l'espèce de strongle étudiée :

On note une diminution globale des proportions de *T. circumcincta* dans la quasi-totalité des exploitations. En effet cette espèce a totalement disparu à J 14 dans les exploitations B, E et G alors qu'elle était présente à J0. Sa présence relative a diminué de façon très marquée dans les exploitations A et C, et de façon plus limitée dans les exploitations D et F. On peut noter cependant la présence de *T. circumcincta* en petite quantité à J14 dans l'exploitation H alors qu'elle y était absente à J0.

La présence relative de *Trichostrongylus spp* a, quant à elle, nettement augmenté entre J0 et J14 dans les exploitations A, B et G. Sa présence a également augmenté de façon très importante dans l'exploitation E où *Trichostrongylus spp* est la seule espèce de strongles gastro-intestinaux retrouvée à J14. Elle est de plus présente dans l'exploitation C alors qu'on ne l'avait pas retrouvée à J0. Sa proportion a augmenté de façon plus modérée dans l'exploitation F et on note une légère diminution dans les exploitations D et H.

L'évolution de la proportion d'*H. contortus* dans l'helminthofaune entre J0 et J14 est plus aléatoire. Elle a légèrement augmenté dans l'exploitation F, et augmenté de façon modérée dans l'exploitation A. On note par contre une nette augmentation dans les exploitations C et D et au contraire une très nette diminution dans l'exploitation B. *H. contortus* est totalement absente dans le lot témoin de l'exploitation E à J14 alors que c'était l'espèce majoritaire à J0.

3.2.3 *Impact des traitements réalisés sur les helminthofaunes des lots traités*

On s'intéresse dans cette partie à l'helminthofaune des lots traités. Celle-ci est représentée sous forme de camemberts dans l'illustration 30 lorsque des larves ont pu être identifiées après comptage manuel et réalisation de la PCR.

Des larves ont pu être retrouvées à J14 dans les lots Oramec des exploitations C et E tandis que les résultats sont négatifs pour les lots Cydectine. Dans les deux cas, seul *H. contortus* a pu être identifié lors de la réalisation de la PCR. Dans l'exploitation C on observe dans l'helminthofaune à J0 *T. circumcincta* et *H. contortus* en proportion équivalente, alors que dans l'exploitation E on observait déjà une majorité de *H. contortus* (environ 75%) mais *Trichostrongylus spp* était également présent dans une proportion d'environ 20% et *T. circumcincta* en très faible quantité. On note donc la disparition des espèces *T. circumcincta* et *Trichostrongylus spp* 14 jours après traitement à l'Oramec®.

Dans l'exploitation A aucune larve n'est observée après traitement dans le lot Oramec, mais on en retrouve dans les fèces prélevés dans le lot Cydectine. On observe entre J0 et J14 une disparition d'*H. contortus* qui était présent en très faible quantité, ainsi qu'une diminution de la proportion de *T. circumcincta* associée à une augmentation de celle de *Trichostrongylus spp*.

4. Discussion

4.1 Evaluation de l'efficacité des traitements réalisés

L'objectif premier de l'étude réalisée ici était de vérifier l'efficacité des lactones macrocycliques dans la lutte contre les strongles gastro-intestinaux. La moxidectine et l'ivermectine sont les molécules anthelminthiques les plus utilisées en élevage ovin allaitant depuis au moins 5 ans ce qui constitue un facteur de risque d'apparition de strongles résistants dans ces élevages.

Les résultats obtenus sont très satisfaisants dans sept élevages sur les neuf ayant participé à l'étude (exploitations B, C, D, F, G, H et I) puisque les FECR sont de 100% après traitement à l'Oramec® et à la Cydectine® orale, ce qui démontre une bonne efficacité de ces spécialités. Ces résultats sont toutefois obtenus à partir de valeurs de FEC mesurées sur des coproscopies de mélange, alors que les protocoles recommandent l'utilisation de coproscopies

individuelles dans le cadre de recherche de résistances aux anthelminthiques. La coproscopie de mélange est en effet moins sensible, bien que son usage ait été validé au cours du projet CASDAR parasitologie mené de 2012 à 2015, et prenant en compte 172 séries de 15 individus issus de différentes zones géographiques, races et systèmes d'élevage (Duvauchelle-Waché et al., 2017).

Cette sensibilité plus faible peut en partie expliquer les résultats obtenus dans l'exploitation C. Malgré une coproscopie de mélange donnant pour résultats un FEC de 0 opg dans le lot Oramec, la PCR a révélé la présence de larves *H. contortus* après réalisation de coproculture à partir des prélèvements de ce lot, laissant penser que des œufs de strongles étaient présents mais n'avaient pas été détectés lors de la coproscopie. Afin de vérifier ce point, des coproscopies individuelles ont été réalisées à partir des matières fécales prélevées à J14 dans le lot Oramec, et qui avaient été jusque-là conservés en chambre froide. Ces nouvelles coproscopies ont révélé la présence d'œufs de strongles en faible quantité (50 opg) dans les matières fécales de deux des brebis du lot. La fiabilité de cette mesure est discutable puisque les prélèvements étaient stockés en chambre froide depuis un mois lors de la réalisation des coproscopies individuelles. Plusieurs études ont en effet démontré que la durée de réfrigération des matières fécales avait un impact significatif sur les résultats des FEC mesurés après coproscopie (Jagła et al., 2013, Nielsen et al., 2010) Dans l'étude réalisée par Jagla et al en 2013 les valeurs de FEC avaient ainsi diminuées de moitié après 14 jours de réfrigération. Ces coproscopies de vérifications permettent toutefois de confirmer la présence d'œufs de strongles après traitement à l'Oramec® chez au moins deux brebis du lot, assurant ainsi que les larves détectées lors de la PCR ne provenaient pas d'une contamination qui aurait pu avoir lieu au cours des différentes manipulations.

Dans les exploitations A et E, les résultats du FECRT ne sont pas ceux attendus après traitement à l'aide de Cydectine® orale dans l'exploitation A et d'Oramec® dans l'exploitation E.

En ce qui concerne l'exploitation A, le FECR calculé est de 92%, donc inférieur aux 95% nécessaires pour conclure à la bonne efficacité d'un traitement anthelminthique. Toutefois ce résultat est à nuancer puisque les coproscopies individuelles réalisées par la suite sur les prélèvements J14 du lot Cydectine ont permis de mettre en évidence qu'une seule brebis excrétrice après traitement, et ce en quantité importante (950 opg). Il semble peu probable qu'un seul individu du lot puisse héberger des strongles

résistants et présente un FEC aussi élevé après traitement alors que celui-ci est nul chez toutes les autres brebis du lot. Il paraît donc plus vraisemblable qu'une erreur de manipulation a eu lieu au moment de l'administration du traitement à cette brebis, avec éventuellement la régurgitation d'une partie du produit entraînant un sous-dosage ne permettant pas l'action attendue voire un oubli de traitement de cette brebis. Cette hypothèse est également renforcée par l'absence de diminution d'efficacité de l'Oramec® dans cette exploitation. En effet la réalisation de la coproscopie de mélange, ainsi que les coproscopies individuelles de confirmation réalisées sur les prélèvements du lot Oramec à J14 ont permis de mettre en évidence un FECRT de 100% et donc une parfaite efficacité du produit. Comme expliqué précédemment (partie 2, paragraphe 2.2.4), les mécanismes impliqués dans la résistance à la moxidectine et aux avermectines sont proches, et l'action des avermectines est généralement impactée avant celle de la moxidectine. Toutefois des études réalisées dernièrement ont permis d'observer le phénomène inverse avec une résistance à la moxidectine alors que les ivermectines restent efficaces (Jacquiet, communication personnelle). Cette observation rend donc moins probable l'hypothèse de l'existence d'une résistance à la moxidectine mais ne permet pas de l'exclure totalement.

Les résultats obtenus après traitement à l'Oramec® dans l'exploitation E sont, pour leur part, plus préoccupants. Dans cette exploitation le FECR calculé après coproscopie de mélange donne un résultat de 87%. Ce résultat est inférieur à 95% et sous-entend donc une diminution de l'efficacité de l'Oramec®. Les coproscopies individuelles de confirmation réalisées ont permis de vérifier cette observation puisqu'on obtient une valeur inférieure à 95% avec la borne inférieure de l'intervalle de confiance inférieure à 90%, ce qui confirme la diminution d'efficacité d'après les critères exposés dans le paragraphe 2.3.1 de la partie 2. Cette suspicion est renforcée par le fait que 4 brebis sur les 12 prises en compte pour le FECRT excrètent des oeufs après traitement malgré une diminution du FEC entre J0 et J14. L'hypothèse d'une erreur de manipulation lors du traitement des brebis est donc peu probable dans ce cas-là.

Le FECRT permet donc de suspecter un défaut d'efficacité de l'Oramec® dans l'exploitation E. Toutefois ce test seul ne suffit pas pour mettre en évidence la présence de strongles résistants à l'ivermectine. Afin de le confirmer il serait nécessaire de réaliser un dosage plasmatique de l'ivermectine après traitement pour vérifier la bonne absorption du produit, et de mettre en place un protocole complet avec infestation expérimentale d'agneaux naïfs, comme détaillé dans le paragraphe 2.3.3 de la partie 2.

4.2 Identification des espèces résistantes aux traitements

4.2.1 Apports de la PCR dans l'évaluation de l'efficacité des traitements

La réalisation des coprocultures et l'identification des différentes espèces de strongles présentes à l'aide d'une PCR quantitative ont pour but d'objectiver les effets des traitements anthelminthiques sur les différentes espèces de strongles. En cas d'échec de traitement cela permet principalement de savoir si celui-ci a eu un effet différent selon l'espèce considérée.

Afin de limiter les coûts d'analyse, la PCR n'a été réalisée que sur le lot témoin lors des prélèvements réalisés à J0, en considérant que l'helminthofaune présente dans les autres lots serait identique. Cette supposition s'appuie sur différents éléments. Tout d'abord la constitution des lots a été réalisée pour que ceux-ci soient les plus équilibrés possibles. Dans le cas où l'éleveur possédait différents groupes d'individus avec une conduite de troupeau différente, ceux-ci ont été répartis équitablement dans les trois lots témoin, Oramec et Cydectine. De plus lors de l'étude réalisée en 2017 sur les troupeaux ovins laitiers (partie 3), les identifications à J0 ont été réalisées à la fois sur les lots traités et témoins. Les résultats obtenus ont permis de constater que les différences étaient très faibles entre les deux lots avant traitement, permettant de considérer leurs helminthofaunes comme identiques.

L'identification des espèces présentes après traitement permet également de renforcer ou non une suspicion de défaut d'efficacité établie après réalisation d'un FECRT. Dans notre cas il est en effet intéressant de constater que dans l'exploitation E, seule l'espèce *H. contortus* est présente après traitement à l'Oramec® (FECRT de 87%) alors que *Trichostrongylus spp* est l'espèce exclusivement présente dans le lot témoin à J14. Toutes les brebis ayant été conduites de la même façon, l'absence de *Trichostrongylus spp* dans le lot traité semble donc indiquer que l'Oramec® a été efficace dans la lutte contre cette espèce de strongles, et a par conséquent été administré correctement. Cette observation renforce l'hypothèse selon laquelle au moins une souche de *H. contortus* présente dans l'exploitation E aurait développé des mécanismes lui permettant d'échapper au traitement réalisé à l'aide d'ivermectine.

Dans cette étude la méthode de PCR quantitative utilisée a également permis de mettre en évidence un défaut d'efficacité de l'Oramec® dans l'exploitation C. Là-encore le fait que *H. contortus* soit la seule espèce présente après traitement peut permettre de renforcer la

suspicion. Toutefois cette donnée est à considérer avec précaution en raison du faible nombre de larves identifiées par la PCR. La concentration totale n'étant que de 2 larves/mL dans ce groupe, les proportions des différentes espèces ont été calculées à partir d'une très faible quantité de matériel génétique.

Dans l'exploitation A au contraire, deux espèces de strongles sont présentes après traitement. *Trichostrongylus spp* est l'espèce majoritaire dans les lots témoins et Cydectine, on retrouve cependant l'espèce *T. circumcincta* dans le lot Cydectine au lieu de *H. contortus* qui est présent dans le lot témoin. Les résultats des coproscopies individuelles permettent de savoir que l'helminthofaune du lot Cydectine reflète en réalité celle présente chez une seule brebis puisque seule celle-ci excrète des œufs de strongles après traitement. La présence simultanée de deux espèces et la distribution proche de celle observée dans le lot témoin renforce l'hypothèse selon laquelle la diminution de FECRT observée dans ce lot serait due à une erreur de manipulation dans le traitement d'une des brebis du lot.

4.2.2 Modifications de l'helminthofaune entre J0 et J14 dans les lots témoins

Les helminthofaunes des lots témoins présentent des variations importantes entre J0 et J14 dans la plupart des exploitations, ce qui paraît étonnant étant donné qu'aucune intervention particulière n'a été réalisée sur ces lots durant ce laps de temps.

Le premier facteur limitant dans l'interprétation de ces résultats concerne le nombre de larves L3 pris en compte pour le calcul des proportions des différentes espèces. En effet la PCR est réalisée sur un volume de 500µL de solution contenant les larves L3 en suspension. Selon les lots considérés, le nombre total de larves présentes dans ces 500µL varie de 1 à 1120 larves (données fournies en Annexe 14). Ainsi dans les exploitations A, B, D, F, G et J les proportions de chacune des espèces sont calculées à partir d'un nombre de larves qui est très différent entre les prélèvements de J0 et ceux de J14, pouvant expliquer en partie les variations observées.

Une partie de ces observations peut être expliquée par les facteurs d'ambiance appliqués aux prélèvements de matières fécales lors de la réalisation des coprocultures. Celles-ci doivent en effet idéalement être réalisées à une température de 23 – 24°C afin de permettre une évolution correcte des œufs en larves L3 et donc un bon rendement des coprocultures. Cependant les manipulations ont été réalisées à l'Ecole Nationale Vétérinaire

de Toulouse en juillet 2018, et les fortes chaleurs ressenties cet été-là ont rendues difficiles l'application de températures suffisamment fraîches dans l'étuve où étaient placés les prélèvements. Celle-ci est ainsi montée à une température de 29°C pendant une semaine au cours de laquelle les coprocultures étaient principalement réalisées sur les prélèvements de J14. Une telle augmentation de température peut rendre très difficile le développement des strongles digestifs, en particulier pour l'espèce *Teladorsagia circumcincta* (Rossanigo and Gruner, 1995, O'Connor et al., 2006). Bien que les autres espèces soient moins impactées, une chaleur trop importante au cours de l'évolution de l'œuf en larve L3 augmente le métabolisme des larves et conduit à une surmortalité aux stades L1 et L2, diminuant ainsi le nombre de larves L3 obtenues à la fin de la coproculture. La réalisation des coprocultures à une température trop élevée peut donc expliquer la quasi-disparition de l'espèce *Teladorsagia circumcincta* dans les prélèvements réalisés à J14 par rapport à ceux réalisés à J0, ainsi que les mauvais rendements des coprocultures constatés pour un grand nombre de prélèvements.

Un autre facteur pouvant expliquer les différences observées entre les prélèvements réalisés à J0 et J14 au sein des lots témoins concerne l'acheminement de ceux-ci jusqu'à l'école vétérinaire. Les conditions de stockage des matières fécales influent de façon considérable sur les résultats des coprocultures réalisées par la suite (Jagła et al., 2013, Sengupta et al., 2016). Un stockage prolongé à +4°C peut par exemple rendre difficile le développement des œufs de *H. contortus* en larves infestantes. Dans notre étude les conditions de stockage des matières fécales depuis le prélèvement jusqu'à la mise en route des coprocultures sont différentes selon les exploitations et les dates de prélèvements, comme le témoigne le tableau récapitulatif fourni en Annexe 15. Cette disparité provient de contraintes techniques au moment de la réalisation des manipulations. En effet en raison des fortes chaleurs les matières fécales ont été transportées depuis l'exploitation jusqu'à l'ENVT dans une glacière directement après la réalisation des prélèvements. Toutefois dans certains cas le transport direct n'était pas possible et les matières fécales ont donc été envoyées par voie postale. Selon les conditions de transport et de stockage subies par les prélèvements, le développement d'une espèce de strongle a ainsi pu être privilégiée à J0 et inhibée à J14 ou inversement.

Bien que les éléments précédents donnent des éléments de réponse concernant la majorité des variations observées dans les helminthofaunes des lots témoins entre J0 et J14, le cas de l'exploitation E reste difficilement explicable. En effet dans cette exploitation l'helminthofaune à J0 était constituée à 75% de *H. contortus*, 22% de *Trichostrongylus spp* et 3% de *T. circumcincta*. Lors des prélèvements réalisés à J14 seul *Trichostrongylus spp* est

présent dans le lot témoin alors que *H. contortus* est l'unique espèce du lot Oramec. Les prélèvements des lots témoin et Oramec à J14 ont subi exactement les mêmes conditions de stockage et les mêmes facteurs d'ambiance lors de la réalisation de la coproculture, il est donc difficile d'expliquer que ces conditions aient permis le développement de *H. contortus* dans le lot Oramec mais pas dans le lot témoin. Une autre hypothèse serait liée à un biais lors de l'échantillonnage. En effet l'intensité des infestations par les strongles gastro-intestinaux est très inégale d'une brebis à une autre, et une utilisation en proportion distincte des matières fécales des différentes brebis du lot pour la réalisation de la coproculture pourrait entraîner des modifications dans la répartition des espèces de larves L3. Toutefois dans cette étude les matières fécales utilisées pour la coproculture à J0 et à J14 proviennent à part égale de chacune des brebis du lot, ne permettant pas d'expliquer ces différences. Il paraît donc difficile d'expliquer précisément ce qui a entraîné la disparition de l'espèce *H. contortus* dans les coproculture réalisée à J14 pour le lot témoin, bien que le mauvais rendement des coprocultures réalisées à J0 et J14 dans cette exploitation puisse avoir contribué à une diminution de la fiabilité des résultats obtenus.

4.3 Origine des résistances observées

La sélection d'une souche de strongles gastro-intestinaux résistante à une molécule anthelminthique provient en règle générale d'une mauvaise pratique de traitement, telles qu'une utilisation trop fréquente ou des sous-dosages. Toutefois dans ces deux exploitations l'ivermectine n'est pas une molécule habituellement utilisée par les éleveurs. L'historique des traitements anthelminthiques sur les cinq dernières années (fourni en annexe) indique que l'Oramec® a été utilisé une seule fois dans l'exploitation E, et deux utilisations (en 2014 et 2018) sont recensées dans l'exploitation C. Il paraît donc peu probable qu'une souche d'*H. contortus* résistante à l'ivermectine puisse être sélectionnée dans ces deux exploitations.

L'hypothèse privilégiée serait donc l'introduction accidentelle au sein des exploitations de strongles résistants. Celle-ci se fait principalement lors d'achats d'animaux. Si ceux-ci ne sont pas traités correctement contre les strongles gastro-intestinaux lors de la vente, ils vont en effet contaminer les pâtures de l'acheteur avec les souches de parasites provenant du vendeur. Toutefois les éleveurs C et E n'achètent pas de brebis étant donné que la totalité de leur renouvellement provient des agnelles nées sur l'exploitation. Les seuls achats concernent les béliers mais ceux-ci ne sont généralement pas sortis avant l'achat, et

restent en bâtiment une fois entrés dans l'exploitation. Ils ne peuvent donc pas contaminer les pâtures avec des œufs de strongles.

L'existence d'une résistance aux anthelminthiques chez deux voisins directs posait déjà la question des possibilités de transmission des larves d'une parcelle à une autre. En effet sans que cela ait pu être démontré pour le moment, plusieurs vecteurs sont suspectés de pouvoir transporter des larves résistantes d'une exploitation à une autre. On retrouve parmi ceux-ci des vecteurs biologiques qui peuvent être contaminés par l'espèce *H. contortus* et excréter par la suite des œufs dans une autre parcelle. Le premier cas de figure concerne les « accidents de clôtures ». Il n'est pas rare d'observer le passage accidentel de brebis d'une exploitation à une autre lorsque les parcelles sont directement voisines et séparées uniquement par un fil de clôture. Les brebis excrètent ainsi des œufs de strongles sur la parcelle dans laquelle elles se rendent, et peuvent être à l'origine d'une contamination accidentelle. Un autre élément de suspicion concerne la faune sauvage, en particulier le chevreuil. Celui-ci étant sensible à l'espèce *H. contortus*, il peut se contaminer avec une souche résistante en pâture sur une parcelle, puis se déplacer et excréter des œufs dans une autre exploitation.

Des vecteurs mécaniques peuvent aussi être mis en cause, permettant le transport des larves L3 d'une exploitation à une autre voisine. Les larves utilisant la présence d'eau pour se déplacer on peut s'interroger sur l'impact du ruissellement des eaux de pluie. Le prêt de matériel d'élevage mal nettoyé présentant des matières fécales fraîches, ou le passage d'intervenants extérieurs d'une exploitation à une autre avec des bottes mal lavées peuvent également être impliqués.

Dans le cadre de cette étude, ces différents facteurs pourraient expliquer le passage d'une souche *H. contortus* de l'exploitation C à l'exploitation E ou inversement. Aucune autre exploitation ovine n'étant présente dans le voisinage, les seuls vecteurs pouvant être mis en cause sont donc la faune sauvage ou le passage d'intervenants extérieurs. Cependant ces différents vecteurs ne peuvent introduire qu'une faible quantité d'œufs de strongles en comparaison à celle présente naturellement sur l'exploitation. L'utilisation répétée d'ivermectine pourrait exercer une pression de sélection importante et favoriser l'extension de cette souche en supprimant les effets de compétitions entre les différentes espèces de strongles. Cependant cette pression de sélection n'est pas exercée dans les deux exploitations concernées, il n'est donc pas possible pour le moment de fournir une explication satisfaisante concernant l'existence d'une souche *H. contortus* résistante à l'ivermectine dans ces exploitations qui n'en utilisent pas ou peu.

4.4 Conséquences pour les exploitations C et E

En ayant connaissance de ces doutes concernant l'efficacité de l'ivermectine dans les exploitations C et E, des conseils concernant les modalités de lutte chimique contre les strongles peuvent être appliqués. Il est recommandé de ne plus utiliser de molécule de la famille des avermectines afin de ne pas renforcer la pression de sélection exercée sur les parasites. La Cydectine® orale est pour l'instant toujours efficace mais il est important de la vérifier régulièrement en raison des mécanismes de résistance proches. Ces deux exploitations ne souffrent pas particulièrement du parasitisme, et n'ont jamais connu d'épisode d'haemonchose clinique. La réalisation de coproscopies avant traitement ont de plus permis de réduire considérablement la fréquence de ceux-ci, les niveaux d'excrétion observés étant régulièrement trop faibles pour justifier leur mise en place.

L'éleveur de l'exploitation E est proche de la retraite et aucun repreneur ne s'est présenté. Les brebis présentes sont en très bon état et vont donc être vendues dans d'autres élevages, tandis que les parcelles de terrains serviront éventuellement d'estives pour des troupeaux bovins mais n'accueilleront plus de cheptel ovin. Les bovins n'étant pas réceptifs à l'espèce *H. contortus*, cette modification devrait fortement contribuer à l'assainissement des parcelles. Concernant la vente des brebis présentes l'éleveur a été sensibilisé sur la nécessité d'effectuer un traitement efficace contre *H. contortus* quelques jours avant la vente afin d'éviter la transmission de cette espèce.

Le devenir de l'exploitation C devrait être le même que celui de l'exploitation E d'ici quatre ou cinq ans, les mêmes recommandations ont donc été faites. Une problématique supplémentaire a été évoquée car l'éleveur C est également sélectionneur de la race Lacaune viande et vend donc des agnelles destinées à l'élevage dans d'autres exploitations. Cependant ces agnelles n'ont jamais pâturé avant la vente, ce qui exclue le risque de transmission de strongles gastro-intestinaux vers les acheteurs.

5. Conclusion

L'efficacité des lactones macrocycliques dans la lutte contre les strongles gastro-intestinaux reste globalement satisfaisante dans les élevages testés, ce qui constitue un élément rassurant concernant leur utilisation. En effet la Cydectine® orale reste efficace dans tous les élevages testés, à l'exception de l'exploitation A dans laquelle l'hypothèse la plus probable est une erreur de manipulation lors de la réalisation des traitements. L'Oramec® présente une parfaite efficacité dans sept des neuf exploitations ayant participé à l'étude.

Plusieurs arguments sont en faveur d'une suspicion de résistance à l'Oramec® dans l'exploitation E. La valeur de FECRT est de 87% après coproscopie de mélange et 88,8% après la confirmation à l'aide de coproscopies individuelles. De plus l'identification des espèces de strongles a permis de mettre en évidence la présence exclusive d'*H. contortus*, ce qui suggère une efficacité correcte sur les autres espèces de strongles mais l'existence de mécanismes de résistance à l'ivermectine chez une souche de *H. contortus* présente dans l'élevage.

Les résultats concernant l'exploitation C sont plus ambigus. En effet les valeurs de FECRT sont correctes mais la PCR et par la suite la réalisation de coproscopies individuelles ont permis de mettre en évidence la présence en faible nombre d'œufs de l'espèce *H. contortus* après traitement. Cette exploitation est de plus située en contrebas de l'exploitation E avec certaines parcelles de pâture directement voisines les unes des autres. L'hypothèse de transmission de larves résistantes d'une exploitation à une autre ne peut donc pas être écartée, par exemple par le biais du ruissellement des eaux de pluie. Il est cependant difficile d'expliquer comment une souche de *H. contortus* résistante à l'ivermectine a pu être introduite ou sélectionnée dans ces exploitations.

Conclusion générale

La gestion des strongyloses gastro-intestinales des ovins est aujourd'hui de plus en plus difficile à mettre en œuvre. Elle reste indispensable de par les pertes économiques et les atteintes du bien-être animal engendrées par ces parasites, mais les mentalités doivent évoluer rapidement afin de mettre en place une lutte raisonnée.

La résistance aux anthelminthiques est une problématique majeure dans certaines régions du monde, mais de plus en plus de cas sont décrits dans différents bassins de l'élevage en France. En raison de leur facilité et sécurité d'utilisation, ainsi que l'absence de résistance connue en France il y a encore quelques années, les lactones macrocycliques ont pris une place très importante en élevage ovin et constituent la seule famille anthelminthique utilisée dans beaucoup d'entre eux.

Cette étude, réalisée dans les élevages ovins du bassin de Roquefort, a permis de mettre en évidence que l'efficacité de ces molécules peut être mise en péril à plus ou moins long terme. En ce qui concerne l'éprinomectine appliquée en Pour On, très utilisée en élevage laitier en raison d'un temps d'attente nul dans le lait, les résultats obtenus sont préoccupants puisqu'une baisse d'efficacité est observée dans la grande majorité des exploitations ayant participé à l'étude. Il n'est à ce jour pas possible de dire si cette diminution d'efficacité est due à un problème de biodisponibilité lié à la formulation Pour On de l'Eprinex multi®, ou à l'apparition de mécanismes de résistance à l'éprinomectine chez certaines souches de strongles gastro-intestinaux. Une enquête est actuellement réalisée afin de répondre à cette question.

En élevage ovin allaitant les deux lactones macrocycliques les plus fréquemment utilisées sont l'ivermectine et la moxidectine. Dans les élevages ayant participé à l'étude la moxidectine (Cydectine®) possède une parfaite efficacité contre toutes les espèces de strongles gastro-intestinaux, ce qui constitue un élément rassurant concernant son utilisation. L'ivermectine (Oramec®) reste elle aussi efficace dans la plupart des exploitations, mais des questions concernant l'apparition de mécanismes de résistance chez *H. contortus* se posent dans deux d'entre elles. Le seul FECRT ne permet pas d'affirmer avec certitude l'existence de strongles résistants, toutefois avec l'augmentation de la prévalence des résistances aux lactones macrocycliques en France, il constitue un signe d'appel qui ne peut pas être ignoré. L'identification des espèces de strongles a ici permis de renforcer cette suspicion étant donné que seule l'espèce *H. contortus* reste présente après traitement.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, Philippe JACQUIET, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Anaëlle DESMOLIN** intitulée « **Évaluation de l'efficacité des lactones macrocycliques sur les strongles digestifs des ovins du rayon de Roquefort** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 20/06/2019
Professeur Philippe JACQUIET
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
Le Directeur par intérim de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Frédéric BOUSQUET



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Alexis VALENTIN



Mme Anaëlle DESMOLIN
a été admis(e) sur concours en : 2014
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 18/07/2018
a validé son année d'approfondissement le : 20/06/2019
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL

Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU



Régine ANDRE-OBRECHT

Bibliographie

Abbott, K.A., Taylor, M., and Stubbings, L.A. (2012). Sustainable worm control strategies for sheep - 4th Edition.

Abongwa, M., Martin, R.J., and Robertson, A.P. (2017). A BRIEF REVIEW ON THE MODE OF ACTION OF ANTINEMATODAL DRUGS. *Acta Vet (Beogr)* 67, 137–152.

Aguayo-Ortiz, R., Méndez-Lucio, O., Romo-Mancillas, A., Castillo, R., Yépez-Mulia, L., Medina-Franco, J.L., and Hernández-Campos, A. (2013). Molecular basis for benzimidazole resistance from a novel β -tubulin binding site model. *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 45, 26–37.

Babo Daniel (2000). *Races ovines et caprines françaises* (Paris: France agricole).

Ballweber, L.R. (2006). Diagnostic Methods for Parasitic Infections in Livestock. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 22, 695–705.

Bartley, D.J., Devin, L., Nath, M., and Morrison, A.A. (2015). Selection and characterisation of monepantel resistance in *Teladorsagia circumcincta* isolates. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* 5, 69–76.

Bassissi, M.F., Alvinerie, M., and Lespine, A. (2004). Macrocyclic lactones: distribution in plasma lipoproteins of several animal species including humans. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 138, 437–444.

Baur, R., Beech, R., Sigel, E., and Rufener, L. (2015). Monepantel irreversibly binds to and opens *Haemonchus contortus* MPTL-1 and *Caenorhabditis elegans* ACR-20 receptors. *Mol. Pharmacol.* 87, 96–102.

Beasley, A.M., Kahn, L.P., and Windon, R.G. (2010). The periparturient relaxation of immunity in Merino ewes infected with *Trichostrongylus colubriformis*: Parasitological and immunological responses. *Veterinary Parasitology* 168, 60–70.

Besier, R.B. (2012). Refugia-based strategies for sustainable worm control: factors affecting the acceptability to sheep and goat owners. *Vet. Parasitol.* 186, 2–9.

Besier, R.B., Kahn, L.P., Sargison, N.D., and Van Wyk, J.A. (2016a). The Pathophysiology, Ecology and Epidemiology of *Haemonchus contortus* Infection in Small Ruminants. *Adv. Parasitol.* 93, 95–143.

Besier, R.B., Kahn, L.P., Sargison, N.D., and Van Wyk, J.A. (2016b). Diagnosis, Treatment and Management of *Haemonchus contortus* in Small Ruminants. *Adv. Parasitol.* 93, 181–238.

Bisset, S.A., Knight, J.S., and Bouchet, C.L.G. (2014). A multiplex PCR-based method to identify strongylid parasite larvae recovered from ovine faecal cultures and/or pasture samples. *Veterinary Parasitology* 200, 117–127.

Blackhall, W.J., Pouliot, J.F., Prichard, R.K., and Beech, R.N. (1998). *Haemonchus contortus*: selection at a glutamate-gated chloride channel gene in ivermectin- and moxidectin-selected strains. *Exp. Parasitol.* 90, 42–48.

- Bousquet-Mélou, A., Jacquet, P., Hoste, H., Clément, J., Bergeaud, J.-P., Alvinerie, M., and Toutain, P.-L. (2011). Licking behaviour induces partial anthelmintic efficacy of ivermectin pour-on formulation in untreated cattle. *Int. J. Parasitol.* *41*, 563–569.
- Brard, C., and Chartier, C. (1997). Quand suspecter une strongylose digestive chez les ovins et les caprins et conduite à tenir. *Le Point Vétérinaire* 83–88.
- Broughan, J.M., and Wall, R. (2007). Faecal soiling and gastrointestinal helminth infection in lambs. *International Journal for Parasitology* *37*, 1255–1268.
- Bygarski, E.E., Prichard, R.K., and Ardelli, B.F. (2014). Resistance to the macrocyclic lactone moxidectin is mediated in part by membrane transporter P-glycoproteins: Implications for control of drug resistant parasitic nematodes. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist* *4*, 143–151.
- Cabaret, J., Charvet, C., Fauvin, A., Sylvestre, A., Sauve, C., Cortet, J., and Neveu, C. (2009). Strongles du tractus digestif des ruminants : mécanismes de résistance aux anthelminthiques et conséquences sur leur gestion. *Bull. Acad. Vét. Franc* *162*.
- Campbell, W.C. (1990). Benzimidazoles: Veterinary uses. *Parasitology Today* *6*, 130–133.
- Cazajous, T., Prevot, F., Kerbirou, A., Milhes, M., Grisez, C., Tropee, A., Godart, C., Aragon, A., and Jacquet, P. (2018). Multiple-resistance to ivermectin and benzimidazole of a *Haemonchus contortus* population in a sheep flock from mainland France, first report. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* *14*, 103–105.
- Cintra, M.C.R., Ollhoff, R.D., and Sotomaior, C.S. (2018). Sensitivity and specificity of the FAMACHA© system in growing lambs. *Veterinary Parasitology* *251*, 106–111.
- Coles, G.C. (2006). Drug resistance and drug tolerance in parasites. *Trends in Parasitology* *22*, 348.
- Coles, G.C., Jackson, F., Pomroy, W.E., Prichard, R.K., von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., Taylor, M.A., and Vercruyse, J. (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* *136*, 167–185.
- Corbett, J.R., and Goose, A.J. (1971). The biochemical mode of action of the fasciolicides nitroxylin, hexachlorophane and oxyclozanide. *Biochem J* *121*, 41P.
- Corinne Maignet (2018). Les chiffres clés du GEB - ovins 2017 Productions lait et viande.
- Cornelius, M.P., Jacobson, C., and Besier, R.B. (2014). Body condition score as a selection tool for targeted selective treatment-based nematode control strategies in Merino ewes. *Veterinary Parasitology* *206*, 173–181.
- Cringoli, G., Veneziano, V., Jackson, F., Vercruyse, J., Greer, A.W., Fedele, V., Mezzino, L., and Rinaldi, L. (2008). Effects of strategic anthelmintic treatments on the milk production of dairy sheep naturally infected by gastrointestinal strongyles. *Veterinary Parasitology* *156*, 340–345.
- Devos, J., and Paraud, C. (2014). échec d'un traitement anthelminthique : est-ce de la résistance ? *Le point vétérinaire - Expert rural* *45*, 56–57.

- Devos, J., and Rostang, A. (2017). Pharmacocinétique de l'éprinomectine chez les petits ruminants. *Bulletin Des GTV*.
- Drudge, J.H., Leland, S.E., and Wyant, Z.N. (1957). Strain variation in the response of sheep nematodes to the action of phenothiazine. II. Studies on pure infections of *Haemonchus contortus*. *Am. J. Vet. Res.* *18*, 317–325.
- Duvauchelle-Waché, A., Ravinet, N., Chauvin, A., Chartier, C., Hoste, H., Lefrileux, Y., Jacquiet, J., Frappat, B., and Trou, G. (2017). Le traitement ciblé-sélectif des bovins, ovins et caprins contre les strongles gastro-intestinaux.
- Falzon, L.C., O'Neill, T.J., Menzies, P.I., Peregrine, A.S., Jones-Bitton, A., vanLeeuwen, J., and Mederos, A. (2014). A systematic review and meta-analysis of factors associated with anthelmintic resistance in sheep. *Prev. Vet. Med.* *117*, 388–402.
- Floate, K.D., Colwell, D.D., and Fox, A.S. (2002). Reductions of non-pest insects in dung of cattle treated with endectocides: a comparison of four products. *Bull. Entomol. Res.* *92*, 471–481.
- Floate, K.D., Wardhaugh, K.G., Boxall, A.B.A., and Sherratt, T.N. (2005). Fecal residues of veterinary parasiticides: nontarget effects in the pasture environment. *Annu. Rev. Entomol.* *50*, 153–179.
- Fondraz, M. (2012). Evaluation de la méthode FAMACHA dans le but de détecter une anémie clinique dans les élevages caprins du Nord-Ouest de l'Argentine. other.
- Fox, M.T. (1997). Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants: recent developments. *Veterinary Parasitology* *72*, 285–308.
- FranceAgriMer (2015). Marché mondial de la viande ovine : un commerce en mutation.
- FranceAgriMer (2016). Feuille de route pour la mise en œuvre de la politique de l'UE en matière de viande dans le secteur ovin. Recommandations pour le forum sur la viande ovine.
- France Génétique Elevage (2015). Les Races Lacaune.
- Fresnay, E. (2018). L'apport de la pharmacovigilance dans la surveillance des médicaments : exemple des antiparasitaires destinés aux animaux de rente. *Le point vétérinaire - Expert rural* *49*, 58–63.
- Furtado, L.F.V., de Paiva Bello, A.C.P., and Rabelo, É.M.L. (2016). Benzimidazole resistance in helminths: From problem to diagnosis. *Acta Tropica* *162*, 95–102.
- Geurden, T., Hoste, H., Jacquiet, P., Traversa, D., Sotiraki, S., Frangipane di Regalbono, A., Tzanidakis, N., Kostopoulou, D., Gaillac, C., Privat, S., et al. (2014). Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in France, Greece and Italy. *Vet. Parasitol.* *201*, 59–66.
- G.M. Urquhart, J. Armour, J.L. Duncan, A.M. Dunn, and F.W. Jennings (1996). *Veterinary parasitology, second edition* (blackwell science).
- Gottschall, D.W., Theodorides, V.J., and Wang, R. (1990). The metabolism of benzimidazole anthelmintics. *Parasitology Today* *6*, 115–124.

- Hamer, K., Bartley, D., Jennings, A., Morrison, A., and Sargison, N. (2018). Lack of efficacy of monepantel against trichostrongyle nematodes in a UK sheep flock. *Veterinary Parasitology* 257, 48–53.
- Hendrix, C.M., and Robinson, E. (2012). *Diagnostic parasitology for Veterinary Technicians*, fourth edition (Elsevier).
- Hertzberg, H., Huwyler, U., Kohler, L., Rehbein, S., and Wanner, M. (2002). Kinetics of exsheathment of infective ovine and bovine strongylid larvae in vivo and in vitro. *Parasitology* 125, 65–70.
- Hoste, H., Huby, F., and Mallet, S. (1997). Strongyloses gastro-intestinales des ruminants : conséquences physiopathologiques et mécanismes pathogéniques. *Point Veterinaire*.
- Ian Sutherland, and Ian Scott (2010). *Gastrointestinal Nematodes of Sheep and Cattle, biology and control* (Wiley Blackwell).
- Interbev (2017). Plan de la filière ovine française.
- Jacquet, P. (1997). Les strongles digestifs des ruminants. *Le Point Vétérinaire* 20–21.
- Jacquet, P. (2015a). Stratégies d'échantillonnage, d'analyse et d'interprétation des résultats coproscopiques dans l'espèce ovine (Paris).
- Jacquet, P. (2015b). Comment rationaliser les traitements anthelminthiques en élevage ovin ? *Le Nouveau Praticien Vétérinaire* 8, 45–50.
- Jacquet, P., Canellas, A., Bonnefont, M., Prevot, F., Lienard, E., Milhes, M., and Grisez, C. (2014a). Les outils de dépistage des strongyloses gastro-intestinales chez les ovins. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire*.
- Jacquet, P., Fidelle, F., Lepetitcolin, E., Privat, S., Gaillac, C., Bergeaud, J., and Hoste, H. (2014b). Etat des lieux de la résistance aux anthelminthiques en France chez les ovins. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire* 7, 16–22.
- Jagła, E., Śpiewak, J., Zalesny, G., and Popiołek, M. (2013). Effect of storage and preservation of horse faecal samples on the detectability and viability of strongylid nematode eggs and larvae. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 57, 161–165.
- J. Cabaret, G. Morales, and M.-C. Durette-Desset (1986). Caractérisation de *Teladorsagia circumcincta* et *T. trifurcata*, aspects morphologiques. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 55–64.
- Kaminsky, R., Gauvry, N., Schorderet Weber, S., Skripsky, T., Bouvier, J., Wenger, A., Schroeder, F., Desaulles, Y., Hotz, R., Goebel, T., et al. (2008). Identification of the amino-acetonitrile derivative monepantel (AAD 1566) as a new anthelmintic drug development candidate. *Parasitol Res* 103, 931–939.
- Kaplan, R.M. (2004). Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends in Parasitology* 20, 477–481.
- Kaufmann, J. (1996). *Parasitic Infections of Domestic Animals: A Diagnostic Manual* (ILRI (aka ILCA and ILRAD)).

- Kenyon, F., Rinaldi, L., McBean, D., Pepe, P., Bosco, A., Melville, L., Devin, L., Mitchell, G., Ianniello, D., Charlier, J., et al. (2016). Pooling sheep faecal samples for the assessment of anthelmintic drug efficacy using McMaster and Mini-FLOTAC in gastrointestinal strongyle and *Nematodirus* infection. *Vet. Parasitol.* 225, 53–60.
- Kerboeuf, D., Hubert, J., and Hoste, H. (1997). Le diagnostic de laboratoire des strongyloses des ruminants. *Le Point Vétérinaire* 89–96.
- Kiki-Mvouaka, S. (2009). Rôle de la P-glycoprotéine dans le devenir des lactones macrocycliques antiparasitaires chez l'animal. Toulouse III - Paul Sabatier.
- Köhler, P. (2001). The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *Int. J. Parasitol.* 31, 336–345.
- Kotze, A.C., Hunt, P.W., Skuce, P., von Samson-Himmelstjerna, G., Martin, R.J., Sager, H., Krücken, J., Hodgkinson, J., Lespine, A., Jex, A.R., et al. (2014). Recent advances in candidate-gene and whole-genome approaches to the discovery of anthelmintic resistance markers and the description of drug/receptor interactions. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* 4, 164–184.
- Lacey, E. (1990). Mode of action of benzimidazoles. *Parasitol. Today (Regul. Ed.)* 6, 112–115.
- Larsen, J.W., Anderson, N., Vizard, A.L., Anderson, G.A., and Hoste, H. (1994). Diarrhoea in merino ewes during winter: association with trichostrongylid larvae. *Aust. Vet. J.* 71, 365–372.
- Lespine, A., Ménez, C., Bourguinat, C., and Prichard, R.K. (2012). P-glycoproteins and other multidrug resistance transporters in the pharmacology of anthelmintics: Prospects for reversing transport-dependent anthelmintic resistance. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist* 2, 58–75.
- Di Loria, A., Veneziano, V., Piantedosi, D., Rinaldi, L., Cortese, L., Mezzino, L., Cringoli, G., and Ciaramella, P. (2009). Evaluation of the FAMACHA system for detecting the severity of anaemia in sheep from southern Italy. *Veterinary Parasitology* 161, 53–59.
- Luo, X., Shi, X., Yuan, C., Ai, M., Ge, C., Hu, M., Feng, X., and Yang, X. (2017). Genome-wide SNP analysis using 2b-RAD sequencing identifies the candidate genes putatively associated with resistance to ivermectin in *Haemonchus contortus*. *Parasit Vectors* 10.
- Mage, C. (2016). *Maladies parasitaires du mouton - 3ème édition* (France agricole).
- Martin, R.J. (1997). Modes of action of anthelmintic drugs. *The Veterinary Journal* 154, 11–34.
- Martínez-Valladares, M., Geurden, T., Bartram, D.J., Martínez-Pérez, J.M., Robles-Pérez, D., Bohórquez, A., Florez, E., Meana, A., and Rojo-Vázquez, F.A. (2015). Resistance of gastrointestinal nematodes to the most commonly used anthelmintics in sheep, cattle and horses in Spain. *Vet. Parasitol.* 211, 228–233.
- Mavrot, F., Hertzberg, H., and Torgerson, P. (2015). Effect of gastro-intestinal nematode infection on sheep performance: a systematic review and meta-analysis. *Parasit Vectors* 8, 557.

- Mejía, M.E., Fernández Igartúa, B.M., Schmidt, E.E., and Cabaret, J. (2003). Multispecies and multiple anthelmintic resistance on cattle nematodes in a farm in Argentina: the beginning of high resistance? *Vet. Res.* *34*, 461–467.
- Milhes, M., Guillerm, M., Robin, M., Eichstadt, M., Roy, C., Grisez, C., Prévot, F., Liénard, E., Bouhsira, E., Franc, M., et al. (2017). A real-time PCR approach to identify anthelmintic-resistant nematodes in sheep farms. *Parasitol. Res.* *116*, 909–920.
- Molento, M.B., Wang, G.T., and Prichard, R.K. (1999). Decreased ivermectin and moxidectin sensitivity in *Haemonchus contortus* selected with moxidectin over 14 generations. *Veterinary Parasitology* *86*, 77–81.
- Morgan, E.R., and van Dijk, J. (2012). Climate and the epidemiology of gastrointestinal nematode infections of sheep in Europe. *Veterinary Parasitology* *189*, 8–14.
- Nielsen, M.K., Kaplan, R.M., Thamsborg, S.M., Monrad, J., and Olsen, S.N. (2007). Climatic influences on development and survival of free-living stages of equine strongyles: implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance. *Vet. J.* *174*, 23–32.
- Nielsen, M.K., Vidyashankar, A.N., Andersen, U.V., Delisi, K., Pilegaard, K., and Kaplan, R.M. (2010). Effects of fecal collection and storage factors on strongylid egg counts in horses. *Vet. Parasitol.* *167*, 55–61.
- Novobilský, A., and Höglund, J. (2015). First report of closantel treatment failure against *Fasciola hepatica* in cattle. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist* *5*, 172–177.
- O'Connor, L.J., Walkden-Brown, S.W., and Kahn, L.P. (2006). Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Vet. Parasitol.* *142*, 1–15.
- Papadopoulos, E., Gallidis, E., and Ptochos, S. (2012). Anthelmintic resistance in sheep in Europe: A selected review. *Veterinary Parasitology* *189*, 85–88.
- Papadopoulos, E., Gallidis, E., Ptochos, S., and Fthenakis, G.C. (2013). Evaluation of the FAMACHA© system for targeted selective anthelmintic treatments for potential use in small ruminants in Greece. *Small Ruminant Research* *110*, 124–127.
- Paraud, C., Marcotty, T., Lespine, A., Sutra, J.F., Pors, I., and Devos, I. (2016). Cross-resistance to moxidectin and ivermectin on a meat sheep farm in France. *Vet. Parasitol.* *226*, 88–92.
- Perry, R.N., and Clarke, A.J. (1981). Hatching mechanisms of nematodes. *Parasitology* *83*, 435–449.
- Pickering, N.K., Blair, H.T., Hickson, R.E., Dodds, K.G., Johnson, P.L., and McEwan, J.C. (2013). Genetic relationships between dagginess, breech bareness, and wool traits in New Zealand dual-purpose sheep. *J. Anim. Sci.* *91*, 4578–4588.
- Playford, M.C., Smith, A.N., Love, S., Besier, R.B., Kluver, P., and Bailey, J.N. (2014). Prevalence and severity of anthelmintic resistance in ovine gastrointestinal nematodes in Australia (2009-2012). *Aust. Vet. J.* *92*, 464–471.
- Pomroy, W.E. (2006). Anthelmintic resistance in New Zealand: a perspective on recent findings and options for the future. *N Z Vet J* *54*, 265–270.

- Ranjan, S., Wang, G.T., Hirschlein, C., and Simkins, K.L. (2002). Selection for resistance to macrocyclic lactones by *Haemonchus contortus* in sheep. *Veterinary Parasitology* 103, 109–117.
- Raynaud, J.P. (1970). Etude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le contrôle des infestations parasitaires des bovins, ovins, équins et porcins. *Annales de Parasitologie* 3, 321–342.
- Raza, A., Lamb, J., Chambers, M., Hunt, P.W., and Kotze, A.C. (2016). Larval development assays reveal the presence of sub-populations showing high- and low-level resistance in a monepantel (Zolvix®)-resistant isolate of *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology* 220, 77–82.
- Rinaldi, L., Levecke, B., Bosco, A., Ianniello, D., Pepe, P., Charlier, J., Cringoli, G., and Vercruyse, J. (2014). Comparison of individual and pooled faecal samples in sheep for the assessment of gastrointestinal strongyle infection intensity and anthelmintic drug efficacy using McMaster and Mini-FLOTAC. *Vet. Parasitol.* 205, 216–223.
- Riviere, J.E., and Papich, M.G. (2013). *Veterinary Pharmacology and Therapeutics* (John Wiley & Sons).
- Roeber, F., and Kahn, L. (2014). The specific diagnosis of gastrointestinal nematode infections in livestock: Larval culture technique, its limitations and alternative DNA-based approaches. *Veterinary Parasitology* 205, 619–628.
- Roeber, F., Jex, A.R., and Gasser, R.B. (2013). Impact of gastrointestinal parasitic nematodes of sheep, and the role of advanced molecular tools for exploring epidemiology and drug resistance - an Australian perspective. *Parasit Vectors* 6, 153.
- Roos, M.H. (1990). The molecular nature of benzimidazole resistance in helminths. *Parasitology Today* 6, 125–127.
- Rossanigo, C.E., and Gruner, L. (1995). Moisture and temperature requirements in faeces for the development of free-living stages of gastrointestinal nematodes of sheep, cattle and deer. *J. Helminthol.* 69, 357–362.
- Rufener, L., Wenger, A., Pradervend, E., Mosimann, D., and Kaminsky, R. Quick Determination Key for Gastro-Intestinal Nematodes of Sheep.
- Schoenian, S. (2005). *Internal Parasite Control*.
- Scott, I., Khalaf, S., Simcock, D.C., Knight, C.G., Reynolds, G.W., Pomroy, W.E., and Simpson, H.V. (2000). A sequential study of the pathology associated with the infection of sheep with adult and larval *Ostertagia circumcincta*. *Vet. Parasitol.* 89, 79–94.
- Scott, I., Pomroy, W.E., Kenyon, P.R., Smith, G., Adlington, B., and Moss, A. (2013). Lack of efficacy of monepantel against *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*. *Veterinary Parasitology* 198, 166–171.
- Seesao, Y., Gay, M., Merlin, S., Viscogliosi, E., Aliouat-Denis, C.M., and Audebert, C. (2017). A review of methods for nematode identification. *Journal of Microbiological Methods* 138, 37–49.

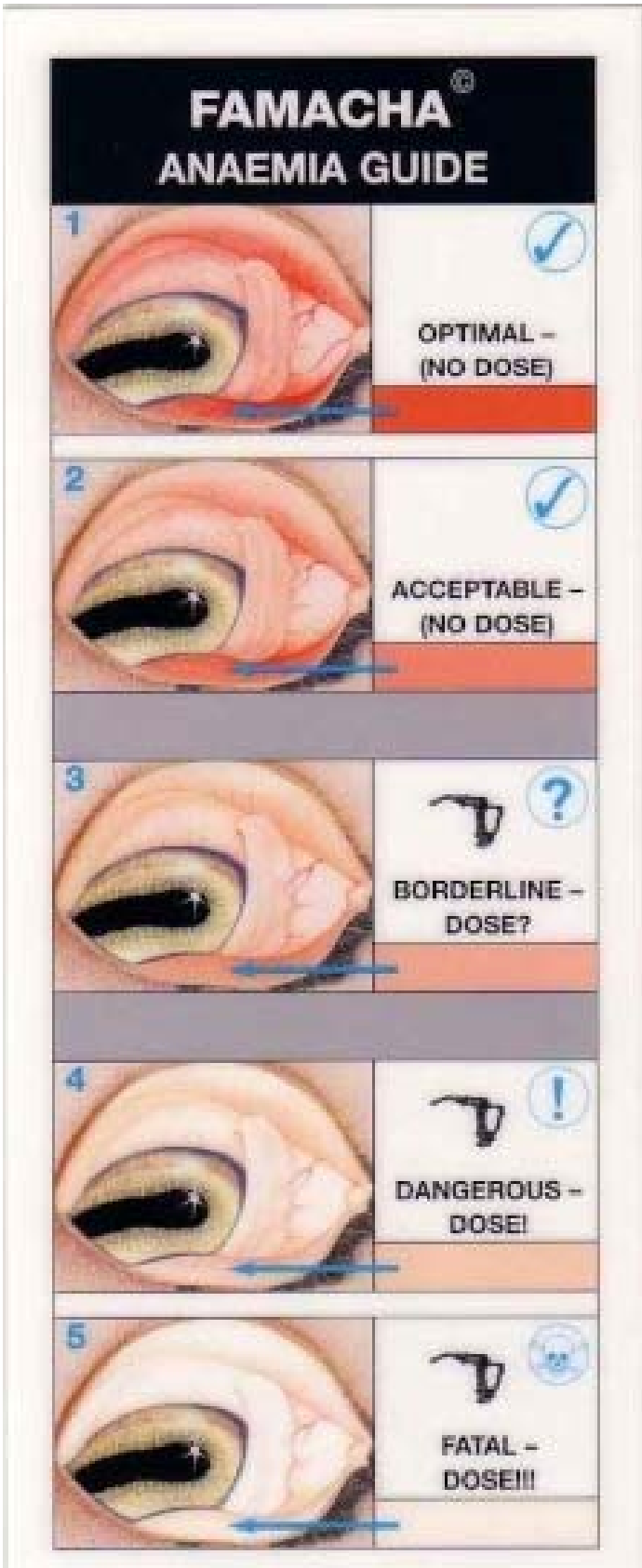
- Sengupta, M.E., Thapa, S., Thamsborg, S.M., and Mejer, H. (2016). Effect of vacuum packing and temperature on survival and hatching of strongyle eggs in faecal samples. *Vet. Parasitol.* 217, 21–24.
- Silvestre, A., Leignel, V., Berrag, B., Gasnier, N., Humbert, J.-F., Chartier, C., and Cabaret, J. (2002). Sheep and goat nematode resistance to anthelmintics: pro and cons among breeding management factors. *Vet. Res.* 33, 465–480.
- Stear, M.J., and Murray, M. (1994). Genetic resistance to parasitic disease: particularly of resistance in ruminants to gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology* 54, 161–176.
- Thienpont, D., Rochette, F., and Vanparijs, O.F.J. (2003). Diagnostic de verminose par l'examen coprologique - Troisième édition (Belgique: Janssen animal health).
- Thompson, J., and Meyer, H. (1994). Body condition scoring of sheep.
- Traversa, D., and von Samson-Himmelstjerna, G. (2016). Anthelmintic resistance in sheep gastro-intestinal strongyles in Europe. *Small Ruminant Research* 135, 75–80.
- Vercruysse, J., and Rew, R.S. (2002). *Macrocyclic Lactones in Antiparasitic Therapy* (CABI).
- Virlouvet, G. (2005). Effets des antiparasitaires sur les insectes coprophages. *Le Point Vétérinaire* 255, 42–45.
- Whittaker, J.H., Carlson, S.A., Jones, D.E., and Brewer, M.T. (2017). Molecular mechanisms for anthelmintic resistance in strongyle nematode parasites of veterinary importance. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 40, 105–115.
- Wilson, K., Bjornstad, O., Dobson, A., Merler, S., Polayen, G., Randolph, S., Read, A.F., and Skorping, A. (2002). Heterogeneities in Macroparasite Infections: Patterns and Processes. In *Ecol Wildl Dis*, pp. 6–44.
- Van Wyk, J.A., and Mayhew, E. (2013). Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: a practical lab guide. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 80, 539.
- Van Wyk, J.A., Cabaret, J., and Michael, L.M. (2004). Morphological identification of nematode larvae of small ruminants and cattle simplified. *Veterinary Parasitology* 119, 277–306.
- Zajac, A.M. (2006). Gastrointestinal nematodes of small ruminants: life cycle, anthelmintics, and diagnosis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 22, 529–541.

Annexes

Annexe 1 : grille de notation permettant d'attribuer les NEC des ovins

1	<p>Le processus épineux est net et proéminent, et les processus transverses sont nettement palpables Le muscle n'est pas recouvert par une couverture graisseuse On peut facilement passer le doigt sous le processus transverse</p>	<p>Labels: Spine prominent and sharp, No fat cover, Transverse process sharp, Fingers easily pass under</p>
2	<p>Le processus épineux est net et proéminent, et les processus transverses sont légèrement arrondis Le muscle est recouvert par une fine couverture graisseuse On peut passer le doigt sous le processus transverse en appuyant légèrement</p>	<p>Labels: Spine prominent and smooth, Thin fat cover, Muscles medium depth, Transverse process rounded, Fingers go under with pressure</p>
3	<p>Le processus épineux n'est pas saillant, on peut sentir les séparations entre les processus épineux des différentes vertèbres uniquement en exerçant une pression Les processus transverses sont arrondis et bien recouverts par une couverture graisseuse Une pression ferme est nécessaire afin de passer un doigt sous le processus transverse</p>	<p>Labels: Spine smooth rounded, Moderate fat cover, Muscles full, Transverse process smooth rounded, Fingers need hard pressure to find ends</p>
4	<p>Le processus épineux ne peut être senti qu'en exerçant une pression ferme et on ne sent plus d'espace entre les processus épineux des différentes vertèbres On ne peut pas sentir les processus épineux Le muscle est recouvert par une épaisse couche graisseuse</p>	<p>Labels: Spine detected only as a line, Fat cover thick, Muscles full, Transverse process cannot be felt</p>
5	<p>Les processus épineux ne sont plus palpables, un renfoulement est visible dans le couche de graisse au niveau de l'emplacement de la colonne vertébrale Les processus épineux ne sont plus palpables Les muscles sont recouverts par une couche graisseuse très importante</p>	<p>Labels: Spine not detectable; fat dimple over spine, Fat cover dense, Muscles very full, Transverse process not detectable</p>

Annexe 2 : colorations des muqueuses oculaires correspondant à l'attribution des notes de 1 à 5 dans la méthode FAMACHA (d'après Fondraz, 2012)



Annexe 3 : Méthode de réalisation des coproscopies de mélange

Préparation de la solution saline

Une solution saturée en sel doit être préparée afin de permettre la flottation des œufs de strongles gastro-intestinaux.

Pour cela 1kg de sel doit être incorporé à 3L d'eau tiède placée sur un agitateur magnétique. Lorsque tout le sel est dissout, on pèse précisément 100mL de solution. Le poids doit être d'au moins 119g pour s'assurer que la densité de la solution est suffisante.

Préparation du mélange

Les échantillons de fèces doivent être conditionnés de façon individuelle. Pour chaque échantillon individuel, 1g de fèces est pesé et placé dans un récipient commun à tout le lot d'animaux. Il faut ensuite écraser soigneusement les fèces pour obtenir un mélange homogène.

Préparation des lames de MacMaster

- 3g de matières fécales du mélange sont pesées et placées dans un verre à pied en plastique
- On ajoute 42mL de solution saline préparée précédemment, puis on mélange bien afin d'écraser les fèces.
- Le mélange obtenu est filtré à trois reprises à l'aide d'un tamis afin d'extraire un maximum d'œufs et d'éliminer une partie des débris végétaux.
- Les deux chambres d'une lame de MacMaster (figure) sont ensuite remplies avec la solution, puis observées au microscope au grossissement X10 pour permettre le comptage des œufs.

Calcul de l'OPG

Lors de l'observation des lames au microscope, on ne compte que les œufs de SGI présents dans chacun des deux réseaux. Chacun des deux réseaux contient un volume de 0,15mL de solution, on compte donc le nombre d'œufs présents dans 0,3mL.

Afin d'obtenir le nombre d'œufs de strongles gastro-intestinaux présents dans 1g de fèces (OPG) on réalise donc le calcul suivant :

$$OPG = 50 * (nb \text{ d'oeufs dans réseau } 1 + nb \text{ d'oeufs dans réseau } 2)$$

Annexe 4 : méthode de réalisation des coprocultures

Lors de leur réception, tous les échantillons de matière fécale sont identifiés de manière individuelle. Une coproculture est réalisée par lot d'animaux.

- 1) Pour chacun des échantillons d'un même lot, 3g de matières fécales sont pesés et placés dans un pot en plastique (un seul pot pour l'ensemble du lot).
- 2) Les fèces présents dans le pot sont humidifiés grâce à l'ajout au fond du pot d'un à deux millimètres d'eau puis les pots sont placés à l'étuve pendant 12 jours à une température de 24°C +/- 1°C.
- 3) Au cours de ces 12 jours, les fèces sont humidifiées tous les jours à l'aide d'un pulvérisateur (3 à 4 pulvérisation par pot et par jour).
- 4) A la fin de ces 12 jours, le pot est complètement rempli avec de l'eau et retourné dans une coupelle quadrillée que l'on remplit d'eau sur une hauteur de 5mm.
- 5) Une première récolte des larves a lieu 24h plus tard. Le liquide présent dans la coupelle quadrillé est prélevé à l'aide d'une pipette et placé dans un tube de 50mL. Ce tube est ensuite centrifugé à 3500 tours par minute pendant 10minutes afin de concentrer au fond du tube les larves présentes dans la suspension. Le surnageant est ensuite éliminé afin de ne garder que 5mL de liquide contenant les larves. Le tube est identifié avec le nom de l'élevage, le lot, et la date de mise en culture des matières fécales. Le tube est ensuite placé à +4°C, et la coupelle quadrillée est à nouveau remplie d'eau sur une hauteur de 5mm.
- 6) 24h après la première récolte des larves, la même manipulation est réalisée. Le liquide présent dans la coupelle quadrillée et à nouveau prélevé à l'aide d'une pipette et placé dans le même tube que la veille. Une centrifugation est réalisée à 3500 tours par minute pendant 10 minutes puis le surnageant est éliminé afin de ne conserver que 5mL de liquide qui contient les larves issues de la première et de la seconde récolte. Le tube contenant les larves est ensuite stocké à +4°C jusqu'à la suite des manipulations.

Annexe 5 : méthode de réalisation des coproscopies individuelles

La méthode présentée ici est la méthode de MacMaster modifiée par Raynaud. C'est la seule méthode utilisée au cours des différentes études présentées précédemment.

Préparation de la solution saline

Une solution saturée en sel doit être préparée afin de permettre la flottation des œufs de strongles gastro-intestinaux.

Pour cela 1kg de sel doit être incorporé à 3L d'eau tiède placée sur un agitateur magnétique. Lorsque tout le sel est dissout, on pèse précisément 100mL de solution. Le poids doit être d'au moins 119g pour s'assurer que la densité de la solution est suffisante.

Préparation des lames de MacMaster

- 3g de matières fécales sont pesées et placées dans un verre à pied en plastique
- On ajoute 42mL de solution saline préparée précédemment, puis on mélange bien afin d'écraser les fèces.
- Le mélange obtenu est filtré à trois reprises à l'aide d'un tamis afin d'extraire un maximum d'œufs et d'éliminer une partie des débris végétaux.
- Les deux chambres d'une lame de MacMaster (figure) sont ensuite remplies avec la solution, puis observées au microscope au grossissement X10 pour permettre le comptage des œufs.

Calcul de l'OPG

Lors de l'observation des lames au microscope, on ne compte que les œufs de SGI présents dans chacun des deux réseaux. Chacun des deux réseaux contient un volume de 0,15mL de solution, on compte donc le nombre d'œufs présents dans 0,3mL.

Afin d'obtenir le nombre d'œufs de strongles gastro-intestinaux présents dans 1g de fèces (OPG) on réalise donc le calcul suivant :

$$OPG = 50 * (nb \text{ d'oeufs dans réseau } 1 + nb \text{ d'oeufs dans réseau } 2)$$

Annexe 6 : Protocole d'extraction d'ADN avec le « PowerSoil® DNA Isolation Kit »

L'extraction d'ADN des larves L3 de strongles gastro-intestinaux est réalisée comme décrit ci-après. Ces étapes doivent être réalisées pour chacun des échantillons à analyser et pour un échantillon négatif qui servira de témoin d'extraction.

- Décongeler l'échantillon à extraire et en introduire 500µL dans un tube PowerBead, puis ajouter 60µL de réactif C1
- Vortexer horizontalement les tubes PowerBead pendant 10min sur force maximum
- Centrifuger à 10.000xg pendant 1min
- Prélever 500µL de surnageant et le mettre dans des tubes Collection
- Ajouter 250µL de réactif C2 et vortexer brièvement
- Incuber à 4°C pendant 5min
- Centrifuger à 10.000xg pendant 1min
- Prélever 700µL de surnageant en veillant à ne pas toucher le culot et les déposer dans un tube Collection neuf, et ajouter 1200µL de réactif C4
- Prélever 650µL et les placer dans des tubes Spin Filter. Centrifuger à 10.000xg pendant 1min et jeter le liquide. Cette étape est é réaliser trois fois en gardant le même tube Spin Filter tout le long
- Ajouter 500µL de réactif C5 dans le tube Spin Filter
- Centrifuger à 10.000xg pendant 1min puis jeter le liquide qui est passé à travers la membrane
- Centrifuger à 10.000xg pendant 1min puis placer le filtre dans un tube collection neuf
- Ajouter 100µL de réactif C6 au centre de la membrane blanche
- Centrifuger à 10.000xg pendant 1min
- Jeter la colonne en conservant le tube et la solution.

Annexe 7 : proportion des différentes espèces identifiées par PCR dans les différents lots de chaque exploitation étudiées lors de l'été 2017

			<i>H. contortus</i>	<i>T. circumcincta</i>	<i>Trichostrongylus spp</i>	total (larves/mL)
Exploitation A	Lot Eprinex	J0	25,3	54,8	19,9	664
		J14	0	2,9	97,1	70
	Lot témoin	J0	57,9	27,5	14,6	896
		J14	37,8	47,1	15,1	119
Exploitation B	Lot Eprinex	J0	19,4	70,1	10,5	3229
		J14	2,2	2,7	95,1	371
	Lot témoin	J0	31,5	57,0	11,5	1947
		J14	31,9	27,4	40,7	854
Exploitation C	Lot Eprinex	J0	95,7	3,1	1,2	34633
		J14	41,5	17,6	40,9	465
	Lot témoin	J0	95,4	2,4	2,1	15892
		J14	92,1	2,3	5,6	4266
Exploitation D	Lot Eprinex	J0	94,9	0,3	4,7	2766
		J14	85,8	1,5	12,7	780
	Lot témoin	J0	83,0	4,2	12,8	1545
		J14	30,9	23,9	45,2	683
Exploitation E	Lot Eprinex	J0	65,6	20,2	14,2	16551
		J14	83,2	11,6	5,2	78459
	Lot témoin	J0	70,4	21,1	8,5	49416
		J14	23,7	7,9	68,5	59315
Exploitation F	Lot Eprinex	J0	28,5	56,2	15,2	20371
		J14	0	1	99	693
	Lot témoin	J0	39,3	46,6	14	19383
		J14	39,1	38,9	22,1	6169
Exploitation G	Lot Eprinex	J0	0,0	99,0	1,0	7887
		J14	0,0	77,9	22,1	788
	Lot témoin	J0	0,0	96,5	3,5	2340
		J14	0,0	95,3	4,7	4676
Exploitation H	Lot Eprinex	J0	0,0	88,0	12,0	8344
		J14	0,0	0,0	100,0	336
	Lot témoin	J0	0,0	83,6	16,4	2841
		J14	0,0	82,4	17,6	296
Exploitation I	Lot Eprinex	J0	89,5	9,1	1,4	26181
		J14	1,3	46,0	52,7	1079
	Lot témoin	J0	87,9	11,3	0,8	58188
		J14	74,8	24,3	0,9	48401

Exploitation J	Lot Eprinex	J0	37,7	60,7	1,6	12430
		J14	22,0	2,2	75,8	91
	Lot témoin	J0	29,5	69,3	1,2	15135
		J14	42,0	57,1	0,9	12152
Exploitation K	Lot Eprinex	J0	44,8	34,5	20,6	689
		J14	43,4	40,7	15,9	788
	Lot témoin	J0	0	100	0	21
		J14	39,6	49,1	11,3	965
Exploitation L	Lot Eprinex	J0	100	0	0	23
		J14	0	0	100	10
	Lot témoin	J0	97	2,4	0,6	4186
		J14	92	5,1	2,9	1466

Annexe 8 : méthode de calcul des intervalles de confiance à 95% des FECRT

n : nombre d'individus présents dans le lot considéré

t : lot traité post-traitement

c : lot contrôle post-traitement

Moyenne arithmétique des FEC : $\overline{FEC} = \sum_j FEC_j / n$

Variance d'un lot : $S^2 = \frac{\sum_j FEC_j^2 - \frac{(\sum_j FEC_j)^2}{n}}{n-1}$

Variance de réduction : $Y^2 = \frac{S_t^2}{n_t * \overline{FEC}_t^2} + \frac{S_c^2}{n_c * \overline{FEC}_c^2}$

Borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95% :

$$100 * \left[1 - \frac{\overline{FEC}_t}{\overline{FEC}_c} * e^{(2,049 * \sqrt{Y^2})} \right]$$

Borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95% :

$$100 * \left[1 - \frac{\overline{FEC}_t}{\overline{FEC}_c} * e^{(-2,049 * \sqrt{Y^2})} \right]$$

Annexe 9 : résultats des coproscopies individuelles réalisées dans l'exploitation A au cours de l'automne 2017. Les brebis ayant été prises en compte dans l'élaboration du FECRT sont identifiées par un fond coloré.

Lot témoin			Lot Eprinex		
brebis	FEC à J0 (opg)	FEC à J14 (opg)	brebis	FEC à J0 (opg)	FEC à J14 (opg)
6207	150	0	6245	150	0
6404	300	850	696	700	200
628	0	0	6280	100	0
6238	200	300	644	1550	0
6163	100	150	649	700	0
6193	150	150	6434	100	0
611	400	450	6247	1500	0
639	200	1300	6551	150	100
632	150	150	6515	950	250
636	200	600	616	250	0
6244	50	450	6157	0	150
6297	0	50	6163	1250	150

Annexe 10 : résultats des coproscopies individuelles réalisées dans l'exploitation B au cours de l'automne 2017. Les brebis ayant été prises en compte dans l'élaboration du FECRT sont identifiées par un fond coloré.

Lot témoin			Lot Eprinex		
brebis	FEC à J0 (opg)	FEC à J14 (opg)	brebis	FEC à J0 (opg)	FEC à J14 (opg)
672	300	-	626	850	0
650	600	500	630	0	65
647	200	-	640	650	50
663	15	0	662	100	0
668	1250	1050	603	750	100
654	150	150	622	0	100
645	300	250	658	850	100
644	1550	1400	642	75	0
612	15	15	618	150	250
634	30	0	639	1550	250
666	1100	1050	635	100	0
631	1300	1400	604	350	750

Annexe 11 : résultats des coproscopies individuelles réalisées dans l'exploitation C au cours de l'automne 2017. Les brebis ayant été prises en compte dans l'élaboration du FECRT sont identifiées par un fond coloré.

Lot témoin			Lot Eprinex		
brebis	FEC à J0 (opg)	FEC à J14 (opg)	brebis	FEC à J0 (opg)	FEC à J14 (opg)
6135	2100	350	614	200	0
671	2700	1500	6105	500	200
6128	300	15	673	0	0
652	250	50	690	0	0
6115	1750	300	650	400	0
665	1000	-	622	3250	150
655	900	100	6151	0	0
6111	2200	1700	693	600	200
6113	30	50	608	250	0
698	120	-	676	150	50
6122	1050	1000	6119	0	0
663	200	0			

Annexe 12 : résultats des coproscopies individuelles réalisées dans l'exploitation D au cours de l'automne 2017. Le FECRT n'a pas pu être mis en place à cause des excréments trop faibles à J0.

Lot témoin			Lot Eprinex		
brebis	FEC à J0 (opg)	FEC à J14 (opg)	brebis	FEC à J0 (opg)	FEC à J14 (opg)
6168	550	300	6246	50	0
6149	0	0	675	100	15
6602	0	0	6174	1850	250
634	100	60	6235	0	0
6121	15	15	6272	450	0
6159	30	15	6112	0	50
679	550	-	6228	200	0
668	0	0	6241	1750	0
631	30	0	688	0	0
660	0	0	643	150	0
6134	0	-	6268	0	0
646	15	0			



Annexe 13 : proportion des différentes espèces identifiées par PCR dans les différents lots de chaque exploitation étudiées lors de l'automne 2017

			<i>H. contortus</i>	<i>T. circumcincta</i>	<i>Trichostrongylus spp</i>	total (larves/mL)
Exploitation A	Lot Eprinex	J0	57,2	3,9	38,9	52125
		J14	2,3	1,6	96,1	1726
	Lot témoin	J0	44,0	5,6	50,4	4854
		J14	67,0	7,3	25,7	696
Exploitation B	Lot Eprinex	J0	0,0	0,0	100,0	377
		J14	0,0	0,0	100,0	507
	Lot témoin	J0	0,0	0,2	99,8	1889
		J14	0,0	6,7	93,3	30
Exploitation C	Lot Eprinex	J0	95,6	0,6	3,8	986
		J14	0,0	0,0	100,0	94
	Lot témoin	J0	90,0	0,4	9,6	2740
		J14	88,7	3,1	8,2	816
Exploitation D	Lot Eprinex	J0	60,0	0,0	40,0	10
		J14	0,0	0,0	100,0	14
	Lot témoin	J0	77,8	0,0	22,2	9
		J14	77,8	22,2	0,0	9

Annexe 14 : proportion des différentes espèces identifiées par PCR dans les différents lots de chaque exploitation étudiées lors de l'été 2018

			<i>H. contortus</i>	<i>T. circumcincta</i>	<i>Trichostrongylus spp</i>	total (larves/mL)
Exploitation A	J0	Témoin	2,6	37,3	60,1	1914
	J14	Témoin	8,3	0	91,7	24
		Oramec	0	0	0	0
		Cydecitine	0	9	91	88
Exploitation B	J0	Témoin	46,9	4,3	48,8	922
	J14	Témoin	8	0	92	156
		Oramec	0	0	0	0
		Cydecitine	0	0	0	0
Exploitation C	J0	Témoin	50	50	0	32
	J14	Témoin	82,4	11,8	5,9	34
		Oramec	100	0	0	2
		Cydecitine	0	0	0	0
Exploitation D	J0	Témoin	32,4	28,2	39,4	142
	J14	Témoin	82,8	11,3	5,9	1148
		Oramec	0	0	0	0
		Cydecitine	0	0	0	0
Exploitation E	J0	Témoin	74,1	3,7	22,2	54
	J14	Témoin	0	0	100	28
		Oramec	100	0	0	24
		Cydecitine	0	0	0	0
Exploitation F	J0	Témoin	92,3	6,8	0,9	1800
	J14	Témoin	88,1	2,2	9,6	624
		Oramec	0,0	0,0	0,0	0
		Cydecitine	0,0	0,0	0,0	0
Exploitation G	J0	Témoin	0,0	77,9	22,1	2240
	J14	Témoin	0,0	0,0	100,0	20
		Oramec	0,0	0,0	0,0	0
		Cydecitine	0,0	0,0	0,0	0
Exploitation H	J0	Témoin	0,0	0,0	100,0	124
	J14	Témoin	2,4	9,6	88,0	166
		Oramec	0,0	0,0	0,0	0
		Cydecitine	0,0	0,0	0,0	0
Exploitation I	J0	Témoin	22,2	0,0	77,8	18
	J14	Témoin	33,3	0,0	66,7	90
		Oramec	0,0	0,0	0,0	0
		Cydecitine	0,0	0,0	0,0	0







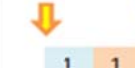


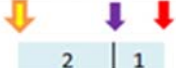
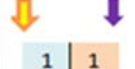


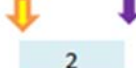


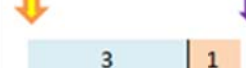

Annexe 15 : conditions de stockage des matières fécales depuis le prélèvement jusqu'aux différentes analyses réalisées

 Réalisation des prélèvements
  Réalisation des coproscopies de mélange et des coprocultures

 Réalisation des coproscopies individuelles de confirmation

 1 Nombre de jours de stockage à température ambiante

 1 Nombre de jours de stockage à +4°C

Exploitation	J0	J14
A		
B		
C		
D		
E		
F		
G		
H		
I		

Annexe 16 : traitements anthelminthiques commandés entre 2013 et 2018 dans l'exploitation C

date délivrance	spécialité	Molécule	volume
mai-13	Cydecine orale	moxidectine	2L
juin-13	Seponver	closantel	1L
janv.-14	Oramec	ivermectine	6L
mai-14	Cydecine orale	moxidectine	6L
juin-14	Cydecine orale	moxidectine	7L
mai-15	Cydecine orale	moxidectine	5L
juin-15	Cydecine orale	moxidectine	1L
août-15	Seponver	closantel	7,5L
juil.-16	Cydecine orale	moxidectine	5L
juin-17	Biaminthic	lévamisole	1L
déc.-17	Oramec	ivermectine	5L

Annexe 17 : traitements anthelminthiques commandés entre 2013 et 2018 dans l'exploitation E

date délivrance	spécialité	Molécule	volume
janv.-13	Hapadex	néobimin	2,5L
avr.-13	Cydecine orale	moxidectine	5L
oct.-13	Hapadex	néobimin	5L
avr.-14	Cydecine orale	moxidectine	5L
sept.-14	Seponver	closantel	5L
avr.-15	Cydecine orale	moxidectine	5L
déc.-15	Hapadex	néobimin	5L
mai-16	Cydecine orale	moxidectine	5L
nov.-16	Oramec	ivermectine	5L
avr.-17	Cydecine orale	moxidectine	5L
juil-17	Seponver	closantel	5L
janv-18	Hapadex	néobimin	5L

Titre : Evaluation de l'efficacité des lactones macrocycliques sur les strongles digestifs des ovins du rayon de Roquefort

Résumé : La gestion des strongles gastro-intestinaux en élevage ovin constitue un problème majeur du fait des pertes économiques qu'ils engendrent. La lutte est de plus en plus difficile à mettre en œuvre à cause des résistances aux anthelminthiques. Dans cette étude, l'efficacité de l'Eprinex multi® (Eprinomectine pour-on) a été évaluée dans 12 exploitations laitières, et celle de l'Oramec® (ivermectine orale) et la Cydectine® orale (moxidectine orale) dans 9 exploitations allaitantes. Un défaut d'efficacité de l'Eprinex multi® et de l'Oramec® a été mis en évidence respectivement dans 10 et dans 2 des exploitations, tandis que l'efficacité de la Cydectine® orale est conservée dans les exploitations où elle a été testée. Une identification moléculaire des espèces de strongles présentes après traitement a permis de constater qu'il s'agit exclusivement d'*H. contortus* après traitement l'Oramec® tandis que les trois principales espèces restent présentes après traitement à l'Eprinex multi®.

Mots clés : Lactones macrocycliques, Moxidectine, Ivermectine, Eprinomectine, Strongles, Nématodes, Résistance, Ovins, Rayon de Roquefort

Title : Evaluation of macrocyclic lactones efficiency in gastrointestinal nematodes of Sheep in Roquefort area

Abstract : The control of gastro-intestinal nematodes in sheep is a major issue because of the economic impact of such parasitism. Protection against worms is more and more difficult because of anthelmintics resistance. In this study, Eprinex multi® efficiency (eprinomectin, pour-on) was evaluated in 12 dairy sheep farms, and Oramec® (ivermectin, *per os*) and Cydectine® orale (moxidectin, *per os*) efficiency was investigated in 9 meat sheep farms. A lack of efficiency of Eprinex multi® and Oramec® was showed in 10 and 2 farms respectively, while Cydectine® orale efficiency was preserved when tested. A molecular identification of the helminth species remaining after treatment showed that *H. contortus* was the only worm resistant to Oramec®, while three major species remained after a treatment with Eprinex multi®.

Key-words : macrocyclic lactones, moxidectin, ivermectin, eprinomectin, helminth, nematodes, resistance, sheep, Roquefort region