



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/26755>

To cite this version:

Begoc, Noémie  and Veysière, Florence . *Évaluation de la transmission de nématodes gastro-intestinaux résistants aux benzimidazoles entre ovis aries et capreolus capreolus dans le canton d'Aurignac (31)*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2020, 211 p.

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

ÉVALUATION DE LA TRANSMISSION DE NÉMATODES GASTRO-INTESTINAUX RÉSISTANTS AUX BENZIMIDAZOLES ENTRE *OVIS ARIES* ET *CAPREOLUS CAPREOLUS* DANS LE CANTON D'AURIGNAC (31)

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

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

par

BEGOC, Noémie

Née le 20 juin 1994 à Paris XVI^{ème} (75)

et

VEYSSIERE, Florence

Née le 21 décembre 1994 à Villefranche de Rouergue (12)

Directeur de thèse : Pr Philippe JACQUIET

JURY

PRESIDENT :

Mr Alexis VALENTIN

Professeur à l'université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mr Philippe JACQUIET

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Mr Guillaume LE LOC'H

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRES INVITES :

Mr Gilles BOURGOIN

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON

Mme Hélène VERHEYDEN

Directrice adjointe du CEFS de l'INRAE de TOULOUSE

Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Directeur : Professeur Pierre SANS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. BERTAGNOLI Stéphane, Pathologie Infectieuse
- M. BOUSQUET-MELOU Alain, Pharmacologie - Thérapeutique
- Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, Pathologie de la Reproduction
- Mme CLAUW Martine, Pharmacie-Toxicologie
- M. CONCORDET Didier, Mathématiques, Statistiques, Modélisation
- M. DELVERDIER Maxence, Anatomie Pathologique
- M. ENJALBERT François, Alimentation
- Mme GAYRARD-TROY Véronique, Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie
- M. PETIT Claude, Pharmacie et Toxicologie
- M. SCHELCHER François, Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour

PROFESSEURS 1^{re} CLASSE

- M. BAILLY Jean-Denis, Hygiène et Industrie des aliments
- M. BERTHELOT Xavier, Pathologie de la Reproduction
- Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, Histologie, Anatomie pathologique
- M. BRUGERE Hubert, Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale
- Mme CADIERGUES Marie-Christine, Dermatologie Vétérinaire
- M. DUCOS Alain, Zootechnie
- M. FOUCRAS Gilles, Pathologie des ruminants
- 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
- Mme TRUMEL Catherine, Biologie Médicale Animale et Comparée

PROFESSEURS 2^e CLASSE

- Mme BOULLIER Séverine, Immunologie générale et médicale
- Mme DIQUELOU Amélie, Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores
- 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
- M. RABOISSON Didier, Productions animales (ruminants)

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*
- M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. LYAZRHI Fouzi, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. MATHON Didier, *Pathologie chirurgicale*
- Mme MEYNADIER Annabelle, *Alimentation*
- Mme PRIYMENKO Nathalie, *Alimentation*
- M. VOLMER Romain, *Microbiologie et Infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*
- Mme BIENIS-BRET Lydia, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mme BIBBAL Delphine, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme BOUHSSIRA Emille, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. CONCHOU Fabrice, *Imagerie médicale*
- M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des ruminants*
- Mme DANIELS Hélène, *Immunologie- Bactériologie-Pathologie Infectieuse*
- Mme DAVID Laure, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme DEVIERs Alexandra, *Anatomie-Imagerie*
- M. DOUET Jean-Yves, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme FERRAN Aude, *Physiologie*
- Mme GRANAT Fanny, *Biologie médicale animale*
- Mme JOURDAN Géraldine, *Anesthésie - Analgésie*
- Mme LALLEMAND Elodie, *Chirurgie des Equidés*
- Mme LAVOUE Raquel, *Médecine Interne*
- M. LE LOGH Guillaume, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. LHERMIE Guillaume, *Économie de la santé animale*
- M. LIENARD Emmanuel, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, *Pathologie Chirurgicale*
- Mme MILA Hanna, *Élevage des carnivores domestiques*
- M. NOUVEL Laurent, *Pathologie de la reproduction*
- 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 réglementées*
- Mme WARET-ŒKUTA Agnès, *Production et pathologie porcine*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT CONTRACTUELS

- M. DIDIMO IMAZAKI Pedro, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. LEYNAUD Vincent, *Médecine Interne*
- Mme ROBIN Marie-Claire, *Ophthalmologie*
- Mme ROMANOS Lola, *Pathologie des ruminants*

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. JOUSSEERAND Nicolas, *Médecine Interne des animaux de compagnie*
- M. LESUEUR Jérémy, *Gestion de la santé des ruminants – Médecine collective de précision*
- M. TOUITOU Florian, *Alimentation animale*

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Alexis VALENTIN

Professeur à l'université Paul-Sabatier de TOULOUSE

Praticien hospitalier au CHU

Faculté de pharmacie de Toulouse

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

Qu'il trouve ici l'expression de nos sincères remerciements et nos hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Philippe JACQUIET

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Parasitologie et Maladies Parasitaires – Zoologie

Qui nous a fait l'honneur de nous confier ce sujet et de nous avoir guidé dans l'élaboration de ce travail,

Pour vos conseils et votre disponibilité, pour votre pédagogie lors de ces travaux mais aussi durant nos cinq années d'école,

Pour nous avoir sensibilisé sur le sujet des résistances aux antiparasitaires, indispensable pour notre pratique future,

Nos très sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Guillaume LE LOC'H

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Médecine zoologique et santé de la faune sauvage

Qui a aimablement accepté de faire partie de notre jury de thèse.

Sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Gilles Bourgoïn

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON

Parasitologie et Maladies Parasitaires

Qui nous a fait l'honneur de nous confier ce sujet de thèse,

Pour nous avoir permis d'amener nos recherches aussi loin (aussi bien scientifiquement parlant que géographiquement),

Pour nous avoir grandement guidé tout au long de la thèse,

Pour votre grande réactivité, votre patience et votre gentillesse,

Nos très sincères remerciements

A Madame la Docteure Hélène Verheyden

Directrice adjointe du CEFS de l'INRAE de TOULOUSE

Ecologie alimentaire des grands ongulés

Qui nous a fait l'honneur de nous confier ce sujet de recherche,

Pour avoir apporté de la rigueur et de la méthodologie dans notre travail,

Pour toutes vos connaissances sur la biologie et la physiologie des chevreuils,

Pour votre implication, votre gentillesse et votre très grande disponibilité tout au long de cette thèse

Nos très sincères remerciements

We are very gratefull to **Libby Redman, John Gilleard, Jill de Rijke, Shawna Zhu, Rebecca Chen, Anshula Revo** and **James Wang** (*university of Calgary, Canada*) for the laboratory and bioinformatic analyses of the ITS-2 and beta-tubuline genes.

A l'ensemble des personnes ayant contribuées à ce travail

A Monsieur Bruno LOURTET (Géomaticien au CEFS de l'INRAE)

Pour ta disponibilité, ta finesse et ta gentillesse.

Merci pour ce beau travail de cartographie que tu as réalisé, merci pour ta grande contribution à l'élaboration de cette thèse.

A Madame Camille BEAUMELLE (VetAgro Sup, UMR CNRS 5558 – LBBE, et USMB)

Qui a ce merveilleux don qu'est le plaisir de partager ses connaissances et son expérience, le tout dans la bonne humeur.

Tu a été pour nous une grande source de motivation et d'inspiration.

Un grand merci pour toutes les heures passées à nous aider dans l'analyse des résultats.

A Madame Christelle GRISEZ et Madame Françoise PREVOT

Ingénieures de recherche Laboratoire de parasitologie

Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui ont su nous guider avec bienveillance dans nos manipulations expérimentales,

Pour votre gentillesse et votre grande patience,

Merci infiniment pour votre aide.

A Monsieur Bruno CARGNELUTTI

Assistant Ingénieur

Suivi des populations d'ongulés et Systèmes d'Information Géographique

CEFS de l'INRAE de TOULOUSE

Qui a su nous guider lors de nos recherches de fèces,

Pour ta connaissance du terrain, ta gentillesse et ta très grande patience,

Pour nous avoir permis d'avoir un si grand nombre d'échantillons,

Et pour toutes ces heures passées en forêt à la recherche de fèces de chevreuils.

A Monsieur Glenn YANNIC (USMB)

A Madame Slimania BENABED et Madame Marie-Thérèse POIREL (VetAgro Sup)

A Madame Corinne REGIS (UMR CNRS 5558 – LBBE)

Nous tenons à remercier les différents partenaires et programmes de recherche pour leur participation financière à ce programme de recherche :

Université de Calgary, Pôle d'Expertise Vétérinaire et Agronomique des Animaux Sauvages (EVAAS ; <http://evaas.vetagro-sup.fr/>); financement principalement issu de la DGAL, de VetAgro Sup Lyon et de l'INRAE ; fiche projet 2.1. Analyse de l'interface domestique-sauvage), AgreenSkills+ fellowship (EU program ; Marie-Curie FP7 COFUND People Programme ; grant agreement n_609398), ENVT, CEFS - INRAE

Et enfin, merci à tous les éleveurs d'ovins du canton d'Aurignac sans qui nous n'aurions jamais eu les prélèvements nécessaires à l'élaboration de cette thèse.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	1
TABLE DES MATIÈRES	9
TABLE DES ANNEXES	16
LISTE DES ABRÉVIATIONS	17
INTRODUCTION	19
PARTIE 1 : LA BIOLOGIE DES ÉCHANGES DE STRONGLES GASTRO- INTESTINAUX ENTRE LES OVINS ET LES CHEVREUILS	21
1. Les conditions de rencontre et de compatibilité permettant une contamination croisée de strongles gastro-intestinaux entre les chevreuils et les ovins	23
1.1. Le premier filtre de rencontre = le filtre de biocénose (“qui n’habitent pas dans le même écosystème que le parasite”).....	23
1.1.1. Biologie et épidémiologie des SGI	23
1.1.1. Le régime alimentaire des hôtes : <i>Ovis aries</i> et <i>Capreolus capreolus</i>	28
1.2. Le deuxième filtre de rencontre = le filtre éthologique (« dont les comportements sont tels que le contact avec les stades infestants du parasite est impossible »)	29
1.2.1. Des systèmes de pâtures permettant d’éviter la rencontre hôte/parasite	29
1.2.2. L’emploi de champignons nématophages, “pièges” à SGI	32
1.3. Le premier filtre de compatibilité = le filtre “d’angle d’exigence” (« qui ne conviennent pas aux exigences d’espace ou de ressources métaboliques du parasite »)	33
1.3.1. Des ressources métaboliques pour les SGI	33
1.3.2. Une stratégie humaine pour limiter la survie du parasite au sein de l’hôte : les traitements antiparasitaires	34
1.3.3. Une autre stratégie de lutte contre les SGI : le traitement à base de tanins	40
1.4. Le deuxième filtre de compatibilité : le filtre “d’angle d’évasion du système immunitaire” (« Qui se trouvent capables de détruire le parasite par leur système immunitaire ou tout autre procédé »)	41
1.4.1. La mise en place d’une réaction immunitaire chez l’hôte	41
1.4.2. Des variations physiologiques modifiant la sensibilité de l’hôte face aux SGI ...	41
1.4.3. La main-mise de l’homme sur le filtre d’angle d’évasion du système immunitaire : la vaccination	43
1.5. Notions de filtres ouverts et fermés.....	44
1.5.1. Habitat du chevreuil	44
1.5.2. Habitat des moutons.....	45
2. Présentations des strongles gastro-intestinaux des chevreuils et des ovins.....	47
2.1. Les différentes espèces de strongles gastro-intestinaux.....	47
2.1.1. Espèces de SGI spécialistes des chevreuils	47
2.1.2. Espèces de SGI spécialistes des moutons	49
2.1.3. Espèces de SGI généralistes communs aux chevreuils et aux moutons.....	51
2.1.4. Synthèse	53
2.1.5. Echanges de SGI entre chevreuils et moutons	53

2.2.	Impact des strongles sur la santé des moutons et des chevreaux	55
2.2.1.	L'impact des SGI sur l'élevage ovin	55
2.2.2.	Les strongyloses digestives des ovins	55
2.2.3.	Les strongyloses digestives des cervidés	57
3.	Méthodes de mise en évidence des strongles gastro-intestinaux chez les ovins et les chevreaux	58
3.1.	Coproscopie	59
3.1.1.	Prélèvement de fèces	59
3.1.2.	Principes généraux des méthodes d'enrichissement par flottation	59
3.1.3.	Coproscopie qualitative.....	60
3.1.4.	Coproscopie quantitative	60
3.1.5.	Intérêt de la coproscopie de mélange	62
3.2.	La coproculture	63
3.3.	L'autopsie	64
3.4.	La PCR.....	65
3.5.	Le némabiome.....	67
3.5.1.	Principe	67
3.5.2.	Etude de cas à partir de l'étude de Barone et al. (2020)	68
PARTIE 2 : LES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX RÉSISTANTS AUX ANTIPARASITAIRES CHEZ LES CHEVREUILS ET LES OVINS		73
1.	Généralités sur les résistances aux anthelminthiques rencontrées chez les ruminants...	75
1.1.	Définition générale de la résistance aux antiparasitaires.....	75
1.2.	Etat des lieux de la résistance dans le monde	76
1.3.	Mise en place des phénomènes de résistance dans une population donnée	78
1.3.1.	Mécanisme général de mise en place.....	78
1.3.2.	Familles d'antiparasitaires concernées par des phénomènes résistances	80
1.3.3.	Facteurs de risque à l'origine de résistance	84
1.3.4.	Conséquences de la résistance aux antiparasitaires sur l'élevage.....	88
2.	Mise en évidence de la résistance aux antiparasitaires chez les ruminants domestiques	90
2.1.	Importance de tests permettant de diagnostiquer les phénomènes de résistance....	90
2.2.	Tests <i>in vivo</i>	91
2.2.1.	Test de contrôle d'efficacité (CET = Controlled Efficacy Test).....	91
2.2.2.	Test de réduction de l'intensité d'excrétion d'œufs dans les matières fécales (FECRT = <i>Fecal Egg Count Reduction Test</i> *)	92
2.3.	Tests <i>in vitro</i>	95
2.3.1.	Test d'éclosion des oeufs (EHA = Egg Hatch Assay).....	95
2.3.2.	Tests d'inhibition de la mobilité	96
2.4.	Test de développement larvaire (LDA = Larval Development Assay).....	98
2.5.	Interprétation des résultats des tests <i>in vitro</i> et comparaison avec les tests <i>in vivo</i> ..	99
2.6.	Test moléculaires.....	99

2.6.1.	PCR allèle spécifique.....	99
2.6.2.	PCR en temps réel (RT-PCR).....	101
2.6.3.	Comparaison des tests moléculaires avec les tests <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>	102
2.6.4.	Séquençage à haut débit.....	103
3.	Le rôle possible de la faune sauvage dans la résistance aux antiparasitaires chez les ruminants domestiques.....	104
3.1.	La faune sauvage comme facteur de risque de résistance	104
3.2.	La faune sauvage comme facteur de dilution de la résistance	106
	PARTIE 3 : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE SUR LES RÉSISTANCES AUX BENZIMIDAZOLES CHEZ LES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX ISOLÉS CHEZ LES MOUTONS ET LES CHEVREUILS DANS LE CANTON D'AURIGNAC (31)	107
	CONTEXTE DE L'ETUDE.....	109
	OBJECTIFS DE L'ETUDE	110
1.	Matériels et méthodes.....	112
1.1.	Présentation de la zone d'étude.....	112
1.1.1.	Aurignac, une zone propice à l'étude des chevreuils	112
1.1.2.	L'élevage ovins dans la zone d'Aurignac	114
1.2.	Les élevages ovins sélectionnés.....	115
1.2.1.	Présentation des élevages.....	115
1.2.2.	Les différentes stratégies de traitements anthelminthiques des élevages échantillonnés.....	117
1.3.	L'échantillonnage des fèces de chevreuils et de moutons.....	118
1.3.1.	Prélèvements de fèces de moutons	118
1.3.2.	Prélèvements de fèces de chevreuils.....	118
1.4.	Estimation du statut parasitaire des chevreuils et des ovins du canton d'Aurignac	123
1.4.1.	Coproscopie	123
1.4.2.	Coprocultures	124
1.5.	Analyses génétiques réalisées après récupération des larves de stade L3 de strongles digestifs.....	127
1.5.1.	Extraction d'ADN et détermination de la composition de l'helminthofaune des chevreuils et des élevages ovins : analyse du nématiome	127
1.5.2.	Recherche de gènes de résistance aux benzimidazoles.....	128
1.6.	Choix des indicateurs expliquant un échange de strongles entre ovins et chevreuils	128
1.6.1.	Le partage d'une même zone de pâture : la variable contact	128
1.6.2.	Les autres indicateurs.....	133
1.7.	Analyses statistiques des résultats	137
2.	Résultats.....	138
2.1.	Excrétions parasitaires (opg) chez les chevreuils et les ovins.....	138
2.1.1.	Chez les moutons	138
2.1.2.	Chez les chevreuils.....	141

2.2.	Espèces de parasites présentes chez les moutons et les chevreuils dans le canton d'Aurignac	142
2.2.1.	Espèces de SGI présentes majoritairement chez les chevreuils	146
2.2.2.	Espèces de SGI présentes majoritairement chez les moutons.....	147
2.2.3.	Espèces de SGI présentes à des niveaux comparables chez les ovins et les chevreuils	149
2.2.4.	Synthèse	150
2.3.	La présence de strongles gastro-intestinaux résistants aux benzimidazoles chez <i>Ovis aries</i> et <i>Capreolus capreolus</i> dans le canton d'Aurignac	152
2.3.1.	Lecture des résultats	152
2.3.2.	Présence d' <i>Haemonchus contortus</i> résistants aux benzimidazoles	152
2.3.3.	Autres espèces de SGI et résistances aux benzimidazoles	158
3.	Discussion	164
3.1.	Mise en évidence de résistances aux benzimidazoles dans les élevages d'ovins échantillonnés	164
3.1.1.	Espèces de strongles présentes chez <i>Ovis aries</i> dans le canton d'Aurignac ..	164
3.1.2.	Traitements et résistances aux anthelmintiques dans les élevages d'ovins	165
3.2.	Mise en évidence d'une interaction entre les ovins et les chevreuils dans le canton d'Aurignac	166
3.2.1.	<i>Ostertagia leptospicularis</i> et <i>Spiculoptertagia spiculoptera</i> , strongles spécialistes du chevreuil	166
3.2.2.	<i>Trichostrongylus colubriformis</i> et <i>Teladorsagia circumcincta</i> , strongles spécialistes des ovins et marqueurs d'échanges de SGI entre les chevreuils et les ovins	166
3.2.3.	La forte présence de deux SGI généralistes, <i>H. contortus</i> et <i>T. axei</i> , chez les ovins et les chevreuils dans le canton d'Aurignac	167
3.3.	Transmission de SGI résistants aux benzimidazoles entre les chevreuils et les moutons dans le canton d'Aurignac.....	169
3.3.1.	Présence d' <i>H. contortus</i> résistants aux benzimidazoles chez les chevreuils...	169
3.3.2.	Résistances aux benzimidazoles chez les autres espèces de strongles gastro-intestinaux	170
3.3.3.	Les allèles de résistance présents chez les SGI des chevreuils et des ovins dans le canton d'Aurignac	172
3.4.	Limites et perspectives de l'étude	173
	CONCLUSION.....	174
	BIBLIOGRAPHIE	177
	ANNEXES.....	192

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques épidémiologiques des principaux genres de strongles	25
Tableau 2 : Les différents systèmes de pâturage	31
Tableau 3 : Familles, molécules et spectre d'action des cinq familles d'anthelminthiques utilisés en France (Jacquiet, 2017)	36
Tableau 4 : Principaux strongles gastro-intestinaux spécialistes et généralistes des chevreuils et des ovins	54
Tableau 5 : Caractéristiques générales des élevages d'ovins sélectionnés	115
Tableau 6 : Dernier traitement anthelminthique effectué dans les huit élevages d'ovins échantillonnés.....	140
Tableau 7 : Résultats des coproscopies individuelles des fèces de chevreuils.....	141
Tableau 8 : comparaison des AIC des différents modèles proposés	141
Tableau 9 : Synthèse des résultats (En vert = espèces présentes exclusivement chez les chevreuils ; en rouge = espèces présentes en majorité chez les ovins ; en bleu = espèces présentes à des niveaux comparables chez les ovins et les chevreuil)	151
Tableau 10 : Prévalences et abondances de copies du gène de l'isotype 1 de la β -tubuline ayant une mutation ponctuelle conférant une résistance aux benzimidazoles chez <i>H. contortus</i>	153
Tableau 11 : Prévalence et abondance relative moyenne des différentes mutations présentes chez <i>Haemonchus contortus</i> chez les ovins et les chevreuils.....	157
Tableau 12 : Prévalences et abondances de copies du gène de l'isotype 1 de la β -tubuline ayant une mutation ponctuelle conférant une résistance aux benzimidazoles chez <i>T. circumcincta</i> , <i>T. axei</i> , <i>T. colubriformis</i> et <i>C. curticei</i>	159
Tableau 13 : Prévalence et abondances relatives moyennes des différentes mutations présentes chez <i>T. circumcincta</i> , <i>T. axei</i> , <i>T.s colubriformis</i> et <i>C. curticei</i> chez les ovins et les chevreuils	163

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Cycle biologique des principaux strongles gastro-intestinaux des ovins (Jacquiet, 2017)	24
Figure 2 : Températures optimales (blocs de couleur) et zones de tolérances (en pointillé) pour l'éclosion des œufs et leur transformation en larves L3 infestantes chez les trois principaux strongles gastro-intestinaux des ovins	26
Figure 3 : Un exemple de traitement anthelminthique classique	38
Figure 4 : comparaison en coproscopie entre un œuf de <i>Nematodirus</i> spp. et un œuf de strongle digestif classique. Source = (Zajac, 2006).	48
Figure 5 : Nodules de <i>T. circumcincta</i> dans la caillette d'un ovine. Source = http://www.wormboss.com.au/sheep-goats/worms/roundworms/brown-stomach-worm.php .	49
Figure 6 : Nématode du genre <i>Cooperia</i> spp. en vue macroscopique. Sources : (Jacquiet, 2017).	50
Figure 7 : Photo de vers adultes d' <i>Haemonchus contortus</i> dans la caillette d'un agneau à l'autopsie	51
Figure 8 : photo d'une muqueuse oculaire blanche de mouton, visualisable lors d'haemonchose aiguë. Source : (Jacquiet, 2017).	56
Figure 9 : Lame de McMaster. Source : (Jacquiet, 2017).	61
Figure 10 : observation des œufs de strongles sous lame de McMaster sous microscope optique (x10) Source : (Jacquiet, 2017)	62
Figure 11 : Larve L3 du genre <i>Nematodirus</i> spp obtenue après coproculture, observée au microscope optique (x100)	64
Figure 12 : Schéma explicatif représentant les cycles de PCR.	66
Figure 13 : Fréquence relative des principaux SGI des ruminants domestiques et sauvages dans 89 échantillons de fèces de ruminants sauvages (Barone et al. 2020)	70
Figure 14 : Cartes donnant la répartition des résistances aux antiparasitaires en Europe chez différentes espèces de ruminants domestiques. Source : (Rose et al., 2015)	77
Figure 15 : Les différentes mutations du codon 198 du gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline connues à ce jour chez les SGI et leurs possibles connections. Adaptée de Mohammedsalih et al. (2020).	82
Figure 16 : Dispositif utilisé pour la réalisation du MMT	97
Figure 17 : Electrophorèse sur gel à la suite d'une AS-PCR du gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline dans une population d' <i>H. contortus</i> .	101
Figure 18 : Site d'étude du canton d'Aurignac, d'après Sévila, 2015	113
Figure 19 : Localisation géographique des élevages sélectionnés (NA = Elevages d'ovins non échantillonnés dans cette étude) (Source : Bruno Lourtet- CEFS INRAE)	116
Figure 20 : Photo de fèces de chevreuil fraîches ramassées sur le sol.	119
Figure 21 : Localisation géographique des points GPS des prélèvements de fèces des chevreuils (Source : Bruno Lourtet- CEFS INRAE)	120
Figure 22 : Présentation des six zones de capture où des échantillons de fèces ont été récupérés pour cette étude (Source : Bruno Lourtet- CEFS INRAE)	122
Figure 23 : Dispositif de récupération des larves issues des coprocultures selon le protocole MAFF (1986)	125
Figure 24 : Larve L3 de strongle digestif observée au microscope optique (x10)	127
Figure 25 : représentation des six zones d'études correspondant à des zones de captures élargies, dans lesquels les domaines vitaux des chevreuils capturés dans ces zones ont été utilisés (Source : Bruno Lourtet- CEFS INRAE)	130
Figure 26 : Représentation des pâturages où des bovins ont été observés par le CEFS (Source : Bruno Lourtet- CEFS INRAE)	132

Figure 27 : Composition du paysage du canton d'Aurignac (Source : Bruno Lourtet- CEFS INRAE)	134
Figure 28 : Carte représentant le parcellaire de chaque domaine vital de chevreuils (Source : Bruno Lourtet- CEFS INRAE)	136
Figure 29 : Influence de la saison sur l'excrétion de SGI chez les chevreuils	142
Figure 30 : Fréquence relative des espèces de strongles gastro-intestinaux dans les élevages d'ovins et chez les chevreuils « en contact » avec ces élevages d'ovins	144
Figure 31 : Fréquence relative des espèces de strongles gastro-intestinaux chez les chevreuils « sans contact » avec les élevages d'ovins	145
Figure 32 : bars plots des élevages d'ovins et des chevreuils en contact avec ces élevages, représentant l'abondance relative de chacune des mutations d'H. contortus pour chaque échantillon	154
Figure 33 : bars plots des deux groupes de chevreuils considérés comme "sans contact" avec un élevage d'ovin, représentant l'abondance relative de chacune des mutations d'H. contortus pour chaque échantillon	155
Figure 34 : Comparaison des pourcentages de gènes de l'isotype 1 de la β -tubuline conférant une résistance (présence) ou une sensibilité (absence) aux benzimidazoles chez les H. contortus isolés dans des populations de chevreuils en contact ou non avec des prairies d'ovins	156
Figure 35 : bars plots des élevages d'ovins et des chevreuils « en contact » avec ces élevages, représentant l'abondance relative de chacune des mutations chez T. circumcincta, T. axei, T. colubriformis et C. curticei pour chaque échantillon	160
Figure 36 : bars plots des deux groupes de chevreuils considérés comme "sans contact" avec un élevage d'ovin, représentant l'abondance relative de chacune des mutations d'H. contortus pour chaque échantillon (Captured = chevreuils capturés)	161

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Protocoles de vermifugations des élevages échantillonnés	192
Annexe 2 : Protocole de capture de chevreuils par le CEFS de l'INRAE	199
Annexe 3 : tableau représentant les différentes caractéristiques des mélanges coprologiques réalisés pour l'étude du statut parasitaire des élevages de moutons	201
Annexe 4 : Script classification parcellaire pour créer la variable « vegetation »	202
Annexe 5 : Script statistiques générales	205
Annexe 6 : Résultats des coproscopies de mélange des élevages de moutons.....	208

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AADs : Amino-Acétonitriles Derivatives

FECRT = Fecal Egg Count Reduction Test (test de reduction de l'excrétion fécale)

G = gramme

GMQ = Gain Moyen Quotidien

mL = Mililitre

OPG = Oeuf par gramme

PCR = Polymerase Chain Reaction

PPP = Période pré-patente

SIG = Strongles Gastro-Intestinaux

WAAVP = World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology

INTRODUCTION

Les strongles gastro-intestinaux (SGI, appelés également Strongylida ou Strongyles), petits vers ronds, ordre des nématodes, sont l'une des principales contraintes de l'élevage ovin. En plus des pertes économiques directes et indirectes dues à l'achat d'antiparasitaires et à la dépréciation des animaux, les SGI ont un impact sur la santé des ovins, allant d'une simple perte d'appétit au décès de plusieurs individus d'un même cheptel.

Afin de diminuer l'impact majeur de ces parasites en élevage, des traitements antiparasitaires ont été mis en œuvre, parfois de façon abusive. En conséquence, des cas de résistances aux anthelminthiques dans la filière ovine sont continuellement rapportés depuis ces trente dernières années, et ce à l'échelle mondiale.

Pour tenter de freiner ces phénomènes, il est donc important d'accroître nos connaissances sur l'émergence de ces résistances dans les élevages ovins. Récemment, des études ont montré que les cervidés sauvages, et notamment le chevreuil (*Capreolus capreolus*) pouvaient être porteurs de parasites résistants aux anthelminthiques, alors qu'ils n'étaient soumis à aucun traitement parasitaire. Les cervidés partageant leur pâture avec les moutons (*Ovis aries*), ces observations ont questionné le rôle potentiel des cervidés sauvages dans le maintien et la dispersion de parasites résistants au sein des élevages ovins.

Au cours de cette étude, nous avons étudié les échanges de parasites gastro-intestinaux entre les chevreuils et les ovins du canton d'Aurignac, situé dans le département de la Haute-Garonne. Nous nous sommes uniquement intéressées aux parasites résistants aux benzimidazoles. Un suivi intensif de ces chevreuils est effectué depuis plus d'une vingtaine d'année par le CEFS (Comportement et Ecologie de la Faune Sauvage) de l'INRAE de Toulouse qui a étudié de manière approfondie le comportement spatial des cervidés. La présence de nombreux élevages ovins dans cette zone permet l'occurrence de contacts entre les chevreuils et les moutons.

Au sein d'une première partie bibliographique, nous nous intéresserons aux possibilités d'échanges de parasites entre les chevreuils et les ovins par des filtres de rencontre et de compatibilité, à la biologie des strongles gastro-intestinaux (SGI) et aux phénomènes de résistance. Dans un second temps, nous présenterons l'étude que nous avons réalisée dans le canton d'Aurignac, portant sur les échanges de SGI, dont les strongles résistants aux benzimidazoles entre les chevreuils et les moutons

**PARTIE 1 : LA BIOLOGIE DES ÉCHANGES DE
STRONGLES GASTRO- INTESTINAUX ENTRE
LES OVINS ET LES CHEVREUILS**

En 1980, L. Euzet et C. Combes étudient les interactions entre les parasites et leurs hôtes, et rappellent que les parasites ne sont capables d'exploiter qu'un faible nombre d'espèces parmi toutes celles qui leur sont théoriquement disponibles. En effet, une population de parasites possède un spectre d'hôtes, dépendant de son environnement et de ses caractéristiques intrinsèques (Combes, 1995).

Ils proposent de symboliser par des filtres les mécanismes qui sont responsables de la restriction du spectre d'hôtes des parasites et définissent deux grands filtres : le filtre de rencontre et le filtre de compatibilité, qui se définissent par quatre grands processus de tri.

Le filtre de rencontre conditionne la possibilité de contact entre le parasite et l'hôte, il exclut les espèces d'hôtes :

1. *Qui n'habitent pas le même écosystème que le parasite (= se trouvent en dehors de la "limite de biocénose")*
2. *Dont les comportements sont tels que le contact avec les stades infestants du parasite est impossible (= ne franchissent pas le "filtre éthologique")*

Le filtre de compatibilité conditionne la survie durable du parasite au sein de l'hôte, il exclut les espèces d'hôtes :

1. *Qui ne conviennent pas aux exigences d'espace ou de ressources métaboliques du parasite (=se trouvent en dehors de "l'angle d'exigence" du parasite)*
2. *Qui se trouvent capables de détruire le parasite par leur système immunitaire ou tout autre procédé (se trouvent en de dehors de "l'angle d'évasion immunitaire" du parasite)*

1. LES CONDITIONS DE RENCONTRE ET DE COMPATIBILITE PERMETTANT UNE CONTAMINATION CROISEE DE STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX ENTRE LES CHEVREUILS ET LES OVINS

1.1. LE PREMIER FILTRE DE RENCONTRE = LE FILTRE DE BIOCENOSE (“QUI N’HABITENT PAS DANS LE MEME ECOSYSTEME QUE LE PARASITE”)

L’infestation des chevreuils et des ovins par les strongles gastro-intestinaux (SGI) ne peut se faire que si l’hôte et le parasite se rencontrent dans un environnement commun. Pour comprendre cela, nous avons besoin de connaître la biologie et l’épidémiologie des SGI, mais aussi les régimes alimentaires des chevreuils et des ovins.

1.1.1. Biologie et épidémiologie des SGI

1.1.1.1. Cycle biologique des SGI

Les strongles investissent deux milieux différents au cours de leur cycle : le tube digestif de l’hôte au cours de la phase « interne » et l’environnement extérieur au cours de la phase « externe ».

i. La phase interne

La phase interne débute au moment où le parasite, sous forme de larve de stade 3, notée L3 (dite « larve infestante »), est ingéré par l’hôte. Il évolue en larve de stade 4 (L4) après avoir pénétré dans la paroi du tube digestif.

A ce stade, il peut y avoir soit une évolution en ver immature puis adulte quelques jours après être retourné dans la lumière de l’organe cible (caillette, intestin grêle ou colon), soit une inhibition du développement larvaire : c’est ce qu’on appelle le phénomène d’hypobiose. Dans ce cas, la larve L4 s’encapsule dans la paroi du tube digestif, et peut y rester plusieurs mois. Ce phénomène saisonnier, qui s’observe principalement en hiver, avec une reprise du cycle en fin d’hiver-début de printemps, permet le développement des larves jusqu’au stade adulte et une ponte lorsque les conditions extérieures sont favorables à leur survie (Jacquiet, 2017).

Le délai entre l'ingestion du parasite (au stade L3), et le début de l'excrétion des œufs dans les fèces se nomme la période prépatente (PPP). Elle est d'environ trois semaines pour les SGI effectuant un cycle parasitaire classique sans hypobiose.

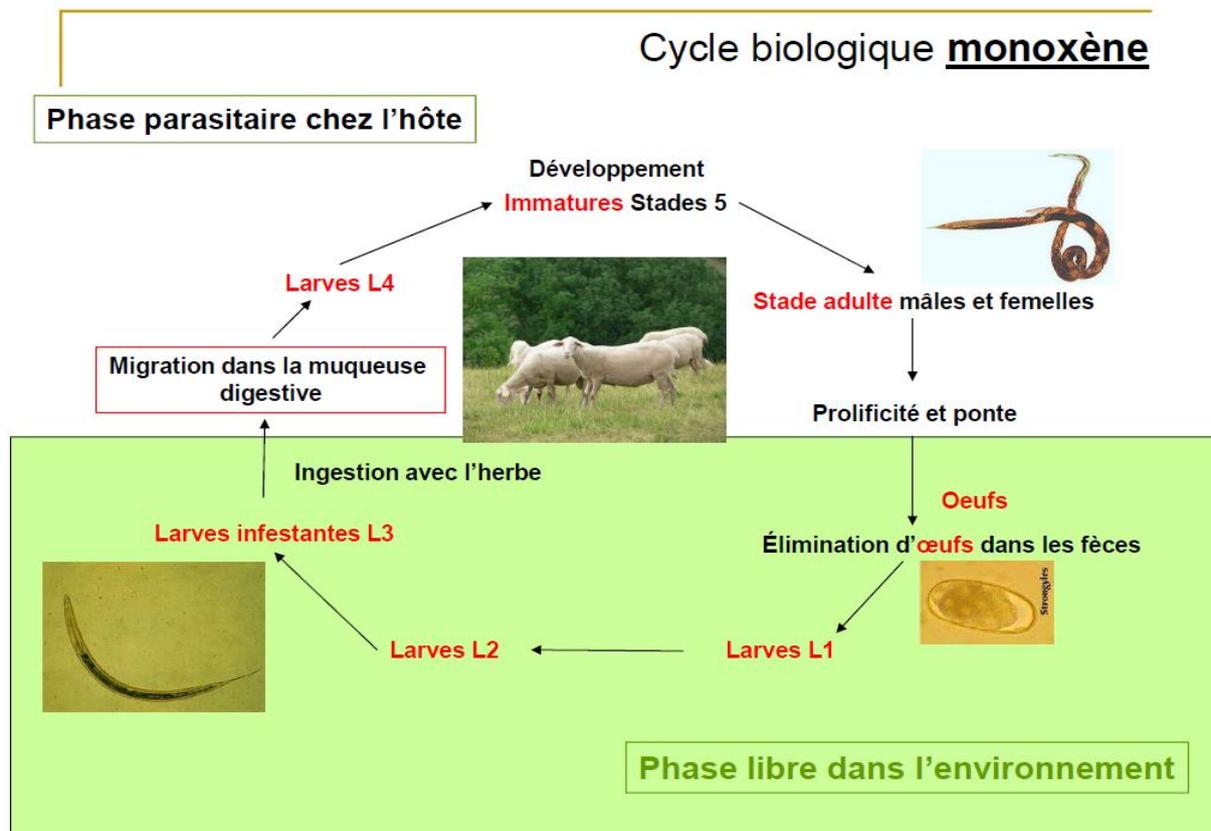


Figure 1 : Cycle biologique des principaux strongles gastro-intestinaux des ovins (Jacquiet, 2017)

ii) La phase externe

La phase externe débute lorsque les œufs sont excrétés dans l'environnement par l'hôte *via* les fèces. Le développement de l'œuf jusqu'à la larve L3 se fait dans les matières fécales, qui apportent les nutriments nécessaires au développement larvaire. Au cours du passage à la larve L3, la larve reste dans l'exuvie de la larve L2 mais peut sortir des fèces et se déplacer faiblement sur le pâturage ou être déplacée (exemple : ruissellement de pluie, piétinement des animaux), ce qui lui permet d'être ingérée par un nouvel hôte. Les larves L3 opèrent deux types de déplacements :

- Une migration horizontale hors de l'anneau de répugnance (15cm) : les ruminants n'aiment pas pâturer trop près des excréments ;
- Une migration verticale, où la larve L3 remonte de quelques centimètres le long des brins d'herbe grâce au film de rosée. Elle a ainsi plus de chances d'être ingérée.

Le développement de l'œuf à la larve infestante L3 dure 8 à 10 jours au minimum, mais il peut être plus long si les températures ne sont pas optimales (Jacquiet, 2017).

La survie et le développement des larves dans le milieu extérieur dépendent largement des conditions environnementales, en particulier l'humidité, la température et l'oxygénation (O'Connor et al., 2006).

De manière générale, les conditions idéales de développement larvaire dans l'environnement correspondent à une température voisine de 25°C et un taux d'humidité relative de 60 à 70% (cf les paragraphes 1.1.1.2.i et 1.1.1.2.ii). En cas de sécheresse, les larves demeurent prisonnières au sein des fèces. Si, de plus, la prairie est riche en Coléoptères ou vers de terre, les fèces peuvent être délitées, ce qui expose les larves au soleil et accélère leur destruction (Cheah, Rajamanickam, 1997). Chez les trois espèces de SGI principalement retrouvées chez les ruminants, la tolérance aux conditions environnementales varie d'une espèce à l'autre (Cf Tableau 1) :

Principaux parasites	Intervalle œufs-L3 (phase « externe »)	Période prépatente	Survie de la larve de stade L3 au pâturage
<i>Haemonchus contortus</i>	3 à 16 jours	2-3 semaines	L3 très sensible à la sécheresse et au froid
<i>Teladorsagia circumcincta</i>	6 à 28 jours	2-3 semaines	L3 très résistante au froid, survie possible pendant plusieurs mois
<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	4 jours à 2 mois	2-3 semaines	L3 résistante au froid (survie plusieurs mois)

Tableau 1 : Caractéristiques épidémiologiques des principaux genres de strongles

D'après (Bélanger et al., 2017)

1.1.1.2. Facteurs climatiques influençant le cycle biologique des SGI

i. La température

Le succès de développement des larves de SGI dépend des conditions climatiques dont la température extérieure.

Chaque espèce de larves de SGI a des exigences de conditions environnementales propres pour se développer de manière optimale. Ainsi, chaque SGI a une gamme de températures optimales qui lui est propre (cf figure 2). De manière générale, les stades libres des espèces des SGI rencontrées dans nos régions ne survivent pas à des températures en dessous de 0°C et au-dessus de 40°C (O'Connor et al., 2006).

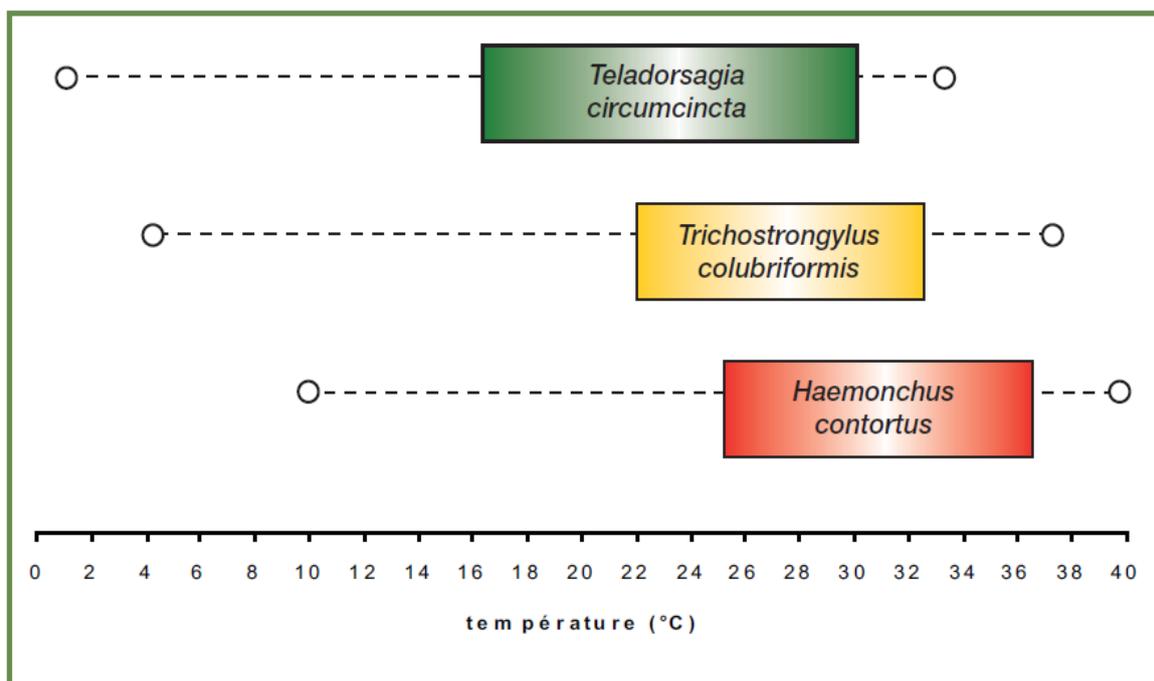


Figure 2 : Températures optimales (blocs de couleur) et zones de tolérances (en pointillé) pour l'éclosion des œufs et leur transformation en larves L3 infestantes chez les trois principaux strongles gastro-intestinaux des ovins

Source : (O'Connor et al., 2006)

ii. L'humidité

Le développement des larves de SGI est impossible lorsque l'humidité ambiante est de 0% (Andersen, Levine, 1968 ; Levine, Andersen, 1973 ; Wharton, 1982 ; Rossanigo, Gruner, 1995 ; Wang et al., 2014).

Il en résulte que la dessiccation complète est incompatible avec le développement larvaire. Ainsi, des animaux nourris uniquement avec du foin sec, des ensilages ou de l'enrubanné n'ont pas de risque de contamination.

Cependant, des variations entre les espèces induisent des capacités différentes à résister à la dessiccation. Les larves d'*Haemonchus contortus* ne peuvent pas se développer à des taux d'hygrométrie inférieurs à 40% (à 23°C) et résistent très mal à la dessiccation. En revanche, les larves de *Teladorsagia circumcincta* peuvent résister à des taux d'hygrométrie allant jusqu'à 20% (à 23°C). De manière générale l'optimum de développement pour les larves des SGI est atteint pour des valeurs allant de 60 à 70 % d'humidité relative (à 23°C) (Rossanigo, Gruner, 1995). On retiendra que les larves des espèces *Haemonchus contortus*, *Ostertagia spp.* et de *Cooperia oncophora* résistent très mal à la dessiccation alors que celles de *Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus spp.* et *Chabertia ovina* peuvent supporter des taux de sécheresse plus importants.

Ainsi, le lieu stratégique de rencontre entre les hôtes et les SGI se déroule durant la phase externe du parasite, au stade L3 (larve infestante), lorsque le parasite est présent sur les pâtures. Ceci implique pour les hôtes de pâturer à l'extérieur et d'avoir comme régime alimentaire les matières où se déposent les larves L3.

1.1.1. Le régime alimentaire des hôtes : *Ovis aries* et *Capreolus capreolus*

1.1.1.3. Régime alimentaire des ovins

Les ovins sont des herbivores généralistes qui sélectionnent assez peu leur nourriture. Au pâturage, l'alimentation du mouton est principalement composée de graminées ainsi que de dicotylédones comme les légumineuses (Garcia-Gonzales, Cuartas, 1989).

1.1.1.4. Régime alimentaire des chevreuils

Le chevreuil est considéré comme un herbivore généraliste car son régime alimentaire se compose d'une très grande variété d'espèces végétales issues de tous les principaux groupes taxonomiques de plantes. Si sa ressource alimentaire principale reste les feuilles de dicotylédones, ces ruminants peuvent s'alimenter de fruits, de graines, de graminées, de conifères, d'arbres à feuilles caduques et d'arbustes, mais également de fougères, de champignons, de lichens et de mousses. Il trouve sa nourriture au niveau du sol et jusqu'à 120 cm de hauteur, mais préfère les plantes mesurant environ 75 cm de haut (Andersen et al., 1998 ; Jackson, 2009).

1.2. LE DEUXIEME FILTRE DE RENCONTRE = LE FILTRE ETHOLOGIQUE (« DONT LES COMPORTEMENTS SONT TELS QUE LE CONTACT AVEC LES STADES INFESTANTS DU PARASITE EST IMPOSSIBLE »)

Comme nous venons de le voir, la rencontre entre l'hôte et les stades infestants parasites se fait lors du pâturage pour les SGI. Il s'agit là d'un moment stratégique où l'homme peut intervenir et faire en sorte d'éviter ou de limiter le contact des hôtes avec les SGI.

1.2.1. Des systèmes de pâtures permettant d'éviter la rencontre hôte/parasite

Plusieurs méthodes permettent un assainissement partiel des parcelles en cherchant à éviter, diluer ou détruire les SGI infestants (cf tableau 2 ci-contre).

	Définition	Avantages	Inconvénients
Système de rotation de pâtures	<p>= système mettant en place des divisions de pâtures</p> <p>Chaque pâture est utilisée peu de temps puis laissée au repos un long moment, le temps que les larves meurent</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Réduction des contaminations des pâtures par les larves - Réduction de l'utilisation d'anthelminthiques et de risques de résistances aux antiparasitaires - Meilleure productivité de la pâture 	<ul style="list-style-type: none"> - Investissement financier (clôtures...) - Requier de grandes zones de pâtures
Système de pâtures saines	<p>= Alternance de mise à la pâture puis en bâtiment</p> <p>La rentrée en bâtiment doit se faire aux périodes les plus à risque de contamination larvaire</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Réduction des contaminations des pâtures par les larves - Réduction de l'utilisation d'anthelminthiques - Meilleure optimisation de l'utilisation de la pâture 	<ul style="list-style-type: none"> - Une combinaison avec l'utilisation d'anthelminthiques pourrait favoriser le développement de résistances aux antiparasitaires - Baisse des performances des animaux si transition pâture/bâtiment au mauvais moment - L'utilisation des parcelles est déterminée par leur potentiel fourrager et non par leur risque parasitaire : on ne peut pas rentrer les bêtes en bâtiments alors que les pâtures sont bonnes

Système de pâturage mixte	= Mélange dans les pâtures d'espèces d'animaux différentes (ovins, bovins, équins) et de classes différentes (gestation, âges différents) ne partageant pas la même helminthofaune	Réduction des contaminations des pâtures par les larves	Deux espèces hôtes différentes peuvent partager les mêmes parasites Ex : <i>Fasciola hepatica</i> (grande douve) ou <i>Dicrocoelium lanceatum</i> (petite douve) chez les ovins et les bovins
Pâtures au repos	Laisser les pâtures au repos pendant un très long moment : 2 mois dans les zones semi-aride ou en région tropicale humide (*)	Réduction des contaminations des pâtures par les larves	Irréalizable sur le plan économique, sauf pour les pâtures en estive qui restent effectivement inoccupées (sauf faune sauvage) pendant 8 mois de l'année

Tableau 2 : Les différents systèmes de pâturage

Sources : (Barger et al., 1994 ; Singh et al., 1997 ; Cabaret et al., 2002 ; Singh, Swarnkar, 2005)

(*) : en régions tropicales, la survie des L3 sur les pâtures est plus courte du fait des températures plus élevées, qui demandent un métabolisme plus important de la part des larves L3 et donc un épuisement plus rapide de leurs ressources énergétiques. C'est un des principes de base de la lutte contre les strongles digestifs dans les zones tropicales.

D'autres stratégies sont envisageables pour l'éleveur :

(1) Changer les animaux de pâtures après un traitement antiparasitaire, mais cela sélectionne fortement les résistances aux antiparasitaires dans les pâtures (Abbott et al., 2012). Ainsi, si un traitement des animaux est nécessaire, il est préférable de le réaliser quelques jours après le changement de pâture pour limiter le développement de résistances.

(2) Avoir une gestion de la hauteur de l'herbe. Etant donné que 80% des larves vivent sur les cinq premiers centimètres de hauteur d'herbe, il est conseillé, dans les pâtures où l'herbe atteint au moins 10 cm de haut, de changer les animaux de pâtures. Au contraire, des pâtures où l'herbe se situe entre 5 et 10 cm, il est plutôt conseillé de faire pâturer les animaux : ceux-ci ont alors, certes, plus de chances de s'infester mais l'herbe coupée à ras permet d'exposer les larves L3 aux UV du soleil, permettant un assainissement plus rapide de la pâture.

(3) Instaurer un temps limité de pâturage. Les larves se déplaçant verticalement sur les herbes quand l'intensité lumineuse est faible (aube et crépuscule), il suffirait de limiter le temps de pâture au moment où le soleil est fort (c'est-à-dire la journée). Cependant, cela oblige à rentrer les animaux en bergerie tous les soirs et à les sortir tous les matins, ce qui peut être contraignant pour les éleveurs.

(4) Le « zéro grazing » : les animaux ne sortent jamais pâturer. C'est un système d'élevage intensif où l'animal ne présente pas de problèmes de parasitisme lié au SGI (excepté pour le genre *Bunostomum spp.*) (Singh, Swarnkar, 2005).

1.2.2. L'emploi de champignons nématophages, "pièges" à SGI

En termes de lutte biologique et chimique, il existe différentes stratégies qui permettent de détruire les larves infestantes L3 sur les pâtures. L'application d'amendements chimiques (cyanamide calcique, urée, ...) sur les parcelles semblent cependant peu efficace (Hoste et al., 2009).

En revanche, les propriétés nématophages de champignons microscopiques ont déjà fait leurs preuves dans la lutte biologique contre les larves infestantes L3 (Larsen, 2000). En effet, les L3 présentes dans le milieu extérieur peuvent parfois être piégées par leur prédateur naturel. C'est le cas, par exemple, du champignon *Arthrobothrys oligospora* qui peut "capturer" les larves grâce à un piège formé par son mycélium. La présence de ces mycéliums diminue drastiquement la contamination des pâtures par les larves infestantes (Grønvold et al., 1987). Des études iraniennes ont montré une efficacité de *Arthrobothrys oligospora* sur des larves d'*H. contortus*. Cependant, une variabilité d'action de ces champignons a été observée, notamment en lien avec la température environnementale, avec une réduction forte de leur activité sous des températures au-delà de 30°C ou en deçà de 10°C. Les études iraniennes restent prudentes quant à l'efficacité de ce champignon dans un contexte agricole (Ghahfarokhi et al., 2004).

1.3. LE PREMIER FILTRE DE COMPATIBILITE = LE FILTRE "D'ANGLE D'EXIGENCE" (« QUI NE CONVIENNENT PAS AUX EXIGENCES D'ESPACE OU DE RESSOURCES METABOLIQUES DU PARASITE »)

1.3.1. Des ressources métaboliques pour les SGI

Une fois dans l'organisme de l'hôte, les SGI doivent trouver des conditions favorables pour se développer et se nourrir aux dépens de leurs hôtes. Il existe trois grands régimes alimentaires chez les SGI : hématophage, histophage et chymivore.

Les strongles les plus pathogènes sont ceux possédant un régime hématophage ou histophage. Ils provoquent à la fois des lésions des muqueuses gastriques et des anémies chez leurs hôtes. Les parasites chymivores, qui composent la majorité des strongles, sont à l'origine de carences alimentaires.

Chez les ovins, les espèces représentant 95% de la charge parasitaire en strongles ont trois régimes différents : (1) *Haemonchus contortus* est un nématode hématophage au stade larvaire et adulte, comme *Teladorsagia circumcincta* au stade adulte mais dans une moindre mesure, (2) les larves de *Teladorsagia circumcincta* sont histophages et (3) *Trichostrongylus colubriformis* est chymivore (Jacquiet, 2017).

1.3.2. Une stratégie humaine pour limiter la survie du parasite au sein de l'hôte : les traitements antiparasitaires

1.3.2.1. Les différentes familles d'antiparasitaires

Un des moyens de lutte le plus utilisé de nos jours afin de limiter l'expansion des SGI dans les élevages ovins est l'utilisation de traitements anthelminthiques chez les animaux. Il existe six grandes familles d'anthelminthiques dont cinq (benzimidazoles, lactones macrocyclique, imidazothiazolés, salicylanilidés et dérivés minoacétonitriles) sont aujourd'hui utilisés en France dans la lutte contre les parasites gastro-intestinaux (cf Tableau 3).

Les benzimidazoles inhibent la polymérisation de la β -tubuline en microtubules. L'effet s'explique par la fixation de la molécule sur un site particulier de la β -tubuline. Quand un ver ingère la molécule, le produit se répand dans son organisme et son action sur la β -tubuline entraîne une désorganisation de son cytosquelette. Ainsi, la machinerie cellulaire et le système digestif ne peuvent plus fonctionner et le strongle meurt (Martin, 1997).

Les lactones macrocycliques comprennent deux grands groupes : les avermectines et les milbémycines. Ce sont des molécules lipophiles : elles se fixent sur les tissus graisseux de l'hôte avec un relargage progressif vers le sang, ce qui explique leur rémanence. Cette rémanence varie de 2 à 17 semaines selon la molécule, la voie d'administration et le parasite. Leur mode d'action sur les strongles est le suivant : elles se fixent sur les récepteurs au glutamate des canaux chlore des synapses neuromusculaires, provoquant entre autres une paralysie des muscles du pharynx, induisant la mort du nématode qui ne peut plus se nourrir, ainsi qu'une paralysie des muscles ovojecteurs de la femelle strongle (propulseurs des oeufs) (Martin, 1997).

Les imidazothiazolés paralysent les vers sans les lyser grâce à leur action cholinomimétique (Martin, 1997).

Les salicylanilidés inhibent la phosphorylation oxydative au niveau des mitochondries et privent ainsi les parasites d'énergie cellulaire. Ils ont la particularité de se fixer sur l'albumine plasmatique. Par conséquent, la rémanence de ces produits est de l'ordre de 4 à 6 semaines selon le parasite. Comme ils se fixent sur l'albumine plasmatique, leur activité strongicide est limitée aux strongles hématophages (Martin, 1997).

La famille des dérivés aminoacétonitriles (notés AADs) est une classe d'anthelminthiques synthétiques. La principale molécule est le monépantel (AAD 1566), utilisable uniquement chez les ovins. Il agit sur le récepteur nicotinique cholinergique spécifique des strongles, provoquant ainsi une hypercontraction des muscles corporels et la paralysie puis la mort du parasite. Il est efficace sur les adultes et les stades larvaires L4 des principales espèces de strongles gastro-intestinaux chez les ovins. Cette molécule a été mise sur le marché en 2009 puis retirée trois ans plus tard du fait de son coût important. Cependant, depuis 2017, il a été réintroduit sur le marché des antiparasitaires dans le but de lutter contre les phénomènes de résistance (Hafsi et al., 2012 ; Jacquet, 2017).

Famille	Benzimidazoles	Lactones macrocycliques	Imidazothiazolés	Salicylanilides	Dérivés aminoacétonitriles (AADs)
Molécules	Fenbendazole Oxfenbendazole Albendazole Mébendazole Nétobimin	Ivermectine Eprinomectine Doramectine Moxidectine	Lévamisole	Closantel Nitroxynil	Monepantel
Spectre d'action	<ol style="list-style-type: none"> 1. Strongles digestifs (<i>adultes + larves L4 + œufs</i>) 2. Strongles pulmonaires 3. Moniezia 4. Grande douve (Albendazole et Nétobimin) 5. Petite douve (Albendazole et Nétobimin) 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Strongles digestifs (<i>adultes + larves L4</i>) 2. Strongles pulmonaires 3. Gales et poux 4. <i>Oestrus ovis</i> 5. <i>Hypoderma bovis</i> (varron) 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Strongles digestifs (<i>adultes</i>) 2. Strongles pulmonaires (Lévamisole uniquement) 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Strongles digestifs hématophages (<i>adultes + larves L4</i>) 2. Grande douve 	Strongles digestifs (<i>Adultes + larves L4</i>)

Tableau 3 : Familles, molécules et spectre d'action des cinq familles d'anthelminthiques utilisés en France (Jacquet, 2017)

Il n'existe aujourd'hui aucune recommandation officielle permettant d'induire un plan de lutte précis. Dans le journal officiel de l'union européenne (règlement UE 2019/6), il est indiqué que prochainement un comité de scientifiques devra se réunir pour définir des lignes de base de traitements à la fois antibiotiques et antiparasitaires.

A ce jour, au niveau européen, seuls les éleveurs en Agriculture Biologique sont contraints par une réglementation. Les recommandations européennes CE n°889/2008 informent que *«en dehors des vaccinations, des traitements antiparasitaires et des plans d'éradication obligatoires, si un animal ou un groupe d'animaux reçoit au cours d'une période de douze mois plus de trois traitements à base de médicaments vétérinaires allopathiques chimiques de synthèse ou d'antibiotiques, ou plus d'un traitement si leur cycle de vie productive est inférieur à un an, les animaux concernés ou les produits obtenus à partir de ces animaux ne peuvent être vendus en tant que produits biologiques»*.

Il n'y a donc aucune restriction sur l'utilisation d'antiparasitaires en élevage conventionnel non biologique. Une étude comparant les élevages dits conventionnels avec les élevages ovins certifiés Agriculture Biologique dans le Limousin/Auvergne met en évidence des variations d'utilisation des anthelminthiques, avec en moyenne 7 à 8 traitements antiparasitaires par an chez les éleveurs conventionnels contre 1 à 2 chez les éleveurs certifiés Agriculture Biologique (Cabaret et al., 2009).

Ainsi, on distinguera deux types de pratiques d'administration d'antiparasitaires : une dite « classique » et une dite « raisonnée ».

La conduite dite « classique » consiste à effectuer des traitements anthelminthiques systématiques, à la même période, sur les mêmes lots et avec les mêmes traitements antiparasitaires d'une année sur l'autre. A l'inverse, une utilisation « raisonnée » des anthelminthiques consiste à l'emploi d'antiparasitaires uniquement chez certains animaux fortement excréteurs, détectés à la suite d'examens complémentaires tels que la coproscopie, avec une alternance des molécules anthelminthiques.

1.3.2.2. Approche classique du traitement anthelminthique en élevage conventionnel dans le cas d'agnelles de renouvellement

Prenons l'exemple d'ovins (cf figure 3) dans une prairie permanente avec une seule parcelle utilisée d'avril à novembre par des brebis et leurs agneaux, nés l'automne précédent. Il y a toujours un niveau de contamination résiduelle de la prairie lors de la mise à l'herbe en avril, et comme les jeunes animaux ne possèdent pas encore un système immunitaire compétent, c'est la situation « idéale » pour les strongles, et qui peut être aggravée en cas de surpâturage.

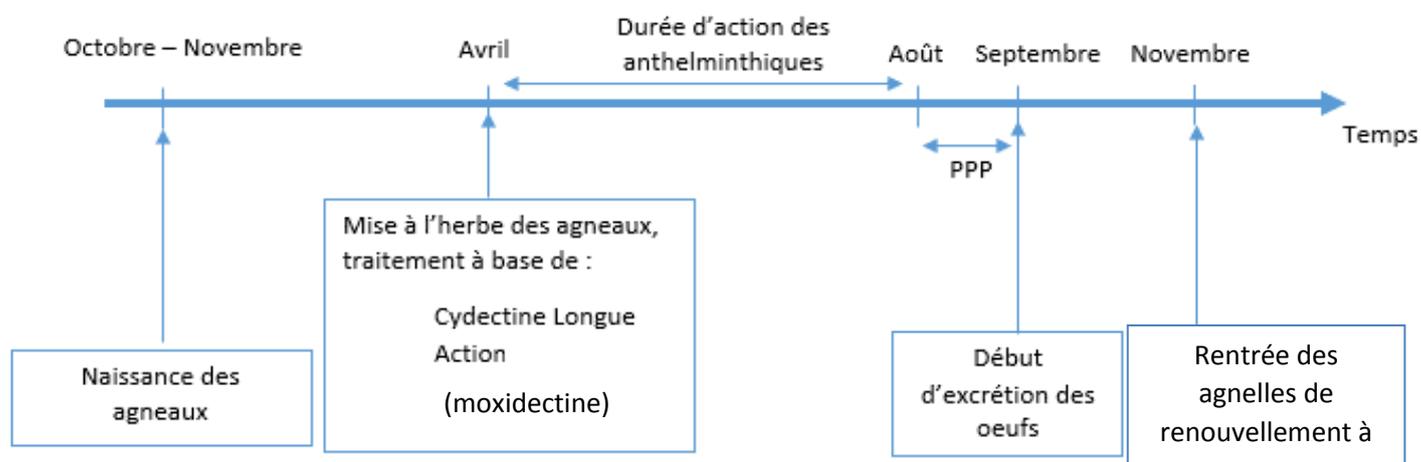


Figure 3 : Un exemple de traitement anthelminthique classique

Le traitement « classique » réalisé en élevage conventionnel consiste en une injection à la base de l'oreille de Cydectine Longue Action® (moxidectine : rémanence de 4 mois ; cf figure 3). Quand les agneaux ingèrent des larves, ces dernières sont détruites par la moxidectine administrée et la parcelle devient ainsi de moins en moins infestée.

Ainsi, les premières infestations ne pourront avoir lieu qu'au mois d'août, après la fin de la période de protection du traitement, et les œufs de SGI ne seront excrétés dans la pâture qu'au mois de septembre. L'avantage majeur de l'utilisation d'une Cydectine longue action à la mise à l'herbe au printemps est qu'il n'y a pas de recyclage de larves à la fin du printemps et donc une absence du pic d'infestation estivale. Le pic larvaire est décalé au mois de novembre, avec une intensité plus faible.

Cependant, le principal inconvénient de cette pratique est que les animaux ne s'immunisent pas face aux SGI : ils pourront ainsi se réinfester massivement lors de leur 2ème saison de paturage, et, si aucun traitement à base de lactones macrocycliques n'est réalisé (donc si on utilise un antiparasitaire sans rémanence), un pic d'infestation des pâtures sera généralement observé en été.

Cette méthode est très utilisée sur le terrain, mais de plus en plus d'éleveurs tendent à une approche plus raisonnée. L'objectif est de traiter tous les animaux d'un lot avec des anthelminthiques moins rémanents, uniquement lors de périodes à risque. Il faut ainsi définir la période optimale de traitement : pour cela, il faut connaître la conduite de pâturage, les conditions climatiques, la bioécologie des parasites, les indicateurs cliniques et zootechniques du parasitisme, ...

1.3.2.3. Approche raisonnée du traitement anthelminthiques

L'International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products (VICH) met en avant l'apport bénéfique que peut apporter la coproscopie (méthode de comptage des œufs d'helminthes dans les fèces) pour connaître le statut parasitaire de l'animal et adapter le traitement anthelminthique (Vercruysse et al., 2001). Jacquier (2015) propose de ne traiter que les lots de brebis ayant des excréments parasitaires moyennes supérieures à 500 œufs par gramme (opg). Concernant le traitement, l'auteur recommande :

- D'effectuer une pesée de l'animal pour adapter la dose, et ainsi éviter au maximum le sous-dosage en respectant la posologie, la voie d'administration, le stockage, la date de péremption, ... En pratique, il faut évaluer le poids de l'animal le plus lourd du lot à traiter ;
- De connaître le statut parasitaire des individus grâce à des coprosopies. En pratique, les coprosopies individuelles coûtent trop cher aux éleveurs de petits ruminants. Aujourd'hui, les coprosopies de mélange sont de plus en plus utilisées, permettant d'avoir une idée du statut parasitaire d'un lot d'ovins (cf partie 3.1.4) ;
- De ne pas traiter systématiquement les animaux adultes avec des antiparasitaires, pour permettre une consolidation du système immunitaire de l'hôte après une exposition aux SGI.

1.3.3. Une autre stratégie de lutte contre les SGI : le traitement à base de tanins

À la suite des échecs des traitements anthelminthiques et du développement de résistance chez les SGI, des recherches ont été menées sur des alternatives de traitements : celle sur l'utilisation de "tanins" comme alternative fait l'objet de nombreuses publications. Cependant, on constate un manque d'application concrète sur le terrain (Hoste et al., 2009).

La plupart des études mettent en évidence les effets inhibiteurs des tanins sur le développement des parasites. On retrouve des études réalisées à la fois chez les ovins et les chevreuils avec des résultats similaires (Hoste et al., 2006 ; Jean-Antoine, 2017). Cependant, à l'heure actuelle, on ne sait pas si ce sont les apports nutritionnels des tanins ou les principes actifs qui jouent le plus grand rôle dans les propriétés anthelminthiques. Il est supposé que les tanins, qui ont la capacité de se lier aux protéines, dégradent la cuticule des strongles en se fixant au collagène, riche en proline et hydroxyproline (Thompson, Geary, 1995).

Les tanins sont en particulier retrouvés chez les ligneux comme le chêne mais aussi dans les légumineuses comme le sainfoin (*Onobrychis viciifoliae*), le lotier pédonculé (*Lotus pedunculatus*), le lotier corniculé (*Lotus corniculatus*) ou le sulla (*Hedysarum coronarium*). En revanche la luzerne, le trèfle blanc (légumineuse) et le ray grass (graminées) contiennent très peu de tanins (Hoste et al., 2006).

Des études sur les propriétés anthelminthiques des tanins ont été réalisées *in vitro* et *in vivo*. *In vitro*, il a été montré que l'efficacité dépendait de l'espèce de SGI cible et de son stade (œufs, larves ou adultes). A titre d'exemple, les tanins dans le sainfoin ont une action inhibitrice sur l'éclosion des œufs, sur le développement larvaire ainsi que la migration des larves infestantes (Molan et al., 2002), mais pas sur les strongles adultes. *In vivo*, les résultats montrent des différences d'efficacité entre les organes du tube digestif. Il semblerait que l'action des tanins soit plus efficace dans l'intestin par rapport à la caillette. Un essai avec administration d'extraits de Quebracho (*Schinopsis quebracho-colorado*), une plante riche en tanins, a montré une diminution de l'excrétion fécale des œufs de *T. colubriformis*, que l'on retrouve dans l'intestin grêle des petits Ruminants, mais une absence d'effet sur *H. contortus* et *T. circumcincta*, que l'on retrouve dans la caillette des petits Ruminants (Athanasiadou et al., 2000 ; 2001).

1.4. LE DEUXIEME FILTRE DE COMPATIBILITE : LE FILTRE “D’ANGLE D’EVASION DU SYSTEME IMMUNITAIRE” (« QUI SE TROUVENT CAPABLES DE DETRUIRE LE PARASITE PAR LEUR SYSTEME IMMUNITAIRE OU TOUT AUTRE PROCEDE »

1.4.1. La mise en place d’une réaction immunitaire chez l’hôte

La réaction immunitaire des ruminants face aux strongyloses digestives est très complexe. Deux lignes de défense sont effectives : d’abord l’immunité innée, qui se met en place dès l’entrée du parasite chez l’hôte, puis l’immunité acquise, lorsque les contacts avec les SGI perdurent dans le temps. Cette défense acquise est spécifique aux antigènes des parasites et permet la mise en place d’une immunité « adaptative » avec la production d’anticorps spécifiques.

Le développement d’une immunité contre les SGI chez les ruminants dépend de la durée d’exposition aux parasites, et de l’intensité du contact hôte/SGI qui dépend notamment de la charge de la pâture en larves infestantes L3. En pratique, l’immunité contre les SGI est effective contre la plupart des espèces après huit à dix mois de contact effectif entre ruminant et parasites. Elle peut cependant être parfois plus courte : par exemple, chez les ovins, l’immunité est acquise après 12 semaines d’exposition continue à *Trichostrongylus colubriformis* (Dobson, 1993) et *Trichostrongylus vitrinus* (Seaton et al., 1989).

1.4.2. Des variations physiologiques modifiant la sensibilité de l’hôte face aux SGI

1.4.2.1. L’âge

Les animaux les plus sensibles sont les plus jeunes, particulièrement ceux âgés de moins d’un an (Barger, 1993). Ceci est principalement dû à une immaturité du système immunitaire mucosal, ne permettant pas l’élimination des parasites.

La résistance des ruminants adultes face à une infestation par les strongles dépend de l’espèce de ruminant. Les bovins adultes sont par exemple plus résistants aux infestations par les SGI comparés aux ovins et aux caprins, chez qui des infestations élevées sont fréquemment observées.

Il en est de même pour les chevreuils : les individus adultes sont moins parasités que les faons ou les individus âgés (Body et al., 2011).

1.4.2.2. Le sexe

En 1961, Dobson montre une sensibilité plus importante chez les souris mâles par rapport aux femelles quant au parasite *Nematospiroides dubius* (Dobson, 1961). Il en serait de même pour les petits ruminants. En effet, les ovins mâles seraient plus sensibles aux infestations par *Trichostrongylus colubriformis* que les ovins femelles (Windon, Dineen, 1981).

Concernant les chevreuils, Pato et al (2013) ont montré que les mâles étaient aussi plus souvent infestés que les femelles. En effet, les individus mâles sont, d'une part, plus actifs que les femelles, et d'autre part, il a été suggéré que certaines hormones sexuelles comme la testostérone pouvaient moduler le système immunitaire de l'hôte, rendant les mâles plus sensibles aux strongyloses gastro-intestinales que les femelles (Pato et al., 2013). En plus d'être plus souvent infestés, les chevreuils mâles auraient des charges parasitaires en SGI plus élevées (Body et al., 2011).

1.4.2.3. La gestation et la lactation

Chez les ovins, la résistance des hôtes face à une infestation de SGI diminue autour de la parturition. On parle de « *periparturient rise* » qui traduit le fait que l'intensité d'excrétion parasitaire augmente dans les deux mois qui précèdent et qui suivent la parturition. Les œufs émis en grand nombre par les brebis évoluent en larves infestantes si l'agnelage se fait à l'extérieur et les larves nouvellement formées profitent des agneaux naissants naïfs pour les parasiter (Barger, 1993).

1.4.2.4. La composante génétique de la résistance aux parasites

Au sein d'une même race de ruminants, voire d'un même troupeau, on retrouve une grande variabilité individuelle de la résistance aux parasites qui dépend de l'âge et du statut physiologique comme nous venons de le voir, mais aussi du fond génétique.

La sélection de la résistance aux strongles gastro-intestinaux se fait sur la voie mâle en centres de sélection. Grâce à la structure pyramidale des schémas de sélection ovine en France, des béliers élites sont infestés expérimentalement avec des larves d'*H. contortus*. Un suivi coproscopique permet de déterminer le statut résistant ou sensible de chacun de ces béliers.

De nombreuses régions chromosomiques à l'origine de la résistance génétique des ovins aux SGI ont ainsi été mises en évidence, laissant penser que le déterminisme génétique de cette résistance était polygénique.

Les gènes de résistance sont spécifiques à chaque race d'ovins et bénéficient d'un bon niveau d'héritabilité compris entre 0,2 et 0,4 quelque soit la race. Par exemple, Aguerre (2019) a établi que l'héritabilité des excréments parasitaires (mesurées en opg) en fin de deuxième infestation par des SGI chez les béliers phénotypés en station de contrôle de la race Manech à Tête Rousse était de 0,35, et que cette héritabilité était plus haute que celle des excréments parasitaires de fin de première infestation (0,14).

Cependant, une corrélation défavorable entre la résistance génétique aux SGI chez les ovins de la race Manech à Tête Rousse et les caractères de production laitière ont aussi été mis en évidence (résistance aux mammites et potentiel de production).

Ainsi, la semence des béliers dont l'excrétion parasitaire est la plus faible est utilisée pour l'insémination des brebis d'élevage qui font face à des parasites multirésistants aux anthelminthiques. L'autre possibilité est de chercher à faire évoluer l'ensemble de la race en contre-sélectionnant les béliers les plus sensibles (Jacquet, 2017).

1.4.3. La main-mise de l'homme sur le filtre d'angle d'évasion du système immunitaire : la vaccination

La réponse immunitaire face aux strongyloses gastro-intestinales est très peu spécifique. La recherche d'un vaccin reste alors très compliquée. A ce jour, les recherches les plus avancées se sont portées sur *H. contortus*, sans toutefois qu'aucun vaccin n'ait, pour le moment, été mis sur le marché en Europe (Nisbet et al., 2016).

1.5. NOTIONS DE FILTRES OUVERTS ET FERMES

Selon Combes, si on suppose que chaque filtre peut être soit ouvert, soit fermé, il existe au total quatre combinaisons de filtres entre un “candidat parasite” et un “candidat hôte” :

1. Le filtre de rencontre et le filtre de compatibilité sont tous deux fermés. Dans ce cas, le Système Parasite Hôte (SPH), ne peut exister ;
2. Le filtre de rencontre est ouvert, mais le filtre de compatibilité est fermé : le SPH n'existe pas, mais il est possible que des forces de sélection s'exercent sur le parasite pour ouvrir le filtre de compatibilité, c'est en ce sens que tout mutant capable d'interaction durable avec l'hôte est sélectionné ;
3. Le filtre de rencontre est fermé, mais le filtre de compatibilité est ouvert. Le SPH n'existe pas, mais tout changement dans la composition de la biocénose ou dans le comportement des organismes peut ouvrir le filtre de rencontre et provoquer la naissance d'un SPH ;
4. Le filtre de rencontre et le filtre de compatibilité sont tous deux ouverts : un SPH existe.

Cela nous amène à nous demander si les chevreuils et les moutons partagent une biocénose commune, un élément indispensable au transfert des strongles entre les moutons et les chevreuils.

1.5.1. Habitat du chevreuil

La tolérance des chevreuils à l'activité humaine leur a permis d'occuper des habitats façonnés par l'homme tels que les plantations forestières, les mosaïques forêt/terre agricoles, les plaines agricoles très ouvertes de l'ouest et de l'est de l'Europe, et même des jardins suburbains. Hewison et al. (2001) souligne que même dans les régions où il y a peu de forêts, le chevreuil se retrouve en majorité dans celles-ci. Les chevreuils, en tant que proies, se servent de la forêt comme abris, une solution de repli en cas d'attaque de prédateurs (San José, Lovari, 1997).

On distingue deux types de paysages : les espaces ouverts à dominante plaines et cultures et les espaces fermés à dominante forêts, haies, friches. Dans les espaces ouverts, les territoires des brocards (chevreuils mâles) sont quasiment toujours centrés sur la forêt (Zejda, 1985).

Cagnacci et al. (2011) introduisent un nouveau concept : la géométrie/distribution des forêts dans une zone influencerait la distribution des chevreuils et pourrait modifier le comportement des chevreuils de forêt en chevreuil de plaine. La population des chevreuils de plaine se caractérise par la formation de grands groupes d'animaux (Zedja, 1978 ; Bresinski, 1982). Selon San José et al (1997), ce regroupement serait une stratégie de protection contre les prédateurs. En effet, être à découvert surexpose davantage les proies à leur prédateurs et leur regroupement déstabiliserait ces derniers. L'absence de couverture forestière permet aux chevreuils de mieux se voir entre eux et facilite donc leur regroupement.

De plus, Cagnacci et al. (2011) confirme que les chevreuils sont moins nombreux à proximité des infrastructures humaines (habitations, villages et routes). Ce résultat est d'autant plus vrai en hiver qu'en été, probablement dû au fait qu'en été les cultures peuvent constituer une couverture pour les chevreuils.

1.5.2. Habitat des moutons

Dans un contexte de domestication des ovins, le type d'habitat dépend de la race et de sa rusticité, ainsi que du type de production souhaitée (laine, viande, lait, mixte). Des moutons comme les Rouges de l'Ouest seront plus adaptés au pâturage alors que des moutons île de France pourront très bien s'adapter et produire de manière équivalente tant en bergerie qu'en pâture. On distingue trois types d'élevage :

- Elevage en plein air : le troupeau pâture jour et nuit ;
- Elevage en semi-plein air ;
- Elevage en bergerie : le troupeau reçoit sa nourriture exclusivement en bergerie.

Les troupeaux de plein air et semi-plein air représentent 70% des exploitations et 70% des effectifs (Dudouet, 2003). La rencontre entre les SGI et les deux hôtes que sont les moutons et les chevreuils ne se fera qu'à condition que les moutons soient en élevage plein air ou semi-plein air.

Outre la rencontre, une certaine compatibilité entre l'hôte potentiel et le parasite est nécessaire. Un parasite n'exploite généralement qu'un nombre réduit d'espèces hôtes lui permettant son maintien, sa survie et son développement. Selon le nombre d'espèces hôtes qu'un parasite peut parasiter, il sera considéré soit comme un parasite *spécifique* (= sténoxène ; une seule espèce hôte), *spécialiste* (= oligoxène ; quelques espèces hôtes proches phylogénétiquement) ou *ubiquiste/généraliste* (= polyxène ; plusieurs espèces hôtes éloignées).

Comme le suggère Bush and Holmes (1986), les strongles sont souvent classés en deux types d'espèces : les « généralistes » et les « spécialistes ».

Les strongles dits « généralistes » n'ont pas ou peu de spécificité d'hôte, c'est à dire qu'ils pourront être observés chez différents hôtes mais sans jamais être considérés comme dominants. La notion de réservoir pour ces espèces généralistes est difficile à mettre en place, car dans certains cas, le réservoir d'une espèce généraliste est représenté par l'ensemble des hôtes susceptibles d'accueillir le parasite. Cependant, les strongles généralistes sont des espèces importantes d'un point de vue sanitaire car elles ont un pouvoir d'adaptation fort d'un hôte à un autre, les rendant ainsi parfois plus pathogènes que les espèces spécialistes (Zaffaroni et al., 2000).

Les strongles dits "spécialistes" sont spécifiques d'une seule espèce d'hôte (ou d'un groupe d'espèces hôtes). Ces strongles seront toujours dominants dans la population parasitaire de l'hôte. Lors de fortes densités de population, ces espèces spécialistes peuvent se retrouver chez des hôtes inhabituels (Zaffaroni et al., 2000).

La spécialisation d'un parasite pour son hôte indique que ce parasite ne se retrouve que sur un type d'hôte. Or dans notre étude, on s'intéresse aux échanges de parasites entre deux espèces d'hôtes différentes. Cela présuppose qu'il faut soit que nous ayons affaire à des parasites généralistes soit des spécialistes en cours de transition vers le généralisme. La frontière entre parasite qualifié de spécialiste ou de généraliste n'est pas si évidente, et les parasites se situent souvent sur un continuum « généraliste-spécialiste ».

2. PRESENTATIONS DES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX DES CHEVREUILS ET DES OVINS

2.1. LES DIFFERENTES ESPECES DE STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX

2.1.1. Espèces de SGI spécialistes des chevreuils

Les trois principales espèces de strongles (famille des Strongylidés) spécialistes des chevreuils sont *Ostertagia leptospicularis*, *Spiculoptera spiculoptera* et *Ashworthius sidemi*. Ce sont des parasites de la caillette des cervidés.

O. leptospicularis et *S. spiculoptera* sont des co-parasites des cervidés appartenant à la même sous-famille des Ostertagiinés. Ce sont les espèces les plus fréquemment retrouvées dans la caillette des chevreuils (Pato et al., 2013). Les adultes sont des vers minces pouvant mesurer jusqu'à 9 mm de long, ils sont bruns rougeâtres avec une courte cavité buccale (<https://veteriankey.com/parasites-of-cattle/>). Leur prévalence peut aller jusqu'à 100% dans certaines régions (Irvine et al., 2006 ; Zaffaroni et al., 2000 ; Kuzmina et al., 2010). On les retrouve surtout pendant les périodes chaudes de l'année, c'est-à-dire en fin de printemps ou à l'été. De plus, leur prévalence serait plus élevée chez les individus mâles, ainsi que chez les cervidés adultes par rapport aux faons (Rossi, 1997).

A. sidemi est, à l'origine, un nématode spécialiste du cerf Sika (*Cervus nippon*). Cependant, à la suite de l'introduction de ce cerf en Europe au XX^{ème} siècle, *A. sidemi* est aujourd'hui un des helminthes retrouvé le plus fréquemment dans la caillette des cervidés, chevreuil compris. La faible différence inter-spécifique sur le plan moléculaire entre les différents individus d'*A. sidemi* confirme l'hypothèse de l'introduction récente de cet helminthe en Europe. Cette espèce invasive est considérée comme un véritable traceur de déplacement des populations hôtes (Lehrter et al., 2016 ; Kuzmina et al., 2010). Les larves sont non différenciables morphologiquement des larves d'*H. contortus* (Lienard, 2007).

D'autres strongles de l'abomasum sont également cités, comme *Rinadia matheovossiani* (aussi appelé *Spiculoptera matheovossiani*), dont la prévalence varie de 16 à 28% selon les études, et *Ostertagia kolchida*, retrouvé fréquemment chez les cervidés avec une prévalence allant jusqu'à 73% dans certaines études (Borgsteede, 1990 ; Rossi, 1997 ; Zaffaroni et al., 2000).

Outre des parasites de la caillette, certains parasites spécialistes du chevreuil sont retrouvés dans d'autres parties du tube digestif. Dans l'intestin grêle notamment, une espèce fréquemment citée est *Nematodirus europaeus*. Ce sont des strongles filiformes pouvant mesurer jusqu'à 13,5 mm de long pour 0,2 mm de large et possédant un spicule terminal (Jansen, 1972 ; Rossi, 1997). Les strongles du genre *Nematodirus* spp. sont facilement mis en évidence en coproscopie (cf figure 4) du fait de la grande taille de leurs oeufs (150 à 250 µm) (Zajac, 2006).

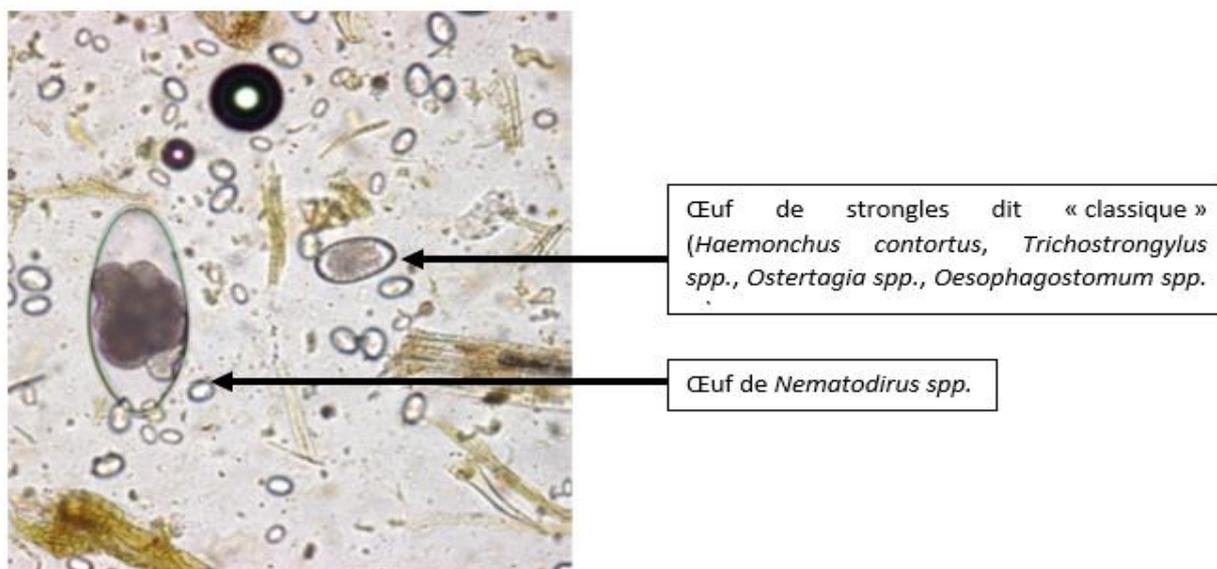


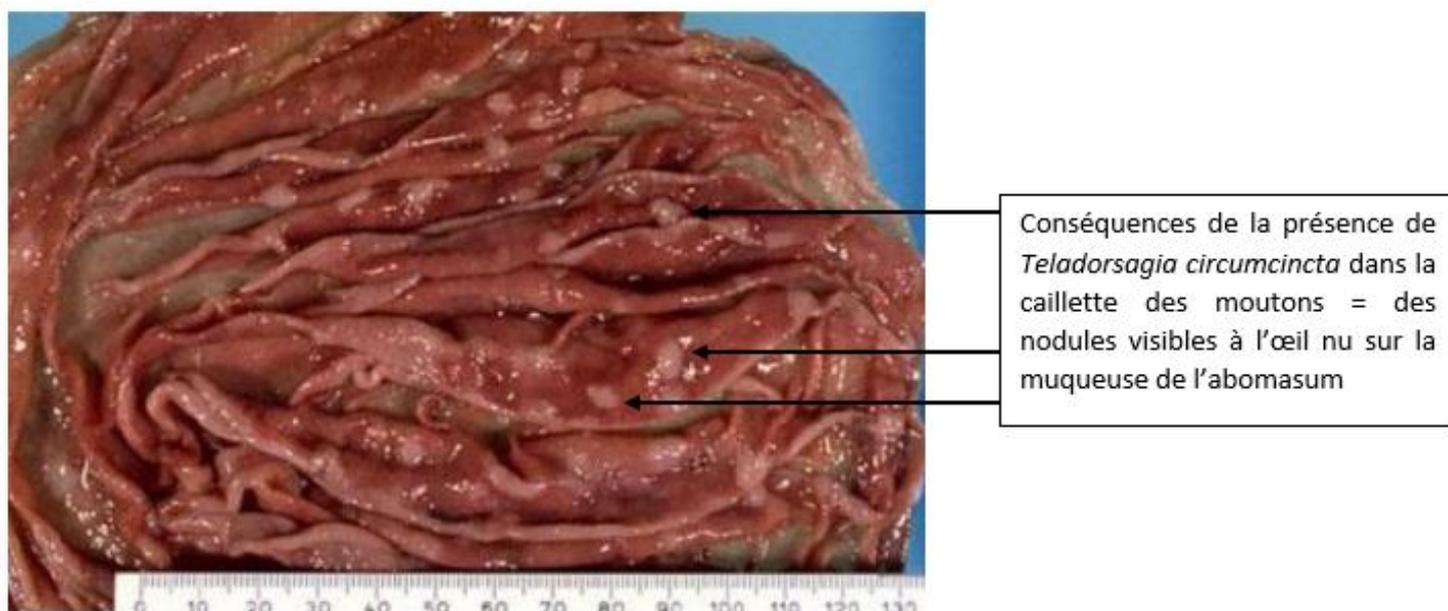
Figure 4 : comparaison en coproscopie entre un œuf de *Nematodirus* spp. et un œuf de strongle digestif classique. Source = (Zajac, 2006).

L'espèce dominante du genre *Trichostrongylus* spp. de l'intestin grêle du chevreuil est *Trichostrongylus capricola*. Sa prévalence peut s'élever jusqu'à 90% selon les études (Cacards, 2004).

2.1.2. Espèces de SGI spécialistes des moutons

Les deux principales espèces de strongles gastro-intestinaux spécialistes des ovins (ou plus généralement des petits ruminants) sont *Teladorsagia circumcincta* et *Trichostrongylus colubriformis*. Ces strongles ont une pathogénicité faible à moyenne selon les individus infestés. Ce sont des strongles retrouvés dans pratiquement tous les élevages ovins en France et en Europe plus généralement (Cabaret, 2004 ; Chartier et al., 1998).

T. circumcincta est communément appelé « ver brun de l'estomac ». Ces petits strongles hématophages (moins d'un centimètre de long) sont retrouvés dans la caillette des ovins : les larves se réfugient dans les glandes gastriques, formant ainsi des nodules visibles à l'œil nu sur la muqueuse de l'abomasum (cf figure 5). Ce sont ces nodules qui permettent la mise en évidence du parasite lors d'une autopsie car la petite taille des adultes fait qu'ils sont difficilement visibles. Enfin, une des caractéristiques de *T. circumcincta* est sa capacité à interrompre son développement larvaire (phénomène d'hypobiose) dans l'organisme de son hôte pendant l'hiver (Zajac, 2006).



Conséquences de la présence de *Teladorsagia circumcincta* dans la caillette des moutons = des nodules visibles à l'œil nu sur la muqueuse de l'abomasum

Figure 5 : Nodules de *T. circumcincta* dans la caillette d'un ovine. Source = <http://www.wormboss.com.au/sheep-goats/worms/roundworms/brown-stomach-worm.php>

T. colubriformis est un nématode localisé dans l'intestin grêle. C'est un strongle très fin et de petite taille mesurant jusqu'à 6 mm de long : il est, comme *T. circumcincta*, difficilement visible lors des autopsies. Il est souvent retrouvé en association avec *T. circumcincta* (Zajac, 2006).

Une autre espèce du genre *Trichostrongylus* est retrouvée chez les ovins : il s'agit de *Trichostrongylus vitrinus*. C'est l'espèce de Trichostrongylidés la plus pathogène chez les petits ruminants (Roeber et al., 2013).

Nematodirus battus est aussi un nématode spécialiste des ovins et plus particulièrement des agneaux, les adultes étant immunisés contre ce parasite. Il est retrouvé dans l'intestin grêle des agneaux, et lors de la présence de plusieurs milliers de parasites, des lésions de la muqueuse intestinale sont possibles. Ce sont des vers très fins de 6-8 mm, visibles en grande quantité lors des autopsies. Une autre espèce du genre *Nematodirus* spp. peut aussi parfois être retrouvé chez les ovins : il s'agit de *Nematodirus spathiger* (Zajac, 2006 ; Autef, 2008 ; Jacquiet, 2017).

Enfin, *Cooperia curticei* est aussi retrouvé dans l'intestin grêle des moutons et plus globalement des petits ruminants. Ce strongle est de petite taille (5 à 11 mm de long sur 0,1 mm de large) et il a la particularité d'avoir un corps enroulé en « ressort de montre » (cf figure 6). Il est fréquemment retrouvé dans les élevages de petits ruminants (Zajac, 2006 ; Liénard, 2015).



Figure 6 : Nématode du genre *Cooperia* spp. en vue macroscopique.
Sources : (Jacquiet, 2017).

2.1.3. Espèces de SGI généralistes communs aux chevreuils et aux moutons

Les deux espèces de SGI principalement citées dans la littérature en tant que strongles généralistes sont *Haemonchus contortus* et *Trichostrongylus axei* (Zaffaroni et al., 2000 ; Lienard, 2007 ; Jean-Antoine, 2017).

H. contortus est un des strongles les plus étudiés du fait de sa haute prévalence dans les élevages ovins, de sa forte pathogénicité chez les petits ruminants domestiques et des problèmes de résistances à l'encontre de certaines familles d'antiparasitaires. C'est un strongle hématophage localisé dans la lumière de la caillette des ruminants. Les femelles mesurent jusqu'à 3 cm de long et sont facilement mises en évidence lors d'autopsie (cf figure 7) (Liénard, 2015).



Figure 7 : Photo de vers adultes d'*Haemonchus contortus* dans la caillette d'un agneau à l'autopsie

Source : (Jacquet, 2017)

Des études s'appuyant sur l'ADN mitochondrial d'*H. contortus* confirme l'aspect généraliste de ce nématode, suggérant ainsi la possibilité de transmission entre ruminants domestiques et sauvages (Cerutti et al., 2010). En effet, il serait capable d'infester tous les artiodactyles ruminants (Lehrter et al., 2016). La prévalence d'*H. contortus* chez les chevreuils est très variable : elle peut osciller entre 3% et 70% suivant les études (Borgsteede, 1990 ; Ferté et al., 2000 ; Kuzmina et al., 2010).

Pour les ovins, *H. contortus* représente, avec *T. circumcincta* et *T. colubriformis*, 95% de la charge parasitaire globale en strongles, malgré une distribution plus irrégulière d'*H. contortus* dans les élevages ovins que les deux autres espèces (Cabaret, 2004).

H. contortus est un ver extrêmement prolifique, puisque les femelles peuvent pondre plusieurs milliers d'œufs par jour : les larves de stade L3 s'accumulent ainsi rapidement dans le milieu extérieur pendant la saison des pâtures. Chez les cervidés, des co-infestations avec *A. sidemi* (strongle spécialiste des cervidés) sont possibles et de plus en plus fréquentes, du fait de l'augmentation croissante de la prévalence d'*A. sidemi*. En cas de co-infestation, les vers adultes de *H. contortus* et *A. sidemi* sont différenciables car ils possèdent des caractéristiques morphologiques différentes, mais ce n'est pas le cas pour les œufs et les stades larvaires des deux espèces qui sont extrêmement semblables et non différenciables morphologiquement. Un protocole de PCR multiplex basé sur l'ADN mitochondrial des deux strongles est désormais disponible, et permet de distinguer *H. contortus* et *A. sidemi* quelque soit leur stade de développement en cas de co-infestation (Lehrter et al., 2016).

Tout comme *H. contortus*, *Trichostrongylus axei* est un nématode hématophage, localisé dans la caillette des ruminants domestiques et sauvages. Ce sont des vers très petits et très fins, mesurant entre 4 et 6 mm et non visibles à l'œil nu. *T. axei* est mis en évidence dans de nombreuses études sur l'helminthofaune des chevreuils, avec une prévalence variable pouvant atteindre 50% (Cacards, 2004). Chez les moutons, son importance est moindre que celle d'*H. contortus*.

Winter et al (2018) citent deux autres espèces généralistes importantes des ruminants sauvages et domestiques : *Oesophagostomum venulosum* et *Chabertia ovina*. *O. venulosum* est un nématode parasite du gros intestins et visible à l'œil nu, tandis que *C. ovina* est un strongle retrouvé dans le côlon des ruminants. Leur prévalence varie d'un individu à l'autre mais elle reste relativement faible en général, notamment chez les chevreuils (Pato et al., 2013 ; Winter et al., 2018).

Enfin, d'autres strongles gastro-intestinaux sont cités dans la littérature, notamment *Marshallagia marshalli* qui est un parasite de la caillette retrouvé principalement dans les zones arides et semi-arides. En effet, les stades libres de cette espèce ont besoin d'un climat froid et sec pour se développer correctement. On le trouve principalement dans l'Eurasie, même s'il a aussi été mis en évidence au Maroc, en Espagne, en Ouzbékistan et dans les Alpes (Zaffaroni et al., 2000 ; Zouyed, 2015 ; <http://dailyparasite.blogspot.com/2012/10/marshallagia-marshalli.html>).

Nematodirus filicolis et *Bunostomum trigonocephalum* sont également cités dans certaines études : ce sont deux parasites retrouvés dans l'intestin grêle des ruminants domestiques et sauvages, même s'ils restent rarement signalés chez le chevreuil. *B. trigonocephalum* est un parasite hématophage de grande taille pouvant mesurer jusqu'à 3 cm de long (Cacards, 2004).

2.1.4. Synthèse

Le tableau 4 ci-après rassemble tous les strongles gastro-intestinaux spécialistes et généralistes des chevreuils et des ovins cités précédemment.

2.1.5. Echanges de SGI entre chevreuils et moutons

Plusieurs études ont permis de mettre en évidence des SGI spécialistes des ruminants domestiques chez les ruminants sauvages.

D'abord, Pato et al. (2009) ont mis en évidence la présence de *T. circumcincta*, *T. axei* et *Cooperia punctata* à la fois chez des chevreuils et des bovins au nord-ouest de l'Espagne (Galice). Ils concluent à une possible infection croisée entre les chevreuils et les bovins pâturant dans les mêmes prairies.

De même, dans une étude de Pato et al. (2013) sur l'helminthofaune de 218 chevreuils du nord-ouest de la péninsule ibérique, des parasites spécialistes des ruminants domestiques ont pu être mis en évidence chez les chevreuils, tels que *Nematodirus spathiger*, *T. circumcincta*, *T. colubriformis* et *T. vitrinus*. Ils supposent ainsi que les chevreuils pourraient faire office de réservoir de ces strongles spécialistes pour les ruminants domestiques.

Enfin, une étude très récente de Barone et al. (2020) réalisée aux Etats-Unis sur 548 fèces de ruminants sauvages et 28 fèces de bovins met en évidence la présence de trois parasites fréquemment retrouvés dans les élevages de ruminants domestiques américains, à savoir *O. ostertagi*, *T. colubriformis* et *H. contortus*, à des prévalences respectives de 55 %, 35 % et 24%. Les auteurs concluent que les ruminants sauvages peuvent ainsi être des réservoirs de SGI, en maintenant des niveaux d'infestations de SGI élevés dans les élevages de ruminants domestiques, rejoignant ainsi les conclusions de Pato et al (2013).

Famille	Sous famille	Espèce	Type	Localisation
Trichostrongylidés	Ostertagiinés	<i>Ostertagia leptospicularis</i>	Spécialistes des chevreuils	Caillette
		<i>Spiculoptera spiculoptera</i>		
		<i>Rinadia matheovossiani</i>		
		<i>Ostertagia kolchida</i>		
		<i>Marshallagia marshalli</i>	Généraliste	
		<i>Teladorsagia circumcincta</i>	Spécialiste des ovins	
	Haemonchinés	<i>Haemonchus contortus</i>	Généraliste	Spécialiste des chevreuils
		<i>Ashworthius sidemi</i>		
	Trichostrongylinés	<i>Trichostrongylus axei</i>	Généraliste	Spécialiste des chevreuils
		<i>Trichostrongylus capricola</i>		
		<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	Spécialistes des ovins	
		<i>Trichostrongylus vitrinus</i>		
	Nematodiriné	<i>Nematodirus europaeus</i>	Spécialiste des chevreuils	Intestin grêle
		<i>Nematodirus filicolis</i>	Généraliste	
<i>Nematodirus battus</i>		Spécialistes des ovins		
<i>Nematodirus spathiger</i>				
Coopériinés	<i>Cooperia curticei</i>			
Strongylidés	Bunostominés	<i>Bunostomum trigonocephalum</i>	Généralistes	Gros intestin
	Oesophagostominés	<i>Oesophagostomum venulosom</i>		
		<i>Chabertia ovina</i>		Colon

Tableau 4 : Principaux strongles gastro-intestinaux spécialistes et généralistes des chevreuils et des ovins

2.2. IMPACT DES STRONGLES SUR LA SANTE DES MOUTONS ET DES CHEVREUILS

2.2.1. L'impact des SGI sur l'élevage ovin

Les SGI ont un impact socio-économique majeur sur l'élevage ovin. Il y a une vingtaine d'années, le coût total de la gestion du parasitisme en élevage ovin a été évalué à 10 billions de dollars à l'échelle mondiale, et ce uniquement sur la base de l'achat des antiparasitaires (Mcleod, 1995). En effet, en plus de la perte économique directe engendrée par ces traitements, l'infestation par des strongles gastro-intestinaux provoquent des pertes de production indirecte dues à des baisses de performances et de l'état général des animaux. Notamment, les deux conséquences les plus importantes sont une baisse de la production de lait ainsi qu'une diminution du gain moyen quotidien (GMQ) des ovins (Mavrot et al., 2015).

2.2.2. Les strongyloses digestives des ovins

Les principaux problèmes rencontrés dans les élevages de petits ruminants sont ceux causés par *H. contortus*. En effet, l'haemonchose aiguë est provoquée par les larves L4 et les vers adultes hématophages dont la principale conséquence est une anémie, plus ou moins marquée suivant l'importance de l'infestation (cf figure 8). Les moutons peuvent aussi présenter du méléna, de l'œdème (à la suite d'une hypoprotéinémie majeure), allant parfois même jusqu'à la mort de l'individu. En cas d'haemonchose dite « chronique », les ovins présentent une dysorexie, une perte de poids et une anémie faible à modérée. *H. contortus* n'est cependant pas une cause de diarrhée primaire (Roeber et al., 2013 ; Jacquiet, 2017).



Figure 8 : photo d'une muqueuse oculaire blanche de mouton, visualisable lors d'haemonchose aiguë. Source : (Jacquiet, 2017)

T. circumcincta provoque des diarrhées importantes en cas de forte infestation, ainsi que de l'anémie et parfois la mort de l'animal. Cependant, il est plus courant en élevage ovin d'avoir de faibles infestations, avec des moutons présentant uniquement de la diarrhée et une perte de poids (Zajac, 2006).

Les strongles du genre *Trichostrongylus* spp. et notamment *T. vitrinus* provoquent quant à eux des diarrhées profuses sévères, avec des moutons ayant des souillures périanales importantes. Cette diarrhée est souvent associée à une perte de poids et, en cas d'infestation sévère, à la mort de l'individu (Zajac, 2006 ; Roeber et al., 2013).

Les agneaux sont très sensibles aux infestations par *Nematodirus battus*. Lors de leur première année de pâture, les individus âgés de quatre à huit semaines présentent brutalement une diarrhée verdâtre profuse entraînant une déshydratation importante, avec une forte baisse de l'état général et de l'hyperthermie. Parfois, les agneaux les plus atteints ont besoin de deux à trois mois pour reprendre un poids normal. La mortalité en élevage peut atteindre 30%. Ces signes cliniques majeurs sont provoqués par les larves de stade L4 de *N. battus* : ainsi, la seule façon de mettre en évidence ce parasitisme est l'autopsie, étant donné que les signes cliniques apparaissent avant que les vers adultes ne produisent des oeufs (Autef, 2008).

Enfin, comme pour les chevreuils, les autres espèces de strongles gastro-intestinaux comme *B. trigonocephalum*, *C. ovina*, *C. curticei* ou encore *O. venulosum* ont un pouvoir pathogène relativement faible mais ils contribuent à diminuer l'état général des ovins en provoquant de la diarrhée et de la perte de poids (Roeber et al., 2013).

2.2.3. Les strongyloses digestives des cervidés

L'impact des strongles gastro-intestinaux sur la santé des cervidés est encore mal connu. En effet, il est délicat d'affirmer en *ante-mortem* que la dégradation de l'état général d'un individu soit la conséquence d'un parasitisme digestif important, étant donné la difficulté de réaliser des examens complémentaires sur la faune sauvage. De plus, en *post-mortem*, les mêmes questions se posent : l'observation d'une charge parasitaire importante dans le tractus digestif d'un chevreuil à l'autopsie ne suffit pas à poser le diagnostic quant à la cause de sa mort.

Cependant, une étude d'Irvine et al (2006) sur le cerf en Ecosse a montré qu'une forte intensité d'infection par *Ostertagia* spp. pouvait entraîner une baisse de l'état général des cervidés *via* la mesure du poids de la carcasse, et de l'évaluation de l'état d'engraissement de l'individu (présence ou non de graisse sur les reins et sur la carcasse en général). De plus, même une faible infestation a des effets subcliniques sur les cervidés telle qu'une baisse de l'appétit, entraînant ainsi une dégradation de l'état général de l'animal et donc une prédisposition à des infections virales et bactériennes (Irvine et al., 2006).

En outre, la masse corporelle des cervidés reste un indicateur non spécifique du parasitisme, car elle ne répond que tardivement à la présence de strongles digestifs. C'est ainsi que Jégo et al (2014) ont montré que plus les chevreuils avaient une charge parasitaire importante, plus certains paramètres hématologiques comme l'hématocrite, la créatinine et les fructosamines étaient modifiés. De plus, ces critères varient plus précocement que la masse corporelle. Cependant ces examens complémentaires restent très peu réalisables en pratique.

Enfin, les conséquences cliniques de chacun des parasites cités précédemment restent difficilement évaluables chez les cervidés. Cependant, les signes cliniques associés à certains parasites restent identiques à ce que l'on peut observer chez les ruminants domestiques. Typiquement, les strongles hématophages comme *H. contortus*, *A. sidemi* et *B. trigonocephalum* engendrent une anémie, évaluable en autopsie par la présence d'hémorragies punctiformes sur l'ensemble de la muqueuse digestive.

De plus, certaines espèces de strongles peuvent provoquer des diarrhées profuses, engendrant de la déshydratation et des individus cachectiques, même si ce n'est pas le cas pour tous les strongles (ex : *H. contortus*).

Les strongles de la famille des Ostertagiinés comme *O. leptospicularis* ou *S. spiculoptera* peuvent causer des lésions identiques à ce que l'on observe en cas d'ostertagiose chez les bovins, à savoir une gastrite importante associée à de nombreux nodules sur la paroi de la caillette. Enfin, les strongles digestifs comme *Trichostrongylus capricola*, *Nematodirus europaeus* ou encore *Oesophagostomum* spp. participent surtout à un affaiblissement général de l'individu en cas d'infestation très importante (Cacards, 2004 ; Lehrter et al., 2016).

3. METHODES DE MISE EN EVIDENCE DES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX CHEZ LES OVINS ET LES CHEVREUILS

La mise en évidence des strongles gastro-intestinaux est primordiale avant la réalisation d'un traitement antiparasitaire, si l'on souhaite faire une utilisation raisonnée des anthelminthiques. Les strongles peuvent être mis en évidence à plusieurs stades de leur cycle, suivant la méthode utilisée.

En pratique sur le terrain, le moyen le plus employé pour évaluer l'infestation des ruminants domestiques par les strongles gastro-intestinaux reste la coproscopie. Les autres procédés, tels que la coproculture ou la PCR, sont surtout utilisés dans les enquêtes épidémiologiques, que ce soit pour les animaux de rente ou pour la faune sauvage (Jacquiet, 2017).

3.1. COPROSCOPIE

La coproscopie permet de mettre en évidence des œufs de strongles gastro-intestinaux dans les matières fécales. Elle peut être qualitative, par la simple visualisation d'éléments parasitaires, ou quantitative, par un comptage des œufs sur cellule de McMaster qui permet d'évaluer l'intensité d'excrétion parasitaire.

3.1.1. Prélèvement de fèces

Un prélèvement de selles par voie rectale est à privilégier : cela est possible chez les ruminants domestiques tels que les ovins, mais difficilement réalisable chez les chevreuils (excepté éventuellement lors de capture). Pour réaliser des coproscopies dans la faune sauvage, des prélèvements à même le sol sont possibles, à partir du moment où les fèces sont fraîches (<24h).

En quantité, il faut, au minimum, entre 3 et 5 grammes de fèces pour les ovins et les chevreuils. Le laps de temps entre le prélèvement et l'analyse coprologique doit être le plus bref possible pour éviter toute perte de sensibilité et de spécificité par destruction des œufs. S'il doit y avoir un stockage, il est conseillé de conserver les prélèvements au froid positif (+4°C).

3.1.2. Principes généraux des méthodes d'enrichissement par flottation

En coprologie, les méthodes d'enrichissement par flottation permettent de concentrer les éléments parasitaires de faible densité à partir d'une très petite quantité de fèces, en utilisant des solutions de densités élevées. Différents liquides de flottation sont utilisés en fonction des œufs recherchés.

Pour la mise en évidence des œufs de SGI, des solutions avec des densités comprises entre 1,1 et 1,2 sont suffisantes. C'est le cas par exemple des solutions de chlorure de calcium, de saccharose et de chlorure de sodium. Elles ont l'avantage d'être peu dangereuses pour l'utilisateur et d'avoir un faible coût.

A l'inverse, les œufs de trématodes comme *Fasciola hepatica* ou *Dicrocoelium lanceolatum* sont plus lourds que les œufs de SGI et demandent, pour les analyses coproscopiques, des liquides de densité idéalement supérieure à 1,4 pour être mis en évidence. C'est le cas de l'iodomercurate de potassium qui a une densité de 1,44, et qui permet ainsi d'avoir une très bonne sensibilité dans la détection des œufs de trématodes. Cependant, en plus de son coût important, ce liquide présente une grande toxicité (effets caustiques, tératogènes et embryotoxiques). A cause de ses inconvénients, l'iodomercurate de potassium est très peu utilisé et est remplacé en pratique par le sulfate de zinc, qui a une densité allant de 1.35 à 1.40. Le sulfate de zinc présente une bonne sensibilité dans la détection des œufs de trématodes, et notamment de *F. hepatica*. Cependant, son utilisation entraîne des altérations morphologiques des œufs, compliquant leur identification (Sochat, 2015).

3.1.3. Coproscopie qualitative

La coproscopie qualitative permet de valider la présence ou non d'œufs de strongles dans les fèces. Malheureusement, la distinction entre deux genres de strongles ne peut pas être faite sur les bases d'une coproscopie. Seuls les œufs du genre *Nematodirus* spp. sont différenciables des autres, de par leur taille plus importante.

3.1.4. Coproscopie quantitative

La coproscopie quantitative permet de mesurer l'intensité d'excrétion parasitaire, exprimée en œufs par gramme (opg) de fèces. Plusieurs méthodes de coproscopie quantitative existent, mais la plus utilisée en médecine vétérinaire est la méthode d'enrichissement par flottation utilisant la technique de MacMaster.

Le principe est de mélanger les fèces à un liquide plus dense, afin de faire flotter à la surface les éléments parasitaires comme les œufs. L'eau salée de densité 1,2 est couramment utilisée et est facilement obtenue par saturation de l'eau en sel (NaCl), en mélangeant 400 grammes de sel de cuisine à 1 litre d'eau.

Ainsi, le protocole est le suivant : 3 grammes de matières fécales sont incorporés dans 42mL d'eau salée de densité 1,2. Les fèces sont écrasées, le mélange est homogénéisé puis filtré trois fois à l'aide d'une passoire à thé, permettant d'éliminer les fibres ou autres débris non digérés. Le mélange est de nouveau homogénéisé, et, à l'aide d'une pipette jaugée, une petite quantité de liquide est récupérée puis déposée sur les deux chambres d'une lame de McMaster, qui sont chacune surmontée d'un réseau (ou grille de comptage) (cf figure 9). Les œufs de strongles, ayant une densité plus faible que l'eau salée, remontent progressivement à la surface (après un temps de repos de deux minutes) et se fixent sous la lamelle. L'échantillon est ensuite observé au microscope optique à l'objectif x10 (cf figure 10).

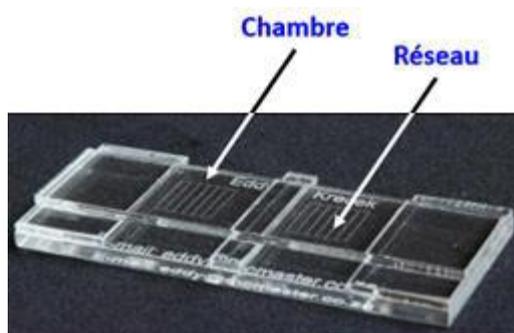


Figure 9 : Lame de McMaster. Source : (Jacquiet,2017).

Chaque réseau contient 0,15 mL du mélange, équivalent à 1/300^{ème} de la solution initiale (42 mL) : on en déduit ainsi que le comptage d'un seul œuf dans un réseau équivaut à 300 œufs dans 3 g de fèces soit à 100 œufs pour 1 g de selle. Pour plus de précision, le dénombrement est souvent réalisé dans les deux réseaux, où un œuf équivaut donc à 50 œufs par gramme de matière fécale (opg). Si aucun œuf n'est trouvé dans les deux réseaux, il faut regarder dans les chambres autour des réseaux : en sachant qu'une chambre contient 0,5 mL du mélange, on en déduit, par le même raisonnement, qu'un œuf en dehors du réseau correspond à 15 opg.

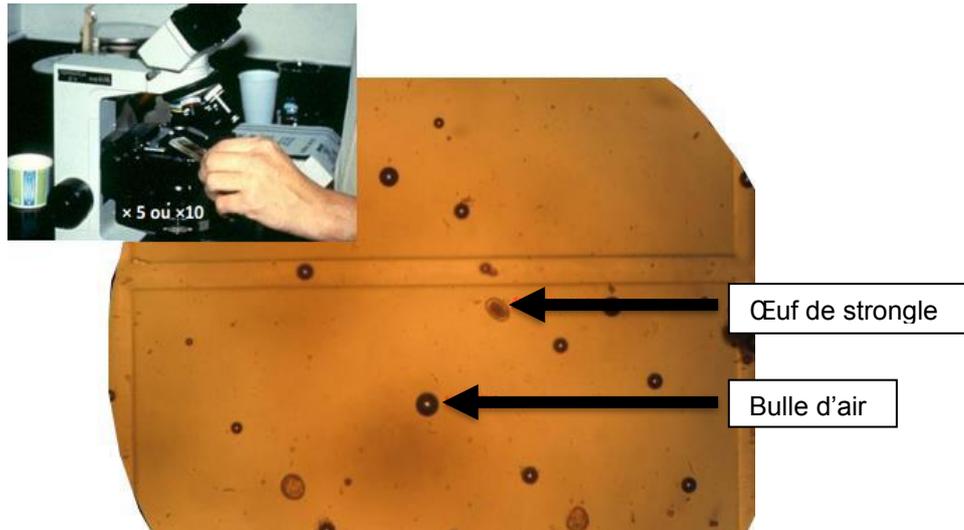


Figure 10 : observation des œufs de strongles sous lame de McMaster sous microscope optique (x10)

Source : (Jacquiet, 2017)

3.1.5. Intérêt de la coproscopie de mélange

Les coproscopies individuelles sont relativement coûteuses pour les éleveurs de petits ruminants. En effet, pour avoir une bonne appréciation du statut parasitaire d'un troupeau, il faut, dans l'idéal, au moins une dizaine de prélèvements, en sachant qu'une coproscopie individuelle coûte entre dix et quinze euros suivant le cabinet vétérinaire.

Pour tenter de contourner ce problème, des coproscopies de mélange sont de plus en plus réalisées. Pour cela, des prélèvements de fèces de quinze animaux d'un même lot sont récupérées individuellement. Puis, un gramme de chaque échantillon est prélevé et l'ensemble des quinze échantillons est mélangé dans un mortier. Une fois bien homogénéisé, trois grammes du mélange sont récupérés puis analysés par la méthode de Mac Master par flottaison au sel décrite précédemment.

Il est recommandé de réaliser deux analyses coproscopiques par mélange. En effet, Bonnefont et Canellas (2014) ont montré la très forte corrélation ($r = 0,98$) entre la moyenne de quinze valeurs individuelles obtenues suite à une coproscopie quantitative et la moyenne de deux valeurs obtenues après mélange des quinze prélèvements individuels. La coproscopie de mélange est donc un bon moyen pour estimer l'infestation moyenne d'un lot de petits ruminants (Bonnefont, Canellas, 2014).

En pratique, les coproscopies de mélange sont fréquemment utilisées dans les élevages d'ovins, car moins couteuses et plus rapides.

3.2. LA COPROCULTURE

La coproculture est une méthode permettant l'évolution des œufs de strongles digestifs en larves infestantes puis l'identification de celles-ci.

Des prélèvements individuels ou de mélange de matières fécales, contenant des œufs de strongles, sont mis à l'étuve à 24°C pendant dix à quinze jours. Une humidification des échantillons est réalisée tous les deux jours à l'aide d'une pissette d'eau.

Après ce temps d'incubation des œufs, les larves sont extraites des matières fécales selon le protocole suivant (MAFF., 1986) : le pot est sorti de l'étuve, rempli d'eau du robinet jusqu'au bord puis l'ensemble est retourné sur des boîtes de pétri, elle-même remplie d'eau jusqu'aux trois-quarts. Un temps de repos de 24h est laissé, temps pendant lequel les larves L3 présentes dans les fèces migrent dans le liquide de la boîte de pétri, qui est ensuite récupéré à l'aide d'une pipette graduée et mis dans un tube Falcon de 45mL. Ces mêmes opérations sont répétées 24h plus tard, de manière à récupérer une quantité maximale de larves de stade L3.

Puis, les tubes Falcon contenant les larves L3 sont centrifugés (4500 tours par minutes pendant 10 minutes) et deux phases se forment alors : le culot (où se trouvent les L3) et le surnageant. Le culot est ensuite observé entre lame et lamelle au microscope optique, permettant l'identification des L3 de strongles sur des critères morphologiques (cf figure 11).

Cette méthode d'identification peut être réalisée autant chez les ruminants domestiques et sauvages, même si la diagnose morphologique des L3 reste un travail difficile et fastidieux, même pour un parasitologue expérimenté.



Figure 11 : Larve L3 du genre *Nematodirus* spp obtenue après coproculture, observée au microscope optique (x100)

Source : <http://www.wormboss.com.au/sheep-goats/news/articles/tests/larvae-on-pasturea-view-from-the-laboratory.php>

3.3. L'AUTOPSIE

L'autopsie est une méthode fréquemment utilisée pour la mise en évidence de strongles gastro-intestinaux, principalement aux stades adultes, dans la faune sauvage, dont les cervidés (Zaffaroni et al., 2000 ; Lehrter et al., 2016). Chez les ovins, elle est régulièrement pratiquée sur le terrain par les vétérinaires praticiens pour dépister l'haemonchose. En effet, les strongles généralistes de la caillette tels qu'*H. contortus* sont facilement visualisables (présence de grands vers rouges sur la muqueuse abomasale). Il en est de même pour certains strongles de l'intestin grêle comme *Nematodirus* spp. qui sont parfois présents par milliers, notamment chez les agneaux, chez qui des signes d'entérite hémorragique sont parfois associés.

Cependant, certains strongles sont trop petits pour être visibles à l'œil nu (comme *T. circumcincta* ou *T. colubriformis*), expliquant ainsi le manque de sensibilité de cette méthode. De plus, certaines espèces peuvent aussi être très proches morphologiquement (*H. contortus* versus *A. sidemi*) et donc un manque de spécificité de cette méthode est aussi à souligner.

Les différentes lésions observables propres à l'infestation de chaque espèce de strongles chez le chevreuil et les ovins sont exposées dans le paragraphe 2.1.

3.4. LA PCR

La PCR (Polymerase Chain Reaction) peut être utilisée pour mettre en évidence de l'ADN des strongles gastro-intestinaux. Son utilisation pour le diagnostic des infestations par les NGI a été une avancée majeure. En effet, les méthodes présentées précédemment présentent un manque de sensibilité et de spécificité importante dans le diagnostic des différentes espèces de strongles. La coproscopie ne permet d'évaluer qu'une intensité d'excrétion, les œufs de SGI n'étant pas morphologiquement discernables d'un genre à l'autre, tandis que la coproculture et l'autopsie se basent sur des critères morphologiques précis mais difficilement utilisables, même pour un opérateur à l'œil aguerri.

La PCR est une méthode moléculaire qualitative permettant l'amplification *in vitro* d'une séquence d'ADN spécifique. Après extraction de l'ADN, celui-ci est dénaturé à haute température : l'ADN bicaténaire (ou double brin) est déroulé en ADN monocaténaire (ou simple brin). S'en suit une étape d'hybridation où une amorce spécifique de la séquence à amplifier se fixe sur l'extrémité de l'ADN monobrin dénaturé. Puis, à partir de ces amorces, une enzyme ADN polymérase permet l'élongation, par complémentarité des bases, des brins d'ADN cibles. Ce cycle en trois étapes (dénaturation, hybridation puis élongation) est répété plusieurs dizaines de fois ; chaque nouvel ADN bicaténaire obtenu devient une matrice pour le cycle suivant, permettant ainsi une amplification de la séquence d'ADN cible de façon exponentielle (cf figure 12).

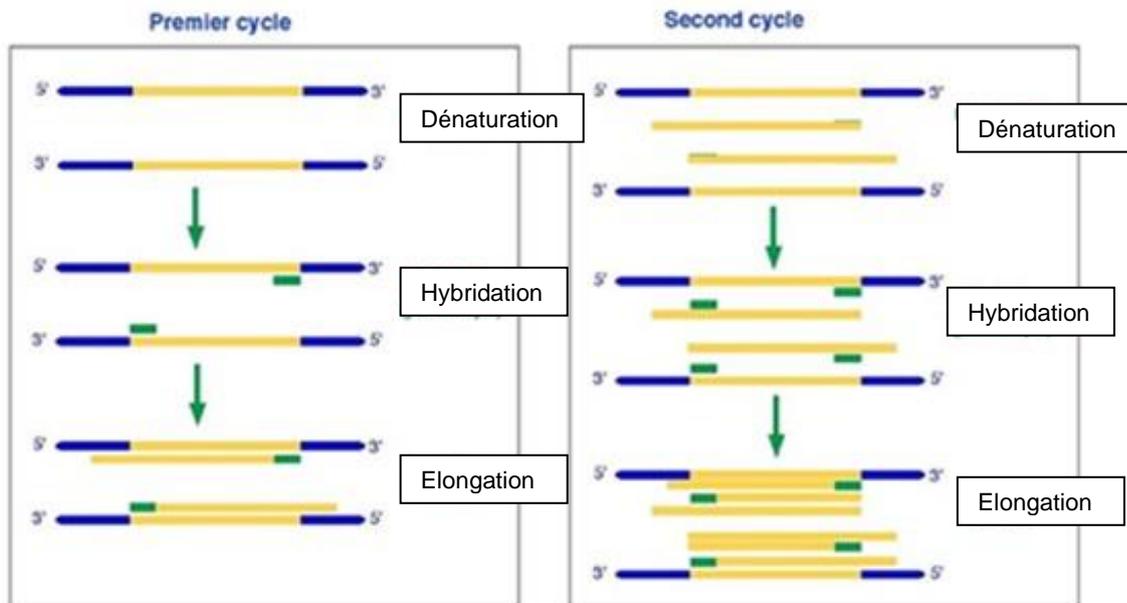


Figure 12 : Schéma explicatif représentant les cycles de PCR

Source : https://wiki.aurea.eu/index.php/La_technique_PCR

Une approche quantitative peut être faite par l'utilisation d'une PCR en temps réel (ou RT-PCR) : elle permet de mesurer la quantité initiale d'ADN présent par suivi de l'intensité de l'amplification de l'ADN en temps réel, à l'aide de fluorescence.

Pour le diagnostic des strongyloses intestinales chez les petits ruminants, la séquence cible utilisée pour différencier les différentes espèces de strongles est le locus ITS-2 (*Internal Transcribed Spacer 2*) présent sur l'ADN ribosomique (noté ADN_r) de toutes les cellules eucaryotes. Pour rappel, l'ADN_r est un opéron formé d'une répétition en tandem de plusieurs domaines, dont l'ITS-2. L'ITS-2 a l'avantage d'avoir un niveau de variation intra-spécifique très faible mais une variation inter-spécifique suffisante pour différencier les espèces de strongles. Ce domaine est, en fait, l'équivalent de l'ADN_r 16s, codant pour la petite sous-unité des ribosomes des procaryotes, qui est très utilisé en phylogénie pour séquencer des communautés bactériennes et réaliser des « microbiomes ». L'ITS-2 et l'ADN_r 16s sont des « metabarcodes » : ce sont des petites régions de l'ADN taxonomiquement informatives et encadrées par deux régions conservées qui permettent l'ancrage des amorces de PCR (Avramenko et al., 2015).

La méthode de RT-PCR permet à la fois d'identifier et de quantifier les larves des principales espèces de strongles présentes dans l'échantillon de fèces (Learmount et al., 2009). C'est une méthode rapide, puisqu'elle peut être réalisée en moins d'une journée (contre plus de dix jours pour la méthode de coproculture traditionnelle), et fortement sensible et spécifique (Roeber et al., 2013).

Il existe également des PCR multiplex qui permettent de mettre en évidence dans une même manipulation les trois principales espèces de strongles des ovins et des caprins (*H. contortus*, *T. circumcincta* et *T. colubriformis*). Cette méthode, mise au point par Roeber et al. (2012) présente une forte sensibilité (100%) et spécificité (87,5%).

Ces méthodes moléculaires de PCR peuvent ainsi être utilisées autant chez les petits ruminants domestiques que chez les ruminants sauvages comme les cervidés. En revanche, malgré sa rapidité d'exécution mais du fait de son coût important, elle reste encore peu utilisée sur le terrain. De plus, un des principaux inconvénients des méthodes de PCR ou de RT-PCR est qu'il faut déjà avoir une idée des parasites présents dans l'échantillon, de manière à choisir correctement les amorces pour amplifier les brins d'ADN cibles (Avramenko et al., 2017).

3.5. LE NEMABIOME

3.5.1. Principe

Une des principales limites des études sur l'helminthofaune des ruminants sauvages et domestiques est la difficulté d'obtenir des informations quantitatives quant à la prévalence du parasite dans l'échantillon de fèces étudié.

En 2015, Avramenko et al. proposent une nouvelle méthode ayant pour but de détecter quantitativement la proportion, dans un échantillon, d'une espèce de parasite avec une grande précision taxonomique. C'est la méthode du « némbiome ». Ce procédé s'appuie sur le séquençage à haut débit du locus ITS-2 de l'ADNr des strongles gastro-intestinaux.

Dans un premier temps, les larves de stade L3 issues de coprocultures de fèces sont isolées et un lysat de leur ADN est préparé. Puis, les fragments ITS-2 de l'ADNr de chaque espèce de strongles sont amplifiés par PCR et séquencés, de façon à créer une librairie de séquençage. Une étape de bio-informatique est ensuite réalisée pour trier les différents ITS-2 séquencés (appelés « reads »). Avramenko et al (2015) ont créé un registre regroupant toutes les séquences ITS-2 des différentes espèces de strongles les plus communes chez les ruminants domestiques. Si aucune correspondance supérieure à 90% n'est retrouvée avec une séquence d'ITS-2 connue, alors le « reads » est supprimé. La prévalence de chaque espèce de strongles est calculée en divisant le nombre de « reads » assigné à chaque espèce au nombre total de « reads » pour l'échantillon étudié.

La méthode du « néмобиome » présente ainsi plusieurs avantages. Le premier est qu'il ne demande aucune hypothèse quant aux différents parasites présents dans l'échantillon, contrairement à la technique de PCR seule : en effet, les amorces utilisées dans la PCR étant spécifiques d'un gène, il faut avoir une idée de l'helminthofaune de l'échantillon en question avant de réaliser la PCR. Le deuxième avantage réside dans le fait que c'est une méthode extrêmement sensible, qui permet de détecter des espèces de strongles avec des prévalences inférieures à 0,1%. Enfin, elle indique des données quantitatives extrêmement précises, permettant ainsi de réaliser des études épidémiologiques beaucoup plus poussées, que ce soit concernant les ruminants domestiques ou les ruminants sauvages (Avramenko et al., 2017).

3.5.2. Etude de cas à partir de l'étude de Barone et al. (2020)

La figure 13 ci-dessous est issue de l'étude de Barone et al. (2020). Chaque barre représente un échantillon de fèces de ruminants sauvages (N = 89). Chaque espèce de SGI est associée à une couleur et suivant la prévalence de l'espèce dans l'échantillon en question, la quantité de couleur dans la barre sera plus ou moins importante. L'axe des abscisses représente le numéro de l'échantillon et l'axe des ordonnées la composition en pourcentage de l'espèce de nématode.

Si on prend l'exemple de l'échantillon n°10 (montré à l'aide des flèches noires), son helminthofaune est variée : 35% des SGI identifiés sont des SGI appartenant à l'espèce *O. venulosum* (couleur grise), 20% des *O. leptospicularis* (couleur rouge), 5% des *O. ostertagi* (couleur orange), 38% des *T. colubriformis* et 2% des *Trichostrongylus* spp. Il est alors très facile de comparer les helminthofaunes de plusieurs échantillons : par exemple, dans les échantillons 67 à 73, il n'a été retrouvé que des individus de l'espèce *O. ostertagi*.

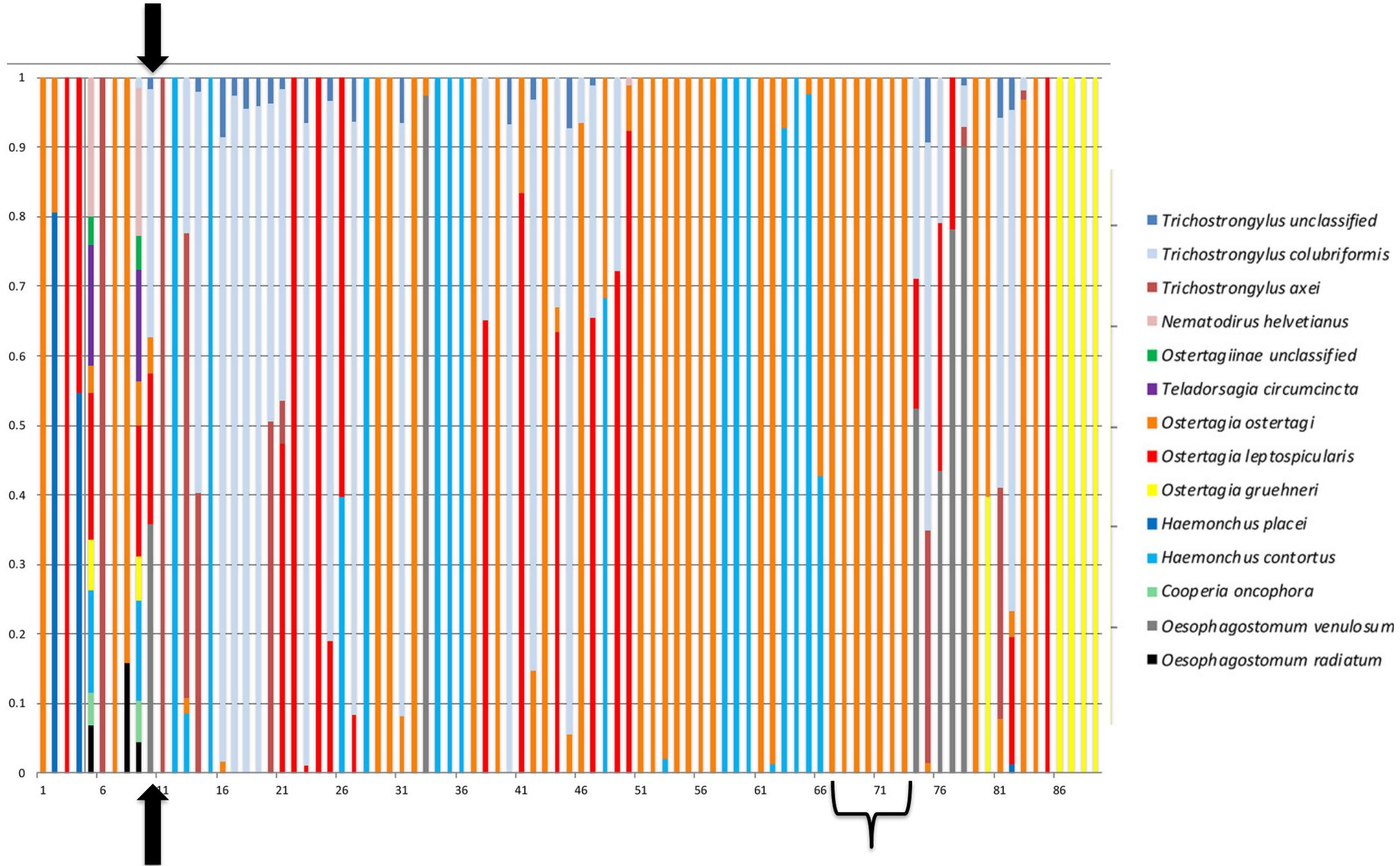


Figure 13: : Fréquence relative des principaux SGI des ruminantes domestiques et sauvages dans 89 échantillons de fèces de ruminants sauvages (Barone et al. 2020)

**PARTIE 2 : LES STRONGLES
GASTRO-INTESTINAUX RÉSISTANTS
AUX ANTIPARASITAIRES CHEZ LES
CHEVREUILS ET LES OVINS**

1. GENERALITES SUR LES RESISTANCES AUX ANTHELMINTHIQUES RENCONTREES CHEZ LES RUMINANTS

1.1. DEFINITION GENERALE DE LA RESISTANCE AUX ANTIPARASITAIRES

En 2015, l'OMS a défini la résistance aux antiparasitaires (ou chimiorésistance) comme la modification génétique de certains parasites, leur donnant la capacité de résister à des doses d'antiparasitaires normalement efficaces à l'encontre d'une majorité de parasites composant une population normale de la même espèce. Ce phénomène de chimiorésistance est décrit depuis plus de 30 ans.

Il existe différents niveaux de résistance. La résistance simple, qui correspond à une résistance à une seule molécule donnée ; la résistance de famille, pour laquelle des parasites sont résistants à toute une famille de molécules ayant le même mode d'action, et enfin la résistance multiple qui se définit comme une chimiorésistance envers des molécules aux modes d'actions différents (et donc de familles différentes) (Tanguy, 2011).

Malheureusement, de plus en plus de cas de résistances multiples sont évoqués dans le monde. C'est le cas par exemple d'une souche d'*H. contortus* isolée dans une ferme au Kenya, résistante à l'ivermectine (avermectine), au lévamisole (imidazothiazolé), à l'association lévamisole/rafoxide et à l'albendazole (benzimidazole) (Gakuya, Nganga, 2007). Aussi, ces cas de résistances multiples existent également en France, comme l'ont mis en évidence Cazajous et al. (2018) avec une souche d'*H. contortus* résistante à l'ivermectine et au fenbendazole dans un élevage de moutons Tarasconnais des Pyrénées.

De plus, *à priori*, il n'existe pas de réversion possible de la résistance : quand une résistance est installée dans un élevage, il n'y a pas de retour en arrière envisageable. En effet, une étude réalisée sur des pâtures en Australie où des strongles résistants aux benzimidazoles avaient été mis en évidence montre que, malgré l'absence d'utilisation de cette famille de molécules pendant 4 ans, aucune réduction du niveau de résistance n'a pu être observée (Jackson, 1993).

1.2. ETAT DES LIEUX DE LA RESISTANCE DANS LE MONDE

La résistance aux antiparasitaires est un phénomène mondial, même si une prévalence forte est observée dans les pays tropicaux (Amérique du Sud et Afrique) et en Océanie avec l'Australie et la Nouvelle-Zélande.

En Afrique du Sud par exemple, plusieurs élevages de petits ruminants ont dû cesser leur activité car plus aucun traitement antiparasitaire n'était efficace contre *H. contortus* (Gakuya, Nganga, 2007).

En Océanie, quelques chiffres sont alarmants : dans l'ouest de l'Australie par exemple, la prévalence de la résistance contre les benzimidazoles et le lévamisole de *T. circumcincta* est proche de 100%, et celle à l'encontre des avermectines pour la même espèce est estimée à 80% (chiffres qui ont doublés entre 2000 et 2012). Des chiffres similaires existent également en Nouvelle-Zélande (Kaplan, Vidyashankar, 2012).

En Amérique Latine, dans la contrée de Mexico, une forte prévalence de la résistance aux benzimidazoles et aux lactones macrocycliques a été mise en évidence dans des élevages ovins de production de laine, avec des efficacités de traitement allant de 0 à 70%. Etonnamment, aucune résistance contre les imidazothiazolés n'a été prouvée dans cette étude (Santiago-Figueroa et al., 2019).

En Europe, la prévalence de la résistance aux antiparasitaires était, à l'origine, plus basse que dans les autres régions du monde (Kaplan, Vidyashankar, 2012). Cependant, de récentes études montrent que les niveaux de prévalence augmentent, et ce quelle que soit la famille d'antiparasitaires utilisée. Une étude menée au Pays-Bas en 2018 sur trente-quatre élevages ovins montre que plus de 70% d'entre eux présentent une résistance à l'oxfendazole, quasiment 80% sont résistants à l'invermectine et 50% à la moxidectine. Aucune résistance au lévamisole n'a, en revanche, été mise en évidence. Ces chiffres sont inquiétants notamment pour la famille des lactones macrocycliques, où une nette perte d'efficacité a pu être mise en évidence dans la dernière décennie (Ploeger, Everts, 2018). Une étude similaire réalisée en Belgique a aussi mis en évidence l'extension des phénomènes de résistance aux benzimidazoles et aux lactones macrocycliques dans vingt-six élevage d'ovins des Flandres (Claerebout et al., 2020).

De plus, comme le montre l'étude de Rose et al. (2015) sur le continent européen, la résistance aux antiparasitaires est beaucoup plus répandue chez les petits ruminants (chèvres et moutons) que chez les bovins (cf figure 14).

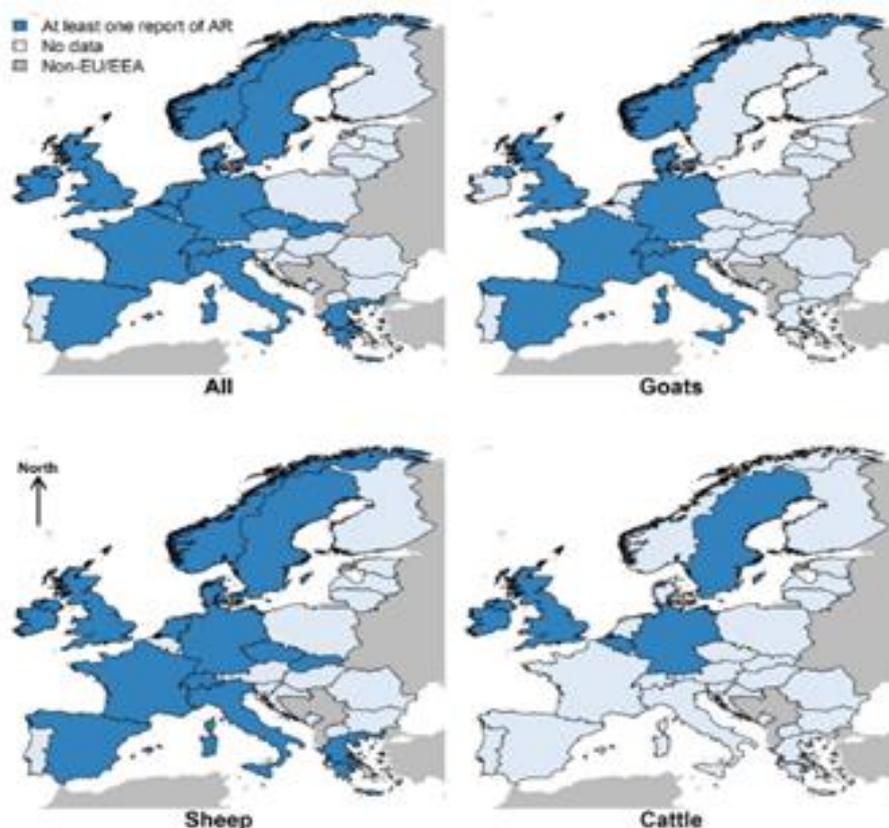


Figure 14 : Cartes donnant la répartition des résistances aux antiparasitaires en Europe chez différentes espèces de ruminants domestiques. Source : (Rose et al., 2015)

Cependant, cette carte n'est plus à jour pour les élevages de bovins. En effet, Geurden et al. (2015) confirment la présence de parasites résistants contre la moxidectine dans trois élevages de bovins en France et un élevage de bovins en Allemagne et en Grande Bretagne. De même, des parasites résistants à l'ivermectine ont été mis en évidence dans ces trois pays. Une étude très récente ne montre aucun cas de résistance aux benzimidazoles dans plusieurs élevages de bovins en France et en Italie. En revanche, un manque d'efficacité de l'ivermectine a été observé dans plusieurs élevages de bovins français (Chartier et al., 2020).

En France, des résistances aux benzimidazoles et au lévamisole dans les élevages de petits ruminants ont été mises en évidence depuis plus d'une vingtaine d'années (Chartier et al., 1998 ; Geurden et al., 2014). Les résistances à l'encontre des lactones macrocycliques sont, elles, plus récentes : elles ont été mises en évidence pour la première fois en 2016, dans deux élevages ovins viandes de la Loire et de l'Allier où des souches de *T. circumcincta* résistantes à la moxidectine et à l'ivermectine ont été isolées (Paraud et al., 2016). Enfin, très récemment, plusieurs cas de résistances multiples aux lactones macrocycliques et aux benzimidazoles ont été mis en évidence dans des élevages de petits ruminants du Sud-Ouest, soulignant ainsi l'importance de modifier nos méthodes de lutte contre les strongles gastro-intestinaux (Cazajous et al., 2018 ; Bordes et al., 2020).

Enfin, les trois principales espèces de strongles gastro-intestinaux responsables de résistances sont les trois espèces les plus fréquemment retrouvées chez les petits ruminants domestiques, à savoir *H. contortus*, *T. circumcincta* et *T. colubriformis*. *Oesophagostomum* spp. et *Chabertia* spp. sont aussi retrouvés dans certaines études à des prévalences plus faibles (Chartier et al., 1998 ; Geurden et al., 2014 ; Ploeger, Everts, 2018).

1.3. MISE EN PLACE DES PHENOMENES DE RESISTANCE DANS UNE POPULATION DONNEE

1.3.1. Mécanisme général de mise en place

Dans une population de parasites donnée, la chimiorésistance se met en place en trois étapes (Prichard, 1990) :

- 1- Il y a une première mutation dans une population de strongles sensibles. Les mutations sont des phénomènes spontanés et aléatoires qui concernent un seul ou quelques individus d'une population (de l'ordre d'un pour un ou plusieurs millions d'individus).
- 2- A la suite d'expositions continues et répétées à une molécule antiparasitaire donnée, il y a une régression des parasites homozygotes sensibles « SS » et, parallèlement, une augmentation progressive du taux d'individus hétérozygotes résistants « RS ».
- 3- Si la pression de sélection contre cette même molécule continue dans le temps, on aura au fur et à mesure la prédominance de parasites homozygotes résistants « RR ».

En outre, d'après McIntyre (2020), deux hypothèses peuvent expliquer l'apparition de mutations engendrant des résistances dans une population de parasites donnée : soit la mutation est en fait déjà présente et, dans ce cas, les strongles qui possèdent le gène sont sélectionnés pendant le traitement, soit la mutation arrive *de novo* à la suite d'une utilisation intensive d'anthelminthique.

D'après Silvestre et Humbert (2002), l'existence d'allèles pré-existants conférant une résistance aux benzimidazoles dans les populations de strongles, avant même l'utilisation d'antiparasitaires pour la première fois dans l'élevage, est l'hypothèse principale. En effet, ils ont mis en évidence la présence des mêmes allèles de résistance aux benzimidazoles (nommés « R-BZ » dans la suite) chez plusieurs populations de *T. circumcincta* et d'*H. contortus* issues d'élevages sans aucun lien les uns avec les autres. Ils supposent ainsi que, lorsque l'hôte hébergeant des parasites « R-BZ » est traité avec des benzimidazoles, les seuls parasites qui survivent sont ceux qui hébergent ces allèles de résistance. Ainsi, ces derniers se multiplient et transmettent héréditairement à leur descendance l'allèle de résistance en question et, alors, le pool de parasites « R-BZ » augmente (Silvestre, Humbert, 2002).

La résistance des parasites à l'encontre d'un anthelminthique est donc héritable d'une génération à une autre. Ce phénomène génétique est complexe, et il implique des gènes récessifs, intermédiaires ou dominants suivant la molécule antiparasitaire utilisée, mais également suivant les strongles cibles et parfois même également suivant le genre masculin ou féminin de celui-ci. Par exemple, *T. colubriformis* présente des allèles de résistance au lévamisole récessifs chez la femelle mais dominants chez le mâle. Pour la résistance aux benzimidazoles, il y a souvent au moins deux loci concernés, entraînant ainsi des phénomènes de co-dominance complexe (Dobson et al., 1996).

1.3.2. Familles d'antiparasitaires concernées par des phénomènes résistances

Il existe trois familles d'antiparasitaires majoritairement ciblées par des phénomènes de résistance chez les ruminants domestiques : les benzimidazoles, les imidazothiazolés (lévamisole) et les lactones macrocycliques (ivermectine).

1.3.2.1. Résistance aux benzimidazoles

Les benzimidazoles agissent sur les strongles gastro-intestinaux en inhibant la polymérisation de la β -tubuline en microtubules, constituant majeur de leur cytosquelette. Or, sans la possibilité de constitution de ce dernier, le strongle ne peut pas survivre (Lacey, 1988).

Chez les strongles résistants aux benzimidazoles, on observe une perte de la haute affinité de ces molécules pour la β -tubuline des parasites (Lacey, Gill, 1994). Cette perte d'affinité est expliquée par une mutation ponctuelle sur un codon du gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline des strongles.

1.3.2.1.1 Mutations sur les codons 167 et 200

Souvent, cette mutation concerne le codon en position 200 (TTC>TAC), entraînant une conversion d'une phénylalanine en tyrosine sur l'isotype 1 de la β -tubuline (mutation notée F200Y). Elle a été mise en évidence pour la première fois par Kwa et al (1994), qui a montré la forte corrélation entre la présence de la mutation F200Y et la résistance aux benzimidazoles chez *H. contortus*. Cette mutation ponctuelle F200Y a été retrouvée aussi chez *T. circumcincta* (Elard, Humbert, 1999) et *T. colubriformis* (Hinney et al., 2020). C'est une mutation récessive car il n'y a que les individus homozygotes pour la mutation F200Y qui sont effectivement résistants aux benzimidazoles (Tiwari et al., 2006). Enfin, c'est la mutation la plus fréquemment mise en évidence dans les études sur la résistance aux benzimidazoles chez les SGI (Redman et al., 2015 ; Hinney et al., 2020).

Une mutation sur le codon en position 167 (TTC>TAC) du gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline a été mis en évidence sur des souches de strongles résistants aux benzimidazoles. Cette mutation implique également, comme pour la mutation F200Y, la conversion d'une phénylalanine en tyrosine sur la protéine de l'isotype 1 de la β -tubuline et est notée F167Y (Silvestre et al., 2002).

1.3.2.1.2. Mutations sur le codon 198

Ghisi et al. (2007) mettent en évidence des souches d'*H. contortus* résistantes aux benzimidazoles dont la mutation sur la chaîne nucléotidique concerne le codon 198 (**GAA>GCA**), avec la conversion d'un acide aminé glutamate en alanine (mutation notée E198A) de l'isotype 1 de la β -tubuline. Les mutations F200Y et E198A ne se retrouvent pas chez les souches d'*H. contortus* sensibles, prouvant ainsi leur implication dans la résistance aux benzimidazoles chez ce nématode.

D'autres études ont par la suite montré un polymorphisme important concernant les mutations sur le codon 198. Redman et al. (2015) mettent en évidence la mutation de deux nucléotides sur le codon 198 (**GAA>TTA**) chez *T. circumcincta*, impliquant la conversion du glutamate en leucine sur la protéine de l'isotype 1 de la β -tubuline (mutation notée E198L). La forte prévalence de cette mutation dans une des fermes étudiées suppose l'implication de cette mutation dans la résistance aux benzimidazoles chez les SGI.

Puis, l'utilisation du séquençage à haut débit par Avramenko et al. (2019) a permis de détecter pour la première fois la mutation E198L chez *H. contortus* et *T. axei* ainsi qu'une nouvelle mutation d'un nucléotide sur le codon 198 (**GAA>GTA**) entraînant la conversion du glutamate en valine sur la protéine de l'isotype 1 de la β -tubuline (mutation notée E198V).

Enfin, une très récente étude a mis en évidence trois nouvelles mutations sur le codon 198 d'*H. contortus*, pouvant potentiellement être impliquées dans la résistance aux benzimidazoles chez les SGI. Il s'agit de la mutation E198K (**GAA>AAA**), à l'origine d'une conversion de la glutamine en lysine sur la protéine de l'isotype 1 de la β -tubuline, la mutation E198I (**GAA>ATA**) avec une conversion de la glutamine en isoleucine et enfin la mutation E198STOP (**GAA>TAA**) avec une conversion du codon 198 en codon stop. L'étude a aussi approuvée l'implication de la mutation E198L dans les phénomènes de résistance aux benzimidazoles chez *H. contortus* : en effet, dans la population étudiée, la prévalence de la mutation a augmenté suite à un traitement avec de l'albendazole (respectivement 82 et 100%) (Mohammedsalih et al. 2020).

La figure 15 ci-dessous résume les différentes mutations du codon 198 du gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline découvertes à ce jour chez les SGI. Les différentes couleurs correspondent à leur implication ou non dans les phénomènes de résistance aux benzimidazoles chez les SGI. En vert, le codon à l'origine d'une sensibilité aux benzimidazoles chez les SGI. En rouge, ce sont les mutations impliquées dans la résistance aux benzimidazoles chez les SGI. En orange, les mutations impliquées dans la résistance aux benzimidazoles chez des champignons et ainsi supposées impliquées chez les SGI et où de nouvelles études sont indispensables pour le confirmer ou non. En jaune, une mutation supposée impliquée dans la résistance aux benzimidazoles (E198I) du fait des caractères biologiques similaires de l'isoleucine avec les autres acides aminés impliqués dans la résistance aux benzimidazoles. Enfin, en blanc, la mutation permettant la conversion de la glutamine en codon stop et dont Khalid et al. restent très prudents quant à son implication dans la résistance aux benzimidazoles chez les SGI. Les différentes flèches montrent les possibles transitions entre les différentes mutations.

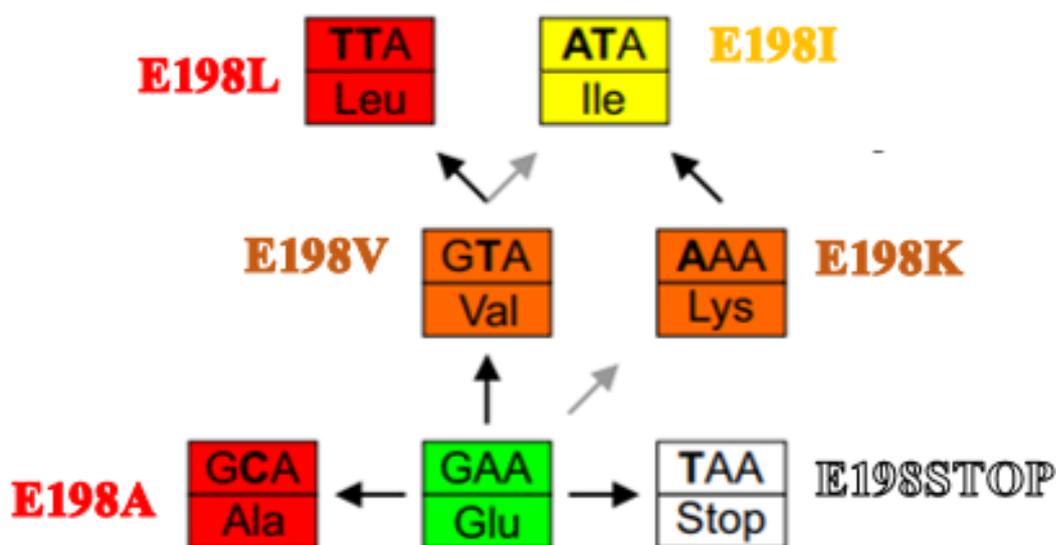


Figure 15 : Les différentes mutations du codon 198 du gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline connues à ce jour chez les SGI et leurs possibles connections. Adaptée de Mohammedsalih et al. (2020).

Enfin, il est possible que toutes les mutations concernant le codon 198 n'ont pas encore été découvertes. Par exemple, la mutation E198G ($GAA > GGG$) à l'origine d'une conversion de la glutamine en glycine sur la protéine de l'isotype 1 de la β -tubuline n'a pour l'instant été mise en évidence que chez des souches de champignon (*Botrytis cinerea*) connues pour leur résistance importante aux benzimidazoles (Ziogas et al., 2009).

En conclusion, à l'heure actuelle, ce sont principalement trois mutations ponctuelles d'un codon du gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline impliquées dans la résistance aux benzimidazoles qui ont été mises en évidence : F200Y, E198A et F167Y. Il est important de noter aussi qu'aucun double mutant n'a, pour le moment, été mis en évidence et donc qu'une seule de ces mutations suffit à prouver que la souche étudiée est résistante aux benzimidazoles (Von Samson-Himmelstjerna et al., 2007).

1.3.2.2. Résistance au lévamisole (imidazothiazolés)

Le lévamisole entraîne une paralysie des vers mais sans lyse du nématode associée. Il a une action cholinomimétique (c'est un agoniste de l'acétylcholine) : les muscles des parasites se contractent, ils ne peuvent donc plus se nourrir, ce qui entraîne leur mort à moyen terme.

Les mécanismes à l'origine de la résistance sont moins bien connus que pour les benzimidazoles. Cependant, Barrère et al. (2014) ont montré que la résistance au lévamisole aurait pour origine une délétion de 63 paires de bases au niveau du gène codant pour la sous-unité α du récepteur nicotinique à l'acétylcholine.

1.3.2.3. Résistance à l'encontre des lactones macrocycliques

Les lactones macrocycliques se fixent sur les récepteurs au glutamate des canaux chlorures des synapses neuromusculaires des strongles, provoquant ainsi une paralysie des muscles du pharynx : ils ne peuvent plus se nourrir et meurent. Les lactones macrocycliques provoquent également une paralysie du muscle ovojecteur des vers femelles.

Tout comme leur mode d'action, les mécanismes de résistance restent assez peu connus. Cette résistance proviendrait d'une mutation sur un gène codant pour une P-glycoprotéine d'un récepteur membranaire transportant les molécules d'ivermectine au sein des cellules des strongles (Xu et al., 1998 ; Bartley et al., 2009).

1.3.3. Facteurs de risque à l'origine de résistance

Il y a plusieurs facteurs de risque favorisant l'apparition de résistances aux anthelminthiques chez les strongles gastro-intestinaux dans un troupeau de ruminants domestiques.

1.3.3.1. La fréquence d'utilisation des anthelminthiques

Dorny et al. (1994) ont mis en évidence que la présence d'*H. contortus* résistants aux benzimidazoles chez des chèvres en Malaisie était associée à une fréquence de traitements importante (sept à douze par an). En effet, lorsque la fréquence de traitement est trop élevée, l'intervalle entre deux traitements se rapproche de la période prépatente des parasites, c'est-à-dire la période entre l'ingestion de larves infestantes par l'hôte et la production d'oeufs par les femelles (elle est de trois semaines chez *H. contortus* et *T. circumcincta*). A la suite d'un premier traitement anthelminthique, tous les strongles sensibles sont éliminés et il ne reste ainsi que des strongles résistants. Si un second traitement est réalisé trop tôt (donc autour de trois semaines après le premier traitement), les seuls parasites présents seront encore des strongles résistants : ils vont pouvoir se multiplier, et sans aucun parasite sensible, le taux de résistance augmente rapidement. Plus on augmente le nombre de traitements et plus le taux de résistance augmente vite (Jackson, 1993 ; Dorny et al., 1994 ; Barnes et al., 1995). A partir d'un certain niveau de résistance, les traitements antiparasitaires qui suivent ne font qu'augmenter de façon exponentielle le taux de résistance dans la population étudiée (Graef et al., 2013).

Au-delà d'une fréquence d'utilisation trop importante, c'est également l'usage répétée d'une même molécule à de fortes fréquences sur de courtes périodes ou à de faibles fréquences sur plusieurs années qui pose des difficultés (Shalaby, 2013). Cela fut démontré dans dix-huit fermes de chèvres laitières du Sud-Ouest de la France, où des strongles résistants aux benzimidazoles furent mis en évidence alors que la fréquence de traitement était assez faible (2,5 traitements en moyenne sur l'année) mais que la même famille de molécules était utilisée (benzimidazoles) depuis plusieurs années (Chartier et al., 2001).

1.3.3.2. Erreurs de dosage

Smith et al. (1999) définissent trois problèmes liés au mauvais dosage d'anthelminthiques entraînant des résistances : un sous-dosage d'antiparasitaire très important, un léger sous-dosage ou un surdosage important.

1.3.3.2.1. Sous-dosage

Le sous dosage est défini comme étant une administration d'antiparasitaire en deçà des doses recommandées par le laboratoire.

Ainsi, un sous dosage très important est une dose insuffisante pour éliminer les parasites homozygotes sensibles « SS ». Dans ce cas, il n'y a donc pas de sélection de résistance puisqu'aucun parasite n'est éliminé.

Dans le cas où un léger sous-dosage d'un anthelminthique serait réalisé, tous les parasites homozygotes sensibles « SS » sont détruits, ceux qui sont hétérozygotes « RS » sont éliminés partiellement mais aucun nématode homozygote résistant « RR » n'est supprimé. C'est une dose dangereuse s'il y a initialement peu de résistance dans la population avec une forte proportion de parasites « SS » : en effet, dans ce cas, le rapport "RS"/"SS" est faible au départ et, suite à l'élimination des parasites « SS » le rapport augmente drastiquement avec la pression de sélection et donc le taux de résistance dans la population aussi.

Dans la pratique, ces erreurs de sous-dosage peuvent provenir d'une erreur technique (mauvais réglage du pistolet drogueur par exemple) ou d'une mauvaise estimation du poids de l'animal (il y a rarement des pesées individuelles en élevage de petits ruminants).

De plus, on observe souvent des erreurs de sous-dosage chez les caprins : en effet, la quantité d'antiparasitaire administrée est souvent identique à celle des ovins alors que les chèvres ont un métabolisme différent de celui des moutons. Pour exemple, le pic plasmatique d'oxfendazole est réduit de moitié chez la chèvre par rapport aux ovins, obligeant ainsi à traiter les chèvres avec une dose double par rapport à celle administrée aux moutons (Sangster et al., 1991 ; Dorny et al., 1994).

Enfin, les problèmes de sous-dosage peuvent aussi venir de la formulation des antiparasitaires utilisés, notamment lors de présentations en *pour-on*. Bousquet-Melou et al. (2011) ont réalisé l'étude suivante : sur un lot de dix vaches, quatre ont été traitées avec de l'ivermectine *pour-on* tandis que les six autres n'ont reçu aucun traitement anthelminthique. Des analyses sanguines réalisées 40 jours après traitement ont montré que les six bovins non traités avaient des concentrations d'ivermectine dans le sang équivalentes à 10 à 20% des doses d'ivermectine maximales efficaces. En fait, 58 à 87% des anthelminthiques administrés en *pour-on* chez les vaches sont léchés par les congénères. Ainsi, il en résulte une sous-exposition des strongles chez des bovins non traités mais ayant accès à des congénères traités, favorisant ainsi l'émergence de résistance (Sutherland, Leathwick, 2011 ; Bousquet-Mélou et al., 2011 ; Bousquet-Melou, 2012).

1.3.3.2.2. Sur-dosage

Le surdosage est défini comme étant une administration d'antiparasitaire au dessus des doses recommandées par le laboratoire.

En cas de surdosage important, la dose d'antiparasitaire administrée est suffisante pour éliminer tous les parasites homozygotes sensibles « SS » et hétérozygotes « RS » mais elle ne détruit que partiellement les strongles homozygotes résistants « RR ». Dans ce cas, la sélection de résistance se fera rapidement si la fréquence d'allèle « R » dans la population est initialement élevée. La dose d'anthelminthique la plus dangereuse dépend donc du taux de résistance initiale dans la population de strongles étudiée (Smith et al., 1999).

Ainsi, en pratique, on pourrait penser que surdoser la quantité d'antiparasitaire administrée pourrait retarder l'apparition de résistance dans un troupeau. Cependant, en plus du coût important engendré et des problèmes de résidus tissulaires induits (Jackson, 1993), le surdosage entraîne l'apparition de parasites homozygotes « RR ».

1.3.3.3. Introduction d'animaux porteurs de strongles résistants

Des cas d'introduction d'animaux porteurs de strongles résistants dans un troupeau sensible ont été décrits dans la littérature. C'est le cas par exemple en Suisse, où des chèvres provenant d'Afrique du Sud ont été introduites sans quarantaine ou traitement anthelminthique préalable dans un élevage de chèvres laitières. Ces caprins importés étaient en fait porteurs d'*H. contortus* multi-résistants au mébendazole, à l'ivermectine et à la moxidectine (Schnyder et al., 2005).

Ce cas souligne l'importance de la mise en place d'une quarantaine, pas uniquement pour prévenir de maladies exotiques, mais aussi pour éviter ces phénomènes d'introduction de résistance, de plus en plus communs de nos jours.

1.3.3.4. Notion de refuge et climat

La notion de « refuge » se définit par une proportion de parasites qui échappent à l'action des antiparasitaires. Ils sont présents dans des pâturages sous forme principalement d'œufs ou de larves infestantes, ou chez des hôtes, et ils permettent de maintenir une population de parasites sensibles car non soumis à une pression thérapeutique (Greer et al., 2020). Ces refuges jouent très certainement un rôle beaucoup plus important dans la résistance aux antiparasitaires que ce qui était initialement suggéré (Van Wyk, 2001).

Le climat serait un facteur de risque non négligeable à l'apparition de résistance. En effet, Rose et al. (2015) ont étudié l'impact des contraintes environnementales sur le développement de résistances dans une population de strongles, par la comparaison de différentes études. Ils ont alors montré que l'utilisation de traitements antiparasitaires pendant des périodes très froides ou très chaudes augmente significativement les risques de développement de résistance. En effet, pendant ces périodes aux conditions climatiques extrêmes, la population « refuge » de SGI est plus petite. Or, si des gènes de résistance sont présents dans cette population « refuge », l'utilisation d'antiparasitaires augmente la pression de sélection déjà importante et ainsi, le taux de résistance dans la population va s'accroître plus rapidement.

1.3.4. Conséquences de la résistance aux antiparasitaires sur l'élevage

1.3.4.1. Sur les animaux

Miller et al. (2012) ont réalisé une étude pour déterminer le coût engendré par la présence de parasites résistants dans un élevage de moutons, avec la production d'agneaux. Ils ont montré que les agneaux qui hébergent des strongles résistants présentent des signes de strongylose subclinique avec une note d'état corporel légèrement plus faible, des souillures fécales un peu plus importantes et, en moyenne, des carcasses en fin d'engraissement avec un poids réduit de 10%. De plus, pour que 50% des agneaux atteignent 38 kg (poids auquel ils sont généralement abattus au bout de 5 mois d'engraissement), il faut, en moyenne, dix-sept jours de plus pour les agneaux parasités par des strongles résistants, soit 10% de temps en plus et un coût de production d'environ 12\$NZ en plus par agneau et donc des pertes économiques accumulées importantes.

Cependant, toutes ces conséquences ne sont visibles dans cette étude que par la comparaison de groupes d'agneaux hébergeant ou non des strongles résistants contre la molécule utilisée. En effet, sortis du contexte de l'étude, les agneaux avec des strongles résistants paraissent globalement en bonne santé. Ainsi, dans l'esprit des éleveurs, la présence de résistances aux antiparasitaires dans leur élevage serait visualisable par la dépréciation importante des agneaux ou par une diminution drastique de leur performance (notamment du gain moyen quotidien), ce qui n'est en fait pas le cas puisque les modifications et les conséquences cliniques engendrées sont frustrées. La mise en évidence de strongles résistants ne peut pas se faire uniquement sur l'observation de ces signes subcliniques (Miller et al., 2012).

1.3.4.2. Sur les pratiques d'élevage

Du fait de l'augmentation constante de la prévalence d'élevages touchés par des multirésistances aux anthelminthiques, des programmes de lutte ont été redéfinis. Si l'on prend en compte les facteurs de risques cités plus haut, il est ainsi conseillé d'alterner les familles d'antiparasitaires (inutile d'alterner entre des molécules d'une même famille car la résistance est portée pour une famille d'anthelminthique dans sa globalité) et de traiter les animaux avec des doses adaptées et éviter ainsi les sous dosages. De plus, lors de l'introduction de nouveaux animaux, il est fortement conseillé de les traiter avant de les introduire dans le cheptel et de réaliser des examens coproscopiques pour vérifier l'efficacité de l'anthelminthique utilisé (Kaplan, Vidyashankar, 2012).

En outre, il est aussi possible de réaliser des traitements sélectifs plutôt que des traitements systématiques. Barnes et al. (1995) ont montré que le traitement sélectif de 80% d'un cheptel d'ovins permet de retarder l'apparition de résistance de cinq ans.

On peut aussi choisir de ne traiter que les animaux cliniquement touchés, en s'appuyant par exemple sur la méthode FAMACHA qui permet d'évaluer la couleur des muqueuses et ainsi l'importance de l'infestation par des strongles hématophages comme *H. contortus*.

2. MISE EN EVIDENCE DE LA RESISTANCE AUX ANTIPARASITAIRES CHEZ LES RUMINANTS DOMESTIQUES

2.1. IMPORTANCE DE TESTS PERMETTANT DE DIAGNOSTIQUER LES PHENOMENES DE RESISTANCE

Il est important d'avoir des tests qui permettent de détecter des taux de résistance assez bas, de manière à mettre en place des actions rapides et retarder au maximum l'augmentation de la prévalence de strongles résistants (Graef et al., 2013).

De plus, comme nous l'avons indiqué plus haut (cf paragraphe 1.3.4.1.), on ne peut pas établir que des strongles résistants sont présents dans un élevage en se basant uniquement sur la présence de signes cliniques, car d'une part ils sont extrêmement frustrés et souvent absents, et d'autre part certaines maladies peuvent induire les mêmes signes cliniques que ceux provoqués par un parasitisme important (Verma et al., 2018). Il est donc primordial d'avoir des tests à disposition nous permettant de mettre en évidence ces phénomènes de résistance aux anthelminthiques.

Enfin, il est de notre devoir en tant que vétérinaires de détecter la présence de résistances dans les cheptels dont nous sommes vétérinaires sanitaires. En effet, le Code de déontologie vétérinaire dans ses dernières modifications stipule dans l'article R.242-46 : « (...) le vétérinaire (...) veille à une utilisation prudente et raisonnée des agents antimicrobiens et antiparasitaires afin de limiter le risque d'apparition d'une résistance ». En effet, notre rôle est d'orienter l'éleveur vers une utilisation raisonnée des antiparasitaires, en alternant les familles et en ne traitant que les animaux qui en ont besoin (Lambertz et al., 2019).

2.2. TESTS *IN VIVO*

2.2.1. Test de contrôle d'efficacité (CET = Controlled Efficacy Test)

C'est le *gold standard* des tests *in vivo*. On peut l'utiliser pour toutes les classes d'antiparasitaires (Coles et al., 2006).

Le principe de ce test est le suivant : deux groupes d'animaux sont constitués et infestés expérimentalement avec des larves de stade L3 infestantes de la population de parasite étudiée. Un des deux groupes est traité avec l'anthelminthique de notre choix. Il est conseillé d'infester les animaux avec des larves L3 d'une seule espèce de strongle (Taylor et al., 2002). A la fin de la période prépatente, les animaux sont abattus et un comptage du nombre de vers présents dans le tube digestif est effectué. Le pourcentage d'efficacité de la molécule utilisée est alors déterminé en comparant le nombre de vers présents chez les animaux non traités avec le nombre de vers qui ont survécu au traitement pour le groupe traité. La présence de résistance est confirmée lorsque que la réduction du nombre de vers est inférieure à 90% ou si plus de mille vers adultes sont encore présents après traitement (Graef et al., 2013).

Ce test est très peu utilisé car il est très coûteux en termes de temps, de main d'œuvre et en nombre d'animaux autopsiés (engendrant ainsi des problèmes éthiques), même s'il reste malgré tout le test le plus fiable pour l'évaluation de l'efficacité anthelminthique (Taylor et al., 2002).

2.2.2. Test de réduction de l'intensité d'excrétion d'œufs dans les matières fécales (FECRT = *Fecal Egg Count Reduction Test**)

*traduction anglaise, expression utilisée dans la rédaction

2.2.2.1. Principe du FECRT

Ce test permet d'estimer l'efficacité d'un traitement anthelminthique en comparant l'excrétion du nombre d'œufs de strongles gastro-intestinaux avant et après traitement antiparasitaire (Taylor et al., 2002).

Coles et al. (2006) ont standardisé la méthode du FECRT pour les petits ruminants. Il est utilisable pour l'étude de la résistance aux benzimidazoles, imidazothizolés, lactones macrocycliques et monepantel. Deux groupes d'au moins dix animaux sont formés : un groupe traité et un groupe non traité. Il faut de préférence que les animaux soient parasités à un niveau suffisant (c'est-à-dire avec un comptage d'au moins 150 opg). Après détermination précise de leur poids, chaque animal est traité avec la molécule de notre choix. Il faut, dans la mesure du possible, préférentiellement choisir des spécialités sous forme orales ou injectables. Des fèces sont récupérées directement dans le rectum des animaux avant et après traitement, et un comptage du nombre d'œufs présents à ces deux instants sont effectués. Le laps de temps entre les deux prélèvements est molécule-dépendante :

- 3 à 7 jours pour le lévamisole
- 8 à 10 jours pour les benzimidazoles
- 14 à 17 jours pour les lactones macrocycliques

En effet, comme expliqué plus haut, les lactones macrocycliques provoquent une paralysie de certains muscles du parasite, notamment le muscle ovo-éjecteur des femelles. Or, si les prélèvements post-traitement sont réalisés avant 14 jours, il se peut que l'on soit dans la phase de blocage de l'ovo-éjection mais sans pour autant que le parasite soit mort : on aurait donc une surestimation de l'efficacité du traitement car moins d'œufs seront présents en post-traitement (Taylor et al., 2002).

Pour le lévamisole, le problème inverse se pose : n'ayant pas d'action larvicide, si on réalise les prélèvements post-traitement après 7 jours, les larves seront devenues des adultes qui excréteront des œufs. On aura donc une augmentation du nombre d'œufs après traitement et donc une sous-estimation de l'efficacité anthelminthique.

Même si la présence d'un groupe témoin est fortement conseillée, car il permet de quantifier le taux de réduction naturelle du nombre d'œuf entre les deux dates de prélèvement, il n'est pas toujours réalisé (Taylor et al., 2002). Deux formules peuvent ainsi être utilisées, suivant les études, pour calculer le pourcentage de réduction de l'excrétion d'œuf (Martin, 1989) :

$$\left(1 - \frac{T_2}{NT_2}\right) \times 100$$

$$\left(1 - \frac{T_2}{T_1}\right) \times 100$$

Avec :

- T1 = moyenne du nombre d'opg du groupe d'animaux traité avant traitement
- T2 = moyenne du nombre d'opg du groupe d'animaux traité après traitement
- NT2 = moyenne du nombre d'opg du groupe d'animaux non traité après traitement

Si l'on a une réduction du nombre d'œufs inférieure à 95%, on peut poser l'hypothèse de l'existence d'une résistance à l'anthelminthique étudié. Au contraire, si la réduction du nombre d'œuf est supérieure à 95%, on suppose que l'anthelminthique testé peut continuer à être utilisé dans l'élevage, sous couvert bien évidemment d'une utilisation raisonnée.

Pour les molécules rémanentes (comme par exemple la moxidectine qui présente une rémanence de 35 jours), on peut suspecter une résistance lorsque des œufs sont présents à partir de la moitié de la période de rémanence. En effet, chez les chevaux notamment, une diminution insuffisante du FECRT pendant la période de rémanence semble être la première indication quant à l'apparition de résistance aux lactones macrocycliques (Coles et al., 2006).

Cependant, plusieurs interprétations du FECRT sont possibles en fonction de la formule utilisée (Graef et al., 2013), même si en fait le dénombrement post-traitement fournit à lui seul une indication de l'efficacité anthelminthique (Martin, 1989).

2.2.2.2. Avantages et inconvénients du FECRT

Un des principaux inconvénients du FECRT est son manque de sensibilité : en effet, il y a une réduction suffisante du nombre d'œufs en post-traitement uniquement lorsque la proportion d'individus résistants dans la population étudiée dépasse 50% mais jamais lorsque cette proportion est inférieure à 25% (Martin, 1989). Ce manque de sensibilité du FECRT peut venir d'un manque de sensibilité de la méthode de dénombrement des œufs : en effet, avec une méthode de flottation classique suivi d'un comptage sur lame de MacMaster, le fait d'avoir un nombre d'œuf nul ne signifie pas forcément qu'il n'y a aucun œuf dans les fèces analysées, mais qu'il y a moins de 50 opg (Kaplan, Vidyashankar, 2012).

De plus, un autre biais du test repose sur le fait que le nombre d'œufs n'est pas toujours corrélé au nombre de vers adultes présents (cela est notamment vrai pour *T. colubriformis* chez les ovins et quels que soient les strongles pour les caprins) et cela peut entraîner une mauvaise estimation de l'efficacité de l'anthelminthique utilisé.

Enfin, pour avoir une estimation précise de l'efficacité d'un anthelminthique, il faut que le nombre d'animaux utilisé dans l'étude dans chacun des groupes soit au minimum de dix (Taylor et al., 2002).

En dépit de ces inconvénients, ce test demeure le plus couramment utilisé sur le terrain pour évaluer la résistance chez les petits ruminants (Verma et al., 2018). Cependant, d'après Kaplan et Vidyashankar (2012), le FECRT ne devrait être réalisé que dans des populations où une résistance à un anthelminthique est déjà suspectée, de manière à valider ou non cette hypothèse, et non pas l'utiliser en première intention du fait de son manque de sensibilité.

Une fois que la résistance a été mise en évidence dans le troupeau étudié, des coprocultures peuvent être réalisées pour déterminer les espèces de strongles présents avant et après traitement et qui sont potentiellement responsables de cette résistance (Coles et al., 2006).

2.3. TESTS IN VITRO

2.3.1. Test d'éclosion des oeufs (EHA = Egg Hatch Assay)

Le test d'éclosion des œufs est un test qui permet d'évaluer la proportion d'œufs de strongles qui éclosent ou non sous des concentrations d'anthelminthiques croissantes. Etant donné que seuls les benzimidazoles ont une action ovicide, la molécule de référence pour ce test est le thiabendazole (molécule la plus soluble des benzimidazoles) (Verma et al., 2018). Cette technique a été décrite pour la première fois par Le Jambre (1976).

Des fèces fraîches de petits ruminants sont récupérées (avec *a minima* 100 opg) et les œufs de strongles en sont extraits. Ils sont ensuite mélangés avec des concentrations croissantes de thiabendazole (de 0,01 à 0,5 ug TBZ/mL) puis incubés à 25°C pendant 48°C. Une goutte de lugol est ajoutée à la préparation. Un comptage est ensuite effectué sur au moins 100 œufs ou 100 larves suivant si les œufs ont éclot ou non (Von Samson-Himmelstjerna et al., 2007). On peut ainsi déterminer le pourcentage d'œufs éclos ou non à chaque concentration de thiabendazole et déterminer à l'aide d'une régression linéaire l'ED₅₀ (ou « *egg death* », qui correspond à la concentration de thiabendazole nécessaire pour tuer 50% des œufs) ou, suivant les études, la dose discriminante (ou ED₉₉) qui est défini comme étant la dose qui empêche l'éclosion de 99% des œufs. La dose discriminante a été établie chez les petits ruminants pour *H. contortus*, *T. colubriformis* et *T. circumcincta* à 0,1µg TBZ/mL, c'est-à-dire que tous les œufs qui éclosent à des doses supérieures à celles-ci sont considérés comme résistants (Taylor et al., 2002 ; Coles et al., 2006). Von Samson-Himmelstjerna et al. (2009) ont montré que l'ED₉₉ avait une meilleure sensibilité que l'ED₅₀ pour la détection précoce de résistance.

Pour réaliser ce test, des œufs propres issus de fèces fraîches sont indispensables (Graef et al., 2013). Tout comme le FECRT, le test d'éclosion des œufs présente un manque de sensibilité lorsque la prévalence de la résistance dans la population parasitaire étudiée est inférieure à 25% (Taylor et al., 2002).

Un protocole pour réaliser ce test en présence de lévamisole a été mis au point en 1986 par Dobson et al, s'appuyant sur la faculté des imidazothiazolés à paralyser les strongles à partir des stades larvaires. Les œufs sont alors incubés à 26°C jusqu'à ce qu'ils arrivent au stade de pré-éclosion avec une larve L1 viable, puis ils sont mis en contact avec des concentrations croissantes de lévamisole pendant 6h à 26°C (temps nécessaire pour que 100% des œufs aient éclos en condition normale) (Dobson et al., 1986).

2.3.2. Tests d'inhibition de la mobilité

Il en existe deux : le test d'inhibition de la migration larvaire (ou LMIT = Larval Migration Inhibition Test) et le test de micromotilité (ou MMT = Micromotility Meter Test). Ces tests ont été mis en place pour les anthelminthiques provoquant une paralysie musculaire des strongles : imidazothiazolés et avermectines (Graef et al., 2013).

2.3.2.1. Principes des tests

Pour le LMIT, le principe est le suivant : des larves L3 sont incubées à des concentrations différentes d'antiparasitaires pendant 24h. Puis, elles sont placées dans un tamis pendant 24h : si les L3 sont sensibles à la molécule utilisée, elles sont paralysées et donc restent sur le maillage, contrairement aux larves résistantes qui migrent à travers les pores du tamis. Le contenu de celui-ci est ensuite analysé et le pourcentage de larves n'ayant pas migrées est mesuré. Le test est recommencé 6 à 10 fois pour chaque concentration d'antiparasitaire (Demeler et al., 2010).

Le MMT permet de déterminer quantitativement les mouvements des strongles après une exposition à un anthelminthique, et ainsi de déterminer l'efficacité ou non du traitement. Des strongles adultes sont placés dans un tube à essais et incubés avec des concentrations d'antiparasitaires différentes, puis le tube est mis dans le dispositif schématisé ci contre (cf figure 16) (Folz et al., 1987).

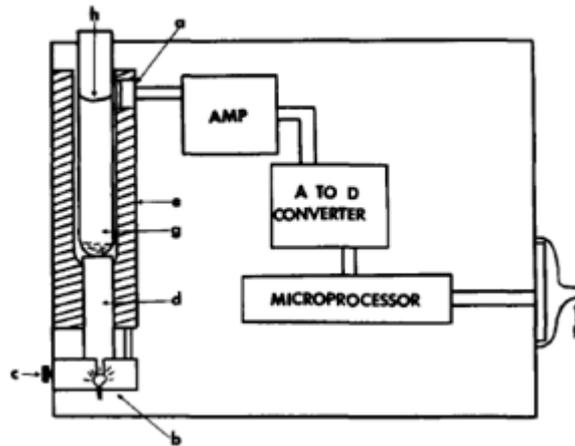


Figure 16 : Dispositif utilisé pour la réalisation du MMT

a = Photoiode ; b = source de lumière ; c = bouton pour ajuster la position du tube ; e = boîtier d'aluminium ; g = tube à tester ; h = ménisque

Source : (Folz et al., 1987)

Une source de lumière est placée à la base du tube à essai contenant les strongles adultes. Des rayons lumineux sont alors projetés à travers le contenu du tube et réfléchis horizontalement au niveau du ménisque. La photodiode permet d'enregistrer la variation des chemins lumineux (suivant si les vers sont paralysés ou non), le signal est ensuite amplifié puis converti. Un index de motilité est alors calculé sur une minute : cet index donne une bonne mesure de la motilité moyenne des vers en fonction de la concentration en antiparasitaire. Plus les strongles sont actifs à une concentration donnée et plus l'indice de motilité est élevé, et donc si tous les vers sont morts l'indice de motilité sera nul. Pour chaque concentration, la mesure est répétée trois fois (Demeler et al., 2010).

Pour les deux tests, une courbe dose-réponse est établie, et la valeur EC_{50} de l'antiparasitaire est déterminée.

2.3.2.2. Avantage et inconvénient de ces méthodes

Ces deux méthodes sont relativement sensibles, rapides et peu chères (Folz et al., 1987). En outre, l'avantage du MMT est l'utilisation de strongles adultes (seul test *in vitro* disponible pour les strongles adultes). On remarque néanmoins que l'EC₅₀ du MMT pour l'ivermectine est largement inférieur à l'EC₅₀ du LMIT pour la même molécule : cela peut être expliqué par une action sur les muscles somatiques beaucoup plus importante sur les adultes que sur les larves L3 (Demeler et al., 2010).

Cependant, ce sont des tests peu répétables car une réversibilité de la paralysie est possible (Taylor et al., 2002). De plus, il faut vérifier que les strongles soient bien vivants avant de réaliser ces tests car aucune différence entre la paralysie et la mort n'est possible (Folz et al., 1987).

2.4. TEST DE DEVELOPPEMENT LARVAIRE (LDA = LARVAL DEVELOPMENT ASSAY)

Ce test repose sur la mesure du potentiel inhibiteur de croissance d'un anthelminthique donné. Des œufs de strongles sont incubés pendant 6 à 8 jours dans un milieu de culture et à différentes concentrations d'antiparasitaires (Graef et al., 2013). On mesure ensuite le pourcentage de larves incomplètement développées par rapport au nombre total d'œufs initialement présents. Un graphique dose-réponse est réalisé, et la valeur EC₅₀ de l'antiparasitaire est déterminée (Demeler et al., 2010).

Un kit commercial, le DrenchRite® kit (Horizon Tech, Australia) utilise cette méthode pour détecter des résistances aux benzimidazoles et au lévamisole chez les chèvres et les moutons. Ce test a été utilisé aussi pour rechercher des résistances à l'ivermectine chez *H. contortus* (Gill et al., 1995). Cependant, il est peu fiable pour déterminer l'EC₅₀ de l'ivermectine (Taylor et al., 2002). De plus, le facteur crucial pour la bonne réalisation de ce test est de se procurer des œufs frais (Graef et al., 2013).

2.5. INTERPRETATION DES RESULTATS DES TESTS *IN VITRO* ET COMPARAISON AVEC LES TESTS *IN VIVO*

Les tests *in vitro* permettent de déterminer l'EC₅₀, concentration d'antiparasitaire à partir de laquelle 50% des parasites sont tués. Plus l'EC₅₀ est élevée, plus la proportion de parasites résistants dans la population parasitaire étudiée est importante. Un des inconvénients de ces tests est qu'il est parfois compliqué de déterminer les EC₅₀ de référence. De plus, les populations parasitaires étudiées sur le terrain sont souvent composées de plusieurs espèces de parasites avec des EC₅₀ différentes tandis que les essais dans les publications portent généralement sur 1 à 3 espèces de strongles (Graef et al., 2013).

Les tests *in vitro* ont pour principal avantage d'être moins coûteux que les tests *in vivo*. De plus, contrairement à ces derniers, aucun animal n'est utilisé pour réaliser ces tests et donc aucune variation liée à l'hôte ne vient entraver les résultats (Graef et al., 2013). Une étude réalisée dans trente élevages de chèvres en Slovaquie entre 2014 et 2016 compare l'efficacité du test *in vivo* FECRT avec plusieurs tests *in vitro* comme l'EHA et le LDT. Les résultats montrent alors une corrélation modérée entre les méthodes *in vitro* et le FECRT (Babják et al., 2018).

Cependant, l'inconvénient le plus important de ces méthodes reste leur manque de sensibilité et de reproductibilité pour la détection de résistance dans une population donnée (Roeber et al., 2013).

2.6. TEST MOLECULAIRES

2.6.1. PCR allèle spécifique

Il y a une vingtaine d'année, un outil moléculaire basé sur l'utilisation de la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pour détecter la résistance aux benzimidazoles a vu le jour : il s'appuie sur le géotypage des parasites (adultes et larves) présents dans une population parasitaire. Trois géotypes sont possibles : homozygote sensible « SS », hétérozygote sensible-résistant « RS » et homozygote résistant « RR » (Elard et al., 1999). Ces tests ne sont réalisables que pour la famille des benzimidazoles : en effet, ils reposent sur la connaissance des mutations ponctuelles d'un codon du gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline (F200Y, E198A et F167Y) conférant une résistance aux benzimidazoles chez *H. contortus*, *T. colubriformis* et *T. circumcincta* (Kwa et al., 1994).

La PCR réalisée pour la détection de résistance est une PCR allèle spécifique (AS-PCR) : elle permet l'amplification spécifique des allèles de résistance pour le gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline.

Après extraction de l'ADN, deux réactions PCR sont réalisées avec deux groupes d'amorces différentes (2 x 2 amorces). Chacun des deux groupes d'amorces est constitué :

- D'une amorce complémentaire à tous les allèles, qu'ils soient résistants ou sensibles, du gène de l'isotype 1 de la β -tubuline. Cette amorce est donc identique dans les deux groupes d'amorces ;

- D'une amorce spécifique soit de l'allèle résistant avec la mutation sur le codon 167, 198 ou 200 ; soit de l'allèle sensible (donc sans mutation).

Deux types d'amplicons sont alors issus de l'AS-PCR : soit un amplicon spécifique de l'allèle sensible, soit un amplicon spécifique de l'allèle résistant. Ces deux amplicons ne sont pas de même taille. Ainsi, grâce à une électrophorèse sur gel, on peut déterminer quels types de fragments ont été amplifiés et donc quel(s) génotype(s) sont présent(s) dans la population parasitaire étudiée. En effet, l'amplicon le plus lourd sera celui qui migrera le moins loin et, à l'inverse, l'amplicon le plus léger sera celui qui migrera le plus loin. La figure 17 ci-dessous est un exemple d'électrophorèse sur gel, issue de l'étude de Tiwari et al (2006). Dans cette étude, les amplicons de 267 paires de bases (notée pb) sont issus de l'allèle de résistance du gène de l'isotype 1 de la β -tubuline portant la mutation F200Y et les amplicons de 266 pb sont issus de l'allèle sensible du gène de l'isotype 1 de la β -tubuline. Ainsi, trois génotypes sont observés dans cette population parasitaire : les parasites hétérozygotes RS où les deux types amplicons ont été amplifiés (ex = puit n°1), les parasites homozygotes sensibles SS où seuls les amplicons de l'allèle sensible ont été amplifiés (ex = puit n°11) et les parasites homozygotes résistants RR où seuls les amplicons de l'allèle résistant avec la mutation F200Y ont été amplifiés (ex = puit n°4).

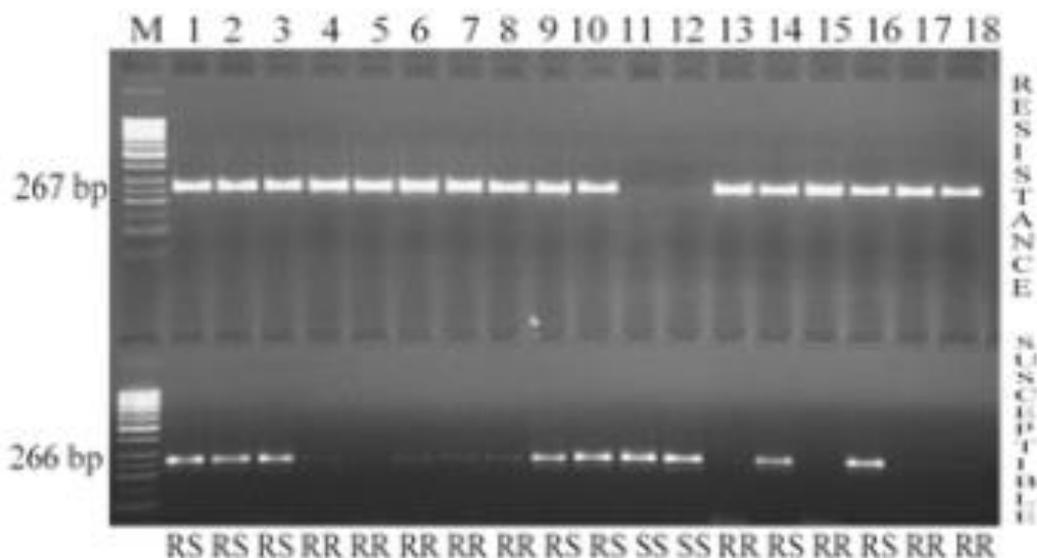


Figure 17 : Electrophorèse sur gel à la suite d'une AS-PCR du gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline dans une population d'*H. contortus*.

Source : (Tiwari et al. 2006)

D'autres techniques d'AS-PCR sont décrites dans la bibliographie (Silvestre et al, 2002 ; Coles et al., 2006 ; Ghisi et al., 2007).

2.6.2. PCR en temps réel (RT-PCR)

Une PCR en temps réel (ou RT-PCR) a également été mise au point par Alvarez-Sánchez et al. en 2005, et permet de mesurer la prévalence d'un allèle de résistance présent dans la population étudiée.

Après extraction de l'ADN parasitaire, deux AS-PCR sont réalisées en parallèle (une pour l'allèle sensible et une pour l'allèle résistant), comme expliqué dans le paragraphe 2.6.1. La différence est, qu'en plus des amorces spécifiques de l'allèle résistant ou sensible, des sondes fluorescentes qui reconnaissent spécifiquement les séquences cibles se fixent à l'ADN bicaténaire lors de la réaction PCR. Un seuil de fluorescence est établi et lorsque la quantité d'amplicons dépasse ce seuil, on obtient un numéro de cycle PCR appelé « Ct » (pour « Threshold Cycle »). Plus l'allèle est fréquent dans la population étudiée, plus le seuil est atteint tôt dans le cycle PCR et donc plus le « Ct » est bas. La différence de Ct (Δ Ct) entre les deux réactions PCR permet de déterminer la fréquence des allèles sensible et résistant.

La RT-PCR est une méthode sensible, hautement reproductible et surtout rapide avec un gain de temps important comparé à l'AS-PCR seule, puisqu'aucune électrophorèse n'est réalisée après amplification des fragments (Álvarez-Sánchez et al., 2005).

Cependant, en cas de « Ct » élevée et donc de fréquences alléliques basses, l'interprétation des résultats peut être difficile (Avramenko et al., 2019).

2.6.3. Comparaison des tests moléculaires avec les tests *in vivo* et *in vitro*

Un des principaux avantages de l'AS-PCR est qu'elle permet de donner la proportion de parasites résistants dans la population étudiée, chose que ne font pas les autres tests. En effet, l'EHA et le FECRT donnent uniquement une estimation de l'efficacité d'un traitement anthelminthique et donc par extrapolation une estimation de la résistance présente (Silvestre, Humbert, 2002).

De plus, comme dit plus haut, l'EHA et le FECRT sont des techniques avec une sensibilité moyenne (impossible de détecter des résistances si la prévalence dans la population étudiée est strictement inférieure à 25%) (Humbert et al., 2001). Or, ce n'est pas le cas avec l'AS-PCR : en effet, Elard et al. (1999) ont montré que, pour détecter une faible prévalence de résistance de 4% avec les méthodes moléculaires, il faut une population de seulement 100 parasites (nombre rapidement atteint quand on sait que les femelles d'*H. contortus* peuvent pondre des milliers d'œufs par jour). Le FECRT désigne parfois des populations comme sensibles (aucun œuf présent 14 jours post traitement) alors que 18% des individus sont génotypés hétérozygotes « RS » et 3% « RR » (Elard et al., 1999). Le réel avantage de l'AS-PCR est donc de pouvoir détecter rapidement des mutants homozygotes résistants « RR » (Graef et al., 2013).

En fait, l'idéal serait d'associer les tests moléculaires et les tests *in vivo*, de manière à combiner les informations quant à l'efficacité du traitement avec le génotypage des parasites présents. Cependant, il est parfois compliqué d'expliquer à un éleveur qu'il faut utiliser une autre molécule alors que le FECRT est de 100% mais que l'AS-PCR montre la présence de parasites homozygotes « RR » (Kaplan, Vidyashankar, 2012).

En dépit des avancées des méthodes moléculaires pour la détection de résistance, il n'existe encore malheureusement aucun test utilisable en pratique sur le terrain pour déceler des résistances multiples dans une population avec des espèces différentes de strongles chez les petits ruminants (Roeber et al., 2013).

2.6.4. Séquençage à haut débit

En 2019, Avramenko et al. ont développé une méthode de séquençage à haut-débit permettant de détecter et de quantifier les différentes mutations présentes sur le gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline.

Ainsi, ils ont mis au point un ensemble d'amorces qui permettent d'amplifier, lors d'une PCR multiplex, un fragment du gène de l'isotype 1 de la β -tubuline de 300 à 350 pb et qui inclut les codons 167, 198 et 200, chez les principales espèces de strongles des petits ruminants. Après amplification, un séquençage haut-débit des amplicons est effectué, permettant de déterminer les prévalences des différentes mutations présentes sur les codons 167, 198 et 200 dans la population étudiée.

Cette méthode est extrêmement sensible, puisqu'elle permet de détecter des mutations présentes à des fréquences extrêmement faibles (0,1%). Ainsi, c'est un outil très efficace et utilisable pour détecter précocement l'émergence de résistance dans certaines populations parasitaires (Avramenko et al., 2019).

3. LE ROLE POSSIBLE DE LA FAUNE SAUVAGE DANS LA RESISTANCE AUX ANTIPARASITAIRES CHEZ LES RUMINANTS DOMESTIQUES

3.1. LA FAUNE SAUVAGE COMME FACTEUR DE RISQUE DE RESISTANCE

Très peu d'études se sont intéressées aux strongles gastro-intestinaux résistants chez les ongulés sauvages.

Chintoan-Uta et al. (2014) pose d'abord l'hypothèse que les chevreuils pourraient être vecteurs de strongles gastro intestinaux résistants entre différents élevages de ruminants domestiques. En effet, ils supposent que si des parasites résistants sont retrouvés chez les chevreuils alors que ces derniers n'ont jamais été soumis à des traitements anthelminthiques, cela signifierait qu'il y a une possible transmission croisée entre les ovins et les ongulés sauvages et donc que les chevreuils pourraient, par la suite, retransmettre ces parasites résistants aux moutons lors du partage des pâtures.

Leur étude, menée au Royaume Uni en 2014, a permis d'isoler des souches d'*H. contortus* résistants chez des chevreuils (à une fréquence de 64,2%). Des expériences de "cross-infection" sur des bovins et des ovins à partir de strongles résistants isolés des chevreuils ont été réalisé avec succès : ainsi, l'infection de ruminants domestiques à partir de strongles résistants isolés de chevreuils est possible. Cependant, ils concluent que des études supplémentaires sont nécessaires pour vérifier l'hypothèse du chevreuil comme facteur de risque de propagation de la résistance aux antiparasitaires chez les ruminants domestiques.

En 2017, Nagy et al. ont recherché la présence d'*H. contortus* résistants aux benzimidazoles chez les chevreuils et le cerf élaphe (*Cervus elaphus*) dans une région du Sud-Ouest de la Hongrie, où les ressources alimentaires sont en parties partagées avec des moutons. Des individus d'*H. contortus* ont été récupérés dans les caillettes des ongulés sauvages et ont été génotypés par AS-PCR, de manière à déterminer si la mutation F200Y était présente ou non. Leurs résultats ont mis en évidence des individus d'*H. contortus* résistants aux benzimidazoles chez les chevreuils : 54% des parasites ont été génotypés homozygotes « SS », 29% hétérozygotes « RS » et 17% homozygotes « RR ». En parallèle, ils ont montré que 69% des *H. contortus* hébergés par les moutons étaient homozygotes « RR » et uniquement 3% d'homozygotes « SS » : le niveau de résistance était donc relativement élevé dans cette région et peut être expliqué par des traitements aux benzimidazoles très fréquents et sans rotation des molécules anthelminthiques. Cependant, concernant la faune sauvage, aucun traitement ne leur a été administré, rejoignant ainsi les résultats de Chintoan-Uta et al. (2014) : la présence d'*H. contortus* homozygotes « RR » chez les chevreuils souligne la probable infection croisée entre les moutons et les cervidés lors du partage (Nagy et al., 2017).

Deux hypothèses sont alors envisageables : soit les chevreuils, et plus globalement les ongulés sauvages, ont un rôle de réservoir de parasites résistants, et les transmettent aux élevages ovins lors du partage des pâtures, soit au contraire, ils permettent de diluer le nombre de parasites résistants dans les élevages de petits ruminants en apportant des parasites sensibles homozygotes « SS » et jouent alors un rôle de frein à l'extension de la résistance aux antiparasitaires chez les ruminants domestiques.

3.2. LA FAUNE SAUVAGE COMME FACTEUR DE DILUTION DE LA RESISTANCE

La faune sauvage peut être considérée comme hébergeant une population de strongles dite « refuge ».

Les résultats de l'étude de Nagy et al. (2017) exposés dans le paragraphe 3.1 ci-dessus montrent des différences significatives concernant les fréquences des génotypes homozygotes « SS » et homozygotes « RR » chez les chevreuils et les moutons : en effet, on observe que les moutons hébergent trois fois plus de strongles homozygotes résistants que les chevreuils (respectivement 69% et 17%). A l'inverse, les chevreuils sont porteurs de vingt fois plus d'*H. contortus* homozygotes « SS » par rapport aux moutons (respectivement 54% et 3%).

Ainsi, Csivincsik et al. (2017) posent l'hypothèse que les chevreuils permettraient la ré-introduction des parasites homozygotes sensibles dans des élevages où le taux de résistance est important et permettrait ainsi une dilution de la résistance aux anthelminthiques dans ces élevages.

**PARTIE 3 : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE SUR
LES RÉSISTANCES AUX BENZIMIDAZOLES
CHEZ LES STRONGLES GASTRO-
INTESTINAUX ISOLÉS CHEZ LES MOUTONS
ET LES CHEVREUILS DANS LE CANTON
D'AURIGNAC (31)**

CONTEXTE DE L'ETUDE

Les strongles gastro-intestinaux provoquent des pertes de production et des troubles cliniques pouvant entraîner la mort des ovins. Le développement et l'utilisation répétée de molécules antiparasitaires a permis de limiter l'abondance des parasites et ainsi leurs conséquences cliniques et économiques. Cependant, très rapidement des souches de parasites résistants aux traitements, et notamment aux deux principales familles d'antiparasitaires disponibles (benzimidazoles et avermectines) se sont développées avec des niveaux de résistance parfois très élevés et inquiétants pour l'industrie de l'élevage, surtout chez les petits ruminants (Kaplan, Vidyashankar, 2012). Il est nécessaire de revoir notre approche de la maîtrise du parasitisme pour une gestion durable des ongulés domestiques. Pour cela, une meilleure connaissance des interactions entre les parasites (en particulier ceux résistants aux antiparasitaires), leur hôtes (domestiques mais aussi sauvages) et l'environnement est nécessaire.

Dans la région de Midi-Pyrénées, la conduite d'élevage d'ovins est majoritairement extensive, avec un fort pâturage des moutons. Grâce aux observations des éleveurs locaux et du CEFS-INRAE (Comportement et Ecologie de la Faune Sauvage à l'Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement), des chevreuils sont régulièrement aperçus à proximité des pâtures des petits ruminants domestiques. Or, nous savons que le cycle de reproduction des strongles gastro-intestinaux est composé d'une phase parasitaire interne chez l'hôte, et d'une phase externe où des stades larvaires libres dans l'environnement permettent la survie des parasites au long terme. Ainsi, l'association de ces stades de résistance présents dans le milieu extérieur et le possible partage des pâtures entre chevreuils et ovins nous amène à nous poser la question d'une possible transmission de strongles gastro-intestinaux entre les cervidés et les moutons dans le canton d'Aurignac.

La présence de strongles gastro-intestinaux résistants à certaines familles d'antiparasitaires a déjà été mise en évidence dans la région Midi-Pyrénées, suite à l'utilisation importante d'anthelminthiques (Cazajous et al., 2018 ; Bordes et al., 2020). Ainsi, il serait tout à fait possible que les ovins du canton d'Aurignac hébergent des strongles résistants aux antiparasitaires, notamment aux benzimidazoles et que, du fait du partage des pâtures, les chevreuils soient aussi porteurs de ces parasites résistants, bien qu'aucun traitement anthelminthique ne leur soit appliqué.

OBJECTIFS DE L'ETUDE

Dans cette étude, nous avons étudié les échanges de strongles gastro-intestinales entre les chevreuils et les ovins dans le canton d'Aurignac, avec l'étude des helminthofaunes et la recherche de parasites résistants aux benzimidazoles chez ces deux espèces. Cette région a été choisie du fait du suivi de la population de chevreuils (suivi GPS et statut parasitaire) en fonction des activités humaines dans le paysage : occupation du sol (relevé annuel sur le parcellaire) et charge en bétail sur les parcelles pâturées, effectués par le CEFS de l'INRAE depuis de nombreuses années. En outre, ce site offre un gradient d'anthropisation du paysage et des niveaux contrastés de contacts entre les chevreuils et les animaux de rente.

Les objectifs de cette étude sont :

Objectif 1 : Evaluer l'impact des contacts entre ovins domestiques et chevreuils sur la transmission de parasites par l'étude des population parasites (composition) de strongles gastro-intestinales (SGI) chez les ovins domestiques et les chevreuils.

Objectif 2 : Évaluer la transmission de strongles gastro-intestinales (SGI) résistants aux benzimidazoles entre les ovins domestiques et les chevreuils.

Pour répondre à ces objectifs, nous avons sélectionné des élevages d'ovins dans lesquels des analyses coprologiques ont été effectuées afin de connaître leur composition en NGI et d'évaluer les résistances. Puis, des relevés coproscopiques de fèces de chevreuils ont été effectués à proximité et à distance des élevages d'ovins choisis, permettant ainsi d'évaluer l'impact des contacts avec les ovins domestiques sur la composition en parasites et la présence de parasites résistants chez les chevreuils. Pour cela, à partir des suivis par collier GPS des chevreuils réalisés par le CEFS, des domaines vitaux des chevreuils ont été estimés et nous avons ainsi pu déterminer des zones d'échantillonnage correspondant aux deux catégories de populations de chevreuils : celle en contact avec les pâtures des élevages d'ovins sélectionnées et celle hors-contact. Les chevreuils du canton d'Aurignac se trouvant dans un milieu fortement anthropisé avec une présence importante d'élevages d'ongulés domestiques, nous nous attendons à observer une proportion de parasites d'ovins plus importante chez les chevreuils échantillonnés à proximité par rapport à ceux éloignés des élevages.

De plus, du fait des prévalences élevées de résistances observées dans les élevages ovins de la région, nous nous attendons à ce que les chevreuils en contact avec des élevages d'ovins aient une probabilité plus élevée d'héberger des strongles possédant des gènes de résistance aux benzimidazoles que les chevreuils ne vivant pas à proximité des élevages d'ovins.

Pour tester nos hypothèses, trois types d'analyses ont été effectuées sur chacun des échantillons dans cette étude :

- 1- Des coproscopies ont été réalisées, et ont permis de mettre en évidence les grands groupes d'espèces de parasites gastro-intestinaux présents ainsi que leur abondance.
- 2- Après coprocultures et extractions des larves, des némbiomes par séquençage haut-débit des séquences d'ITS-2 des strongles présents ont été effectués, permettant ainsi d'évaluer plus précisément la composition des espèces de NGI chez les chevreuils et les ovins. Les principaux avantages de cette méthode sont une rapidité d'exécution et des très fortes sensibilités et spécificités, comparées à d'autres procédés d'étude comme l'autopsie : les données recueillies sur l'helminthofaune sont extrêmement précises et obtenues uniquement suite à des analyses coprologiques.
- 3- Un séquençage haut débit du gène de l'isotype 1 de la bêta-tubuline des strongles a été réalisé, toujours sur les mêmes échantillons de fèces, dans le but de mettre en évidence la présence ou non de mutations à l'origine de résistance aux benzimidazoles chez les NGI des chevreuils et des ovins.

Les coproscopies et les coprocultures ont été réalisées par nos soins au laboratoire de parasitologie de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT). Les extractions larvaires ont été effectuées au laboratoire de parasitologie de VetAgro Sup. Enfin, les némbiomes par séquençage haut débit des séquences d'ITS-2 et les séquençages haut débit du gène de l'isotype 1 de la bêta tubuline ont été réalisés par Libby Redman et les collaborateurs de l'équipe de John Gilleard à l'université de Calgary au Canada.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE

1.1.1. Aurignac, une zone propice à l'étude des chevreuils

1.1.1.1. Description du paysage du canton d'Aurignac

Les prélèvements de fèces de chevreuils et de moutons de cette étude ont été récupérés sur le canton d'Aurignac, dans le département de la Haute Garonne en région Occitanie. Ce site fait parti de la zone Atelier Pyrénées Garonne rassemblant des recherches multidisciplinaires sur les socio-écosystèmes. Des études sur les populations de chevreuils y sont menées depuis plus de quinze ans par le CEFS de l'INRAE de Toulouse.

Le canton d'Aurignac forme un paysage agricole hétérogène d'environ 12 000 hectares. C'est une région de polyculture-élevage avec de fortes hétérogénéités locales dans l'occupation du sol, le long d'un gradient entre forêt, élevage et grandes cultures. Elle est composée de deux principaux massifs forestiers, Lilhac Fabas (672 ha) et Mauboussin (463 ha) (cf figure n°18). Lilhac Fabas est une forêt mixte, composée à la fois d'arbres feuillus (comme les chênes et les charmes communs) et de conifères (préférentiellement des pins). A l'inverse, le massif de Mauboussin est constitué uniquement de chênes et de charmes communs. Les zones non boisées (correspondant à environ 70% de la zone d'étude) sont principalement constituées de pâtures, de friches et de champs cultivés (céréales, maïs et sorgho).

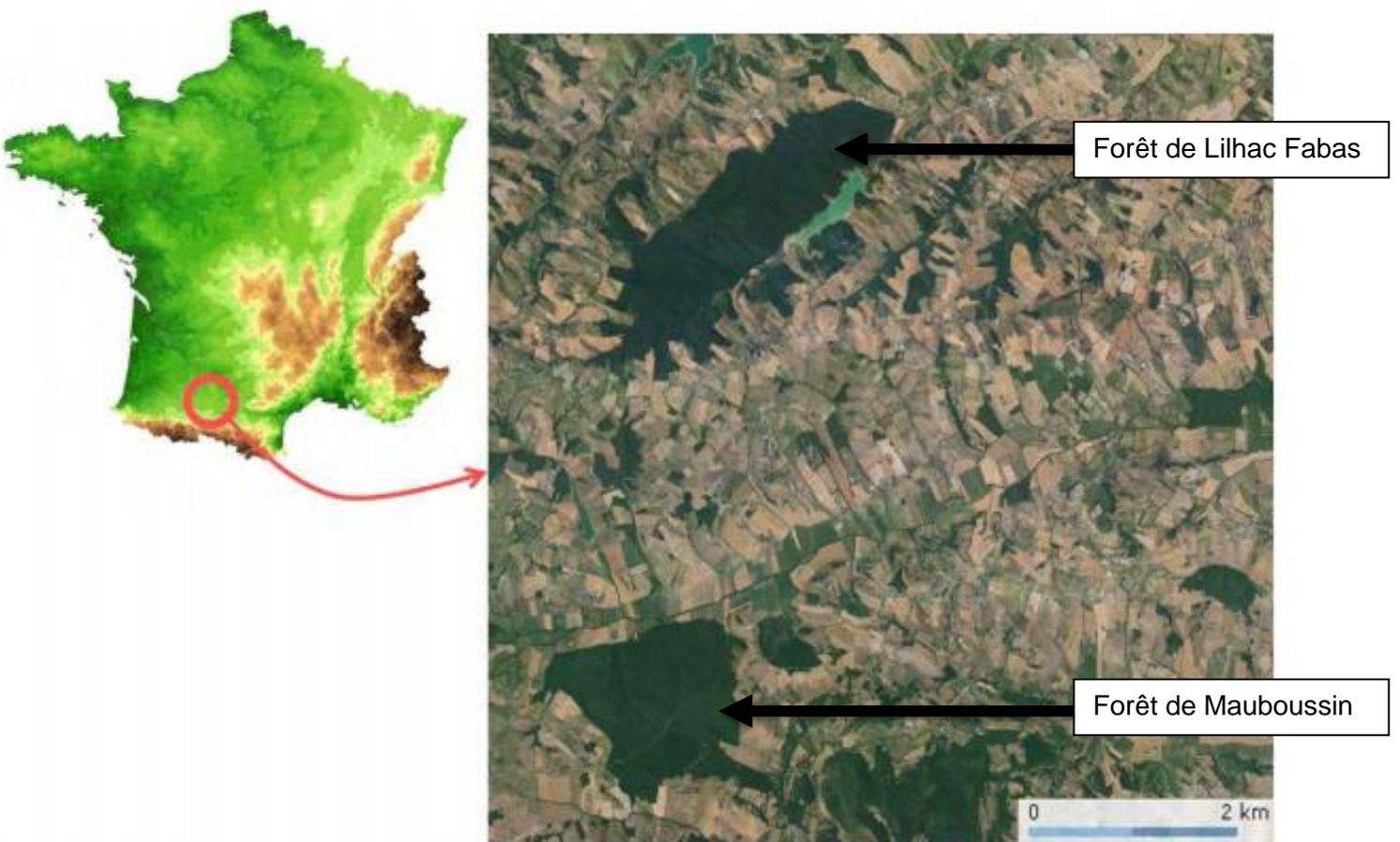


Figure 18 : Site d'étude du canton d'Aurignac, d'après Sévila, 2015

1.1.1.2. Les chevreuils du canton d'Aurignac

La densité de chevreuils dans le canton d'Aurignac a été évaluée par le CEFS à 9,3 individus pour 100 hectares. Les populations de chevreuils sont étudiées grâce à des protocoles de Capture-Marquage-Recapture (CMR) des ongulés sauvages pendant les périodes hivernales depuis 2001, ainsi que par des sessions d'observations régulières. Grâce à ces captures, environ 700 chevreuils ont pu être équipés d'un collier GPS ces quinze dernières années, donnant ainsi des informations sur leurs déplacements. Ces données permettent d'étudier le comportement des Cervidés face à un gradient d'ouverture paysagère.

En 1996, Vincent et al. ont démontré que les populations de chevreuils du canton d'Aurignac étaient assez typiques de celles que l'on rencontre dans les milieux forestiers ou semi-ouverts, avec des groupes de deux à quatre animaux (contrairement aux chevreuils dits « de plaine » où les ongulés se regroupent en hardes pouvant aller jusqu'à quarante individus), fréquentant assez peu les zones très ouvertes, et ce malgré une modification du paysage ces dernières années à la faveur d'une agriculture plus intensive (Vincent et al., 1996). Enfin, lors des captures, des prélèvements de sang, de poils et de fèces sont réalisés, dans le but d'étudier au mieux l'état parasitaire et la physiologie de ces ongulés sauvages.

1.1.2. L'élevage ovins dans la zone d'Aurignac

La région Occitanie est la première région de production ovine de France, avec 2,3 millions d'ovins en 2016, soit l'équivalent du tiers du cheptel ovin national. La plupart des élevages sont spécialisés en production de lait (environ les deux tiers) du fait de la présence de l'AOP Roquefort sur l'ensemble de la région.

Cependant, malgré une forte prédominance de producteurs laitiers en région occitane, les élevages d'ovins dans le département de la Haute Garonne sont majoritairement composés d'élevages d'ovins à viande, avec en 2016 un nombre de 303 exploitations ovines déclarées (élevages avec plus de 25 brebis enregistrées). Les troupeaux sont globalement de petite taille : seulement 40 % des troupeaux ovins allaitants d'Occitanie comptent plus de 50 brebis. Notamment, en Haute-Garonne, 40% des élevages allaitants ovins sont composés de 10 à 50 brebis. La plupart des élevages sont en production Label Rouge, avec principalement la production d'agneaux de bergerie (agneaux engraisés en totalité en bergerie) et on parle surtout d'élevages semi-extensifs à extensifs (<http://draaf.occitanie.agriculture.gouv.fr>).

A Aurignac, les élevages ovins sont à l'image de ceux que l'on retrouve dans le département de la Haute-Garonne : la moitié des élevages sont composés d'un faible nombre de brebis (<50 têtes), et l'autre moitié d'un nombre de têtes plus important (>100 brebis). A noter que des élevages d'autres animaux de rente comme les bovins sont aussi présents à Aurignac, ainsi que quelques équidés (chevaux et ânes) et très peu de caprins et porcins.

1.2. LES ELEVAGES OVINS SELECTIONNES

1.2.1. Présentation des élevages

Nous avons sélectionné huit élevages de moutons, plus ou moins proches les uns des autres géographiquement. Ces élevages ont été choisis suivant la localisation de leurs pâtures (cf figure 17), où des chevreuils avaient pu être observés à proximité par le CEFS-INRAe. Ce ne sont que des élevages ovins allaitants, tous en élevage purement extensif, avec la production d'agneaux (cf tableau 6).

Nom de l'élevage	Nombre de têtes	Race
M1	300	Tarasconnaise
M2	250	Tarasconnaise
M3	30	Suffolk
M4	250	Tarasconnaise
M5	100	Tarasconnaise
M6	18	Tarasconnaise
M7	60	Lacaune viande + Croisée Berrichon/Lacaune viande
M8	30	Laucaune viande + Montagne noir

Tableau 5 : Caractéristiques générales des élevages d'ovins sélectionnés

Les élevages sélectionnés sont assez représentatifs de l'élevage ovin viande de Haute-Garonne : en effet, trois élevages sur les huit sélectionnés possèdent moins de 50 brebis, soit 40% de notre échantillon (ce qui cohérent avec le fait que 40% des élevages ovins allaitant de Haute Garonne sont composés de 10 à 50 brebis). On retrouve principalement des brebis de la race Tarasconnaise, une race rustique originaire des Pyrénées.

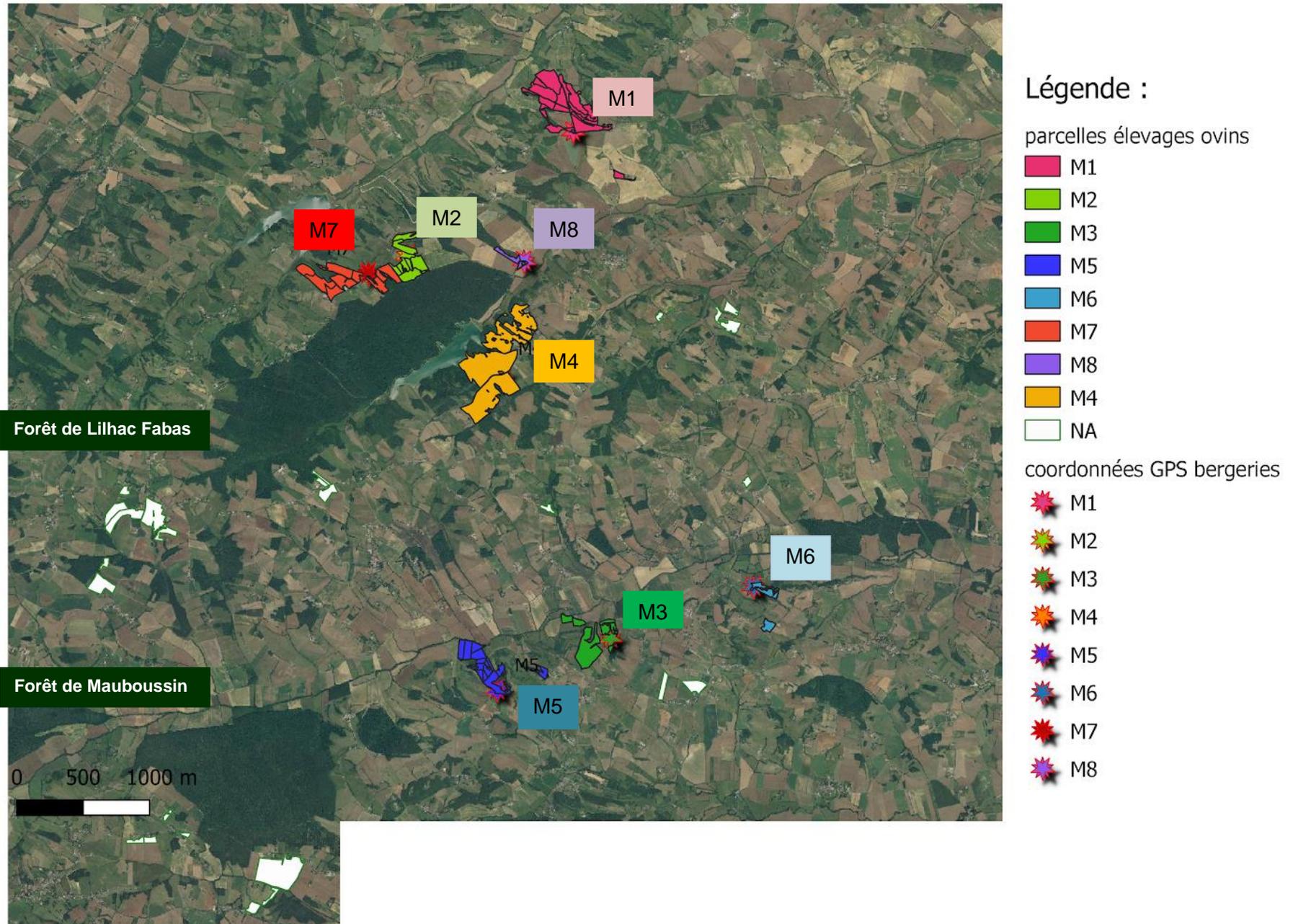


Figure 19 : Localisation géographique des élevages sélectionnés (NA = Elevages d'ovins non échantillonnés dans cette étude) (Source : Bruno Lourtet- CEFS INRAE)

D'après la figure n°19, on observe que les élevages M2, M4, M7 et M8 sont localisés autour de la forêt Lilhac Fabas, dont M2 et M7 qui possèdent des pâturages accolés. M1 est situé au Nord Est de Lilhac Fabas. M3, M5 et M6 sont, quant à eux, tous trois à l'est de la forêt de Mauboussin.

1.2.2. Les différentes stratégies de traitements anthelminthiques des élevages échantillonnés

Les protocoles détaillés des traitements anthelminthiques de chaque élevage pour l'année 2018 sont présentés en annexes 1.

La plupart des élevages réalisent un protocole de déparasitage assez classique, avec deux à trois traitements par an et une rotation des familles de molécules (benzimidazoles et lactones macrocycliques pour la plupart) sur une année.

Les élevages M1, M2, M6 et M7 concluent à une bonne efficacité des anthelminthiques qu'ils utilisent, avec des animaux qui n'ont plus de diarrhée et des laines de meilleures qualités, après traitement. Ce sont des élevages qui réalisent deux à trois traitements par an.

En revanche, l'élevage M4 a plus de problèmes quant à la gestion du parasitisme dans son élevage : en effet, malgré les différents traitements annuels avec alternance de familles (benzimidazoles/lactones macrocycliques), ses brebis ont toujours des signes cliniques associés au parasitisme, à savoir de la diarrhée et un état général dégradé.

M3 et M8, quant à eux, trouvent que les anthelminthiques qu'ils utilisent ont une bonne efficacité sur les strongles gastro-intestinaux mais pas sur une myiase naso-sinusale, l'oestrose.

L'élevage M5 est le seul élevage à réaliser un protocole de déparasitage plus raisonné : en effet, il ne traite ses brebis avec des molécules chimiques que s'il observe des signes cliniques associés au parasitisme intestinal et réalise des coproscopies deux à trois fois par an. Pour exemple, pour l'année 2018, il n'a traité que deux brebis début octobre avec de la CYDECTINE ORALE 0,1%®.

1.3. L'ÉCHANTILLONAGE DES FECES DE CHEVREUILS ET DE MOUTONS

1.3.1. Prélèvements de fèces de moutons

Le nombre d'échantillons de fèces prélevés par élevage dépend du nombre d'ovins du cheptel étudié. En effet, nous avons effectué le protocole suivant :

- Pour un élevage avec plus de 200 ovins, des fèces d'au moins 10% du nombre total de brebis ont été prélevées ;
- Pour un élevage avec un nombre de tête compris entre 30 et 200 ovins, un minimum de vingt fèces ont été récoltées ;
- Pour un élevage avec moins de trente moutons, nous avons prélevé autant de fèces que le nombre de brebis présentes

Pour les prélèvements des fèces, nous avons récupéré des selles fraîches à même le sol, soit l'instant suivant la défécation d'un mouton soit à un endroit de la pâture où des moutons étaient couchés au moment de notre arrivée (les ruminants ont tendance à faire des selles au moment où ils se lèvent).

Des prélèvements d'environ 50 grammes de fèces fraîches ont été récoltés. Nous les avons mises dans des sachets hermétiques, puis numérotées en fonction de l'élevage, du jour et du numéro d'échantillon.

1.3.2. Prélèvements de fèces de chevreuils

1.3.2.1. Fèces de chevreuils non capturés, récupérées à proximité et à distance des élevages sélectionnés

Nous nous sommes basées sur les observations réalisées de façon hebdomadaire par le CEFS-INRAe et sur leur connaissance du comportement des Cervidés pour la collecte de fèces de chevreuils. Celles-ci étaient récupérées, comme pour les moutons (cf figure 20), à même le sol, puis mises de façon individuelle dans des sachets hermétiques numérotées.

Le point GPS du prélèvement était relevé à chaque fois. Nous avons essayé de récupérer des fèces les plus fraîches possibles (c'est à dire humides, relativement molles et n'ayant pas perdu d'odeur).



Figure 20 : Photo de fèces de chevreuil fraîches ramassées sur le sol

Les échantillons de matières fécales de chevreuils ont été ramassés d'octobre 2018 à mars 2019. Un total de 148 échantillons à des points GPS différents ont été prélevés (Cf figure 21).

En moyenne, la masse des fèces ramassées directement au sol est de 15 g (min = 1 g ; max = 65,3 g).

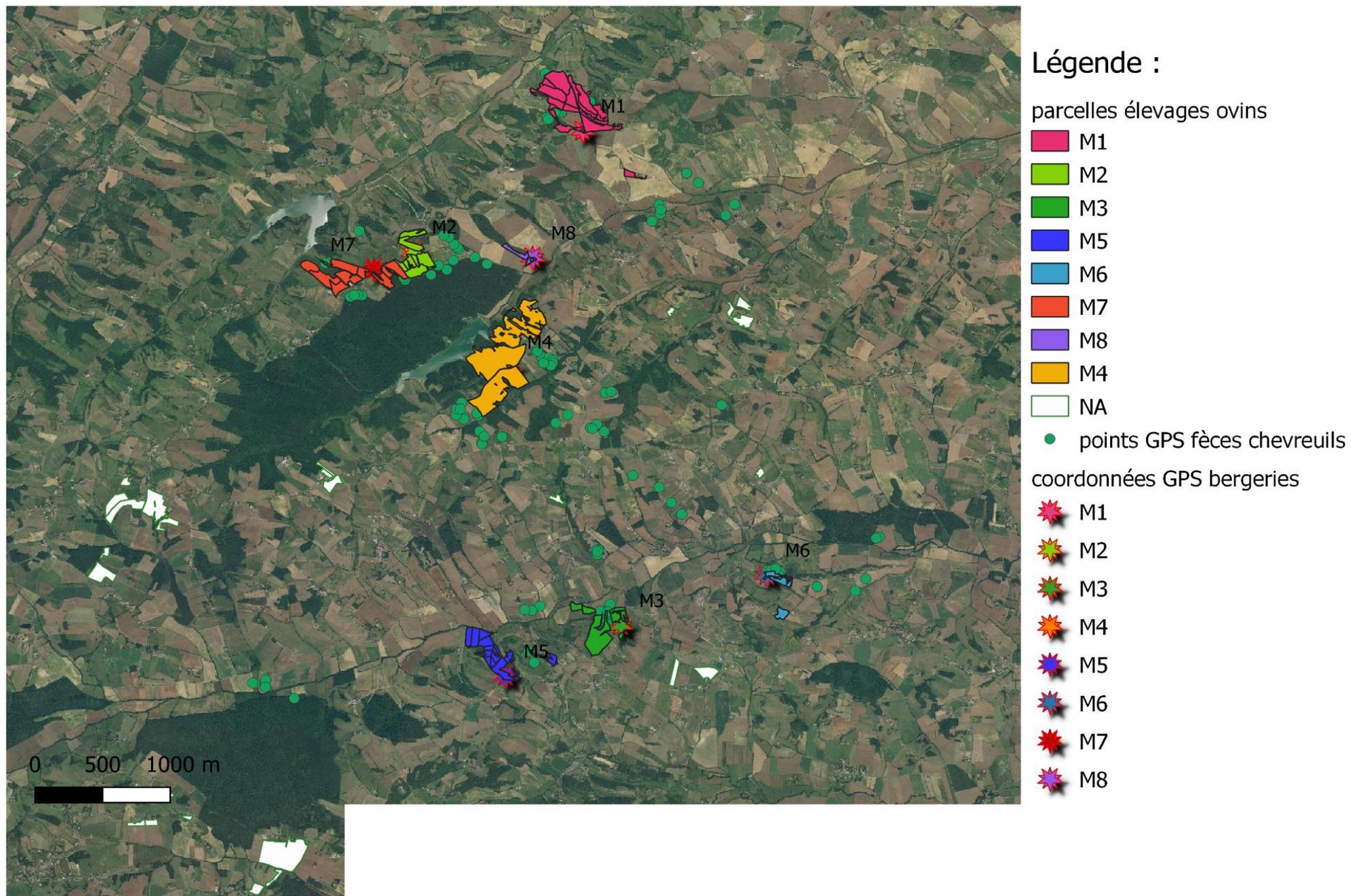


Figure 21 : Localisation géographique des points GPS des prélèvements de fèces des chevreuils (Source : Bruno Lourtet- CEFS INRAE)

1.3.2.2. Fèces de chevreuils capturés par le CEFS de l'INRA

Le CEFS a défini sept sites de capture répartis sur tout le canton d'Aurignac.

Depuis 2002, une session de capture est effectuée chaque hiver (entre janvier et mars) sur chacun des sites de captures. Le protocole de capture, présenté en annexe 2, est identique sur chaque site.

Au total, 52 prélèvements de matières fécales ont été récupérées par le CEFS durant six captures, qui ont eu lieu entre le 10 janvier 2019 et le 14 février 2019 (cf figure 22). Les fèces ont ainsi été récupérées directement dans le rectum des cervidés, puis rapportés au laboratoire de parasitologie de l'ENVT. En moyenne, la masse des fèces récupérées lors des captures est de 8,5 grammes (min = 0,9g ; max = 44g).

Ainsi, au total, 200 échantillons de fèces de chevreuils ont été inclus dans notre étude (148 ramassés à même le sol + 52 récupérés lors des captures).

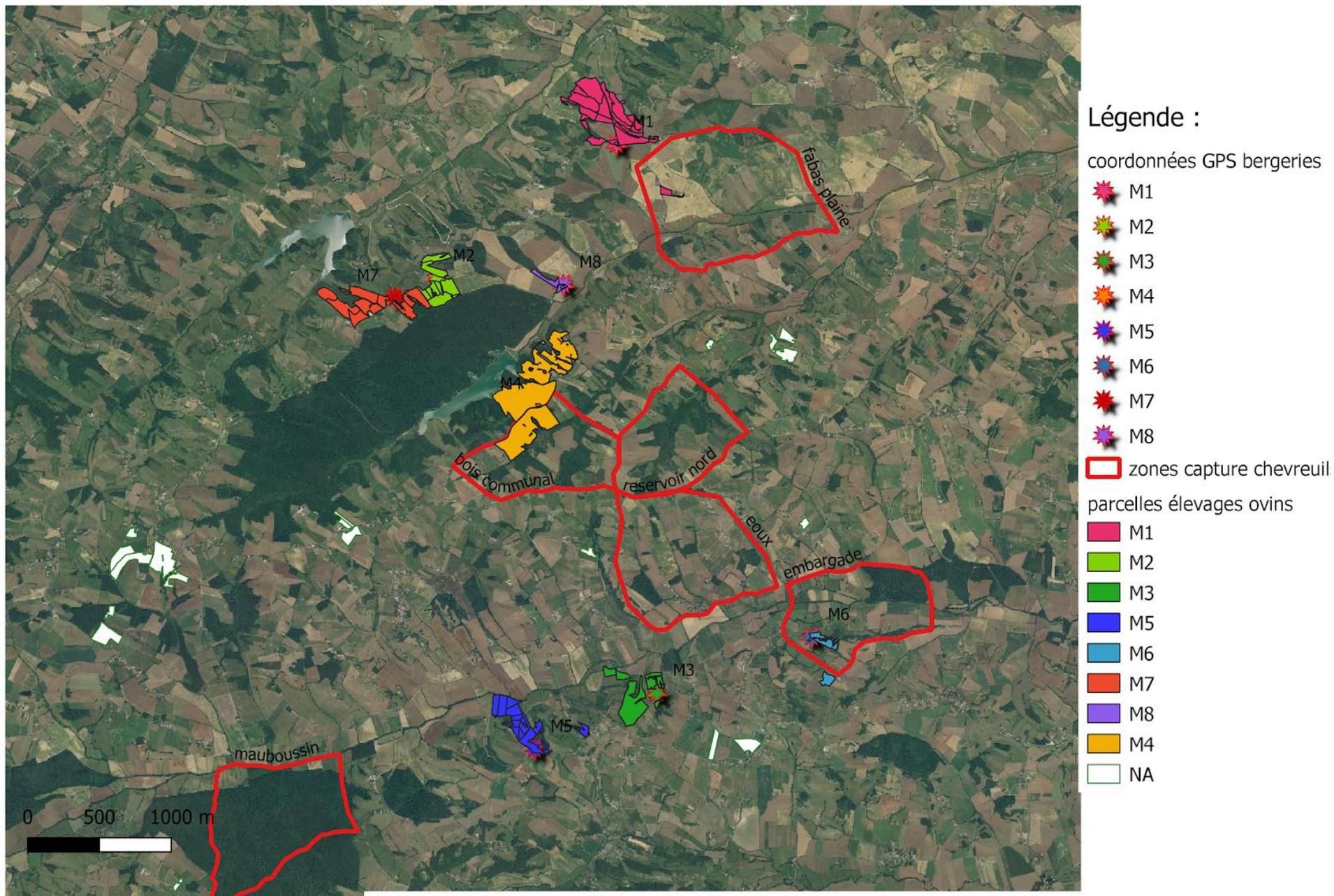


Figure 22 : Présentation des six zones de capture où des échantillons de fèces ont été récupérés pour cette étude (Source : Bruno Lourtet- CEFS INRAE)

1.4. ESTIMATION DU STATUT PARASITAIRE DES CHEVREUILS ET DES OVINS DU CANTON D'AURIGNAC

Les différents échantillons de matières fécales ont été analysés dans les 48 heures suivant leur prélèvement au laboratoire de parasitologie de l'ENVT : une coproscopie individuelle (chevreuil) ou de mélange (moutons) puis une mise en culture des oeufs ont été effectuées pour chacun d'entre eux. Si les analyses ne pouvaient pas être effectuées dans l'immédiat, les échantillons étaient conservés dans une salle à température ambiante (20°C).

1.4.1. Coproscopie

1.4.1.1. Coproscopies individuelles, réalisées sur les fèces chevreuils

Pour chaque prélèvement de fèces de chevreuil, une coproscopie individuelle a été réalisée, suivant la méthode d'enrichissement par flottation au sel (densité 1,2) puis par lecture sur lame de McMaster. Le protocole a été celui énoncé dans la partie 1, paragraphe 3.1.3.

Quand nous le pouvions, nous avons utilisé 3 g de fèces de chevreuil pour chacune des coproscopies, comme il est recommandé dans le protocole suivi. Cependant, la quantité de fèces ramassée étant aléatoire, nous devions parfois nous contenter d'une quantité moindre (moyenne = 2,36 g ; min = 0,8 g ; max = 3 g). Dans ce cas, la quantité d'eau salée utilisée était adaptée.

Sur les 148 échantillons de fèces ramassées, nous avons décidé de ne pas effectuer de coproscopies sur 14 d'entre eux par manque de quantité de fèces et pour privilégier la coproculture. Ainsi, au total, 186 coproscopies individuelles de chevreuils ont été réalisées (134 échantillons ramassés + 52 échantillons récupérés lors des captures).

1.4.1.2. Coproscopies de mélange, réalisées sur les fèces de moutons

Bonnefont et Canellas (2014) ont montré la très forte corrélation entre la moyenne des résultats de coproscopies individuelles et la moyenne de deux valeurs obtenues après mélange des prélèvements individuels (cf partie 1, paragraphe 3.1.4). Du fait du nombre plus ou moins important d'échantillons par élevage (entre 18 et 34 échantillons de fèces), nous avons choisi de réaliser des coproscopies de mélange.

Ainsi, pour chaque élevage d'ovins, trois à quatre mélanges de fèces ont été effectués suivant le nombre de prélèvements, de façon à ne pas dépasser plus de dix échantillons dans un mélange (cf annexe 3 pour les valeurs par élevage).

Pour chaque mélange, deux coproscopies suivant la méthode d'enrichissement par flottation au sel (densité 1,1 à 1,2) puis par lecture sur lame de McMaster ont été réalisées et le protocole est celui décrit dans la partie 1, paragraphe 3.1.4.

Au total, 52 coproscopies de moutons ont été effectuées (26 mélanges de fèces et 2 coproscopies par mélanges).

1.4.2. Coprocultures

Après la réalisation des coproscopies individuelles (chevreuil) ou de mélange (mouton), les matières fécales résiduelles ont été mises en cultures pour réaliser des coprocultures.

1.4.2.1. Chevreuils

La quantité de fèces restante après les coproscopies était dépendante de la quantité de selles récupérées initialement sur le terrain, qui était non constante et malheureusement parfois faible. Par conséquent, nous avons utilisé en moyenne 14,4 grammes de fèces de chevreuils par coproscopie (min = 1 g ; max = 62,3 g).

Les échantillons ont été mis dans des pots puis placés dans une étuve à 24 +/- 1°C pendant 10 à 15. Une humidification des échantillons a été faite à l'aide d'une pissette d'eau tous les deux jours.

Après l'incubation, les larves ont été récupérées selon la méthode MAFF, expliquée dans la partie 1, paragraphe 3.2 (cf figure 23), puis mises dans un tube à essai placé au réfrigérateur.

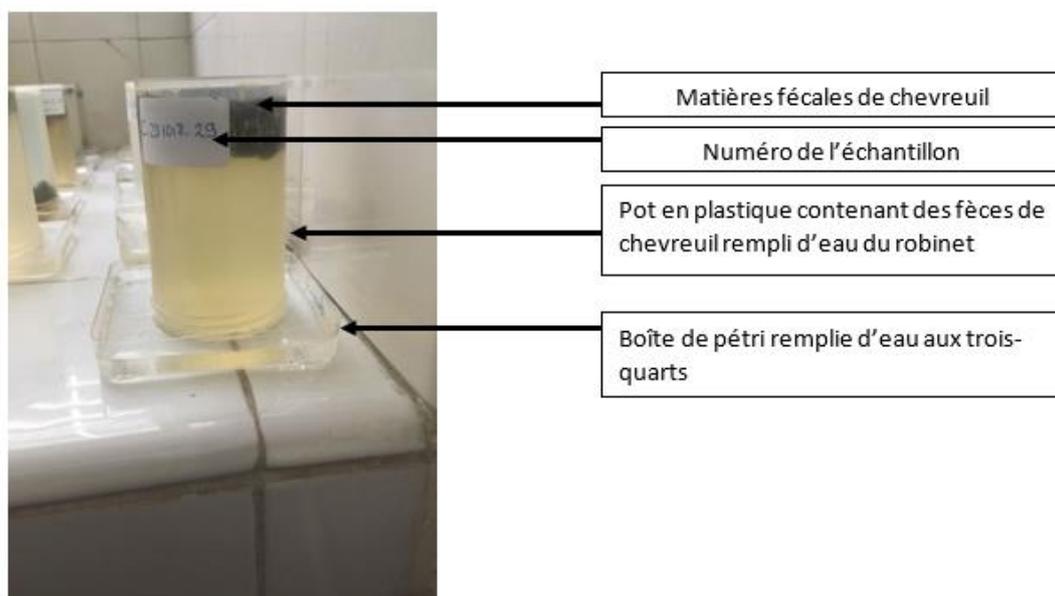


Figure 23 : Dispositif de récupération des larves issues des coprocultures selon le protocole MAFF (1986)

Sur les 52 échantillons de fèces récupérés lors des captures, nous n'avons pu réaliser que 44 coprocultures du fait d'une quantité insuffisante de fèces. Le CEFS-INRAe ayant besoin des résultats de coproscopies pour ses autres études en cours, nous avons dû, pour les échantillons de fèces des chevreuils capturés, privilégier les coproscopies. Au total, nous avons donc effectué 192 coprocultures (148 échantillons ramassés + 44 échantillons récupérés lors des captures).

1.4.2.2. Moutons

A la suite des deux coproscopies réalisées pour chacun des mélanges, la quantité de fèces restante a été transférée dans un pot puis mis à l'étuve pendant 10 à 15 jours à 24 +/- 1°C et humidifiée à l'aide d'une pissette d'eau tous les deux jours.

Après l'incubation, comme pour les prélèvements de chevreuils, les larves ont été récupérées selon la méthode MAFF. Les tubes à essai avec la solution contenant les larves sont ensuite placés au réfrigérateur. Au total, 26 cultures larvaires de matières fécales de moutons ont été effectuées, correspondant aux 23 mélanges de fèces d'ovins réalisés.

1.4.2.3. Comptage larvaire

Les tubes à essais contenant la solution avec les larves de stades 3 infestantes (L3) sont centrifugés (4500 tours/min pendant 10 minutes). Après la centrifugation, les tubes présentent deux phases : un culot, contenant les larves L3, et un surnageant. Le surplus de surnageant est retiré à l'aide d'une pipette graduée, de façon à ne laisser que 5 millilitres de solution dans le tube à essai.

Puis, à l'aide d'un mélangeur automatique, une homogénéisation de l'échantillon est réalisée. Deux gouttes de 40 μ L chacune de la suspension sont déposées à l'aide d'une micropipette entre lame et lamelle et observées sous microscope. Une allumette en feu est passée sous la lame de manière à tuer les larves L3 présentes et faciliter leur comptage.

Les nombres de larves comptées dans les deux gouttes sont ensuite additionnés puis multipliés par 12,5, de manière à avoir une quantité de larves par millilitre de suspension larvaire.

Pour les chevreuils, sur les 192 coprocultures réalisées, le comptage larvaire moyen dans la suspension est de 120,5 L3/mL (min = 0 L3/mL ; max = 3125 L3/mL). Pour les échantillons ramassés directement au sol (148 coprocultures réalisées), le comptage larvaire moyen est de 152,6 L3/mL (min = 0 L3/mL ; max = 3125 L3/mL). Pour les échantillons issus des chevreuils capturés, le comptage larvaire moyen est de 11,1 L3/mL (min = 0 L3/mL ; max = 75 L3/mL).

Pour les moutons, le comptage larvaire moyen dans la suspension est de 513 L3/mL (min = 0 L3/mL ; max = 3300 L3/mL). A la suite des comptages larvaire, l'élevage M3 a dû être sorti de l'étude du fait d'un manque de larves présentes (0 L3/mL pour chacun des trois mélanges).

Il est important de souligner que lors du comptage, de nombreux strongles libres étaient présents sur certains échantillons (expliqué par la méthode de prélèvement). Le nombre total de larves L3 présentes par millilitre de suspension larvaire ne correspond alors qu'au nombre de L3 de strongles digestifs, sans prendre en compte les strongles libres (cf figure 24).

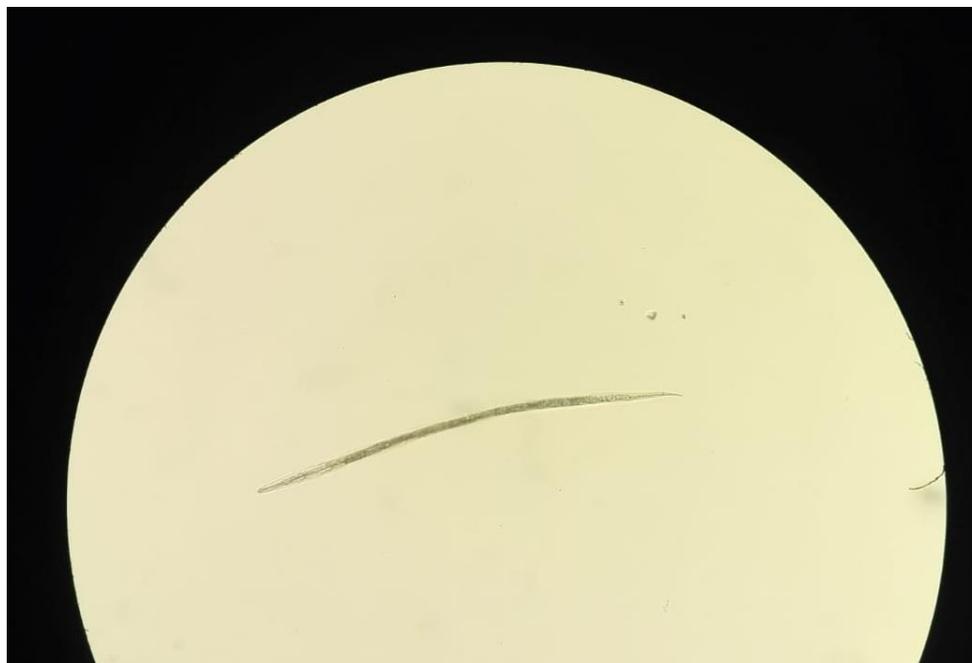


Figure 24 : Larve L3 de strongle digestif observée au microscope optique (x10)

1.5. ANALYSES GENETIQUES REALISEES APRES RECUPERATION DES LARVES DE STADE L3 DE STRONGLES DIGESTIFS

1.5.1. Extraction d'ADN et détermination de la composition de l'helminthofaune des chevreuils et des élevages ovins : analyse du nématiome

Après comptage des larves, les tubes à essais contenant en solution les larves L3 ont été envoyés au laboratoire de VetAgro Sup, où l'ADN a été extrait en utilisant le kit PowerSoil de Qiagen®. Pour les échantillons de moutons, l'extraction a ainsi été réalisée sur 22 échantillons contenant assez de larves (sur les 26 échantillons initiaux), à partir d'aliquots contenant en moyenne 874 L3 (médiane = 894, min-max= 480-1680). Pour les échantillons de chevreuils, les extractions d'ADN ont été réalisées sur 87 échantillons parmi les 192 coprocultures réalisées, à partir d'une moyenne de 566 L3 (médiane = 600, min-max = 20-1500).

Les ADN extraits ont ensuite été emmenés à l'université de Calgary au Canada. Libby Redman et les collaborateurs de l'équipe de John Gilleard ont réalisé sur ces échantillons l'analyse du nématiome par séquençage haut-débit des séquences d'ITS-2 des différents strongles présents (Avramenko et al., 2015 ; 2017 ; 2019) (cf partie 1, paragraphe 3.5).

1.5.2. Recherche de gènes de résistance aux benzimidazoles

Après l'analyse des séquences d'ITS-2, un séquençage haut débit du gène de l'isotype 1 de la β -tubuline a été réalisé sur les mêmes échantillons, par Libby Redman de l'équipe de John Gilleard, de l'université de Calgary au Canada, suivant la méthode décrite par Avramenko et al. en 2019.

L'analyse des séquences obtenues permet de rechercher les mutations présentes sur les trois codons 167, 198 et 200, à l'origine de la résistance aux benzimidazoles (cf partie 2, paragraphe 1.3.2.1). Cette méthode est extrêmement sensible puisqu'elle permet de détecter des niveaux de résistance très faibles dans les échantillons (<0,1%).

1.6. CHOIX DES INDICATEURS EXPLIQUANT UN ECHANGE DE STRONGLES ENTRE OVINS ET CHEVREUILS

1.6.1. Le partage d'une même zone de pâture : la variable contact

La condition *sinequanone* pour que les chevreuils s'infestent de SGI résistants aux anthelminthiques est qu'ils pâturent à proximité des prairies de moutons. Il a donc fallu déterminer une possibilité de contact entre le domaine potentiel exploité par un chevreuil et les prairies des moutons environnantes. Le domaine exploité par un chevreuil se nomme le domaine vital. Burt, en 1943, fut un des premiers à donner une définition du domaine vital, le caractérisant comme " la surface traversée par l'individu pendant ses activités normales de recherche de nourriture, de reproduction, et de soin aux jeunes et les sorties occasionnelles hors de la zone, telles que des explorations dans la nature, ne devant pas être considérées comme faisant partie du domaine vital" (Burt, 1943). Powell, en 2000, ajoute une dimension temporelle à cette définition qualitative du domaine vital, en précisant qu'il ne s'agit pas d'un concept instantané. En effet, le domaine vital est déduit par les différentes localisations d'un animal dans un intervalle de temps donné (par exemple une saison, une année ou encore une durée de vie) (Powell, 2000).

Comme explicité précédemment, des captures sont organisées chaque hiver par le CEFS-INRAE. Lors de la capture, une boucle auriculaire avec un numéro d'identifiant unique est attribuée à chaque chevreuil avec un collier GPS. Les colliers peuvent être récupérés soit lorsque l'animal est recapturé l'année suivant la pose du collier, soit grâce à un système "drop-off" qui permet de libérer le collier du cou de l'animal (programmé pour se détacher au bout de 10 mois de fonctionnement ; cf annexe 2). Des domaines vitaux mois par mois peuvent ainsi être déterminés pour chacun des chevreuils suivis grâce aux données de localisation enregistrées par les colliers GPS.

Dans notre étude, pour chaque fèces prélevée, un domaine vital potentiel du chevreuil associé a été attribué. Ces domaines vitaux potentiel ont été construits de la manière suivante :

1. Six zones d'études correspondant à des zones de captures élargies ont été formées sur la base d'une homogénéité paysagère, inféodées à un massif forestier, à un paysage plus bocager avec des boisements morcelés, ou à des grandes cultures avec peu de bois. Il a été montré lors d'études précédentes que ces unités paysagères basées sur la fragmentation des boisements correspondent à des tailles croissantes des domaines vitaux des chevreuils. Au sein de ces zones se trouvent les élevages d'ovins, ainsi que les principaux lieux où des fèces de chevreuils ont été ramassées (cf figure 25).

Dans chaque zone d'étude, les domaines vitaux réels des chevreuils déjà suivis par GPS ont été calculés par le CEFS à partir des données collectées entre 2003 et 2018. Cela concerne plus de 600 chevreuils. Seuls les localisations en novembre et décembre ont été utilisées pour calculer des domaines vitaux représentatifs de la fin de l'automne, début d'hiver. Ces mois correspondent, d'une part, à la période de prélèvement de la majorité de nos échantillons, et d'autre part, c'est une période à faible dispersion pour les chevreuils. En effet, les populations de chevreuils présentent un degré de grégarisme important en hiver, diminuant ainsi leurs déplacements (Maublanc et al., 1985). Les domaines vitaux calculés sont donc plus petits, et à l'échelle de notre étude, plus facilement exploitables.

Il est important de préciser que les domaines vitaux ne correspondent donc pas aux domaines vitaux des chevreuils capturés en 2019 et dont les fèces ont été analysés ici.

2. Une moyenne de la surface des domaines vitaux dans chacune des zones de capture élargie a été calculée à partir de tous ces domaines vitaux
3. A partir de cette surface moyenne, un rayon R a été défini à l'aide de la formule $S=\pi R^2$
4. Le domaine potentiel du chevreuil associé au prélèvement de fèces a été approximé par un cercle de rayon R et de centre le point GPS de prélèvement de fèces

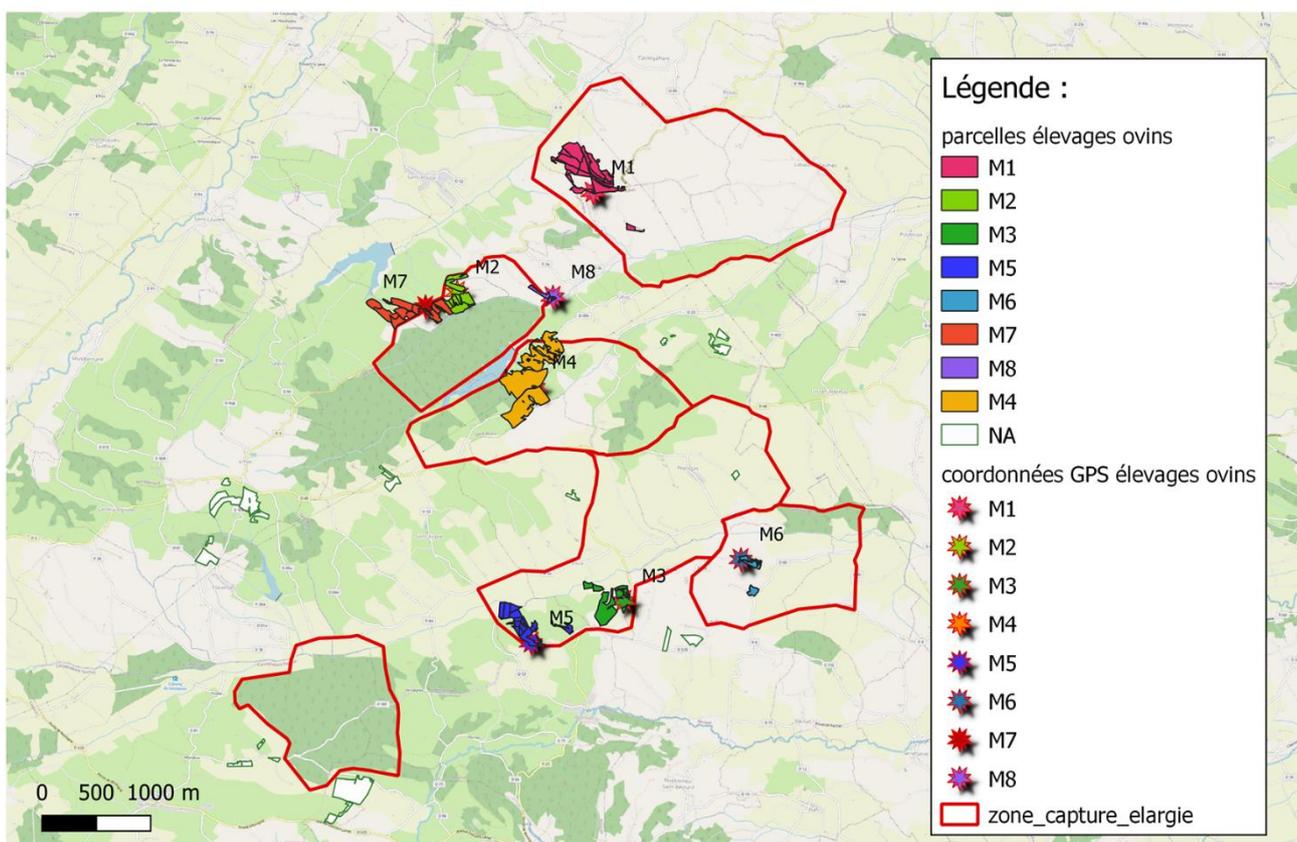


Figure 25 : représentation des six zones d'études correspondant à des zones de captures élargies, dans lesquels les domaines vitaux des chevreuils capturés dans ces zones ont été utilisés (Source : Bruno Lourtet-CEFS INRAE)

Il a été considéré que les chevreuils ayant une possibilité de pâturer dans une prairie d'ovins avait un domaine vital potentiel qui chevauchait un pâturage d'un des élevages d'ovins sélectionnés. Cette variable se nomme la variable « contact » et prend les valeurs de 1 lorsque le domaine vital potentiel du chevreuil chevauche un pâturage d'ovins et 0 lorsqu'il n'y a pas de chevauchement. Sur 148 échantillons ramassés, 104 (69%) ont été considérés comme étant « en contact » avec un élevage d'ovins et 46 ont été considérés comme étant « sans contact » avec un élevage d'ovins (31%).

De plus, les chevreuils capturés en 2019 par l'équipe du CEFS-INRAE, analysés pour coproscopie et coproculture, ont été considérés comme « sans contact » avec un élevage d'ovins. En effet, aucun des chevreuils n'a été capturé à proximité (distance < à R) de parcelles occupées par des moutons.

Au total, sur les 200 échantillons initiaux, 104 échantillons ont été considérés comme étant « en contact » avec un élevage d'ovins et 98 échantillons comme « sans contact » avec un élevage de moutons (46 échantillons ramassés directement au sol + 52 échantillons issus des captures).

Remarques : L'étude s'intéressant aux échanges de SGI entre les moutons et les chevreuils, seules les prairies d'ovins ont été prises en compte. Cependant, il est important de signaler que, dans la zone d'étude, on observe principalement des élevages de bovins (cf figure 26).

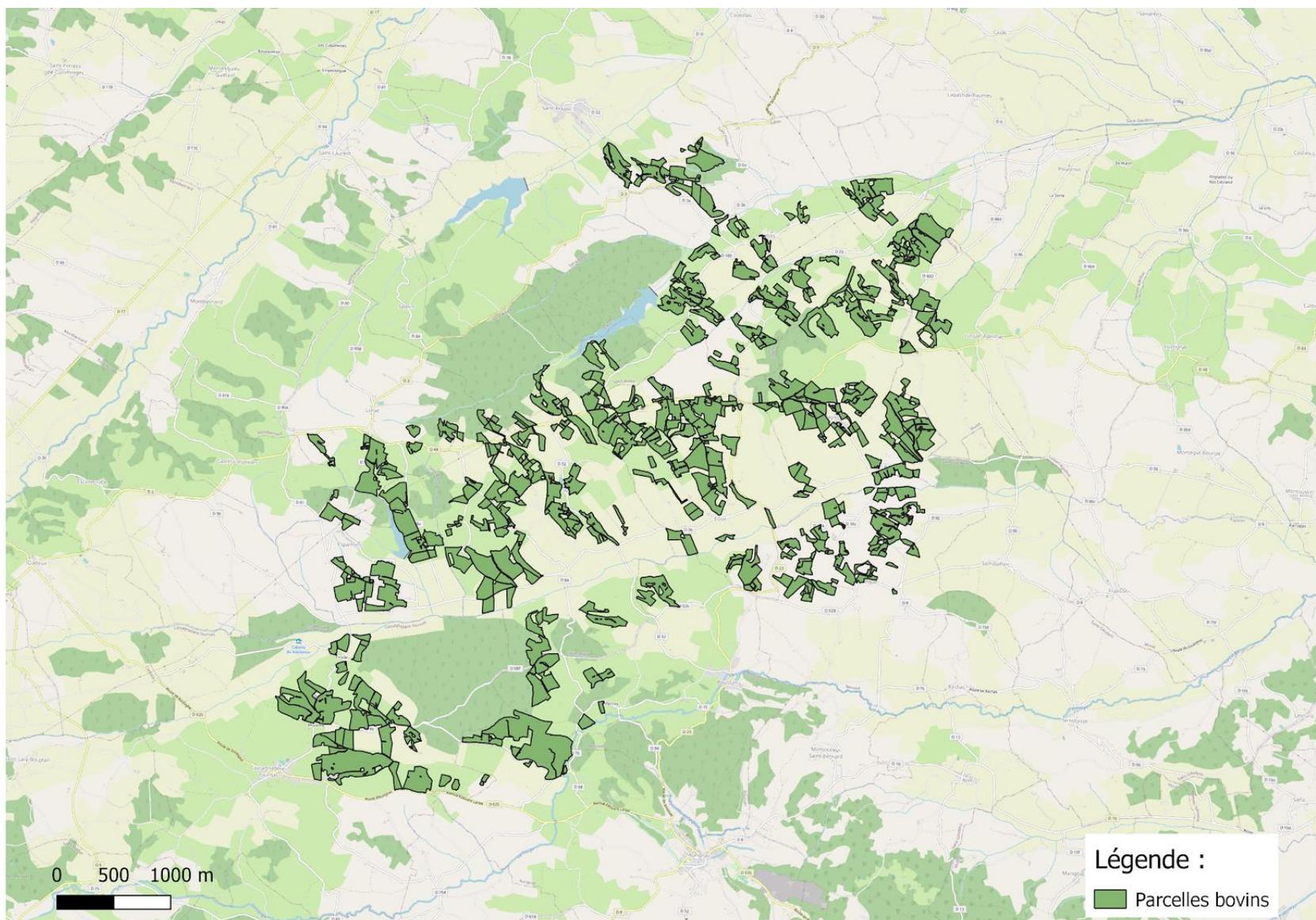


Figure 26 : Représentation des pâturages où des bovins ont été observés par le CEFS (Source : Bruno Lourtet- CEFS INRAE)

1.6.2. Les autres indicateurs

1.6.2.1. La saison

D'après la bibliographie, on sait que des variations d'excrétions parasitaires existent selon les saisons (cf partie 1, paragraphe 1.1.1.). Le facteur « saison » prend deux modalités : « automne » et « hiver ». Tous les échantillons prélevés entre le 21/09/2018 et le 21/12/2018 se sont vu attribuer la modalité « automne » alors que tous les échantillons prélevés entre le 21/12/2018 et le 21/03/2019 se sont vu attribuer la modalité « hiver ».

1.6.2.2. L'environnement

La zone d'étude a été entièrement cartographiée à l'aide d'un logiciel de Système d'Information Géographique (SIG, ArcView 3.2a) et de relevés sur le terrain de l'occupation du sol sur les différentes parcelles composant le paysage. Chaque année, une actualisation de ces données est réalisée. Le paysage se compose de forêts, de bois, de friches, de haies, d'eau, de prairies naturelles, de cultures et d'infrastructures (cf figure 25). Ce logiciel permet la superposition de couches d'information géographique, comme le parcellaire, l'occupation du sol, la présence d'élevage, la localisation des fèces collectés, des domaines vitaux, et le calcul de métrique géographique (surface, distance, cercle...).

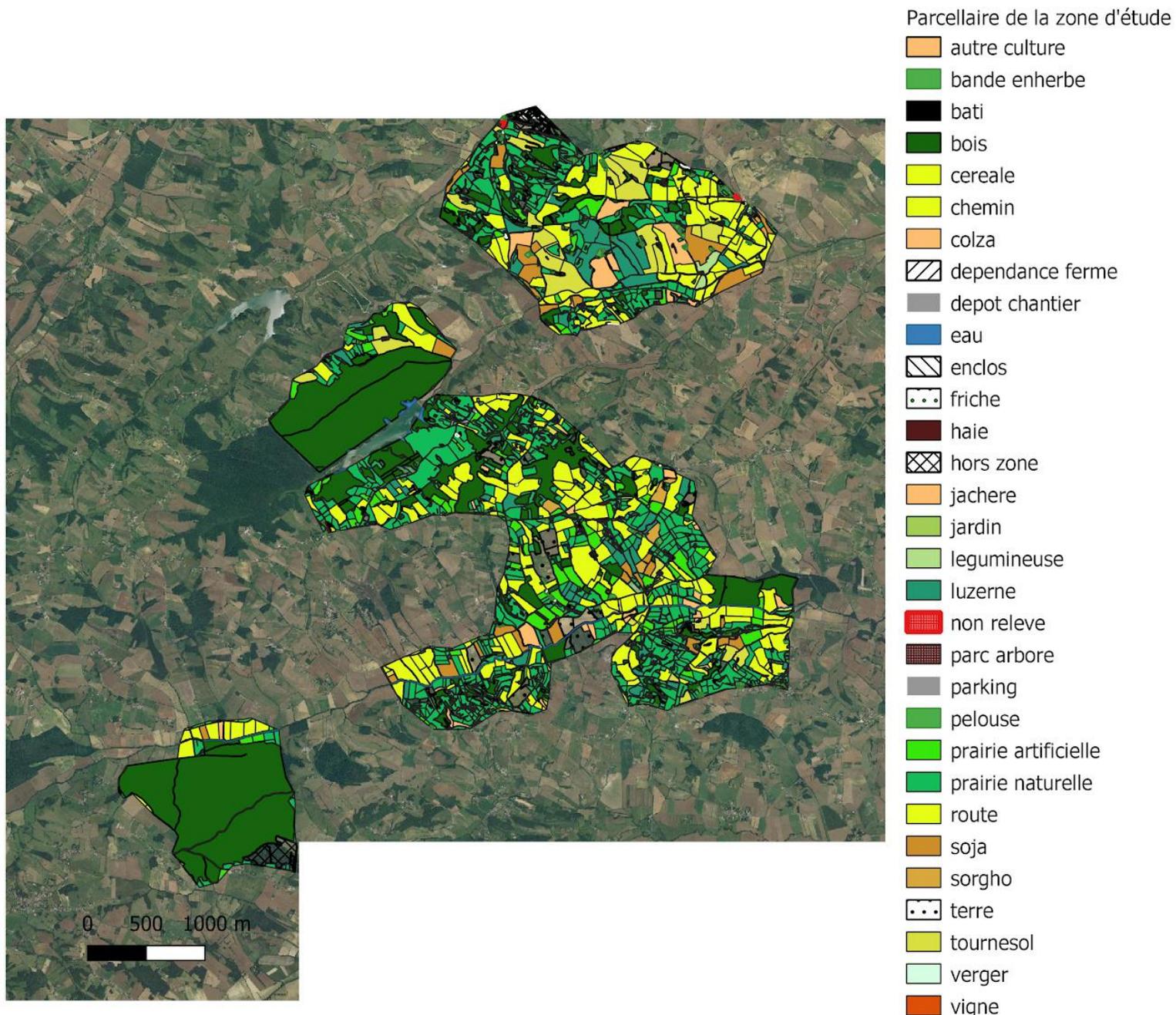


Figure 27 : Composition du paysage du canton d'Aurignac (Source : Bruno Lourtet- CEFS INRAE)

Dans chaque domaine vital potentiel de chevreuil, le parcellaire, c'est à dire les différentes surfaces de parcelles le constituant, a été défini (cf figure 27). Par exemple, pour l'échantillon C6_121118_23, le parcellaire est constitué de 4% de haies, 10% de forêt, 80% de cultures et 6% de vignes. Ces données permettent de générer la variable « végétation » (voir annexe 4) contenant le type de parcelle majoritaire contenu dans le domaine vital potentiel du chevreuil.

Ces parcellaires de terrain ont été regroupés en s'inspirant de la classification du « Corine land cover ». Cinq groupes ont été définis :

- *Culture* contenant « cereale », « colza », « soja », « luzerne », « jachere », « autre culture », « tournesol », « sorgho », « jachere », « vignes », « legumineuse »
- *Patures* contenant « prairie artificielle » et « prairie naturelle »
- *Zones artificielles* contenant « depot chantier », « parking », « route », « dependance ferme », « bati », « hors zone », « non releve » et « terre »
- *Forêts et zones semi-naturelles* contenant « friche », « foret », « jardin », « pelouse », « bande enherbe », « enclos », « bati », « parc arbore » et « haie »
- *Eau* contenant « eau »

Dans chaque domaine vital potentiel de chevreuils, le pourcentage surfacique de ces groupes a été calculé. Pour chaque échantillon, il a été décidé que la variable végétation prend pour valeur le groupe dont le pourcentage surfacique est le plus élevé.

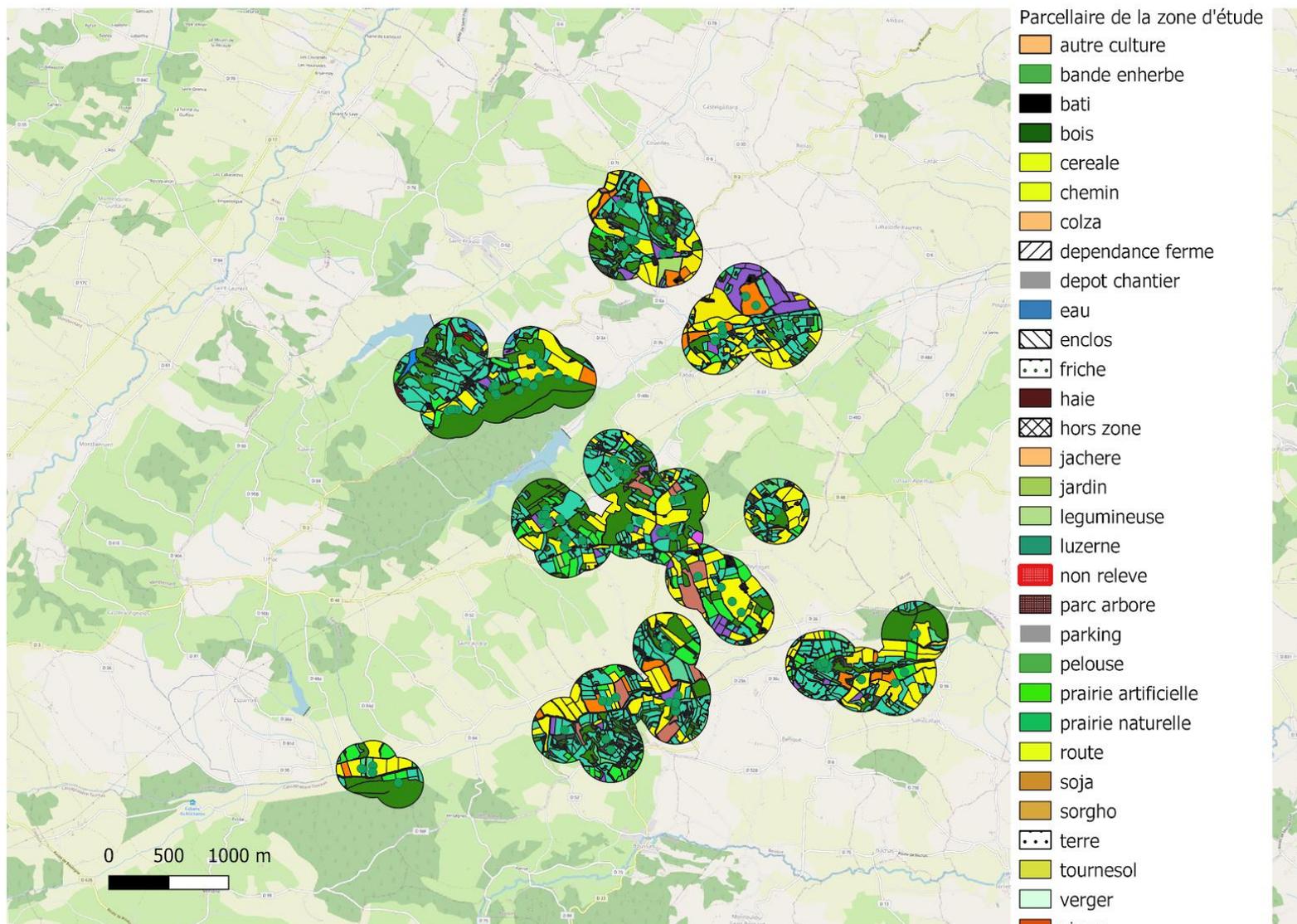


Figure 28 : Carte représentant le parcellaire de chaque domaine vital de chevreuils (Source : Bruno Lourtet- CEFS INRAE)

1.7. ANALYSES STATISTIQUES DES RESULTATS

Afin de tester nos hypothèses, les analyses statistiques (voir annexe 5) des résultats se sont déroulées en quatre étapes :

1. Analyse des coproscopies des échantillons de chevreuils et de moutons ;
2. Analyse de la composition en parasites et des proportions relatives des différentes espèces de SGI des échantillons de chevreuils et de moutons ;
3. Analyse de la présence de gènes de résistances aux benzimidazoles chez *H. contortus* pour chaque échantillon de chevreuils et de moutons ;
4. Analyse de la présence de gènes de résistances aux benzimidazoles chez quatre espèces majoritairement rencontrées pour chaque échantillon de chevreuils et de moutons (*T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei*).

Pour chaque analyse, deux groupes de chevreuils ont été comparés : les chevreuils « en contact » avec les élevages de moutons et ceux « hors contact ». Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (R Core Team, 2020).

Pour l'analyse des résultats coproscopiques, nous nous sommes intéressées à l'excrétion parasitaire en strongles avec la variable « opg » (œuf par gramme). Nous avons cherché à expliquer cette variable en fonction de différents facteurs décrits dans le paragraphe précédent à savoir le contact avec un élevage de mouton (variable = « contact »), la saison (variable = « saison »), et l'environnement (variable = « vegetation »). Les données sur les opg étant sur-dispersées (beaucoup de résultats nuls), elles ont été réparties selon le schéma binomial suivant : 1 pour les valeurs d'opg strictement supérieures à 15 et 0 sinon.

En utilisant des modèles linéaires généralisés (glm), nous avons comparé le modèle complet (opg~contact+saison+vegetation) avec le modèle nul (modèle avec une constante), puis avec le modèle ne comportant que les variables dites de l'environnement à savoir « saison » et « vegetation » (opg~vegetation+saison), et les modèles suivants : opg~saison, opg~vegetation et opg~contact. Les différents modèles ont été comparés avec l'AIC (Critère d'Information d'Akaike). Une différence d'AIC de 2 formait la condition nécessaire pour différencier les modèles. Le modèle avec l'AIC le plus bas représente le meilleur modèle (Zuur et al., 2007).

Les compositions en espèces de SGI des chevreuils ont été décrites et comparées avec celles des moutons des élevages sélectionnés.

Pour les analyses portant sur la présence de gènes de résistance chez nos différentes espèces de strongles, des modèles linéaires généralisés ont été réalisés pour connaître l'influence de la variable « contact » avec les élevages ovins.

2. RESULTATS

2.1. EXCRETIONS PARASITAIRES (OPG) CHEZ LES CHEVREUILS ET LES OVINS

2.1.1. Chez les moutons

Les résultats des coproscopies de mélange des différents élevages ovins échantillonnés sont présentés dans le tableau en annexe 6.

Nous avons principalement observé des œufs de strongles lors des coproscopies de mélange de fèces d'ovins. Dans l'élevage « M3 », nous avons aussi pu observer un œuf de *Moniezia*.

Globalement, les excréctions parasitaires restent faibles, avec en moyenne sur les 8 élevages, 182 opg retrouvés en coproscopie (min = 0 ; max = 1150). On distingue notamment trois groupes :

- Les élevages « M1 », « M3 », « M4 », « M7 » et « M8 » avec une excrétion parasitaire très faible, avec une moyenne inférieure à 50 opg (min = 0 ; max = 175)
- Les élevages « M5 » et « M6 » avec une excrétion parasitaire faible, avec une moyenne égale à environ 200 opg (min = 75 ; max = 450)
- L'élevage « M2 » avec une excrétion parasitaire modérée, avec 700 opg en moyenne (min = 450 ; max = 1150)

Le tableau 6 regroupe les derniers traitements réalisés dans chacun des élevages, et la rémanence des molécules associées.

Seuls les moutons des élevages « M2 » et « M3 » avaient des traitements encore effectifs lors de l'échantillonnage des fèces. Cela est cohérent pour l'élevage « M3 » mais pas pour l'élevage « M2 » qui est l'élevage d'ovins avec l'excrétion parasitaire la plus importante, et nous laisse suspecter la possible présence de parasites résistants aux lactones macrocycliques. Malgré les fortes valeurs coproscopiques, l'éleveur « M2 » rapporte une bonne efficacité des traitements anthelminthiques dans son élevage.

Les ovins des élevages « M1 », « M6 » et « M7 » ne sont plus soumis à aucun traitement au moment des prélèvements. De plus, les pâtures de ces élevages ont certainement déjà été contaminées par de nouveaux œufs de SGI lorsque l'on a récupéré les fèces (période prépatente de 3 semaines). Cependant, les excréments parasitaires dans ces élevages sont relativement faibles, laissant suspecter une faible contamination des pâtures par les SGI.

Enfin, pour les élevages « M4 » et « M8 », l'échantillonnage des fèces a été effectué après la période de rémanence des anthelminthiques et juste à la fin de la période prépatente des SGI. Les excréments parasitaires dans ces élevages sont extrêmement faibles, ce qui est cohérent avec une non-contamination des pâtures par les SGI et donc, *a priori*, une bonne efficacité des anthelminthiques. Cependant, l'éleveur « M4 » rapporte une efficacité moyenne des antiparasitaires utilisés : ainsi, cela peut supposer que des parasites résistants existent dans l'élevage « M4 » mais à des prévalences trop basses pour être observés en coproscopie.

Nom de l'élevage	Nombre de traitements annuels	Date du dernier traitement	SPECIALITE® effectuée au dernier traitement	Composition (famille d'antiparasitaire)	Rémanence	Date échantillonnage fèces
M1	2 à 3	Septembre 2018	CLOSAMECTIN®	Ivermectine (Lactone Macrocyclique) + Closantel (Salicylanilidés)	8 semaines pour <i>Haemonchus contortus</i> , 15 jours pour les autres espèces	12/02/2019
M2	1 à 2	Juillet 2018	CYDECTINE LA INJECTABLE®	Moxidectine longue action (Lactone Macrocyclique)	4 mois	24/10/2018
M3	1	Septembre 2018	CYDECTINE 0,1% SOLUTION ORALE®	Moxidectine (Lactone Macrocyclique)	5 semaines pour <i>H. contortus</i> 8 semaines	23/10/2018
M4	3	Septembre 2018	IVOMECS®	Ivermectine (Lactone Macrocyclique)	7 jours	23/10/2018
M5	Suivant signes cliniques	/	/	/	/	08/11/2018
M6	1 à 2	Avril 2018	IVOMECS®	Ivermectine (Lactone Macrocyclique)	7 jours	08/11/2018
M7	2	Juillet 2018	CYDECTINE 0,1% SOLUTION ORALE®	Moxidectine (Lactone Macrocyclique)	5 semaines pour <i>H. contortus</i> 8 semaines	08/11/2018
M8	2 à 3	Août 2018	CYDECTINE 0,1% SOLUTION ORALE®	Moxidectine (Lactone Macrocyclique)	5 semaines pour <i>H. contortus</i> 8 semaines	08/11/2018

Tableau 6 : Dernier traitement anthelminthique effectué dans les huit élevages d'ovins échantillonnés

2.1.2. Chez les chevreuils

2.1.2.1. Résultats des coproscopies individuelles

Lors de l'analyse coproscopique, les œufs de strongles ont été observés en majorité (cf tableau 7). Cependant, quelques œufs de strongles du genre *Nematodirus spp.* ont pu être mis en évidence dans six échantillons (un œuf observé dans cinq échantillons et sept œufs dans un échantillon).

	Tous les chevreuils	Chevreuils dont les fèces ont été ramassées à même le sol	Chevreuils dont les fèces ont été récupérées lors des captures	Chevreuils considérés comme "sans contact" avec les élevages d'ovins	Chevreuils considérés comme "avec contact" avec les élevages d'ovins
Excrétion parasitaire moyenne (opg) (Min-Max/Médiane)	308,8 (0-4200/50)	405,9 (0-4200/50)	67,3 (0-1150/25)	266,3 (0-4200/50)	354,3 (0-3050/50)

Tableau 7 : Résultats des coproscopies individuelles des fèces de chevreuils

2.1.2.2. Modèles statistiques et facteurs pouvant expliquer les différentes excrétions parasitaires observées

Dans un premier temps, nous avons cherché à expliquer la présence ou l'absence d'excrétion parasitaire en strongles chez les chevreuils.

Pour cela, nous avons utilisé un modèle dit complet comprenant les variables « contact », « végétation » et « saison », et comparé l'ensemble des modèles combinant l'une ou plusieurs de ces variables. Nous avons alors comparé les AIC des différents modèles (cf tableau 8) :

Modèles	AIC
Opg~saison	AIC = 85.639
Opg~vegetation+saison	AIC = 87.88
Opg~contact+vegetation+saison	AIC = 88.301
Opg~vegetation	AIC = 91.781
Opg~c (constante) = modèle nul	AIC = 95.738
Opg~contact	AIC = 96.104

Tableau 8 : comparaison des AIC des différents modèles proposés

Le modèle avec l'AIC le plus bas est le modèle Opg~saison : c'est le modèle que nous avons retenu.

A l'aide d'un test de Wilcoxon, nous avons objectivé une différence (cf figure 29) significative d'excrétion parasitaire selon la saison. Ainsi, on observe une excrétion parasitaire plus élevée en automne qu'en hiver (pvalue=0,05).

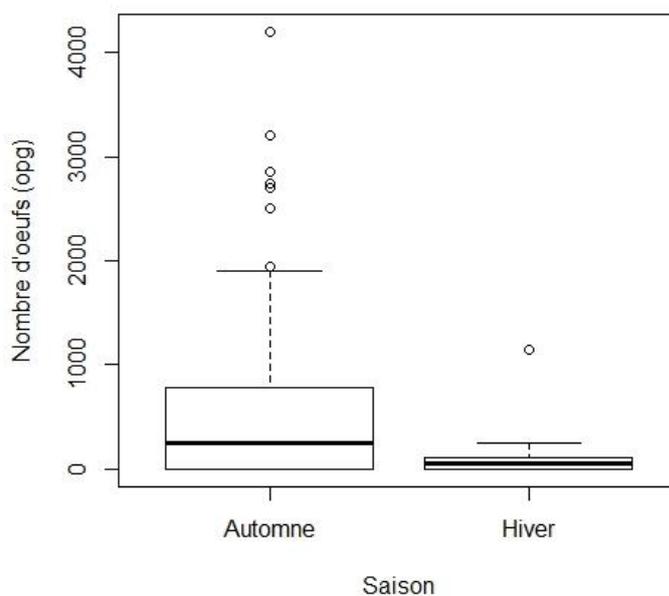


Figure 29 : Influence de la saison sur l'excrétion de SGI chez les chevreuils

2.2. ESPECES DE PARASITES PRESENTES CHEZ LES MOUTONS ET LES CHEVREUILS DANS LES CANTON D'AURIGNAC

Les figures 30 et 31 (ci-dessous) représentent le nématobiome des chevreuils et des ovins échantillonnés dans le canton d'Aurignac. Il est issu de l'étude des séquences ITS-2 des strongles gastro intestinaux, réalisée par l'université de Calgary au Canada.

Pour les élevages de moutons de M1 à M8, chaque barre représente un mélange de fèces de l'élevage en question. Pour les chevreuils, chaque barre représente un individu qui a été assigné ou non à un élevage d'ovins selon sa distance géographique de l'exploitation. Le groupe de chevreuils « C » représente les chevreuils qui n'ont été assignés à aucun élevage de moutons. Le dernier groupe de chevreuil « *captured* » correspond aux fèces récupérées lors des captures de chevreuils réalisées par le CEFS-INRAE. Ces deux groupes sont « sans contact » avec des élevages d'ovins. Les chevreuils des groupes « M1 » à « M8 » représentent les chevreuils « en contact » avec les élevages d'ovins correspondants.

Les différentes colonnes montrent l'abondance relative de chacune des espèces de NGI pour chaque individu ou chaque mélange.

Au total, 18 genres ou espèces de SGI ont été retrouvés dans les échantillons de fèces, chevreuils et moutons confondus. Chez les chevreuils, 2,90 espèces/genres de SGI par individu ont été identifiés (min = 1 ; max = 7). Chez les moutons, une diversité d'espèces plus importante a pu être mise en évidence dans chacun des échantillons : en moyenne, 7,1 espèces/genres de SGI ont été retrouvés dans chacun des mélanges de fèces réalisés (min = 2 pour l'élevage « M4 » ; max = 10 pour l'élevage « M6 »). Si l'on s'intéresse au nombre d'espèces/genres de SGI par élevage, l'élevage « M7 » est celui où la diversité d'espèces identifiées est la plus faible (moyenne = 4) et, à l'inverse, l'élevage « M6 » est celui qui présente la diversité d'espèces la plus importante (moyenne = 9,5).

En outre, les espèces les plus fréquemment identifiées chez les chevreuils et les moutons confondus sont *H. contortus* et *T. axei*. Chez les chevreuils, *H. contortus* et *T. axei* sont retrouvés dans respectivement 54 et 57 échantillons et ils sont identifiés dans tous les élevages de moutons. De plus, on remarque que, chez les chevreuils, les quatre autres espèces les plus souvent rencontrées derrière *H. contortus* et *T. axei* sont *Oesophagostomum venulosum*, *S. spiculoptera*, *O. leptospicularis* et *Trichostrongylus* spp. (identifiées dans respectivement 27, 24, 21 et 20 échantillons).

Chez les ovins, les espèces prédominantes derrière *H. contortus* et *T. axei* sont *C. curticei*, *C. fuelleborni*, *Cooperia* spp., *T. circumcincta* et *T. colubriformis* (identifiés dans respectivement 18, 18, 19, 17 et 18 échantillons).

Enfin, le tableau 9 est une synthèse des différents résultats obtenus.

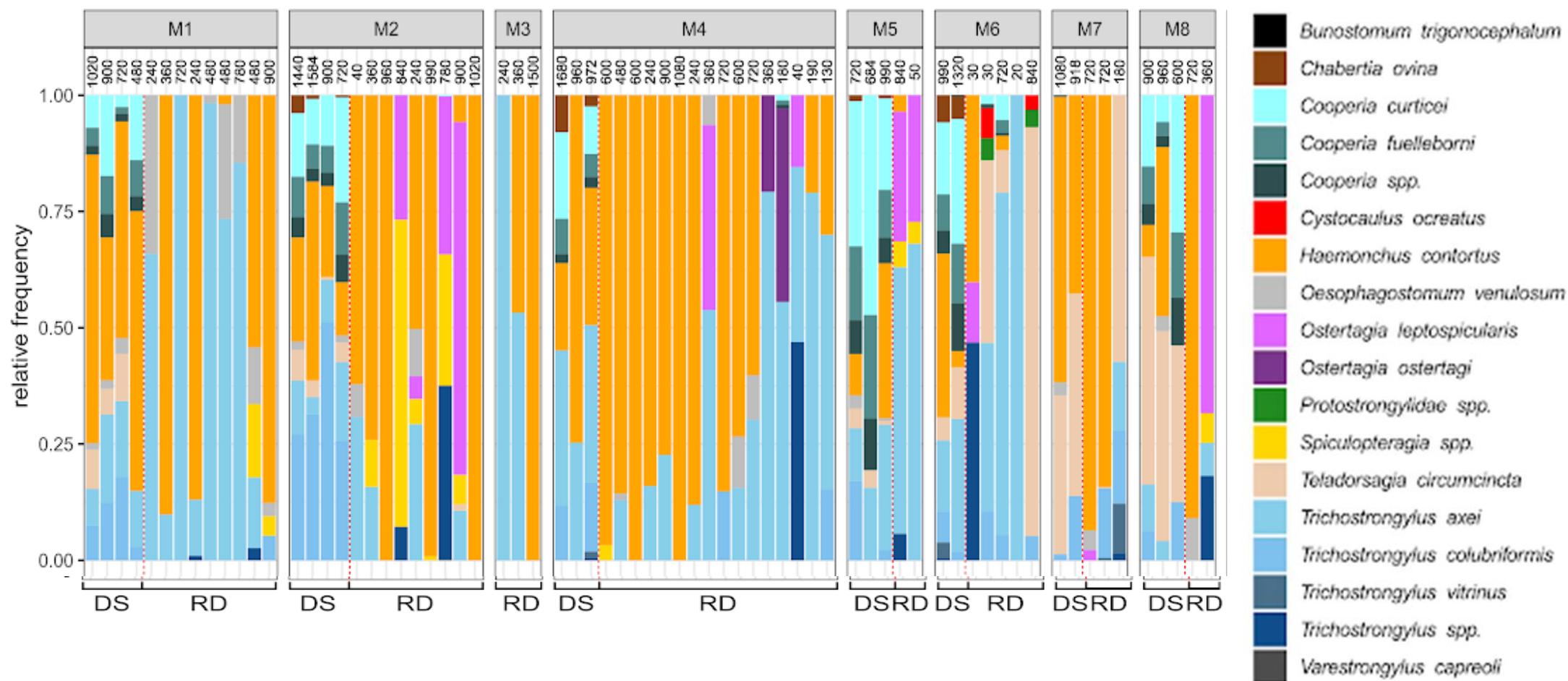


Figure 30 : Fréquence relative des espèces de strongles gastro-intestinaux dans les élevages d'ovins et chez les chevreuils « en contact » avec ces élevages d'ovins
 DS = Domestic Sheep et RD = Roe Deer (Source : Camille Beaumelle- VetAgro Sup, UMR CNRS 5558 – LBBE, et USMB d'après Elisabeth Redman – University of Calgary)

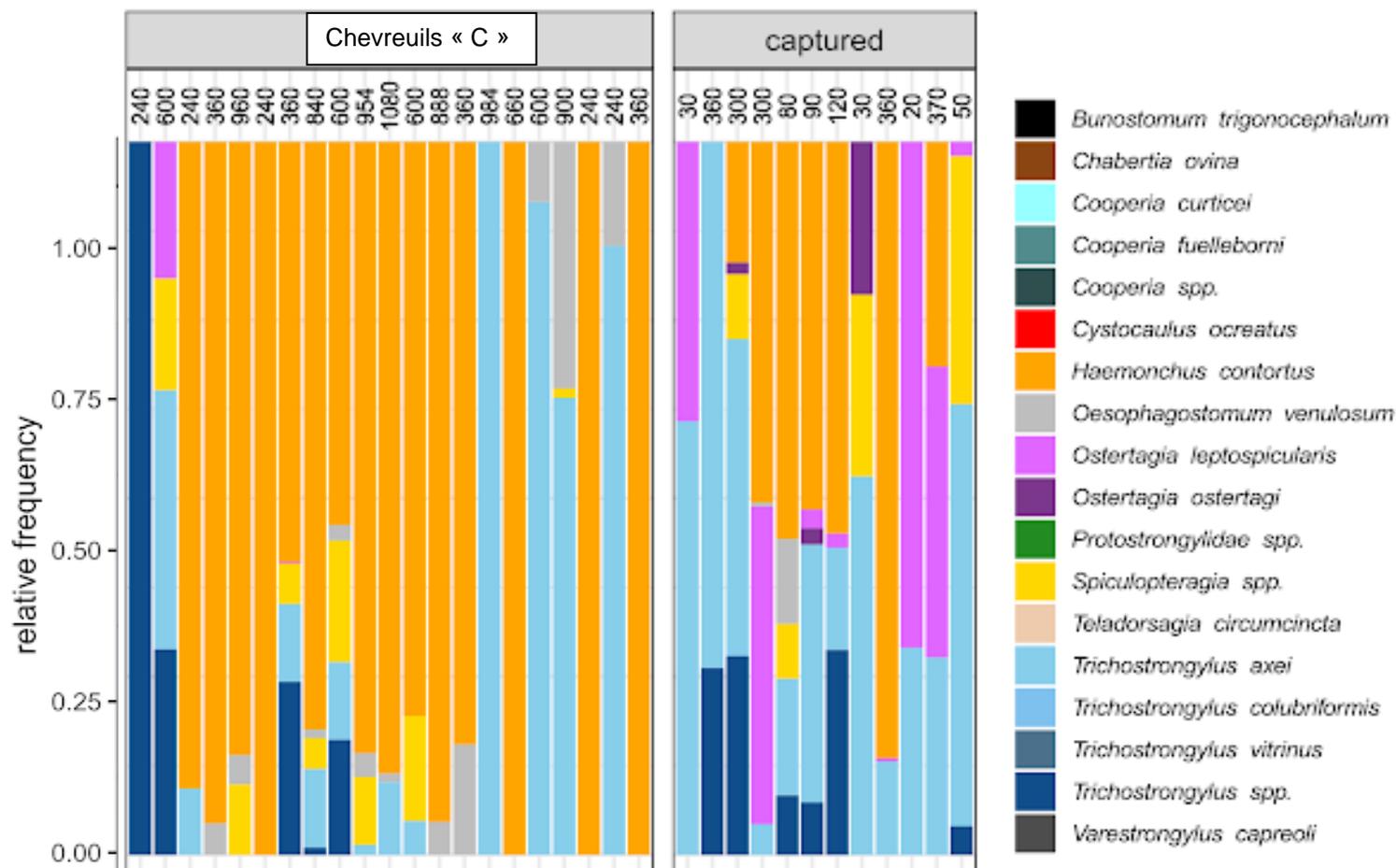


Figure 31 : Fréquence relative des espèces de strongles gastro-intestinaux chez les chevreuil « sans contact » avec les élevages d’ovins

Les chevreuil notés « C » sont les chevreuil dont les fèces ont été ramassées et dont les domaines vitaux n’intersectaient aucun élevage de moutons, ils sont considérés comme « sans contact » avec des élevages d’ovins.

Les chevreuil notés « Captured » correspond aux chevreuil dont les fèces ont été récupérées lors des captures réalisées par le CEFS – INRAe et qui sont considérés comme « sans contact » avec des élevages d’ovins. (Source : Camille Beaumelle- VetAgro Sup, UMR CNRS 5558 – LBBE, et USMB d’après Elisabeth Redman – University of Calgary)

2.2.1. Espèces de SGI présentes majoritairement chez les chevreuils

Les principales espèces de strongles gastro-intestinaux identifiées uniquement chez les chevreuils sont *Ostertagia leptospicularis*, *Ostertagia ostertagi*, *Spiculoptertagia spiculoptera* et *Trichostrongylus spp.*

O. leptospicularis est retrouvé chez 26% des chevreuils échantillonnés (22% et 30% chez les chevreuils avec et sans contact avec des ovins, respectivement). Chez les individus où *O. leptospicularis* a été identifié, l'abondance relative moyenne est d'environ 7% (min = 0% ; max = 75%).

S. spiculoptera a une prévalence égale à 30% chez les chevreuils (25% et 36% chez les chevreuils avec et sans contact avec des ovins, respectivement). Son abondance relative moyenne est d'environ 4% (min = 0% ; max = 66%).

De plus, dans un tiers des échantillons où *S. spiculoptera* est retrouvé, on identifie aussi *O. leptospicularis*.

Les strongles du genre *Trichostrongylus spp.* sont, eux, identifiés chez 24% des chevreuils avec une abondance relative moyenne de 5,4% (min = 0% ; max = 100%). Leur prévalence chez les chevreuils avec et sans contact avec des moutons est respectivement de 18% et 33%.

O. ostertagi est, lui, retrouvé chez relativement peu d'individus (6%), avec une abondance relative moyenne faible autour de 1% (min = 0% ; max = 41%).

Enfin, trois espèces sont identifiées chez un nombre anecdotique d'individus avec des abondances relatives moyennes très faibles : *Cystocaulus ocreatus*, *Protostrongylidae spp.* et *Varestrongylus capreoli*.

2.2.2. Espèces de SGI présentes majoritairement chez les moutons

Plusieurs espèces de strongles gastro-intestinaux ont été identifiées principalement chez les moutons et de façon anecdotique chez les chevreuils.

C'est le cas de *Cooperia curticei* et *Cooperia fuelleborni*, qui ont été retrouvés dans 86% des mélanges de fèces réalisés et dans quasiment tous les élevages d'ovins (excepté « M7 »). L'abondance relative moyenne de *C. curticei* chez les moutons est de 15% (min = 0% ; max = 47%) ; elle est relativement faible pour *C. fuelleborni* (moins de 10% ; min = 0% ; max = 22%).

C. curticei et *C. fuelleborni* ont une prévalence globale chez les chevreuils inférieure à 5% avec des abondances relatives proches de zéro. On remarque cependant que ces deux espèces de SGI ne sont retrouvées que chez des chevreuils « en contact » avec des élevages d'ovins, avec des prévalences respectives de 8% et 4%.

De même, *Cooperia* spp. a une prévalence forte chez les moutons (90%), avec une abondance relative moyenne faible de 4% (min = 0% ; max = 11%). Ils ne sont retrouvés que chez des chevreuils « en contact » avec des élevages d'ovins (prévalence globale de 3,7% et prévalence chez les chevreuils « en contact » de 6,1%). L'abondance relative moyenne chez les chevreuils est très faible (<1%, min = 0% et max = 0,8%).

Teladorsagia circumcincta est détecté dans les trois-quarts des mélanges de fèces d'ovins, avec une abondance relative moyenne de 13% (min = 0 ; max = 49%), sauf pour ceux de l'élevages "M4".

T. circumcincta est aussi identifié chez un faible nombre de chevreuils (7%), avec une abondance relative moyenne inférieure à 5% (min = 0% ; max = 88%). On remarque également que *T. circumcincta* est retrouvé uniquement chez les chevreuils « en contact » avec des élevages d'ovins (prévalence de 12%), notamment chez des individus proches des élevages « M6 » et « M7 ».

De même, *Trichostrongylus colubriformis* est surtout identifié chez les moutons (prévalence = 86%), avec une abondance relative moyenne de 13% (min = 0% ; max = 51%). Il est retrouvé dans tous les élevages d'ovins mais chez uniquement 10% des chevreuils. Cependant, *T. colubriformis* n'est présent que chez des chevreuils « en contact » avec des élevages d'ovins, avec une prévalence de 16%, et notamment chez des individus proches des élevages « M4 », « M5 », « M6 » et « M7 ». L'abondance relative moyenne est faible autour de 1% (min = 0 ; max = 16%).

En conclusion, *C. curticei*, *C. fuelleborni*, *Cooperia* spp., *T. circumcincta* et *T. colubriformis* sont identifiés principalement chez les moutons mais aussi chez les chevreuils, avec cependant des prévalences et des abondances relatives plus faibles que chez les ovins. De plus, nous remarquons que, chez les cervidés, ces quatre espèces de SGI sont retrouvées uniquement chez des chevreuils « en contact » avec des élevages d'ovins.

Enfin, *Charbertia ovina* et *Bunostomum trigonocephalum* sont uniquement identifiés chez les ovins mais avec des abondances relatives moyennes faibles (<1%).

2.2.3. Espèces de SGI présentes à des niveaux comparables chez les ovins et les chevreuils

Trois espèces de strongles sont identifiées avec des prévalences relativement proches chez les ovins et les chevreuils : *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei* et *Oesophagostomum venulosom*.

2.2.3.1. *Haemonchus contortus*

H. contortus est présent dans tous les élevages d'ovins, avec une prévalence globale de 90,5% et une abondance relative moyenne de 31% (min = 0% et max = 75%). Concernant les chevreuils, *H. contortus* a été identifié dans plus de la moitié des échantillons avec une prévalence globale de 65,9%. De plus, on remarque qu'*H. contortus* a été mis en évidence autant chez les chevreuils « en contact » et « sans contact » avec des ovins, avec des prévalences respectives de 65,3% et 66,7%. L'abondance relative moyenne globale chez les chevreuils est de 47% (min = 0% et max = 100%), et elle est comparable chez les cervides « avec contact » et « sans contact » avec des moutons (respectivement 44% et 50%).

Afin d'estimer la transmission de ce parasite entre ovins et chevreuils, la présence d'*H. contortus* chez la population de chevreuils en contact avec les élevages d'ovins a été comparée à celle hors contact, à l'aide d'un modèle linéaire généralisé avec une distribution binomiale.

Le modèle linéaire généralisé (presencehaemonchus~contact_elevage) n'a pas montré d'influence du contact des chevreuils avec des ovins domestiques sur la présence d'*H. contortus* (pvalue = 0,7).

2.2.3.2. *Trichostrongylus axei* et *Oesophagostomum venulosum*

T. axei est retrouvé dans tous les groupes de chevreuils formés avec une prévalence de 69,5%. Comme pour *H. contortus*, on remarque que les prévalences de *T. axei* entre les chevreuils « avec contact » et « sans contact » avec des ovins sont extrêmement proches (respectivement de 67,3% et de 69,7%). *T. axei* est aussi mis en évidence dans quasiment tous les élevages de moutons échantillonnés (sauf "M7"), avec une prévalence de 85,7%. Les abondances relatives moyennes pour *T. axei* sont respectivement de 30% (min = 0%; max = 100%) et de 14% (min = 0%; max = 34%) pour les chevreuils et les ovins.

O. venulosum est aussi présent à des prévalences comparables chez les ovins et les chevreuils (respectivement à 43% et 33%), tout comme les abondances relatives moyennes (<5%).

Enfin, *Trichostrongylus vitrinus* est faiblement présent chez les ovins et les chevreuils, avec des prévalences respectives de 9,5% et 2,4%. Pour les chevreuils, on remarque que *T. vitrinus* n'est identifié que chez des chevreuils « avec contact » avec des élevages d'ovins (prévalence de 4,1%). Que ce soit chez les chevreuils ou les moutons, l'abondance relative moyenne de *T. vitrinus* est faible (<1%).

2.2.4. Synthèse

Le tableau 9 ci-dessous regroupe tous les résultats exposés précédemment. Il rapporte toutes les espèces mises en évidence par l'étude des séquences ITS-2 des strongles gastro intestinaux, réalisée par l'université de Calgary au Canada.

Espèce de NGI	Présence chez les chevreuils ?	Présence chez les moutons ?	Prévalence chevreuils globale	Prévalence chevreuils « sans contact »	Prévalence chevreuils « avec contact »	Prévalence moutons	Abondance relative moyenne chevreuils en %	Abondance relative moyenne moutons en % (min – max)
<i>Cystocaulus ocreatus</i>	Présence	Absence	2,4	0,0	4,1	0,0	<1%	0,0
<i>Ostertagia leptospicularis</i>	Présence	Absence	25,6	30,3	22,4	0,0	6,8	0,0
<i>Ostertagia ostertagi</i>	Présence	Absence	6,1	9,1	4,1	0,0	1,1	0,0
<i>Protostrongylidae spp</i>	Présence	Absence	2,4	0,0	4,1	0,0	<1%	0,0
<i>Spiculoptertagia spiculoptera</i>	Présence	Absence	29,3	36,4	24,5	0,0	3,8	0,0
<i>Trichostrongylus spp</i>	Présence	Présence	24,4	33,3	18,4	9,5	5,4	<1%
<i>Varestrongylus capreoli</i>	Présence	Absence	1,2	0,0	2,0	0,0	<1%	0,0
<i>Bunostomum trigonocephalum</i>	Absence	Présence	0,0	0,0	0,0	4,8	0,0	<1%
<i>Chabertia ovina</i>	Absence	Présence	0,0	0,0	0,0	42,9	0,0	1,3
<i>Cooperia spp.</i>	Présence	Présence	3,7	0,0	6,1	90,5	<1%	4,2
<i>Cooperia curticei</i>	Présence	Présence	4,9	0,0	8,2	85,7	<1%	15,1
<i>Cooperia fuelleborni</i>	Présence	Présence	2,4	0,0	4,1	85,7	<1%	7,6
<i>Teladorsagia circumcincta</i>	Présence	Présence	7,3	0,0	12,2	71,4	2,4	12,9
<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	Présence	Présence	9,8	0,0	16,3	85,7	1,1	12,6
<i>Haemonchus contortus</i>	Présence	Présence	65,9	66,7	65,3	90,5	46,7	30,8
<i>Oesophagostomum venulosum</i>	Présence	Présence	32,9	39,4	28,6	42,9	3,1	<1%
<i>Trichostrongylus axei</i>	Présence	Présence	69,5	69,7	67,3	85,7	29,2	14,3
<i>Trichostrongylus vitrinus</i>	Présence	Présence	2,4	0,0	4,1	9,5	<1%	<1%

Tableau 9 : Synthèse des résultats (En vert = espèces présentes exclusivement chez les chevreuils ; en rouge = espèces présentes en majorité chez les ovins ; en bleu = espèces présentes à des niveaux comparables chez les ovins et les chevreuil)

2.3. LA PRESENCE DE STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX RESISTANTS AUX BENZIMIDAZOLES CHEZ *OVIS ARIES* ET *CAPREOLUS CAPREOLUS* DANS LE CANTON D'AURIGNAC

2.3.1. Lecture des résultats

Les figures 30, 31, 33 et 34 sont issues des résultats du séquençage haut-débit du gène de l'isotype 1 codant pour la bêta-tubuline des strongles gastro intestinaux, à partir des fèces de moutons et de chevreuils récoltés dans le canton d'Aurignac, réalisé par l'université de Calgary au Canada.

Les figures 30 et 31 concernent uniquement *H. contortus* et les figures 33 et 34 concernent *T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei*. Les mutations majoritaires chez ces quatre espèces étant identiques, les résultats ont été regroupés dans les mêmes figures.

Chaque barre représente l'abondance relative de chacune des mutations recherchées.

2.3.2. Présence d'*Haemonchus contortus* résistants aux benzimidazoles

2.3.2.1. Chez les moutons

Des mutations ponctuelles sur un acide aminé du gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline des *H. contortus* ont été retrouvées dans tous les élevages de moutons échantillonnés, même si deux tendances sont observables.

Pour les élevages "M6" et "M7", la proportion relative d'*H. contortus* ne possédant pas de gène de résistance aux benzimidazole est forte avec, pour chacun des élevages, plus de 70% des copies du gène conférant une sensibilité aux benzimidazoles chez les *H. contortus*.

A l'inverse, pour les élevages "M1", "M2", "M4", "M5" et "M8", l'abondance relative de copies du gène de l'isotype 1 de la β -tubuline ayant une mutation ponctuelle conférant une résistance aux benzimidazoles chez *H. contortus* est > 90%.

2.3.2.2. Chez les chevreuils

2.2.2.2.1. Prévalences

La prévalence globale de chevreuils hébergeant des *H. contortus* porteurs du du gène de l'isotype 1 de la β -tubuline ayant une mutation ponctuelle conférant une **résistance** aux benzimidazoles est de 39,3%. On remarque que cette prévalence est plus importante chez les chevreuils considérés comme étant « en contact » avec les élevages d'ovins par rapport à ceux « sans contact » (respectivement 62,9% et 12,5%).

Le tableau 10 ci-dessous rapporte les principales données chez les chevreuils concernant les prévalences et les abondances des copies du gène de l'isotype 1 de la β -tubuline ayant une mutation ponctuelle conférant une résistance aux benzimidazoles chez *H. contortus*.

	Prévalence (%)	Abondance (%)
Chevreuil globale (N=51)	39,3	8,7
Chevreuil "sans contact" (N=24)	12,5	1,5
Chevreuil "avec contact" (N=27)	62,9	15,8

*Tableau 10 : Prévalences et abondances de copies du gène de l'isotype 1 de la β -tubuline ayant une mutation ponctuelle conférant une résistance aux benzimidazoles chez *H. contortus**

De plus, nous remarquons que l'abondance de copies de gènes chez les chevreuils hébergeant des *H. contortus* conférant une résistance aux benzimidazoles est très variable d'un échantillon à un autre. En moyenne, le pourcentage de copies de gènes conférant une résistance aux benzimidazoles chez les chevreuils est faible (<10% ; min = 1% ; max = 100%). On peut cependant observer que l'abondance relative moyenne de copies de gènes conférant une résistance aux benzimidazoles est plus élevée chez les chevreuils qui sont « en contact » avec les élevages de moutons que ceux « sans contact » (respectivement 15,8% et 1,5%).

H. contortus

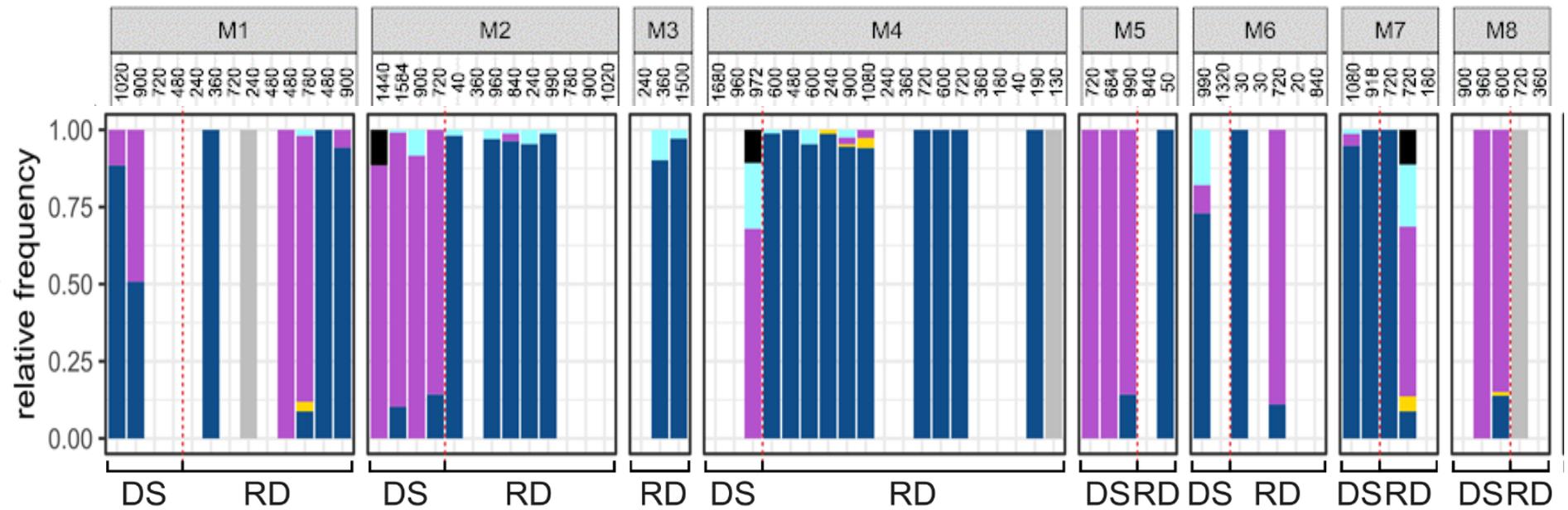
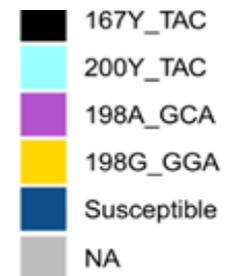


Figure 32 : bars plots des élevages d'ovins et des chevreuils en contact avec ces élevages, représentant l'abondance relative de chacune des mutations d'*H. contortus* pour chaque échantillon

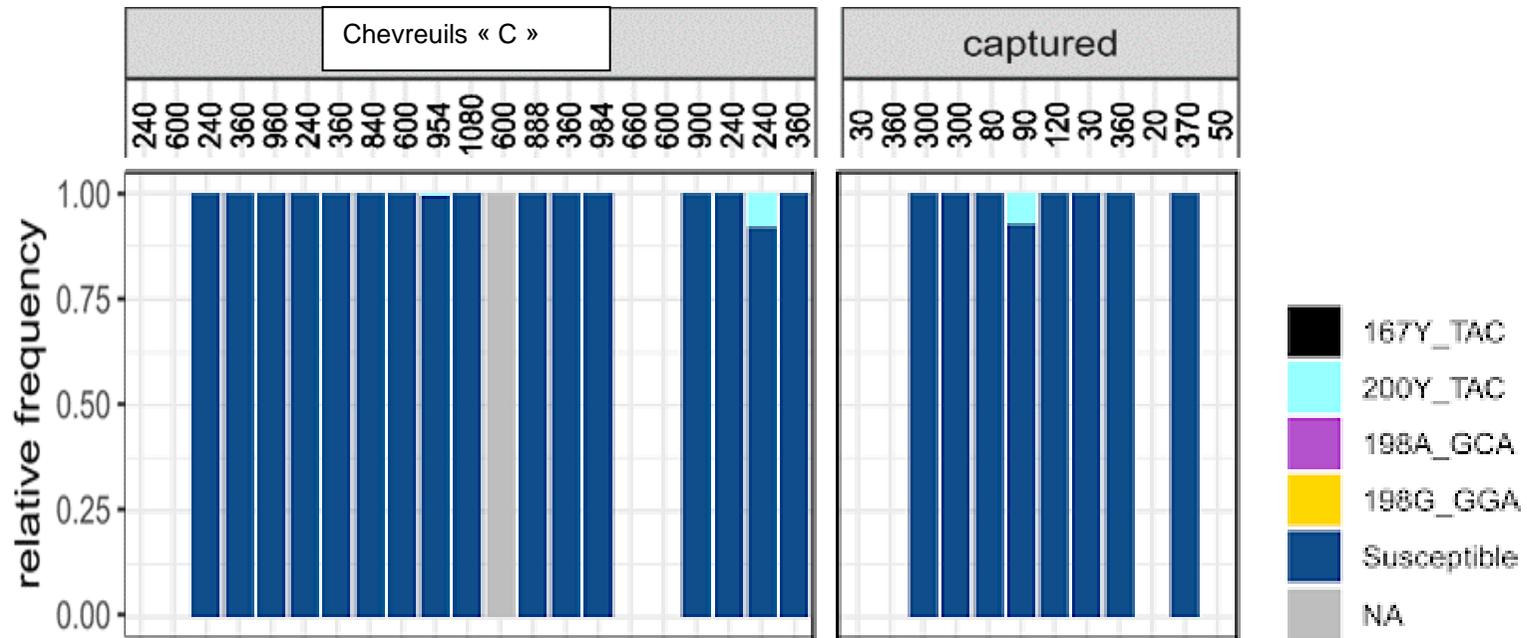
DS = Domestic Sheep = moutons domestiques et RD = Roe Deer = chevreuils ;

Aucune couleur = aucune séquence de bêta-tubuline détectée ou absence d'*H. contortus* dans l'échantillon ;

NA = séquence de bêta-tubuline détectée mais non analysable. (Source : Camille Beaumelle- VetAgro Sup, UMR CNRS 5558 – LBBE, et USMB d'après Elisabeth Redman – University of Calgary)



H. contortus



*Figure 33 : bars plots des deux groupes de chevreuils considérés comme "sans contact" avec un élevage d'ovin, représentant l'abondance relative de chacune des mutations d'*H. contortus* pour chaque échantillon*

Aucune couleur = aucune séquence de bêta-tubuline détectée et NA = séquence de bêta-tubuline détectée mais non analysable

Les chevreuils notés « C » sont les chevreuils dont les fèces ont été ramassées et dont les domaines vitaux n'intersectaient aucun élevage de moutons, ils sont considérés comme « sans contact » avec des élevages d'ovins.

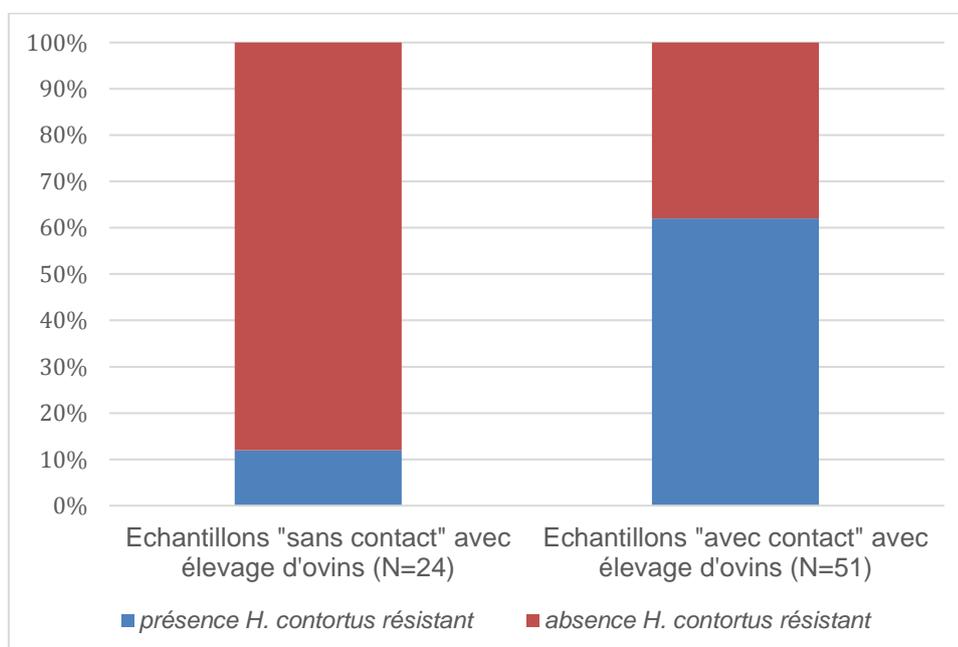
Les chevreuils notés « Captured » correspond aux chevreuils dont les fèces ont été récupérées lors des captures réalisées par le CEFS – INRAe et qui sont considérés comme « sans contact » avec des élevages d'ovins. (Source : Camille Beaumelle- VetAgro Sup, UMR CNRS 5558 – LBBE, et USMB d'après Elisabeth Redman – University of Calgary)

2.2.2.2.2. Modèle statistique

Nous avons considéré un chevreuil comme porteur d'*H. contortus* résistant aux benzimidazoles à partir du moment où la proportion d'*H. contortus* avec une mutation ponctuelle sur le gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline était strictement supérieur à 0%. A l'inverse, un individu est considéré sensible aux benzimidazoles si 100% des *H. contortus* présents ne possède aucune mutation ponctuelle sur le gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline.

La figure 32 illustre les résultats exposés dans le tableau 10 : il semblerait qu'il y a plus d'*H. contortus* résistants aux benzimidazoles chez les chevreuils « en contact » avec les élevages d'ovins par rapport aux individus « sans contact » (respectivement 62% et 12%).

Le modèle *presencehaemonchusresistant~contact_elevage* a montré un AIC plus bas que celui du modèle nul ($\Delta AIC = 23,52$). Selon le modèle, les chevreuils « en contact » avec les élevages d'ovins ont une probabilité plus élevée de porter des *H. contortus* possédant des gènes de résistance pour les benzimidazoles que les chevreuils « sans contact » (pvalue = 0,008) (cf figure 34).



*Figure 34 : Comparaison des pourcentages de gènes de l'isotype 1 de la β -tubuline conférant une résistance (présence) ou une sensibilité (absence) aux benzimidazoles chez les *H. contortus* isolés dans des populations de chevreuils en contact ou non avec des prairies d'ovins*

2.3.2.3. Mutations ponctuelles présentes

On s'intéresse maintenant à la population d'*H. contortus* possédant des copies de gène de l'isotype 1 de la β -tubuline leur conférant une résistance. Quatre mutations ponctuelles différentes ont été mises en évidence : 167Y, 200Y, 198G et 198A (cf figure 34).

La prévalence et l'abondance relative moyenne des différentes mutations dans les échantillons où des *H. contortus* porteurs de gènes conférant une résistance aux benzimidazoles est rapportée dans le tableau 11 ci-dessous :

	167Y	200Y	198G	198A
Prévalence des mutations chez les <i>H. contortus</i> résistants isolés chez les chevreuils (%)	5	75	25	40
Abondance relative moyenne chez les <i>H. contortus</i> résistants isolés chez les chevreuils (%)	<1	4,7	<1	12,4
Prévalence des mutations chez les <i>H. contortus</i> résistants isolés chez les ovins (%)	14	36	7	100
Abondance relative moyenne chez les <i>H. contortus</i> résistants isolés chez les ovins (%)	1,6	4,6	<1	57,3

Tableau 11 : Prévalence et abondance relative moyenne des différentes mutations présentes chez *Haemonchus contortus* chez les ovins et les chevreuils

On remarque que, chez les chevreuils, la mutation chez les *H. contortus* résistants isolés la plus présente est la mutation 200Y. Chez les ovins, la mutation chez les *H. contortus* résistants isolés la plus présente est la mutation 198A. Cette dernière est présente dans tous les échantillons où des *H. contortus* résistants ont été mis en évidence chez les moutons.

De plus, on remarque aussi que, sur les trois échantillons « sans contact » avec des élevages ovins où des copies de gènes de résistance aux benzimidazoles ont été mis en évidence, il n'y a que la mutation 200Y qui est présente et en faible quantité (<10%). Les mutations 167Y, 198G et 198A n'ont été mises en évidence que dans des échantillons provenant de chevreuils « en contact » avec des élevages d'ovins.

Enfin, la présence d'une mutation dans un élevage d'ovins n'est pas toujours corrélée à une présence dans les fèces de chevreuils à proximité. Par exemple, pour l'élevage « M1 », la mutation 198A est présente à la fois chez les moutons et chez les chevreuils à proximité mais les mutations 198G et 200Y sont uniquement retrouvées chez les chevreuils.

De plus, on observe que les abondances relatives des copies de gènes des différentes mutations sont faibles chez les chevreuils. Chez les ovins, la mutation la plus représentée en termes d'abondance est la mutation 198A (57,3%).

2.3.3. Autres espèces de SGI et résistances aux benzimidazoles

La résistance aux benzimidazoles a aussi été étudiée chez quatre autres espèces de strongles : *T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei*. Elles représentent les espèces de SGI les plus étudiées et sur lesquelles des données sur les résistances aux benzimidazoles sont connues.

2.3.3.1. Chez les moutons

Des mutations ponctuelles sur un nucléotide du gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline chez *T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei* ont été retrouvées dans tous les élevages de moutons échantillonnés. Dans la plupart des mélanges où des séquences de bêta-tubuline ont été détectées (soit 90% des mélanges réalisés), l'abondance relative des mutations ponctuelles est très élevée (entre 80 et 100% ; cf figure 32).

2.3.3.2. Chez les chevreuils

2.2.3.1. Prévalences

La prévalence globale de chevreuils hébergeant des *T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei* porteurs du du gène de l'isotype 1 de la β -tubuline (cf figure 35) ayant une mutation ponctuelle conférant une résistance aux benzimidazoles est de 76,5%. On remarque que, contrairement à ce qui se passe pour *H. contortus*, la prévalence de copies du gène conférant une résistance aux benzimidazoles chez *T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei* est du même ordre de grandeur chez les chevreuils considérés comme étant « en contact » et « sans contact » avec les élevages d'ovins (respectivement 84,6% et 65,5%).

De plus, l'abondance relative moyenne de copies du gène de l'isotype 1 de la β -tubuline ayant une mutation ponctuelle conférant une résistance aux benzimidazoles est plus élevée que pour *H. contortus* (respectivement 33,3% et 8,7%). On observe également que l'abondance relative moyenne pour les mutations conférant une résistance est trois fois plus élevée chez les chevreuils « avec contact » que ceux « sans contact » avec les élevages d'ovins (respectivement 46,5% et 15,5%).

Le tableau 12 ci-dessous rapporte les principales données chez les chevreuils concernant les prévalences et les abondances relatives moyennes des copies du gène de l'isotype 1 de la β -tubuline ayant une mutation ponctuelle conférant une résistance ou une sensibilité aux benzimidazoles chez *T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei*.

	Prévalence (%)	Abondance (%)
Chevreuil globale (N=68)	76,5	33,3
Chevreuil "sans contact" (N=29)	65,5	15,5
Chevreuil "avec contact" (N=39)	84,6	46,5

*Tableau 12 : Prévalences et abondances de copies du gène de l'isotype 1 de la β -tubuline ayant une mutation ponctuelle conférant une résistance aux benzimidazoles chez *T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei**

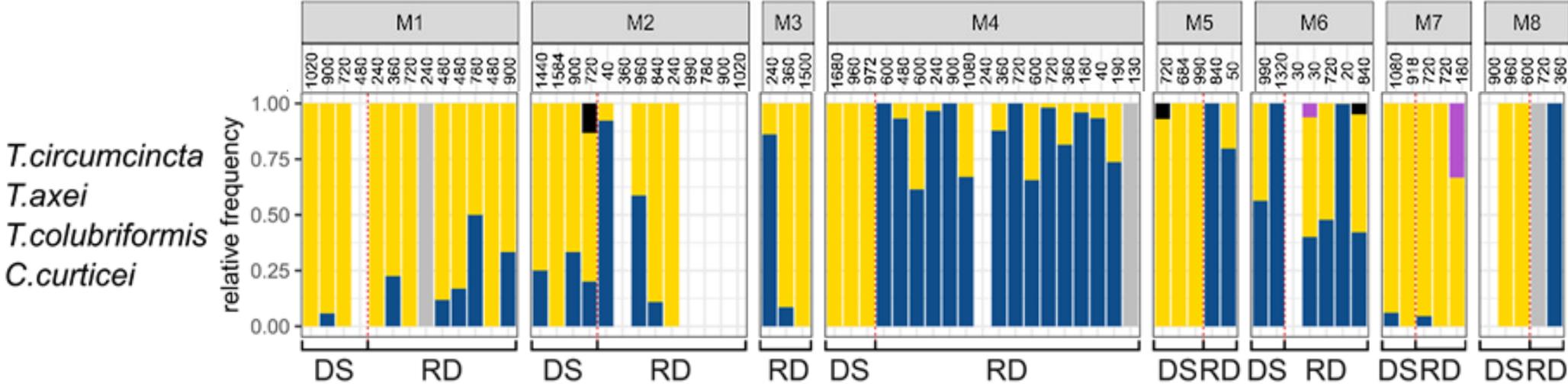


Figure 35 : bars plots des élevages d'ovins et des chevreuils « en contact » avec ces élevages, représentant l'abondance relative de chacune des mutations chez *T. circumcineta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei* pour chaque échantillon

DS = Domestic Sheep = moutons domestiques et RD = Roe Deer = chevreuils ;

Aucune couleur = aucune séquence de bêta-tubuline détectée et NA = séquence de bêta-tubuline détectée mais non analysable
 (Source : Camille Beaumelle- VetAgro Sup, UMR CNRS 5558 – LBBE, et USMB d'après Elisabeth Redman – University of Calgary)



T.circumcincta
T.axei
T.colubriformis
C.curticei

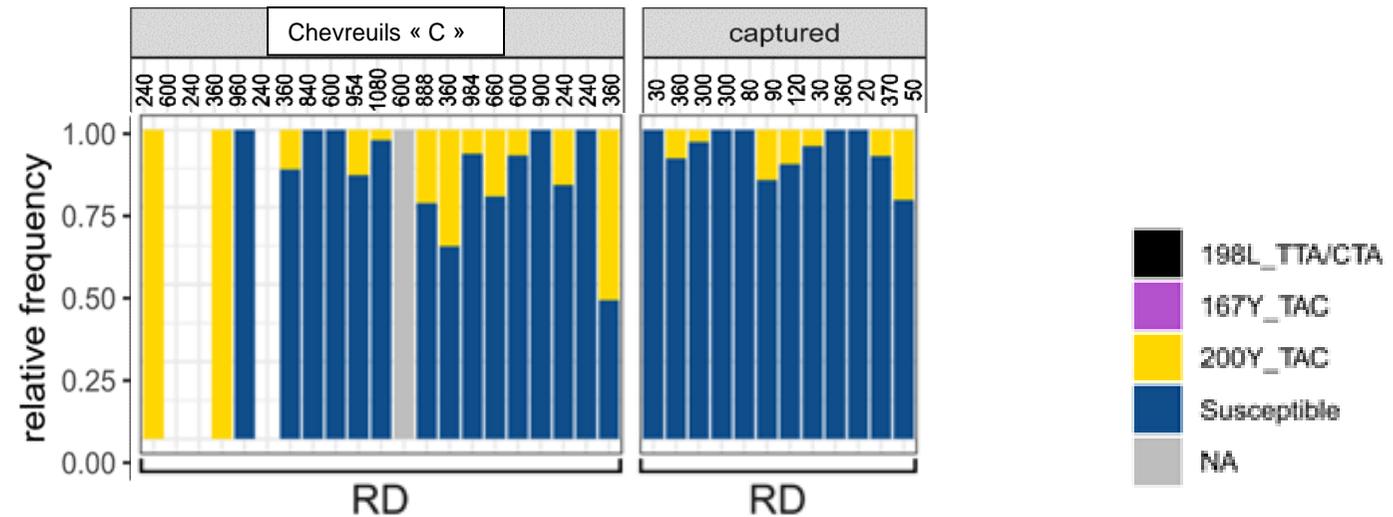


Figure 36 : bars plots des deux groupes de chevreuils considérés comme "sans contact" avec un élevage d'ovin, représentant l'abondance relative de chacune des mutations d'*H. contortus* pour chaque échantillon (Captured = chevreuils capturés)

Aucune couleur = aucune séquence de bêta-tubuline détectée et NA = séquence de bêta-tubuline détectée mais non analysable

Les chevreuils notés « C » sont les chevreuils dont les fèces ont été ramassées et dont les domaines vitaux n'intersectaient aucun élevage de moutons, ils sont considérés comme « sans contact » avec des élevages d'ovins.

Les chevreuils notés « Captured » correspond aux chevreuils dont les fèces ont été récupérées lors des captures réalisées par le CEFS – INRAe et qui sont considérés comme « sans contact » avec des élevages d'ovins. (Source : Camille Beaumelle- VetAgro Sup, UMR CNRS 5558 – LBBE, et USMB d'après Elisabeth Redman – University of Calgary)

2.2.3.2. Modèle statistique

Comme pour *H. contortus*, nous avons considéré un chevreuil comme porteur de *T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei* résistants aux benzimidazoles à partir du moment où la proportion de strongles avec une mutation ponctuelle sur le gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline était strictement supérieure à 0% (variable = *resistanceautres*). A l'inverse, un individu est considéré sensible aux benzimidazoles si 100% des *T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei* présents ne possède aucune mutation ponctuelle sur le gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline.

Le modèle *resistanceautres~contact_elevage* n'a pas montré de différence significative entre les populations de chevreuils « en contact » avec les élevages d'ovins et ceux « sans contact » (pvalue = 0,7).

2.3.3.3. Mutations présentes

Chez *T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei*, trois mutations ponctuelles différentes sur le gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline (cf figure 36) à l'origine d'une résistance aux benzimidazoles ont été mises en évidence : 167Y, 198L et 200Y.

On remarque clairement que, chez les chevreuils et les ovins, la mutation chez *T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei* résistants isolés la plus présente est la mutation 200Y (prévalence = 100% chez les ovins et les cervidés). L'abondance relative moyenne de la mutation 200Y est élevée chez les moutons et moyenne chez les chevreuils (respectivement 92% et 42,5%). Les deux autres mutations 167Y et 198L sont présentes de façon anecdotique chez les chevreuils et les ovins.

La prévalence et les abondances relatives moyennes des différentes mutations dans les échantillons où *T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei* porteurs de gènes conférant une résistance aux benzimidazoles chez les ovins et les chevreuils sont rapportées dans le tableau 13 ci-dessous.

	167Y	200Y	198L
Prévalence des mutations chez <i>T. circumcincta</i> , <i>T. axei</i> , <i>T. colubriformis</i> et <i>C. curticei</i> résistants isolés chez les chevreuils (%)	5	100	2
Abondance relative moyenne des mutations chez <i>T. circumcincta</i> , <i>T. axei</i> , <i>T. colubriformis</i> et <i>C. curticei</i> résistants isolés chez les chevreuils (%)	<1	42,5	<1
Prévalence des mutations chez <i>T. circumcincta</i> , <i>T. axei</i> , <i>T. colubriformis</i> et <i>C. curticei</i> résistants isolés chez les moutons (%)	0	100	1
Abondance relative moyenne des mutations chez <i>T. circumcincta</i> , <i>T. axei</i> , <i>T. colubriformis</i> et <i>C. curticei</i> résistants isolés chez les moutons (%)	0	92	1,5

Tableau 13 : Prévalence et abondances relatives moyennes des différentes mutations présentes chez T. circumcincta, T. axei, T.s colubriformis et C. curticei chez les ovins et les chevreuils

3. DISCUSSION

3.1. MISE EN EVIDENCE DE RESISTANCES AUX BENZIMIDAZOLES DANS LES ELEVAGES D'OVINS ECHANTILLONNES

3.1.1. Espèces de strongles présentes chez *Ovis aries* dans le canton d'Aurignac

Les espèces majoritaires chez les moutons des élevages échantillonnés sont *T. circumcincta*, *T. colubriformis* et *H. contortus*. Cela est en accord avec d'autres études menées sur l'helminthofaune des ovins en France, puisque ces trois espèces de SGI représentent à elles seules 95% de la charge parasitaire globale en strongles en France (Cabaret, 2004).

De même, *C. curticei* est présent dans quasiment tous les élevages de moutons, ce qui n'est pas étonnant du fait de sa prévalence non négligeable dans les élevages ovins sur le territoire français. (Cabaret, 2004).

Enfin, on pourrait s'attendre à ce que des élevages qui possèdent des pâturages accolés partagent les mêmes espèces de strongles. Ce n'est pourtant pas le cas pour les élevages « M2 » et « M7 » (cf figure 17) : en effet, les ovins de « M7 » sont principalement infestés par *H. contortus* et *T. circumcincta* alors que chez « M2 », il y a une hétérogénéité d'espèces plus marquée. On peut mettre ces résultats en lien avec les excrétions parasitaires observées dans ces deux élevages : l'élevage « M2 » est l'élevage où la plus forte excrétion parasitaire a été observée, pouvant ainsi être expliquée une hétérogénéité d'espèces plus importante. Il est important de souligner que les ovins de cet élevage étaient soumis à un traitement anthelminthique au moment de l'échantillonnage (moxidectine longue action) (cf tableau 6) : la forte excrétion parasitaire retrouvée peut supposer l'existence de SGI résistants aux lactones macrocycliques dans cet élevage. Dans l'élevage « M7 », des excrétions parasitaires plus faibles ont été observées, pouvant ainsi expliquer par la faible hétérogénéité d'espèces retrouvées.

3.1.2. Traitements et résistances aux anthelminthiques dans les élevages d'ovins

Sur les huit élevages de moutons échantillonnés, seuls quatre ont utilisé des benzimidazoles dans l'année précédant les prélèvements coprologiques : il s'agit de « M1 », « M4 », « M6 » et « M8 ». Cependant, des résistances aux benzimidazoles ont été observés dans tous les élevages.

Plusieurs hypothèses sont alors possibles quant à la présence de résistance dans les élevages « M2 », « M5 » et « M7 ».

D'abord, Silvestre et Humbert (2002) ont démontré la présence d'allèles pré-existants conférant une résistance aux benzimidazoles dans les populations de strongles, avant même l'utilisation de benzimidazoles dans les élevages. Cela pourrait en partie expliquer pourquoi des strongles avec des mutations ponctuelles sont retrouvés dans ces élevages, même si leur étude ne mettait pas en évidence de telles proportions de parasites résistants.

De plus, nous avons des informations sur les traitements aux antiparasitaires uniquement sur l'année 2018. Etant donné qu'il n'existe, *a priori*, aucune réversion possible de la résistance (cf partie 2 paragraphe 1.1), il est ainsi possible que des strongles résistants aux benzimidazoles soient apparus dans les années qui ont précédées les prélèvements coprologiques suite à l'utilisation antérieure de ces molécules et sont encore retrouvés aujourd'hui.

Enfin, une autre explication possible serait que la faune sauvage, notamment les chevreuils, puissent faire office de vecteur de strongles résistants d'élevage en élevage, comme suggéré par Chintoan-Uta et al (Chintoan-Uta et al., 2014).

3.2. MISE EN EVIDENCE D'UNE INTERACTION ENTRE LES OVINS ET LES CHEVREUILS DANS LE CANTON D'AURIGNAC

3.2.1. *Ostertagia leptospicularis* et *Spiculoptertagia spiculoptera*, strongles spécialistes du chevreuil

D'après les résultats de notre étude, exposés dans le paragraphe 2.2.2, *O. leptospicularis* et *S. spiculoptera* sont identifiés uniquement chez les chevreuils et jamais chez les ovins. Or, comme défini dans la synthèse bibliographique (paragraphe 2.1.1), ce sont des co-parasites spécialistes de la caillette des chevreuils, fréquemment mis en évidence lors d'étude sur l'helminthofaune des Cervidés (Zaffaroni et al., 2000 ; Irvine et al., 2006 ; Pato et al., 2013). Cependant, la prévalence des ces co-parasites est souvent plus importante que celle retrouvée ici : en effet, seul 30% des chevreuils échantillonnés à Aurignac hébergent ces deux espèces de strongles, alors que leur prévalence peut parfois être supérieure à 80% dans certaines études (Zaffaroni et al., 2000).

Ainsi, malgré des prévalences plus faibles que celles retrouvées dans la bibliographie, ces résultats sur la spécialisation stricte de *O. leptospicularis* et *S. spiculoptera* pour les chevreuils dans le canton d'Aurignac sont en cohérence avec les différentes études réalisées sur l'helminthofaune des chevreuils.

3.2.2. *Trichostrongylus colubriformis* et *Teladorsagia circumcincta*, strongles spécialistes des ovins et marqueurs d'échanges de SGI entre les chevreuils et les ovins

T. circumcincta et *T. colubriformis* sont les deux principales espèces spécialistes de strongles gastro-intestinaux des ovins (paragraphe 2.1.2). Cependant, d'après les résultats exposés dans le paragraphe 2.2.3., ces deux espèces sont retrouvées, certes, dans quasiment tous les élevages de moutons échantillonnés mais également chez un faible nombre de chevreuils (fréquence inférieure à 10% pour les deux espèces). Par ailleurs, ces deux espèces de parasites ne sont identifiées que chez des chevreuils ayant un contact avec des élevages de moutons, particulièrement chez des individus prélevés autour des élevages « M6 » et « M7 ».

Toutefois, d'après Zaffaroni et al. (2000), si une espèce spécialiste d'un hôte X est retrouvée chez un hôte Y appartenant à une autre espèce que cet hôte X, cela indique presque certainement une interaction entre l'hôte réservoir X et l'hôte occasionnel Y. En outre, dans notre étude, la présence de *T. circumcincta* et de *T. colubriformis* uniquement chez des chevreuils à proximité des élevages de moutons indique une très probable interaction entre ces cervidés et les ovins dans le canton d'Aurignac.

Enfin, même s'ils ne sont présents qu'anecdotiquement chez les ovins, *Trichostrongylus vitrinus* et *Cooperia curticei* sont, eux aussi des SGI spécialistes des moutons. Cependant, ils sont également retrouvés chez quelques chevreuils en contact avec des élevages de moutons. Encore une fois, cela montre une interaction possible entre chevreuils et moutons dans la zone d'étude.

3.2.3. La forte présence de deux SGI généralistes, *H. contortus* et *T. axei*, chez les ovins et les chevreuils dans le canton d'Aurignac

D'après les résultats exposés dans le paragraphe 2.2.4.1, *H. contortus* et *T. axei* sont identifiés à la fois chez les moutons et chez les chevreuils. Cela est complètement en accord avec la bibliographie, puisque ce sont tous deux des strongles généralistes, retrouvés fréquemment dans l'étude de l'helminthofaune des petits ruminants domestiques et des cervidés (cf partie 1, paragraphe 2.1.3).

De plus, dans cette étude, *H. contortus* et *T. axei* sont présents chez les chevreuils avec des prévalences fortes (autour de 70%), qui sont plus de deux fois supérieures à celles observées pour les deux strongles spécialistes des cervidés que sont *O. leptospicularis* et *S. spiculoptera* (autour de 30%, cf paragraphe 3.1.1). Or, d'après Zaffaroni et al. (2000), les strongles généralistes sont souvent observés chez plusieurs hôtes, comme c'est le cas ici mais, normalement, jamais comme espèces dominantes. Ainsi, dans notre étude, *H. contortus* et *T. axei* peuvent clairement être définis comme des espèces de SGI dominantes dans le canton d'Aurignac, que ce soit chez les moutons mais aussi chez les chevreuils.

Une étude en cours sur l'helminthofaune des chevreuils de la forêt de Trois Fontaines (département de la Marne) et de la forêt de Chizé (en Nouvelle Aquitaine), qui bénéficient d'un suivi de populations des cervidés depuis plus de 40 ans, montre qu'*O. leptospicularis* et *S. spiculoptera* sont les deux espèces de strongles dominantes chez les chevreuils de ces deux zones d'étude. Or, une des grandes différences entre Chizé et Trois-Fontaines par rapport au canton d'Aurignac, est l'absence totale d'ovins dans ces deux forêts clôturées et donc l'absence de contacts et de partages de pâtures entre ruminants domestiques et ruminants sauvages.

Enfin, *H. contortus* et *T. axei* ont été retrouvés à des prévalences similaires chez les chevreuils « en contact » et « sans contact » avec des élevages d'ovins. Cela nous permet de poser l'hypothèse qu'une circulation de parasites entre les chevreuils se fait dans le canton d'Aurignac, permettant ainsi une dispersion de ces parasites généralistes dans la zone d'étude.

En conclusion, dans le canton d'Aurignac, la présence d'ovins a fortement modifié l'helminthofaune des chevreuils. En effet, ici, les espèces de SGI dominantes chez les chevreuils sont deux strongles généralistes (*H. contortus* et *T. axei*), fréquentes en élevage d'ovins, et les espèces spécialistes (*Ostertagia leptospicularis* et *Spiculoptertagia spiculoptera*) sont mises au second plan. Ainsi, cela conforte l'hypothèse mis en évidence dans le paragraphe 3.2.2 : dans le canton d'Aurignac, il existe *a priori* un partage des pâtures entre les chevreuils et les moutons, permettant ainsi une transmission de strongles gastro-intestinaux des ruminants domestiques vers les ruminants sauvages.

3.3. TRANSMISSION DE SGI RESISTANTS AUX BENZIMIDAZOLES ENTRE LES CHEVREUILS ET LES MOUTONS DANS LE CANTON D'AURIGNAC

Nous venons de mettre en évidence une très probable transmission de NGI entre les chevreuils et les ovins dans le canton d'Aurignac. Cependant, certains de ces strongles peuvent être porteurs de mutations ponctuelles, à l'origine d'une résistance aux benzimidazoles et peuvent être retrouvés ainsi chez les ruminants sauvages comme les chevreuils.

3.3.1. Présence d'*H. contortus* résistants aux benzimidazoles chez les chevreuils

D'après Zaffaroni et al. (2000), les espèces de strongles généralistes sont les plus importantes d'un point de vue sanitaire car elles semblent pouvoir facilement coloniser les différentes populations hôtes avec lesquelles elles entrent en contact.

Les résultats exposés dans le paragraphe 2.3.1. montrent que des *H. contortus* résistants aux benzimidazoles sont présents dans tous les élevages de moutons. En outre, la variable « contact avec des élevages ovins » explique significativement la présence ou l'absence d'*H. contortus* chez les chevreuils échantillonnés : en effet, on observe une prévalence plus forte d'*H. contortus* résistants aux benzimidazoles chez les chevreuils proches des élevages de moutons que chez les chevreuils considérés comme n'ayant aucun contact avec les élevages.

Cependant, les ruminants sauvages ne sont pas soumis à des traitements anthelminthiques, contrairement aux petits ruminants. Ainsi, la seule façon pour les chevreuils d'être porteurs d'*H. contortus* résistants en proportion importante, comme cela a été observé ici, est d'avoir été en contact avec d'autres animaux porteurs de ces mêmes strongles résistants lors d'un partage de pâtures. Ainsi, si nous corrélons ceci avec ce que nous avons affirmé ci-dessus (paragraphe 3.2.3.), il semble que dans le canton d'Aurignac, en plus d'échanges de NGI entre les ovins et les chevreuils, il y aurait aussi une transmission de parasites résistants entre ruminants domestiques et ruminants sauvages lors du partage de pâtures.

Ces résultats rejoignent ceux de l'étude de Nagy et al. (2017) dans le Sud-Ouest de la Hongrie (cf Partie 2, paragraphe 3.1), qui met en évidence la présence d'*H. contortus* homozygotes « RR » pour la mutation F200Y chez des chevreuils et des ovins partageant les mêmes pâtures. Les auteurs ont ainsi conclu, comme dans notre étude, à une probable infection croisée entre les chevreuils et les moutons.

3.3.2. Résistances aux benzimidazoles chez les autres espèces de strongles gastro-intestinaux

Les résultats exposés dans le paragraphe 2.3.2.1. montrent que des strongles *T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei* résistants aux benzimidazoles sont présents dans tous les élevages de moutons. En outre, la variable « contact avec des élevages ovins » n'explique pas significativement la présence ou l'absence de ces strongles résistants chez les chevreuils échantillonnés : en effet, on observe des prévalences équivalentes de ces strongles résistants aux benzimidazoles chez les chevreuils proches des élevages de moutons comme chez les chevreuils considérés comme n'ayant aucun contact avec les élevages. Ces résultats vont à l'inverse de ceux trouvés pour *H. contortus* (paragraphe 3.2.2.1).

Cependant, il apparaît que *T. axei* est un nématode peu pathogène et généraliste, fréquemment présent dans l'abomasum des bovins (Charlier et al., 2020 ; Hildreth, McKenzie, 2020). Ainsi, comme nous n'avons pas la distribution des mutations ponctuelles pour chacune des quatre espèces, il se pourrait que ce soit *T. axei* qui portent principalement les gènes de résistances aux benzimidazoles. La variable « contact avec les élevages de moutons » non significative pourrait ainsi être expliquée par le fait que les SGI « autres » avec des mutations de résistance soient plutôt apportées par les bovins : la forte présence d'élevages bovins sur le canton d'Aurignac expliquerait ainsi les fortes prévalences de SGI « autres » résistants observés.

Ainsi, dans notre étude, nous avons pu mettre en évidence l'existence d'un possible échange d'*Haemonchus contortus* résistants aux benzimidazoles entre les chevreuils et les moutons dans le canton d'Aurignac.

Alors que la transmission de strongles résistants des ovins aux chevreuils semble évidente (car la faune sauvage n'est soumise à aucun traitement anthelminthique), le rôle des cervidés dans le sens inverse est soumis à plus d'incertitudes. En effet, deux hypothèses principales ressortent dans le peu d'études réalisées sur les résistances aux anthelminthiques chez les ongulés sauvages :

- Soit les chevreuils sont considérés comme potentiels réservoirs de strongles résistants (et plus particulièrement d'*H. contortus* ici dans notre étude), permettant ainsi de nouvelles contaminations chez les ruminants domestiques, notamment chez les ovins. Des expériences de « cross-infection » montrant la viabilité de strongles résistants isolés de chevreuils chez les bovins et les ovins valide cette hypothèse (Chintoan-Uta et al., 2014).

- Soit les chevreuils sont considérés comme facteurs de dilution de résistance chez les ruminants domestiques, en maintenant sur les pâtures des souches de SGI majoritairement sensibles aux antiparasitaires. Cette hypothèse est encouragée par la faible prévalence de gènes portant la mutation F200Y chez les *H. contortus* isolés chez les chevreuils par rapport à celle retrouvée chez les ovins (Csivincsik et al. 2017).

3.3.3. Les allèles de résistance présents chez les SGI des chevreuils et des ovins dans le canton d'Aurignac

Dans notre étude, les principales mutations ponctuelles du gène codant pour l'isotype 1 de la β -tubuline à l'origine d'une résistance aux benzimidazoles mises en évidence sont :

- Pour *H. contortus* : la mutation 198A et, dans une moindre mesure, la mutation 200Y
- Pour *T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei* : la mutation 200Y, qui est très prédominante.

Pour *T. circumcincta*, *T. axei*, *T. colubriformis* et *C. curticei*, ces résultats sont cohérents avec la bibliographie (partie 2, paragraphe 1.3.2.1) : en effet, la mutation sur le codon 200 est la plus présente quel que soit l'espèce de strongles étudiée. Ce n'est cependant pas le cas pour *H. contortus* puisque c'est la mutation 198A qui a été principalement mise en évidence.

D'autres mutations ont aussi été mises en évidence à des prévalences plus faibles : 167Y, 198G et 198L. La mutation 198L a été observée pour la première fois il y a quelques années et il a été prouvé qu'elle avait un rôle dans la résistance aux benzimidazoles chez les SGI. En revanche, à notre connaissance, la mutation 198G (GAG>GGG) a pour le moment été mise en évidence uniquement chez des souches de champignons (*Botrytis cinerea*) résistantes aux benzimidazoles. Dans notre étude, elle a été observée uniquement chez *H. contortus* et majoritairement chez des chevreuils.

Enfin, les mutations observées chez les SGI « autres » sont très similaires entre les ovins et les chevreuils : cela rejoint nos hypothèses sur la possible interaction entre les deux espèces d'hôtes dans le canton d'Aurignac.

3.4. LIMITES ET PERSPECTIVES DE L'ETUDE

La construction de la variable « contact » utilisée dans nos statistiques s'est appuyée sur les résultats d'une intersection d'un domaine vital (DV) potentiel de chevreuils avec les prairies des élevages d'ovins. Des données sur les domaines vitaux réels de chevreuils (Pellerin, 2005) montrent des variations annuelles et saisonnières de la taille des domaines vitaux. La forme des DV n'est pas circulaire comme ceux de notre étude mais décrit davantage des « patatoïdes ». Ainsi, certains échantillons, proches des élevages, ont quelque fois été placés « hors contact » alors que la distance à l'élevage pouvait laisser penser à un éventuel passage sur les prairies des ovins. L'utilisation d'une variable continue de « distance aux élevages » pourrait permettre de palier à ce problème.

Une autre limite de l'étude est liée à l'échantillonnage. En effet, nous n'avons ramassé que des échantillons écartés d'au moins deux mètres les uns des autres, mais nous ne pouvons pas avoir la certitude que certaines fèces n'appartiennent pas à un même individu.

Le fait de trouver des strongles résistants aux benzimidazoles ne suffit pas à dire que les traitements aux benzimidazoles dans les élevages d'ovins ne seraient pas efficaces. Certes, le fait d'en trouver augmente la probabilité d'un échec de traitement mais pour en avoir la certitude, il faudrait réaliser des tests de réduction de comptage dans les matières fécales dans les différents élevages d'ovins étudiés.

Enfin, les élevages de bovins n'ont pas été pris en compte dans l'analyse de nos résultats alors qu'il est connu que des parasites, en quantité inférieure par rapport aux ovins, se transmettent à la faune sauvage : en effet, comme le montre la carte 6, il y a une forte présence d'élevage bovins dans le canton d'Aurignac. Or, les bovins peuvent héberger eux aussi des espèces généralistes comme *T. axei* notamment, et ainsi transmettre des strongles résistants aux benzimidazoles et donc apporter un biais aux résultats de notre étude.

CONCLUSION

La résistance aux anthelminthiques est une problématique touchant tous les continents : il est primordial de savoir détecter au plus tôt ces résistances et d'avoir toutes les connaissances nécessaires pour pouvoir endiguer ce phénomène. La faune sauvage, et notamment les cervidés, semble avoir un rôle non négligeable dans le maintien et la propagation des strongles résistants aux anthelminthiques entre différents élevages d'ovins.

Dans notre étude, nous avons pu démontrer un possible transfert de SGI spécialistes tels que *T. circumcincta* et *T. colubriformis* des ovins vers les chevreuils, montrant ainsi que, à la suite de l'utilisation des mêmes pâturages, un échange de strongles est possible entre ruminants domestiques et sauvages. De plus, nous avons pu mettre en évidence une forte présence de strongles généralistes tels que *H. contortus* et *T. axei* à la fois chez les ovins et chez les chevreuils. Ces espèces généralistes représentent un double intérêt car (1) elles impactent fortement les élevages de petits ruminants de par leur pouvoir pathogène, (2) elles ont une forte capacité de propagation (espèce généraliste et prépondérante chez les ongulés domestiques et sauvages).

Ainsi, dans notre étude, des individus de l'espèce *H. contortus* et d'autres espèces de strongles portant des mutations ponctuelles leur conférant une résistance à la famille des benzimidazoles, ont été retrouvés en proportion importante dans des fèces de chevreuils proches des élevages d'ovins. Malgré certains biais, cette étude montre la forte probabilité de transmission de strongles résistants des ovins vers les chevreuils (car non soumis à des traitement anthelminthiques). Cependant, la transmission inverse est plus délicate à prouver et le rôle des chevreuils dans la dispersion de ces parasites n'est pas encore clairement défini.

Les résultats de cette étude ont montré qu'il y avait une probabilité plus élevée de trouver des *H. contortus* résistants aux benzimidazoles chez les chevreuils en contact avec des élevages d'ovins que ceux plus éloignés. Cependant, aucune différence de simple présence d'*H. contortus* ou de *T. axei* n'a été observée entre des chevreuils avec ou sans contact des élevages : cela permet de mettre en évidence une bonne circulation de parasites entre les chevreuils dans le canton d'Aurignac.

Ainsi, ces phénomènes d'échanges et de propagation de parasites sont constamment en mouvement. Des résultats à un instant t ne suffisent pas à tirer des conclusions définitives sur ces mécanismes. Il est indispensable d'effectuer un suivi à long terme et le site d'Aurignac de par les premiers résultats que nous avons eus et le suivi intensif des chevreuils réalisé par l'équipe du CEFS de l'INRAe en fait un excellent site d'étude.

Cette étude réalisée dans le canton d'Aurignac fait partie d'un plus grand projet d'étude, où il est question de comparer l'helminthofaune et la présence de SGI résistants aux benzimidazoles entre des populations de chevreuils allopatriques, qui n'ont aucun contact avec des élevages de ruminants domestiques (comme à Trois-Fontaines et Chizé en France) et des populations de chevreuils sympatriques, qui sont à proximité d'élevages de ruminants domestiques (comme celle de notre étude à Aurignac) (Redman et al., 2020 ; Bourgoïn et al., 2020).

BIBLIOGRAPHIE

ABBOTT KA., TAYLOR M. et STUBBINGS LA. (2012). Sustainable Worm Control Strategies For Sheep 4th Edition : A technical Manual for Veterinary Surgeons and Advisers. In : Liver Fluke control in cattle and sheep. 2012. n° June, p. 1-78.

AGUERRE, S. (2019). *Résistance génétique aux strongles gastro-intestinaux chez les ovins: évaluation des stratégies de sélection et de leur impact à l'échelle de l'élevage*. Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse - ENSAT, 2019, 172 p.

ÁLVAREZ-SÁNCHEZ, M.A., PÉREZ-GARCÍA, J., CRUZ-ROJO, M.A. et ROJO-VÁZQUEZ, F.A., (2005). Real time PCR for the diagnosis of benzimidazole resistance in trichostrongylids of sheep. In : *Veterinary Parasitology*. 2005. Vol. 129, n° 3-4, p. 291-298. DOI 10.1016/j.vetpar.2005.02.004.

ANDERSEN, F.L. et LEVINE, N.D., (1968). Effect of desiccation on survival of the free-living stages of *Trichostrongylus colubriformis*. In : *The Journal of Parasitology*. février 1968. Vol. 54, n° 1, p. 117-128. DOI 10.2307/3276885.

ANDERSEN, R., DUNCAN, P., et LINNELL, J. DC (ed.). The European roe deer: the biology of success. Oslo : Scandinavian university press, 1998.

ANON., 1986. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF). In : *HMSO, London*. 1986. p. 160.

ATHANASIADOU, S, KYRIAZAKIS, I, JACKSON, F et COOP, R.L, (2000). Consequences of long-term feeding with condensed tannins on sheep parasitised with *Trichostrongylus colubriformis*. In : *International Journal for Parasitology*. 2000. Vol. 30, n° 9, p. 1025-1033. DOI 10.1016/S0020-7519(00)00083-7.

ATHANASIADOU, S, KYRIAZAKIS, I, JACKSON, F et COOP, R.L, (2001). Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. In : *Veterinary Parasitology*. 2001. Vol. 99, n° 3, p. 205-219. DOI 10.1016/S0304-4017(01)00467-8.

AUTEF, P., 2008. La nématodirose ovine. In : *SNGTV*. Décembre 2008. Fiche n°138.

AVRAMENKO, R. W., REDMAN, E. M., LEWIS, R., BICHUETTE, M. A., PALMEIRA, B. M., YAZWINSKI, T. A. et GILLEARD, J.S., (2017). The use of nemabiome metabarcoding to explore gastro-intestinal nematode species diversity and anthelmintic treatment effectiveness in beef calves. In : *International Journal for Parasitology*. 2017. Vol. 47, n° 13, p. 893-902. DOI 10.1016/j.ijpara.2017.06.006.

AVRAMENKO, R. W., REDMAN, E. M., LEWIS, R., YAZWINSKI, T. A., WASMUTH, J. D. et GILLEARD, J. S., (2015). Exploring the gastrointestinal "Nemabiome": deep amplicon sequencing to quantify the species composition of parasitic nematode communities. In : *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10, n° 12. DOI 10.1371/journal.pone.0143559.

- AVRAMENKO, R. W., REDMAN, E. M., MELVILLE, L., BARTLEY, Y., WIT, J., QUEIROZ, C., BARTLEY, D. J. et GILLEARD, J. S., (2019). Deep amplicon sequencing as a powerful new tool to screen for sequence polymorphisms associated with anthelmintic resistance in parasitic nematode populations. In : *International Journal for Parasitology*. 2019. Vol. 49, n° 1, p. 13-26. DOI 10.1016/j.ijpara.2018.10.005.
- BABJÁK, M., KÖNIGOVÁ, A., URDA DOLINSKÁ, M., VADLEJCH, J. et VÁRADY, M., (2018). Anthelmintic resistance in goat herds—*In vivo* versus *in vitro* detection methods. In : *Veterinary Parasitology*. 2018. Vol. 254, p. 10-14. DOI 10.1016/j.vetpar.2018.02.036.
- BARGER, I.A., (1993). Influence of sex and reproductive status on susceptibility of ruminants to nematode parasitism. In : *International Journal for Parasitology*. 1993. Vol. 23, n° 4, p. 463-469. DOI 10.1016/0020-7519(93)90034-V.
- BARGER, I.A., SIALE, K., BANKS, D.J.D. et LE JAMBRE, L.F., (1994). Rotational grazing for control of gastrointestinal nematodes of goats in a wet tropical environment. In : *Veterinary Parasitology*. 1994. Vol. 53, n° 1-2, p. 109-116. DOI 10.1016/0304-4017(94)90023-X.
- BARNES, E H, DOBSON, R J et BARGER, A, (1995). Worm Control and Anthelmintic Resistance: In : *Parasitology Today*. 1995. Vol. 11, n° 2, p. 56-63.
- BARONE, C. D., WIT, J., HOBERG, E. P., GILLEARD, J. S., & ZARLENGA, D. S. (2020). Wild ruminants as reservoirs of domestic livestock gastrointestinal nematodes. In: *Veterinary Parasitology*, Vol. 279, p109041. DOI <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109041>
- BARRÈRE, V, BEECH, RN, CHARVET, CL et PRICHARD, R.K., (2014). Novel assay for the detection and monitoring of levamisole resistance in *Haemonchus contortus*. In : *International Journal for Parasitology*. 2014. Vol. 44, n° 3-4, p. 235-241.
- BARTLEY, D. J., MCALLISTER, H., BARTLEY, Y., DUPUY, J., MÉNEZ, C., ALVINERIE, M., JACKSON, F. et LESPINE, A., (2009). P-glycoprotein interfering agents potentiate ivermectin susceptibility in ivermectin sensitive and resistant isolates of *Teladorsagia circumcincta* and *Haemonchus contortus*. In : *Parasitology*. août 2009. Vol. 136, n° 9, p. 1081-1088. DOI 10.1017/S0031182009990345.
- BÉLANGER, D., COCKBURN, A., LEBOEUF, A. et VILLENEUVE, A., (2017). *Gestion intégrée du parasitisme gastro-intestinal chez les moutons*. 2017. Faculté de médecine vétérinaire de Montréal.
- BEUGNET, L et KERBOEUF, D., (1997). La résistance aux antiparasitaires chez les parasites des ruminants. In : *Le Point Vétérinaire*. 1997. Vol. 28, N° Spécial : Parasitologie des ruminants, p. 167-174.
- BODY, G., FERTÉ, H., GAILLARD, J.-M.I, DELORME, D., KLEIN, F. et GILOT-FROMONT, E., (2011). Population density and phenotypic attributes influence the level of nematode parasitism in roe deer. In : *Oecologia*. 2011. Vol. 167, n° 3, p. 635-646. DOI 10.1007/s00442-011-2018-9.

BONNEFONT, M et CANELLAS, A, (2014). *Otimisation des outils de diagnostic des strongyloses gastro-intestinales des ovins*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2014, 133 p.

BORDES, L., DUMONT, N., LESPINE, A., SOUIL, E., SUTRA, J.-F., PRÉVOT, F., GRISEZ, C., ROMANOS, L., DAILLEDOUZE, A. et JACQUIET, P., (2020). First report of multiple resistance to eprinomectin and benzimidazole in *Haemonchus contortus* on a dairy goat farm in France. In : *Parasitology International*. 2020. Vol. 76, p. 102063. DOI 10.1016/j.parint.2020.102063.

BORGSTEEDE, F.H.M., (1990). A study of the endoparasitic helminth fauna of roe deer (*Capreolus capreolus* L.) in the Netherlands. In : *Zeitschrift für Jagdwissenschaft*. 1990. Vol. 36, n° 2, p. 104-109.

BOURGOIN, G., BEAUMELLE, C., BEGOC, N., VEYSSIERE, F., VERHEYDEN, H., JACQUIET, P., REDMAN, E., RIJKE, J. de, CHEN, R., BENABED, S., CAPRON, G., CARGNELUTTI, B., DEBIAS, F., DUHAYER, J., LOURTET, B., PARDONNET, S., POIREL, M.-T., REY, B., WARNANT, C., YANNIC, G., and GILEARD, J.S. (2020) Interactions entre ruminants domestiques et sauvages - Parasitisme partagé et résistances. Journées Nationales des GTV, October 28th-30th, 2020, Poitiers, France.

BOUSQUET-MELOU, A., (2012). Léchage entre congénères et antiparasitaires en pour-on. In : *Le Point Vétérinaire*. 2012. Vol. 43, p. 124-126.

BOUSQUET-MÉLOU, A., JACQUIET, P., HOSTE, H., CLÉMENT, J., BERGEAUD, J.-P., ALVINERIE, M. et TOUTAIN, P.-L., (2011). Licking behaviour induces partial anthelmintic efficacy of ivermectin pour-on formulation in untreated cattle. In : *International Journal for Parasitology*. 2011. Vol. 41, n° 5, p. 563-569. DOI 10.1016/j.ijpara.2010.12.007.

BRESIŃSKI, W. (1982) Grouping tendencies in roe deer under agrocenosis conditions. In : *Acta Theriologica*, 1982, vol. 27, no 29, p. 427-447.

BURT, W. H., (1943). Territoriality and home range concepts as applied to mammals. In : *Journal of Mammalogy*. 1943. Vol. 24, n° 3, p. 346. DOI 10.2307/1374834.

CABARET, J., (2004). Parasitisme helminthique en élevage biologique ovin : réalités et moyens de contrôle. In : *INRAE Productions Animales*. 2004. Vol. 17, n° 2, p. 145-154. DOI 10.20870/productions-animales.2004.17.2.3562.

CABARET, J., BENOIT, M., LAIGNEL, G. et NICOURT, C., (2009). Current management of farms and internal parasites by conventional and organic meat sheep French farmers and acceptance of targeted selective treatments. In : *Veterinary Parasitology*. 2009. Vol. 164, n° 1, p. 21-29. DOI 10.1016/j.vetpar.2009.04.018.

CABARET, J., BOUILHOL, M. et MAGE, C., (2002). Managing helminths of ruminants in organic farming. In : *Veterinary Research*. 2002. Vol. 33, n° 5, p. 625-640. DOI 10.1051/vetres:2002043.

Cacard B (2004). *La mortalité du Chevreuil (Capreolus capreolus) en France*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Maison-Alfort- ENVA, 2004, 172 p.

CAGNACCI, F., FOCARDI, S., HEURICH, M., STACHE, A., HEWISON, A. J. M., MORELLET, N., KJELLANDER, P., LINNELL, J. D. C., MYSTERUD, A., NETELER, M., DELUCCHI, L., OSSI, F. et URBANO, F., (2011). Partial migration in *roe deer*: migratory and resident tactics are end points of a behavioural gradient determined by ecological factors. In : *Oikos*. 2011. Vol. 120, n° 12, p. 1790-1802. DOI 10.1111/j.1600-0706.2011.19441.x.

CAZAJOUS, T., PREVOT, F., KERBIRIOU, A., MILHES, M., GRISEZ, C., TROPEE, A., GODART, C., ARAGON, A. et JACQUIET, P., (2018). Multiple resistance to ivermectin and benzimidazole of a *Haemonchus contortus* population in a sheep flock from mainland France, first report. In : *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 2018. Vol. 14, p. 103-105. DOI 10.1016/j.vprsr.2018.09.005.

CERUTTI, M.C., CITTERIO, C.V., BAZZOCCHI, C., EPIS, S., D'AMELIO, S., FERRARI, N. et LANFRANCHI, P., (2010). Genetic variability of *Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongyloidea) in alpine ruminant host species. In : *Journal of Helminthology*. septembre 2010. Vol. 84, n° 3, p. 276-283. DOI 10.1017/S0022149X09990587.

CHARLIER, J., HÖGLUND, J., MORGAN, E. R., GELDHOFF, P., VERCRUYSSSE, J. et CLAEREBOU, E., (2020). Biology and epidemiology of gastrointestinal nematodes in cattle. In : *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2020. Vol. 36, n° 1, p. 1-15. DOI 10.1016/j.cvfa.2019.11.001.

CHARTIER, C., PORS, I., HUBERT, J., ROCHETEAU, D., BENOIT, C. et BERNARD, N., (1998). Prevalence of anthelmintic resistant nematodes in sheep and goats in Western France. In : *Small Ruminant Research*. 1998. Vol. 29, n° 1, p. 33-41. DOI 10.1016/S0921-4488(97)00116-8.

CHARTIER, C., RAVINET, N., BOSCO, A., DUFOURD, E., GADANHO, M., CHAUVIN, A., CHARLIER, J., MAURELLI, M.P., CRINGOLI, G. et RINALDI, L., (2020). Assessment of anthelmintic efficacy against cattle gastrointestinal nematodes in western France and southern Italy. In : *Journal of Helminthology*. 2020. Vol. 94, n° e125. DOI <https://doi.org/10.1017/S0022149X20000085>.

CHARTIER, C., SOUBIRAC, F., PORS, I., SILVESTRE, A., HUBERT, J., COUQUET, C. et CABARET, J., (2001). Prevalence of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of dairy goats under extensive management conditions in southwestern France. In : *Journal of Helminthology*. 2001. Vol. 75, n° 4, p. 325-330. DOI 10.1017/S0022149X01000506.

CHEAH, T. S. et RAJAMANICKAM, C., (1997). Epidemiology of gastro-intestinal nematodes of sheep in wet tropical conditions in Malaysia. In : *Tropical Animal Health and Production*. 1997. Vol. 29, n° 3, p. 165-173. DOI 10.1007/BF02633015.

CHINTOAN-UTA, C., MORGAN, E. R., SKUCE, P. J. et COLES, G. C., (2014). Wild deer as potential vectors of anthelmintic-resistant abomasal nematodes between cattle and sheep farms. In : *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2014. Vol. 281, n° 1780, p. 20132985. DOI 10.1098/rspb.2013.2985.

CLAEREBOUT, E., DE WILDE, N., VAN MAEL, E., CASAERT, S., VELDE, F. Vande, ROEBER, F., VELOZ, P., LEVECKE, B. et GELDHOF, P., (2020). Anthelmintic resistance and common worm control practices in sheep farms in Flanders, Belgium. In : *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 2020. Vol. 20, p. 100393. DOI 10.1016/j.vprsr.2020.100393.

COLES, G.C., JACKSON, F., POMROY, W.E., PRICHARD, R.K., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., SILVESTRE, A., TAYLOR, M.A. et VERCRUYSSSE, J., (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. In : *Veterinary Parasitology*. 2006. Vol. 136, n° 3-4, p. 167-185. DOI 10.1016/j.vetpar.2005.11.019.

COMBES, Claude (1995). *Interactions durables : écologie et évolution du parasitisme*. Paris : Masson, 1995.

CSIVINCSIK, Á., NAGY, G., HALÁSZ, T. et ZSOLNAI, A., (2017). Shared pastures and anthelmintic resistance in wildlife and livestock. In : *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 2017. Vol. 82, n° 2, p. 189-191.

DEMELER, J., KÜTTLER, U. et VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., (2010). Adaptation and evaluation of three different *in vitro* tests for the detection of resistance to anthelmintics in gastro intestinal nematodes of cattle. In : *Veterinary Parasitology*. 2010. Vol. 170, n° 1-2, p. 61-70. DOI 10.1016/j.vetpar.2010.01.032.

DOBSON, C., (1961). Certain aspects of the host-parasite relationship of *Nematospiroides dubius* (Baylis). I. Resistance of male and female mice to experimental infections. In : *Parasitology*. 1961. Vol. 51, n° 1-2, p. 173-179. DOI 10.1017/S0031182000068578.

DOBSON, J, LE JAMBRE, L et GILL, J.H., (1996). Management of anthelmintic resistance: inheritance of resistance and selection with persistent drugs. In : *International Journal of Parasitology*. 1996. Vol. 26, n° 8/9, p. 993-1000.

BARNES, E. H. et DOBSON, R. J. (1993). Persistence of acquired immunity to *Trichostrongylus colubriformis* in sheep after termination of infection. In : *International journal for parasitology*. 1993. Vol. 53, n° 8, p. 1019-1026

DOBSON, R.J., DONALD, A.D., WALLER, P.J. et SNOWDON, K.L., (1986). An egg-hatch assay for resistance to levamisole in trichostrongyloid nematode parasites. In : *Veterinary Parasitology*. 1986. Vol. 19, n° 1-2, p. 77-84. DOI 10.1016/0304-4017(86)90034-8.

DORNY, P., CLAEREBOUT, E., VERCRUYSSSE, J., SANI, R. et JALILA, A., (1994). Anthelmintic resistance in goats in peninsular Malaysia. In : *Veterinary Parasitology*. 1994. Vol. 55, n° 4, p. 327-342. DOI 10.1016/0304-4017(94)90073-6.

DUDOQUET, C. (2003). La production du mouton. France Agricole Editions.

ELARD, L., CABARET, J. et HUMBERT, J.F., (1999). PCR diagnosis of benzimidazole-susceptibility or -resistance in natural populations of the small ruminant parasite, *Teladorsagia circumcincta*. In : *Veterinary Parasitology*. 1999. Vol. 80, n° 3, p. 231-237. DOI 10.1016/S0304-4017(98)00214-3.

ELARD, L et HUMBERT, J.F, (1999). Importance of the mutation of amino acid 200 of the isotype 1 b-tubulin gene in the benzimidazole resistance of the small-ruminant parasite *Teladorsagia circumcincta*. In : *Parasitology Research*. 1999. Vol. 85, p. 452-456.

ENDERLEIN, Carine, (2002). *L'immunité au cours des strongyloses gastro-intestinales des ruminants : Etude bibliographique*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2002, 100 p.

FERTÉ, H., CLÉVA, D., DEPAQUIT, J., GOBERT, S. et LÉGER, N., (2000). Status and origin of Haemonchinae (Nematoda: Trichostrongylidae) in deer: a survey conducted in France from 1985 to 1998. In : *Parasitology Research*. 2000. Vol. 86, n° 7, p. 582-587. DOI 10.1007/PL00008534.

FOLZ, S.D., PAX, R.A., THOMAS, E.M., BENNETT, J.L., LEE, B.L. et CONDER, G.A., (1987). Detecting in vitro anthelmintic effects with a micromotility meter. In : *Veterinary Parasitology*. mai 1987. Vol. 24, n° 3-4, p. 241-250. DOI 10.1016/0304-4017(87)90045-8.

GAKUYA, DW et NGANGA, CJ, (2007). Multiple Anthelmintic Resistance On A Sheep Farm In Kenya And Its Implication For Helminth Control. In : *Bulletin of Animal Health and Production in Africa*. 2007. Vol. 55, n° 4, p. 266-230.

GARCIA-GONZALES, R et CUARTAS, P, (1989). A comparison of the diets of the wild goat (*Capra pyrenaica*), domestic goat (*Capra hircus*), mouflon (*Ovis musimon*) and domestic sheep (*Ovis aries*) in the carzola mountain range. In : *Acta Biol*. 1989. Vol. IX, p. 123-132.

GEURDEN, T., CHARTIER, C., FANKE, J., DI REGALBONO, A. F., TRAVERSA, D., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., DEMELER, J., VANIMISETTI, H. B., BARTRAM, D. J. et DENWOOD, M. J., (2015). Anthelmintic resistance to ivermectin and moxidectin in gastrointestinal nematodes of cattle in Europe. In : *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*. 2015. Vol. 5, n° 3, p. 163-171. DOI 10.1016/j.ijpddr.2015.08.001.

GEURDEN, T., HOSTE, H., JACQUIET, P., TRAVERSA, D., SOTIRAKI, S., FRANGIPANE DI REGALBONO, A., TZANIDAKIS, N., KOSTOPOULOU, D., GAILLAC, C., PRIVAT, S., GIANGASPERO, A., ZANARDELLO, C., NOÉ, L., VANIMISETTI, B. et BARTRAM, D., (2014). Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in France, Greece and Italy. In : *Veterinary Parasitology*. 2014. Vol. 201, n° 1-2, p. 59-66. DOI 10.1016/j.vetpar.2014.01.016.

GHAHFAROKHI, M. S., ABYANEH, M. R., BAHADORI, S. R., ESLAMI, A., ZARE, R. et EBRAHIMI, M., (2004). Screening of soil and sheep faecal samples for predacious fungi: isolation and characterization of the nematode-trapping fungus arthrobotrys oligospora. In : *Iranian Biomedical Journal*. 2004. p. 8.

GHISI, M., KAMINSKY, R. et MÄSER, P., (2007). Phenotyping and genotyping of *Haemonchus contortus* isolates reveals a new putative candidate mutation for benzimidazole resistance in nematodes. In : *Veterinary Parasitology*. 2007. Vol. 144, n° 3-4, p. 313-320. DOI 10.1016/j.vetpar.2006.10.003.

- GILL, J. H., REDWIN, J. M., VAN WYK, J. A. et LACEY, E., (1995). Ivermectin inhibition of larval development in *Haemonchus contortus* — Effects of ivermectin resistance. In : *International Journal for Parasitology*. 1995. Vol. 25, n° 4, p. 463-470. DOI 10.1016/0020-7519(94)00087-5.
- GRAEF, J De, CLAEREBOUW, E et GELDHOF, P, (2013). Anthelmintic resistance of gastrointestinal cattle nematodes. In : *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. 2013. Vol. 82, n° 3, p. 113-123.
- GREER, AW, VAN WYK, J. A., HAMIE, JC, BYARUHANGA, C et KENYON, F, (2020). Refugia-Based Strategies for Parasite Control in Livestock. In : *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2020. Vol. 36, n° 1, p. 31-43.
- GRØNVOLD, J., WOLSTRUP, J., HENRIKSEN, S. A. et NANSEN, P., (1987). Field experiments on the ability of *Arthrobotrys oligospora* (Hyphomycetales) to reduce the number of larvae of *Cooperia oncophora* (Trichostrongylidae) in cow pats and surrounding grass. In : *Journal of Helminthology*. 1987. Vol. 61, n° 1, p. 65-71. DOI 10.1017/S0022149X00009743.
- HAFSI, F, CHINA, B et GHALMI, F, (2012). Le monepantel, un nouvel anthelminthique efficace contre les strongles gastro-intestinaux des ovins. In : *Ann. Méd. Vet*. 2012. Vol. 156, p. 66-76.
- HEWISON, A J M, VINCENT, J P, JOACHIM, J, ANGIBAULT, J M, CARGNELUTTI, B et CIBIEN, C, (2001). The effects of woodland fragmentation and human activity on roe deer distribution in agricultural landscapes. In : *Canadian journal of zoology*. 2001. Vol. 79, n°4 p. 679-689.
- HILDRETH, M.B. et MCKENZIE, J. B., (2020). Epidemiology and control of gastrointestinal nematodes of cattle in northern climates. In : *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2020. Vol. 36, n° 1, p. 59-71. DOI 10.1016/j.cvfa.2019.11.008.
- HINNEY, B., SCHOISWOHL, J., MELVILLE, L., AMEEN, V. J., WILLE-PIAZZAI, W., BAUER, K., JOACHIM, A., KRÜCKEN, J., SKUCE, P. J. et KRAMETTER-FRÖTSCHER, R., (2020). High frequency of benzimidazole resistance alleles in trichostrongyloids from Austrian sheep flocks in an alpine transhumance management system. In : *BMC Veterinary Research*. 2020. Vol. 16, n° 1, p. 132. DOI 10.1186/s12917-020-02353-z.
- HOSTE, H., CABARET, J., GROSMOND, G. et GUITARD, J.P., (2009). Alternatives aux traitements anthelminthiques en élevage biologique des ruminants. In : *INRAE Productions Animales*. 2009. Vol. 22, n° 3, p. 245-254. DOI 10.20870/productions-animales.2009.22.3.3351.
- HOSTE, H., JACKSON, F., ATHANASIADOU, S., THAMSBORG, S.. M. et HOSKIN, S. O., (2006). The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. In : *Trends in Parasitology*. 2006. Vol. 22, n° 6, p. 253-261. DOI 10.1016/j.pt.2006.04.004.
- HUMBERT, J.F, CABARET, J, ELARD, L, LEIGNEL, V et SILVESTRE, A, (2001). Molecular approaches to studying benzimidazole resistance in trichostrongylid nematode parasites of small ruminants. In : *Veterinary Parasitology*. 2001. Vol. 101, n° 3-4, p. 405-414. DOI 10.1016/S0304-4017(01)00565-9.

IRVINE, R. J., CORBISHLEY, H., PILKINGTON, J. G. et ALBON, S. D., (2006). Low-level parasitic worm burdens may reduce body condition in free-ranging red deer (*Cervus elaphus*). In : *Parasitology*. 2006. Vol. 133, n° 4, p. 465-475. DOI 10.1017/S0031182006000606.

JACKSON, F., (1993). Anthelmintic resistance—The state of play. In : *British Veterinary Journal*. 1993. Vol. 149, n° 2, p. 123-138. DOI 10.1016/S0007-1935(05)80083-1.

JACKSON, John, (2009). The annual diet of the Roe deer (*Capreolus capreolus*) in the New Forest, Hampshire, as determined by rumen content analysis. In : *Journal of Zoology*. 20 août 2009. Vol. 192, n° 1, p. 71-83. DOI 10.1111/j.1469-7998.1980.tb04220.x.

JACQUIET, P., (2015). Comment rationaliser les traitements anthelminthiques en élevage ovin ? In : *Le nouveau praticien vétérinaire*. Avril 2015. n° Elevages et Santé, Vol. 8, n° 30, p. 45-50.

JACQUIET, Philippe, (2017). *Strongyloses gastro-intestinales des Ruminants. Cours de troisième année*. 2017. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

JANSEN, J., (1972). On *Nematodirus europaeus* n.sp. from the Small Intestine of the Roe Deer (*Capreolus capreolus*). In : *Journal of Helminthology*. 1972. Vol. 46, n° 3, p. 235-239. DOI 10.1017/S0022149X0002438X.

JEAN-ANTOINE, A., (2017). *Consommation de tanins par le chevreuil et niveau d'infestation par des strongles gastro-intestinaux*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2017, 106 p

JÉGO, M., FERTÉ, H., GAILLARD, J.M., KLEIN, F., CRESPIAN, L., GILOT-FROMONT, E. et BOURGOIN, G., (2014). A comparison of the physiological status in parasitized roe deer (*Capreolus capreolus*) from two different populations. In : *Veterinary Parasitology*. 2014. Vol. 205, n° 3-4, p. 717-720. DOI 10.1016/j.vetpar.2014.09.016.

KAPLAN, R. M. et VIDYASHANKAR, A. N., (2012). An inconvenient truth: Global worming and anthelmintic resistance. In : *Veterinary Parasitology*. 2012. Vol. 186, n° 1-2, p. 70-78. DOI 10.1016/j.vetpar.2011.11.048.

KUZMINA, T., KHARCHENKO, V. et MALEGA, A., (2010). Helminth fauna of roe deer (*Capreolus capreolus*) in ukraine: biodiversity and parasite community. In : *Vestnik Zoologii*. 2010. Vol. 44, n° 1, p. 12-19. DOI 10.2478/v10058-010-0002-1.

KWA, M.S G, VEENSTRA, J. G et ROOS, M. H, (1994). Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in fl-tubulin isotype. In : *Molecular and Biochemical Parasitology*. 1994. Vol 63, n°2, p 299-303.

LACEY, E., (1988). The role of the cytoskeletal protein, tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles. In : *International Journal for Parasitology*. novembre 1988. Vol. 18, n° 7, p. 885-936. DOI 10.1016/0020-7519(88)90175-0.

- LACEY, E. et GILL, J.H., (1994). Biochemistry of benzimidazole resistance. In : *Acta Tropica*. mars 1994. Vol. 56, n° 2-3, p. 245-262. DOI 10.1016/0001-706X(94)90066-3.
- LAMBERTZ, C., POULOPOULOU, I., WUTHIJAREE, K. et GAULY, M., (2019). Anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes in sheep raised under mountain farming conditions in Northern Italy. In : *Veterinary Record Open*. 2019. Vol. 6, n° 1, p. e000332. DOI 10.1136/vetreco-2018-000332.
- LARSEN, M., (2000). Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious micro fungi. In : *Parasitology*. 2000. Vol. 120, n° 7, p. 121-131. DOI 10.1017/S0031182099005739.
- LE JAMBRE, L.F., (1976). Egg hatch as an in vitro assay of thiabendazole resistance in nematodes. In : *Veterinary Parasitology*. 1976. Vol. 2, n° 4, p. 385-391. DOI 10.1016/0304-4017(76)90067-4.
- LEARMOUNT, J., CONYERS, C., HIRD, H., MORGAN, C., CRAIG, B. H., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. et TAYLOR, M., (2009). Development and validation of real-time PCR methods for diagnosis of *Teladorsagia circumcincta* and *Haemonchus contortus* in sheep. In : *Veterinary Parasitology*. 2009. Vol. 166, n° 3-4, p. 268-274. DOI 10.1016/j.vetpar.2009.08.017.
- LEHRTER, V., JOUET, D., LIÉNARD, E., DECORS, A. et PATRELLE, C., (2016). *Ashworthius sidemi* (Schulz, 1933) and *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) in cervids in France: integrative approach for species identification. In : *Infection, Genetics and Evolution*. 2016. Vol. 46, p. 94-101. DOI 10.1016/j.meegid.2016.10.027.
- LEVINE, N.D. et ANDERSEN, F.L., (1973). Development and Survival of *Trichostrongylus colubriformis* on Pasture. In : *The Journal of Parasitology*. février 1973. Vol. 59, n° 1, p. 147. DOI 10.2307/3278592.
- LIENARD, E., (2007). *Les nematodes du tractus digestif des cervidés : marqueurs de contacts interspécifiques et traceurs des populations-hôtes*. 2007. Thèse de doctorat. Reims.
- LIÉNARD, E., (2015). *Cours sur les strongles*. 2015. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
- MARTIN, P.J., (1989). Selection for thiabendazole resistance in *Ostertagia spp.* By low efficiency anthelmintic treatment. In : *International Journal for Parasitology*. 1989. Vol. 19, n° 3, p. 317-325. DOI 10.1016/0020-7519(89)90143-4.
- MARTIN, R.J., (1997). Modes of action of anthelmintic drugs. In : *The Veterinary Journal*. 1997. Vol. 154, n° 1, p. 11-34. DOI 10.1016/S1090-0233(05)80005-X.
- MAUBLANC, M.-L., BIDEAU, E. et VINCENT, J P, (1985). Données préliminaires sur la tendance grégaire chez le chevreuil (*Capreolus capreolus L.*) en milieu ouvert, durant l'automne et l'hiver ; comparaison avec le milieu forestier. In : *Mammalia*. 1985. Vol. 49, n° 2, p. 3-12.
- MAVROT, F., HERTZBERG, H. et TORGERSON, P. R., (2015). Effect of gastrointestinal nematode infection on sheep performance: a systematic review and meta-analysis. In : *Parasites & Vectors*. 2015. Vol. 8, n° 1, p. 557.

- MCINTYRE, J. R. et BVETSCI, S, (2020). *Genetic markers of anthelmintic resistance in gastrointestinal parasites of ruminants*. 2020. Thèse de doctorat. University of Glasgow. 346 p.
- MCLEOD, R.S., (1995). Costs of major parasites to the Australian livestock industries. In : *International Journal for Parasitology*. 1995. Vol. 25, n° 11, p. 1363-1367. DOI 10.1016/0020-7519(95)00071-9.
- MILLER, C.M., WAGHORN, T.S., LEATHWICK, D.M., CANDY, P.M., OLIVER, A-M.B. et WATSON, T.G., (2012). The production cost of anthelmintic resistance in lambs. In : *Veterinary Parasitology*. 2012. Vol. 186, n° 3-4, p. 376-381. DOI 10.1016/j.vetpar.2011.11.063.
- MOLAN, A. L., WAGHORN, G. C. et MCNABB, W. C., (2002). Effect of condensed tannins on egg hatching and larval development of *Trichostrongylus colubriformis* in vitro. In : *Veterinary Record*. 2002. Vol. 150, n° 3, p. 65-69. DOI 10.1136/vr.150.3.65.
- MOHAMMEDSALIH, K., M., KRÜCKEN, J., KHALAFALLA, A., BASHAR A., JUMA F.R, ABAKAR A., ABDALMALAIK A.A.H., COLES G., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G. (2020) New codon 198 β -tubulin polymorphisms in highly benzimidazole resistant *Haemonchus contortus* from goats in three different states in Sudan. In : *Parasites & vectors*, 2020, vol. 13, n°1, p. 1-15.
- NAGY, G., CSIVINCSIK, Á., SUGÁR, L. et ZSOLNAI, A., (2017). Benzimidazole resistance within red deer, roe deer and sheep populations within a joint habitat in Hungary. In : *Small Ruminant Research*. 2017. Vol. 149, p. 172-175. DOI 10.1016/j.smallrumres.2017.02.012.
- NISBET, A.J., MEEUSEN, E.N., GONZÁLEZ, J.F. et PIEDRAFITA, D.M., (2016). Immunity to *Haemonchus contortus* and Vaccine Development. In : *Advances in Parasitology*. Academic Press, 2016. p. 353-396.
- O'CONNOR, L.J., WALKDEN-BROWN, S. W. et KAHN, L. P., (2006). Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. In : *Veterinary Parasitology*. 2006. Vol. 142, n° 1-2, p. 1-15. DOI 10.1016/j.vetpar.2006.08.035.
- PARAUD, C., MARCOTTY, T., LESPINE, A., SUTRA, J.F., PORS, I. et DEVOS, I., (2016). Cross-resistance to moxidectin and ivermectin on a meat sheep farm in France. In : *Veterinary Parasitology*. 2016. Vol. 226, p. 88-92. DOI 10.1016/j.vetpar.2016.06.033.
- PATO, F. J., VÁZQUEZ, L., PAINCEIRA, A., DIAZ, P., URIARTE, J., DIEZ-BAÑOS, N., DACAL, V., LOPEZ, C., PANADERO, R., DIEZ-BAÑOS, P., MORRONDO, P (2009) Gastrointestinal nematode species shared by roe deer (*Capreolus capreolus*) and grazing cattle from Galicia [Spain]. In : *Congresos y Jornadas. Serie Producción Animal-Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (España)*, 12 y 13 de mayo de 2009, 2009, p. 176-178.
- PATO, F.J., VÁZQUEZ, L., DÍEZ-BAÑOS, N., LÓPEZ, C., SÁNCHEZ-ANDRADE, R., FERNÁNDEZ, G., DÍEZ-BAÑOS, P., PANADERO, R., DÍAZ, P. et MORRONDO, P., (2013). Gastrointestinal nematode infections in roe deer (*Capreolus capreolus*) from the NW of the Iberian Peninsula: Assessment of some risk factors. In : *Veterinary Parasitology*. 2013. Vol. 196, n° 1-2, p. 136-142. DOI 10.1016/j.vetpar.2013.01.027.

PELLERIN, M. (2005). *Utilisation et sélection de l'habitat chez le chevreuil à différentes échelles spatio-temporelles*. 2005. Thèse de doctorat., Université de Poitiers, Poitiers, France.

PLOEGER, H.W. et EVERTS, R.R., (2018). Alarming levels of anthelmintic resistance against gastrointestinal nematodes in sheep in the Netherlands. In : *Veterinary Parasitology*. 2018. Vol. 262, p. 11-15. DOI 10.1016/j.vetpar.2018.09.007.

POWELL, R.A., (2000). Animal home ranges and territories and home range estimators. In : *Research techniques in animal ecology: controversies and consequences*. Edited by L. Boitani and T.K. Fuller. Colombia University Press, New York. 2000. p. 65-110.

PRICHARD, R.K., (1990). Anthelmintic resistance in nematodes: Extent, recent understanding and future directions for control and research. In : *International Journal for Parasitology*. 1990. Vol. 20, n° 4, p. 515-523. DOI 10.1016/0020-7519(90)90199-W.

R CORE TEAM, (2020). *R: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria

REDMAN, E., RIJKE, J. de, ZHU, S., CHEN, R., REVO, A., JACQUIET, P., VERHEYDEN, H., BEGOC, N., BENABED, S., CAPRON, G., CARGNELUTTI, B., DEBIAS, F., DUHAYER, J., LOURTET, B., PARDONNET, S., POIREL, M.-T., REY, B., VEYSSIERE, F., WARNANT, C., BOURGOIN, G., and GILLEARD, J.S. (2020) Evidence for wild cervids as transmission vectors of small ruminant drug resistant gastrointestinal nematode parasites. American Association of Veterinary Parasitologists, 65th Annual Meeting, June 18th-20th, 2020, virtual meeting.

REDMAN, E., WHITELAW, F., TAIT, A., BURGESS, C., BARTLEY, Y., SKUCE, P. J., JACKSON, F. et GILLEARD, J. S. (2015). The emergence of resistance to the benzimidazole anthelmintics in parasitic nematodes of livestock is characterised by multiple independent hard and soft selective sweeps. In : *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2015. Vol. 9, n° 2, p. e0003494. DOI 10.1371/journal.pntd.0003494.

ROEBER, F., JEX, A. R., CAMPBELL, A. J.D., NIELSEN, R., ANDERSON, G. A., STANLEY, K. K. et GASSER, R. B., (2012). Establishment of a robotic, high-throughput platform for the specific diagnosis of gastrointestinal nematode infections in sheep. In : *International Journal for Parasitology*. 2012. Vol. 42, n° 13-14, p. 1151-1158. DOI 10.1016/j.ijpara.2012.10.005.

ROEBER, F., JEX, A. R. et 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. In : *Parasites & Vectors*. 2013. Vol. 6, n° 1, p. 153. DOI 10.1186/1756-3305-6-153.

ROSE, H., RINALDI, L., BOSCO, A., MAVROT, F., DE WAAL, T., SKUCE, P., CHARLIER, J., TORGERSON, P. R., HERTZBERG, H., HENDRICKX, G., VERCRUYSSSE, J. et MORGAN, E. R., (2015). Widespread anthelmintic resistance in European farmed ruminants: a systematic review. In : *Veterinary Record*. 23 mai 2015. Vol. 176, n° 21, p. 546-546. DOI 10.1136/vr.102982.

ROSSANIGO, C.E. et GRUNER, L., (1995). Moisture and temperature requirements in faeces for the development of free-living stages of gastrointestinal nematodes of sheep, cattle and deer. In : *Journal of Helminthology*. 1995. Vol. 69, n° 4, p. 357-362. DOI 10.1017/S0022149X00014954.

ROSSI, L., (1997). A survey of the gastro-intestinal nematodes of roe deer (*Capreolus capreolus*) in a mountain habitat. *Parassitologia*. In : *Parassitologia*. 1997. Vol. 39, n° 4, p. 303-312.

SAN JOSÉ, C et LOVARI, S., (1997). Wood dispersion affects home range size of female roe deer. In : *Behav Processes*. 1997. Vol. 40, n° 3, p. 239-241. DOI doi:10.1016/s0376-6357(97)00019-3.

SANGSTER, N.C., RICKARD, J.M., HENNESSY, D.R., STEEL, J.W. et COLLINS, G.H., (1991). Disposition of oxfendazole in goats and efficacy compared with sheep. In : *Research in Veterinary Science*. 1991. Vol. 51, n° 3, p. 258-263. DOI 10.1016/0034-5288(91)90074-X.

SANTIAGO-FIGUEROA, I., LARA-BUENO, A., GONZÁLEZ-GARDUÑO, R., LÓPEZ-ARELLANO, M. E., DE LA ROSA-ARANA, J. L. et MALDONADO-SIMÁN, E. de J., (2019). Anthelmintic resistance in hair sheep farms in a sub-humid tropical climate, in the Huasteca Potosina, Mexico. In : *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 2019. Vol. 17, p. 100292. DOI 10.1016/j.vprsr.2019.100292.

SCHNYDER, M., TORGERSON, P.R., SCHÖNMANN, M., KOHLER, L. et HERTZBERG, H., (2005). Multiple anthelmintic resistance in *Haemonchus contortus* isolated from South African Boer goats in Switzerland. In : *Veterinary Parasitology*. 2005. Vol. 128, n° 3-4, p. 285-290. DOI 10.1016/j.vetpar.2004.12.010.

SEATON, D.S., JACKSON, F., SMITH, W.D. et ANGUS, K.W., (1989). Development of immunity to incoming radiolabelled larvae in lambs continuously infected with *Trichostrongylus vitrinus*. In : *Research in Veterinary Science*. 1989. Vol. 46, n° 1, p. 22-26. DOI 10.1016/S0034-5288(18)31111-1.

SEVILA, J., (2015). *Relation entre comportement spatial et parasitisme chez le chevreuil en milieu anthropisé*. 2015. Thèse de doctorat. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier

SHALABY, HA, (2013). Anthelmintics resistance; how to overcome it? In : *Iran J Parasitol*. 2013. Vol. 8, n° 1, p. 18-32.

SILVESTRE, A. et CABARET, J. (2002). Mutation in position 167 of isotype 1 b-tubulin gene of Trichostrongylid nematodes: role in benzimidazole resistance? In : *Molecular and biochemical parasitology*. 2002. Vol. 120, n°8, p.297-300

SILVESTRE, A et HUMBERT, J.F, (2002). Diversity of benzimidazole-resistance alleles in populations of small ruminant parasites. In : *International Journal for Parasitology*. 2002. Vol. 32, n° 7, p. 921-928. DOI 10.1016/S0020-7519(02)00032-2.

SINGH, D et SWARNKAR, C. P., (2005). Epidemiology and pasture management for the control of ovine gastrointestinal nematodosis. In : *Proceedings of FAO Symposium on "Integrated Animal Parasite Management: From Academic Interest to Reality"* Durg. 2005. p. 6-8.

SINGH, D, SWARNKAR, C.P, KHAN, F.A, SRIVASTAVA, C.P et BHAGWAN, P.S.K, (1997). Epidemiology of ovine gastrointestinal nematodes at an organised farm in Rajasthan, India. In : *Small Ruminant Research*. 1997. Vol. 26, n° 1-2, p. 31-37. DOI 10.1016/S0921-4488(96)00988-1.

SMITH, G., GRENFELL, B. T., ISHAM, V. et CORNELL, S., (1999). Anthelmintic resistance revisited: under-dosing, chemoprophylactic strategies, and mating probabilities. In : *International Journal for Parasitology*. 1999. Vol. 29, n° 1, p. 77-91. DOI 10.1016/S0020-7519(98)00186-6.

SOCHAT, F. (2015). *Évaluation d'un nouveau liquide dense pour le diagnostic coproscopique des infestations des ruminants par les trématodes*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2015, 118 p.

SUTHERLAND, I. A. et LEATHWICK, D. M., (2011). Anthelmintic resistance in nematode parasites of cattle: a global issue? In : *Trends in Parasitology*. 2011. Vol. 27, n° 4, p. 176-181. DOI 10.1016/j.pt.2010.11.008.

TANGUY, I. (2011). *Évaluation de la résistance des strongles digestifs aux anthelminthiques dans les élevages ovins en Bretagne*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort - ENVA, 2011, 73 p.

TAYLOR, M.A., HUNT, K.R. et GOODYEAR, K.L., (2002). Anthelmintic resistance detection methods. In : *Veterinary Parasitology*. 2002. Vol. 103, n° 3, p. 183-194. DOI 10.1016/S0304-4017(01)00604-5.

THOMPSON, D. P. et GEARY, T. G., (1995). The Structure and Function of Helminth Surfaces. In : *Biochemistry and Molecular Biology of Parasites*. Academic Press, 1995. p203-232.

TIWARI, J., KOLTE, A. P., KUMAR, S., SWARNKAR, C. P., SINGH, D. et PATHAK, K. M. L., (2006). Diagnosis of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* of sheep by allele specific pcr. In : *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2006. Vol. 20, n° 1, p. 7-11. DOI 10.5713/ajas.2007.7.

VAN WYK, J. A., (2001). Refugia - Overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. In : *The Onderstepoort journal of veterinary research*. 2001. n° 68, p. 55-67.

VERCRUYSSSE, J., HOLDSWORTH, P., LETONJA, T., BARTH, D., CONDER, G., HAMAMOTO, K. et OKANO, K., (2001). International harmonisation of Anthelmintic Efficacy Guidelines. In : *Veterinary Parasitology*. 2001. Vol. 96, n° 3, p. 171-193. DOI 10.1016/S0304-4017(00)00443-X.

VERMA, R., LATA, K. et DAS, G., (2018). An overview of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of livestock and its management: India perspectives. In : *International Journal of Chemical Studies*. 2018. Vol. 6, n° 2, p. 1755-1762.

VINCENT, J P, ANGIBAULT, J M, CARGNELUTTI, B et JOACHIM, J, (1996). La diffusion du Chevreuil dans les paysages agricoles des coteaux du Sud-Ouest. In : *INRA Editions*. 1996.

VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., BLACKHALL, W. J., MCCARTHY, J. S. et SKUCE, P. J., (2007). Single nucleotide polymorphism (SNP) markers for benzimidazole resistance in veterinary nematodes. In : *Parasitology*. août 2007. Vol. 134, n° 8, p. 1077-1086. DOI 10.1017/S0031182007000054.

VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., COLES, G. C., JACKSON, F., BAUER, C., BORGSTEEDE, F., CIRAK, V.Y., DEMELER, J., DONNAN, A., DORNY, P., EPE, C., HARDER, A., HÖGLUND, J., KAMINSKY, R., KERBOEUF, D., KÜTTLER, Ulla, PAPADOPOULOS, E., POSEDI, J., SMALL, J., VÁRADY, M., VERCRUYSSSE, J. et WIRTHELE, N., (2009). Standardization of the egg hatch test for the detection of benzimidazole resistance in parasitic nematodes. In : *Parasitology Research*. août 2009. Vol. 105, n° 3, p. 825-834. DOI 10.1007/s00436-009-1466-1.

WANG, T., VAN WYK, J. A., MORRISON, A. et MORGAN, E. R., (2014). Moisture requirements for the migration of *Haemonchus contortus* third stage larvae out of faeces. In : *Veterinary Parasitology*. 29 août 2014. Vol. 204, n° 3, p. 258-264. DOI 10.1016/j.vetpar.2014.05.014.

WHARTON, D. A., (1982). The survival of desiccation by the free-living stages of *Trichostrongylus colubriformis* (Nematoda: Trichostrongylidae). In : *Parasitology*. juin 1982. Vol. 84, n° 3, p. 455-462. DOI 10.1017/S0031182000052756.

WINDON, R et DINEEN, J, (1981). The effect of selection of both sire and dam on the response of F1 generation lambs to vaccination with irradiated *Trichostrongylus colubriformis* larvae. In : *International Journal for Parasitology*. 1981. Vol. 11, n° 1, p. 11-18. DOI 10.1016/0020-7519(81)90020-5.

WINTER, J., REHBEIN, S. et JOACHIM, A., (2018). Transmission of Helminths between Species of Ruminants in Austria Appears More Likely to Occur than Generally Assumed. In : *Frontiers in Veterinary Science*. 2018. Vol. 5, p. 30. DOI 10.3389/fvets.2018.00030.

XU, M., MOLENTO, M., BLACKHALL, W., RIBEIRO, P., BEECH, R. et PRICHARD, R., (1998). Ivermectin resistance in nematodes may be caused by alteration of P-glycoprotein homolog. In : *Molecular and Biochemical Parasitology*. 1998. Vol 91, n°2, p. 327-335

ZAFFARONI, E., TERESA MANFREDI, M., CITTERIO, C., SALA, M., PICCOLO, G. et LANFRANCHI, P., (2000). Host specificity of abomasal nematodes in free ranging alpine ruminants. In : *Veterinary Parasitology*. 2000. Vol. 90, n° 3, p. 221-230. DOI 10.1016/S0304-4017(00)00240-5.

ZAJAC, A. M., (2006). Gastrointestinal nematodes of small ruminants: life cycle, anthelmintics, and diagnosis. In : *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2006. Vol. 22, n° 3, p. 529-541. DOI 10.1016/j.cvfa.2006.07.006.

ZEDJA, J, (1978). Field groupings of roe deer (*Capreolus capreolus*) in a lowland region. 1978

ZEJDA, J., (1985). Home ranges of field roe deer. 1985.

ZIOGAS, B. N., NIKOU, D., MARKOGLU, A. N., MALANDRAKIS, A. A., & VONTAS, J. (2009). Identification of a novel point mutation in the β -tubulin gene of *Botrytis cinerea* and detection of benzimidazole resistance by a diagnostic PCR-RFLP assay. In : *European journal of plant pathology*, Vol. 125, n°1, p 97-107.

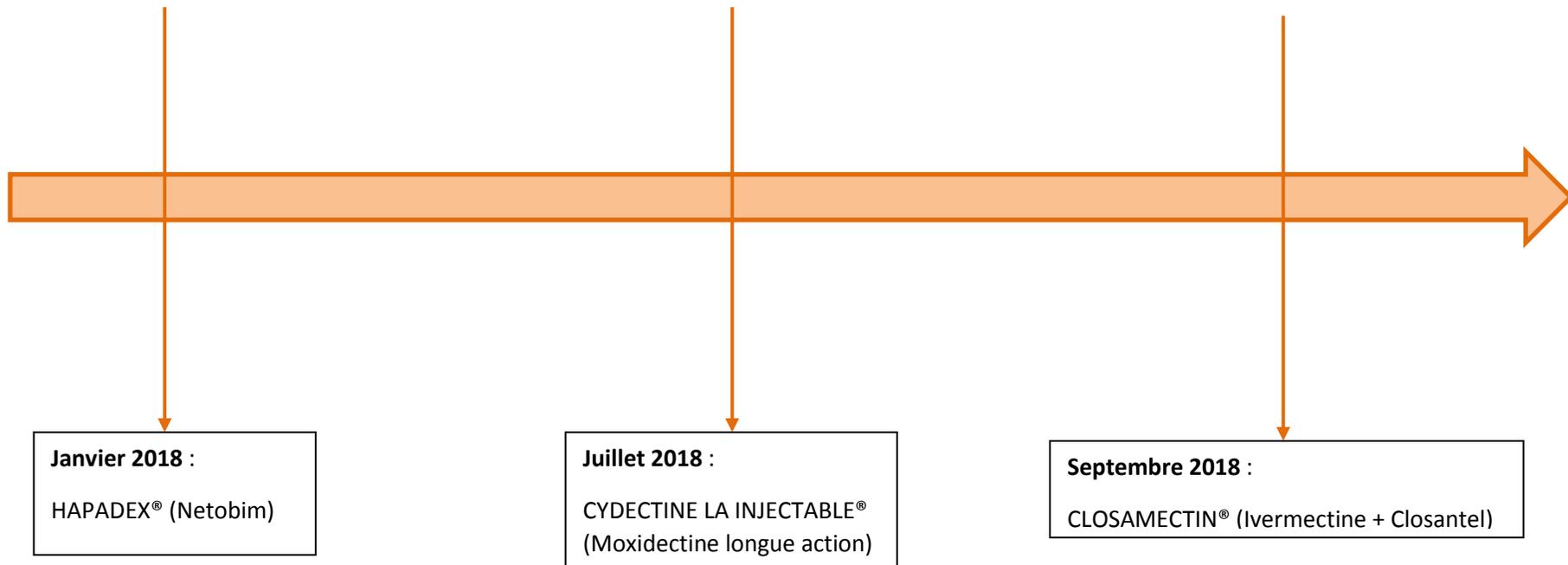
ZOUYED, I, (2015). A poorly investigated strongyle from sheep in steppic areas: *Marshallagia marshalli*. In : *Renc. Rech. Ruminants*. 2015. p. 22.

ZUUR, A. F., IENO, E. N. et SMITH, G. M., (2007). *Analysing ecological data*. New York ; London : Springer. Statistics for biology and health.

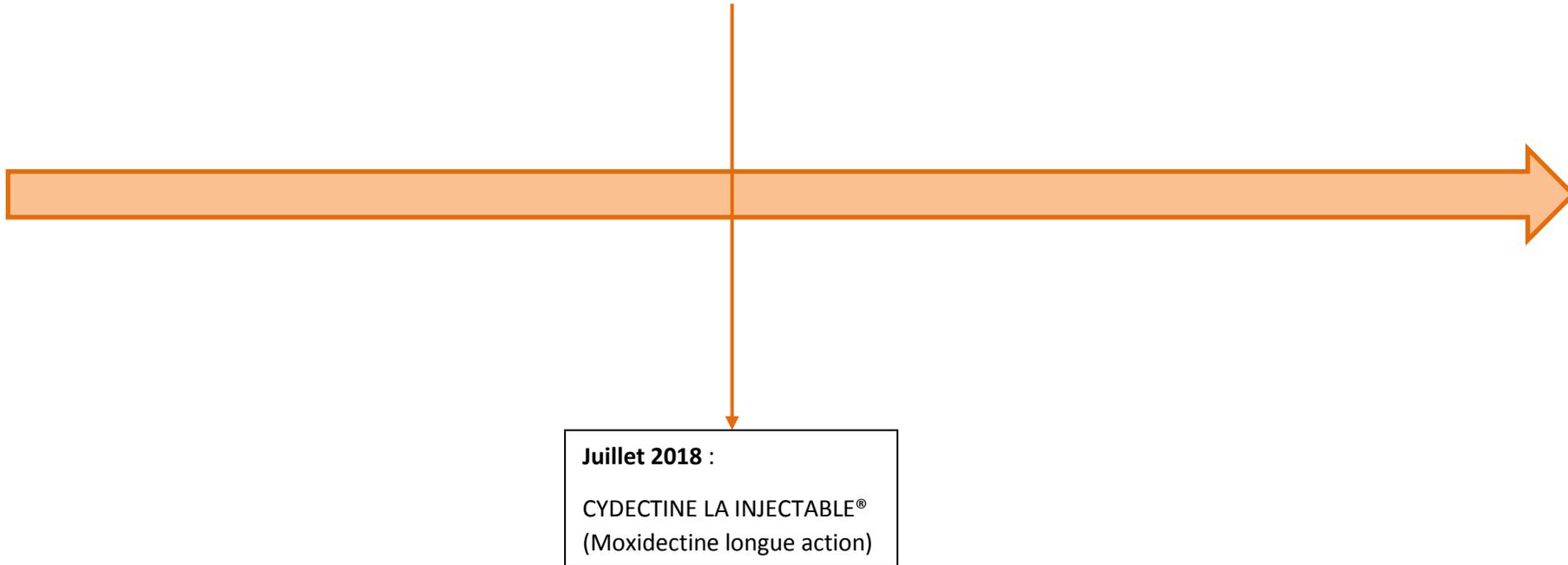
ANNEXES

Annexe 1 : Protocoles de vermifugations des élevages échantillonnés

Protocole vermifugation année 2018 – M1 –



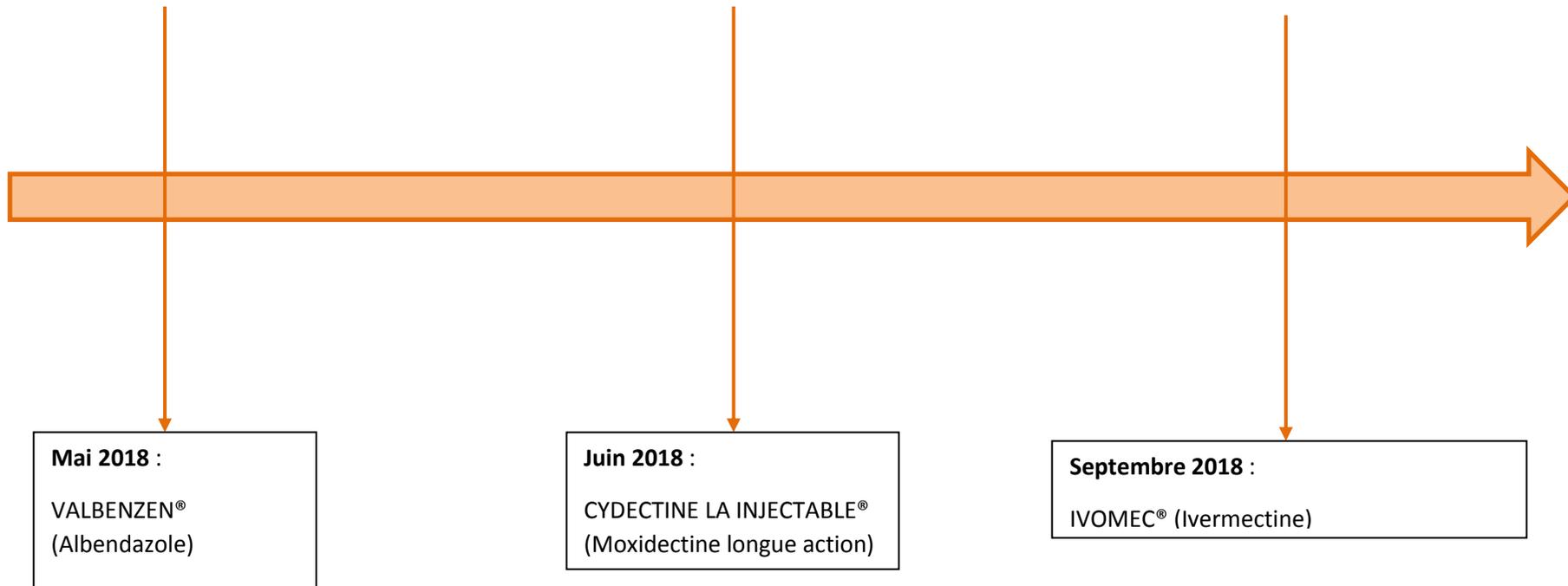
Protocole vermifugation année 2018 – M2 –



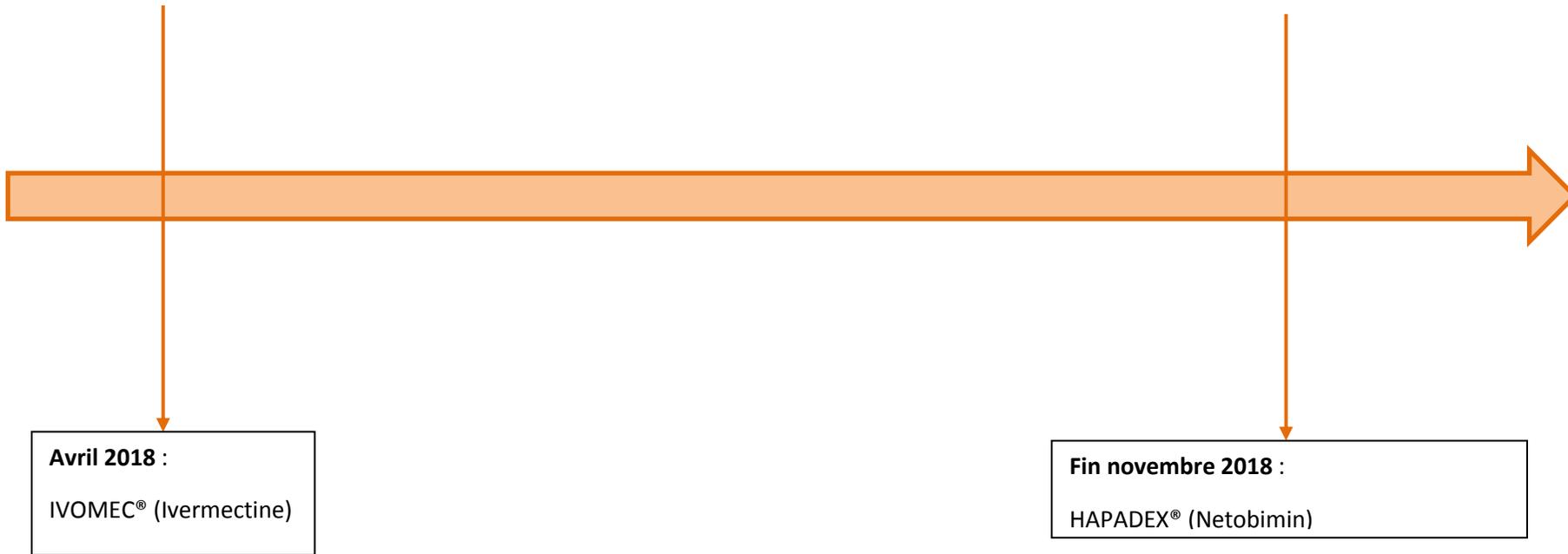
Protocole vermifugation année 2018 – M3 –



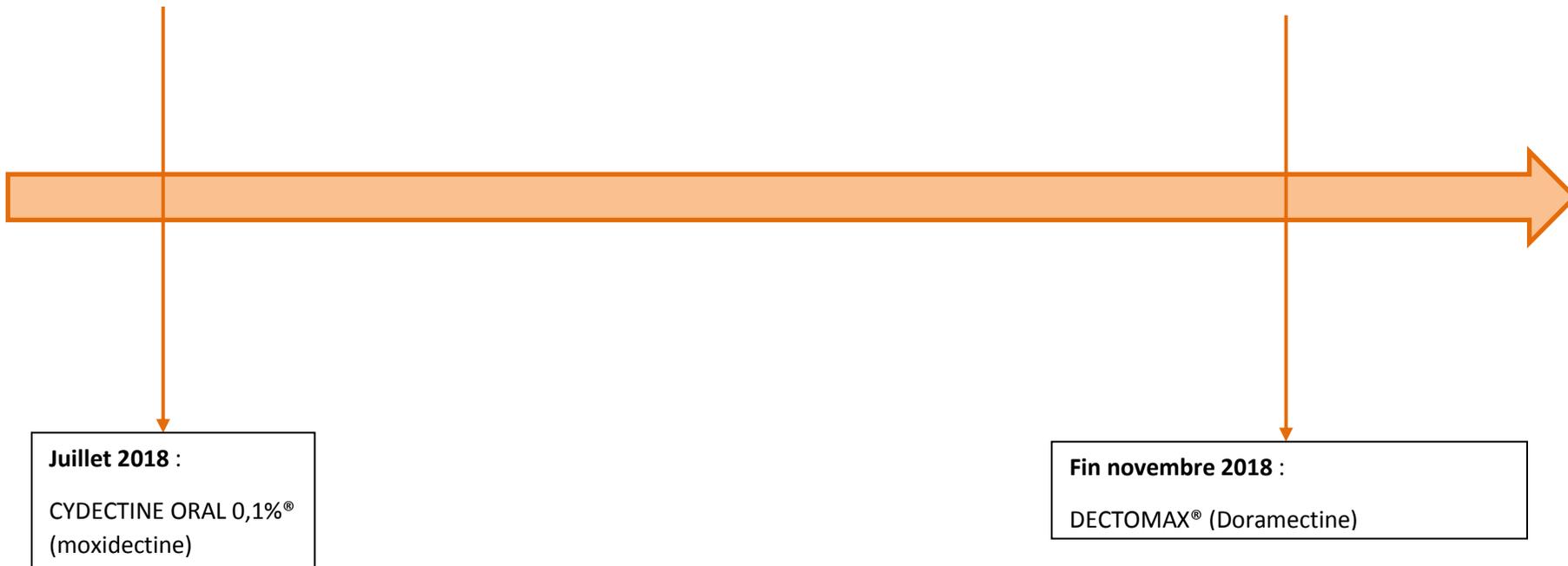
Protocole vermifugation année 2018 – M4 –



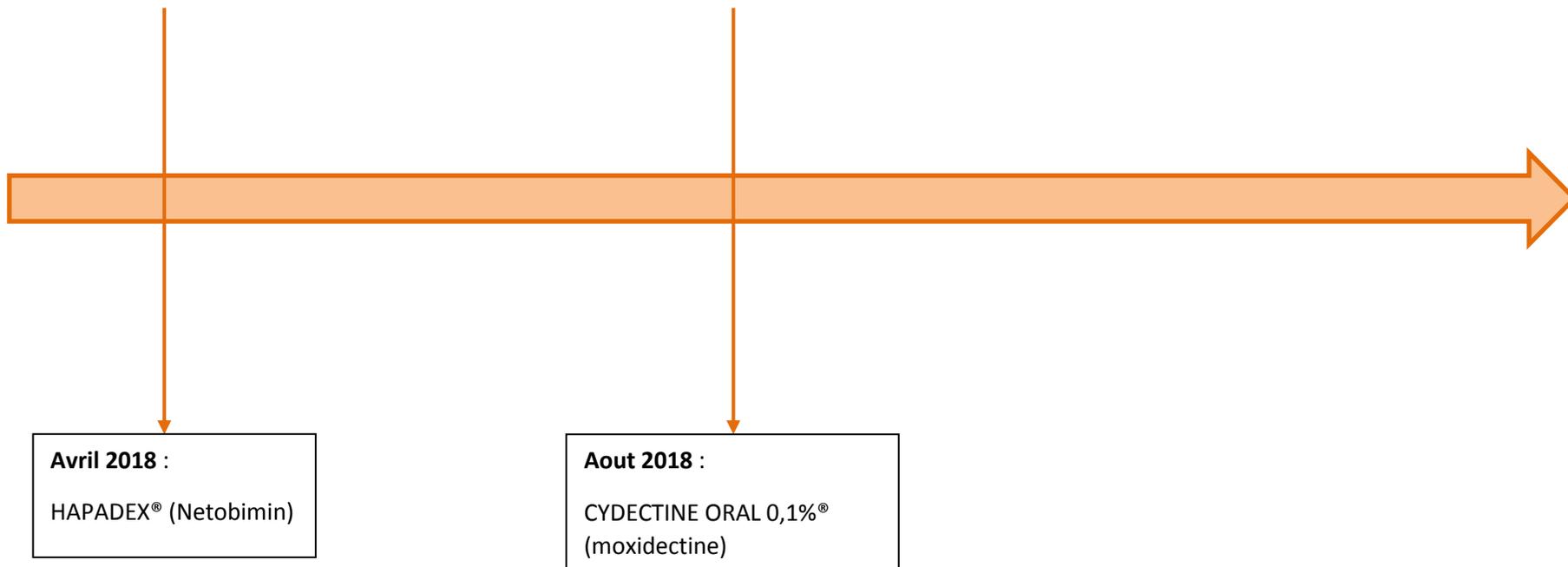
Protocole vermifugation année 2018 – M6 –



Protocole vermifugation année 2018 – M7 –



Protocole vermifugation année 2018 – M8 –



Préparation de la capture

La veille de la capture, le personnel du CEFS installe des perches et dispose au pied de celles-ci des filets (environ 4 km, par panneau de 50m) de façon à préparer la nasse où seront poussés les chevreuils le lendemain.

Capture

Le jour de la capture, le rendez-vous est en général fixé sur place vers 9h30. Un agent du CEFS présente le déroulement des opérations, les rôles de rabatteur et capteur et donne les consignes de sécurité. Les participants constituent 2 groupes : les rabatteurs et les capteurs.

Le but du rabat est de pousser les chevreuils vers les filets. Le rabat est constitué par une ligne de personnes (les rabatteurs) qui se déplace en ordre, lentement et bruyamment vers les filets sous la direction des responsables de ligne (personnel CEFS qui veille au respect des consignes à savoir que les rabatteurs se déplacent en ligne et uniformément répartis). Les rabatteurs sont amenés à franchir des obstacles tels que ronciers, talus, fossés.

Les capteurs sont postés, seuls à intervalles réguliers le long des filets, plus précisément entre le filet (à quelques mètres) et avant la ligne de rabat. Ils doivent être très patients et discrets et ne pas avoir peur d'intervenir lorsqu'un animal est capturé.

Le rôle du capteur consiste à :

- Accrocher les filets au bout des perches avant la capture,
- Surveiller et attendre qu'un chevreuil se prenne dans un filet et, le cas échéant, le contraindre, par la voie, à se diriger vers les filets.
- En cas de capture, il doit immobiliser le chevreuil et demander de l'aide aux capteurs voisins, sortir le chevreuil du filet, le mettre dans une caisse de contention (appelée sabot) et replacer le filet sur les perches dans l'attente d'une autre capture.
- Avant la mise en sabot, un responsable administre une piqûre de tranquillisant (acepromazine 0,3mL) dans la cuisse de l'animal. L'heure de la piqûre est indiquée à la craie sur le sabot. Le sabot est placé un peu en retrait de la ligne de filet, à l'ombre et au calme. Le responsable le plus proche vérifie régulièrement que l'animal est bien couché dans le sabot et remplit le questionnaire comportemental indicateur de l'état d'agitation de l'animal.

A la fin de l'opération, l'ensemble des participants aide à ranger le matériel (perches, filets, sabots). Les sabots contenant les chevreuils capturés sont transportés jusqu'à un lieu central de marquage choisi pour sa tranquillité, son accessibilité et la présence de refuges boisés où les chevreuils peuvent se réfugier une fois libérés. L'heure, la durée et la nature du transport (à pied ou en voiture) sont notés.

La manipulation et le marquage

La manipulation et le marquage doivent être réalisés dans le plus grand calme. Un questionnaire comportemental indicateur de l'état d'agitation de l'animal est complété pendant la manipulation et au lâché.

- Le sabot contenant l'animal est d'abord pesé.
- Puis, trois personnes expérimentées sortent le chevreuil du sabot et le posent sur la table de manipulation en le maintenant fermement au niveau de la tête, des épaules et pattes avant, et des reins. Les yeux sont cachés par un tissu opaque. L'heure de début de manipulation est notée.
- Le sabot vide est pesé.
- L'état général de l'animal est noté :
 - o Pour les mâles : bois dur, velours, bourgeon, rien
 - o Pour les femelles : allaitante ou non
 - o Pour tous : état du pelage, blessures
- Détermination de l'âge par examen de la dentition : faon (<1an), yearling (1-2 ans) et adulte (2-4, 4-6, > 6).
- Prélèvements de :
 - o Morceaux de peau (analyses génétiques) ;
 - o Fèces (crottes) pour déterminer le régime alimentaire et rechercher des parasites,
 - o Sang (parasitologie, immunologie, biochimie)
 - o Tiques (pathogène)
 - o Sécrétion de la muqueuse vaginale (recherche de chlamydie)
- Mesures de la longueur de la patte postérieure avec une toise, du tour de cou avec un mètre ruban
- Fixation d'une marque auriculaire à chaque oreille qui sert d'identifiant unique de l'animal à l'aide d'une pince. Le n° identifiant généralement noté sur les prélèvements est le n° pair.
- Placement d'un collier G.P.S. ou V.H.F ; le bon fonctionnement du collier est vérifié au préalable. Ses caractéristiques techniques sont notées : n°, fréquence, code couleur. L'aimant du VHF et, le cas échéant, du drop-off sont retirés.
- Si l'animal est légèrement blessé, on effectue quelques soins désinfection, cicatrisant, antibiotique local, suture légère.
- L'animal est ensuite relâché et l'heure du lâché est notée.

Le comportement de l'animal est noté à l'aide de la fiche comportement durant l'ensemble des opérations.

Annexe 3 : tableau représentant les différentes caractéristiques des mélanges coprologiques réalisés pour l'étude du statut parasitaire des élevages de moutons

Nom de l'élevage	Nombre de têtes	Nombre de prélèvements	Nombre mélanges	Nombre fèces dans chacun des mélange
M1	300	34 (>10%)	4	2x9 + 2x8
M2	250	27	4	3x7+1x6
M3	30	30	3	3x10
M4	250	21	3	3x7
M5	100	24	3	3x8
M6	18	18	3	3x6
M7	60	27	3	3x9
M8	30	30	3	3x10

Annexe 4 : Script classification parcellaire pour créer la variable « vegetation »

```
library(readxl)
# install.packages("devtools")
# devtools::install_github("kassambara/r2excel")
# install.packages("devtools")
# devtools::install_github("kassambara/r2excel")

library("xlsx")
library("r2excel")
library(openxlsx)

setwd("C:/Users/Florence/Dropbox/thèse chevreuils/Statistiques/Stat/en cours")

####Chargement des données
donn <- read_excel("donntotal.xlsx", col_types = c("numeric",
          "text", "text", "numeric", "numeric", "numeric",
          "numeric", "numeric",
"numeric","numeric","numeric","numeric","text","text","numeric"))

tableaufinal<- read_excel("data_ech.xlsx", col_types = c("text",
          "numeric", "text", "numeric", "numeric", "numeric",
          "text", "numeric", "text"))

donn=data.frame(donn)

tableaufinal=data.frame(tableaufinal)

#subd=data.frame(subset(donn,donn$ech=="C6_120219_12"))

listezoneculture=list("cereale","colza","soja","luzerne","jachere","autre
culture","tournesol","sorgho","jachere","vignes","legumineuse")
patures=list("prairie artificielle","prairie naturelle")
zonesartificielles=list("depot chantier","parking","route","dependance ferme","bati","hors
zone","non releve","terre")
foretsetzoneseminaturelles=list("friche","foret","jardin","pelouse","bande
enherbe","enclos","bati","parc arbore","haie")
eau="eau"

#cbind(tableaufinal,"%aire culture"=rep(0,dim(tableaufinal)[1]),"%aire
pature"=rep(0,dim(tableaufinal)[1]),"%aire zone
artificielle"=rep(0,dim(tableaufinal)[1]),"%aire zone semi
naturelle"=rep(0,dim(tableaufinal)[1]),"%aire eau"=rep(0,dim(tableaufinal)[1]))

tableaufinal$pourcentageculture=rep(0,dim(tableaufinal)[1])
tableaufinal$pourcentagepature=rep(0,dim(tableaufinal)[1])
tableaufinal$pourcentagezoneartificielle=rep(0,dim(tableaufinal)[1])
tableaufinal$pourcentageseminaturelle=rep(0,dim(tableaufinal)[1])
tableaufinal$pourcentageeau=rep(0,dim(tableaufinal)[1])
```

```

# cbind(tableaufinal,"%aire pature"=rep(0,dim(tableaufinal)[1]))
# cbind(tableaufinal,"%aire zone artificielle"=rep(0,dim(tableaufinal)[1]))
# cbind(tableaufinal,"%aire zone semi naturelle"=rep(0,dim(tableaufinal)[1]))
# cbind(tableaufinal,"%aire eau"=rep(0,dim(tableaufinal)[1]))

listenommms=list("listezoneculture","patures","zonesartificielles","foretsetzoneseminaturelles","eau")
for(i in unique(donn$ech)){
  #subd=subset(donn,donn$ech=="C6_120219_12")
  subd=subset(donn,donn$ech==i) #####recuperer nom echantillon
  #types=unique(subd$GRD_CAT_18)
  print(i)

#listecompt=data.frame("listezoneculture"=0,"patures"=0,"zonesartificielles"=0,"foretsetzoneseminaturelles"=0,"eau"=0,listenommms)

listecompt=data.frame("listezoneculture"=c("listezoneculture",0),"patures"=c("patures",0),"zonesartificielles"=c("zonesartificielles",0),"foretsetzoneseminaturelles"=c("foretsetzoneseminaturelles",0),"eau"=c("eau",0))

listecompt=c(0,0,0,0,0)

for(a in 1:dim(subd)[1]){
  #print(a)
  cat=subd[a,"GRD_CAT_18"][1]
  #print(cat)
  # if(cat %in%
listezoneculture){listecompt$listezoneculture=listecompt$listezoneculture+subd[a,"AIRE_HA
"]}
  # if(cat %in% patures){listecompt$patures=listecompt$patures+subd[a,"AIRE_HA"]}
  # if(cat %in%
zonesartificielles){listecompt$zonesartificielles=listecompt$zonesartificielles+subd[a,"AIRE_
HA"]}
  # if(cat %in%
foretsetzoneseminaturelles){listecompt$foretsetzoneseminaturelles=listecompt$foretsetzon
eseminaturelles+subd[a,"AIRE_HA"]}
  # if(cat %in% eau){listecompt$eau=listecompt$eau+subd[a,"AIRE_HA"]}

  # if(cat %in% listezoneculture){listecompt[2,1]=listecompt[2,1]+subd[a,"AIRE_HA"]}
  # if(cat %in% patures){listecompt[2,2]=listecompt[2,2]+subd[a,"AIRE_HA"]}
  # if(cat %in% zonesartificielles){listecompt[2,3]=listecompt[2,3]+subd[a,"AIRE_HA"]}
  # if(cat %in%
foretsetzoneseminaturelles){listecompt[2,4]=listecompt[2,4]+subd[a,"AIRE_HA"]}
  # if(cat %in% eau){listecompt[2,5]=listecompt[2,5]+subd[a,"AIRE_HA"]}
  #
  if(cat %in% listezoneculture){listecompt[1]=listecompt[1]+subd[a,"AIRE_HA"]}
  if(cat %in% patures){listecompt[2]=listecompt[2]+subd[a,"AIRE_HA"]}
  if(cat %in% zonesartificielles){listecompt[3]=listecompt[3]+subd[a,"AIRE_HA"]}
  if(cat %in% foretsetzoneseminaturelles){listecompt[4]=listecompt[4]+subd[a,"AIRE_HA"]}
}

```

```

if(cat %in% eau){listecompt[5]=listecompt[5]+subd[a,"AIRE_HA"]}
print(cat)
print(cat)
# cat[[1]][1]
#print(subd[a,"AIRE_HA"])

#listecompt[which(listecompt[,1]==cat),2]=listecompt[which(listecompt[,1]==cat),2]+subd[a,
"AIRE_HA"]
}
print(listecompt)
maximumaire=max(listecompt)
maximumaire
rangmax=which(listecompt==maximumaire)
pourcentagecult=listecompt[1]/sum(listecompt)
pourcentagepatures=listecompt[2]/sum(listecompt)
pourcentagezonesartificelles=listecompt[3]/sum(listecompt)
pourcentageforetsetzoneseminaturelles=listecompt[4]/sum(listecompt)
pourcentageeau=listecompt[5]/sum(listecompt)

# vegetation=listecompt[1,which(listecompt[2,]==maximumaire)]
vegetation=listenommmms[rangmax]
print(vegetation)
#print("controle1")
#print(vegetation)

for(e in 1:dim(tableaufinal[1])){
#print("controle2")
if(tableaufinal[e,"ech"]==i){
tableaufinal[e,"vegetation"]=vegetation
tableaufinal[e,"pourcentageculture"]=pourcentagecult
tableaufinal[e,"pourcentagepature"]=pourcentagepatures
tableaufinal[e,"pourcentagezoneartificielle"]=pourcentagezonesartificelles
tableaufinal[e,"pourcentageseminaturelle"]=pourcentageforetsetzoneseminaturelles
tableaufinal[e,"pourcentageeau"]=pourcentageeau
}
}
tableaufinal$pourcentageculture

}
write.xlsx(tableaufinal, file = "dataechfinal.xlsx")

```

Annexe 5 : Script statistiques générales

- **Analyse de la présence d'*Haemonchus contortus***

```
rm(list=ls())
library(readxl)
library(ggplot2)

setwd("C:/Users/Florence/Dropbox/thèse chevreuils/Statistiques/Stat/en cours")
donn <- read_excel("dataechfinal.xlsx", col_types = c("text",
              "numeric", "text", "numeric", "numeric", "numeric",
              "text", "numeric", "text",
              "numeric", "numeric", "numeric", "numeric", "numeric", "numeric"))

donn$vegetation<-as.factor(donn$vegetation)
donn$elevage<-as.factor(donn$elevage)
donn$haemoncus<-as.factor(donn$presence)
donn$contact_el<-as.factor(donn$contact_el)
donn$saizon<-as.factor(donn$saizon)
donn<-donn[which(!is.na(donn$presence)),]
donn<-donn[which(!is.na(donn$contact_el)),]

View(donn)
summary(donn)

reg1<-glm(presence~donn$contact_el,data=donn,family = binomial)
modelnul=glm(presence~1,data=donn, family = binomial)

summary(modelnul)
summary(reg1)
#AIC: 84.899
anova(reg1,modelnul)
```

- **Analyse de la présence de gènes de résistances aux benzimidazoles chez *Haemonchus contortus***

```
rm(list=ls())
library(readxl)
library(ggplot2)

setwd("C:/Users/Florence/Dropbox/thèse chevreuils/Statistiques/Stat/en cours")
donn <- read_excel("resistancehc.xlsx", col_types = c("text",
              "text", "text", "numeric", "numeric", "numeric",
              "text", "numeric", "text", "numeric", "numeric", "numeric", "numeric", "numeric"))

View(donn)
summary(donn)
donn$vegetation<-as.factor(donn$vegetation)
donn$autres<-as.factor(donn$autres)
donn$Elevage<-as.factor(donn$Elevage)
```

```

donn$haemoncus<-as.factor(donn$haemoncus)
donn$Species<-as.factor(donn$Species)
donn$contact_el<-as.factor(donn$contact_el)
donn$saizon<-as.factor(donn$saizon)
donn<-donn[which(!is.na(donn$haemoncus)),]
donn<-donn[which(!is.na(donn$contact_el)),]

reg1<-glm(haemoncus~donn$contact_el,data=donn,family = binomial)
modelnul=glm(haemoncus~1,data=donn, family = binomial)
summary(modelnul)
#AIC: 74.997
summary(reg1)
#AIC: 51.482 : pvalue = 0.00823
anova(reg1,modelnul)

```

- Analyse de l'excrétion parasites (opg) chez les chevreuils de l'étude

```

rm(list=ls())
library(readxl)
library(ggplot2)

setwd("C:/Users/Florence/Dropbox/thèse chevreuils/Statistiques/Stat/en cours")
donn <- read_excel("resistancehc.xlsx", col_types = c("text",
                                                    "text", "text", "numeric", "numeric", "numeric",
                                                    "text", "numeric", "text", "numeric", "numeric", "numeric", "numeric", "numeric"))

summary(donn)
donn$vegetation<-as.factor(donn$vegetation)
donn$autres<-as.factor(donn$autres)
donn$Elevage<-as.factor(donn$Elevage)
donn$haemoncus<-as.factor(donn$haemoncus)
donn$Species<-as.factor(donn$Species)
donn$contact_el<-as.factor(donn$contact_el)
donn$saizon<-as.factor(donn$saizon)
donn<-donn[which(!is.na(donn$opg)),]
donn<-donn[which(!is.na(donn$contact_el)),]
donn<-donn[which(!is.na(donn$vegetation)),]
donn$presence=0
donn$presence[donn$opg>15]=1
View(donn)

# Test des différentes variables
## modèle contact
reg1<-glm(presence~contact_el,data=donn,family = binomial)
modelnul=glm(presence~1,data=donn, family = binomial)
summary(modelnul)
#AIC: 95.738
summary(reg1)

```

```
#AIC: 96.104
```

```
anova(reg1,modelnul)
```

```
## modèle complet
```

```
reg1<-glm(presence~contact_el+saison+vegetation,data=donn,family = binomial)
```

```
modelnul=glm(presence~1,data=donn, family = binomial)
```

```
summary(modelnul)
```

```
#AIC: 95.738
```

```
summary(reg1)
```

```
#AIC: 88.301
```

```
anova(reg1,modelnul)
```

```
##modèle variables de correction
```

```
reg1<-glm(presence~saison+vegetation,data=donn,family = binomial)
```

```
modelnul=glm(presence~1,data=donn, family = binomial)
```

```
summary(modelnul)
```

```
#AIC: 95.738
```

```
summary(reg1)
```

```
#AIC : 87.88
```

```
anova(reg1,modelnul)
```

```
##modèle saison
```

```
reg1<-glm(presence~saison,data=donn,family = binomial)
```

```
modelnul=glm(presence~1,data=donn, family = binomial)
```

```
summary(modelnul)
```

```
#AIC: 95.738
```

```
summary(reg1)
```

```
#AIC: 85.639
```

```
anova(reg1,modelnul)
```

```
##modèle vegetation
```

```
reg1<-glm(presence~vegetation,data=donn,family = binomial)
```

```
modelnul=glm(presence~1,data=donn, family = binomial)
```

```
summary(modelnul)
```

```
#AIC: 95.738
```

```
summary(reg1)
```

```
#AIC: 91.781
```

```
anova(reg1,modelnul)
```

Test de wilcoxon : excrétion parasitaire selon les saisons :

```
wilcox.test(donn$opg~donn$saison)
```

```
boxplot(donn$opg~donn$saison,xlab="Saison",ylab="Nombre d'oeufs (opg)",data=donn)
```

Annexe 6 : Résultats des coproscopies de mélange des élevages de moutons

Nom échantillon	Résultats coproscopie n°1 (opg)	Résultats coproscopie n°2 (opg)	Moyenne coproscopie 1 et 2 (opg)
M1 - mélange 1	50	50	50
M1 - mélange 2	0	50	25
M1 - mélange 3	50	150	100
M1 - mélange 4	50	0	25
M2 - mélange 1	500	600	550
M2 - mélange 2	600	600	600
M2 - mélange 3	1100	1200	1150
M2 - mélange 4	500	400	450
M3 - mélange 1	100	100	100
M3 - mélange 2	0	0	0
M3 - mélange 3	0	0	0
M4 - mélange 1	50	50	50
M4 - mélange 2	0	0	0
M4 - mélange 3	0	0	0
M5 - mélange 1	350	150	250
M5 - mélange 2	100	250	175
M5 - mélange 3	400	150	275
M6 - mélange 1	100	50	75
M6 - mélange 2	400	50	450
M6 - mélange 3	150	50	100
M7 - mélange 1	150	200	175
M7 - mélange 2	100	50	75
M7 - mélange 3	50	50	50
M8 - mélange 1	15	0	7,5
M8 - mélange 2	0	0	0
M8 - mélange 3	0	0	0

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

Je soussigné(e), Philippe JACQUIET, Enseignant-chercheur, de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse commune de Noémie BEGOC et Florence VEYSSIERE intitulée « Evaluation de la transmission de Nématodes gastro-intestinaux résistants aux benzimidazoles entre *Ovis aries* et *Capreolus capreolus* dans le canton d'Aurignac (31) » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 08/09/2020
 Enseignant-chercheur de l'École Nationale
 Vétérinaire de Toulouse
 Professeur Philippe JACQUIET

Vu :
 Le Directeur de l'École Nationale
 Vétérinaire de Toulouse
 M. Pierre SANS

Vu :
 Le Président du jury
 Professeur Alexis VALENTIN

Vu et autorisation de l'impression
 Le Président de l'Université Paul Sabatier
 M. Jean-Marc BROCQ

Le Président de l'Université Paul Sabatier,
 En Vertu de la décision du CFAU
 Fabienne ALARY

Mme Noémie BEGOC et Mme Florence VEYSSIERE
 ont respectivement été admissibles sur concours en : 2015
 ont obtenu leur diplôme d'études fondamentales vétérinaires respectivement le : 09/07/2019 et le 05/09/2019
 ont validé leur année d'approfondissement respectivement le : 04/06/2020 et le 16/07/2020.
 n'ont plus au stage, ni enseignement optionnel à valider.



NOMS : BEGOC Noémie et VEYSSIERE Florence

TITRE : ÉVALUATION DE LA TRANSMISSION DE NÉMATODES GASTROINTESTINAUX RÉSISTANTS AUX BENZIMIDAZOLES ENTRE *OVIS ARIES* ET *CAPREOLUS CAPREOLUS* DANS LE CANTON D'AURIGNAC (31)

RESUMÉ : A l'aide d'analyses coproscopiques et de méthode de séquençage à haut débit, les helminthofaunes des moutons et des chevreuils partageant les mêmes pâtures dans le canton d'Aurignac ont été évaluées. La mise en évidence de strongles spécialistes des ovins comme *Teladorsagia circumcincta* et *Trichostrongylus colubriformis* chez des chevreuils pâturant à proximité d'élevages de moutons suppose un transfert de strongles spécialistes des ovins vers les chevreuils. De plus, nous avons aussi montré que les chevreuils vivant à proximité des élevages d'ovins avaient une probabilité plus élevée d'héberger des *Haemonchus contortus* résistants aux benzimidazoles, par rapport aux cervidés éloignés de ces élevages. Le partage de pâtures pourrait ainsi permettre l'échange de nématodes gastrointestinaux résistants aux benzimidazoles entre ruminants domestiques et sauvages.

MOTS-CLES : STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX, NÉMATODES, OVINS, CHEVREUILS, ANTHELMINTHIQUES, RÉSISTANCE, BENZIMIDAZOLE, TRANSMISSION, ÉCHANGE, NÉMABIOME, SÉQUENCAGE HAUT-DEBIT, AURIGNAC

TITLE : TRANSMISSION OF BENZIMIDAZOLES-RESISTANT GASTROINTESTINAL NEMATODES BETWEEN *OVIS ARIES* AND *CAPREOLUS CAPREOLUS* IN THE CANTON OF AURIGNAC (31)

ABSTRACT : Using coproscopic analysis and deep amplicon sequencing, the helminthofauna of sheep and deer sharing the same pastures in the canton of Aurignac was evaluated. The demonstration of sheep specialist gastro-intestinal nematodes such as *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis* in roe deer in the proximity of sheep farms suggests a possible transfer of gastro-intestinal nematodes in sheep to roe deer, following the use of the same pastures. In addition, we also showed that deer in close contact with sheep farms had a higher probability of harbouring benzimidazole-resistant *Haemonchus contortus* populations, compared to deer without farm contact. Thus, the sharing of pasture could allow the transmission of gastrointestinal nematodes resistant to benzimidazoles between domestic and wild ruminants.

KEY WORDS : GASTROINTESTINAL STRONGYLES, NEMATODES, SHEEP, ROE DEER, ANTHELMINTHICS, RESISTANCE, BENZIMIDAZOLE, TRANSMISSIONS, EXCHANGE, NEMABIOME, DEEP AMPLICON SEQUENCING, AURIGNAC