

IMPACT ENVIRONNEMENTAL DES ENDECTOCIDES SUR LA PEDOFAUNE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2002
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Benoît, Michel BARBUT

Né, le 12 octobre 1971 à CASTRES (Tarn)

Directeur de thèse : **M. le Docteur Hubert BRUGERE**

JURY

PRESIDENT :

M. Jean-Louis FONVIEILLE

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :

M. Hubert BRUGERE

M. Philippe JACQUIET

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

Mme Viviane BURGAT-SACAZE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Partie 2/3

C- SUR LES NEMATODES DU SOL ET LES VERS DE TERRE

Sur les nématodes du sol

A notre connaissance, aucune étude expérimentale n'a encore été publiée en soumettant une population connue de nématodes du sol aux effets des résidus d'endectocides.

Néanmoins, un certain nombre d'auteurs (SCHAPER et LIEBISH, 1991 - BARTH et SHAPER, 1992 - BARTH et col., 1993), ont effectué, à partir d'études de terrain, des comptages de fréquentation de bouses traitées ou non par des nématodes du sol dont les résultats feront l'objet d'une analyse ultérieure.

En l'absence de données précises sur la toxicité létale des résidus d'endectocide sur les nématodes du sol, nous ne pourrions émettre de jugement. Cependant la proximité phylogénétique entre les nématodes du sol et leurs frères parasites (contre lesquels la toxicité létale des avermectines n'est plus à démontrer) semble plaider pour une grande toxicité vis à vis des nématodes du sol.

Sur les vers de terre

A notre connaissance, il n'existe que quelques études expérimentales sur l'effet létal des avermectines sur les vers de terre (GUNN et SADD, 1994 - HALLEY et col., 1989a - WISLOCKI et col., 1989).

L'étude de GUNN et SADD (1994) est certainement la plus complète. Elle vise à étudier les effets de l'ivermectine mélangée à dose connue dans un sol neutre sur une quantité établie de vers de terre, *Eisenia foetida*, espèce non caractéristique du pâturage mais espèce recommandée dans les tests de laboratoire. Le sol expérimental est obtenu en mélangeant différents composants minéraux aboutissant à un pH stable de 6. L'ivermectine est mélangée au sol dans 7 dosages croissants, allant de 2 mg/kg à 60 mg/kg de sol sec. Les différents milieux obtenus, maintenus à température et humidité constante, hébergent 10 vers de terre nourris au fumier de cheval non traité. Le taux de mortalité est calculé à J7 et J14 après la mise en contact, la mortalité étant considérée comme l'absence de réponse à la stimulation de l'extrémité antérieure.

Le taux de mortalité calculé à J7 est de 0 % en dessous de 8 mg/kg, significativement augmenté à la concentration de 12 mg/kg et de 100 % à la concentration de 20 mg/kg de sol sec.

Après 14 jours d'exposition à l'ivermectine, la concentration la plus basse pour laquelle la mortalité de *Eisenia foetida* est augmentée est de 4 mg/kg de sol sec, démontrant l'effet cumulé de l'ivermectine, y compris pour l'estimation de l'action létale sur le ver de terre. La DL50, calculée à 14 jours d'exposition, est de 15,8 mg/kg de sol sec.

Bien que la concentration en ivermectine, même au début de l'excrétion fécale chez les bovins traités, est souvent inférieure à ces valeurs, particulièrement si la molécule est administrée par pour-on ou injection sous cutanée, les auteurs estiment que la concentration dans les bouses au sol peut augmenter de manière conséquente et atteindre des valeurs aussi élevées que 16,3 mg/kg, ceci à cause du métabolisme microbien au sein de la matière organique (SOMMER et col., 1992).

HALLEY et col. (1989a), pour le dossier environnemental du laboratoire Merck, principal fabricant de l'ivermectine, avaient déjà réalisé un test de toxicité de l'ivermectine sur le ver de terre *Eisenia foetida* en utilisant un protocole très similaire à celui utilisé par GUNN et SADD (1994). Les différentes concentrations testées s'échelonnent de 12 à 200 mg/kg de sol (très probablement sur sol total) et la mortalité est observée à J28. Le taux de mortalité est de 0 % pour des concentrations dans le sol inférieures ou égales à 12 mg/kg et seulement de 34 % pour une concentration en ivermectine de 200 mg/kg de sol. Ainsi, le calcul de la DL50 à 28 jours est de 315 mg/kg. Même si les auteurs annoncent une DL50 initiale comprise entre 18 et 100mg/kg selon les séries expérimentales, la correction apportée pour tenir compte de la mortalité spontanée aboutit à cette valeur de 315 mg/kg de sol, contrastant terriblement avec les résultats de l'étude de GUNN et SADD (DL50 à 14 jours : 15,8 mg/kg).

Il est très difficile d'expliquer un tel écart de valeur de la DL50 si ce n'est par la différence de composition du sol artificiel ou encore de son pH final. En effet, les quelques différences entre les deux protocoles utilisés portent sur le pH du sol (pH=7 pour l'étude de HALLEY et col., pH=6 pour GUNN et SADD) et la pureté de l'ivermectine utilisée puisque celle utilisée par GUNN et SADD provient d'une préparation commerciale (dans laquelle est rajouté un excipient).

Les résultats de DL50 de HALLEY et col. (1989,1993), sous leur forme corrigée, sont repris par la très sérieuse Food and Drug Administration (FDA) américaine (BLOOM et MATHESON, 1993).

WISLOCKI et col. (1989), eux aussi scientifiques du laboratoire Merck, annoncent, dans un chapitre destiné à l'usage des avermectines contre les parasites des cultures, une valeur calculée de DL50 de l'abamectine à 28 jours d'exposition des vers de terre de 28 mg/kg de sol. Valeur déjà plus en rapport avec la valeur calculée par GUNN et SADD (1994).

Le tableau 8 reprend les valeurs de DL50 établies sur les vers de terre dans les études précédemment citées.

Espèce testée	Milieu	Molécule utilisée	Durée d'exposition	Dose Létale 50%	Référence
<i>Eisenia foetida</i>	Sol reconstitué PH=6	Ivermectine Oramec ND	14 jours	DL50=15.8mg/kg de sol sec	Gunn A. et Saad J.W.,1994
<i>Eisenia foetida</i>	Sol reconstitué PH=7	Ivermectine	28 jours	DL50non corrigée =15-100mg/kg DL50 corrigée =315mg/kg	Halley B.A. et col.,1989a
?	?	Abamectine	?	DL50=28mg/kg	Wisloski P.G. et col.,1989

Tableau 8 : tableau récapitulatif des DL50 établies chez les vers de terre.

En conclusion, la toxicité aiguë des résidus d'endectocides vis à vis des vers de terre, ne semble pas faire l'unanimité, tant les résultats divergent. Néanmoins, les résultats qui sont, à l'heure actuelle, pris en compte par les instances officielles, confèrent aux résidus d'endectocides une faible toxicité à l'encontre des vers de terre.

D- Des effets variables selon la galénique et la molécule employée

Du fait que les effets létaux des résidus d'endectocide s'exercent essentiellement sur les stades larvaires des deux principaux groupes d'insectes coprophages (Diptères et Coléoptères), les études visant à comparer les effets entre les différentes formes galéniques et molécules employées ont utilisé majoritairement ces supports de démonstration.

1- Variations en fonction de la galénique utilisée

Après avoir commenté les études se basant sur des traitements par voie injectable des bovins (0,2 mg/kg, SC ou IM), traitement le plus classique en pratique, nous allons nous intéresser aux autres galéniques utilisables, développées commercialement ou non.

Pour WARDHAUGH et MAHON (1998), l'usage, chez les bovins, d'une présentation orale d'ivermectine normalement destinée aux ovins (*ivomec* liquide -laboratoire Merial-, dose recommandée), montre des effets larvicides beaucoup moins prononcés que la formulation injectable sur les larves de *Musca domestica*. Ainsi, dans le cas de l'administration orale d'ivermectine, la métamorphose des larves débute dans les bouses émises 8 jours après traitement et se produit dans 71 % des cas dans des bouses émises à J16, alors que la mortalité au premier stade larvaire est encore de 100 % pour les larves déposées sur des bouses issues de bovins traités par voie injectable et émises les mêmes jours. Cependant, de telles présentations orales d'endectocide n'existent encore actuellement que pour les ovins et les équidés.

Pour SOMMER et col. (1992), bien que la quantité d'ivermectine excrétée dans les bouses après un traitement pour-on standard des bovins (administré à 0,5 mg/kg) soit plus importante qu'avec un traitement par voie injectable (0,2 mg/kg), la durée d'action létale sur les larves de diptères est moindre dans le cas du pour-on. Cette constatation semble être confirmée par les résultats de MARLEY et col. (1993) dans lesquels les bouses issues de bovins traités par pour-on n'ont une action totalement inhibitrice sur le développement des œufs d'*Haematobia irritans* que durant 5 jours, entre J5 et J11 après traitement.

On ne peut que regretter l'absence de données établies en laboratoire concernant les effets létaux sur les diptères coprophages des avermectines délivrées à l'aide d'un bolus intraruminal. Il est possible, cependant, de calculer, pour un broutard de 200 kg, la dose supposée être quotidiennement délivrée par le bolus, ainsi même que la concentration en résidus susceptible de se retrouver dans les bouses (STRONG et WALL, 1994). Le bolus d'*Ivomec* (laboratoire Merial) est supposé délivrer 1,72 g d'ivermectine par jour pendant au moins 135 jours, soit 12,7 mg par jour. Pour un bovin de 200 kg, la dose délivrée dans le rumen est donc de 63 µg/kg et par jour. MILLER et col. (1981), en administrant quotidiennement par voie orale des doses d'ivermectine de 20 µg/kg, constataient une mortalité totale de toutes les larves de diptère testées. De même, STRONG et WALL (1994) établissent par calcul à 0,5 ppm la concentration moyenne en ivermectine dans les bouses d'un animal traité par bolus, concentration supérieure à celle du pic d'excrétion lors d'un traitement standard par voie injectable établie par JACKSON en 1989 (0,353 ppm). Il est donc raisonnable de supposer que les effets larvicide des résidus d'ivermectine lors d'administration par bolus intraruminal se prolongeraient, sur la majorité des larves testées, durant toute la durée de délivrance de l'endectocide (environ 4 mois).

2- Variations en fonction de la molécule utilisée

Alors que, vis à vis des effets létaux sur les larves de diptères, WARDHAUGH et MAHON (1998), constatent des effets comparables entre l'usage de

l'ivermectine et de l'abamectine par voie injectable (0,2 mg/kg), WARDHAUGH et col. (1996) avaient déjà constaté la moindre toxicité de l'usage de la moxidectine, endectocide de la famille des milbémeycine. Alors que dans le cas d'un traitement à la moxidectine (0,2 mg/kg, SC), les effets larvicides ne sont plus significatifs pour des bouses émises à J7 après injection, un traitement identique à l'ivermectine induit encore à J7 la mortalité de 100% des larves de diptères et les effets larvicides seront encore significatifs plus d'un mois après l'injection. La moindre toxicité létale des résidus de moxidectine vis à vis des larves de diptère a été confirmée plus récemment par KADIRI et col. (1999). Comparant les effets d'un traitement à l'ivermectine et à la moxidectine (0,2 mg/kg, SC) sur la durée de non-émergence des larves de *Neomyia cornicina* des bouses produites, les auteurs constatent, dans le cas du traitement des bovins à l'ivermectine, un blocage total de l'émergence pendant 20 jours et un effet significatif sur la non-émergence pendant plus d'un mois après le traitement. Dans le cas du traitement à la moxidectine, la non-émergence n'est jamais totale (maximum 80% à J1) et l'effet des résidus de la molécule sur les larves de diptère n'est significatif que pendant 10 jours après le traitement.

Concernant les coléoptères, les différences entre les avermectines et les milbémeycines, déjà constatées pour les diptères, semblent aller dans le même sens, malgré la plus faible sensibilité immédiate des larves de bousier.

DOHERTY et col. (1994), comparent les effets, à dose égale dans des bouses « reconstituées », de la moxidectine et de l'abamectine sur des larves de bousier rouleuseur *Onthophagus gazella*. Les couples de bousiers matures sont amenés à se reproduire en utilisant des bouses préparées par dilutions successives des deux endectocides allant de 512 à 4 µg/kg de matière fécale. L'effet létal sur les larves de bousier est nettement plus important pour l'abamectine que pour la moxidectine. En effet, toutes les concentrations testées d'abamectine réduisent significativement la survie larvaire d'*Onthophagus gazella* et les 100 % de mortalité sont atteints dès la concentration d'abamectine de 16 µg/kg de matière fécale. Alors que, dans le cas de la moxidectine, uniquement la concentration maximale testée de 512 µg/kg réduit significativement la survie larvaire du bousier, les 100 % de mortalité n'étant jamais atteint aux concentrations testées.

Les auteurs sont même les premiers surpris de constater des effets « bénéfiques » de faibles concentrations de moxidectine dans les bouses sur la survie des larves d'*Onthophagus gazella* par rapport au lot témoin. Cet effet bénéfique, difficile à expliquer, pourrait être dû, selon les auteurs, à l'élimination dans les bouses, même à ces faibles concentrations, de nématodes parasites concurrents des larves de coléoptères.

La même comparaison des effets de la moxidectine et de l'ivermectine, effectuée par LUMARET et KADIRI (1998) et reprise par KADIRI et col. (1999) sur des larves d'*Aphodius haemorrhoidalis*, est ici réalisée à dose de traitement comparable (0,2 mg/kg, SC, dose recommandée) et non pas à concentration égale en résidus dans les bouses. Les auteurs n'ayant constaté aucun effet significatif des traitements sur la mortalité des larves de

bousier par rapport au lot témoin, la différence de toxicité des deux molécules vis à vis des larves de coléoptère est impossible à établir.

A partir des données établies en laboratoire, il est tout de même possible de conclure à l'influence de la galénique et de la molécule endectocide utilisée sur la mortalité constatée des invertébrés du sol. La galénique influençant directement la durée durant laquelle les effets létaux sont observés, il semble préférable de choisir des présentations à courte durée d'excrétion (unidose orale, pour-on, voie injectable). D'autre part, l'usage des milbémécines, moins toxiques pour la pédofaune que les avermectines, semble être à privilégier.

III- LES EFFETS SUB-LETAUX

Il y a déjà plus de trente ans, alors que la majorité des chercheurs ne considéraient que la toxicité aiguë, MORIARTY (1969) constatait les effets latents drastiques des doses sub-létales de pesticides sur les insectes. Les effets sub-létaux sont en effet un moyen aussi efficace que la toxicité aiguë pour assurer le contrôle d'une population d'insecte (HAYNES 1988). Même si MORIARTY ne connaissait que les pesticides chlorés et les organophosphorés, les avermectines ne sont pas une exception. Elles ont aussi des effets sub-létaux qui peuvent avoir des conséquences considérables sur la survie des populations d'insectes du pâturage.

Ces effets, de nature très différente, s'expriment généralement avec des concentrations résiduelles d'endectocides dans les bouses inférieures aux concentrations létales pour la même espèce au même stade.

Les effets sub-létaux sont donc présents durant une période plus longue que les effets létaux après le traitement administré aux bovins. Dans le cas où ces effets sub-létaux affecteraient des fonctions essentielles pour le maintien des espèces à moyen ou long terme, les conséquences sur les invertébrés de la pédofaune pourraient être très importantes.

Face à la variété des effets sub-létaux démontrés et pour une plus grande clarté dans la présentation de notre travail, nous avons préféré classer d'abord en fonction du type d'effet sub-létal constaté avant de mentionner les groupes d'invertébrés de la pédofaune qui en sont affectés.

Hormis quelques effets sur le comportement alimentaire ou la régulation de balance hydrique, les principaux effets sub-létaux des avermectines décrits chez les invertébrés de la pédofaune, concernent les troubles de la reproduction, les troubles de la métamorphose et enfin les malformations.

A- Les effets sur le comportement alimentaire

De nombreuses études, concernant notamment les insectes parasites des cultures, rapportent que les insectes arrêtent de manger normalement après

contact ou ingestion d'ivermectines, laissant supposer chez celles-ci un effet perturbant le comportement alimentaire. Néanmoins, il est difficile d'isoler, chez les invertébrés, un effet strict sur le comportement alimentaire des effets débilitant des ivermectines.

Ainsi, chez les coléoptères notamment, où l'on sait que l'abamectine réduit la prise alimentaire, la concentration efficace est proche de la concentration létale. Il se peut alors que l'insecte soit simplement en partie paralysé ou «malade » après ingestion d'ivermectine et qu'il soit dans l'incapacité de manger. Une action spécifique sur le comportement alimentaire ne doit pas être confondue avec une incapacité à se nourrir.

Quelques travaux ont été réalisés chez les vers de terre soumis à diverses concentrations d'ivermectine. GUNN et SADD (1994) dans leur étude complète sur *Eisenia foetida*, calcule la modification de poids des adultes survivants au bout de 14 jours d'exposition aux concentrations croissantes d'endectocide (0, 2, 4, 8, 12, 16 mg/kg). Alors que les vers grossissent (près de 20% de prise de poids en moyenne) avec les concentrations en ivermectine dans le sol allant de 0 à 4 mg/kg de sol sec, à partir de 8 mg/kg les données s'inversent nettement (amaigrissement). Le calcul, quelque peu théorique, de la dose efficace 50% (EC50 : dose minimale provoquant l'amaigrissement de 50% de la population de vers) aboutit à 4,7 mg/kg de sol sec.

Ces résultats semblent aller à l'encontre des constats de MADSEN et col. (1988) qui affirment que la biomasse de deux espèces de lombrics soumis à des résidus d'ivermectine (bouse J1 après injection SC, 0,2 mg/kg) ne varie pas significativement après 98 jours d'exposition. Néanmoins, le calcul, dans cette étude, se fait sur la biomasse totale et, ni ne compte, ni ne différencie, les vers morts de ceux encore vivants.

Les effets des résidus d'endectocides sur le comportement alimentaire, présentés par certains comme un des effets sub-létaux de ces molécules sur les espèces non cibles, ne sont probablement qu'un effet indirect de la paralysie progressive menant tôt ou tard à la mort du sujet.

B- Les effets sur l'osmorégulation

Concernant un certain nombre d'ordres d'insectes et particulièrement les diptères et les coléoptères, il existe des études qui constatent la tendance des insectes à se gorger d'eau comme conséquence des contacts avec des résidus d'ivermectine. Ainsi, COOK (1993) constate dans son étude que, exclusivement chez les femelles diptères *Lucilia cuprina* nourries avec des bouses d'animaux traités, l'abdomen commence à se distendre seulement deux jours après le repas contaminant. Le gonflement est invariablement associé avec un élargissement du jabot des insectes, qui fréquemment fini par occuper la totalité de la cavité abdominale.

Ces constatations confirment les notes de STRONG et BROWN (1987) selon lesquelles bon nombre d'insectes présentent une perturbation de leur balance hydrique et gonflent du fait de l'apparition de liquide dans les grandes cavités après l'ingestion de résidus d'ivermectine.

Même si le mécanisme des perturbations de l'osmorégulation n'est pas totalement élucidé, cet effet « sub-létal » n'est souvent qu'une étape dans le cheminement vers la mort des espèces sensibles aux endectocides.

C- Les effets sur la reproduction

Les effets sur la reproduction des invertébrés du sol soumis à l'âge adulte aux résidus d'endectocides contenus dans les excréments du bétail traité peuvent se diviser en 3 grandes entités ; tout d'abord les effets sur l'atteinte de la maturité sexuelle, ensuite sur la production d'ovocytes et d'oeufs par les femelles contaminées et enfin, sur le pourcentage d'éclosion de ces œufs émis.

Nous verrons qu'au travers de ces trois entités, l'ensemble des principaux ordres d'invertébrés constituant la pédofaune coprophage peut être substantiellement atteint dans sa capacité de perpétuer l'espèce.

1- La maturité sexuelle

Elle est retardée ou incomplète, en présence de résidus d'ivermectine, chez la totalité des insectes pour lesquels elle a été étudiée.

Pour les diptères, essentiellement le cas de *Lucilia cuprina*, inféodé aux troupeaux de moutons, a été étudié en détail par MAHON et WARDHAUGH (1991) et COOK (1991,1993), après administration orale d'une solution d'ivermectine aux ovins. MAHON et WARDHAUGH (1991) et COOK (1991) constatent que l'alimentation des femelles adultes *Lucilia cuprina* avec du crottin émis 18 heures après le traitement (correspondant au pic d'excrétion), perturbe mais surtout retarde significativement l'apparition de la maturité sexuelle estimée après dissection précise des ovaires et des ovarioles.

Ainsi, dans l'étude de COOK (1991), après 4 jours d'exposition aux résidus d'ivermectine, seulement 53 % des femelles sont sexuellement matures pour 80% des femelles élevées sur des crottins non traités. De même, dans l'étude de MAHON et WARDHAUGH (1991), alors qu'au bout de 5 jours d'expérimentation, 100 % des femelles sont normalement matures, il faut attendre le jour suivant pour voir la première femelle mature dans le lot en contact avec les résidus d'ivermectine.

COOK, en 1993, constate des effets similaires de perturbation de la maturité sexuelle en organisant des accouplements entre mâles et femelles *Lucilia cuprina*, soumis ou non aux résidus d'ivermectine et en en appréciant l'efficacité par différents paramètres (fréquence, durée de l'accouplement,

succès de celui-ci). Par cette méthode et le traitement statistique croisé des données observées, COOK peut dissocier l'effet des résidus chez les mâles et chez les femelles. Alors que dans cette étude, les adultes sont nourris à partir de crottins frais collectés chaque jour entre J1 et J6 après traitement, COOK conclut exclusivement à l'immaturité sexuelle des mâles soumis aux résidus (accouplements moins fréquents, plus longs). Les femelles, ici soumises à des doses d'endectocides théoriquement moindres que dans les protocoles de MAHON et WARDHAUGH (1991) et COOK (1991), ne subiraient pas de retard de maturité sexuelle.

Plus récemment, GOVER et STRONG (1995), ont soumis des diptères adultes *Neomyia cornicina* à une exposition forcée pendant 24 heures avec des bouses contenant différents dosages de 0 à 0,15 µg d'ivermectine par gramme de matière fraîche. Les femelles exposées aux résidus présentaient à la fois un retard et une déficience significative dans la venue de la maturité sexuelle.

Dans le cas des coléoptères, WARDHAUGH et RODRIGUEZ-MENENDEZ (1988) constatent que les effets des doses sub-létales de résidus d'ivermectine sur la maturité sexuelle s'exercent sur des jeunes adultes *Copris hispanus* nourris sur des bouses émises durant les 4 premiers jours après l'injection aux bovins. Ainsi, au bout de 43 jours, seule 36 % des jeunes femelles exposées aux résidus sont sexuellement matures pour 100 % au sein du lot témoin. Comme RIDS DILL-SMITH (1988) avec *Onthophagus binodis*, WARDHAUGH et col. (1993) concluent aussi à l'effet retardataire des résidus d'ivermectine sur la maturité sexuelle des jeunes femelles *Euoniticellus fulvus*. Néanmoins, ils constatent chez les femelles pour qui le développement ovarien est retardé par les résidus d'ivermectine, que ce phénomène est réversible si elles sont transférées sur des bouses ne contenant pas de résidus.

En conclusion, il est évident que les effets sur la maturité sexuelle des résidus d'endectocide ne peuvent être négligés dans l'appréciation globale des effets chez les insectes de la pédofaune.

2- La production d'ovocytes ou d'oeufs

Ce critère objectif de la capacité de reproduction des femelles a été retenu pour apprécier les effets des résidus d'endectocides, autant chez les diptères et les coléoptères que chez les vers du sol.

Chez les diptères, le nombre d'ovocytes matures par femelles *Lucilia cuprina*, soumises à différents régimes contenant ou non des résidus d'ivermectine a été étudié, au travers de dissections fines, par MAHON et WARDHAUGH (1991), MAHON et col. (1993) et COOK (1991). Les trois études, réalisées chez des ovins traités par une solution d'ivermectine *per os*, concluent à l'action inhibitrice des résidus émis le lendemain du traitement sur la

fertilité des femelles (pic d'excrétion pour une présentation en solution buvable).

Concernant les coléoptères, le décompte des ovocytes chez de jeunes femelles *Onthophagus binodis* (HOULDING et col., 1991) témoigne d'une action significative des résidus d'abamectine au moment du pic d'excrétion sur la réduction de la fertilité des femelles bousiers.

Le comptage des ovocytes chez les insectes, qui pouvait apparaître comme le critère le plus objectif de la baisse de la fertilité des femelles, ne s'avère que peu différent du comptage des œufs pondus, beaucoup plus facile à mettre en œuvre. Dès lors, même si MAHON et col. (1993) constatent, après dissection, que l'exposition aux résidus d'ivermectine provoque une plus forte rétention d'ovocytes matures chez *Lucilia cuprina*, la majorité des auteurs attendent la ponte pour constater les effets des résidus sur la fertilité des insectes.

Les femelles diptères soumises ou non aux résidus d'ivermectine, se voient donc proposer un milieu adéquat pour stimuler l'acte de ponte (coton, foie, sucre).

Dès 1986, MILLER et col. avaient constaté les effets inhibiteurs sur la ponte de faibles doses d'ivermectine sur les femelles *Haematobia irritans* et *Stomoxys calcitrans* en distinguant un effet dose et un effet durée d'exposition. MAHON et WARDHAUGH (1991) constatent, sur des femelles *Lucilia cuprina* nourries avec du crottin de mouton produit au pic d'excrétion de l'ivermectine, que celles-ci produisent des œufs significativement plus petits, et en plus petit nombre, que les femelles témoins.

Cependant, GOVER et STRONG (1995), en estimant les effets sur des femelles *Neomya cornicina* exposées pendant 24 heures à des bouses de plus en plus concentrées en résidus d'ivermectine (0,05 à 0,15 µg/g) temporisent les conséquences sur le nombre d'œufs pondus. Même si quand la concentration en résidus augmente, les femelles pondent moins d'œufs, les différences, y compris avec le lot témoin, ne sont pas encore significatives.

Chez les coléoptères, les effets des résidus d'ivermectine sur la quantité d'œufs pondus semblent plus discutés.

Des effets significatifs ont été constatés par RISDILL-SMITH (1988) chez les femelles bousiers *Onthophagus binodis*. En effet, l'auteur remarque une forte diminution du nombre d'œufs pondus (et donc du nombre de boulettes de matière fécale fabriquées pour les abriter) chez des femelles nourries sur des bouses collectées pendant deux semaines après un traitement standard des bovins (abamectine, 0,2 mg/kg, SC). Ainsi, les femelles bousier, nourries avec des excréments émis une semaine après l'injection, produisent trois fois moins d'œufs que le lot témoin. Les effets inhibiteurs de la ponte ne sont plus visibles 4 semaines après le traitement antiparasitaire.

Concernant la même espèce de bousier, HOULDING et col. (1991) constatent les mêmes effets inhibiteurs sur la ponte des résidus d'abamectine, à

condition que la durée d'exposition soit suffisamment longue. Ainsi, les femelles bousier, quel que soit leur âge, nourries pendant 8 semaines sur des bouses émises entre J3 et J5 après injection standard des bovins, voient leur production d'œufs très significativement diminuer par rapport au lot témoin (jusqu'à 10 fois moins pour des femelles initialement âgées de 8 semaines). Dans le cas où l'exposition aux résidus d'abamectine ne dure que 2 semaines (suivi de 6 semaines d'aliment non traité), les femelles ne montrent pas de réduction significative du nombre moyen d'œufs pondus, ceci permettant de soutenir la thèse de la réversibilité partielle des effets sur la reproduction chez les coléoptères (tableau 9).

Tableau 9 : nombre d'œufs pondus par femelle *Onthophagus binodis* après trois types de régime alimentaire (d'après Houlding B. et col., 1991).

	Groupe témoin Absence d'abamectine	Groupe 1 2 semaines d'abamectine	Groupe 2 8 semaines d'abamectine	
Nombre d'œufs par femelle Jeunes femelles	4,06 (+/- 0,54)	3,32 (+/- 0,47)	1,32 (+/- 0,11)	F _{2.59} =16,004 P<0,001
Nombre d'œufs par femelle Femelles âgées	10,11 (+/- 1,08)	8,68 (+/- 0,92)	0,92 (+/- 0,21)	F _{2.15} =35,572 P<0,001

On constate un effet significatif des résidus d'endectocides sur la réduction de la ponte lors des huit semaines d'exposition.

WARDHAUGH et RODRIGUEZ-MENENDEZ (1988) constatent, avec une autre espèce de bousier *Copris hispanus*, des effets similaires. Les femelles nourries pendant 8 semaines à partir de bouses émises à J3 après injection d'ivermectine produisent significativement moins d'œufs que le lot témoin. Les effets n'étant plus significatifs avec des excréments émis à J8 et J16 après le traitement.

Enfin, WARDHAUGH et col. (1993) constatent des effets identiques sur les femelles bousier *Euoniticellus fulvus* nourries aux crottins de mouton émis au moment du pic d'excrétion de la forme orale d'ivermectine administrée aux ovins. Les femelles, uniquement exposées à des crottins J1, montrent une réduction très hautement significative de leur niveau de ponte (baisse de plus de 50% par rapport au lot témoin).

Néanmoins, un certain nombre d'auteurs semblent plutôt constater l'absence d'effet des résidus d'endectocides sur la production d'œufs des bousiers (RONCALLI, 1989 - SOMMER et OVERGAARD-NIELSEN, 1992 - FINCHER, 1992 - DOHERTY et col., 1994).

RONCALLI (1989), citant des études pour la plupart non publiées, indique uniquement l'absence d'effet sur les adultes *Onthophagus gazella* d'un traitement injectable standard d'ivermectine ou d'abamectine.

Dans leur étude concernant *Onthophagus gazella*, SOMMER et OVERGAARD-NIELSEN (1992) constatent, plus précisément, que le nombre d'œufs émis n'est pas clairement affecté par la présence de résidus d'ivermectine. Les auteurs évoquent les effets sur la reproduction plus marqués sur les jeunes femelles ; jeunes femelles non utilisées dans cette étude. FINCHER (1992) aboutit aux mêmes conclusions avec un petit échantillon d'*Euoniticellus intermedius*.

Enfin DOHERTY et col. (1994), dans une étude visant à comparer les effets toxiques des résidus de moxidectine et d'abamectine dans les excréments, semblent constater, ici aussi sur des femelles *Onthophagus gazella*, l'absence totale d'effet des traitements à la moxidectine ou à l'abamectine sur la production de « boulettes » abritant les œufs de bousier.

Concernant enfin les effets sur la fertilité des vers de terre, GUNN et SADD (1994) exposent des adultes matures à des milieux de vie contenant 0,2 et 4 mg d'ivermectine par kg de sol sec pendant 21 jours et comptent les œufs pondus. Ils constatent une réduction de 56 % du nombre d'œufs pondus chez les adultes *Eisenia foetida* exposés à l'ivermectine (4 mg/kg de sol sec) par rapport au lot témoin.

En conclusion, les effets des résidus d'endectocides sur la fertilité des femelles, estimé au travers du nombre d'ovocytes ou d'œufs produits, semblent évidents chez les diptères. Le sujet est plus discuté pour les coléoptères (sensibilité variable selon l'âge et l'espèce) et les vers de terre aux doses rencontrées en conditions naturelles.

3- Eclosion des œufs

Pour des raisons pratiques, les effets sur le pourcentage d'éclosion des œufs issus de mères exposées aux résidus sont surtout étudiés chez les diptères, où les œufs, après collecte sur un milieu adéquat et inerte, sont déposés en couvoir. Parmi les études réalisées en laboratoire, on constate indéniablement une grosse différence d'effet entre les études concernant les résidus contenus dans les excréments après traitement du bétail et les autres études concernant d'autres modes d'exposition au polluant.

Ainsi MILLER et col. (1986) constatent une réduction hautement significative du pourcentage d'éclosion des œufs de *Stomoxys calcitrans* et *Haematobia irritans* après repas sanguin des mères contenant des résidus d'ivermectine. Ils distinguent même pour les deux espèces, un effet dose et un effet durée

d'exposition de la mère au polluant. De même, Mc GARRY (1988) démontre, sur des femelles *Lucilia sericata*, l'effet de doses sub-létales d'ivermectine déposées sur la cuticule des femelles gravides qui provoque une réduction significative du pourcentage d'éclosion des futurs œufs.

Plus proche des conditions naturelles d'exposition, GOVER et STRONG (1995) ont constaté que les femelles *Neomyia cornicina* nourries pendant 24 heures de matière fécale contenant 0,15 µg d'ivermectine par gramme, avaient un pourcentage d'éclosion de leurs œufs significativement diminué par rapport au lot témoin.

Néanmoins, certains auteurs qui ont étudié les effets du traitement administré aux ovins sur le pourcentage d'éclosion des œufs de *Lucilia cuprina* issus de mères exposées (MAHON et WARDHAUGH, 1991 - MAHON et col., 1993) n'ont pas montré d'effet significatif. Ainsi, selon eux, même si l'ivermectine passe dans les œufs, elle est sans effet sur le pourcentage d'éclosion.

Encore discutés, les effets des résidus d'endectocides consommés par la mère sur l'éclosion de ses œufs, y compris déposés en milieu sain, restent encore à être clairement établis.

D- Les effets sur la métamorphose

Ces effets ne sont constatés qu'en exposant les insectes au stade larvaire à des doses sub-létales d'endectocides. En effet, comme le constatent MAHON et col., dans leur étude de 1993, les résidus de macrolides ingérés par les insectes adultes ont une influence jusqu'au pourcentage d'éclosion des œufs pondus par les femelles mais ne semblent avoir, en aucun cas, des conséquences sur le développement des larves issues de ces œufs, si elles même ne sont pas directement soumises aux résidus de macrolides.

Le premier effet constaté par différents auteurs concernant la métamorphose des larves d'insecte soumises à de faibles doses d'endectocides est l'allongement de la durée de celle-ci.

Dans une étude reconstituant les conditions normales d'excrétion après une injection standard d'ivermectine faite à des bovins, STRONG et JAMES (1993), étudient l'effet de doses connues d'ivermectine dans les bouses sur le développement larvaire du diptère *Scatophaga stercoraria*. Alors qu'ils établissent la valeur de la DL50 à 48 heures à 0,0036 ppm d'ivermectine dans les bouses calculé sur le poids sec, ils constatent un retard significatif du déroulement de la métamorphose pour des doses près de 40 fois plus faibles (0,0001 ppm). En effet, à la concentration de 0,001 ppm d'ivermectine, les matières fécales ne provoquent non seulement l'émergence que de 50 % des adultes, mais le délai pour atteindre cette complète métamorphose est nettement rallongé, parfois jusqu'à 8 jours de plus que le lot témoin.

Concernant un autre diptère, WARDHAUGH et col. (1996), dans une étude concluant aux plus faibles effets sur la pédofaune du traitement du bétail à la moxidectine par rapport à l'ivermectine, constatent pourtant un allongement très net de la durée de la métamorphose des larves de *Musca vetustissima* soumises aux résidus de moxidectine. Ainsi, alors que des bouses émises à J2 après traitement standard à la moxidectine ne provoquent pas de différence significative de mortalité sur les larves de diptère par rapport au lot témoin, le retard de stade de développement est manifeste au bout de 6 jours d'exposition. La proportion d'individus qui ont atteint le stade nymphal au sein du lot soumis aux résidus de moxidectine (29,7 %) est significativement moins élevée que celle du lot témoin (75 %).

Bien que moins facilement observable chez les coléoptères, la métamorphose se produisant le plus souvent au sein de boulettes de matières fécales, des constatations similaires ont été faites chez les bousiers. LUMARET et col. (1993) élèvent les larves du bousier *Euoniticellus fulvus* au sein de déjections émises à J10 après traitement de bovins à l'ivermectine (concentration initiale en ivermectine égale à 0,06ppm). Même si aucune différence avec le lot témoin n'est constatée pour le taux d'émergence des jeunes adultes, un allongement de la durée de la métamorphose est nettement constaté. Ainsi, à l'ouverture des boulettes de 29 jours, on constate que 91 % des individus sont encore au troisième stade larvaire dans le lot traité alors que 81 % des individus sont, au même moment, au stade nymphal dans le lot témoin.

Les effets constatés sur le ralentissement de la métamorphose des insectes se rencontrent pour des doses en résidus d'endectocides inférieures ou égales à celles provoquant le véritable blocage de cette métamorphose.

En s'affranchissant du mode d'exposition naturel aux résidus d'endectocides, un certain nombre d'études ont recherché le blocage de la métamorphose lors d'exposition topique d'ivermectine à doses sub-létales sur les larves de diptère *Calliphora vomitaria*. Ainsi, STRONG (1989) constate qu'une unique dose sub-létale de 0,3 µg d'ivermectine déposée sur la cuticule du troisième stade larvaire de *Calliphora vomitaria* est susceptible de bloquer la métamorphose de l'insecte à différents stades. Les larves peuvent tout d'abord rester bloquées au stade larvaire, s'y maintenir de façon permanente et ne jamais se transformer en nymphe. Ensuite, même si la transformation en nymphes s'opère normalement, celles-ci, à la morphologie quasi adulte, peuvent encore rester bloquées dans le sarcophage pupal par incapacité d'en sortir. Ces cas d'adultes momifiés représentent tout de même plus de 20 % des cas de larves soumises à ce régime.

Selon un protocole très similaire, STRONG en 1986 (ab), avait déjà constaté les mêmes effets pour des doses comprises entre 0,04µg et 5µg d'ivermectine déposés sur des larves identiques. Il avait alors constaté, outre un classique effet dose, la nécessité, pour obtenir le blocage de la transformation

nymphale, d'exposer la larve de *Calliphora vomitoria* à l'ivermectine au moins la veille de la transformation larve-nymphé.

Au travers d'un modèle reproduisant une exposition plus « naturelle » aux résidus d'ivermectine, STRONG et JAMES (1992) constatent, que pour des larves de diptère *Scatophaga stercoraria*, le blocage de 50 % des larves avant la transformation nymphale se manifeste dans des bouses contenant 0,015 ppm d'ivermectine. Cette concentration se situant entre la concentration responsable de 50 % de mortalité larvaire (0,0036 ppm) et la concentration responsable de 50 % de non émergence des adultes (0,001 ppm).

De même, SCHMIDT (1983) constate qu'un certain nombre de larves de diptère *Haematobia irritans* ont atteint et survivent au stade nymphal dans des déjections émises entre J14 et J28 après traitement injectable standard des bovins mais qu'en aucun cas des adultes n'en émergeront (il faut attendre des matières émises à 42 jours post traitement pour permettre l'émergence des diptères adultes).

On peut donc supposer que ces blocages de la métamorphose, qui surviennent sur une grande plage de concentration en résidus, soient responsables, chez les diptères tout au moins, de l'écart constaté entre les pourcentages de mortalité larvaire et les pourcentages d'émergence d'adultes pour des concentrations équivalentes en résidus.

On peut donc conclure que les effets des résidus d'endectocides sur la métamorphose, se matérialisant par un ralentissement ou un blocage de celle-ci, sont bien présents sur une longue période après le traitement. L'allongement de la phase larvaire (période à risque) ou bien la non émergence compromettant sérieusement la pérennité des insectes cités.

E- Les malformations morphologiques

Les larves d'insectes coprophages, lorsqu'elles sont exposées à des doses sub-létales d'endectocides, peuvent aussi subir des anomalies de développement qui vont s'opérer durant la métamorphose et se matérialiser à l'état de nymphé ou d'adulte par des malformations physiques pouvant avoir des conséquences sur la pérennité de l'individu et donc de l'espèce en cause.

La majorité des malformations macroscopiques dues aux avermectines visant les stades larvaires d'insectes coprophages concerne la formation de la capsule céphalique chez les diptères comme chez les coléoptères.

Selon la gravité des malformations survenant au stade nymphal, la mue imaginale va avoir lieu ou pas.

STRONG (1986b, 1989) constate, qu'après exposition topique d'une dose unique de 0,3µg d'ivermectine sur des larves de *Calliphora vomitoria*, parmi les larves qui passent avec succès la mue en nymphé, près de 35 % d'entre elles, ne présentent pas de tête. L'abdomen et le thorax sont bien présents mais rien d'autre en avant des orifices respiratoires. Cela n'est pas simplement une déformation de la tête, celle-ci est totalement absente chez la majorité des nymphes.

Concernant les coléoptères, SOMMER et OVERGAARD-NIELSEN (1992) mettent en évidence des malformations des larves de *Onthophagus gazella*, ici aussi localisées au segment antérieur. L'ivermectine inhibe le développement normal de la capsule céphalique. Ainsi, les larves du bousier, élevées au sein de déjections issues de bovins traités aux ivermectines et soumises à des doses sub-létales de résidus (bouses émises à J17 après traitement), montrent une réduction significative de la taille de leurs appendices buccaux (mandibules et clypeus) par rapport au lot témoin.

Mais les malformations macroscopiques les plus étudiées comme conséquence de l'exposition des larves aux résidus d'ivermectine concernent les diptères adultes. En effet, l'asymétrie et les malformations alaires des diptères sont classiquement constatés comme conséquence du développement des larves dans des situations de difficultés physiologiques. L'asymétrie alaire est devenue un indicateur très sensible du niveau de stabilité du développement des diptères et matérialise macroscopiquement la double influence des facteurs environnementaux et génétiques, causes de stress sur le développement (PALMER et STROBECK, 1986).

CLARKE et RISDILL-SMITH, en 1990, sont les premiers à tester le pourcentage d'asymétrie alaire des femelles adultes *Musca vetustissima* issues de larves élevées sur bouses de bovins traités à l'ivermectine B1. Les adultes sont alors significativement plus asymétriques pour deux caractères morphométriques (longueurs de nervures de l'aile) que ceux élevés sur bouses de vaches témoins ou de vaches traitées au lévamisol (élimination quasi uniquement par voie urinaire) et ceci pendant 11 semaines post-traitement. Le degré d'asymétrie baisse entre la semaine 4 et la période 8-11 semaines mais reste significativement plus élevé que dans le lot témoin alors que pour la période 8-11 semaines, le taux de survie des larves n'est plus affecté par les résidus d'ivermectine.

STRONG et JAMES (1992, 1993) utilisent ensuite le même critère pour évaluer le stress de développement de *Scatophaga stercoraria* face à des résidus d'ivermectine. Ainsi, des adultes issus de larves élevées dans des bouses contenant 0,0005 ppm d'ivermectine ont montré des niveaux élevés d'asymétrie et de déformation des nervures alaires. Plus préoccupant encore que le critère d'asymétrie (significativement plus élevé que dans le lot témoin), les auteurs constatent que 23 % des insectes « traités » présentent de véritables nouvelles cellules (alvéoles inter-nervures) au niveau des ailes, signant une étape supplémentaire dans les effets sub-létaux des résidus d'ivermectine sur les diptères coprophages.

Enfin WARDHAUGH et col. (1993), dans une étude concernant les effets d'une administration orale d'une solution d'ivermectine à des ovins, semblent atténuer les constatations précédentes. Même en rappelant la différence de métabolisation de ce type de formulation chez les ovins par rapport à la voie injectable utilisée chez les bovins, ils ne peuvent que constater le peu d'effet des résidus d'ivermectine sur l'asymétrie des nervures alaires de *Musca vetustissima*.

Pour conclure ce chapitre, il est probable, qu'à l'égal d'autres facteurs de stress environnementaux, la présence de résidus d'endectocides dans les

bouses où les larves de diptères effectuent leur développement, se matérialise par une asymétrie alaire des adultes issus de la métamorphose. Les conséquences de cette asymétrie sur la viabilité et l'espérance de vie des individus affectés dans le cadre naturel ne sont cependant pas évidentes à établir.

Les effets des traitements endectocides sur les invertébrés du sol, tant létaux que sub-létaux, sont donc nombreux à avoir été démontré en laboratoire. La mortalité aiguë, surtout présente sur les larves d'insectes, rendrait les déjections bovines stériles pendant près de 2 semaines après le traitement et resterait significative environ 1 mois. De plus, les nombreux effets sub-létaux, dont l'action se manifeste à des doses nettement moindres et donc sur des durées beaucoup plus longues, peuvent mettre en péril le cycle naturel de reproduction des nombreux invertébrés coprophages. Malgré tout, l'estimation réelle des effets des endectocides sur la pédofaune nécessite une analyse des conditions d'expositions au danger dans les conditions naturelles.

DEUXIEME PARTIE :

**Exposition de la pédofaune aux résidus
d'endectocides en conditions
naturelles**

Après avoir étudié les dangers que représentent les résidus d'endectocides pour les invertébrés de la pédofaune, il apparaît nécessaire de juger des conditions naturelles d'exposition de ces invertébrés pour conclure du risque réellement encouru.

I- Excrétion fécale des endectocides chez les bovins

A- Données générales

La pharmacodynamique des lactones macrocycliques est largement influencée par le fort caractère lipophile commun à toutes les molécules de la famille.

Elle se caractérise, de manière générale et synthétique, par une phase de distribution initiale brève après injection intraveineuse et un très large volume de distribution reflétant l'important caractère lipophile des molécules (concentration et stockage au niveau du foie, de la graisse, de la moelle osseuse...). Vient ensuite une métabolisation peu destructurante puisque la majorité des rejets se fait sous la forme injectée ou de métabolites encore actifs et enfin une excrétion quasi exclusivement hépato-biliaire, responsable de la concentration des rejets dans les matières fécales quelle que soit la voie d'administration. Dans le cas d'une administration orale, les macrolides passent peu la barrière digestive et sont donc rejetés en quasi totalité dans les déjections, de manière majoritairement active.

B- Volume excrété

On sait que les macrolides administrés aux animaux de rente sont essentiellement excrétés dans les fèces et ceci principalement sous forme de la molécule parentale. Ainsi, dès 1983, le laboratoire Merck Sharp et Dohn annonce, pour des bovins traités à l'ivermectine, la valeur de 98 % de la dose administrée excrétée dans les bouses, le reste étant éliminé dans les urines. Cet ordre de grandeur, aux environs de 90 % d'excrétion fécale, est confirmé par de nombreux auteurs quel que soit le mode d'administration (HALLEY et col., 1989a - CHIU et col., 1990 - HERD et col., 1996 - ALVINERIE et col., 1998).

Néanmoins, selon la méthode d'administration et la molécule utilisée, on constate d'importantes variations dans les profils d'excrétion fécale.

C- Variations

1- Variations selon la voie d'administration et la formulation employée

Les principaux modes d'administration des macrolides utilisés en pratique sur les bovins sont les voies injectables (sous cutanée ou intra-musculaire ; 0,2 mg/kg), l'administration topique avec passage transcutané et action

systemique (pour-on ; 0,5 mg/kg) et la voie orale. L'administration par voie orale, chez les bovins, se fait essentiellement sous la forme d'un dispositif « retard » distribuant quotidiennement environ 12mg/kg (bolus intraruminal)

HERD et col. (1996) ont établi, pour chacun des trois principaux traitements utilisés chez les bovins, des courbes de concentrations plasmatiques mais surtout de résidus d'ivermectine dans les matières fécales (figures 6, 7 et 8).

Figure 6 : concentrations plasmatiques moyennes d'ivermectine de trois lots de bovins traités par pour-on (Pour-on formulation), injection sous cutanée (Subcutaneous formulation) ou bolus intraruminal (Sustained release formulation) (d'après Herd R.P. et col., 1996).

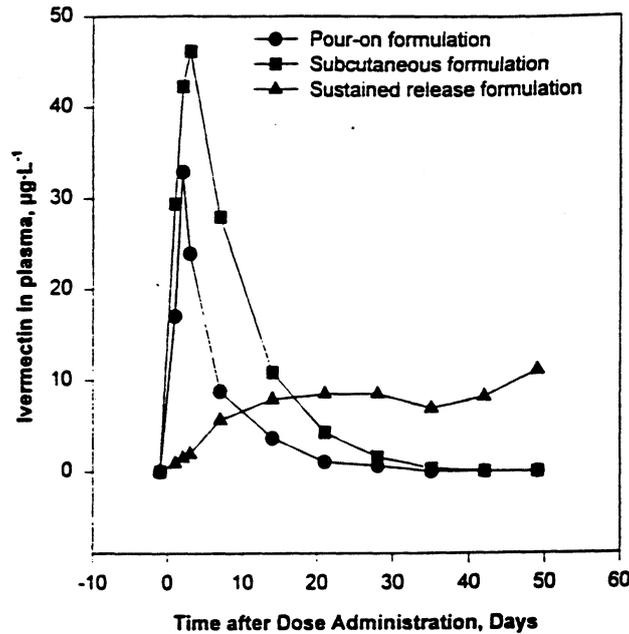


Figure 7 : concentrations fécales moyennes d'ivermectine (par rapport à la matière sèche) de trois lots de bovins traités par pour-on, injection sous cutanée ou bolus intraruminal (d'après Herd R.P. et col., 1996).

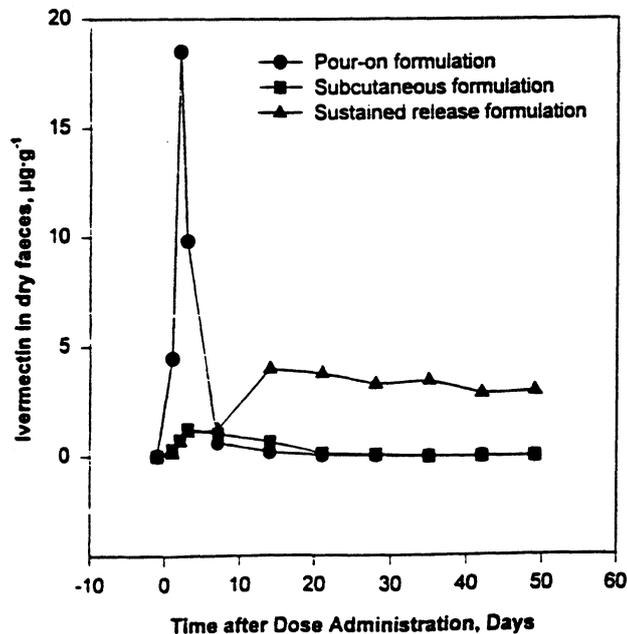
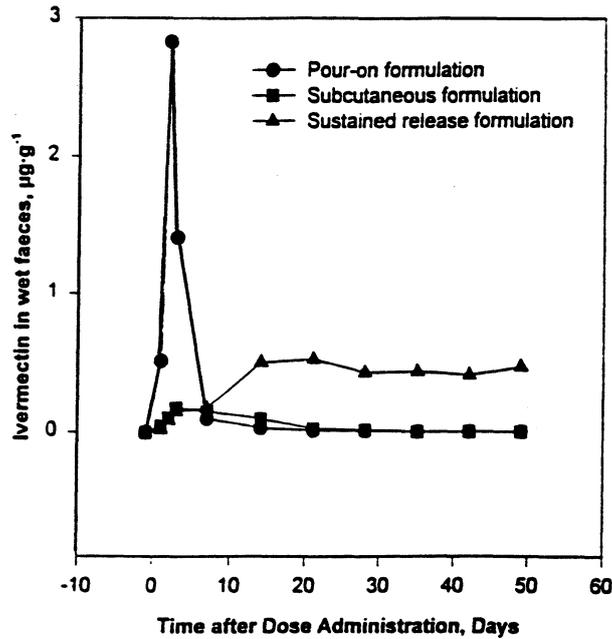


Figure 8 : concentrations fécales moyennes d'ivermectine (par rapport à la matière fraîche) de trois lots de bovins traités par pour-on, injection sous cutanée ou bolus intraruminal (d'après Herd R.P. et col., 1996).



Il est important de constater, à ce niveau, que les mesures de concentrations en résidus dans les bouses produites doivent être effectuées sur des animaux soumis à un régime alimentaire le plus stable et le plus proche possible des conditions réelles. En effet, selon le régime alimentaire auquel sont soumis les bovins (à base d'aliment dont la digestibilité peut être extrêmement variable), le volume de déjection produit quotidiennement varie considérablement, en ayant évidemment de grosses conséquences sur les concentrations en résidus déterminées dans les bouses (COOK et col., 1996). Ces recommandations, qui peuvent paraître évidentes, ont bien été prises en compte dans les études citées dans ce chapitre.

Concernant les variations pharmacocinétiques entre l'administration d'ivermectine par voie injectable ou par voie orale, une étude est à retenir. Celle réalisée, chez les bovins, par CHIU et col.(1990).

Après administration unique d'une dose de 0,3 mg/kg, soit par voie injectable, soit par voie orale, les auteurs constatent, dans le cas de l'administration sous cutanée, l'augmentation de manière conséquente de la biodisponibilité systémique de la molécule (représentée par l'aire sous la courbe de la concentration plasmatique en fonction du temps) par rapport à l'administration par voie orale (faible absorption digestive). La concentration en résidus, essentiellement dans le foie, la graisse, la moelle osseuse et la bile, se trouve aussi augmentée dans le cas de l'administration par voie injectable (STEEL, 1993).

Il est donc logique que, dans le cas de l'administration par injection, l'excrétion fécale de la molécule soit plus lente et plus étalée dans le temps que dans le cas de l'administration d'une dose unique *per os*.

Mais rappelons ici que l'administration d'une dose unique par voie orale concerne désormais surtout les ovins et les équins (STEEL, 1993).

Concernant la comparaison entre la voie injectable et l'administration en pour-on, la différence porte essentiellement sur l'amplitude du pic d'excrétion maximale.

En effet, l'administration en pour-on à la dose recommandée par les fabricants, se matérialise par une courbe de concentration plasmatique en fonction du temps relativement similaire à une administration par voie injectable. Néanmoins, l'utilisation d'un plus fort dosage initial (0,5 mg/kg en pour-on pour 0,2 mg/kg en sous-cutanée), nécessaire pour obtenir une concentration plasmatique suffisante pour l'action thérapeutique, aboutit à un pic d'excrétion fécale, certes situé de manière quasi identique dans les 2-3 jours qui suivent l'administration, mais beaucoup plus élevé dans le cas de l'administration en pour-on que dans le cas de l'injection (SOMMER et col. 1991, 1992 - HERD et col. 1996). Ainsi, les concentrations en résidus dans les bouses, au moment du pic d'excrétion maximale, peuvent être jusqu'à 30 fois plus élevées (environ 3 ppm, poids frais) dans le cas d'un usage en pour-on par rapport à la voie injectable (environ 0,1 ppm) (HERD et col., 1996). Dans une étude récente (LAFFONT et col., 2001), les auteurs constatent, à propos de l'administration en pour-on, que la majeure partie de l'absorption se fait en fait par voie orale, du fait des habitudes de léchage des bovins. Ils concluent donc dans ce cas à une dose réellement administrée très variable selon les animaux (plus ou moins lécheurs). Difficile dès lors d'estimer au plus près le volume excrété suite à une administration pour-on.

Conçu spécifiquement pour prévenir l'infestation parasitaire des bovins durant la saison de pâturage, le bolus intraruminal est une nouvelle formulation galénique administrée par voie orale, se maintenant dans le rumen grâce à un embout plombé et délivrant de façon soit permanente soit séquentielle, une dose quasi constante d'antiparasitaire dans le tractus digestif des bovins, ceci pendant environ 3 mois (ZIMMERMAN et HOBBERG, 1988). Développés pour l'ivermectine à partir des années 1987-1988, les bolus d'ivermectine sont censés délivrer, pendant un période d'environ 3 mois, une dose proche de 12 mg/jour. Recommandé pour traiter des bovins allant de 100 à 300 kg de poids vif, la dose délivrée se situe donc entre 40 et 120 µg/kg/jour.

Non métabolisée dans le rumen (ANDREWS et HALLEY, 1996) et faiblement absorbée par l'intestin, l'ivermectine ainsi libérée, sera excrétée en grande proportion dans les matières fécales pendant près de 130 jours. Durant la plus grande partie de la période d'efficacité du bolus intraruminal, la concentration en ivermectine dans les déjections est d'environ 0,5 ppm de matière fraîche (HERD et col. 1996 - ALVINERIE et col., 1998).

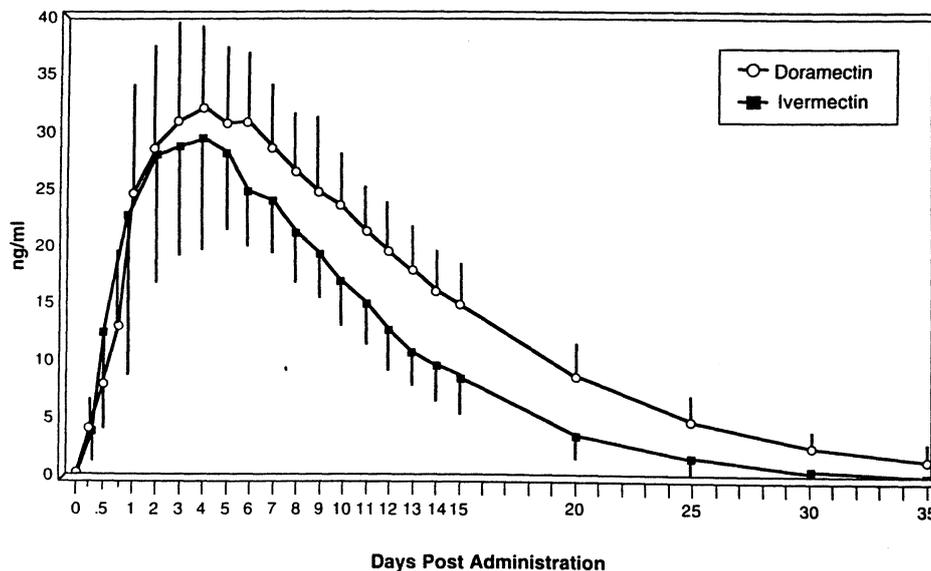
2- Variations selon la molécule utilisée

La pharmacocinétique varie en fonction du macrolide utilisé et les recherches pour aboutir à une plus grande rémanence ne sont pas sans conséquence sur la durée d'excrétion par les bouses notamment.

Les pharmacocinétiques comparées de l'ivermectine, la doramectine et de la moxidectine ont été étudiées par ALVINERIE et col. (1995, 1998), TOUTAIN et col. (1997), LANUSSE et col. (1997) et GAYRARD et col. (1999).

Par rapport à l'ivermectine, molécule commerciale mère en quelque sorte, la doramectine (famille des avermectines) et plus encore la moxidectine (famille des milbémécines) se caractérisent par un plus grand caractère lipophile. Ceci se répercute sur les concentrations plasmatiques en fonction du temps : après injection des 3 molécules (0,2 mg/kg), on constate que l'aire totale sous la courbe augmente avec la lipophilie de la molécule. Une plus grande lipophilie induit un plus grand stockage, dans les graisses notamment, un volume de distribution plus élevé ainsi qu'une excrétion plus lente responsable d'une persistance plasmatique plus longue. C'est cette plus grande persistance plasmatique qui est essentiellement responsable de l'augmentation de l'aire sous la courbe concentration plasmatique en fonction du temps. Les pics de concentrations étant à peu près similaires (figure 9).

Figure 9 : concentrations plasmatiques moyennes de la doramectine et de l'ivermectine après injection sous cutanée à la dose de 0,2 mg/kg au jour 0 (les traits verticaux représentent l'écart type par rapport à la moyenne) (d'après Toutain P.L. et col., 1997).



Comparées à l'ivermectine, la doramectine et plus encore la moxidectine ont donc une excrétion plus lente, certes probablement responsable de leur plus longue action préventive vis à vis de la réinfestation parasitaire, mais probablement responsable aussi d'une plus longue excrétion fécale, en proportion encore plus majoritaire.

Néanmoins, il semblerait que pour la moxidectine, l'excrétion sous la forme inchangée soit moins majoritaire que dans le cas des molécules précédentes. En effet, un certain nombre de métabolites obtenus par hydroxylation seraient excrétés dans les fèces à la place de la molécule parentale (ZULALIAN et col., 1994). Ces métabolites, déjà partiellement dégradés, accéléreraient la dégradation de la molécule dans le milieu extérieur.

En conclusion, les quantités d'endectocides émises dans les selles par un bovin traité, au vu de la dose administrée, sont très importantes. La recherche d'une plus grande durée d'action des endectocides, principalement servie par des procédés de libération progressive de la molécule, peut aboutir à une grande quantité de résidus déposée au pâturage par les animaux traités.

II- Devenir des résidus dans l'environnement

A- Dégradation naturelle des molécules et devenir dans le sol

Une fois de plus le caractère très fortement lipophile des macrolides influence largement leur devenir dans le milieu extérieur. En effet, les lactones macrocycliques sont fortement adsorbées aux constituants du sol et tout particulièrement à la matière organique située en surface.

Les capacités d'adsorption d'une molécule se déterminant à partir de la constante de sorption ou coefficient de partage sol-eau (K), par le calcul d'une valeur normalisée prenant en compte les différents teneurs en carbone organique des sols ($K_{oc} = K / \%C$)

Ainsi le coefficient d'adsorption (K_{oc}) de l'ivermectine, reflétant la capacité de la molécule à se fixer à la matière organique du sol, déterminé dès 1989 par HALLEY et col. (a) est très élevé puisqu'il se situe entre 12600 et 15700.

Pour l'abamectine, macrolide aussi utilisée comme insecticide en grandes cultures, la valeur du coefficient d'adsorption est aussi très importante puisqu'elle atteint 4760, valeur moyenne calculée sur un échantillon de 6 sols représentatifs (GRUBER et col., 1990).

La première conséquence de cette forte adsorption aux composants superficiels du sol est le faible entraînement des molécules par l'eau de ruissellement et de percolation. Les molécules ont une forte tendance à rester en surface. HALLEY et col. (1989 a), en tentant de faire migrer par entraînement par de l'eau distillée de l'ivermectine radiomarquée et déposée en surface d'une colonne de sol, concluent que le sol retient près de 99 % de l'ivermectine déposée en surface.

Par ailleurs, les molécules de macrolides sont rapidement dégradées dans le sol, ou du moins en surface de celui-ci, par photodégradation ou par métabolisme aérobie. Ainsi l'exposition aux rayons ultra-violetts d'une part mais aussi l'homogénéisation, l'aération, la température et la richesse du sol en matière organique d'autre part, paramètres qui influencent positivement le métabolisme aérobie, sont des facteurs qui accélèrent nettement la dégradation des molécules contenues dans le sol (HALLEY et col. 1989 a,b). Ainsi, en passant d'une extrémité à l'autre, HALLEY et col. (1989a) ont

calculé le temps de demi-vie de la molécule d'ivermectine, soit disposée en fine couche dans un verre de montre et exposée au soleil du New Jersey, soit mélangée avec de la terre mais maintenue dans l'obscurité à environ 22° C. Le temps de demi-vie de la molécule passe d'à peine 3 heures dans le premier cas à 93-240 jours dans le cas de la conservation dans la complète obscurité.

On comprend aisément que la vitesse de dégradation des macrolides dans le sol, exprimée par la DT50 sol ou durée correspondant à la disparition de 50% du produit, soit éminemment fonction des conditions microclimatiques auxquelles est soumise la molécule.

Un certain nombre d'auteurs ont ainsi calculé une DT50 sol pour différentes molécules, dans différents types de condition et sous différents types de climat (NESSEL et col. 1989 - BULL et col. 1984 - MOYE et col. 1987 - HALLEY et col. 1989a). Les valeurs de DT50 sol, calculées le plus souvent en saison estivale, s'échelonnent entre 2 et 38 semaines selon les auteurs.

Cependant, considérant le sujet qui nous intéresse plus particulièrement, le devenir des résidus d'endectocides excrétés dans les bouses, peut-on considérer que l'exposition aux facteurs de dégradation (UV, oxygène, humidité...) est identique dans les bouses et dans le sol ?

B- Devenir dans les bouses

Comme il est difficile de calculer une valeur précise de la DT50 sol, du fait de la forte influence de facteurs physiques, chimiques et biologiques induit notamment par le climat, il est difficile de donner une vitesse de dégradation des molécules d'endectocides dans les bouses exposées au milieu extérieur.

Il existe autant de vitesses de dégradation qu'il y a de bouses déposées.

Cependant, la question étant cruciale pour juger des effets des résidus d'endectocides sur la pédofaune du pâturage, un grand nombre d'auteur se sont intéressés à la question en distinguant les facteurs abiotiques des facteurs biotiques.

1- Importance des facteurs abiotiques

Certes dans des conditions de laboratoire, mais dès 1989, HALLEY et col. (a), avaient déjà constaté la difficulté d'établir une valeur précise de la vitesse de dégradation de l'ivermectine dans les bouses ainsi que l'importance des facteurs physiques. A l'aide de molécules d'ivermectines radioactives mélangées à des bouses, les auteurs constatent la nécessité de mélanger les déjections aux sols expérimentaux (comme c'est le cas dans le piétinement) pour accélérer la dégradation de l'ivermectine.

Dans les conditions climatiques rencontrées au Danemark durant le mois de juin, SOMMER et col. (1992) sont les premiers à mesurer l'évolution de la concentration en résidus d'ivermectine au sein de bouses exposées aux conditions naturelles. Les bouses, prélevées sur les bovins traités, sont reconstituées de manière identique et déposées, sans aucune protection, sur

une prairie herbacée. Les mesures de concentration, effectuées sur une période de 45 jours, ne montrent qu'une faible baisse, de l'ordre de 20 % de la concentration initiale, au terme de l'expérimentation.

Cette faible dégradation des résidus d'ivermectine dans les bouses déposées dans les pâturages danois avait été fortement suspectée par MADSEN et col. dès 1990. Pour démontrer leur hypothèse, les auteurs utilisent un bon indicateur biologique en soumettant, sous conditions standardisées, des larves de *Musca domestica*, réputées très sensibles, à des bouses émises à J1 après traitement des bovins et ayant séjourné jusqu'à 62 jours à l'extérieur. La toxicité des bouses estimée par le taux de mortalité larvaire n'est pas clairement diminuée chez celles ayant séjourné 7 ou 62 jours au pâturage par rapport à celles justes émises.

Pour tenter d'évaluer l'importance du facteur climatique dans l'évolution de la concentration en résidus d'ivermectine dans des bouses laissées au pâturage, à l'abri des principales actions biologiques, SOMMER et STEFFANSEN (1993) ont dosé le produit dans les bouses sous le climat du Danemark et de la Tanzanie. Calculée par rapport à la matière sèche de la bouse, la concentration en résidus reste très élevée dans le cas du Danemark (45 jours d'exposition, pluviométrie : 102 mm, T° moyenne : 12,7°C) et de même dans le cas de la Tanzanie (14 jours d'exposition, pluviométrie ~30 mm, T° comprises entre 17,3 et 29°C). Ainsi, le dosage effectué au sein d'une bouse exposée 31 jours au pâturage danois, démontre une augmentation de l'ordre de 50 % de la concentration en résidus par rapport au jour d'émission.

Pour aller plus loin et apprécier les effets du rayonnement solaire s'opérant logiquement plus en surface qu'au centre de la bouse, les auteurs, dans l'expérience Tanzanienne, ont dosé les résidus d'ivermectine dans la croûte et au centre des dépôts soumis aux conditions extérieures mentionnées précédemment.

Les résultats sont retranscrits dans le tableau suivant (tableau 10).

Tableau 10 : concentrations relatives en ivermectine dans des échantillons prélevés en surface et au centre des bouses déposées au pâturage en Tanzanie durant la fin de la saison des pluies (Mai-Juin). L'ivermectine est administrée par injection sous-cutanée. Les concentrations sont exprimées en pourcentage relatif par rapport à la concentration initiale.

	Age des bouses (nombre de jours d'exposition au pâturage)			
	0	1	5	14
Croûte	100 +/- 17	137 +/- 59	119 +/- 57	111 +/- 15
Centre	100 +/- 17	137 +/- 47	45 +/- 29	93 +/- 43

Aucune explication n'est fournie dans l'étude concernant la valeur déterminée au centre du dépôt après 5 jours d'exposition.

Néanmoins, les valeurs déterminées ne semblent pas confirmer, dans les conditions d'expositions naturelles, la dégradation rapide des résidus d'ivermectine soumis notamment aux rayonnements solaires.

Pourtant, dans des conditions d'exposition encore différentes, celles des pâturages espagnols de Salamanque en saison estivale, LUMARET et col.(1993), concluent que les résidus d'ivermectine contenus dans les bouses de bovins traités ne sont plus dosables au bout de 6 jours d'exposition libre au pâturage (y compris possible action biologique). Même si les auteurs reconnaissent les limites de leur dosage (détection UV moins sensible que détection par fluorescence (PAYNE et col., 1995) et dosage par rapport à la matière brute et non par rapport à la matière sèche), ils concluent à la plus rapide dégradation de l'ivermectine contenue dans les bouses, dans les régions méditerranéennes, notamment du fait de l'action biologique des bousiers.

Il semble donc se dégager de l'ensemble de ces études que, dans les conditions naturelles, la disparition progressive des résidus d'endectocides contenus dans les bouses est due essentiellement au fait d'éviter l'encroûtement prématuré de la bouse par dessiccation. La dessiccation de la bouse faisant d'elle une véritable forteresse imprenable ensuite tant par les facteurs physiques que par les facteurs biologiques. Cette action destructurante, qui doit être précoce, peut être le fait de facteurs mécaniques (piétinement, action mécanique de fortes pluies...) ou de facteurs biologiques (rôles joués par les invertébrés du sol). Cette première action destructurante, indispensable, ouvre la voie de la dégradation des résidus d'endectocides par les facteurs physiques (UV, oxygénation...) et microbiologiques mentionnés plus haut. Le bon déroulement ou non de cette étape essentielle pour la dégradation des résidus est probablement responsable des grandes variations de résultats enregistrées en fonction de la région et de la saison, facteurs influant tant sur le climat que sur la fréquentation biologique.

2- Importance des facteurs biotiques

Sous des climats ou dans des situations où l'action destructurante sur les bouses mentionnée précédemment ne peut être effectuée par des facteurs mécaniques, le rôle en incombe aux invertébrés coprophages constituants de la pédofaune (insectes diptères et coléoptères mais aussi vers de terre et nématodes du sol). En effet, ces animaux jouent un rôle majeur dans les processus de disparition directe des déjections du bétail, mais aussi indirectement des résidus d'endectocides, par la précocité de leur action mécanique (dilacération, aération et enfouissement des bouses). Ces animaux doivent donc agir le plus précocement possible après l'émission de la bouse au moment où la concentration en résidus d'antiparasitaire est la plus forte. Dans le cas où les doses excrétées par les bovins sont dans l'intervalle actif sur ces invertébrés coprophages, les bouses ne seront pas

colonisées par ces animaux, vont rester intactes, durcir, devenir imperméables et ralentir d'autant la dégradation des résidus d'endectocides. La non colonisation des bouses induite par de trop fortes concentrations en résidus provoque elle même un ralentissement de la dégradation naturelle des résidus d'endectocides au sein des déjections du bétail.

Ainsi, LUMARET et col.(1993) et BERNAL et col.(1994), se fondant probablement sur les mêmes données établies dans le sud de l'Espagne, confirment que le travail précoce des bousiers adultes, peu sensibles aux résidus d'ivermectine, favoriserait ensuite l'action des facteurs physiques notamment, aboutissant à la dégradation rapide de la molécule d'endectocide contenue dans les bouses (6 jours).

En conclusion, malgré la fragilité apparente des molécules d'endectocides (maintien à la surface du sol, forte dégradation à la lumière...), les bouses apparaissent comme de véritables forteresses pour ces résidus. En effet, les concentrations au sein de celles-ci ne diminuent que très lentement au pâturage, voire augmentent dans certains cas (dessiccation des bouses). Dès lors, la fragmentation des bouses, du fait des facteurs biotiques ou abiotiques, apparaît comme essentiel dans la disparition rapide des résidus de traitements antiparasitaires.

III- Quantité de bovins traités dans l'environnement

L'évaluation de l'exposition réelle des invertébrés coprophages aux résidus d'endectocides passe par une estimation des volumes de matière stercorale contenant des résidus, elle-même fonction de la densité en animaux traités, déposés dans les champs soit de manière indirecte par épandage de fumier ou de lisier collecté en étable, soit de manière directe au travers de la pratique du pâturage. En effet, en se reportant à une unité de surface au sol (un hectare par exemple), les conséquences sur la pédofaune d'un dépôt, qu'il s'effectue par épandage ou directement par pâturage, ne seront en aucun cas comparables si un seul animal ou 25 sont traités.

Même si une approche rigoureuse impose cette étape d'évaluation de l'exposition réelle, peu d'auteurs s'y sont hasardés tant l'épreuve est complexe, multifactorielle et spécifique à chaque situation. Néanmoins, plus pour évoquer des pistes de réflexion que pour citer des valeurs précises d'exposition, nous présenterons séparément les deux principales conduites d'élevage pratiquées ; la conduite en bâtiment suivie de l'épandage des excréments d'une part et la conduite en pâturage d'autre part. Dans les deux cas, la charge en déjections contenant des résidus (seule approche de l'exposition réelle) est fonction du rapport Nombre d'animaux / Surface, largement modifiée par la stratégie antiparasitaire adoptée par l'éleveur (quantité d'animaux excréant des résidus).

A- Cas de la conduite en bâtiment

Quelle soit saisonnière (rentrée à l'étable à la mauvaise saison) ou non (engraissement intensif), la conduite en bâtiment se caractérise, du point de vue parasitaire, par différents points :

La nécessité d'effectuer un traitement «à l'entrée» pour éliminer les parasites digestifs contractés à l'extérieur.

Une faible exposition à la recontamination digestive durant tout le maintien en bâtiment.

Et enfin, par une plus forte exposition au parasitisme externe (gales, poux etc..) du fait de la forte promiscuité des animaux notamment.

Ces caractéristiques de la conduite en bâtiment impliquent un usage spécifique des macrolides antiparasitaires. En effet, la voie injectable (0,2 mg/kg) est la plus souvent utilisée (facilité de manipulation, peu de nécessité de rémanence, bonne action contre parasitisme interne et externe) et ceci de façon généralisée à la quasi totalité du troupeau (traitement à l'entrée et lutte contre les parasitoses externes).

Cela a pour conséquence des pics d'excrétion en résidus, à l'échelle du bâtiment, très importants mais de courte durée.

Même si certains auteurs (MILLER et col., 1981 - SCHMIDT, 1983) ont démontré, en laboratoire, une toxicité comparable du fumier d'étable contenant des bouses de bovins traités et des bouses elles-mêmes, les risques pour la pédofaune sont très limités tant que les matières fécales restent dans le bâtiment. Les effets possibles ne peuvent se produire que sur certains diptères présents dans les étables.

Vis à vis des insectes du pâturage, les conséquences d'un traitement généralisé par voie injectable peuvent se rencontrer à la sortie des excréments du bâtiment. Néanmoins, les répercussions de ces importants pics d'excrétion en résidus d'endectocides sont, le plus souvent, largement atténuées dans la pratique par le mode de gestion des déjections du bétail.

Souvent piétinées avant leur sortie du bâtiment, les déjections sont manipulées mécaniquement puis stockées plus ou moins longtemps dans un lieu spécifique (fosse, tas de fumier etc...) avant l'épandage.

L'action mécanique de brassage (favorisant la dégradation des résidus), le mélange d'excréments produits sur une longue période (assurant une dilution de la teneur en résidus), le délais de stockage avant l'épandage (permettant la baisse de la teneur en résidus) ainsi que le respect des consignes d'épandage des excréments à la parcelle (garantissant la non surcharge et la non exposition en résidus) permet de minimiser les effets sur les éléments de la pédofaune du pâturage.

Encore faut il que ces pratiques, faisant souvent l'objet de consignes ou de réglementations à visées environnementales, soient correctement suivies par l'éleveur concerné.

A notre connaissance, uniquement deux études, réalisées par le laboratoire Merck commercialisant les premières avermectines, ont tenté d'estimer les

rejets produits par un mode d'élevage clos à forte densité de bétail (NESSEL et col., 1989 - HALLEY et col., 1989b).

NESSEL et col. (1989) dosent, dans des conditions reproduisant le système « feedlot » utilisé aux USA pour l'engraissement intensif des bovins, les résidus d'ivermectine contenus dans les eaux de drainage des box, dans les sols de ces mêmes box et enfin dans les bouses juste émises après traitement standard des bovins (0,2 mg/kg, SC). Les résultats, pour le moins étonnants, concluent à la quasi-disparition, *in situ*, des résidus émis dont on ne retrouve que d'infimes traces dans le sol (0,1 à 2 ppb) ou l'eau de drainage (1 ppt).

HALLEY et col. (1989b) calculent, quant à eux, la quantité d'ivermectine exportée par un lot de bovins subissant une injection standard en entrée en feedlot et la concentration qui en résulte après épandage des déjections et labourage comme recommandé par l'administration américaine. En se fondant en partie sur des valeurs aujourd'hui infirmées, les auteurs aboutissent à des concentrations en résidus dans le sol comprises entre 0,09 et 0,001 ppb. Un autre calcul, fait par les mêmes auteurs dans l'ouvrage de CAMPBELL (1989), dans des conditions semblent il très proches, conclue à une valeur de 0,2 ppb.

B- Cas de la conduite en pâturage

La pratique du pâturage nécessite une protection des bovins contre les infestations parasitaires digestives qui se produisent durant toute la durée de pâture. Les jeunes bovins, dont c'est la première saison de pâture, sont beaucoup plus sensibles aux infestations parasitaires du fait de leur faible immunité digestive et ont besoin d'une protection renforcée. Dans le cas où les animaux ont suffisamment stimulé leur immunité spécifique vis à vis du parasitisme digestif la première année de pâture, la résistance acquise lors d'une première exposition parasitaire bien gérée permet de largement espacer, voire même de supprimer, les traitements antiparasitaires les années suivantes. Les animaux adultes sont traités plus au cas par cas, quand le parasitisme est la cause de pathologie ou de retard de croissance. De plus, les parasitoses externes sont presque inexistantes en système extensif. Dès lors, les traitements antiparasitaires, quasi systématisés chez les jeunes bovins, s'orientent plutôt, du fait de la plus difficile manipulation des bovins au pâturage et d'un grand intérêt pour la rémanence de l'action parasitaire, vers, soit des traitements réguliers sous forme de pour-on par exemple, soit une administration d'un bolus intraruminal en début de saison qui protégera durant toute la période de pâture.

A notre connaissance, seuls quelques auteurs ont calculé des valeurs de concentration prévisible dans l'environnement (CPE) dans la situation, extrêmement variable, de la conduite en pâturage.

HALLEY et col. (1989b) évoquent, sans aucun détail sur le mode de calcul, la valeur de concentration prévisible en résidus dans le sol de 0,072 ppb pour une parcelle ayant abrité 3 bovins à l'hectare pendant 18 mois à l'issue

desquels la parcelle est correctement labourée (pratique rare concernant les prairies naturelles).

Plus récemment, une documentation commerciale d'un laboratoire fabricant (Fort Dodge pour la moxidectine, 1999), annonce une valeur de CPE dans le sol de 1,31 ppb sans aucune information sur les données prises en compte pour l'établissement de cette valeur.

Ces calculs de la concentration prévisible dans l'environnement ne sont pas absolus et n'ont que peu de valeur en soit. Si ce n'est d'évoquer la grande difficulté d'établir une valeur de référence, tant les facteurs de variation sont nombreux.

Néanmoins, les conséquences sur la quantité de résidus excrétés dans l'environnement sont surtout fonction du chargement de la parcelle considérée en animaux traités et de la forme galénique employée. Ainsi dans le cas, par exemple, où des jeunes bovins, traités aux avermectines sous forme de bolus intraruminal, sont regroupés sur une même parcelle avec un fort chargement à l'hectare, la quantité de résidus mais surtout la permanence avec laquelle ils sont excrétés sont susceptible d'affecter en profondeur la pédofaune coprophage présente initialement sur la parcelle. Mais ces pratiques d'élevage, même si elles existent largement sous nos latitudes, ne sont pas pratiquées au sein de tous les élevages. En effet, FORBES en 1993, après avoir confirmé la plus forte utilisation, en élevage traditionnel, des traitements antiparasitaires à bases d'endectocides chez les jeunes bovins, rappelle que ceux-ci ne comptent que pour 20 % des déjections en élevage allaitant et seulement pour 5 % en élevage laitier. Considérant que surtout ces bouses issues de jeunes bovins sont susceptibles d'être chargées en résidus nuisibles à la pédofaune du pâturage, FORBES estime que les invertébrés coprophages qui la compose essentiellement, peuvent aisément se retourner vers des bouses vierges, dites bouses refuges, issues d'animaux non traités, présents, le plus souvent en même temps, sur la parcelle.

Cette notion de «bouses refuges» évoquée par FORBES soulève le problème de la perception de la présence de résidus d'endectocide dans les bouses par les invertébrés coprophages (attraction/répulsivité). Cette donnée fondamentale peut être utilisée pour estimer l'exposition aux résidus de macrolides auquel sont soumis les éléments de la pédofaune du pâturage.

Ainsi, même si les bouses «toxiques» ne représentent que 20 % de la totalité des dépôts effectués au pâturage, mais que, par exemple, les insectes sont largement attirés par ces bouses là, les effets des résidus d'endectocide contenus dans les bouses sont à re-apprécier. Il est donc important de savoir si les animaux de la pédofaune ne perçoivent pas les bouses «toxiques», s'en écartent ou bien sont attirés par elles.

IV- Notion d'attraction/répulsivité ; facteur essentiel d'exposition

L'attraction ou la répulsivité de la pédofaune vis à vis des bouses de bovins contenant des résidus d'endectocides ont été largement étudiées par

différents auteurs et ce, autant pour les insectes coprophages (diptères et coléoptères) que les vers de terre. Les données, issues principalement d'expériences de laboratoire mais aussi d'expériences de terrain (piégeage au pâturage), peuvent sembler relativement incompatibles au premier abord.

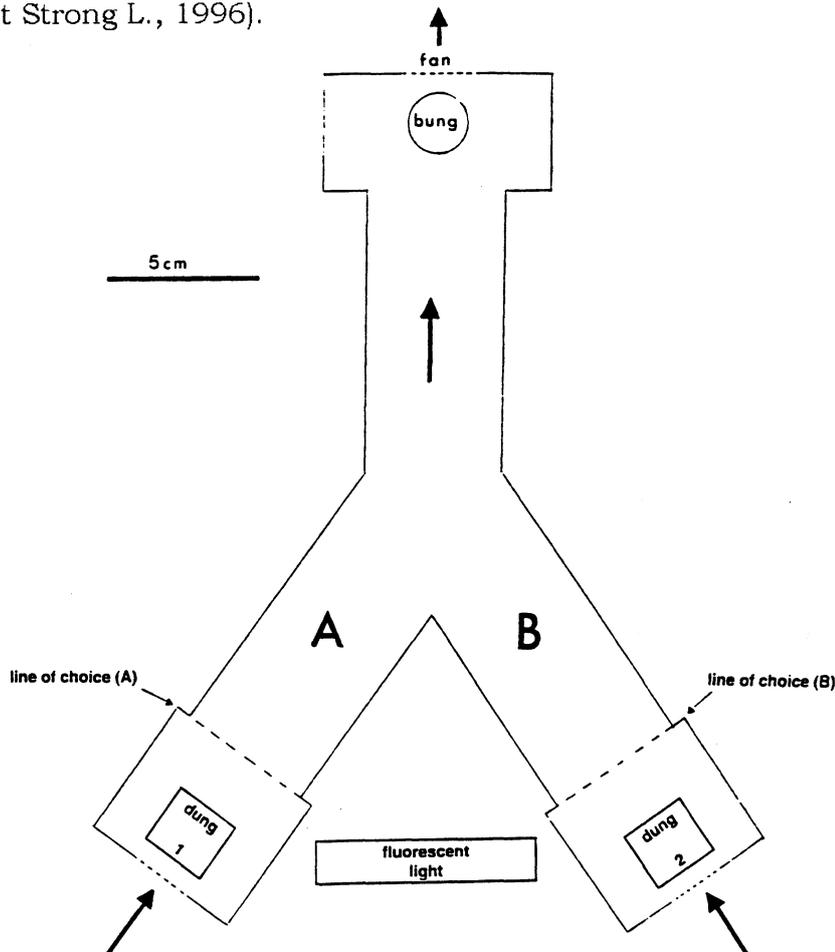
Néanmoins, il est important de distinguer les expériences pour lesquelles l'ivermectine est testée soit « en nature » soit mélangée au sol ou à la bouse « artificiellement », des expériences utilisant des bouses issues réellement de bovins traités.

Dans le premier cas, les possibles modifications apportées par l'interaction endectocide-animal (modification de certaines composantes du traitement par l'organisme, bouses chargées en parasites....) sont involontairement écartées et pourtant correspondent à la réalité des traitements.

Cas des diptères :

GOVER et STRONG (1996) ont testé les préférences de femelles adultes *Neomyia cornicina* entre une bouse témoin ne contenant pas d'ivermectine et une bouse supplémentée selon un modèle reproduisant l'excrétion naturelle après traitement par bolus intraruminal d'un bovin. L'appareil permettant au diptère d'exprimer son choix, schématisé sur le croquis ci-dessous (figure 10), avait déjà montré son efficacité en matérialisant la préférence du diptère pour les déjections dans près de 80 % des cas dans un test (chambre avec matière fécale neutre/chambre vide).

Figure 10 : schéma de l'appareil utilisé pour matérialiser les éventuelles préférences entre une bouse contrôle et une bouse issue d'un animal traité (d'après Gover J. et Strong L., 1996).



Lorsque GOVER et STRONG proposent aux femelles diptères de faire un choix entre une bouse sans résidus (bouse contrôle) et une bouse contenant des résidus d'ivermectine, 55,4 % d'entre elles choisissent la bouse contrôle et 44,6 % préfèrent la bouse dosée en résidus. Ces valeurs, qui ne sont pas significativement différentes, tendent à démontrer que les mouches sont incapables de distinguer les deux types de bouses. Précédemment, GOVER et STRONG (1995) avaient déjà étudié cette problématique concernant les mêmes diptères en constatant que l'ivermectine ne provoquait aucune manœuvre de rejet lorsqu'elle était rajoutée à des matières fécales de bovin.

Cas des vers de terre :

GUNN et SADD (1994) ont étudié le problème chez les vers de terre *Eisenia foetida*. Les vers de terre, déposés dans l'un ou l'autre des milieux (sols artificiels plus ou moins concentrés en ivermectine), ont le libre choix de passage entre deux catégories de sol comprenant toujours un sol dépourvu de résidu et un sol renfermant 4 ou 20 mg/kg d'ivermectine.

Ici, comme dans le cas précédent, l'ivermectine est rajoutée directement au milieu et court-circuite donc les possibles interactions entre l'animal et le traitement.

Les résultats indiquent que les vers de terre ne distinguent pas un sol vierge d'un sol contenant 4 mg/kg d'ivermectine. Par contre, avec un sol contenant 20 mg/kg d'ivermectine, les annélides manifestent clairement leur préférence pour le sol dépourvu d'ivermectine. A cette concentration dans le sol, jamais atteinte en condition normale, l'ivermectine possède indéniablement un effet répulsif sur les vers de terre.

Cas des coléoptères :

Contrairement aux cas précédents, les études concernant les coléoptères sont réalisées, le plus souvent, au pâturage, à partir de piégeage autour des déjections des bousiers attirés soit par des bouses dépourvues de résidus soit par des bouses issues d'animaux réellement traités aux endectocides.

WARDHAUGH et MAHON (1991) concluent que les bouses de bovins traités à l'abamectine sont préférées par 3 espèces de bousiers australiens parmi les plus importants décomposeurs des déjections bovines. Cette attractivité plus forte pour les bouses issues de bovins traités est encore plus importante pour les bouses collectées peu de temps après l'injection, au moment où la concentration en résidus est la plus forte. Les auteurs supposent que cet intérêt plus important pour ce type de bouse n'est pas dû directement à leur forte teneur en endectocide mais à de possibles interactions animal-endectocide plus importantes durant cette période.

HOLTER et col. (1993 a, b) estiment les préférences des bousiers en comparant la colonisation de bouses déposées en milieu naturel au Danemark, en Tanzanie et au Zimbabwe. Les résultats sont plus mitigés que dans le cas de WARDHAUGH et MAHON (1991) puisque les conclusions sont variables selon les espèces étudiées, voir changeantes au sein de la même

espèce (préférence d'*Onthophagus* pour bouse traitée chez WARDHAUGH et MAHON (1991) et préférence pour bouse témoin pour HOLTER et col. (1993)). En effet, dans le premier essai réalisé au Danemark, les bousiers ont exprimé une préférence pour les bouses issues des bovins traités mais aucune préférence notable au cours des deux autres essais réalisés. En Tanzanie, les différents bousiers ont préféré les bouses témoins alors qu'au Zimbabwe, deux espèces sont apparues particulièrement attirées par les bouses issues de bovins traités alors que les trois autres n'ont pas semblé faire la différence entre les deux types de bouses. Les auteurs, même troublés par ces résultats, constatent que la présence de résidus d'endectocide dans les matières fécales laisse rarement indifférents les coléoptères (sans aucune logique de taxonomie) et supposent, eux aussi, que cette discrimination entre les deux types de bouse n'est pas directement due à la teneur en résidus mais plus probablement à une interaction ivermectine/tube digestif des bovins qui peut être variable chez chaque animal.

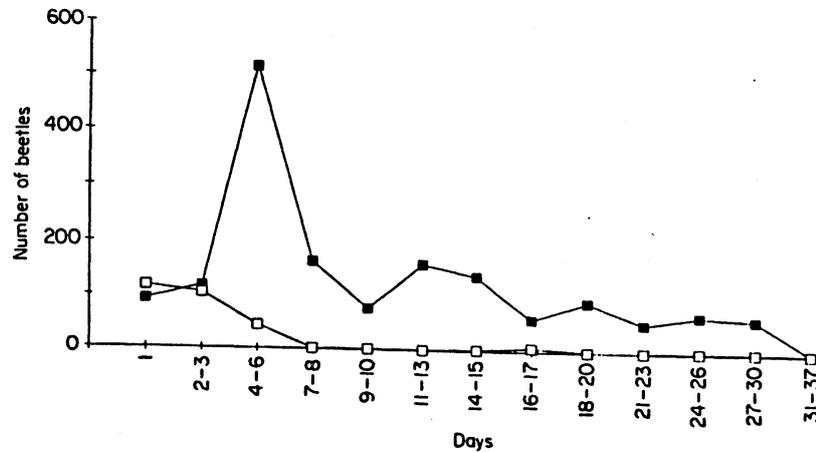
LUMARET et col. (1993) confirment l'hypothèse selon laquelle l'attraction pour les bouses issues de bovins traités, constatée chez un grand nombre de coléoptères, n'est pas due à la simple concentration en résidus. En effet, si on comptabilise les bousiers attirés par les deux types de bouse sur la totalité de la période d'observation (31 jours après traitement par injection des bovins), on ne constate aucune différence significative d'attractivité entre le lot témoin et le lot traité. Néanmoins, si on analyse de façon comparée, l'attractivité que présentent les bouses déposées jour après jour à la suite du traitement, on constate que les bousiers sont nettement plus attirés par les bouses issues d'animaux traités et émises entre J5 et J17 après l'injection que par leurs équivalentes dans le lot témoin (tableau et figure 11).

Tableau 11: nombre de bousiers piégés lors de l'exposition des bouses émises à J7, J10 et J17 après traitement (ivermectine 0,2 mg/kg SC) en fonction du temps (d'après Lumaret J.P. et col.,1993).

Séries	Lots	Jours				Total
		Jours 1-2	Jours 3-4	Jours 5-6	Jours >6	
J7	Non Traité	19	66	6	23	114
	Traité	15	71	12	56	154
J10	Non Traité	118	104	43	13	278
	Traité	92	118	516	878	1604
J17	Non Traité	259	25	49	23	356
	Traité	162	87	221	74	544

On constate la préférence nette des bousiers pour les bouses issues de bovins traités.

Figure 11 : variation au cours du temps du nombre de coléoptères collectés dans des pièges-trappes disposés autour de bouses de bovins traités (courbe noire) ou non traités (courbe blanche) (d'après Lumaret J.P. et col., 1993).



La période d'attraction maximale correspond, du point de vue de la concentration en résidus, à la période qui suit le pic d'excrétion (J5) et va jusqu'au delà de la limite d'excrétion mesurable par les auteurs (J12). Les auteurs constatent que cette période correspond au moment où les matières fécales des herbivores ont une odeur plus déplaisante, plus proche d'une odeur de selles d'animaux omnivores (correspondant donc à un régime plus riche en protéines). Ces constatations sont reprises par BERNAL et col. (1994) qui ciblent plus précisément la période de plus forte attirance des bousiers aux bouses déposées J6-J7 après l'injection.

Plus récemment, STRONG et col. (1996) n'ont constaté aucune différence significative entre le nombre de bousiers piégés au contact de bouses témoins et celui constaté au contact de bouses issues de bovins traités par bolus intraruminal d'ivermectine 45 jours auparavant. Ces résultats ne contredisent en rien les hypothèses précédentes puisque 45 jours après la mise en place du bolus, on peut supposer que les bouses émises contiennent toujours de fortes teneurs en résidus mais que les interactions individuelles (animal/endectocide) aboutissant à un changement de l'odeur des bouses sont inexistantes depuis bien longtemps.

Une dernière étude, réalisée par DADOUR et col. (1999), n'aboutit pas aux mêmes conclusions. Elle concerne qu'une seule espèce de bousier introduite en Australie (*Onthophagus taurus*) pour sa forte attirance envers les selles d'herbivores. Les résultats établissent une moindre fréquentation des bouses issues de bovins traités par injection et émises à J7 ou J10 après traitement.

Il est donc probable que la seule présence d'endectocides dans le milieu de vie des invertébrés coprophiles ne soit pas décelée, notamment par les insectes (les vers de terre fuyant tout de même les très fortes concentrations), réduisant d'autant leur capacité de résistance aux effets déjà constatés de ces résidus sur leur simple survie (effets létaux/effets sublétaux).

Néanmoins, il semble désormais très probable, que le phénomène de «chasse parasitaire » présent juste après le pic d'excrétion en résidus chez les animaux parasités, induise lui-même une plus forte lyse protéique (lyse des nombreux parasites). Cette lyse parasitaire modifie l'odeur des selles vers celle d'un animal au régime plus carné, qui, elle-même, est responsable d'une forte attirance des bousiers notamment (les autres insectes n'ayant pas été testés) vis à vis des bouses concernées. Cette hypothèse étant supportée par le fait que les selles d'omnivores ou de carnivores, à l'odeur plus déplaisante que celle des herbivores, ont presque toujours la faveur des bousiers (et de la majorité des autres insectes coprophiles) si l'occasion se présente. Dès lors, on peut supposer que cette attirance plus forte envers les bouses issues de bovins traités aux lendemains du pic d'excrétion maximal en résidus d'endectocides, modifie de façon importante l'exposition des insectes de la pédofaune aux résidus de macrolides et ceci, bien entendu, en leur défaveur.

Concernant l'exposition de la pédofaune dans les conditions naturelles, on peut conclure à une réelle discordance entre les résultats soupçonnés ou attendus et les résultats réels au sein du micro-système « bouse ».

En effet, malgré le transfert progressif de l'usage des endectocides de l'ivermectine vers des molécules plus récentes, la quantité de résidus excrétée dans les fèces ne cesse d'augmenter. De plus, alors que l'ivermectine est une molécule extrêmement fragile dans le milieu extérieur, on constate que la bouse se révèle être une excellente protection, maintenant durablement des doses nocives de résidus. Enfin, on constate que, non seulement, les invertébrés de la pédofaune ne distinguent pas les bouses toxiques, mais que certains insectes sont nettement attirés par les bouses au moment où elles sont les plus nocives.

Malgré l'impossible modélisation chiffrée de cette exposition aux résidus d'endectocides, on peut conclure que les facteurs d'exposition au risque sont suffisamment préoccupants pour se pencher enfin sur le risque réel encouru par les invertébrés coprophages.