

ONIRIS – ECOLE NATIONALE VETERINAIRE,
AGROALIMENTAIRE ET DE L'ALIMENTATION

ANNEE 2020

**DIAGNOSTIC DE L'OSTERTAGIOSE CHEZ LES GENISSES EN
FIN DE PREMIERE SAISON DE PATURAGE : EVALUATION DE
L'INTERET DU PEPSINOGENE DE MELANGE ET DU NIVEAU
D'ANTICORPS ANTI-*OSTERTAGIA OSTERTAGI*.**

THESE

Pour le

Diplôme d'Etat de

DOCTEUR VETERINAIRE

Présentée et soutenue publiquement

Le 16 Décembre 2020

Devant

La Faculté de Médecine de Nantes

Par

Typhaine GADOIS

Née le 16/03/1994 à Alençon (61)

JURY

Président : Monsieur Patrick LUSTENBERGER, *Professeur à la faculté de médecine de
Nantes*

Rapporteur : Madame Nadine RAVINET, *Maître de Conférence à ONIRIS*

Assesseur : Monsieur Alain CHAUVIN, *Professeur à ONIRIS*

ONIRIS – ECOLE NATIONALE VETERINAIRE,
AGROALIMENTAIRE ET DE L'ALIMENTATION
ANNEE 2020

**DIAGNOSTIC DE L'OSTERTAGIOSE CHEZ LES GENISSES EN
FIN DE PREMIERE SAISON DE PATURAGE : EVALUATION DE
L'INTERET DU PEPSINOGENE DE MELANGE ET DU NIVEAU
D'ANTICORPS ANTI-*OSTERTAGIA OSTERTAGI*.**

THESE
Pour le
Diplôme d'Etat de
DOCTEUR VETERINAIRE

Présentée et soutenue publiquement
Le 16 Décembre 2020
Devant
La Faculté de Médecine de Nantes
Par

Typhaine GADOIS

Née le 16/03/1994 à Alençon (61)

JURY

Président : Monsieur Patrick LUSTENBERGER, *Professeur à la faculté de médecine de
Nantes*

Rapporteur : Madame Nadine RAVINET, *Maître de Conférence à ONIRIS*

Assesseur : Monsieur Alain CHAUVIN, *Professeur à ONIRIS*

Enseignants d'ONIRIS

Département BPSA Biologie, Pathologie et Sciences de l'Aliment		
Responsable : Hervé POULIQUEN - adjoint : Emmanuel JAFFRES		
Nutrition et endocrinologie	Patrick NGuyen* (Pr)	
Pharmacologie et Toxicologie	Jean-Claude Desfontis (Pr) Yassine Mallem (Pr) Antoine Rostang (MCC)	Martine Kammerer (Pr) Hervé Pouliquen* (Pr)
Physiologie fonctionnelle, cellulaire et moléculaire	Jean-Marie Bach (Pr) Lionel Martignat (Pr)	Julie Herve (MC) Grégoire Mignot (MC)
Histologie et anatomie pathologique	Jérôme Abadie* (MC) Laetitia Jaillardon* (MC)	Marie-Anne Colle* (Pr) Frédérique Nguyen* (MC)
Pathologie générale, microbiologie et immunologie	François Meurens (Pr) Jean-Louis Pellerin* (Pr)	Emmanuelle Moreau (MC HDR) Hervé Sebbag (MC)
Biochimie alimentaire industrielle	Clément Cataneo (MC) Laurent Le Thuaut (MC) Thierry Serot (Pr)	Joëlle Grua (MC) Carole Prost (Pr) Florence Texier (MC)
Microbiotech	Géraldine Boue (MC) Emmanuel Jaffres (MC) Raouf Tareb (MCC) Bénédicte Sorin (IE)	Nabila Haddad (MC) Mathilde Mosser (MC) Hervé Prevost (Pr)
Département SAESP Santé des Animaux d'Élevage et Santé Publique		
Responsable : Alain CHAUVIN - adjoint : Raphaël GUATTEO		
Hygiène et qualité des aliments	Jean-Michel Cappelier* (Pr) Michel Federighi (Pr) Catherine Magras* (Pr) Fanny Renois -Meurens (MC)	Éric Dromigny (MC HDR) Bruno Le Bizec (Pr) Marie-France Pilet(Pr)
Médecine des animaux d'élevage	Sébastien Assie* (MC) Isabelle Breyton (MC) Alain Douart* (MC) Mily Leblanc Maridor (MC) Anne Relun (MCC)	Catherine Belloc* (Pr) Christophe Chartier* (Pr) Raphaël Guatteo* (Pr)
Parasitologie, aquaculture, Faune sauvage	Albert Agoulon (MC) Ségolène Calvez (MC) Nadine Ravinet (MC)	Suzanne Bastian (MC) Alain Chauvin* (Pr)
Maladies réglementées, zoonoses et réglementation sanitaire	Carole Peroz (MC)	Nathalie Ruvoen* (Pr)
Élevage, nutrition et santé des animaux domestiques	Nathalie Bareille* (Pr) Christine Fourichon* (Pr HDR) Henri Dumon* (Pr) Lucile Martin (Pr)	François Beaudeau* (Pr) Aurélien Madouasse (MC) Nora Navarro-Gonzalez (MCC)

Département DSC Sciences Cliniques		
Responsable : Catherine IBISCH – adjoint : Olivier GAUTHIER		
Anatomie comparée	Eric Betti (MC) Claude Guintard (MC)	Claire Douart (MC)
Pathologie chirurgicale et anesthésiologie	Eric Aguado (MC HDR) Eric Goyenvallé (MC HDR) Caroline Tessier* (MC)	Olivier Gauthier (Pr) Béatrice Lijour (MC) Gwénola Touzot-Jourde* (MC)
Dermatologie, parasitologie des carnivores et des équidés, mycologie	Patrick Bourdeau* (Pr)	Emmanuel BENSIGNOR (Pr Ass)
Médecine interne, imagerie médicale et législation professionnelle vétérinaire	Nora Bouhsina (MCC) Anne Courouze * (Pr) Amandine Drut* (MC) Catherine Ibisch (MC) Odile Senecat (MC)	Nicolas Chouin (MC) Jack-Yves Deschamps (Pr) Marion Fusellier-Tesson (MC) Françoise Roux* (Pr)
Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Djemil Bencharif (MC HDR) Jean-François Bruyas* (Pr)	Lamia Briand (MC HDR) Francis Fieni* (Pr)
Département GPA Génie des Procédés Alimentaires		
Responsable : Olivier ROUAUD - adjoint : Sébastien CURET-PLOQUIN		
Lionel Boillereaux (Pr) Marie De Lamballerie (Pr) Francine Fayolle (Pr) Vanessa Jury (MC) Alain Lebaïl (Pr) Jean-Yves Monteau (MC HDR) Laurence Pottier (MC) Cyril Toublanc (MC)	Sébastien Curet Ploquin (MC) Dominique Della Valle (MC HDR) Michel Havet (Pr) Emilie Korbel (MCC) Catherine Loisel (MC) Olivier Rouaud (Pr) Eve-anne Norwood (MCC)	
Département MSC Management, Statistiques et Communication		
Responsable : Michel SEMENOU - adjoint Pascal BARILLOT		
Mathématiques, statistiques, Informatique	Véronique Cariou (MC) El Mostafa Qannari (Pr) Chantal Thorin (Pr AG.)	Philippe Courcoux (MC) Michel Semenu (MC) Evelyne Vigneau (Pr)
Economie, gestion	Pascal Barillot(MC) Florence Beaugrand (MC) Sonia EL Mahjoub (MC) Samira Rousseliere (MC)	Ibrahima Barry (MCC) Sibylle Duchaine (MC) Jean-Marc Ferrandi (Pr)
Langues et communication	Marc Bridou (PLPa) David Guylér (ens. cont.) Shaun Meehan (ens. cont.)	Franck Insignares (IE) Linda Morris (PCEA)

BTs : **Laurence Freret (PCEA)** Christophe Caron (PLPA), Pascale Fleury(PCEA), Virginie Magin (Ens. Cont.), Françoise Brichet (IAE).

Professeurs émérites : Poncelet

Guide de lecture des tableaux suivants : Pr : Professeur, Pr. AG : Professeur agrégé. MC : maître de Conférences, MCC : MC contractuel, PLPA : Professeur Lycée Professionnel Agricole, PCEA : Professeur Certifié Enseignement Agricole, IE : Ingénieur d'Etudes ; IAE : Ingénieur de l'Agriculture et de l'Environnement ; ens. cont.: enseignant contractuel; HDR : Habilité à Diriger des Recherches

* Vétérinaire spécialiste d'une spécialité européenne, américaine ou française

La reproduction d'extraits est autorisée avec mention de la source. Toute reproduction partielle doit être fidèle au texte utilisé. Cette thèse devra donc être citée comme suit :

GADOIS, T. (2020). Diagnostic de l'Ostertagiose chez les génisses en fin de première saison de pâturage : évaluation de l'intérêt du pepsinogène de mélange et du niveau d'anticorps anti-*Ostertagia ostertagi*. Thèse pour le diplôme de docteur vétérinaire, Faculté de Médecine, Oniris : Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantiques, 104 p.

Le défaut de citation est considéré comme plagiat. Ce dernier est puni par la loi française et passible de sanctions allant jusqu'à 3 ans d'emprisonnement et 300 000 € d'amende.

Remerciements

A Monsieur Patrick Lustenberger

Professeur émérite à la Faculté de Médecine de Nantes

Pour avoir accepté de présider mon jury de thèse,
Sincères remerciements.

A Madame Nadine Ravinet

Maître de Conférence à ONIRIS,

Pour m'avoir proposé ce sujet, pour m'avoir encadrée et soutenue pendant cette thèse. C'est une chance immense de pouvoir travailler avec quelqu'un d'aussi pédagogue, passionnée et passionnante que toi. Merci pour ta bonne humeur et ton sourire si précieux en particulier pendant ces périodes de confinements. C'est un honneur de pouvoir continuer de travailler à tes côtés. Sincères remerciements.

A Monsieur Alain Chauvin,

Professeur à ONIRIS,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de faire partie de mon jury de thèse,
Sincères remerciements.

A Madame Nadine Brisseau et Madame Anne Lehébel,

Du service de parasitologie d'ONIRIS,

Pour leurs précieuses et indispensables aides sur les statistiques.
Merci pour votre patience et votre bonne humeur.
Sincères remerciements.

Un grand merci à ma famille

A mes parents, pour votre soutien inconditionnel et votre amour sans limite depuis toujours. Merci de toujours croire en moi et de me permettre d'avancer sereinement. Sans vous, je n'aurais jamais pu réaliser mon rêve. Et surtout merci pour l'incroyable lien familial que vous avez su créer entre nous quatre, c'est ce que j'ai de plus précieux !

Papa, à ton esprit vif et à tous tes conseils tant professionnels que personnels, tu trouves toujours les bons mots quand je suis perdue. A tous ces réveils en chansons que seul toi connais mais qui reste dans la tête, ces petits déjeuners à refaire le monde, tes jeux de mots (souvent très bons parfois vaseux) et à tous ces fous rires où un seul regard nous suffit ! A notre complicité. Je t'aime !

Maman, merci pour ton écoute et ton soutien, tu trouves toujours les mots pour m'apaiser. Merci de m'avoir transmis cette passion de la cuisine, de l'accueil et du partage. A tous les bons petits plats que je ramenaient les week-end, nos virées shopping, nos balades en forêt et nos moments confidences. Et même si nos deux caractères de cochons font qu'on peut monter dans les tours très vite, merci de ne jamais m'en vouloir. A notre complicité. Je t'aime !

A Boubou, mon binôme depuis 24 ans ! A toutes nos conneries, nos fous rires, notre complicité et à nos repas presque jamais faits maison pour le coup parce que le gras c'est la vie ! Merci de toujours être là pour moi et de toujours prendre ma défense. Merci pour ta franchise à toutes épreuves ! Je suis fière de l'homme que tu es devenu même si, à mes yeux, tu es et resteras toujours mon petit boubou ! Je t'aime !

A mes oncles et tantes, pour leurs présences toujours bienveillantes. **A Tata Sylvie et à Tonton Francis** pour votre accueil chaleureux, pour les concerts et ceux à venir ! **A Tata Marylène**, à notre passion commune pour la biologie. Merci de m'avoir accueillie deux années de suite pour passer ces fichus oraux et surtout d'avoir su me soutenir et m'apaiser pendant ces semaines. Tu as toujours su m'encourager dans ma voie. A toutes nos discussions pré-sommeil. Merci pour tout, ta coucheuse. **A Tata Jocelyne et Tonton Philippe**, pour tous les bons petits repas, les fous rires et toutes les journées passées à Forges étant petite. **A Tata Sylvie**, à ton sourire qui était si contagieux, à tous les souvenirs et à cette fameuse semaine passée à la Marnière, 100% fous rires garantis. **A Tata Sylvie**, pour ta vision du monde, tu arrives à toujours voir le bon côté des gens. **A Tonton Hubert**, à ton humour, à nos précieux moments partagés au chalet et à ton soutien. Tu me manques. **A Tata Mauricette**, merci pour tout.

A Tonton Michel et Tata Antoinette, pour m'avoir soutenue et encouragée dans ce rêve de devenir vétérinaire, pour m'avoir toujours démesurément gâtée et pour votre accueil toujours chaleureux. Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi !

A mes cousins et cousines, à **Mathias, Renaud, Solène, Maud, Boris, Quentin, Guillaume, Thibault, Alban, Barbara, Elisa, Delphine, Stéphanie et Simon**, j'aurais aimé vous écrire un

petit mot chacun mais les remerciements ne peuvent pas être plus longs que la thèse ! Merci pour tous les bons moments partagés. C'est toujours un plaisir de vous retrouver.

A Papi et Mamie, merci pour tout l'amour que vous m'avez apporté et toutes les valeurs que vous m'avez transmises ! Je sais que vous veillez sur nous tous d'où que vous soyez. Vous me manquez énormément !

A Jacqueline et Alain, pour vos encouragements, pour tous les bons moments partagés et les nombreux fous rires. Merci pour les incroyables souvenirs de vacances et les parties de jeux !

A Bernard et Colette, pour votre accueil toujours chaleureux. Merci de m'avoir accueillie pendant ce fameux été très chargé et de m'avoir soutenue. Merci pour tout.

A Francis et Isabelle, pour accueil si chaleureux et convivial. Merci de m'avoir intégrée à votre famille et de m'avoir fait découvrir les plus beaux coins Suisses. A tous nos moments de partages si précieux. Vous avez rendu ce voyage magnifique. J'espère vous revoir très vite.

A mes amis,

Aux Alençonnais, à nos folles soirées, nos magnifiques karaokés où tout peut servir de micros et à nos discussions plus ou moins profondes. **A Clara**, à cette amitié qui dure depuis si longtemps maintenant ! Tant de souvenirs et de folles aventures depuis le collège, la liste est bien trop longue ! Merci d'être toujours là pour moi, dans les bons comme les mauvais moments et de toujours m'encourager. **A Julie**, à notre passion commune de la cuisine, à nos discussions sans fin avec une bonne tasse de thé ou un bon verre de vin, à cette semaine de révisions/apéros-piscine mémorable et à notre poisse commune avec tu sais quoi ! ;) Merci pour ta franchise et ta générosité ! **A Solène**, à ta folie, ta franchise et à notre passion commune pour les chats ! A ton accueil pour toutes ses soirées épiques, vivement les prochains portés ! **A Clémence**, pour ton honnêteté, ta fraîcheur et ta gentillesse ! A notre amour partagé de la nature et des couchers de soleil ! Vite qu'on se fasse une randonnée pour que tu découvres les beaux petits coins Mayennais. Et surtout à ton sens aiguisé de l'orthographe, qui m'a évité de mettre un s à tous les taux de pepsinogène de mélange de cette thèse ! ;) Sans oublier **Alexis, Florian et Thomas** pour nous supporter ! A vos mojitos, vos barbecues et à vos oreilles insensibles à nos chants (à moins que vous mettiez des boules Quies ?)

Aux 5/2, et dire qu'on avait enfin trouvé une date commune ! ;) **A Delphine**, j'admire ta force de caractère, ta détermination, ta bonne humeur et ta joie à vivre en toutes circonstances ! Peu importe les épreuves, tu vois toujours le bon côté des choses et tu arrives à relativiser ! Surtout ne change rien ! A tous ces repas hebdomadaires (toujours après la piscine, le sport avant tout !) pendant ces 5 années qui me manquent tellement ! Merci pour tes conseils et ton éternel soutien. **A Romane**, mon binôme de bavardage (Romane et sa voisine !! J'étais obligé de le placer !!) et de révisions, je te dois une grosse partie de ma réussite à ce concours ! Je te suis tellement reconnaissante ! A nos soirées toutes plus mémorables les unes que les

autres que ce soit à Toulouse ou à Nantes. J'admire ta façon de voir les choses, ton honnêteté et ta franchise. Et merci pour la chieuse à quatre pattes qui me comble depuis 5 ans maintenant ! Vivement qu'on se fasse notre fameux voyage Irlandais ! J'ai tellement hâte ! **A Mélissa**, à ta joie de vivre, ta bonne humeur contagieuse et à ton humour même la patte dans le sac ! A toutes ses pauses goûters peu importe l'heure ! Et ses concours de gobelets/jetons la machine à café où j'ai toujours perdu !

Je vous aime !

A Rachoux, pour tous les bons repas partagés après le sport (ou pas ...), à nos discussions, nos sorties photos et nos randos ! A bientôt pour découvrir ton petit coin breton.

A ma Zozo, ma baroudeuse que j'aimerais garder à mes côtés. Merci de m'avoir soutenue et de m'avoir ré-expliquée un nombre incalculable de choses en prépa. A nos retrouvailles, toujours attendues avec impatience mais également toujours trop courtes. Vivement les prochaines, tu me manques !

A Solenn et Clément, à ses deux années de prépas qui restent un bon souvenir grâce à vous. A toutes nos discussions et nos partages. Merci d'avoir contribué à ce que je puisse réaliser mon rêve.

A mes colocs, Marie et Tanguy, sans vous, je n'aurais jamais survécu à la prépa et je ne serais probablement pas où j'en suis aujourd'hui ! Merci pour votre soutien et votre bonne humeur durant ces 2 années ! A tous ses samedis soirs tant attendus, véritables sas de décompression ! J'espère vous revoir très vite !

A Marine et Maëlle, pour tous les bons souvenirs. J'espère vous revoir très vite.

A Marine, ma complice depuis le début de ce parcours vétérinaire ! Je ne sais pas ce que je ferai sans toi. Merci pour tous ces bons moments partagés, les inoubliables souvenirs Suisses, les fous rires, les virées shoppings, les verres de vins et les innombrables heures de téléphones à se raconter nos péripéties. Merci pour tous tes conseils et ton soutien sans faille ! C'est toujours une vraie bouffée d'air frais quand je te vois ! J'attends avec impatience nos prochaines retrouvailles.

A Nina, ma binôme Ornaise, pour tous ces covois à chanter à tue-tête sur les plus grands classiques de la chanson française et à se raconter nos week-ends. Merci pour les apéros, les débriefes Grey's Anatomy et pour toutes les balades à cheval dans ton petit coin de paradis, vivement les prochaines !

A Marie Anne, une des personnes les plus positives et bienveillantes que je connaisse. A ton sens de l'humour inégalable. J'adore ta façon d'appréhender la vie et d'avancer !! Eclates-toi bien à Lyon et passes le bonjour au garagiste de ma part ! Vivement nos prochains matchs de badminton (j'espère bien pouvoir prendre ma revanche à toutes les défaites que tu m'as infligées !)

A Diane et Alessandra, à ce coup de foudre amical qui a commencé par un « ah mais vous aimez les Disney » à 4 heures du mat' (ça me paraît toujours aussi improbable !), poursuivi par des rendez-vous hebdomadaires tous autant mémorables les uns que les autres et des voyages riches en souvenirs ! Merci pour votre joie de vivre, votre écoute et vos précieux conseils. Je ne sais pas ce que je ferai sans vous, toujours présentes dans les bons comme les mauvais moments pour me remonter le moral. A tous nos repas, nos apéros, nos visios, véritables bouffées d'oxygène, et nos fous rires. Et surtout à nos voyages et ceux à venir ! Vous me manquez tellement (et à mon canap' aussi) ! PS : « On est laaaarge !! »

A Chaton, à ton grain de folie unique, à nos discussions sans fin, à nos soirées et à nos redondances #trèspeu ! Merci pour d'être toujours là pour moi et de me faire autant rire ! Ta bouille et tes câlins me manquent beaucoup trop !

A Pauline, cette dernière année n'aurait jamais été la même sans toi ! A nos visions et passions communes ! Merci pour ton soutien si précieux et toutes ses heures d'écoute que ce soit sous les combles d'un appart à Cabourg (y'a pas à dire les combles, ça rapproche), au fond d'un minibus, le bras dans le cul d'une vache, dans nos voitures pros tant en présentiel ou qu'en audio, d'ailleurs un jour on finira par faire bugger WhatsApp (une petite pensée pour les participations et l'implication d'Antoine qui me font bien marrer #foutlesaufeu) ! Et surtout merci d'avoir pris le temps de relire cette thèse.

A Alexia, tu resteras toujours ma bizuth de prépa même si on a fini dans la même promo ;) Merci pour tous ses fous rires et nos discussions interminables. A toutes nos pauses toilettes et au club des petites vessies ;)

A Clémence, ma presque coloc, à notre amour commun de la bonne bouffe et du bon vin et surtout aux moments de partages qui vont avec ! J'espère que vous allez enfin pouvoir partir au Canada et vivre une magnifique expérience !

A Charlotte, ma marraine de toujours ! Merci pour tout ce que tu as fait pour moi en prépa et à l'école. A ton sourire et ta joie de vivre ! On t'attend de pieds fermes en Mayenne avec Coralie !

Aux vétérinaires rencontrés au cours de cinq années,

A l'équipe de la clinique des AVALOIRS,

A Loïc, pour m'avoir accepté en stage et pour votre pédagogie. Et surtout merci de m'avoir donné ma chance. **A Lisa**, tu me supportes depuis si longtemps maintenant ! A toutes ces premières fois que tu m'as laissé réaliser en me soutenant et en m'encourageant ! Merci pour ta patience (même à 3h du matin !) et ton incroyable fibre pédagogique. A toutes les galères qui nous font bien rire quand on y repense, les discussions dans la voiture et les nombreux fous rires ! Je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu m'as apportée. Merci pour tout. **A Catherine**, merci pour tout ce que tu m'apportée et appris ! A ta bonne humeur contagieuse ! J'espère que tu t'épanouies dans la Manche. A très vite ! **A Elise**, merci de

m'avoir fait tant de fois une petite place sur le siège passager ! A ta façon unique d'appréhender les choses et de relativiser. Merci de m'avoir fait confiance. **A Coralie**, à nos soirées gardes au-dessus de la clinique, je ne désespère pas d'arriver à te faire déstresser. Merci de m'avoir aidée pendant ma dernière année. **A Patricia**, ma maman de la clinique, merci pour ton soutien autant professionnel que personnel. Tu trouves toujours les bons mots pour me faire relativiser. **A Audrey, Jennifer et Anne- Marie**, merci.

A l'équipe d'ANOVET pour ces deux étés passés à vos côtés,

A Guillaume et Claire, merci de m'avoir donné ma chance et de m'avoir fait confiance alors que je n'étais encore qu'un bébé véto. Merci pour tous vos conseils et votre soutien pour mes remplacements. A très vite. **A Maxime**, tout d'abord, merci pour ces surnoms tous plus élaborés les uns que les autres dont toi seul a le secret ! Mais surtout, je te remercie pour tout ce que tu m'as appris, pour ton aide inestimable sur un paquet de cas et cela encore aujourd'hui. Désolée pour les acouphènes parce qu'avec le nombre de fois où je te cite, tu risques de finir sourd avant l'heure ! **A Lucie**, à toutes nos discussions et nos échanges professionnels et personnels. C'est un plaisir de travailler avec toi. Merci beaucoup pour ton aide sur les cas. A notre passion commune du Typhus ? **A Antoine**, pour ta patience et ton aide précieuse. **A Valérie, Virginie, Karine, Morgane, Wendy, Cécile et Olivia**, merci pour votre soutien, votre professionnalisme et pour votre sang froid à toute épreuve ! Il respire ??
A bientôt

A toute l'équipe des Ponts de Martel, Maroussia, Alain, Cyprian, Smaïn, Elodie, Christelle, Sabrina et Ariane pour leur accueil chaleureux et leurs formations. Merci de m'avoir fait découvrir des coins plus magnifiques les uns que les autres. J'espère vous revoir bientôt.

A ma Pêche, source inépuisable de fous rires et de tendresse et première relectrice de cette thèse !

Table des matières

REMERCIEMENTS	7
LISTE DES ANNEXES	16
LISTE DES FIGURES	16
LISTE DES TABLEAUX	17
LISTE DES ABREVIATIONS	18
INTRODUCTION	19
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	21
I. OSTERTAGIA OSTERTAGI : STRONGLE DIGESTIF DE LA CAILLETTE DES BOVINS	23
A. BIOLOGIE DU PARASITE	23
A.1. Phase externe	24
A.2. Phase interne	25
B. EPIDEMIOLOGIE	25
B.1 Sources de parasites	25
B.2. Réceptivité et sensibilité des bovins aux strongles digestifs	25
C. POUVOIR PATHOGENE D'OSTERTAGIA OSTERTAGI	26
C.1. Expression subclinique	26
C.2. Expression clinique	26
C.2. Lésions macroscopiques	27
C.3. Pathogénie	28
C.4 Réponse immunitaire	29
II. DIAGNOSTIC DE L'OSTERTAGIOSE	31
A. SUSPICION CLINIQUE	31
B. COPROSCOPIE, COPROCULTURE ET COMPTAGE LARVAIRE DANS L'HERBE	31
C. DOSAGE DE PEPSINOGENE	32
C.1. Intérêt du dosage de pepsinogène	32
C.2. Méthodes utilisées	33
C.3. Utilisation pratique	34
C.4. Taux de pepsinogène rapportés dans la littérature	34
C.4. Limites du dosage du pepsinogène	39
D. TEST ELISA	39
D.1 Principe de l'analyse ELISA	39
D.2 Utilisation pratique	39
D.3 Limites de l'ELISA anti-Ostertagia ostertagi	43
E. AUTRE EXAMEN COMPLEMENTAIRE : LA GASTRINE	43
F. EN RESUME	44
III. MESURES THERAPEUTIQUES ET PREVENTIVES	45
A. MESURES THERAPEUTIQUES [6, 55]	45
B. MESURES PREVENTIVES [11, 50]	47
ETUDE PERSONNELLE	49
I. CONTEXTE ET OBJECTIFS	51
II. MATERIELS ET METHODES	53

A.	ÉCHANTILLON D'ÉTUDE	53
B.	PRELEVEMENTS ET ANALYSES DE LABORATOIRE	53
	<i>B.1. Prélèvements sanguins</i>	53
	<i>B.2. Dosages de pepsinogène sérique.....</i>	53
	<i>B.3. Test ELISA.....</i>	53
C.	ANALYSES STATISTIQUES.....	54
	<i>C.1. Données conservées pour les analyses statistiques</i>	54
	<i>C.2. Description des variables d'étude</i>	54
	<i>C.3. Impact de l'échantillonnage intra-lot (choix des 5 génisses parmi les n du lot) sur la moyenne des dosages individuels de pepsinogène.....</i>	56
	<i>C.4. Relation entre la moyenne des taux individuels et les taux de mélange</i>	57
	<i>C.5. Relation entre les taux d'anticorps anti-Ostertagi et les taux de pepsinogène sérique.....</i>	57
	<i>C.6. Détermination des seuils diagnostiques pour l'interprétations des analyses de mélange</i>	57
III.	RESULTATS	59
A.	DESCRIPTION DES VALEURS DE PEPSINOGENE ET DE RDO <i>OSTERTAGIA</i> SUR L'ÉCHANTILLON D'ÉTUDE.....	59
B.	IMPACT DE L'ÉCHANTILLONNAGE INTRA-LOT (CHOIX DES 5 GENISSES PARMIS LES N DU LOT) SUR LES MOYENNES DE PEPSINOGENE OBTENUES.....	59
C.	DOSAGES DE PEPSINOGENE	62
	<i>C.1. Relation entre les taux de pepsinogène moyen et les taux de pepsinogène de mélange</i>	62
	<i>C.2. Seuil d'interprétation du pepsinogène de mélange</i>	63
	<i>C.3. Corrélation entre le taux de pepsinogène moyen et le taux de pepsinogène de mélange en fonction du nombre d'individu pris en compte</i>	64
D.	RELATION ENTRE LE TAUX DE PEPSINOGENE ET LE TAUX ANTICORPS	65
	<i>D.1. Evaluation de la relation linéaire entre le taux moyen de pepsinogène et le taux moyen d'anticorps</i>	65
	<i>D.2. Evaluation d'un lien entre le taux moyen de pepsinogène et le taux moyen d'anticorps</i>	66
E.	EVALUATION DU LIEN ENTRE LES RDO INDIVIDUELS ET LES RDO DE MELANGE.....	67
	<i>E.1. Corrélation entre les RDO individuels et les RDO de mélanges.....</i>	67
	<i>E.2. Seuil d'interprétation des RDO sur sérums de mélange.....</i>	67
IV.	DISCUSSION	69
A.	SYNTHESE DES RESULTATS.....	69
	<i>A.1. Choix des génisses prélevées pour effectuer le dosage de pepsinogène sérique et impact sur la décision thérapeutique</i>	69
	<i>A.2. Dosages de pepsinogènes</i>	71
	<i>A.3. Utilisation du taux moyen d'anticorps anti-Ostertagia (mesuré par méthode ELISA).....</i>	74
	<i>A.4. Utilisation du taux d'anticorps sur mélange de sérums</i>	74
B.	VALIDITE DES RESULTATS	75
	<i>B.1. Bases de données</i>	75
	<i>B.2. Echantillonnage aléatoire.....</i>	75
	<i>B.3. Incertitudes de mesures.....</i>	75
C.	EXTRAPOLATION DES RESULTATS	76
	<i>C.1. Extrapolation à d'autres populations</i>	76
	<i>C.2. Extrapolation à d'autres périodes.....</i>	76
D.	PERSPECTIVES D'APPLICATION	77
	<i>D.1. Perspectives d'application pratique</i>	77
	<i>D.2. Perspective d'application en recherche</i>	80
	CONCLUSION GENERALE	83
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	85

ANNEXES.....	90
PERMIS D'IMPRIMER.....	99

Liste des annexes

Annexe 1 : Protocole du dosage de pepsinogène utilisé au laboratoire de l'unité BIOEPAR-INRAE	90
Annexe 2 : Protocole du kit SVANOVIR® O.Ostertagia Ab	93

Liste des figures

Figure 1 : Cycle parasitaire d' <i>Ostertagia ostertagi</i> [38]	23
Figure 2 : Œufs de strongles [8]	24
Figure 3 : Larve L3 d' <i>Ostertagia ostertagi</i> (x40)	24
Figure 4: Mécanisme de l'augmentation du taux de pepsinogène sérique lors d'infestation par <i>Ostertagia ostertagi</i> [57]	28
Figure 5 : Diagramme schématique des changements pathogéniques lors d'infestation par <i>O. Ostertagi</i> d'après Van Veen Schillhorn, 1988 [61]	29
Figure 6 : Procédure de sélection des lots constituant les bases de données utilisées pour les analyses statistiques.....	54
Figure 7 : Histogramme des différences entre la moyenne de référence (premier tirage au sort) et les moyennes des taux de pepsinogène calculées aléatoirement sur les tirages au sort successifs.....	60
Figure 8 : Répartition des moyennes obtenues par échantillonnages aléatoires pour les lots dans lesquels la thérapeutique est impactée.	62
Figure 9 : Corrélation entre les taux de pepsinogène de mélange et les taux de pepsinogène moyens dans les 124 lots de génisses. Droite de régression linéaire $y = 0.81x + 158$ avec l'intervalle de confiance à 95% de la pente.	63
Figure 10 : Corrélation entre les taux de pepsinogène moyens et les taux de pepsinogène de mélange pour un échantillon de 5 génisses (n = 43 lots).....	65
Figure 11 : Corrélation entre les moyennes des taux de pepsinogène sérique individuels et les taux d'anticorps moyens.....	65
Figure 12 : Répartition des RDO moyens des 98 lots de génisses au sein des 4 catégories de taux de pepsinogène moyens. (NB : la moyenne est représentée par le point rouge et la médiane par le trait noir)	66
Figure 13 : Répartition des RDO moyens des 98 lots de génisses au sein des 5 catégories de taux de pepsinogène moyens. (NB : la moyenne est représentée par le point rouge et la médiane par le trait noir)	66
Figure 14 : Corrélation entre la moyenne des RDO sériques individuels et les RDO sériques de mélange.....	67
Figure 15 : Histogramme des différences entre la moyenne initiale de pepsinogènes et les moyennes calculées aléatoirement.	70

Liste des tableaux

Tableau I : Seuil de quantification de l'infestation parasitaire [22, 57]	31
Tableau II : Interprétation des valeurs de taux de pepsinogène sérique chez les bovins en 1 ^{ère} et 2 ^{ème} saison de pâture d'après Ravinet et al (2015)[57]	33
Tableau III : Estimation de l'infestation d'un lot à partir des mesures du taux de pepsinogène sérique.....	34
Tableau IV : Synthèse des études utilisant le dosage de pepsinogène sérique.....	35
Tableau V : Synthèse des études utilisant le dosage d'anticorps anti- <i>O. Ostertagi</i> sur sérum	40
Tableau VI : Résumé des méthodes diagnostiques utilisables sur le terrain.....	44
Tableau VII : Molécules anthelminthiques utilisables chez les génisses laitières [6]	46
Tableau VIII : Thérapeutique anthelminthique en fonction du niveau d'infestation	47
Tableau IX : Descriptif des variables de taux de pepsinogène de l'étude.....	55
Tableau X : Descriptif des variables de taux d'anticorps de l'étude	56
Tableau XI : Distribution des variables quantitatives de pepsinogène	59
Tableau XII : Distribution des variables quantitatives de RDO <i>Ostertagia</i>	59
Tableau XIII : Description des différences obtenues entre les moyennes de référence et les moyennes aléatoires	60
Tableau XIV : Taux de changement de thérapeutique en fonction des génisses prélevées dans le lot.	61
Tableau XV : Caractéristiques des lots impactés par le changement de thérapeutique	61
Tableau XVI : Tableau de contingence entre le taux de pepsinogène sérique du mélange catégorisé à 1445 mUTyr/mL et le taux de pepsinogène sérique moyen. (p-value=9.72.10 ⁻¹⁸)	64
Tableau XVII : Tableau de contingence entre le taux de pepsinogène sérique du mélange catégorisé à 1400 mUTyr/mL et le taux de pepsinogène sérique moyen. (p-value=6.35.10 ⁻¹⁸)	64
Tableau XVIII : Tableau de contingence entre le taux de pepsinogène sérique du mélange catégorisé à 1500 mUTyr/mL et le taux de pepsinogène sérique moyen. (p-value=1.69.10 ⁻¹⁸)	64
Tableau XIX : Caractéristiques des lots impactés par le changement de thérapeutique et comparaison à la moyenne initiale du lot.....	71
Tableau XX : Distribution des valeurs des taux de pepsinogène individuels, moyens et de mélange pour les lots 19_1, 17_1, 56_1 et 124_1.....	72
Tableau XXI : Tableau comparatif des coûts lors de traitements à l'aveugle (Ivermectine ou Febendazole) ou après la réalisation de dosages de pepsinogène sur sérums individuels ou sur sérum de mélange.....	77
Tableau XXII : Freins et motivations des éleveurs à changer leurs méthodes de contrôle des strongles digestifs (d'après Orard, 2014)	78
Tableau XXIII : Evolution des messages sur l'utilisation des traitements anthelminthiques (Traduit d'après Torres-Acosta et Hoste, 2008).....	79

Liste des abréviations

AUC : area under the curve = surface sous la courbe

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

GMQ : gain moyen quotidien

HCl : acide chlorhydrique

L3 : larve de stade 3 = larve infestante

mUTyr/mL : milli-unité de tyrosine par millilitre

opg : œuf par gramme de fèces

RDO : ratio de densité optique

Se : sensibilité d'un test

SGI : strongles gastro-intestinaux

Sp : spécificité d'un test

TCE : temps de contact effectif

Introduction

Ostertagia ostertagi est le strongle gastro-intestinal le plus fréquent et le plus pathogène en France. Il touche principalement les génisses de première et deuxième saison de pâturage où les infestations subcliniques et cliniques peuvent entraîner des pertes économiques importantes (retards de croissance, troubles digestifs...) [20]. Ces pertes dépendent du niveau d'infestation des animaux et sont variables entre les troupeaux, les lots et les années.

Actuellement, le diagnostic quantitatif de l'infestation par *Ostertagia* chez les génisses de première et deuxième saison de pâturage repose sur le dosage de pepsinogène sérique [57, 58]. Le taux de pepsinogène est un marqueur lésionnel de la muqueuse abomasale bien corrélé à la charge parasitaire moyenne du lot [40]. Afin de réaliser cette analyse, au moins 5 génisses doivent être prélevées et la moyenne des 5 taux de pepsinogène obtenus permet un diagnostic de lot [40]. Cependant, la sensibilité individuelle des génisses face à *Ostertagia ostertagi* ainsi que la distribution agrégée des parasites peuvent entraîner des taux de pepsinogène variables entre les génisses [40, 58]. Ainsi, le choix des génisses prélevées au sein du lot pourrait influencer le diagnostic. Toutefois, l'impact de ces aléas d'échantillonnage sur le diagnostic quantitatif de l'infestation par *Ostertagia ostertagi* n'a jamais été étudié.

De plus, le dosage de pepsinogène est une analyse coûteuse, et d'autant plus coûteuse qu'il est nécessaire de le doser à l'échelle individuelle pour obtenir une moyenne. Le risque encouru est alors que cette analyse ne soit pas réalisée et que le traitement anthelminthique soit effectué le plus souvent à l'aveugle. Si le niveau d'infestation n'est en fait pas suffisamment important pour justifier un traitement, alors les traitements à l'aveugle exercent une pression de sélection inutile sur les populations parasites. Dans l'objectif de diminuer les coûts pour faciliter la mise en place de traitements plus raisonnés, on peut se demander quel est l'intérêt du dosage de pepsinogène sur un mélange de sérums. Jusqu'à présent, aucune étude ne s'est intéressée au dosage de pepsinogène sur un mélange de sérums. Deux craintes majeures peuvent expliquer cela ; la première étant que la présence d'un sérum avec un taux de pepsinogène élevé dans le lot des génisses prélevées pourrait influencer fortement le résultat du mélange et, la deuxième, que la réalisation d'une seule analyse maximiserait les incertitudes de mesures, ce qui, dans les deux cas, pourrait conduire à des erreurs diagnostiques.

Enfin, une analyse ELISA mesurant le niveau d'anticorps anti-*Ostertagia* sur le sérum des génisses permettrait de diminuer d'autant plus ces coûts. En effet, l'ELISA est une analyse standardisée, peu coûteuse et il existe un kit commercialisé. L'ELISA *Ostertagia* est actuellement utilisé sur un échantillon de lait de tank afin d'évaluer l'exposition des vaches laitières aux strongles digestifs mais il n'est pas utilisé en routine sur les sérums des jeunes animaux et sa valeur diagnostique est peu documentée chez ces derniers.

Les objectifs de cette thèse sont donc **(i) de quantifier la variabilité des moyennes de taux de pepsinogène obtenues en fonction du choix des génisses prélevées au sein d'un lot, (ii) d'évaluer la relation entre la moyenne des taux individuels de pepsinogène et le taux de pepsinogène obtenu sur un mélange des sérums, et (iii) d'évaluer la relation entre le taux de pepsinogène et le taux d'anticorps anti-*Ostertagia ostertagi*.**

Une première partie sera consacrée à l'étude bibliographique de l'utilisation actuelle du dosage de pepsinogène sérique et des analyses ELISA *Ostertagia* chez les génisses laitières. La seconde partie détaillera l'étude personnelle réalisée sur le sujet.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. *Ostertagia ostertagi* : strongle digestif de la caillette des bovins

Les strongles gastro-intestinaux des bovins sont des helminthes nématodes présents dans différentes portions du tube digestif des bovins [22]. Les principaux nématodes gastro-intestinaux des bovins entraînant des pertes économiques sont *Ostertagia ostertagi* et *Trichostrongylus axei* dans la caillette et, *Cooperia Oncophora* et *Nematodirus helvetianus* dans l'intestin grêle [9, 70].

Ostertagia ostertagi étant le plus fréquent, le plus pathogène et le plus important d'un point de vue économique en régions tempérées, notre étude se portera par la suite sur ce dernier.

A. Biologie du parasite

Ostertagia ostertagi est un parasite de la caillette des bovins appartenant à la super famille des *Trichostrongyloidea*. Ces vers ronds sont caractérisés par un corps mince et une capsule buccale peu développée. L'adulte mesure entre 6 et 12 mm de longueur pour 150 μm de diamètre. Un dimorphisme sexuel existe entre les femelles et les mâles. En effet, ces derniers sont légèrement plus petits que les femelles et possèdent une bourse copulatrice développée munie de spicules courts et épais.

Ostertagia ostertagi effectue un cycle homoxène semi-direct en 2 phases (Figure 1) :

- Phase externe : évolution de l'œuf jusqu'à la larve L3, qui est le stade infestant, dans le milieu extérieur.
- Phase interne : évolution de la larve L3 à l'adulte chez le bovin.

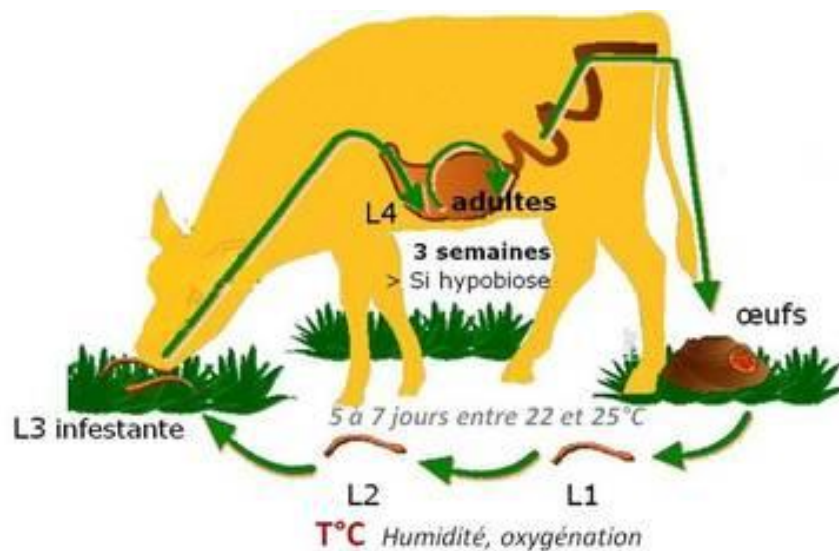


Figure 1 : Cycle parasitaire d'*Ostertagia ostertagi* [38]

A.1. Phase externe

Les œufs d'*Ostertagia ostertagi* sont éliminés dans le milieu extérieur via les bouses des bovins infestés. Ils sont de forme ellipsoïde avec une coque mince, lisse et incolore et mesurent entre 80 et 100 μm de longueur pour 40 à 50 μm de largeur. Ils renferment une morula composée d'un nombre variable de blastomères [22]. Les parois latérales sont symétriques et légèrement bombées [67] (Figure 2).



Figure 2 : Œufs de strongles [8]

Les œufs excrétés dans le milieu extérieur évoluent en larves de premier et de deuxième stade rhabditoïdes. Elles mesurent respectivement de 300 à 500 μm et 750 μm de long [3]. Les larves se nourrissent de bactéries et d'algues microscopiques et se développent en larves de troisième stade (L3) infestant, mesurant entre 850 et 900 μm . Elles sont alors de type strongyloïdes et vivent sur les réserves glycogéniques et lipidiques stockées dans leurs cellules intestinales et accumulées par les stades précédents. La L3 est capable de se déplacer sur les pâtures (Figure 3).



Figure 3 : Larve L3 d'*Ostertagia ostertagi* (x40)

La phase externe dépend des conditions climatiques, plus particulièrement de l'humidité, de l'oxygénation et de la température [5]. Lorsque les conditions sont optimales, la durée de développement est de 5 à 7 jours.

La température optimale est comprise entre 22 et 25 $^{\circ}\text{C}$ [3, 64]. La vitesse de développement des stades externes est régulée par la température. En effet, lorsque la température diminue de 5 $^{\circ}\text{C}$, la durée de développement double [5]. Au contraire, si la température est élevée, l'évolution s'effectue plus rapidement. Cependant, ceci s'effectue au détriment de l'activité de la future larve L3, les stades précédents accumulant moins de réserves.

L'humidité doit être comprise entre 80 et 95% [2]. Elle évite la dessiccation et la mort des stades en développement. De plus, elle permet aux larves infestantes de se déplacer sur les pâtures en créant un biofilm aqueux [64].

A.2. Phase interne

Les bovins s'infestent en ingérant les larves L3 présentes sur l'herbe contaminée. Les larves L3 perdent leurs exuvies sous l'action des sucs gastriques du rumen et de la caillette. Cette mue se produit en une heure. Les larves pénètrent alors dans la paroi de la caillette, dans les glandes de la paroi digestive, et muent en larve de quatrième stade pour ensuite retourner dans la lumière du tube digestif. L'acquisition de la maturité sexuelle s'effectue dans la lumière de la caillette. Après accouplement, les femelles pondent des œufs qui seront excrétés dans les excréments des bovins.

La période pré-patente est de 18 à 21 jours après l'ingestion de L3 mais une inhibition du développement dans la paroi du tube digestif est possible, c'est l'hypobiose. Les larves s'enkystent dans la muqueuse abomasale et le développement larvaire est bloqué au début du 4^{ème} stade pendant plusieurs semaines voire plusieurs mois. Cette inhibition se produit lorsque les conditions de développement sont défavorables au parasite, c'est à dire à l'automne lorsque les températures baissent, puis la levée d'hypobiose a lieu au printemps suivant [62].

B. Epidémiologie

B.1 Sources de parasites

L'herbe pâturée est la source de parasite. On considère qu'un bovin est infesté dès lors qu'il pâture. Ces bovins infestés deviennent alors excréteurs et constituent à leur tour une source de contamination de l'herbe [56]. Il faut cependant distinguer les animaux immuns qui permettent de maintenir un niveau stable de parasites sur les parcelles en excréant une faible quantité d'œufs et les animaux non immuns qui contaminent les parcelles par une forte excrétion d'œufs.

B.2. Réceptivité et sensibilité des bovins aux strongles digestifs

Facteurs intrinsèques

L'âge est le facteur le plus important, car les animaux de première et deuxième saison de pâture sont les plus réceptifs aux strongyloses.

L'immunité de l'individu est également un facteur important. En effet, une immunité concomitante se développe après un contact prolongé (6 à 8 mois) avec les larves L3 infestantes. Ainsi, le temps de contact effectif (TCE) est le temps nécessaire à l'installation de cette immunité. Cette dernière permet à l'hôte de maintenir une charge parasitaire faible et de résister à une forte pression de contamination [22].

Un mauvais état général augmente la réceptivité des bovins aux parasitoses ainsi qu'à toutes infections en général.

Facteurs extrinsèques

La température et l'humidité sont deux facteurs environnementaux particulièrement importants. Ils influencent la survie, le développement et la migration des larves sur les pâtures et influencent donc l'exposition des bovins aux stades infestants [64]. Une température élevée associée à de la dessiccation induisent de la mortalité chez le parasite et diminuent la pression d'infestation [8].

Les modalités d'utilisation des parcelles influent sur l'infestation des animaux et, par conséquent, sur la mise en place de l'immunité concomitante. Ainsi, des pratiques du pâturage favorisant des infestations répétées par un faible nombre de parasites n'induisent pas de signes cliniques et favorisent l'installation de l'immunité concomitante, alors qu'une infestation brutale sur une parcelle très contaminée engendre des troubles pathologiques avec expression clinique chez des animaux non immuns [8, 23].

Par ailleurs, plus la densité d'animaux est importante au pâturage, plus la pression d'infestation est élevée (tant que les animaux ne sont pas complémentés) [8]. Ceci est lié à deux phénomènes :

- La diminution de la hauteur d'herbe : les animaux broutent alors plus près du sol et ingèrent un plus grand nombre de larves présentes aux pieds des brins d'herbe.
- L'augmentation du nombre de bouses sur les parcelles : les animaux broutent alors plus près de celles-ci, zones où les larves sont plus nombreuses.

C. Pouvoir pathogène d'*Ostertagia ostertagi*

C.1. Expression subclinique

L'ostertagiose subclinique est la forme majoritairement rencontrée, autant chez les bovins immuns qu'en cours d'immunisation. Ainsi, de nombreuses études ont montré que les strongles digestifs pouvaient entraîner des retards de croissance chez les jeunes. Par exemple, en comparant un lot de jeunes vermifugés et un lot témoin non vermifugé, la méta-analyse de Shaw et al (1998) [60], qui regroupe 64 études étalées sur 26 années, a montré que le gain de poids est meilleur pour les jeunes ayant été vermifugés, que l'infestation soit clinique ou subclinique [15]. Cette baisse de croissance a également des répercussions sur le long terme : elle augmente le temps d'improductivité des génisses et diminue les quantités de lait produite lors de la première lactation [17]. On comprend donc l'intérêt de maîtriser au mieux les strongles gastro-intestinaux des jeunes bovins.

C.2. Expression clinique

L'ostertagiose bovine s'exprime sous différentes formes cliniques : ostertagiose de type I, de type II, de pré-type II et allergique [4, 40].

- **Ostertagiose de type I :**

Les manifestations cliniques, c'est-à-dire une diarrhée profuse aqueuse, une perte de poids et de la polydipsie, sont liées à l'accumulation des parasites qui ont réalisé des cycles parasitaires complets, c'est-à-dire avec entrée et sortie des larves de la muqueuse abomasale (pas d'hypobiose). Les signes cliniques apparaissent lorsque la charge parasitaire est élevée (autour de 40 000 vers selon Armour (1970)) [7]. L'ostertagiose de type 1 se manifeste pendant la première saison de pâture des génisses, dès lors que le recyclage parasitaire a été suffisant pour induire des niveaux d'infestation importants, c'est-à-dire le plus souvent de juillet à octobre en France.

Localement, la caillette est inflammée, œdématiée et plus ou moins nécrosée. Une hypoalbuminémie est généralement associée.

- **Ostertagiose de pré-type II :**

C'est une forme asymptomatique (ou symptômes frustes) caractérisée par des lésions discrètes chez des animaux pâturant sur des parcelles contaminées en automne. Les larves ingérées entrent en hypobiose et s'enkystent dans la paroi de la caillette, les kystes sont alors visibles sur la muqueuse. L'ostertagiose de pré-type II se produit pendant l'hiver, de novembre à février.

- **Ostertagiose de type II :**

Les manifestations cliniques, c'est-à-dire une diarrhée profuse, des pertes de poids et parfois de la mortalité, font suite à l'émergence simultanée des L4 de la muqueuse abomasale lors de leurs sorties d'hypobiose. Un grand nombre de parasites (parfois plus de 200 000) peuvent être retrouvés dans la caillette suite à l'émergence. Elle se déroule en fin d'hiver-début de printemps suivant la première saison de pâture et touche donc des animaux en début de 2^{ème} saison de pâture (ou juste avant la mise à l'herbe alors que les animaux sont encore en stabulation).

Localement, on retrouve une hyperplasie de la muqueuse ainsi qu'un œdème. L'hypoalbuminémie est plus marquée que lors d'ostertagiose de type I, elle est associée à une perte de protéines plasmatiques. Ces pertes conduisent fréquemment à un œdème de l'auge.

- **Ostertagiose allergique :**

Elle apparaît brutalement sur des adultes en 2^{ème} ou 3^{ème} saison de pâture lors de la remise à l'herbe et de la réinfestation. L'ostertagiose allergique est une affection rare caractérisée par un amaigrissement important et une diarrhée profuse. Les lésions sont celles d'une gastrite œdémateuse [22].

C.2. Lésions macroscopiques

Lors d'autopsie, les principales lésions d'ostertagiose sont un œdème de la muqueuse abomasale, une congestion, une desquamation voire une nécrose des plis abomasaux. On constate également une lymphangite réactionnelle locale. La présence des parasites dans la

muqueuse de la caillette provoque des nodules circulaires de 2 à 3 mm de diamètre avec un orifice central. Lors d'infestation sévère, la muqueuse est hyperplasique [22, 39, 62].

C.3. Pathogénie

La pathogénie de l'ostertagiose repose sur 3 points principaux [30] :

- une baisse d'appétit,
- des modifications histologiques et humorales,
- une augmentation du péristaltisme du tube digestif et de la caillette.

Ostertagia ostertagi exerce une action mécanique traumatique sur la paroi abomasale. La pénétration des L3 dans la paroi et dans les culs de sacs glandulaires puis la sortie des L4 sont fortement irritantes pour la muqueuse et entraînent des modifications des fonctions gastro-intestinales.

Les glandes gastriques constituées par les cellules principales, les cellules pariétales et les cellules entéro-endocrines secrètent respectivement le pepsinogène, l'acide chlorhydrique et la gastrine. 17 à 35 jours post-infestation par *O. Ostertagi*, on observe un remplacement des cellules pariétales par des cellules indifférenciées ne produisant pas d'acide chlorhydrique, le pH passe alors de 2,2 à 7 [18, 25]. Ces changements morphologiques et fonctionnels font suite aux lésions entraînées par le parasite sur les cellules pariétales. La régénération de l'épithélium passe alors par une division rapide de cellules entraînant la mise en place de cellules indifférenciées et une hyperplasie de la muqueuse. L'augmentation de pH qui en découle a plusieurs impacts : on observe une augmentation de la production de gastrine et par conséquent une augmentation de la production de pepsinogène, ce dernier s'accumulant alors par défaut de transformation en pepsine en raison de la baisse de sécrétion d'HCl [13]. La concentration en pepsine étant diminuée, il s'en suit alors une altération de la digestion des aliments. Associée à cela, la disjonction des ponts cellulaires permet la résorption du pepsinogène et une augmentation plasmatique de ce dernier [7, 22, 63]. Ces mécanismes sont résumés dans les Figures 4 et 5. Une fuite protéique est également observée responsable d'une hypoalbuminémie. Enfin l'alcalinisation du pH favorise la multiplication de bactéries anaérobies, en partie responsables des diarrhées [64].

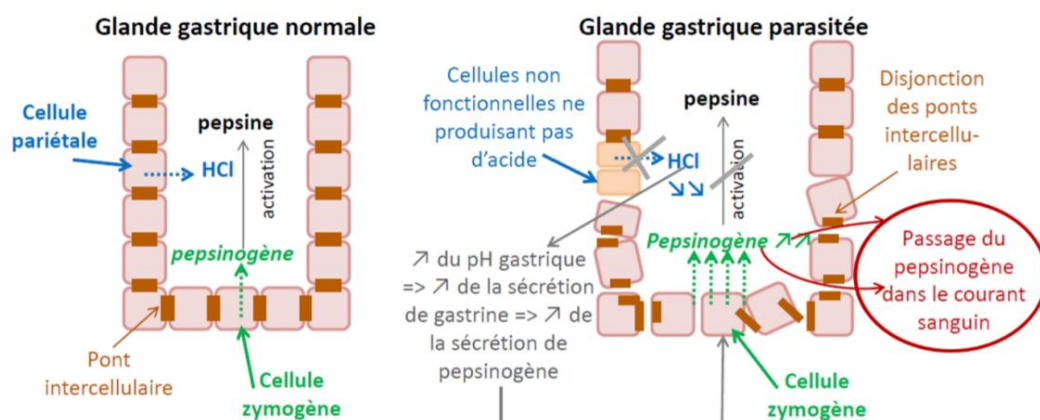


Figure 4: Mécanisme de l'augmentation du taux de pepsinogène sérique lors d'infestation par *Ostertagia ostertagi* [57]

La baisse de productivité entraînée par le déficit énergétique due à l'anorexie est due à l'hypergastrinémie, consécutive à la modification du pH de la caillette.

Ostertagia ostertagi exerce également une action spoliatrice en nutriments principalement par son caractère hématophage [22]. Celle-ci est aggravée par l'action anticoagulante des produits d'excrétion-sécrétion produits par tous les stades parasitaires. Ces substances libérées sont complexes et contiennent des molécules à activité enzymatique. Elles sont impliquées dans différents phénomènes dont l'invasion tissulaire, une diminution du péristaltisme intestinal, une altération de la perméabilité des muqueuses ainsi qu'un échappement à la réponse immunitaire [18, 25].

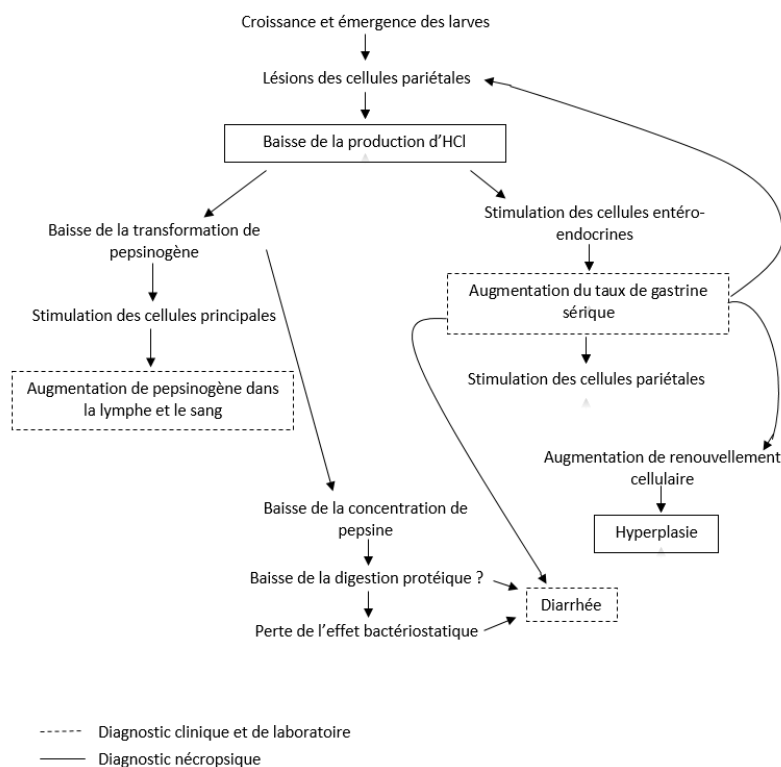


Figure 5 : Diagramme schématisant des changements pathogéniques lors d'infestation par *O. Ostertagi* d'après Van Veen Schillhorn, 1988 [61]

C.4 Réponse immunitaire

Les bovins, suite à de nombreux contacts avec les larves infestantes, acquièrent progressivement une immunité concomitante. Un équilibre dynamique s'établit entre l'hôte et le parasite. Cet équilibre maintient une charge parasitaire faible et permet de conserver un recyclage parasitaire évoluant à bas bruit [71].

L'immunité se manifeste tout d'abord par une réduction de la fécondité des femelles, probablement dû à une intervention locale des IgA, et par une diminution de la croissance des vers [23]. Ensuite, l'immunité entraîne une augmentation du nombre de L4 inhibées et l'expulsion des adultes. L'hôte acquiert enfin une résistance vis-à-vis de l'infestation par de nouvelles larves, un équilibre entre l'hôte et le parasite se met en place. L'immunité

concomitante s'installe après 6 à 8 mois de contact effectif, généralement en fin de seconde saison de pâture. Elle met en jeu l'immunité humorale et cellulaire [9, 32, 71].

Les antigènes d'*Ostertagia ostertagi* sont principalement des produits d'excrétion-sécrétion et des antigènes cuticulaires ou somatiques [71]. La rencontre avec ces antigènes entraîne une réponse immunitaire à profil Th2 même si cette dernière n'est actuellement pas clairement définie. Cette réponse Th2 entraîne la libération de mastocytes, d'éosinophiles, de lymphocytes et IgE médiées par des cytokines Th2. L'élimination des vers adultes présents dans la lumière du tube digestif est permise par l'action des mastocytes et des IgE par augmentation de la sécrétion de mucus et du péristaltisme intestinal.

Parallèlement, on constate que les sérums des veaux fréquemment au contact d'*Ostertagia ostertagi* présentent des IgG1, IgG2, IgA, IgM, et IgE [44]. Une immunité humorale est donc également mise en place. Lors d'infestation par les strongles digestifs, le nombre de lymphocytes B augmente dans les ganglions lymphatiques de la caillette où sont présentés les antigènes d'*O. ostertagi*. Les IgA sont responsables de la diminution de la fécondité des femelles par action locale sur les parasites adultes. Les IgE entraînent des réactions d'hypersensibilités immédiates. Ces réactions allergiques incluent les IgE médiées par les mastocytes de la muqueuse abomasale. Il a été émis que les IgG1 pourraient être les témoins de l'exposition des bovins aux parasites tandis que les IgG2 seraient responsables de la protection immunitaire [23]. Les ruminants avec des taux d'IgG élevés sont parasités avec des vers plus courts, des femelles possédant moins d'ovules et avec des volets vulvaires réduits [45, 71].

II. Diagnostic de l'ostertagiose

A l'heure actuelle, le diagnostic de l'ostertagiose repose sur 3 examens de laboratoire utilisables en routine : la coproscopie, le dosage de pepsinogène sérique et la mesure du taux d'anticorps anti-*Ostertagia ostertagi* dans le lait de tank.

A. Suspicion clinique

Les signes d'appel majeurs sont une diarrhée aqueuse profuse sans hyperthermie associée. Les animaux sont en mauvais état général avec des retards de croissance notables associés à une anorexie. En général, plusieurs individus sont atteints dans le lot des jeunes bovins en première ou deuxième saison de pâture. Les commémoratifs sont alors essentiels. Il faut recueillir les informations concernant l'historique du pâturage des animaux ainsi que les traitements anthelminthiques reçus et à quelle période.

B. Coproscopie, coproculture et comptage larvaire dans l'herbe

La coproscopie est la recherche et le dénombrement d'œufs dans les bouses des animaux. Cette technique est le marqueur de la présence de parasites adultes dans le système digestif des animaux. Elle permet un diagnostic qualitatif (présence ou non du parasite chez l'hôte) et quantitatif (nombre d'œufs excrétés par gramme de matière fécale).

Le dénombrement s'effectue souvent à l'aide d'une cellule de Mac Master après avoir mis en flottation les œufs contenus dans les fèces grâce à un liquide de densité élevée. Pour les jeunes animaux, la technique de Mac Master a une sensibilité de 25 à 50 opg. Chez les adultes, des techniques plus sensibles sont nécessaires comme la double centrifugation de Wisconsin [14, 25] ou la technique FLOTAC [14] qui combine la centrifugation à la technique de flottation. Le nombre d'œufs obtenus est exprimé en œufs par gramme de fèces (opg). Selon les résultats de coproscopie, des classes de niveau d'infestation peuvent être proposées. Celles-ci sont résumées dans le Tableau I.

Tableau I : Seuil de quantification de l'infestation parasitaire [22, 57]

Niveau d'infestation	Nombre d'œufs (en opg)
Infestation faible	< 50 opg
Infestation modéré	50 < opg < 500
Infestation élevée	500 < opg < 2500
Infestation très élevée	> 2500 opg

Cependant, l'interprétation des résultats doit être faite avec précaution. En effet, la coproscopie ne permet pas d'identifier les espèces de strongles. De plus, la prolificité des adultes est variable : les adultes issus des larves en hypobiose pondent beaucoup d'œufs ; les résultats coproscopiques peuvent donc être élevés en début de deuxième saison de pâture alors que l'infestation est modérée. Au contraire, en fin de saison de pâturage, le parasite est majoritairement sous forme enkystée. Les résultats coproscopiques peuvent alors être faibles

alors que l'infestation est élevée. Il n'existe pas de corrélation entre le niveau d'excrétion (faible pour les bovins adultes) et la charge parasitaire [28, 33, 62].

La coproscopie reste intéressante dans un contexte d'infestation avec manifestation clinique : en présence d'une baisse d'état général associée à des troubles digestifs, elle permet alors d'infirmier ou non une suspicion de strongylose digestive. En l'absence de signes cliniques, elle ne permet pas un diagnostic quantitatif pour évaluer l'impact de l'infestation et ne permet donc pas d'évaluer le risque parasitaire.

La coproculture est une technique de dénombrement et d'identification des larves L3. Les échantillons de fèces récoltés sont mis en culture pendant 7 à 10 jours afin que les œufs de strongles se développent en larves. Les larves sont ensuite comptées et identifiées. Cette technique est intéressante car elle permet l'identification de l'espèce de parasite en cause mais elle est difficilement utilisable en routine (délai d'obtention des résultats et lecture difficile) [66].

Le comptage des larves infestantes peut également être réalisé sur un prélèvement d'herbe effectué sur les parcelles pâturées. Le nombre de larves présentes sur l'herbe des parcelles utilisées pour le pâturage peut aider au diagnostic, surtout chez les animaux adultes. Selon Soulsby [62], un retard de croissance est observé pour 100 larves/kg d'herbe sèche alors que des signes cliniques sont observés pour un nombre de larves supérieur à 1 000/ kg d'herbe sèche.

Un dénombrement des parasites lors de l'examen nécropsique est également possible. Il permet de fournir des données qualitatives et quantitatives par comptage et identification du parasite présent dans l'abomasum des animaux infestés. Cependant, cette technique est lourde et nécessite l'abattage des animaux [39].

C. Dosage de pepsinogène

C.1. Intérêt du dosage de pepsinogène

Cet examen mesure la concentration en pepsinogène dans le sang. Le pepsinogène est une pro-enzyme intervenant dans la digestion des protéines. Il est produit par les cellules principales du fundus et est converti en pepsine sous l'action de l'acide chlorhydrique produit par les cellules pariétales de l'estomac. La libération de l'acide chlorhydrique et du pepsinogène est stimulée par la gastrine, hormone synthétisée par les cellules G de la muqueuse pylorique [13] (Figure 4). A la faveur de lésions pariétales, le pepsinogène passe dans la circulation sanguine. La quantité de pepsinogène traversant la paroi est proportionnelle à la gravité des lésions de l'abomasum [57]. Chez les jeunes bovins non immuns, la concentration du pepsinogène sérique étant bien corrélée au nombre de parasites hébergés, le pepsinogène est un bon outil de diagnostic quantitatif indirect de l'infestation de l'abomasum des bovins [40]. Cependant, toutes lésions de la caillette peuvent entraîner une augmentation sérique de pepsinogène [66]. Ainsi, une infestation par *Trichostrongylus axei*, un ulcère, un lymphosarcome, une dilatation ou un déplacement de caillette peuvent également être en cause.

Néanmoins, les strongles restent les principales sources de lésions abomasales chez de jeunes animaux au pâturage. Le dosage de pepsinogène est donc un bon moyen d'évaluer le risque d'ostertagiose à la rentrée en bâtiment des génisses.

C.2. Méthodes utilisées

Les méthodes de dosage du pepsinogène reposent sur la conversion du pepsinogène contenu dans le sérum en pepsine en milieu acide. La pepsine est alors mise en contact avec un substrat protéique (hémoglobine ou albumine). Après protéolyse, la quantification de l'activité enzymatique de la pepsine est obtenue par lecture spectrophotométrique [41].

Il existe actuellement deux protocoles différents suivant le substrat utilisé :

- *l'hémoglobine bovine* : méthode simplifiée décrite par Kerboeuf en 2002 [41] et utilisée par l'INRAE. Ce protocole est celui utilisé dans la partie expérimentale de cette thèse.
- *l'albumine* : méthode décrite par Berghen et al en 1987 et simplifiée par Dorny et Vercruyse en 1998 [12, 27].

Ces 2 protocoles permettent un diagnostic équivalent, cependant les valeurs obtenues ne sont pas comparables entre elles. Il est important de se renseigner sur la méthode utilisée auprès du laboratoire où sont envoyés les prélèvements.

Méthode simplifiée de Kerboeuf de 2002 [41] :

La méthode s'effectue en 3 phases :

- conversion du pepsinogène en pepsine en milieu acide
- mise en contact de la pepsine avec l'hémoglobine bovine pendant 22h
- coloration des radicaux aromatiques, produits de dégradation de l'hémoglobine, et lecture des résultats par spectrophotométrie

L'interprétation des résultats est résumée dans le Tableau II, ci-après.

Tableau II : Interprétation des valeurs de taux de pepsinogène sérique chez les bovins en 1^{ère} et 2^{ème} saison de pâture d'après Ravinet et al (2015)[57]

Valeurs (en mUTyr)	Date du prélèvement	Interprétation	Commentaires et conduite à tenir
300-600	A la rentrée en stabulation	Valeurs normales	Si les valeurs sont trop faibles, il faut revoir le plan de traitement afin de permettre une meilleure installation de l'immunité
600 - 1200	A la rentrée en stabulation	Faible charge parasitaire	- Absence de conséquences zootechniques - Aucun traitement nécessaire cette année ci
Autour de 1500	A la rentrée en stabulation	Charge parasitaire élevée Risque d'ostertagiose de pré-type II	- Risque de conséquences zootechniques - Traitement nécessaire avec action sur les larves enkystées
2000- 2500	Fin d'été – Début d'automne	Confirmation de strongylose digestive ostertagiose de type I	- Taux de pepsinogène corrélé à la charge parasitaire - Traitement nécessaire
2500-4000	Fin d'hiver – début de printemps Mise à l'herbe	Confirmation de strongylose digestive ostertagiose de type II	-Traitement nécessaire

C.3. Utilisation pratique

En pratique, seuls 5 à 10 animaux (choisis aléatoirement parmi un groupe allant jusqu'à 40 individus) suffisent pour estimer le niveau d'infestation moyen du lot [16, 40]. Des dosages sont effectués sur chaque prise de sang et l'interprétation se fait à l'échelle du lot en calculant la moyenne des taux individuels.

Cette analyse est utilisée sur les génisses lors de 3 situations :

- Suspicion de strongylose digestive clinique (ostertagiose de type I) en fin d'été – début d'automne
- Evaluation de la nécessité d'un traitement anthelminthique à la rentrée en stabulation
- Suspicion d'ostertagiose de type II en fin d'hiver – début de printemps

Sur le terrain, l'estimation de l'infestation des génisses s'effectue souvent en analysant les valeurs des 5 résultats de pepsinogènes sériques comme résumé dans le Tableau III.

Tableau III : Estimation de l'infestation d'un lot à partir des mesures du taux de pepsinogène sérique.

Nombre de résultats > 2000 mUTyr	Moyenne des 5 résultats (en mUTyr)		
	<1000	1000-1750	>1750
0	Faible	Moyenne	Forte
1	Moyenne	Moyenne	Forte
>1	Moyenne	Forte	Forte

C.4. Taux de pepsinogène rapportés dans la littérature

En se basant sur des études avec des suivis parasitologiques effectués sur des lots de jeunes bovins, le Tableau IV résume les taux de pepsinogène usuellement rencontrés dans divers contextes.

Tableau IV : Synthèse des études utilisant le dosage de pepsinogène sérique

Référence	Localisation	Caractéristique de l'échantillon	Méthode utilisée	Résultats obtenus (gamme d'interprétation pour la méthode utilisée)	Commentaires
Högberg et al (2019) [35]	Suède	- Etude de 6 mois sur l'année 2016 - 63 génisses en première saison de pâturage	- Micro-méthode de Dorny et Vercruysse, (1998)	- Taux de pepsinogène pour les groupes à forte exposition parasitaire : 1.22 +/- 0.53 à 2.25 +/-1 UTyr - Taux de pepsinogène pour les groupes à faible exposition parasitaire : 0.55 +/-0.23 à 1.08 +/- 1.08 UTyr	- Corrélation positive entre les taux de pepsinogène et la charge parasitaire - Corrélation positive entre le taux de pepsinogène et la fréquence de couchage
Merlin et al (2017)[48]	France	- Etude de 2 ans (2013 et 2014) - 577 génisses de première saison de pâtures	- Méthode de Kerboeuf et al (2002)	- Groupes issus de parcelles à faible pression d'infestation larvaire : 1.84 UTyr - Groupes issus de parcelles à forte pression d'infestation larvaire : 2.19 Utyr	- Corrélation positive entre la pression d'infestation larvaire des parcelles et le taux de pepsinogène.
Merlin et al (2016)[49]	France	- Etude sur l'année 2013 - 291 génisses en première saison de pâturage	- Méthode de Kerboeuf et al (2002)	- Groupes faiblement infestés : 1.63 UTyr - Groupes fortement infestés : 2.27 Utyr	- Corrélation positive entre le taux de pepsinogène et le niveau d'exposition aux SGI - Corrélation négative entre les taux de pepsinogène et le GMQ.
Ravinet et al (2013)[58]	France	- Etude sur l'année 2007 - 93 veaux sous la mère	- Methode de Kerboeuf et al (2002)	- Variations moyennes des taux de pepsinogène de 700 mUTyr à 1900 mUtyr d'avril à août	- Augmentation progressive des valeurs de pepsinogène au cours de la saison de pâturage

Larson et al (2011) [46]	Suède	- Etude de 3 ans (2003 à 2005) - 40 mâles Prim'Holsteins castrés de seconde saison de pâture	- Micro-méthode de Dorny et Vercruysse, (1998)	- Valeurs de pepsinogène autour de 1.6 UTyr en mai 2003 (première saison de pâture) - Valeurs de pepsinogène autour de 1 UTyr en mai 2004 et 2005 chez les animaux traités à la doramectine l'année précédente.	- Augmentation légère du taux de pepsinogène pendant la première moitié de saison de pâture. - Pas de différence significative des taux moyens de pepsinogène en fonction des groupes (traités à la doramectine, non traités, complétés avec des concentrés ou en rotation de pâture) - Un taux de pepsinogène élevé dans la première partie du pâture serait dû à la sortie des larves en hypobiose et/ ou à une exposition à des L3 pendant l'hiver
Charlier et al (2010b)[19]	Belgique	- Etude de 2 ans (2006 et 2007) - 5592 génisses à la rentrée en bâtiment	- Micro-méthode de Dorny et Vercruysse, (1998)	- Taux moyen de pepsinogène : 2.5 UTyr avec des valeurs allant de 0.2 à 6.8 UTyr.	- Le prélèvement de 7 animaux pour un lot de 40 animaux suffit - Le prélèvement d'un petit nombre d'animaux permet d'établir une stratégie de contrôle pour l'année suivante et la mise en place de traitements sélectifs
Charlier et al (2010a) [15]	Belgique Allemagne Suède	- Etude transversale de 2 ans (2006 et 2007) - 990 génisses laitières en première saison de pâture	- Micro-méthode de Dorny et Vercruysse, (1998)	- Majorité des troupeaux tous pays confondus : < 1 UTyr - Peu de troupeaux > 3 UTyr - Taux de pepsinogène supérieurs en 2007	- Le taux d'infestation est faible pour les génisses en première saison de pâture. - Seul 2 à 6 % ont des taux d'infestation compatibles avec des pertes de productions
Höglund et al (2009)[36]	Suède	- Etude rétrospective de 3 études - 330 génisses en première saison de pâture	- Micro-méthode de Dorny et Vercruysse, (1998)	- Le taux de pepsinogène est maximum à la mi-saison de pâture - Le taux de pepsinogène maximum est obtenu en 2 ^{ème} saison de pâture : 4,5 UTyr	- Corrélation négative entre le taux de pepsinogène et le GMQ - Utilisation du pepsinogène pour discriminer les animaux atteints d'ostertagiose clinique ou subclinique. - Manque de standardisation

Forbes et al (2009)[29]	Angleterre	<ul style="list-style-type: none"> - Etude de 77 jours - 25 veaux Prim'holsteins castrés - Traitement au fenbendazole à l'arrivée 	- Méthode colorimétrique utilisant l'albumine comme substrat	<ul style="list-style-type: none"> - Valeurs basales comprises entre 0.4 et 0.9 UTyr. - Augmentation des taux de pepsinogène lors d'infestations et baisse lors de traitements 	- Pertes de production due à l'infestation par <i>Ostertagia Ostertagi</i>
Höglund et al (2001) [37]	Suède	<ul style="list-style-type: none"> - Etude sur l'année 1997 - 947 animaux en première saison de pâture issus de 15 fermes 	- Micro-méthode de Dorny et Vercruysse, (1998)	<ul style="list-style-type: none"> - Taux de pepsinogène moyen des 15 fermes à la sortie au pâturage : 0,63 UTyr en 1997 (0,4 à 0,9 UTyr) et de 0.69 UTyr (0,5 à 1,2 UTyr) en 1998 - Taux de pepsinogène moyen des 15 fermes à la rentrée en bâtiment de 1.21 UTyr (0,5 à 2,6 UTyr) en 1997 et de 1.33 UTyr (0,7 à 2,6 UTyr) en 1998 - Taux de pepsinogène individuel supérieurs à 3.6 UTyr dans 1.1% des cas 	<ul style="list-style-type: none"> - Taux de pepsinogène significativement plus élevé chez les animaux ayant pâtures plus tôt - Interaction significative de la complémentation au printemps et à l'automne : taux de pepsinogène plus faibles lors de complémentation.
Agneessen et al (2000)[1]	Belgique	<ul style="list-style-type: none"> - Etude d'un an (novembre 1997 à octobre 1998) - 121 vaches laitières 	- Micro-méthode de Dorny et Vercruysse, (1998)	- Valeur moyenne : 1.9 UTyr (+/-0.1) avec des valeurs allant de 0.3 à 6.5 UTyr	<ul style="list-style-type: none"> - Corrélation significative entre le taux de pepsinogène et les IgG dirigées contre <i>O.Ostertagi</i> en fonction de la saison chez les adultes. - Les animaux avec des taux de pepsinogène élevés sont plus enclins aux pertes de production. - Pattern saisonnier : maximum observé en juin, juillet et août. - Corrélation significative entre le taux de pepsinogène et le nombre d'adultes.

Dorny et Vercruysse (1998)[27]	Belgique	- Etude d'environ 1 an (1996) - 248 génisses en première saison de pâture	- Etablissement de la micro-méthode de Dorny et Vercruysse (1998)	- Validation de la micro-méthode - Reproductibilité testée avec 0.9, 2.1 et 5.1 UTyr	
Claerebout et al (1998)[24]	Belgique	- Etude de 6 mois - 36 veaux mâles Prim'Holsteins de 7 à 11 mois, déparasités.	- Méthode de Berghen et al (1987)	- Valeurs initiales inférieures à 1 UTyr - Augmentation de 3 +/-0.22 UTyr après infestation chez les non traités - Augmentation de 1.3 à 1.5 UTyr chez les animaux traités	- Nombre de larves administrées très supérieur au nombre de larves ingérées en conditions réelles - Corrélation positive entre le taux de pepsinogène et le nombre de larves
Hilderson et al (1991)[34]	Belgique	- Etude de 90 jours - 12 veaux indemnes de parasites puis infestation artificielle avec 10 000 ou 100 000 L3	- Méthode de Berghen et al (1987)	- Valeurs initiales inférieures à 700 mUTyr - Augmentation des taux de pepsinogène entre J3 et J6 post-infestation - Augmentation de +/- 900 mUTyr	- Nombre d'animaux faibles - Haute corrélation entre le taux de pepsinogène et le nombre de larves
Ploeger et al (1990) [53]	Belgique	- Etude sur les années 1985 et 1986 - 870 génisses de 21 mois en moyenne (10.2 à 30.7 mois) issues de 87 fermes	- Méthode de Berghen et al (1987)	- La moyenne des taux de pepsinogène était de 1873 mUTyr en septembre 1985 et de 974 mUTyr en décembre 1985 contre 1552 mUTyr en septembre 1986 et 1472 mUTyr en décembre 1986	- Diminution du taux de pepsinogène entre octobre et décembre - Interaction significative entre la période de prélèvement et le taux de pepsinogène
Kerboeuf et al (1981)[40]	France	- Etude de 4 ans - 53 génisses limousines	- Méthode de Kerboeuf (1979)	- Lien significatif entre le taux moyen de pepsinogène et le nombre total de vers dans la caillette.	- 5 à 7 prélèvements dans un lot sont suffisants pour établir un diagnostic.

C.4. Limites du dosage du pepsinogène

Le dosage du pepsinogène est coûteux, il revient à 11 euros par animal sans compter le déplacement et la visite du vétérinaire pour réaliser les prélèvements. Sachant qu'il faut effectuer au minimum 5 analyses, cela revient à un coût de 55 euros hors frais vétérinaires. Une analyse sur mélange de sérums serait donc intéressante afin de diminuer le coût financier pour l'agriculteur.

Il est recommandé de prélever au moins 5 animaux par lot car c'est en faisant la moyenne d'au minimum 5 dosages que l'on obtient une corrélation avec la charge parasitaire moyenne du lot [16, 41]. Toutefois, les aléas d'échantillonnage ne sont pas documentés. On peut donc se demander comment le fait de prélever 5 génisses ou 5 autres dans le lot pourrait modifier la moyenne et donc *in fine* le diagnostic.

Le taux de pepsinogène sérique est un bon marqueur des lésions de la muqueuse de la caillette. Si Kerboeuf et al [40] ont démontré la relation entre le taux de pepsinogène sérique et la charge parasitaire chez les jeunes bovins, elle est en revanche non corrélée chez les animaux adultes, ce qui limite l'usage de cet outil diagnostique chez les vaches adultes.

D. Test ELISA

D.1 Principe de l'analyse ELISA

Suite aux contacts avec les parasites, des anticorps anti-*O. ostertagi* sont produits [43]. Le taux d'anticorps peut être quantifié par la méthode ELISA, (enzyme-linked immunosorbent assay) qui permet de mettre en évidence la présence d'anticorps dirigés contre les antigènes bruts d'*Ostertagia ostertagi*. Cette technique couramment utilisée sur le lait de tank en troupeaux laitiers est souvent vue comme une mesure indirecte de l'exposition du troupeau aux strongles gastro-intestinaux. Cette méthode n'est actuellement pas utilisée sur les sérums de génisses ou les troupeaux allaitants. Elle présente cependant de nombreux avantages par rapport au dosage de pepsinogène sérique : elle est peu coûteuse, standardisée et donc automatisable en laboratoire.

D.2 Utilisation pratique

Le taux d'anticorps anti-*Ostertagia ostertagi* est considéré comme un bon marqueur de l'exposition des animaux aux strongles digestifs mais il ne permet pas de quantifier la charge parasitaire de ceux-ci [57].

Plusieurs études (Tableau V) ont montré que ce taux d'anticorps était négativement corrélé au GMQ des génisses à la rentrée en stabulation. Par ailleurs, plusieurs études ont également mis en évidence un manque de sensibilité et de spécificité de la méthode du fait de réactions antigéniques croisées avec d'autres strongles gastro-intestinaux tel que *Cooperia spp* [45].

Le Tableau V résume les études utilisant le dosage d'anticorps anti-*O.ostertagi* sur sérums et les résultats qui en ressortent.

Tableau V : Synthèse des études utilisant le dosage d'anticorps anti-*O.ostertagi* sur sérum

Référence	Localisation	Caractéristique de l'échantillon	Méthode ELISA utilisée	Résultats obtenus (gamme d'interprétation pour la méthode utilisée)	Commentaires
Tuo, W et al (2016) [69]	USA	<ul style="list-style-type: none"> - Etude sur 2,5 ans - 18 animaux de 6 mois au début de l'étude répartis en 3 groupes : - pâturage continue - pâturage limité - pas de pâturage 	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode équivalente au kit ELISA SVANOVIR® <i>O. ostertagi</i>-Ab - Sérums individuels dilués à 1/500. 	<ul style="list-style-type: none"> Lecture à 450 et 570 nm Absence de pâturage : DO=0 Pâturage continu : DO=1.75 (+/- 0.15) Pâturage limité : DO=1.15 (+/- 0.15) 	<ul style="list-style-type: none"> - Corrélation positive entre le niveau d'exposition et la quantité d'immunoglobulines.
Merlin, A et al (2017) [48]	Ouest de la France	<ul style="list-style-type: none"> - Saisons de pâture 2013 et 2014. - 577 génisses âgées de 4 à 17 mois. 	<ul style="list-style-type: none"> - Kit ELISA SVANOVIR® <i>O. ostertagi</i>-Ab - Sérums individuels dilués à 1/160 	<ul style="list-style-type: none"> - Impact de l'infestation sur la croissance à partir du seuil de RDO de 0.7 - Meilleur compromis entre la spécificité (56%) et la sensibilité (76%) obtenu pour un RDO à 0.93 et un GMQ à 683 g/jour. 	<ul style="list-style-type: none"> - Corrélation négative entre le RDO et le GMQ. - Les valeurs de sensibilité et spécificité peuvent être considérées comme basses ; 76% des animaux infestés vont être traités et 44% des animaux vont être traités inutilement.
Merlin et al (2016) [49]	Ouest de la France	<ul style="list-style-type: none"> - Saison de pâture 2013 - 291 génisses âgées de 6 à 16 mois. 	<ul style="list-style-type: none"> - Kit ELISA SVANOVIR® <i>O. ostertagi</i>-Ab - Sérums individuels dilués à 1/160 	<ul style="list-style-type: none"> - Impact sur le GMQ dès un seuil de RDO > 0.7 - Faible GMQ pour des RDO > 0.94-0.95 - Le taux d'anticorps est plus faible pour les animaux mis à l'herbe tardivement (après juin) 	<ul style="list-style-type: none"> - Corrélation positive entre le taux d'anticorps et le pâturage. - Corrélation positive entre le taux de pepsinogène et le RDO pour chaque pratique de pâturage et négativement corrélé aux GMQ pour les lots fortement exposés.

				sur une période inférieure à 198 jours.	
Forbes et al (2009) [29]	Royaume uni	- Etude de 77 jours - 25 veaux mâles croisés Prim'Holsteins castrés âgés de 4 à 5 mois	- Kit ELISA SVANOVIR® <i>O. ostertagi</i> -Ab - Sérums individuels dilués à 1/140	- Pic de RDO à 0.65 pour les groupes non traités avec un anthelminthique. - Pic de RDO à 0.38 pour les animaux traités avec un anthelminthique	- Corrélation positive entre le taux d'anticorps et le niveau d'infestation - Corrélation négative entre le taux d'anticorps et l'utilisation de traitement.
Höglund et al (2009) [36]	Suède	- Etude rétrospective de 3 études - 330 génisses en première saison de pâturage	- Kit ELISA SVANOVIR® <i>O. ostertagi</i> -Ab - Sérums individuels dilués à 1/160	- Seuil obtenu pour les anticorps est de 0.6. - Le taux d'anticorps augmente moins vite que le taux de pepsinogène et le maximum est obtenu tard dans la saison de pâturage.	- Les taux d'anticorps sont difficilement interprétables par manque de spécificité et de sensibilité. - Corrélation négative entre les performances zootechniques et le taux d'anticorps.
Agneessen et al (2000) [1]	Belgique	- Etude d'un an (de novembre 1997 à octobre 1998) - 121 vaches laitières	- Antigènes d'adultes, IgG de bovins couplées à la peroxydase de raifort - Sérums individuels dilués à 1/400	- Lecture à 492 nm - Pattern saisonnier - RDO moyen = 0.57 (+/-0.02)	- Absence de corrélation entre le taux d'anticorps et la charge parasitaire. - Haute corrélation entre le taux de pepsinogène et les IgG ($R_p^2=0.22$, $p<0.05$) en fonction de la saison.
Dorny et al (1999) [26]	Belgique	- Méta-analyse de 20 études conduites entre 1984 et 1997	- Antigènes d'adultes, IgG de bovins couplées à la peroxydase de raifort	- Lecture à 492 nm Valeurs de 0.17 à 1.41 - Lots traités ont des RDO plus faibles que les non traités avec	- Plus faibles taux anticorps des animaux traités - Bonne relation entre les DO et l'exposition estimée.

		- 428 veaux Prim'Holsteins (plus de femelles que de mâles)	- Sérums individuels dilués à 1/400	une différence significative (RDO<0.5)	- Corrélation positive avec le niveau d'exposition au pâturage ; les animaux traités ont des valeurs plus faibles. - Manque de spécificité et de sensibilité - GMQ négativement corrélé au RDO
Ploeger et al (1994) [54]	Pays Bas	- Etude sur 5 mois - 106 génisses croisées Prim'Holsteins	- Méthode de Keus 1981 - Titre d'anticorps - Sérums individuels	NR	- Le taux d'anticorps peut être utilisé pour estimer le taux d'exposition à une infestation expérimentale - Corrélation positive entre le taux d'anticorps et le niveau d'exposition au pâturage
Kloosterman et al (1984) [45]	Pays Bas	- Etude de 5 semaines - 48 veaux mâles Prim'holsteins infestés artificiellement	- Méthode de Keus 1981 - Titre d'anticorps - Sérums individuels dilués de 1/20 à 1/1280	Titre en anticorps anti- <i>Ostertagia</i> variant de 1 à 7	- Corrélation positive entre le titre d'anticorps et le niveau d'exposition au pâturage
Keus et al (1981) [42]	Pays Bas	- Etude de 5 mois - 37 veaux mâles Prim'Holsteins	- Sérums individuels prélevés toutes les semaines dilués jusqu'à 1/640	Valeurs variant de 0.65 à 0.91 en fonction des périodes de pâturages	- Corrélation positive entre la charge parasitaire et le titre d'anticorps - Purification des antigènes augmente la valeur diagnostique des tests ELISA sur le terrain

D.3 Limites de l'ELISA anti-*Ostertagia ostertagi*

Le fait que le taux d'anticorps anti-*O.ostertagi* dans le sérum ne soit pas corrélé à la charge parasitaire hébergée par les animaux est une première limite à son utilisation sur le terrain. En effet, il ne permet pas d'avoir un reflet de la population parasitaire dans la caillette des bovins et ainsi, il ne permet pas d'établir de décision thérapeutique.

Le manque de spécificité du dosage, dû aux réactions croisées avec d'autres strongles est également une limite à son utilisation.

E. Autre examen complémentaire : la gastrine

La physiologie du tube digestif est en partie régulée par la gastrine. Lors d'infestation de la caillette par des nématodes, on constate une hypergastrinémie secondaire à l'augmentation du pH. Les taux de gastrine peuvent également être modifiés en cas de lactation, d'ulcères de caillette et de lymphomes digestifs [31]. Les taux sériques normaux varient de 100 à 200 pg/mL chez les bovins. Ils peuvent être multipliés par 3 à 10 lors d'ostertagiose de type I et par 3 à 7 lors d'ostertagiose de type II [61]. Le dosage sérique peut sembler intéressant. Cependant, cette méthode est très coûteuse et le dosage de gastrine repose sur un test radio-immunologique nécessitant un laboratoire spécifique dédié aux radio-éléments [13, 61].

F. En résumé ...

En résumé, les analyses décrites précédemment sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

Tableau VI : Résumé des méthodes diagnostiques utilisables sur le terrain

Analyses	Marqueur de ...	Intérêts	Limites
Coprocopie (opg)	La présence de strongles adultes dans le tube digestif	Confirmer ou infirmer une suspicion de strongylose clinique sur des génisses en cours de saison de pâturage	<ul style="list-style-type: none"> - Pas d'identification de l'espèce parasitaire en cause - Non utilisable pour évaluer la mise en place d'un traitement dans un contexte subclinique - Non utilisable pour confirmer ou infirmer une hypothèse d'ostertagiose de type II ou de prétype II (ostertagiose larvaire)
Dosage de pepsinogène sérique (mUTyr)	L'intensité des lésions de la paroi abomasale	En cours de saison de pâturage : confirmer ou infirmer une ostertagiose de type I sur des génisses ayant des troubles digestifs	<ul style="list-style-type: none"> - Coûteux - Dosage de plusieurs génisses d'un même lot et interprétation à effectuer sur la base de la moyenne du lot ; pas de diagnostic à l'échelle individuelle - Seuils d'interprétation des génisses non transposables aux bovins adultes.
		A la rentrée en stabulation : quantifier la charge parasitaire des génisses en 1 ^{ère} et 2 ^{ème} saison de pâture	
		A la fin d'hiver-début de printemps : confirmer ou infirmer une suspicion d'ostertagiose de type 2 (génisses avec des troubles digestifs et ayant pâturé l'automne précédent)	
Mesure du niveau d'anticorps anti- <i>Ostertagia</i> dans le sérum (RDO)	L'exposition des génisses aux SGI	Corrélation négative entre le taux d'anticorps et le GMQ	<ul style="list-style-type: none"> - Non utilisée en routine - Pas de lien entre le taux d'anticorps et la gravité des lésions et la charge parasitaire

III. Mesures thérapeutiques et préventives

La prévention contre l'infestation par *Ostertagia ostertagi* repose sur des moyens thérapeutiques avec l'utilisation d'anthelminthiques, et agronomiques via la gestion du pâturage. La prévention permet de limiter l'exposition des bovins aux strongles digestifs tout en assurant la mise en place de l'immunité.

A. Mesures thérapeutiques [6, 55]

La thérapeutique repose sur l'utilisation de traitements anthelminthiques. Actuellement, il existe trois familles de molécules actives contre les strongles digestifs utilisables chez les animaux de première et deuxième saison de pâture : les benzimidazoles, les lactones macrocycliques et imidazothiazoles.

Les benzimidazoles et les pro-benzimidazoles sont actifs contre les strongles digestifs et respiratoires. Ils sont adulticides et larvicides. En particulier, ils sont actifs contre les larves L4 d'*Ostertagia ostertagi* en développement et en hypobiose avec une efficacité partielle contre ces dernières. Les pro-drogues sont activées dans le rumen, les molécules sont libérées lentement dans le tube digestif. Ils sont de faible toxicité.

Les lactones macrocycliques qui regroupent les avermectines et les milbémycines ont un spectre d'activité très large (endoparasites et ectoparasites). Elles sont adulticides et larvicides (actives sur tous les stades). Ce sont des molécules rémanentes faciles d'utilisation (nombreuses formulations pour-on), c'est pour cela qu'elles sont leaders sur le marché des antiparasitaires bovins. Cependant, la rémanence accroît le risque de développement de résistances.

Concernant les imidazothiazoles, seul le lévamisole est utilisé. Il est actif uniquement sur les adultes des strongles digestifs. Il peut être administré par différentes voies.

Le Tableau VII résume les anthelminthiques utilisables.

Tableau VII : Molécules anthelminthiques utilisables chez les génisses laitières [6]

	Molécules	Posologie (en mg/kg) et voie d'administration	Rémanence	Temps d'attente
Benzimidazoles	Fenbendazole (PANACUR®)	7,5 mg/kg Suspension buvable	Absente	Viande : 11 j Lait : 6 j
	Oxfendazole (OXFENIL®, RESPIDOSE FARMINTHIC®, SYNANTHIC®)	4,5 mg/kg Suspension buvable	Absente	Viande : 15 j Lait : 7 j
		1 dispositif/200 à 400 kgs Dispositif intra-luminal à libération séquentielle	Libérations répétées sur 130 j	6 mois Ne pas utiliser sur les génisses gestantes.
	Fébantel (RINTAL®)	7,5 mg/kg Suspension buvable	Absente	Viande : 8j Lait : 6,5 j
	Albendazole (VALBAZEN®)	7,5 mg/kg Suspension buvable	Absente	Viande : 5 j Lait : 3,5 j Ne pas utiliser dans le 1 ^{er} tiers de gestation
	Nétobimin (HAPADEX®)	7.5 mg/kg Suspension buvable	Absente	Viande : 6 jours Lait : 3 jours
Imidazothiazoles	Lévamisole (NEMISOL INJECTABLE®, NEMISOL®, LEVAMISOLE®, CHRONOMINTHIC®)	7,5 mg/kg Injectable IM	Absente	Viande : 3 j Ne pas utiliser 2 mois avant vêlage.
		10 mg/kg Pour on	Absente	Viande : 3 j Ne pas utiliser 2 mois avant vêlage.
		7,5 mg/kg Buvable	Absente	Viande : 3 j Ne pas utiliser 2 mois avant vêlage.
		Dispositif intra-ruminal à libération continue	Libération continue sur 90 jours	Viande : 4 mois Ne pas utiliser 2 mois avant vêlage.
Lactone macrocyclique	Eprinomectine (EPRECIS®, EPRINEX®)	0,2 mg/kg Injectable SC	2 semaines	Viande : 63 j Lait : 0 j
		0,5 mg/kg Pour on	4 semaines	Viande : 15 j Lait : 0 j
	Moxidectine (CYDECTINE®)	1 mg/kg Injectable LA SC	120 jours	Viande : 108 j Ne pas utiliser 80 jours avant vêlage.
		0,2 mg/kg Injectable SC	5 semaines	Viande : 65 j Ne pas utiliser 60 jours avant vêlage.
		0,5 mg/kg Pour on	5 semaines	Viande : 14j Lait : 6 j
	Ivermectine (IVOMECS®, CEVAMECS®, VIRBAMECS®)	0,2 mg/kg Injectable	3 semaines	Viande : 49 j Ne pas utiliser 28 j avant vêlage.
		0,5 mg/kg Pour on	3 semaines	Viande : 16 j Ne pas utiliser 2 mois avant vêlage.
	Doramectine (DECTOMAX®, ZEARL®)	0,2 mg/kg Injectable	4 semaines	Viande : 70 j Ne pas utiliser 2 mois avant vêlage.
0,5 mg/kg Pour on		4 semaines	Viande : 35 j Ne pas utiliser 2 mois avant vêlage.	

Toutes les molécules citées précédemment sont efficaces aux doses standards sur l'ostertagiose de type I. Cependant, concernant l'ostertagiose de type II et de pré-type II, il est nécessaire d'utiliser des anthelminthiques actifs également sur les larves en hypobiose. En conséquence, seuls les benzimidazoles de dernières générations (albendazole, fenbendazole ou oxfendazole) et les lactones macrocycliques sont utilisables.

En fonction de l'estimation de l'infestation par dosage sérique de pepsinogène, un tableau est souvent utilisé par les vétérinaires praticiens indiquant les différents traitements possibles (Tableau VIII, tableau proposé par la commission parasitologie de la SNGTV).

Tableau VIII : Thérapeutique anthelminthique en fonction du niveau d'infestation

Nombre de résultats > 2000	Moyenne des 5 résultats (en mUTyr)		
	<1000	1000-1750	>1750
0	Aucun traitement	Benzimidazole buvable	Lactones macrocycliques + Analyse de la conduite de pâturage
1	Benzimidazole buvable	Benzimidazole buvable	Lactones macrocycliques + Analyse de la conduite de pâturage
>1	Benzimidazole buvable	Macrolide	Lactones macrocycliques + Analyse de la conduite de pâturage

Ces mesures thérapeutiques sont à utiliser de manière raisonnée. En effet, une utilisation excessive peut entraîner une augmentation de la pression de sélection et induire des résistances aux antiparasitaires. Les traitements entraînent également un retard à l'installation de l'immunité en diminuant le temps de contact de l'hôte avec le parasite notamment lors de l'utilisation de molécules rémanentes. Enfin, l'impact environnemental est également à prendre en compte au vu de l'écotoxicité des molécules et plus particulièrement celui des lactones macrocycliques, fortement utilisées sur le terrain.

B. Mesures préventives [11, 50]

Les mesures préventives reposent principalement sur la gestion du pâturage. Ces mesures agronomiques ont pour but de limiter la quantité de stades infestants sur les parcelles et de réduire le risque parasitaire. Différentes stratégies peuvent être mises en place pour gérer l'infestation par *Ostertagia Ostertagi*.

La stratégie préventive

Cette stratégie vise à introduire des animaux peu ou pas parasités sur des parcelles saines [50]. Les parcelles sont considérées comme saines lorsqu'elles présentent une faible pression de contamination. Ce sont donc des pâtures ayant eu un temps de repos suffisamment long, nouvellement semées ou ayant été fauchées. Une pratique courante pour

maintenir l'infestation à un niveau très bas est d'administrer un traitement anthelminthique 3 semaines après la mise à l'herbe : les animaux ne peuvent pas excréter à l'issue de la période prépatente de leur première infestation ce qui est censé diminuer la recontamination de la parcelle. Toutefois, cette pratique est critiquée car elle favorise le développement de résistance en raison de l'absence de population refuge.

La stratégie d'évasion

La deuxième stratégie consiste à déplacer les animaux sur une nouvelle parcelle saine avant que la contamination des parcelles de printemps devienne dangereuse pour les animaux. Les animaux sont déplacés en début ou au milieu de l'été afin d'éviter le pic saisonnier. Cela permet de diminuer la pression d'infestation sur les parcelles contaminées en les mettant au repos.

La rotation de pâture a pour objectif premier l'optimisation de la pousse de l'herbe. Cependant, elle peut également jouer son rôle dans la stratégie d'évasion. En effet, elle permet de limiter le risque parasitaire en diminuant le nombre de cycles du parasite. Pour cela, il faut que la durée de présence par pâture soit inférieure à celle de développement de la larve infestante. La pression de d'infestation se trouve alors ralentie.

La stratégie de dilution

Elle consiste à mélanger des animaux immunisés et des animaux sensibles. Les bovins immuns, plus résistants vis-à-vis des strongles digestifs, ingèrent une quantité importante de larves L3 et excrètent peu d'œufs dans les fèces. Cela induit une diminution de la contamination de la parcelle. Cette stratégie est principalement utilisée :

- en élevage allaitant avec l'association mères/veaux, on peut alors contrôler l'infestation des veaux par l'effet assainissant des mères. Il faut cependant prendre en compte l'âge des veaux. Ces derniers ingèrent une part croissante d'herbe jusqu'au sevrage et assurent donc un recyclage parasitaire et une augmentation de la pression d'infestation à partir d'un certain stade.
- en élevage laitier avec l'association des génisses de première et deuxième saison de pâture, les génisses de deuxième saison de pâture assurent alors le rôle assainissant, cependant celui-ci est incomplet. En effet, il est fréquent que les génisses de deuxième saison de pâturage n'aient pas encore acquis une immunité complète vis-à-vis d'*O. ostertagi*. Dans ce cas, le risque parasitaire est non négligeable.

La dilution peut également être effectuée en mélangeant des animaux d'espèces différentes.

La gestion du pâturage est une pratique à la fois alternative et complémentaire à l'utilisation des traitements anthelminthiques, elle est cependant très chronophage.

ETUDE PERSONNELLE

I. Contexte et objectifs

Depuis quelques années, les résistances des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques sont de plus en plus fréquentes chez les bovins [21, 65]. Ces résistances, rapportées dans le monde entier, touchent les 3 familles d'anthelminthiques. En France, Chartier et al. (2018) ont récemment rapporté des cas de résistances à l'Ivermectine dans des troupeaux bovins laitiers.

Dans ce contexte, des approches de traitements raisonnés apparaissent nécessaires pour parvenir à contrôler l'infestation tout en limitant la pression de sélection exercée sur les populations de nématodes. Cela repose sur la mise en place de traitements ciblés-sélectifs qui visent à réduire le nombre d'animaux traités en identifiant (i) les lots et les périodes à risque (traitement ciblé) et (ii) les animaux à risque dans ces lots préalablement ciblés (traitement sélectif). Les travaux conduits dans cette thèse se focalisent principalement sur la mise en place d'un traitement ciblé en affinant les outils diagnostiques utilisables à l'échelle du lot.

Les génisses subissent souvent un risque parasitaire en fin de saison de pâturage, surtout en première saison. En effet, le recyclage parasitaire initié dès la mise à l'herbe entraîne une augmentation du niveau de contamination des parcelles par les larves infestantes, et ce niveau de contamination devient généralement suffisant pour induire des pertes (chutes de croissance, voire atteintes cliniques) après l'été [60]. Sur le terrain, ce risque parasitaire automnal est souvent géré par un traitement de rentrée en stabulation (la contention pour le traitement étant alors facilitée). Toutefois, ces fortes infestations de fin de saison de pâturage ne sont pas systématiques : le risque parasitaire est variable entre les élevages, entre les lots et entre les années car il est fortement dépendant de la conduite du pâturage, de l'immunité des animaux (1^{ère} ou 2^{ème} saison de pâturage), de la température et de la durée de la sécheresse estivale (cf. I.A.). Ainsi, le traitement de rentrée en stabulation ne doit pas être systématique, et le niveau d'infestation devrait au préalable être évalué afin de décider s'il faut traiter les génisses à la rentrée ou pas. Le dosage de pepsinogène sérique permet cette évaluation : c'est un marqueur lésionnel de la muqueuse abomasale qui est bien corrélé à la charge parasitaire moyenne du lot (le pepsinogène, enzyme protéolytique de la caillette, passe dans le sang en quantité proportionnelle à la gravité des lésions) [40, 57]. Afin d'effectuer ce diagnostic à l'échelle du lot, et ainsi cibler les lots de génisses nécessitant un traitement de rentrée, au moins 5 animaux par lot doivent être prélevés : le taux de pepsinogène est mesuré pour chaque animal et c'est la moyenne de ces 5 dosages individuels qui est interprétée (cf. II.C.3). Kerboeuf et al. (1981) [40], ont montré qu'au-delà de 5 à 7 prélèvements, l'apport diagnostique des analyses supplémentaires était minime. Cependant, on sait que le taux de pepsinogène est très variable à l'échelle individuelle [40, 58] : le choix des 5 à 7 génisses à l'intérieur d'un lot pourrait donc conduire, par les aléas d'échantillonnage, à des moyennes de taux de pepsinogène différentes pouvant impacter la décision thérapeutique et ce d'autant plus que le lot est grand. Le premier objectif de cette thèse était

donc de **quantifier la variabilité des moyennes obtenues en fonction du hasard du tirage au sort des génisses dans le lot.**

De plus, ces dosages de pepsinogène constituent des analyses coûteuses, et d'autant plus coûteuses qu'il est nécessaire de le doser à l'échelle individuelle pour obtenir une moyenne. Le risque encouru est alors que cet examen complémentaire ne soit pas réalisé, que le traitement soit fait à l'aveugle, et qu'il soit parfois administré alors qu'il n'est pas nécessaire, ce qui exercerait donc une pression de sélection inutile sur les populations de parasites et constituerait un coût pour l'éleveur sans bénéfice associé. Pour réduire le coût de cet examen complémentaire et ainsi faciliter la mise en œuvre du traitement raisonné (traitement ciblé), on peut se demander quelle est la valeur diagnostique du dosage de pepsinogène effectué sur un mélange de sérums. **Le deuxième objectif de cette thèse était donc (i) d'évaluer la relation entre la moyenne des taux individuels de pepsinogène et le taux de pepsinogène obtenu sur un mélange des sérums contribuant à la moyenne, (ii) d'évaluer si cette relation peut être impactée par le nombre de sérums composant le mélange, (iii) de déterminer si les seuils usuels d'interprétation de la moyenne des taux individuels peuvent s'appliquer aux taux de pepsinogène obtenu sur un mélange de sérums.**

Enfin, en plus de son coût élevé, le dosage de pepsinogène est une analyse difficile à standardiser, avec une méthode de mesure qui peut varier d'un laboratoire à un autre (utilisation de l'hémoglobine ou de l'albumine comme substrat). Un diagnostic reposant sur une méthode ELISA permettrait alors d'avoir une analyse peu coûteuse, automatisée et standardisée. Cependant, l'ELISA *Ostertagia*, développé initialement pour être utilisé sur un échantillon de lait de tank, n'est pas utilisé en routine chez les jeunes animaux et sa valeur diagnostique est peu documentée chez les génisses. Le troisième objectif de cette thèse était donc d'évaluer **la relation entre le taux de pepsinogène et le taux d'anticorps anti-*Ostertagia* chez des génisses.**

II. Matériels et méthodes

A. Échantillon d'étude

Cette étude a été menée au cours de l'automne-hiver 2016-2017, dans 125 lots de génisses laitières (n = 743 animaux), répartis dans 97 troupeaux laitiers situés dans diverses régions françaises (Normandie, Bretagne, Pays de la Loire, Auvergne-Rhône-Alpes et Grand-Est). Les animaux inclus dans l'étude étaient des génisses en fin de première saison de pâturage.

B. Prélèvements et analyses de laboratoire

B.1. Prélèvements sanguins

Les prélèvements sanguins ont été réalisés au niveau de la veine caudale sur tube sec par les vétérinaires praticiens, à la rentrée en stabulation des génisses. Les prélèvements ont été acheminés au laboratoire de parasitologie de l'unité mixte de recherche BIOEPAR (Oniris-INRAE) ou au laboratoire public de Ploufragan, LABOCEA. Le nombre de génisses prélevées par lot variait de 3 à 9 individus. Pour 88% des lots au moins 5 animaux ont été prélevés.

B.2. Dosages de pepsinogène sérique

Les dosages de pepsinogène ont été effectués dans les deux laboratoires en suivant le protocole décrit en Annexe 1. Il s'agit de la méthode INRAE, méthode simplifiée de Kerboeuf et al (2002)[41]. Les résultats sont exprimés en milli-unités tyrosine par millilitre (mUTyr/mL).

Pour chaque lot, l'analyse a été effectuée sur les sérums individuels des génisses et sur le mélange des x sérums ($3 < x < 9$) utilisés pour l'analyse individuelle. Ainsi, 743 analyses de sérums individuels et 125 analyses sur sérums de mélanges ont été réalisées issues des 97 troupeaux de génisses en fin de première saison de pâture.

B.3. Test ELISA

Les taux d'anticorps anti-*Ostertagia ostertagi* dans les sérums individuels et les sérums de mélanges ont été déterminés en suivant la procédure du kit ELISA SVANOVIR® *Ostertagia ostertagi*-Ab (Svanova Biotech, Uppsala, Suède), procédure décrite en Annexe 2. Les sérums étaient dilués au 1/160. Les résultats sont exprimés en ratio de densité optique (RDO) calculés d'après la formule suivante (où DO = densité optique) :

$$\text{RDO} = (\text{DO échantillon} - \text{DO témoin négatif}) / (\text{DO témoin positif} - \text{DO témoin négatif})$$

Pour chaque lot, l'analyse ELISA a été effectuée sur les sérums individuels des génisses et sur le mélange des x sérums ($3 < x < 9$) utilisés pour l'analyse individuelle. Les analyses ELISA ont été réalisées sur un sous échantillon de l'échantillon d'étude : 98 lots, soit 590 animaux (3 à 5 animaux par lot).

C. Analyses statistiques

C.1. Données conservées pour les analyses statistiques

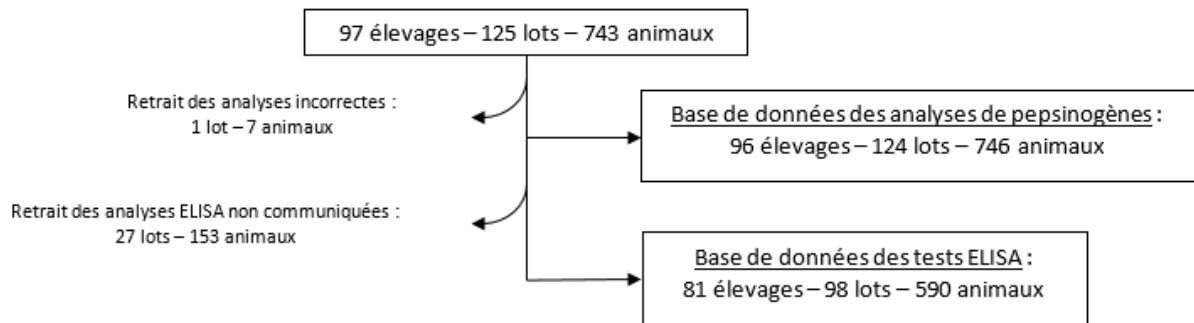


Figure 6 : Procédure de sélection des lots constituant les bases de données utilisées pour les analyses statistiques

Initialement, cette étude regroupait 125 lots de génisses laitières comprenant 743 animaux répartis dans 97 troupeaux laitiers.

Concernant les dosages de pepsinogène, suite à une analyse incorrecte, un lot correspondant à 7 animaux a été retiré amenant la base de données à 746 animaux. Ainsi 746 résultats d'analyses de pepsinogène sur sérum individuel ont été conservés pour le traitement statistique (124 lots répartis dans 96 élevages).

Concernant les analyses ELISA, certaines analyses du laboratoire LABOCEA n'ayant pas été communiquées, 27 lots ont dû être retirés de la base de données initiale amenant ainsi le nombre de tests ELISA utilisé pour le traitement statistique à 590 (98 lots répartis dans 81 élevages).

Enfin, afin de déterminer les relations entre les tests ELISA et les dosages de pepsinogène, seuls les lots ayant des résultats dans les deux bases de données ont été conservés, soit 583 animaux issus de 98 lots.

C.2. Description des variables d'étude

Les données brutes ont été inscrites dans une base de données Microsoft Office Excel puis ont été analysées avec le logiciel RStudio (version 1.2.5019). Pour tous les tests, la significativité statistique a été fixée au seuil de p-value = 0.05.

Concernant les dosages de pepsinogène, les variables utilisées étaient :

- le taux de pepsinogène sérique individuel
- le taux de pepsinogène moyen par lot, obtenu par calcul de la moyenne arithmétique des taux de pepsinogène sérique individuels
- le taux de pepsinogène sérique de mélange du lot (le nombre de sérums composant le mélange étant identique au nombre de sérums testés individuellement et contribuant à la moyenne du lot)

Les taux de pepsinogène sérique moyens et de mélange ont ensuite été considérés soit en tant que tels (variables quantitatives) soit en les catégorisant en classes (variables qualitatives) (Tableau IX). Les classes étaient les suivantes (aussi bien pour le taux moyen que pour le taux de mélange) :

- en 2 classes : inférieur et supérieur ou égal à 1500 mUTyr/mL
- en 4 classes : <1500 , [1500-2000[, [2000-2500[, ≥ 2500 mUTyr/mL
- en 5 classes : < 600 , [600-1200[, [1200-1500[, [1500-2000[, ≥ 2000 mUTyr/mL

Tableau IX : Descriptif des variables de taux de pepsinogène de l'étude

	Variable	Qualitative/Quantitative	Effectif total	
Taux de pepsinogène sérique (en mUTyr/mL)	Taux individuel	Quantitative	743	
	Taux moyen du lot	Quantitative		124
		Qualitative	< 1500	95
			≥1500	29
			<1500	95
			1500-2000	13
			2000-2500	13
			≥2500	3
			<600	25
			600-1200	54
			1200-1500	16
	1500-2000		13	
≥2000	16			
Taux de mélange du lot	Quantitative		124	
Qualitative	< 1500	91		
	≥1500	33		
	<1500	91		
	1500-2000	14		
	2000-2500	11		
	≥2500	8		
	<600	21		
	600-1200	49		
	1200-1500	21		
	1500-2000	14		
≥2000	19			

Concernant les tests ELISA *Ostertagia*, les variables utilisées étaient :

- le RDO individuel mesuré sur sérum individuel
- le RDO moyen du lot, obtenu par le calcul de la moyenne arithmétique des RDO individuels

- le RDO de mélange des sérums du lot (le nombre de sérums composant le mélange étant identique au nombre de sérums testés individuellement et contribuant à la moyenne du lot)

Les RDO sériques moyens et de mélange ont ensuite été considérés soit en tant que tels (variables quantitatives) soit en les catégorisant en deux classes (RDO inférieur et supérieur ou égal à 0.7) (variables qualitatives) (Tableau X).

Les variables ci-dessus sont décrites dans le Tableau X :

Tableau X : Descriptif des variables de taux d'anticorps de l'étude

	Variable	Qualitative/Quantitative		Effectif total
Taux d'anticorps anti-O. <i>ostertagi</i> (en RDO)	Taux individuel	Quantitative		647
	Taux moyen du lot	Quantitative		98
		Qualitative	< 0.7	45
			≥ 0.7	53
	Taux de mélange du lot	Quantitative		98
		Qualitative	< 0.7	37
		≥ 0.7	61	

Des tests paramétriques ou non paramétriques ont alors été utilisés en fonction de la distribution des données étudiées.

C.3. Impact de l'échantillonnage intra-lot (choix des 5 génisses parmi les n du lot) sur la moyenne des dosages individuels de pepsinogène

Pour tous les lots ayant au moins 6 génisses, des tirages au sort aléatoires de 5 génisses ont été effectués. Toutes les combinaisons possibles de 5 génisses parmi n, n étant la taille initiale du lot (n compris entre 6 et 9), ont alors été enregistrées. Ainsi pour les lots de 6, 7, 8 et 9 génisses on obtenait respectivement 6, 21, 56 et 126 sous-lots de 5 génisses.

Pour chacun des tirages au sort de 5 génisses parmi n obtenus, la moyenne des taux de pepsinogène a été calculée. La première moyenne calculée, c'est-à-dire celle issue du premier tirage au sort a été considérée comme la moyenne de référence pour le lot.

L'écart à la moyenne de référence a ensuite été déterminé pour chaque moyenne issue d'un tirage au sort de 5 génisses parmi les n du lot. Ensuite, les moyennes des sous-lots ont été analysées en fonction de la moyenne de référence et du seuil de 1500 mUTyr/mL pour déterminer le nombre de fois où le tirage au sort engendrait une moyenne qui s'écartait de la moyenne de référence de telle sorte qu'elle passait de l'autre côté de la barre des 1500 mUTyr/mL et inversait donc l'interprétation et la décision thérapeutique.

C.4. Relation entre la moyenne des taux individuels et les taux de mélange

La relation entre le taux de pepsinogène du mélange de sérums et la moyenne des taux de pepsinogène individuels des sérums qui composent le mélange a été évaluée avec un test de corrélation de Pearson et un test de concordance de Lin's pour vérifier la corrélation linéaire et la concordance des valeurs (n = 124 lots).

Afin de s'assurer que cette relation entre taux moyens et taux de mélange n'était pas affectée par la taille de l'échantillon (3 à 9 sérums composant le mélange et donc 3 à 9 sérums pris en compte dans le calcul du taux moyen), les mêmes tests ont été appliqués à divers sous-échantillons de notre base de données (analyses stratifiées) : sous-échantillons des mélanges (et moyennes) composés de 3 et 4 sérums (n = 12), 5 sérums (n = 42), 6 sérums (n = 27), 7 sérums (n = 14), 8 et 9 sérums (n = 26).

La même démarche statistique a été appliquée pour étudier la relation entre le taux d'anticorps anti-*O.ostertagi* du mélange de sérums et la moyenne de ces taux individuels sur les sérums composant le mélange (n = 98 lots).

C.5. Relation entre les taux d'anticorps anti-*O.Ostertagi* et les taux de pepsinogène sérique

Le lien entre les taux d'anticorps anti-*O.Ostertagi* et les taux de pepsinogène à l'échelle du lot a été étudié de deux manières différentes :

- soit de manière linéaire avec un test de corrélation de Pearson (n = 98 lots)
- soit par comparaison de moyenne en appliquant un test de Kruskal-Wallis ; il permet d'évaluer si les lots avec des taux d'anticorps élevés étaient aussi les lots avec des taux de pepsinogène élevés (n = 98).

C.6. Détermination des seuils diagnostiques pour l'interprétations des analyses de mélange

C.6.1. Obtention de seuils par l'analyse ROC

En considérant la moyenne des taux individuels de pepsinogène sérique comme le gold standard pour quantifier l'infestation des génisses en fin de saison de pâturage, une analyse ROC (Receiver Operating Characteristic) a été menée (en utilisant le package ROCR) afin de déterminer les seuils d'interprétation optimaux (maximisation de la sensibilité et de la spécificité) du taux de pepsinogène sur mélange de sérums. Dans cette approche, c'est le seuil de 1500 mUTyr/mL qui a été choisi pour le gold standard car c'est un seuil usuellement utilisé sur le terrain pour identifier les lots où la charge parasitaire est considérée comme suffisante pour induire des pertes. De la même manière, les seuils d'interprétation optimaux de RDO *Ostertagia* sur les mélanges de sérums ont été déterminés en utilisant le RDO moyen comme gold standard, avec le seuil de 0.7, seuil utilisé dans des études antérieures pour distinguer des lots faiblement ou fortement exposés aux strongles digestifs, l'impact de l'infestation sur la croissance ayant été observé dans des lots de génisses avec un RDO moyen > 0,7 [47].

Pour chaque test diagnostique (pepsinogène de mélange et RDO de mélange), l'analyse ROC a tout d'abord été conduite sur un sous-échantillon de 75 lots tirés au sort dans notre échantillon d'étude (= échantillon d'apprentissage). Le seuil optimal obtenu a ensuite été testé

sur un échantillon de validation de 49 lots. Cette analyse ROC a ensuite été conduite 50 fois sur 50 échantillons d'apprentissage et de validation différents. Le seuil optimal à considérer pour le test diagnostique correspondait alors à la moyenne arithmétique des 50 seuils obtenus. Ce seuil moyen était ensuite testé sur la base de données totale.

Enfin, cette approche a également été utilisée afin de déterminer un lien entre les RDO moyens et les taux moyens de pepsinogène. Le gold standard était alors le taux moyen de pepsinogène (seuil 1500 mUTyr/mL).

C.6.2. Utilisation des tableaux de contingence

Concernant l'interprétation du dosage de pepsinogène de mélange, l'analyse ROC pouvait donner un seuil très précis (dizaine, unités, chiffres après la virgule). Cette précision n'étant pas en accord avec une incertitude de mesure du dosage pouvant être grande, ce seuil issu de l'analyse ROC a alors été adapté : une analyse par tableaux de contingence, avec des seuils « arrondis » entourant le seuil issu de l'analyse ROC, a été effectuée afin de choisir au mieux un seuil diagnostique « pratique » lors de l'utilisation du mélange de sérums.

Enfin, des tests Kappa ont été réalisés afin de déterminer le niveau de concordance entre les taux moyens et les taux de mélange des dosages de pepsinogène en fonction des seuils retenus.

III. Résultats

A. Description des valeurs de pepsinogène et de RDO *Ostertagia* sur l'échantillon d'étude

La distribution des valeurs de pepsinogènes et de RDO *Ostertagia* de l'échantillon d'étude est résumée dans les Tableaux XI et XII.

Tableau XI : Distribution des variables quantitatives de pepsinogène

	n	Moyenne	Ecart type	Min	Q1	Médiane	Q3	Max
Taux de pepsinogène individuel (mUTyr/mL)	743	1159	854	0	536	949	1621	5019
Taux de pepsinogène moyen (mUTyr/mL)	124	1135	668	156	653	1029	1143	4001
Taux de pepsinogène de mélange (mUTyr/mL)	124	1209	759	88	692	1036	1520	3917

Tableau XII : Distribution des variables quantitatives de RDO *Ostertagia*

	n	Moyenne	Ecart type	Min	Q1	Médiane	Q3	Max
RDO individuel	647	0.68	0.30	0	0.47	0.71	0.93	1.29
RDO moyen	98	0.66	0.23	0.11	0.5	0.65	0.86	1.1
RDO de mélange	98	0.77	0.25	0.15	0.59	0.76	0.96	1.23

B. Impact de l'échantillonnage intra-lot (choix des 5 génisses parmi les n du lot) sur les moyennes de pepsinogène obtenues

La répartition des différences entre les moyennes de références et celles obtenues pour les différents sous-lots, c'est-à-dire les moyennes issues des tirages au sort de 5 génisses parmi n, est représentée sur la Figure 7.

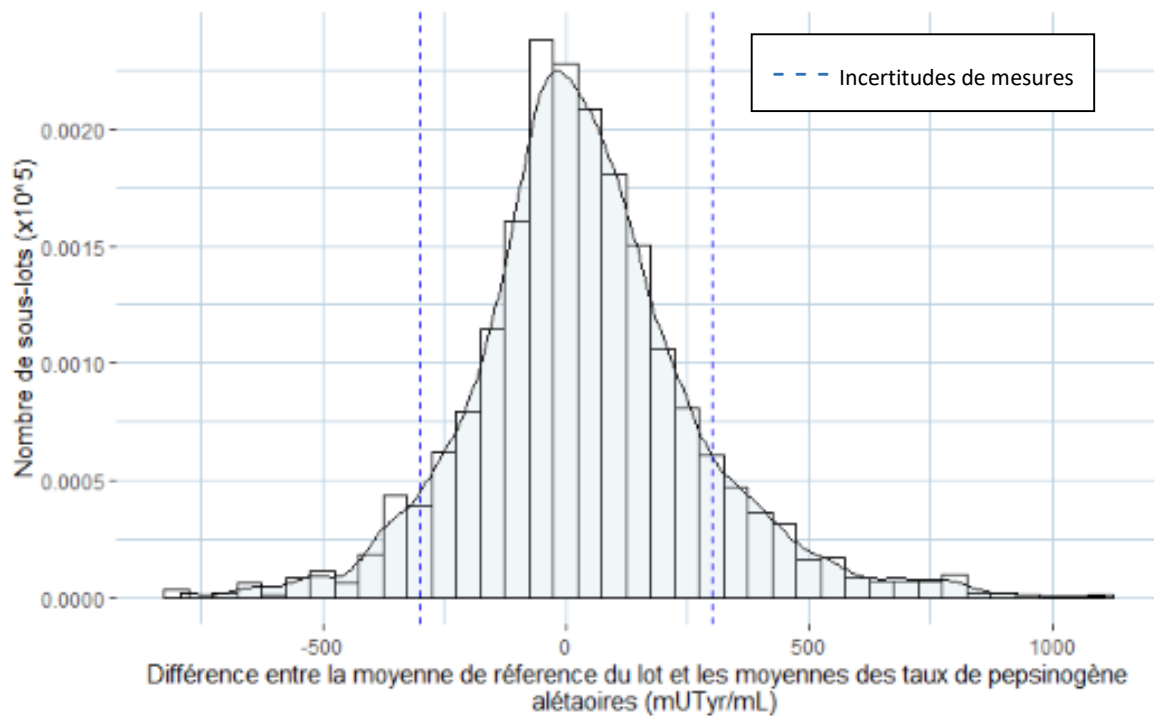


Figure 7 : Histogramme des différences entre la moyenne de référence (premier tirage au sort) et les moyennes des taux de pepsinogène calculées aléatoirement sur les tirages au sort successifs.

Au total, 2052 moyennes aléatoires ont été obtenues et 1985 différences ont été calculées. Les moyennes des taux de pepsinogène calculées aléatoirement sont centrées sur la moyenne de référence. En effet les différences entre la moyenne de référence et celles obtenues par échantillonnage aléatoire ont une répartition gaussienne centrée sur zéro. Le Tableau XIII montre la distribution de ces différences.

Tableau XIII : Description des différences obtenues entre les moyennes de référence et les moyennes aléatoires

n	Moyenne (mUTyr/mL)	Ecart Type (mUTyr/mL)	Min (mUTyr/mL)	Q1 (mUTyr/mL)	Médiane (mUTyr/mL)	Q2 (mUTyr/mL)	Max (mUTyr/mL)
1985	37.6	229.6	-792.8	-90.2	21.2	152.4	1108

La moyenne de 37.6 mUTyr/mL est effectivement proche de 0.

Ensuite, il a été regardé comment le choix des génisses du lot pouvait impacter la thérapeutique, c'est-à-dire comment se répartissait les moyennes calculées par rapport à la moyenne de référence et par rapport au seuil de 1500 mUTyr/mL. Les taux de changement de thérapeutique en fonction des génisses prélevées dans le lot sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau XIV : Taux de changement de thérapeutique en fonction des génisses prélevées dans le lot.

Nombre de génisses prélevées par lot	Nombre de tirages effectués par lot	Nombre de lots concernés	Pourcentage de lots où la thérapeutique est impactée
6	6	27	14.8 % (4/27 lots)
7	21	14	28.5% (4/14 lots)
8	56	24	16.6 % (4/24 lots)
9	126	2	50% (1/2 lots)

Pour 19.4% des lots (13 sur 67), les tirages au sort engendraient au moins une moyenne qui s'écartait de la moyenne de référence de telle sorte que la thérapeutique était inversée. Pour ces mêmes lots, le nombre de fois où la décision thérapeutique pouvait changer en fonction des sous-lots est résumée dans le Tableau XV.

Tableau XV : Caractéristiques des lots impactés par le changement de thérapeutique
 NB : les étendues en gras sont celles dont l'écart des valeurs extrêmes est supérieur à l'incertitude de mesures.

Nombre de génisses prélevées par lot	Lots impactés par le changement de thérapeutique	Nombre de fois où la thérapeutique change (pourcentage par rapport aux nombres de tirages au sort)	Etendue des moyennes (mUTyr/mL)	Moyenne de référence (mUTyr/mL)
6	100_1	4 (66.7%)	[1433-1633]	1510
	108_1	1 (16.7%)	[1257-1560]	1483
	17_1	1 (16.7%)	[1391-1968]	1785
	41_1	3 (50%)	[1383-1652]	1454
7	19_1	16 (76.1%)	[1416-1822]	1471
	42_1	17 (80.9%)	[1103-1614]	1563
	60_1	6 (28.6%)	[1073-2228]	2181
	99_2	6 (28.6%)	[1379-1797]	1508
8	121_1	2 (3.5%)	[1056-1572]	1212
	54_1	2 (3.5%)	[1254-2899]	2218
	15_1	5 (8.9%)	[1255-2541]	2093
	80_1	14 (25%)	[983-2179]	1902
9	33_1	59 (46.8%)	[926-1918]	1356

La Figure 8 montre la répartition de toutes les moyennes obtenues pour ces lots.

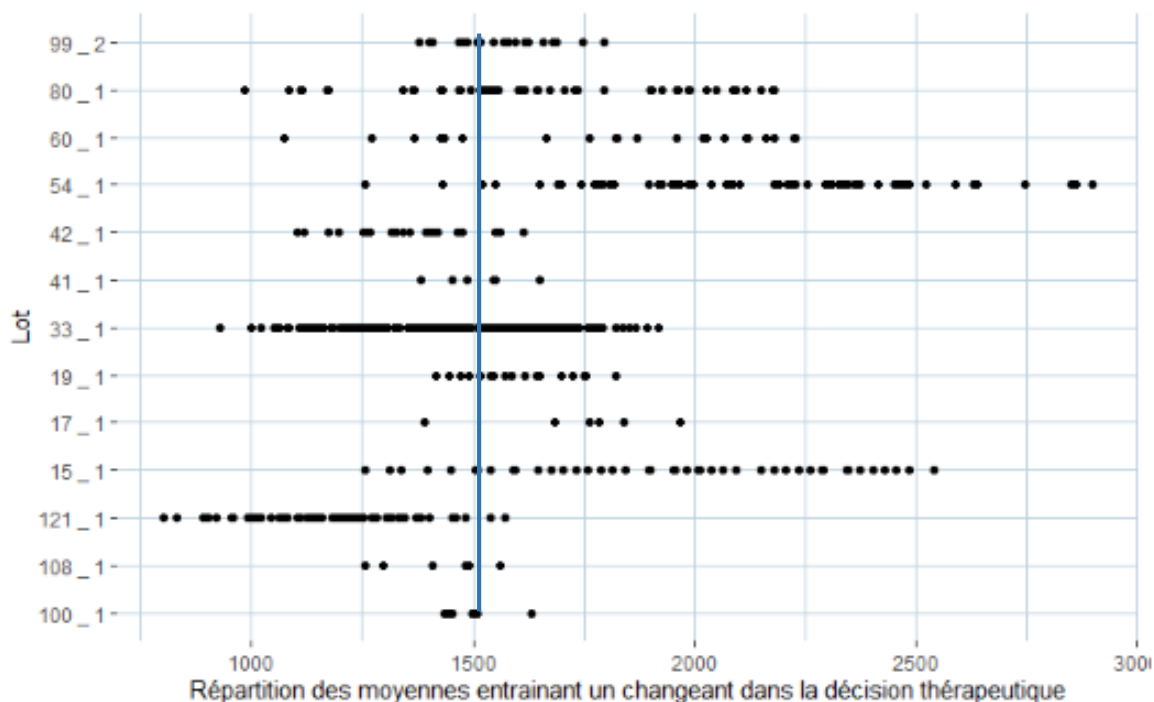


Figure 8 : Répartition des moyennes obtenues par échantillonnages aléatoires pour les lots dans lesquels la thérapeutique est impactée.

Les écarts entre les moyennes maximales et minimales pouvaient être très importants, ils variaient de 200 à 1645 mUTyr/mL pour les lots dans lesquels la thérapeutique était influencée par le choix des génisses prélevées. De plus, on constate sur ce graphique l'étendue des valeurs mais également la répartition des moyennes par rapport au seuil. Dans certains cas, comme pour les lots 33_1 ou 80_1, le nombre de moyennes obtenues était réparti presque équitablement de chaque côté du seuil, au contraire pour d'autres lots comme le 54_1 ou le 121_1 seules deux valeurs de moyennes sont d'un côté du seuil.

En utilisant les catégories définies en II.C.2, on constatait que les moyennes s'étendaient sur 4 catégories de lots : faiblement, moyennement, fortement et très fortement parasités.

C. Dosages de pepsinogène

C.1. Relation entre les taux de pepsinogène moyen et les taux de pepsinogène de mélange

Une forte corrélation linéaire positive significative a été mise en évidence entre les taux moyens de pepsinogène individuels et les taux de pepsinogène de mélange (Figure 9) avec un coefficient de corrélation de 0.92 ($p\text{-value}=2.2 \times 10^{-16}$). De plus, le coefficient de Lin's qui évalue la concordance entre les deux variables était de 0.987, ce qui traduisait une très bonne concordance entre le taux moyen et le taux de mélange.

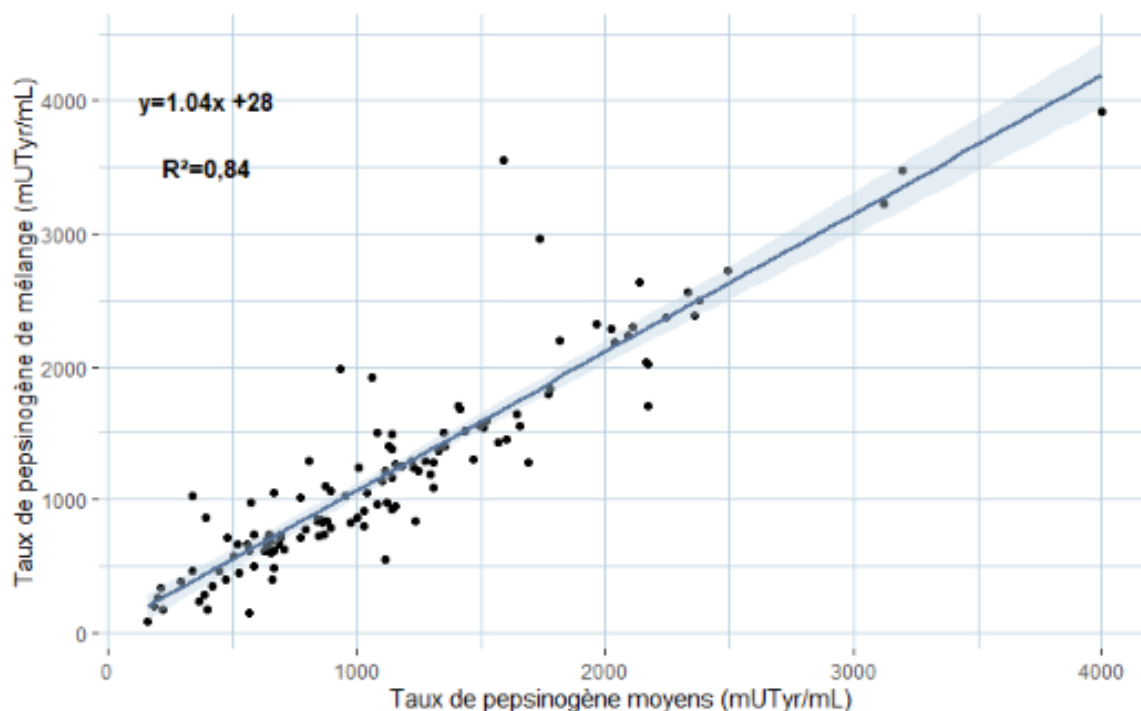


Figure 9 : Corrélation entre les taux de pepsinogène de mélange et les taux de pepsinogène moyens dans les 124 lots de génisses. Droite de régression linéaire $y = 0.81x + 158$ avec l'intervalle de confiance à 95% de la pente.

On constate que 4 sur 124 points s'éloignaient de la droite de corrélation, avec des taux de mélange bien supérieurs aux taux moyens.

C.2. Seuil d'interprétation du pepsinogène de mélange

C.2.1. Analyse ROC

Avec un seuil standard de 1500 mUTyr/mL pour le taux de pepsinogène moyen du lot (considéré comme le gold standard), le seuil optimal moyen pour l'interprétation du taux de pepsinogène de mélange, obtenu après les 50 tirages au sort, était de 1445 mUTyr/mL.

Le meilleur compromis entre la sensibilité moyenne et la spécificité moyenne, respectivement de 93.2 % et 90.6 %, était également obtenu avec ce seuil. La valeur prédictive positive moyenne était de 77.9% et la valeur prédictive négative moyenne de 75.1%. 89.4% des individus étaient alors bien classés.

C.2.2. Adaptation du seuil issu de l'analyse ROC avec l'analyse des tableaux de contingence correspondant aux seuils « arrondis »

Les incertitudes de mesures concernant les dosages de pepsinogène étant de 300 à 600 mUTyr [communications personnelles issues des données LABOCEA], un seuil diagnostique de 1445 mUTyr/mL semblait donc inadéquat car trop précis. Une analyse par tableaux de contingence avec des seuils « arrondis » respectivement de 1400 et 1500 mUTyr/mL a été faite afin de choisir au mieux un seuil diagnostique « pratique » lors de l'utilisation du sérum de mélange. Le Tableau XVI est le tableau de contingence appliqué sur la base de données initiale avec le seuil de 1445 mUTyr/mL. On obtient alors 91.1% d'individus bien classés.

Tableau XVI : Tableau de contingence entre le taux de pepsinogène sérique du mélange catégorisé à 1445 mUTyr/mL et le taux de pepsinogène sérique moyen. (p-value=9.72.10⁻¹⁸)

Seuil de pepsinogène de mélange	Seuil de pepsinogène individuel			Total
	mUTyr/mL	≥ 1500	< 1500	
≥ 1445		27	9	36
< 1445		2	86	88
Total		29	95	124

Avec le seuil 1400 mUTyr/mL, le coefficient de Kappa de 0.75 traduisait une bonne concordance des deux seuils (Tableau XVII). Avec ce seuil de 1400 mUTyr/mL, on obtenait 90,3% de lots bien classés contre 91.9 % lorsque le taux du mélange était catégorisé en fonction du seuil de 1500 mUTyr/mL (Tableau XVIII). A 1500 mUTyr/mL, le coefficient de kappa de 0.79 traduisait également une bonne concordance entre les deux variables.

Tableau XVII : Tableau de contingence entre le taux de pepsinogène sérique du mélange catégorisé à 1400 mUTyr/mL et le taux de pepsinogène sérique moyen. (p-value=6.35.10⁻¹⁸)

Seuil de pepsinogène de mélange	Seuil de pepsinogène individuel			Total
	mUTyr/mL	≥ 1500	< 1500	
≥ 1400		28	11	39
< 1400		1	84	85
Total		29	95	124

Tableau XVIII : Tableau de contingence entre le taux de pepsinogène sérique du mélange catégorisé à 1500 mUTyr/mL et le taux de pepsinogène sérique moyen. (p-value=1.69.10⁻¹⁸)

Seuil de pepsinogène de mélange	Seuil de pepsinogène individuel			Total
	mUTyr/mL	≥ 1500	< 1500	
≥ 1500		26	7	33
< 1500		3	88	91
Total		29	95	124

C.3. Corrélation entre le taux de pepsinogène moyen et le taux de pepsinogène de mélange en fonction du nombre d'individu pris en compte

Dès 5 individus, il existait une corrélation linéaire positive très forte entre les taux moyens de pepsinogène individuels et les taux de pepsinogène de mélange (Figure 10), avec un coefficient de corrélation de 0.97 (p-value = 2.2x10⁻¹⁶). De plus, la concordance entre les deux variables était parfaite avec un coefficient de Lin's de 0.999. La corrélation persistait sans être améliorée quand le nombre d'individus augmentait.

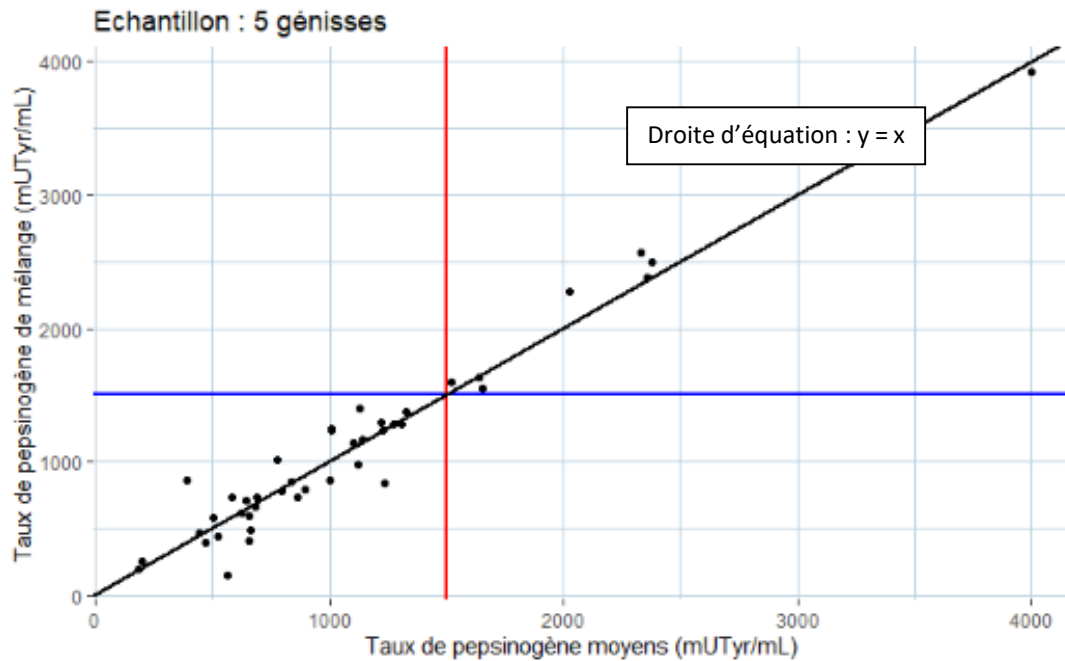


Figure 10 : Corrélation entre les taux de pepsinogène moyens et les taux de pepsinogène de mélange pour un échantillon de 5 génisses (n = 43 lots)

D. Relation entre le taux de pepsinogène et le taux anticorps

D.1. Evaluation de la relation linéaire entre le taux moyen de pepsinogène et le taux moyen d'anticorps

Il n'existait pas de corrélation linéaire significative entre le taux de pepsinogène moyen et le taux d'anticorps moyen (Figure 11 ; p-value = 0.4). Le coefficient de corrélation de 0.33 était très faible.

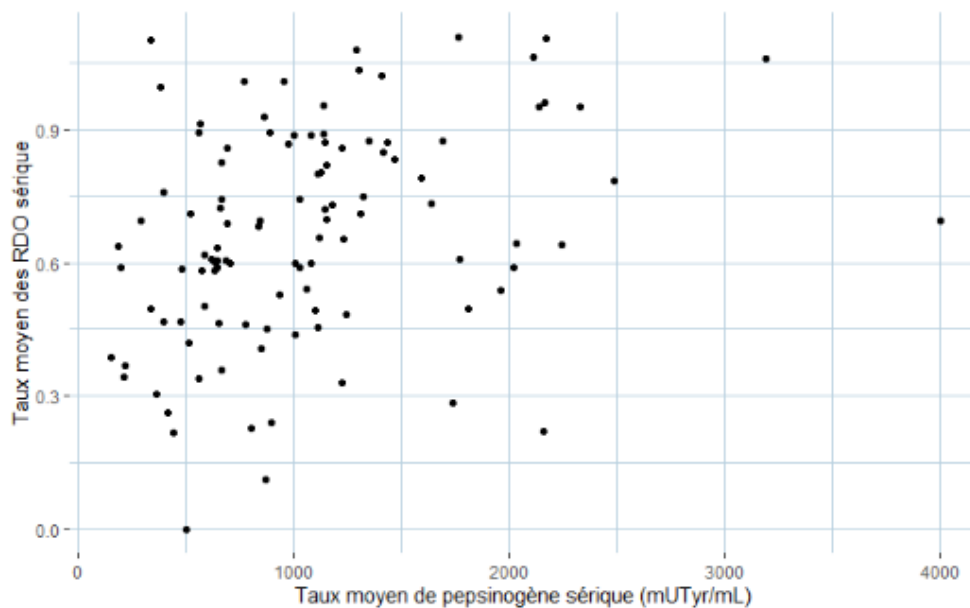


Figure 11 : Corrélation entre les moyennes des taux de pepsinogène sérique individuels et les taux d'anticorps moyens

D.2. Evaluation d'un lien entre le taux moyen de pepsinogène et le taux moyen d'anticorps

Les distributions des taux d'anticorps anti-*Ostertagia* au sein de chacune des 4 ou 5 catégories de taux de pepsinogène sérique sont détaillées dans la Figure 12 et la Figure 13.

Les moyennes des taux d'anticorps sériques n'étaient pas significativement différentes en fonction des 4 catégories des taux de pepsinogène moyens (Figure 12), en effet, on obtenait une p-value de 0,13 au test de Kruskal-Wallis. Cependant, lors de la répartition en 5 catégories présentées dans la Figure 13, on obtenait une différence significative entre les groupes, associée à une p-value de 0,01. Les différences étaient notamment significatives entre les moyennes des groupes « absents » correspondant aux taux moyens de pepsinogène inférieurs à 600 mUTyr/mL (RDO moyen = 0.55), et « très forts » correspondant aux taux moyens de pepsinogène supérieurs à 2000 mUTyr/mL (RDO moyen = 0.80).

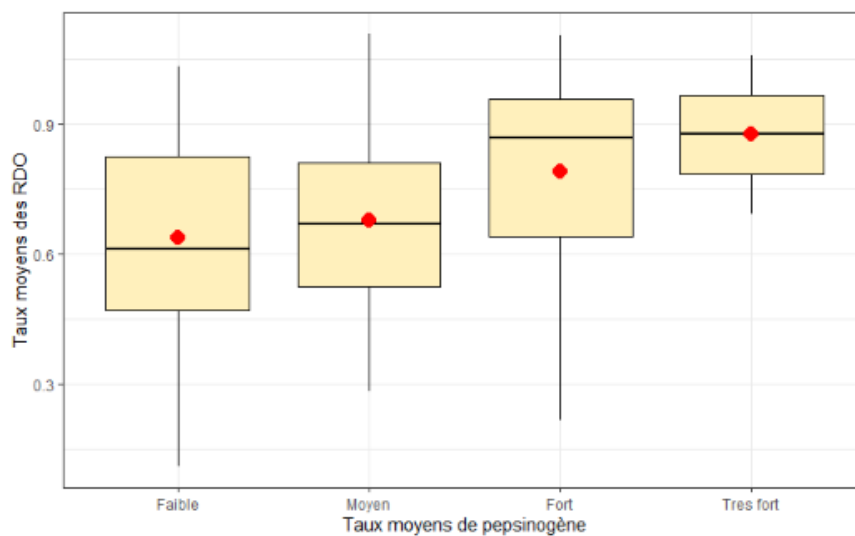


Figure 12 : Répartition des RDO moyens des 98 lots de génisses au sein des 4 catégories de taux de pepsinogène moyens. (NB : la moyenne est représentée par le point rouge et la médiane par le trait noir)

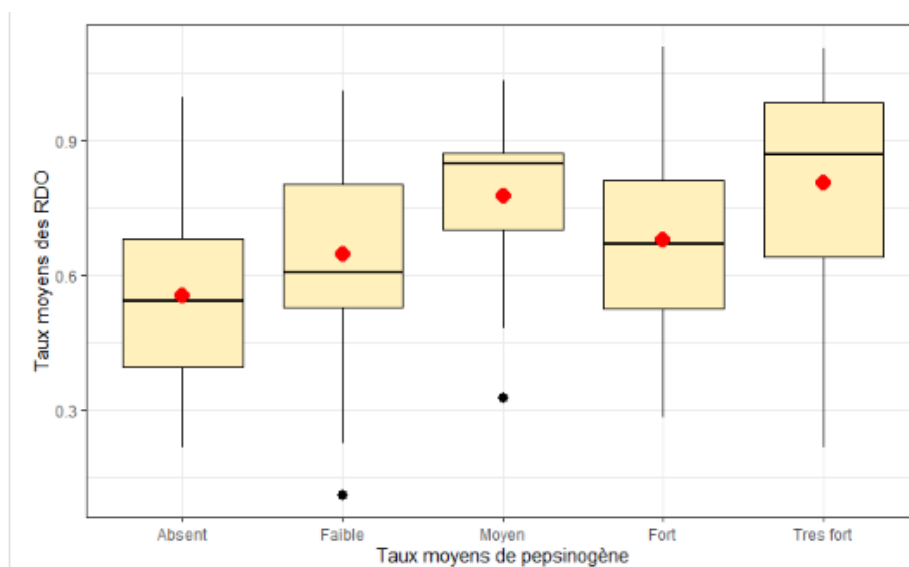


Figure 13 : Répartition des RDO moyens des 98 lots de génisses au sein des 5 catégories de taux de pepsinogène moyens. (NB : la moyenne est représentée par le point rouge et la médiane par le trait noir)

Enfin, une analyse ROC a été effectuée pour essayer d'approfondir ce lien. On obtenait alors une AUC de 0.668, le test était donc faiblement discriminant. La sensibilité et la valeur prédictive positive étaient respectivement de 35% et 53.8%. D'autre part, la spécificité et la valeur prédictive négative étaient respectivement de 92.3% et de 84.7%, cela traduisait une bonne aptitude du test à dépister les vrais lots négatifs. Dans ce cas, le seuil optimal pour le taux d'anticorps anti-*Ostertagia* moyen était de 0.939.

E. Evaluation du lien entre les RDO individuels et les RDO de mélange

E.1. Corrélation entre les RDO individuels et les RDO de mélanges

Une forte corrélation linéaire positive entre le taux d'anticorps anti-*Ostertagia* moyen et le taux d'anticorps anti-*Ostertagia* de mélange existait (Figure 14) avec un coefficient de corrélation de 0.97 (p -value $< 2.2 \times 10^{-16}$). Cependant le résultat du test de Lin's montrait une concordance moyenne entre les variables (0.91). De plus, les valeurs du dosage d'anticorps anti-*Ostertagia* étaient situées au-dessus de la droite d'équation $y = x$ ce qui suggérait un phénomène de concentration du taux d'anticorps lors du mélange des sérums.

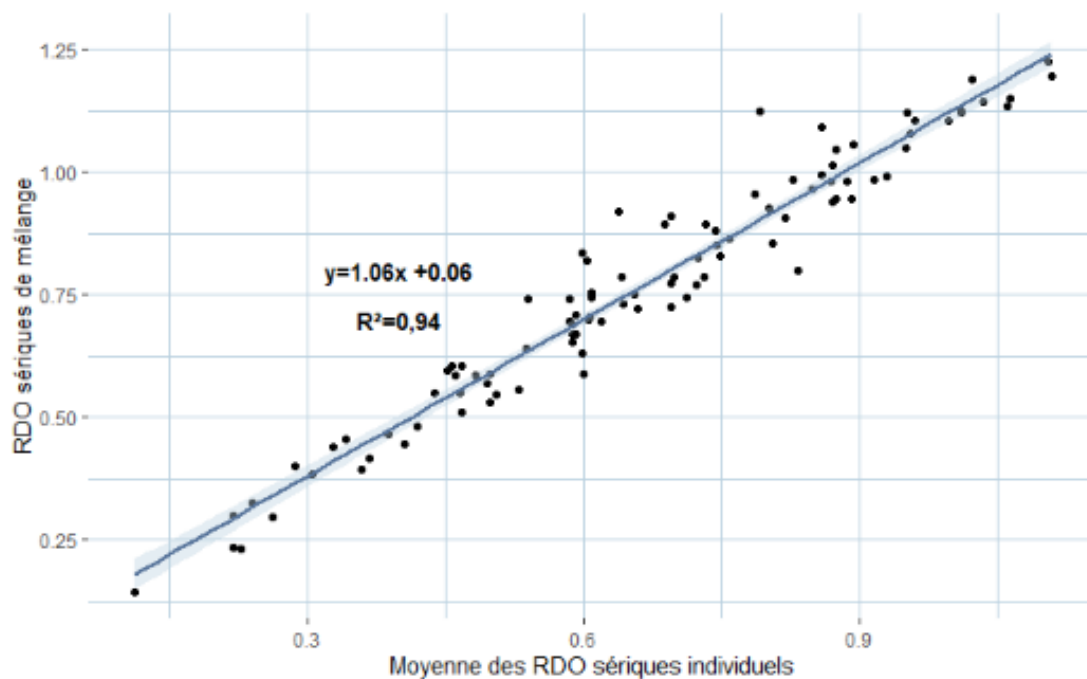


Figure 14 : Corrélation entre la moyenne des RDO sériques individuels et les RDO sériques de mélange

E.2. Seuil d'interprétation des RDO sur sérums de mélange

Avec un seuil de RDO de référence à 0,7 pour le RDO moyen du lot, le seuil qui maximisait l'aire sous la courbe était de 0,79 pour les RDO de mélange. Le meilleur compromis entre la sensibilité et spécificité, respectivement de 91% et 88%, était également obtenu avec ce seuil. La courbe ROC avait alors une aire sous la courbe de 0,97. On avait alors une valeur prédictive positive de 84,7% et une valeur prédictive négative de 93,2%.

En résumé, les résultats principaux montrent que :

- Les moyennes de pepsinogène obtenues en fonction du choix des génisses prélevées au sein d'un lot peuvent varier et peuvent même faire changer la décision thérapeutique : dans 19.4% des lots étudiés, les moyennes obtenues pour un même lot se situaient de part et d'autre du seuil de 1500 mUTyr/mL.
- Le taux de pepsinogène de mélange et le taux de pepsinogène moyen sont significativement corrélés, le seuil diagnostique alors obtenu pour le dosage sur un mélange de sérums est de 1445 mUTyr/mL mais peut être arrondi à 1500 mUTyr/mL (comme pour l'interprétation du pepsinogène moyen).
- Les taux moyens de pepsinogène et les taux moyens d'anticorps anti-*Ostertagia ostertagi* ne sont pas corrélés.
- Le taux d'anticorps moyen du lot est significativement plus faible dans les lots à taux de pepsinogène très bas que dans les lots à taux de pepsinogène très élevés (RDO =0,55 versus 0,80).
- Comparativement au dosage de pepsinogène, le seuil diagnostique optimal pour le taux d'anticorps moyen était de 0.939, mais cette analyse ELISA reste peu discriminante.
- Les taux d'anticorps moyens et ceux de mélange sont significativement corrélés, et le seuil diagnostique optimal du taux de mélange est alors de 0.79.

IV. Discussion

A. Synthèse des résultats

A.1. Choix des génisses prélevées pour effectuer le dosage de pepsinogène sérique et impact sur la décision thérapeutique

Un des résultats majeurs de cette thèse indique que le choix des génisses prélevées au sein d'un lot pour effectuer le dosage de pepsinogène sérique peut avoir un impact important sur la moyenne des taux individuels obtenue : cet impact peut parfois conduire à obtenir des moyennes qui se situent de part et d'autre du seuil d'interprétation de 1500 mUTyr/mL, ce qui peut modifier la décision de mise en place d'un traitement anthelminthique. En effet, pour 13 des 67 lots (19.4%) dans lesquels des tirages au sort ont été effectués aléatoirement, on constate une inversion de la décision thérapeutique en fonction de ces tirages. Pour chacun de ces 13 lots, l'écart entre la moyenne minimale et la moyenne maximale issues des tirages va de 200 à 1645 mUTyr/mL (médiane = 511 mUTyr/mL et moyenne = 729 mUTyr/mL) (cf. Tableau XV). On constate donc que les écarts peuvent être grands et que le fait de passer de part et d'autre du seuil ne tient pas seulement à des différences aléatoires de quelques dizaines de mUTyr/mL. Considérons le lot 60_1, la moyenne de référence est de 2181 mUTyr/mL avec des moyennes aléatoires allant de 1073 mUTyr/mL à 2228 mUTyr/mL. Ainsi une modification importante des conclusions diagnostiques et de la décision thérapeutique est induite par le choix des génisses. En effet, à 1073 mUTyr/mL la charge parasitaire est considérée comme faible et aucun traitement ne serait mis en œuvre tandis qu'à 2228 mUTyr/mL la charge parasitaire est considérée comme élevée et un traitement anthelminthique serait administré. Toutefois, le passage de part et d'autre du seuil de 1500 mUTyr/mL est parfois dû à de petits écarts entre les moyennes issues des tirages au sort (ex : lot 100_1 et 41_1, avec des écarts de 200 et 269 mUTyr/mL, Tableau XV). Dans ce cas, il faudrait interpréter ces écarts à la lumière de l'incertitude de mesure du dosage de pepsinogène (et de l'incertitude de mesure de la moyenne issue de n dosages, plus faible que celle d'un dosage individuel). Ceci suggère qu'il faudrait prendre des « marges de sécurité » d'interprétation autour du seuil en intégrant le seuil à une gamme de valeurs. Cela souligne aussi le fait que cet examen complémentaire ne devrait jamais être interprété de manière isolée. Il faut y associer bien sûr les données cliniques d'examen des animaux, et idéalement une analyse des conduites du pâturage pour estimer si le recyclage parasitaire a été suffisant pour induire des pertes.

Afin d'étudier l'influence du choix des génisses sur les taux moyens de pepsinogène, les moyennes obtenues aléatoirement sur 5 individus ont été comparées à une moyenne de référence calculée sur 5 dosages (moyenne de référence = moyenne du premier tirage au sort de 5 individus parmi les n génisses du lot). Une autre approche aurait pu être de comparer toutes les moyennes obtenues aléatoirement à la moyenne initiale du lot complet, c'est-à-dire la moyenne calculée sur la totalité des dosages disponibles (n = 6 à 9 génisses). Cette moyenne, issue d'un plus grand nombre d'individus, serait alors probablement plus proche de

la moyenne vraie du lot. Afin de s'assurer de la justesse des premiers résultats, nous avons regardé si cette comparaison à la moyenne calculée sur la totalité des dosages disponibles entraînait des résultats différents (Figure 15 et Tableau XIX). Le nombre de lots impacté par le changement de thérapeutique restait alors inchangé (cela s'explique par le fait que la moyenne de référence et la moyenne initiale étaient souvent très proches, Tableau XIX). La différence majeure notable concernait le lot 42_1, où le nombre de fois où la thérapeutique changeait passait de 80,9% à 14.3% avec la moyenne du lot complet (Figure 15 et Tableau XIX).

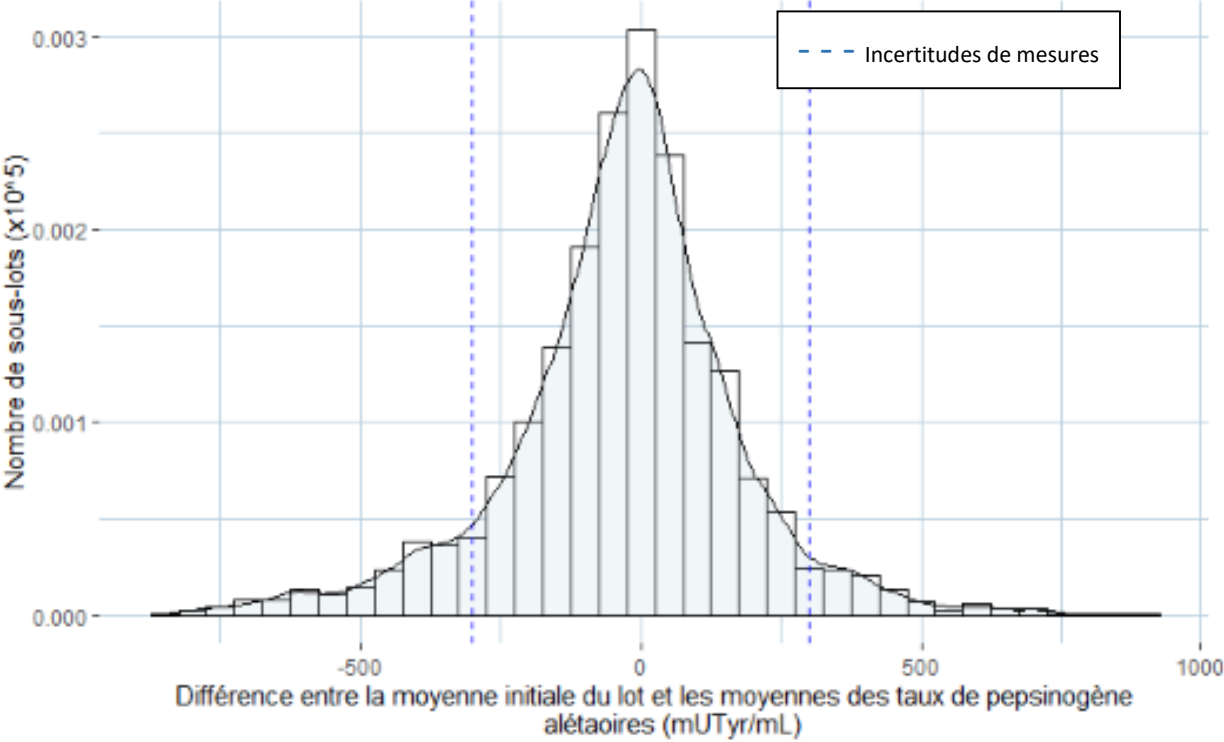


Figure 15 : Histogramme des différences entre la moyenne initiale de pepsinogènes et les moyennes calculées aléatoirement.

Tableau XIX : Caractéristiques des lots impactés par le changement de thérapeutique et comparaison à la moyenne initiale du lot

NB : les valeurs en gras représentent les changements par rapport au Tableau XV

Nombre de génisses prélevées par lot	Lot impacté par le changement de thérapeutique	Nombre de fois où la thérapeutique change (pourcentage par rapport au nombre de tirages au sort)	Etendue des moyennes (mUTyr/mL)	Moyenne initiale du lot complet (mUTyr/mL)	Moyenne de référence (mUTyr/mL)
6	100_1	2 (66.7%)	[1433-1633]	1496	1510
	108_1	1 (16.7%)	[1257-1560]	1417	1483
	17_1	1 (16.7%)	[1391-1968]	1739	1785
	41_1	3 (50%)	[1383-1652]	1512	1454
7	19_1	5 (76.1%)	[1416-1822]	1592	1471
	42_1	3 (14.3%)	[1103-1614]	1363	1563
	60_1	6 (28.6%)	[1073-2228]	1814	2181
	99_2	6 (28.6%)	[1379-1797]	1572	1508
8	121_1	2 (3.5%)	[1056-1572]	1183	1212
	54_1	2 (3.5%)	[1254-2899]	2139	2218
	15_1	5 (8.9%)	[1255-2541]	1965	2093
	80_1	14 (25%)	[983-2179]	1690	1902
9	33_1	58 (46%)	[926-1918]	1079	1356

Tous ces résultats sont à mettre en lien avec ce qui se passe sur le terrain. En effet, on peut se demander si l'échantillonnage des génisses est vraiment aléatoire ou si un choix conscient s'effectue en fonction de l'état du poil, de la note d'état corporel, de la facilité à attraper telle ou telle génisse... Ce choix influence alors fortement les résultats obtenus ainsi que la décision thérapeutique du lot.

A.2. Dosages de pepsinogènes

A.2.1. Analyse sur sérum de mélange

Dans cette étude, la moyenne des taux de pepsinogène individuels était significativement corrélée au taux de pepsinogène de mélange (Figure 9). L'équation de la droite de corrélation était $y = 1,04x + 28$ et était donc proche de $y = x$; « 28 » étant une valeur négligeable comparée aux taux usuellement rencontrés sur le terrain et l'incertitude de mesure du dosage de pepsinogène qui peut atteindre plusieurs centaines de mUTyr/mL. Les valeurs de taux de pepsinogène obtenues en moyenne ou sur le mélange de sérums correspondant sont donc en général très proches. Le taux de pepsinogène de mélange présente donc un intérêt diagnostique pour quantifier à moindre coût l'infestation par *Ostertagia ostertagi* chez les génisses en fin de première saison de pâturage.

Toutefois, 4 points sur 124 (3,2%) s'éloignaient de la droite de corrélation (cf. Figure 9), dans le sens d'un taux de pepsinogène de mélange bien supérieur à celui obtenu en moyenne. Pour trois des quatre lots concernés (lots 17_1, 56_1 et 124_1), une valeur individuelle de pepsinogène était très élevée comparée aux autres (Tableau XX). Cela suggère que le taux de pepsinogène d'un seul sérum pourrait impacter le taux sur mélange de sérums plus qu'il n'impacte la moyenne. Cependant pour le lot 19_1, aucune valeur individuelle n'explique cette différence. Dans ce dernier cas, il aurait fallu refaire une analyse de contrôle afin de vérifier les données obtenues.

Tableau XX : Distribution des valeurs des taux de pepsinogène individuels, moyens et de mélange pour les lots 19_1, 17_1, 56_1 et 124_1.

NB : en gras les valeurs très élevées

Lot	Taux de pepsinogène individuel (mUTyr/mL)	Taux moyen de pepsinogène (mUTyr/mL)	Taux de mélange de pepsinogène (mUTyr/mL)
19_1 (n=7)	1291 1772 1915 1641 739 2149 1637	1592	3548
17_1 (n=6)	2010 1228 3473 588 1506 1627	1739	2966
56_1 (n=6)	588 1506 2966 677 372 252	1060	1925
124_1 (n=8)	183 436 809 484 404 550 1371 3565	935	1981

Jusqu'à présent, deux craintes existaient concernant l'utilisation du dosage de pepsinogène effectué sur un mélange de sérums :

- La première était que la présence d'un seul taux élevé de pepsinogène dans le lot des génisses prélevées influence fortement le résultat du mélange. Or, nous venons de voir que cela concerne 3 lots sur les 124 analysés. Ainsi, une erreur de diagnostic serait faite dans 2.4% des cas lors de l'utilisation du dosage de pepsinogène sur un mélange de sérums. Ce risque d'erreur semble alors négligeable comparé à celui provenant des aléas d'échantillonnage de 5 génisses (cf. ci-dessus).
- La deuxième était que le fait de réaliser une seule analyse (sur le mélange de sérums) maximiserait les incertitudes de mesures, mais l'excellente correspondance entre les taux de pepsinogène moyens et les taux de pepsinogène de mélange montre que ce risque n'est pas important (c'est peut-être ce qui explique l'écart observé pour le lot 19_1, et dans ce cas, ce problème d'incertitude de mesure n'aurait été rencontré que dans un seul lot sur 124 dans notre étude).

A.2.2. Seuil d'interprétation utilisable pour le dosage sur sérum de mélange

Le seuil d'interprétation du taux de pepsinogène sur mélange de sérums est légèrement modifié par rapport au taux moyen de pepsinogène. En effet, l'analyse ROC donne un seuil optimal de 1445 mUTyr/mL. Au vu des incertitudes de mesures concernant le dosage de pepsinogène, celles-ci étant comprises entre 300 et 600 mUTyr/mL [communications personnelles issues des données de *Labocéa*], ce seuil semble alors trop précis.

Le choix d'un seuil optimal pour l'utilisation du dosage de pepsinogène sur mélange de sérums afin de diagnostiquer les lots à risque de strongylose s'effectue alors dans le but de trouver le meilleur compromis entre sensibilité et spécificité, soit en favorisant la sensibilité (afin de limiter le risque de ne pas traiter un lot trop parasité) quitte à faire des erreurs de traitement par excès (dans les lots faussement positifs), soit en favorisant la spécificité (afin de limiter le risque de traiter un lot inutilement) quitte à faire des erreurs de traitement par défaut (dans les lots faussement négatifs). Le seuil est alors à moduler en fonction des attentes et des objectifs de l'éleveur. En effet, si l'objectif est d'éviter toute chute de croissance dans des élevages où le premier vêlage est précoce, alors il vaut mieux favoriser la sensibilité. Au contraire, si l'objectif est d'être sûr que la maladie est présente pour traiter car la fréquence de traitement est déjà trop élevée avec des risques d'émergence de résistances, alors il vaut mieux favoriser la spécificité. Dans le premier cas, on choisira plutôt un seuil de 1400 mUTyr/mL et dans le deuxième cas un seuil de 1500 mUTyr/mL.

Enfin, les dosages ayant été effectués en 2016, les valeurs de dosages de pepsinogène sont exprimées en milli-unités tyrosine, or depuis les résultats sont arrondis et principalement exprimés en unité tyrosine en raison des incertitudes de mesures. Ainsi il serait judicieux de finalement considérer des seuils de 1.4 UTyr/mL en cas de valorisation de la sensibilité et de 1.5 UTyr/mL en cas de valorisation de la spécificité.

A.2.3. Taille de l'échantillon pour l'utilisation du sérum de mélange

Une corrélation et une concordance quasi-parfaite ont été observées entre la moyenne des taux de pepsinogène individuels et le taux de mélange, y compris lorsque le nombre de génisses prélevées n'était que de 5. Cela suggère que le nombre minimal d'animaux à prélever serait également de 5 pour effectuer un dosage sur un mélange de sérums et obtenir une information diagnostique équivalente à celle obtenue avec une moyenne de dosages individuels.

A.3. Utilisation du taux moyen d'anticorps anti-*Ostertagia* (mesuré par méthode ELISA)

Les dosages de pepsinogène sur mélange de sérums devraient permettre de réduire les coûts d'analyses. Dans cette même optique d'optimisation des coûts (pour faciliter l'accès à l'examen complémentaire et donc au traitement raisonné), nous avons étudié l'intérêt diagnostique par un test ELISA par rapport au dosage de pepsinogène sérique.

Aucune relation linéaire n'a été mise en évidence entre les taux moyens de pepsinogène et les RDO *Ostertagia* moyens (Figure 11). Cette absence de corrélation s'explique probablement par le fait que ces deux indicateurs sériques ne mesurent pas la même chose sur le plan biologique. En effet, il est souvent rapporté que le taux d'anticorps permet de mesurer le niveau d'exposition des bovins aux strongles digestifs [26, 54] alors que le taux de pepsinogène est un marqueur des lésions abomasales qui est relié à la charge parasitaire.

Afin d'étudier un lien autre que linéaire entre ses deux variables, un test de comparaison de moyennes a été effectué. Une différence significative de RDO a été mise en évidence entre les lots montrant une absence d'infestation parasitaire (taux de pepsinogène inférieurs à 600 mUTyr/mL) et ceux montrant une très forte infestation parasitaire (taux de pepsinogène supérieurs à 2000 mUTyr/mL) (RDO moyen = 0,55 et 0,80, respectivement).

Dans l'objectif d'approfondir ce lien, une analyse ROC a été conduite. Malgré un test faiblement discriminant, la spécificité et la valeur prédictive négative respectivement de 92,3% et de 84,7% étaient élevées. Cela montre alors une bonne aptitude du test à dépister les vrais lots négatifs. Dans ce cas, le seuil optimal pour le taux d'anticorps moyen était de 0,79. Ainsi lorsque les conduites du pâturage sont connues comme peu à risque l'utilisation du taux d'anticorps pourrait permettre d'apporter une confirmation.

A.4. Utilisation du taux d'anticorps sur mélange de sérums

Dans cette étude, le RDO de mélange est significativement corrélé au RDO moyen. Le taux moyen pouvant présenter un intérêt pour dépister les vrais lots négatifs, le taux de mélange pourrait alors être utilisé à la place du taux moyen au vu de la corrélation. De plus, ce taux d'anticorps étant régulièrement utilisé dans les suivis parasitologiques de protocoles de recherche, cela pourrait permettre d'amoindrir les coûts de ces suivis, sans perdre d'information à l'échelle du lot. On constate cependant une concentration du mélange par rapport au taux d'anticorps moyen (Figure 14 ; droite de régression linéaire $y = 1.06x + 0.06$). Le seuil d'interprétation serait modifié par rapport au taux d'anticorps moyens. L'analyse ROC

fournit alors un seuil optimal de 0.79 pour les RDO sur sérums de mélange (avec comme gold standard le RDO moyen).

B. Validité des résultats

B.1. Bases de données

Les dosages de pepsinogène ont été réalisés par deux laboratoires : le laboratoire de parasitologie de l'unité mixte de recherche BIOEPAR (ONIRIS-INRAE) et le laboratoire public LABOCEA à Ploufragan. En tout, 87,2% (641/735) des dosages sur sérums individuels et 86.2% (106/123) des dosages sur sérums de mélange ont été réalisés à BIOEPAR. Ces deux laboratoires utilisant la même méthode d'analyse [41], on peut estimer que les résultats sont comparables. Toutefois, la reproductibilité du dosage n'étant pas documentée pour cette méthode d'analyse, on ne peut exclure une variabilité des résultats entre laboratoires, variabilité qui pourrait donc impacter les valeurs obtenues et les résultats de cette thèse.

B.2. Echantillonnage aléatoire

Afin de déterminer comment le choix des génisses prélevées dans le lot influençait la moyenne des taux de pepsinogène, des échantillonnages aléatoires ont été fait à partir de données enregistrées dans une base de données en 2016, mais les sérums n'ont pas été conservés. Autrement dit, si des tirages au sort basés sur les valeurs des dosages individuels ont été possibles pour recalculer à chaque tirage la moyenne, il n'a en revanche pas été possible de faire le dosage sur le mélange de sérums correspondant à chaque tirage. Les taux moyens de pepsinogène et les taux de pepsinogène de mélange de sérums étant corrélés, on pourrait être tenté de conclure que les aléas d'échantillonnage affectent le taux de pepsinogène obtenu sur mélange de sérums de la même manière qu'ils influencent le taux moyen. Cependant, il aurait été intéressant et plus rigoureux d'effectuer les dosages de pepsinogène sur les mélanges de sérums de chaque tirage au sort pour confirmer ou infirmer que le choix des génisses impacte le mélange et la moyenne de la même manière.

B.3. Incertitudes de mesures

Les incertitudes de mesures prises en compte concernant les dosages de pepsinogène étaient de 300 à 600 mUTyr/mL. Ces données sont issues du laboratoire LABOCEA. Il aurait été intéressant que l'incertitude soit calculée au moment où les analyses ont été effectuées, et ce, dans les deux laboratoires où les dosages ont été faits. Cela est d'autant plus important que les dosages de pepsinogène sont probablement faiblement reproductibles et que les résultats peuvent varier d'un laboratoire à un autre. Une meilleure connaissance des incertitudes de mesure aurait permis de prendre plus de recul sur les seuils d'interprétation, en indiquant si le seuil peut rester strict ou doit être considéré dans une gamme de valeurs plus ou moins large.

C. Extrapolation des résultats

C.1. Extrapolation à d'autres populations

Cette étude a été menée sur des génisses laitières en fin de première saison de pâture avec des conduites du pâturage variables en fonction des lots. Le dosage de pepsinogène sur sérum individuel est actuellement utilisé sur les génisses de seconde saison de pâture comme outil diagnostique à l'échelle du lot. Il serait donc envisageable de transposer les résultats obtenus sur les génisses en fin de première saison de pâtures aux génisses en fin de seconde saison de pâtures. En revanche, ce dosage devrait être couplé à d'autres indicateurs parasitologiques tel qu'une analyse de la conduite de pâturage de ces mêmes génisses lors de leur première saison. En effet, les génisses de deuxième saison de pâturage ont acquis une immunité partielle lors de leur première saison de pâture. Or, il a été montré que le taux de pepsinogène peut parfois être élevé alors que la charge parasitaire est faible chez les animaux immuns. Ainsi, on risquerait de sur-traiter et de retarder la fin de la mise en place de l'immunité. De plus, dans les lots d'animaux immuns, il n'est pas rare d'observer des taux de pepsinogène très élevés (environ 3000 mUTyr/mL) sur seulement quelques animaux. Dans les lots de seconde saison de pâturage, le risque qu'un seul sérum influence fortement le résultat du dosage sur mélange de sérums pourrait donc être plus grand que dans les lots de génisses de première saison de pâturage (cf. § IV.A.2.1).

On peut également se demander si nos résultats sont généralisables aux génisses des troupeaux allaitants. Actuellement, le dosage de pepsinogène sur les génisses allaitantes est très peu effectué, principalement pour des raisons de contentions, mais les résultats des dosages de pepsinogène sur mélange de sérums seraient transposables en prenant quelques points en considération : (i) la date de naissance du veau et (ii) l'installation de l'immunité. Pour les génisses de première saison de pâture, la date de la naissance du veau est essentielle. En effet, ceux nés en automne ont des besoins de croissance couverts en partie par une alimentation herbacée, le raisonnement est donc similaire aux génisses laitières. En revanche, les veaux nés en fin d'hiver sont très peu exposés aux parasites, la source principale d'alimentation étant lactée. Enfin, en deuxième saison de pâture, l'immunité des génisses allaitantes est acquise ou en fin d'acquisition. Un dosage de pepsinogène en cours de saison ou à la rentrée en stabulation peut être intéressant pour éviter des pertes zootechniques.

C.2. Extrapolation à d'autres périodes

Afin de déterminer le niveau d'infestation du lot, les prélèvements sanguins de cette étude ont été effectués à la rentrée en stabulation, période traditionnellement ciblée pour ces prélèvements en raison de la facilité de contention des animaux à ce moment-là. Cependant, des prélèvements à d'autres périodes considérées comme à risque pourraient être envisagés. En effet, des études ont montré que la période à risque se situait souvent 2 à 3 mois après la mise à l'herbe [54, 60], et pouvait s'étaler de juillet à octobre [10, 59]. Ploeger et al. (1994) [54] ainsi que Shaw et al. (1997) ont montré que le dosage de pepsinogène sérique moyen à la mi-saison (juillet/août ou 84 jours après la mise à l'herbe) semble être un bon indicateur prédictif de la croissance et des manifestations cliniques en fin de saison de

pâturage. Ainsi, le dosage de pepsinogène sur mélange de sérums pourrait être effectué en milieu de saison comme indicateur prédictif de la croissance et des manifestations cliniques.

D. Perspectives d'application

D.1. Perspectives d'application pratique

D.1.1. Réduction des coûts d'analyse

Un des enjeux de cette étude était la réduction du coût de l'analyse de pepsinogène afin que cet examen complémentaire puisse être réalisé de manière plus systématique avant la mise en place de traitement collectif, limitant ainsi la pression de sélection sur les populations de parasites. Le Tableau XXI compare les coûts, pour un lot de 20 génisses en fin de première saison de pâturage, des dosages de pepsinogènes sur sérums individuels, sur sérum de mélange et de l'utilisation à l'aveugle de traitements antiparasitaires.

Tableau XXI : Tableau comparatif des coûts lors de traitements à l'aveugle (Ivermectine ou Febendazole) ou après la réalisation de dosages de pepsinogène sur sérums individuels ou sur sérum de mélange.
NB : Prix issus du LABEO 61 et de la Clinique Vétérinaire des Avaloirs, Pré en Pail.

20 génisses de 300 kgs	Traitement du lot à l'aveugle sans examen complémentaire		Traitement après dosages individuels positifs		Traitement après dosage de mélange positif		Pas de traitement car dosages individuels négatifs	Pas de traitement car dosage de mélange négatif
	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)		
Visite	0€		26,48 €		26,48 €		26,48 €	26,48 €
Déplacement	0€		15 €		15 €		15 €	15 €
5 prises de sang	0€		12,50 €		12,50 €		12,50 €	12,50 €
5 dosages individuels	0€		55,10 €		55,10 €		55,10 €	55,10 €
1 dosage de mélange	0€		0 €		11,02 €		0 €	11,02 €
Prise en charge du GDS	0€		25,10 €		5,02 €		25,10 €	5,02 €
Coût du traitement : (1) VIRBAMEC® pour on (2) IVOMECC® injectable	173,06€	161,61€	173,06€	161,61€	173,06€	161,61€	0 €	0 €
Coût total	173,06€	161,61€	257,04€	245,59€	233,04€	221,59€	83,98 €	59,98 €

(1) VIRBAMEC® pour on (1 mL pour 10 kgs soit 600 mL pour le lot) : 1 flacon de 1L = 173,06€

(2) IVOMECC® injectable (1 mL pour 50kgs soit 120 mL pour le lot) : 1 flacon de 200 mL = 161,61€

Ainsi pour une analyse sur un mélange de sérums, on note :

- une économie de 101,63 à 113,08 euros en cas de résultat négatif (alors que l'économie ne serait que de 77,63 à 89,08 euros si des analyses individuelles avaient été faites)
- un coût supplémentaire de 59,98 euros en cas de résultat positif (alors que ce surcoût serait de 83,98 euros si des analyses individuelles avaient été faites)

D.1.2. Acceptabilité par les éleveurs de la mise en place de traitements raisonnés

Comme vu dans la partie précédente, le dosage de pepsinogène sur un mélange de sérums permet de diminuer les coûts d'analyses et devrait donc favoriser la mise en place de traitements raisonnés, c'est-à-dire des traitements administrés si et seulement si la nécessité du traitement est démontrée par des examens complémentaires valables. Cependant, le prix n'est pas le seul frein à l'utilisation de ses méthodes diagnostiques. En 2014, Orard [52] a recensé les freins et les motivations des éleveurs à la modification de leurs pratiques vis-à-vis des antiparasitaires.

Tableau XXII : Freins et motivations des éleveurs à changer leurs méthodes de contrôle des strongles digestifs (d'après Orard, 2014)

Freins des éleveurs	Motivations des éleveurs
Manque de connaissance sur le parasitisme	Simplicité
Manque de préoccupation	Praticité
Manque de temps	Gain économique
Les habitudes	Environnement
Manque de perception	Amélioration technique
Peur des risques de réduire l'usage des anthelminthiques	Santé publique

On constate donc que, si le coût des analyses peut constituer un frein à la mise en place de traitements ciblé et/ou sélectifs, ce frein est loin d'être l'unique facteur limitant. Charlier et al (2015)[18] ont également mis en avant les facteurs d'habitudes et de temps comme freins majeurs aux changements de pratiques des éleveurs. Le vétérinaire praticien doit alors jouer un rôle d'apport d'informations et de conseils concernant le parasitisme et la prévention face aux strongles gastro-intestinaux afin que les habitudes ne soient plus un frein à la mise en place de traitements raisonnés.

D.1.3. Place du vétérinaire dans la mise en place de traitements raisonnés

La visite sanitaire bovine 2020 (visite obligatoire financée par l'état, réalisée par le vétérinaire sanitaire de l'élevage permettant un échange entre l'éleveur et son vétérinaire sur un thème de discussion imposé et modifié chaque année) permet justement aux vétérinaires de sensibiliser les éleveurs aux enjeux liés à l'utilisation des antiparasitaires et de proposer des stratégies de traitements raisonnés. Les examens complémentaires ont alors toute leur place dans cette démarche et participent à la baisse de la pression de sélection et par conséquent à la baisse de l'émergence de résistances parasitaires. Encore faut-il que ces

examens complémentaires soient utilisés sur le terrain. Ainsi le vétérinaire praticien à un rôle primordial à jouer auprès des éleveurs pour faire évoluer les pratiques et impulser les changements. Cela passe tout d'abord par la communication d'informations concernant la gestion du parasitisme. Torres-Acosta et Hoste (2008)[68] ont d'ailleurs résumé les recommandations, passées et présentes, diffusées auprès des éleveurs (Tableau XXIII). On constate, que certaines recommandations actuelles sont à l'opposé de ce qui était préconisé dans le passé.

Tableau XXIII : Evolution des messages sur l'utilisation des traitements anthelminthiques (Traduit d'après Torres-Acosta et Hoste, 2008)

Message ancien	Message actuel	Qu'est ce qui a poussé au changement ?	Quel est le bénéfice attendu ?
Traiter puis déplacer	Déplacer puis traiter	Le développement de résistance	La préservation d'une population 'refuge', la prévention de l'apparition de résistance
Traiter l'ensemble d'un lot	Traiter seulement les animaux les plus infestés et/ou souffrant le plus des infestations	Les connaissances en épidémiologie (sur-dispersion des Charges parasitaires dans un lot)	La diminution de l'usage des AH, l'économie de traitements AH, la préservation d'une population 'refuge', la prévention de l'apparition de résistance
Utiliser exclusivement des AH	Combiner des AH avec des nouvelles approches	Le développement de résistance	La prévention de l'apparition de résistance, un contrôle durable des SGI
Traiter sans diagnostic	Réaliser un diagnostic puis traiter	Le développement de résistance	La prévention de l'apparition de résistance, l'économie de traitements AH, la préservation d'une population 'refuge'
Maximiser la productivité via des animaux sans vers	Miser sur des animaux résilients/résistants	Le développement de résistance, la promotion des races résistantes	La diminution de l'usage des AH, la prévention de l'apparition de résistance, la préservation d'une population 'refuge', la préservation des races locales
Autoriser des molécules AH chez les animaux en lactation	Interdiction de ces mêmes molécules chez les animaux en lactation	Importance accordée par les consommateurs aux résidus d'AH pouvant être retrouvés dans la chaîne alimentaire, meilleurs outils d'analyse	Le respect de la réglementation, la prévention des résidus d'AH dans la chaîne alimentaire

Les recommandations anciennes, basées sur un objectif de couverture antiparasitaire maximale pour maximiser les productions, pourraient expliquer pourquoi les éleveurs sont ancrés dans des habitudes de traitements non soutenues par des examens complémentaires. De plus, les contradictions entre les recommandations passées et futures créent une grande complexité dans les messages à faire passer aux éleveurs, et participent donc potentiellement à la résistance au changement.

Après une étude auprès de 50 vétérinaires praticiens, Merlin et al (2017)[47], a montré que les vétérinaires étaient conscients de devoir faire évoluer les pratiques concernant les traitements anthelminthiques. Il ressort également de cette étude unique que :

- une meilleure communication est à développer afin d'améliorer la relation vétérinaire-éleveur dans la gestion et la mise en place de nouvelles pratiques vis-à-vis des strongles digestifs
- l'offre de service en parasitologie reste à développer dans beaucoup de cliniques vétérinaires
- le manque d'outils diagnostiques « opérationnels, fiables et abordables » sont un frein au conseil en matière de parasitisme.

D.2. Perspective d'application en recherche

D.2.1. RDO sériques, GMQ et conduite de pâturage chez les génisses laitières

Le niveau d'anticorps anti-*Ostertagia* est un indicateur du niveau moyen d'exposition des génisses d'un lot aux strongles digestifs. Dorny et al. (1999) ont trouvé que le GMQ des génisses était négativement corrélé au niveau d'exposition et nous avons vu dans la partie III.D.2 que la spécificité et la valeur prédictive négative des taux moyens d'anticorps par rapport aux taux de pepsinogènes étaient élevées. Ainsi le RDO moyen présenterait une bonne aptitude à dépister les vrais lots négatifs. En 2017, A. Merlin [48] a montré que le meilleur compromis entre la spécificité (ne pas traiter les génisses qui ne nécessitent pas de traitement) et la sensibilité (traiter correctement les génisses qui nécessitent un traitement) était obtenu pour un seuil de RDO de 0.93 et un GMQ de 683 g/jour, mais il s'agissait d'analyses conduites à l'échelle individuelle. Aucune étude n'a testé l'utilisation du RDO moyen du lot dans le cadre d'un traitement ciblé. Ainsi une étude à propos du lien entre le RDO (moyen puis de mélange, les deux étant corrélés) et le GMQ en fonction du risque des conduites de pâturages pourrait être intéressante.

D.2.2. Traitement sélectif et outils diagnostiques

Le dosage de pepsinogène sur un mélange de sérums est un outil diagnostique assez simple à utiliser mais reste un examen à l'échelle du lot. Il s'agit donc d'un bon outil pour raisonner les traitements de lot (traitement ciblé), mais qui devra être associé à d'autres examens à l'échelle individuelle si le but est de mettre en œuvre un traitement ciblé-sélectif (c'est-à-dire un traitement seulement sur un nombre restreint de génisses appartenant à un lot ciblé comme à risque). En effet, le traitement sélectif reste l'idéal pour diminuer d'autant plus les pressions de sélection sur les parasites. Il permet de préserver une population refuge et, encore plus à la rentrée en stabulation car alors on ne peut pas compter sur la population

refuge constituée par les larves sur les pâtures puisque les animaux n'y ont plus accès. Le traitement, alors à appliquer à l'échelle individuelle, nécessite des outils diagnostiques mais également des indicateurs peu coûteux, rapides et fiables à l'échelle individuelle. Certains indicateurs comme le dosage de pepsinogène sérique ou l'excrétion fécale d'œufs de strongles digestifs ont déjà été évalués afin de mettre en place une stratégie de traitement sélectif ; l'étude de O'Shaughnessy et al (2015)[51] a permis la réduction de l'utilisation des anthelminthiques de 50% chez les génisses en combinant les données de l'excrétion fécale et de la concentration en pepsinogène sérique comme facteurs décisionnels. La mise en place d'un outil diagnostique qui prendrait en compte plusieurs paramètres simples comme le gain moyen quotidien (GMQ), la note d'état corporelle (NEC), l'aspect du poil serait intéressant, surtout que plusieurs études ont montré des résultats prometteurs concernant le GMQ comme indicateur dans une stratégie de traitement sélectif [47].

D'autre part, en 2019, Högberg et al [35] se sont intéressés à l'effet des strongles digestifs sur l'activité des génisses de première saison de pâture. Il ressort de cette étude qu'une augmentation dans le nombre de périodes de couchage est bien corrélée à une augmentation des taux de pepsinogène 85 jours après la mise à l'herbe. Ainsi, un changement d'activité, enregistré par des capteurs, pourrait également contribuer à l'identification des individus les plus infestés.

Conclusion générale

Cette étude met en évidence une variabilité des moyennes de pepsinogène obtenues en fonction du choix des génisses prélevées dans un lot donné. Cela signifie que la thérapeutique globale du lot peut être modifiée en fonction des individus prélevés, et ce peu importe la taille initiale du lot. Or, jusqu'à présent, ces aléas d'échantillonnage n'étaient pas documentés et donc non pris en compte dans l'interprétation diagnostique. Cela suggère que d'autres indicateurs parasitologiques ainsi que l'aspect général des animaux prélevés seraient intéressants à prendre en compte en complément du dosage de pepsinogène sérique afin de mieux raisonner la thérapeutique d'un lot.

D'autre part, la comparaison des taux de pepsinogène moyens et de mélange a permis de mettre en évidence que le dosage effectué sur un mélange de sérums présente un intérêt diagnostique à l'échelle du lot. Il a été montré que les craintes initiales concernant l'utilisation de ce mélange de sérums (augmentation du taux à cause d'un seul sérum et maximisation de l'incertitude de mesure) existent mais dans une proportion négligeable. Une application pratique apparaît donc envisageable. Elle permettrait de réduire les coûts des examens complémentaires, notamment chez les génisses de première saison de pâturage. Ces analyses seraient alors plus souvent réalisées et la mise en place de traitements ciblés facilitée. La diminution de la fréquence des traitements à l'aveugle permettrait alors de limiter l'émergence de résistances dans les populations parasitaires.

Enfin, cette étude confirme l'absence de relation linéaire entre le taux de pepsinogène et le taux d'anticorps anti-*Ostertagia ostertagi*, et donc, l'absence d'intérêt diagnostique du taux d'anticorps anti-*Ostertagia ostertagi* chez les génisses en fin de première saison de pâturage.

Références bibliographiques

- [1] Agneessens J, Claerebout E, Dorny P, Borgsteede FHM, Vercruysse J (2000). Nematode parasitism in adult dairy cows in Belgium. *Vet Parasitol*, 90:83–92.
- [2] Anderson N (1988). Aspects of the biology of *Ostertagia ostertagi* in relation to the genesis of ostertagiasis. *Vet Parasitol*, 27:13–21.
- [3] Anderson R. (2000). *Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission*. CABI Publ, 672 p.
- [4] Anderson N, Armour J, Jarrett WFH, Jennings FW, Ritchie JSD, Urquhart GM (1965). A field study of parasitic gastritis in cattle. *Vet Rec*, 77:1196-1204.
- [5] Anderson N (1988). Aspects of the biology of *Ostertagia ostertagi* in Relation to the Genesis of Ostertagiasis. *Vet Parasitol*, 27:13–21.
- [6] ANSES Index des médicaments vétérinaires autorisés en France. .
- [7] Armour J (1970). Bovine ostertagiosis : a review. *Vet Rec*, 86:184–190.
- [8] Armour J (1980). The epidemiology of helminth disease in farm animals. *Vet Parasitol*, 6:7–46.
- [9] Armour J (1989). The influence of host immunity on the epidemiology of trichostrongyle infections in cattle. *Vet Parasitol*, 32:5–19.
- [10] Armour J, Duncan M (1987). Arrested larval development in cattle nematodes. *Parasitol Today*, 3:171–176.
- [11] Barger I (1997). Control by management. *Vet Parasitol*, 72:493–506.
- [12] Berghen P, Dorny P, Vercruysse J (1987). Evaluation of a simplified blood pepsinogen assay. *Am J Vet Res*, 48:664–9.
- [13] Berghen P, Hilderson H, Vercruysse J, Dorny P (1993). Evaluation of pepsinogen, gastrin and antibody response in diagnosing ostertagiasis. *Vet Parasitol*, 46:175–195.
- [14] Boucher C (2013). L'excrétion coproscopique d'œufs de strongles digestifs chez les bovins laitiers adultes : évaluation de trois techniques coproscopiques et facteurs de variation de l'excrétion au niveau individuel et troupeau. Thèse Dr vétérinaire ONIRIS, 120 p.
- [15] Charlier J, Demeler J, Höglund J, Samson-himmelstjerna G Von, Dorny P, Vercruysse J (2010). *Ostertagia ostertagi* in first-season grazing cattle in Belgium , Germany and Sweden : General levels of infection and related management practices. *Vet Parasitol*, 171:91–98.
- [16] Charlier J, Dorny P, Levecke B, Demeler J, von Samson-Himmelstjerna G, Höglund J, et al. (2011). Serum pepsinogen levels to monitor gastrointestinal nematode infections in cattle revisited. *Res Vet Sci*, 90:451–456.
- [17] Charlier J, Hoglund J, Georg Von Samson-himmelstjerna, Dorny P, Vercruysse J (2009). Gastrointestinal nematode infections in adult dairy cattle : Impact on production , diagnosis and control. *Vet Parasitol*, 164:70–79.

- [18] Charlier J, Velde F Vande, van der Voort M, Van Meensel J, Lauwers L, Cauberghe V, et al. (2015). ECONOHEALTH: Placing helminth infections of livestock in an economic and social context. *Vet Parasitol*, 212:62–67.
- [19] Charlier J, Vercruyssen J, Smith J, Stryhn H, Claerebout E, Dohoo I (2010). Evaluation of anti- *Ostertagia ostertagi* antibodies in individual milk samples as decision parameter for selective anthelmintic treatment in dairy cows. *Prev Vet Med*, 93:147–152.
- [20] Charlier J, Voort M Van Der, Kenyon F, Skuce P, Vercruyssen J (2014). Chasing helminths and their economic impact on farmed ruminants. *Trends Parasitol*, 1–7.
- [21] Chartier C, Ravinet N, Hoste, Jacquiet P, Merlin A, Chauvin A (2018). Résistance aux anthelminthiques et traitement raisonné contre les strongles gastro-intestinaux chez les bovins et les petits ruminants. *Bull des GTV, Numero Spe*:17.
- [22] Chauvin A. Agoulon A. L’Hostis M. CC (2013). Strongyloses des ruminants. *Polycopié d’enseignement Oniris, UV82*, 13:39.
- [23] Claerebout E, Vercruyssen J (2000). The immune response and the evaluation of acquired immunity against gastrointestinal nematodes in cattle: a review. *Parasitology*, 120:25–42.
- [24] Claerebout E, Vercruyssen J, Dorny P, Demeulenaere D, Dereu A (1998). The effect of different infection levels on acquired resistance to gastrointestinal nematodes in artificially infected cattle. *Vet Parasitol*, 153–167.
- [25] Craig TM (2018). Gastrointestinal Nematodes, Diagnosis and Control. *Vet Clin North Am - Food Anim Pract*, 34:185–199.
- [26] Dorny P, Shaw DJ, Vercruyssen J (1999). The determination at housing of exposure to gastrointestinal nematode infections in first-grazing season calves. *Vet Parasitol*, 80:325–340.
- [27] Dorny P, Vercruyssen J (1998). Evaluation of a micro method for the routine determination of serum pepsinogen in cattle. *Res Vet Sci*, 65:259–262.
- [28] Eysker M, Ploeger HW (2000). Value of present diagnostic methods for gastrointestinal nematode infections in ruminants. *Parasitology*, 120:109–119.
- [29] Forbes AB, Warren M, Upjohn M, Jackson B, Jones J, Charlier J, et al. (2009). Associations between blood gastrin, ghrelin, leptin, pepsinogen and *Ostertagia ostertagi* antibody concentrations and voluntary feed intake in calves exposed to a trickle infection with *O. ostertagi*. *Vet Parasitol*, 162:295–305.
- [30] Fox MT (1997). Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants : recent developments. *Vet Parasitol*, 72:285–308.
- [31] Fox MT, Gerrelli D, Pitt SR, Jacobs DE, Hart IC, Simmonds AD (1987). Endocrine effects of a single infection with *Ostertagia ostertagi* in the calf. *Int J Parasitol*, 17:1181–1185.
- [32] Gasbarre LC, Leighton EA, Sonstegard T (2001). Role of the bovine immune system and genome in resistance to gastrointestinal nematodes. *Vet Parasitol*, 98:51–64.
- [33] Gross SJ, Ryan WG, Ploeger HW (1999). Anthelmintic treatment of dairy cows and its effect on milk production. *Vet Rec*, 144:581–587.
- [34] Hilderson H (1991). Gastrin and Pepsinogen Changes During an *Ostertagia ostertagi*

Challenge Infection in Calves. 32:25–32.

- [35] Högberg N, Lidfors L, Hesse A, Arvidsson Segerkvist K, Herlin A, Höglund J (2019). Effects of nematode parasitism on activity patterns in first-season grazing cattle. *Vet Parasitol X*, 1:1–7.
- [36] Höglund J, Morrison DA, Charlier J, Dimander SO, Larsson A (2009). Assessing the feasibility of targeted selective treatments for gastrointestinal nematodes in first-season grazing cattle based on mid-season daily weight gains. *Vet Parasitol*, 164:80–88.
- [37] Höglund J, Svensson C, Hesse A (2001). A field survey on the status of internal parasites in calves on organic dairy farms in southwestern Sweden. *Parasitol Res*, 99:113–128.
- [38] IDELE Maîtrise du risque parasitaire lié aux strongles digestifs en troupeaux bovins laitiers. http://idele.fr/no_cache/recherche/publication/idelesolr/recommends/maitrise-des-strongyloses-gastro-intestinales-en-troupeaux-bovins-laitiers.html. Accessed 18 Oct 2019.
- [39] Kerboeuf D (2004). Apport des tests de laboratoire dans le diagnostic des strongyloses gastro-intestinales des ruminants et le choix des traitements. *Bull Acad Vet Fr*, 17.
- [40] Kerboeuf D, Le Garff G, Mage C (1981). Forecasting of bovine abomasal worm burden by means of serum pepsinogen measurement. Study on suckling calves and heifers in first and second grazing season. *Ann Rech Vet*, 12:201–213.
- [41] Kerboeuf D, Koch C, Le Dréan E, Lacourt A (2002). Méthode simplifiée de mesure de la concentration en pepsinogène dans le sérum. *Rev Med Vet (Toulouse)*, 153:707–712.
- [42] Keus A, Kloosterman A, Van Den Brink R (1981). Detection of antibodies to *Cooperia* spp. and *Ostertagia* spp. in calves with the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Vet Parasitol*, 8:229–236.
- [43] Klesius PH (1988). Immunity to *Ostertagia ostertagi*. *Vet Parasitol*, 27:159–167.
- [44] Klesius PH, Haynes SM, Washburn T. (1986). Serum antibody response to soluble extract of the third-larval stage of *Ostertagia ostertagi* in cattle. *Vet Parasitol*, 20:307–314.
- [45] Kloosterman A, Albers GAA, Van den Brink R (1984). Negative interactions between *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora* in calves. *Vet Parasitol*, 15:135–150.
- [46] Larsson A, Uggla A, Waller PJ, Höglund J (2011). Performance of second-season grazing cattle following different levels of parasite control in their first grazing season. *Vet Parasitol*, 175:135–140.
- [47] Merlin A (2017). Optimisation de l'usage des antiparasitaires chez le génisse laitière en vue de prévenir le risque d'émergence de populations de strongles digestifs résistants : développement d'une stratégie de traitement sélectif. Thèse de doctorat ONIRIS. 208.
- [48] Merlin A, Chauvin A, Lehebel A, Brisseau N, Froger S, Bareille N, et al. (2017). End-season daily weight gains as rationale for targeted selective treatment against gastrointestinal nematodes in highly exposed first-grazing season cattle. *Prev Vet Med*, 138:104–112.
- [49] Merlin A, Chauvin A, Madouasse A, Froger S, Bareille N, Chartier C (2016). Explaining variability in first grazing season heifer growth combining individually measured



- parasitological and clinical indicators with exposure to gastrointestinal nematode infection based on grazing management practice. *Vet Parasitol*, 225:61–69.
- [50] Michel JF (1985). Strategies for the use of anthelmintics in livestock and their implications for the development of drug resistance. *Parasitology*, 621–628.
- [51] O’Shaughnessy J, Earley B, Mee JF, Doherty ML, Crosson P, Barrett D, et al. (2015). Controlling nematodes in dairy calves using targeted selective treatments. *Vet Parasitol*, 209:221–228.
- [52] Orard M (2014). Etude qualitative des pratiques des éleveurs de bovins laitiers en matière de gestion du parasitisme - Freins et motivations pour des traitements raisonnés - Rapport de stage de 2^{ème} année en agronomie. Institut de l’élevage. .
- [53] Ploeger HW, Kloosterman A, Borgsteede FHM, Eysker M (1990). Effect of naturally occurring nematode infections in the first and second grazing season on the growth performance of second-year cattle. *Vet Parasitol*, 36:57–70.
- [54] Ploeger HW, Kloosterman A, Rietveld FW, Berghen P, Hilderson H, Hollanders W (1994). Quantitative estimation of the level of exposure to gastrointestinal nematode infection in first-year calves. *Vet Parasitol*, 55:287–315.
- [55] Puyt JD PH (2016). Médicaments antiparasitaires. Polycopié d’enseignement Oniris, UV81 .
- [56] Ravinet N (2014). Développement de stratégie de maîtrise des strongyloses gastro-intestinales des vaches laitières rationalisant les traitement anthelminthiques. Thèse de doctorat ONIRIS. 200.
- [57] Ravinet N, Chauvin A, Duvauchelle Waché A (2015). UMT Maitrise de la santé des troupeaux bovins, guide d’intervention pour la maitrise du risque parasitaire lié aux strongles digestifs en troupeaux bovins laitiers. 121.
- [58] Ravinet N, Vermeyse R, Dréan E Le, Chauvin A (2013). Ostertagiose et pepsinogène sérique : interprétations du dosage de pepsinogène sérique dans l’ évaluation de l’ infestation des bovins par *Ostertagia Ostertagi*. *Le Nouv Prat*, 6:1–11.
- [59] Raynaud JP, Bouchet A (1976). Bovine ostertagiosis, a review. Analysis of types and syndromes found in France by post mortem examinations and total worm counts. *Ann Rech Vet*, 7:253–280.
- [60] Shaw DJ, Vercruysse J, Claerebout E, Dorny P (1998). Gastrointestinal nematode infections of first-grazing season calves in Western Europe : general patterns and the effect of chemoprophylaxis. *Vet Parasitol*, 115–131.
- [61] Shillhorn Van Veen TW (1988). Evaluation of abomasal enzyme and hormone levels in the diagnosis of ostertagiasis. *Vet Parasitol*, 27:139–149.
- [62] Soulsby EJ. (1982). Helminthes, arthropods and protozoa of domesticated animals, 7th edition. Baillière Tindall Ed, 212–258.
- [63] Stringfellow F, Madden PA (1979). Effects of *Ostertagia ostertagi* on pepsinogen granules of chief cells from calf abomasa correlated with selected plasma and abomasal proteins. *Proc Helminthol Soc Wash*, 46:233–239.
- [64] Stromberg BE (1997). Environmental factors influencing transmission. *Vet Parasitol*,

72:247–264.

- [65] Sutherland IA, Leathwick DM (2011). Anthelmintic resistance in nematode parasites of cattle: A global issue? *Trends Parasitol*, 27:176–181.
- [66] Taylor M., Coop R., Wall R (2007). *Veterinary parasitology*. 3ème édition Oxford Blackwell Pub, 874p.
- [67] Thienpont D, Rochette F, OFJ V (1995). *Diagnostic de verminose par examen coprologique*. 2eme édition. Janssen Res. Found. .
- [68] Torres-Acosta JFJ, Hoste H (2008). Alternative or improved methods to limit gastrointestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Rumin Res*, 77:159–173.
- [69] Tuo W, Li L, Lv Y, Carrillo J, Brown D, Davis WC, et al. (2016). Abomasal mucosal immune responses of cattle with limited or continuous exposure to pasture-borne gastrointestinal nematode parasite infection. *Vet Parasitol*, 229:118–125.
- [70] Vercruyse, J., Dorny, P., Berghen, P. and Geeraerts J (1986). Abomasal parasitism in dairy cows in Belgium. *Vet Parasitol*, 22:285–291.
- [71] Vercruyse J, Claerebout E (1997). Immunity development against *Ostertagia ostertagi* and other gastrointestinal nematodes in cattle. *Vet Parasitol*, 72:309–326.

Annexes

Annexe 1 : Protocole du dosage de pepsinogène utilisé au laboratoire de l'unité BIOEPAR-INRAE

 <p>Unité BioEPAR</p> <p>Mode Opérateur</p> <p>Dosage du pepsinogène sérique bovin</p> <p>Réf: EPID-MO-04 Version : 4.0 Date : 09/05/19 Page : 1 / 6</p>	 <p>Unité BioEPAR</p> <p>Mode Opérateur</p> <p>Dosage du pepsinogène sérique bovin</p> <p>Réf: EPID-MO-04 Version : 4.0 Date : 09/05/19 Page : 2 / 6</p>
<p>Mise à disposition des exemplaires</p> <ul style="list-style-type: none"> - Utilisateurs : Mode Opérateur disponible dans la feuille titre « pepsinogène » (salle d'immunologie) - Serveur Simba (Groupes transversaux GT qualité 03_Doc Qualité BioEPAR/Immunologie) 	<p>II / REACTIFS</p> <p>Hydroxyde de sodium (NaOH) : ref Sigma S3881</p> <p>Solution à 0,5M : 10,3 g pastilles pour 500 ml d'eau déminéralisée <i>Remarque : se garde 3 mois à température ambiante</i></p> <p>Solution à 0,6M : 12,36 g pastilles qsp 500 ml d'eau déminéralisée <i>Remarque : se garde 3 mois à température ambiante</i></p> <p>Acide chlorhydrique (HCl) : ref Sigma S4426</p> <p>Solution à 6M : 26,26 ml HCl concentré qsp 50 ml d'eau déminéralisée</p> <p>Solution à 1M : 43,78 ml HCl concentré qsp 500 ml d'eau déminéralisée</p> <p>Tampou Sorensen :</p> <p>Solution A : Glycine (Eurobio ref:GEPGL Y00-65) 3,754 g NaCl (ref Sigma S7633) 2,974 g Eau déminéralisée qsp 50 ml <i>Remarque : se garde à 4°C</i></p> <p>Tampou Sorensen : Solution A 19,10 ml HCl 1N (ref: Merck 109057) 30,90 ml Eau déminéralisée qsp 500 ml <i>Remarque : se garde 3 mois à 4°C</i></p> <p>Hémoglobine bovine dénaturée (Hb)</p> <p>Hb mère : 50mg/ml (conserver 15 à 21 jours à -4°C)</p> <p>Hb (ref Sigma H2625 – stockée à -4°C) 02,00 g Eau déminéralisée 40,00 ml <i>Agiter pendant une heure pour réhydrater la solution</i> <i>Remarque : se garde 15 à 21 jours à 4°C</i></p> <p>Hb fille : à préparer au moment de l'emploi au 1/5</p> <p>Hb mère (après réhydratation) 6 ml Tampou Sorensen 24 ml <i>Remarque : ajuster le pH à 1,9 avec quelques gouttes de HCl 1N ou de NaOH 0,5N</i></p>
<p>Service responsable</p> <p>Parasitologie bovine</p> <p>Rédacteur Nom : D.MENARD Fonction : TR Visa :</p> <p>Vérificateur Nom : N.BRISSEAU Fonction : AI Visa :</p> <p>Approbateur Nom : A.CHAUVIN Fonction : Pr Visa :</p>	<p>I / PRINCIPE :</p> <p>Le pepsinogène est transformé en pepsine en milieu acide à 37°C. La pepsine libérée agit en milieu acide sur un substrat protéique, en libérant des radicaux aromatiques. Les radicaux aromatiques sont ainsi dosés (tyrosine).</p> <p>OBJECTIF :</p> <p>Le pepsinogène sérique permet de mettre en évidence indirectement la présence de strongles (<i>Ostertagia ostertagi</i>) dans la caillette, d'évaluer l'intensité des lésions, de connaître les vagues d'infestations au cours d'une saison d'herbe, ou de mesurer l'efficacité d'un traitement. Ce dosage biochimique est effectuée à partir de sérum ou de plasma (uniquement recolté sur citrate de sodium). Attention à l'EDTA ou l'héparine qui peuvent perturber la réaction (dans ce cas ne pas faire l'analyse), ainsi qu'à la présence d'hémolyse qui fait varier le pH (le modifier avec le rendu du résultat).</p>

 Unité BioEPAR	Mode Opérateur	Réf : EPID-MO-04
	Dosage du pepsinogène sérique bovin	Version : 4.0 Date : 09/05/19 Page : 3 / 6

Acide trichloroacétique (TCA) 10

TCA (Sigma T4885 – stocké à -4°C) 50 g
Eau déminéralisée qsp 500 ml

Remarque : se garde 3 mois à température ambiante

L-Tyrosine

(conservée en aliquots de 300µL à -20°C) :
Préparer une solution mère à 1g/L
L-Tyrosine (Sigma, réf. 93830 ou T8566-25G) 50 mg
TCA 10 % (Sigma réf. T 4885) 50 ml

10 µg/ml	1 ml solution mère	Compléter avec du
20 µg/ml	2 ml solution mère	TCA 10% dans une
30 µg/ml	3 ml solution mère	fiole jaugée à 100
40 µg/ml	4 ml solution mère	ml
50 µg/ml	5 ml solution mère	

*Remarque : Solutions, flûtes se gardent plus d'un an à -20°C
Remarque : il est obligatoire de tester la gomme (valeurs R¹ a et b avant toute utilisation et congélation en aliquots)*

Réactif de FOLIN au 1/3

Dilution au 1/3 de la solution
Folin (réf : Sigma F9252 - stocké à +4°C) 4 ml
Eau déminéralisée 8 ml


Remarque : se garde à 4°C à l'abri de la lumière

Témoin positif

Pour faire un témoin positif, il faut pooler au moins 20 sérums (minimum). Le plus grand nombre possible est le mieux) ayant une valeur comprise entre 1200 et 1800 mU-Tyrosine/ml. Il est nécessaire de le doser afin de vérifier la valeur de l'échantillon. Aliquoter par 250µL, bien identifier et conserver à -20°C.

III / PETIT MATERIEL ET CONSOMMABLES

Tubes à hémolyse non stériles en plastique (polypropylène)
Agiateur et barreau magnétique
Râpés de 50 ml, 5 ml et 2,5 ml
Pipettes 200 µl et 1000 µl
Pipette multi distributeur
Pipettes 200 µl et 1000 µl
Microplaques 96 puits à fond plat standards NUNC (Dutscher, réf 055140)
Manitèr
Fioles, béchers

 Unité BioEPAR	Mode Opérateur	Réf : EPID-MO-04
	Dosage du pepsinogène sérique bovin	Version : 4.0 Date : 09/05/19 Page : 4 / 6

IV / APPAREIL

Encre à 37°C
Balance
Réfrigérateur à 4°C
Vortex
Centrifugeuse (Eppendorf 5810 R)
pH mètre
Spectrophotomètre : lecteur de microplaque-filtre 750 nm

V / MODE OPERATOIRE

> Production de pepsine et attaque de l'hémocytoblaste - Tour 1 (T1)

Préparer 3 tubes pour chaque échantillon, et un témoin + par manipulation : (26 échantillons par plaque et un témoin positif)

	Tube A	Tube B	Tube C
Sérum	100µl		100µl
H ₂ O	500µl	500µl	
TCA			1000µl

Agiter les tubes A et C au vortex puis recouvrir le portoir d'une feuille d'aluminium.
Incuber 22h dans l'encre à 37°C.


> Arrêt de la réaction - Tour 2 (T2)


Agiter le tube C au vortex puis le transférer dans le tube B.
Ajouter 1000 µl de TCA 10% dans le tube A pour arrêter la réaction, à l'aide d'un compte-gouttes de 50 µl et agiter les tubes A et B au vortex.
Centrifuger les tubes A et B pendant 5 minutes à 2200 tours/minute (programme 2).

> Préparation de la gamme étalon de tyrosine (GE)

Tube A :

Concentration GE	Volume GE	NaOH 0.5N	Folin (à déposer au dernier moment)
10 µg/ml	250 µl	500 µl	150 µl
20 µg/ml	250 µl	500 µl	150 µl
30 µg/ml	250 µl	500 µl	150 µl
40 µg/ml	250 µl	500 µl	150 µl
50 µg/ml	250 µl	500 µl	150 µl

 Unité BioEpaR	Mode Opérateur	Ref : EPID-MO-04 Version : 4.0 Date : 09/05/19 Page : 5 / 6
	Dosage du pepsinogène sérique bovin	

 Unité BioEpaR	Mode Opérateur	Ref : EPID-MO-04 Version : 4.0 Date : 09/05/19 Page : 6 / 6
	Dosage du pepsinogène sérique bovin	

Tube B : faire 3 tubes

TCA 10%	NaOH 0,5N	Folin (à déposer au dernier moment)
250 µl	500 µl	150 µl

> Préparation des échantillons

Echantillon (surageant)	NaOH 0,6N	Folin (à déposer au dernier moment)
Tube A	250 µl	500 µl
Tube B	250 µl	500 µl

> Coloration

Préparer la dilution de la solution de Folin. Déposer 150µl de cette solution dans les tubes A et B de la gamme étalon et des échantillons (en commençant de préférence par le dépôt dans les tubes B). Lancer le minuteur sur 30 min et bien vortexer les tubes.

Déposer 300µl de la gamme étalon et des échantillons selon le plan de plaque suivant :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Ty10 T86.A	Ty10 T86.A	Serum 1 T86.B	Serum 3 T86.A	Serum 1 T86.B	Serum 11 T86.A	Serum 11 T86.B	Serum 11 T86.A	Serum 11 T86.B	Serum 19 T86.A	Serum 19 T86.B	Serum 20 T86.A
B	Ty20 T86.A	Ty20 T86.A	Serum 4 T86.B	Serum 4 T86.A	Serum 4 T86.B	Serum 12 T86.A	Serum 12 T86.B	Serum 12 T86.A	Serum 12 T86.B	Serum 20 T86.A	Serum 20 T86.B	Serum 21 T86.A
C	Ty30 T86.A	Ty30 T86.A	Serum 5 T86.B	Serum 5 T86.A	Serum 5 T86.B	Serum 13 T86.A	Serum 13 T86.B	Serum 13 T86.A	Serum 13 T86.B	Serum 21 T86.A	Serum 21 T86.B	Serum 22 T86.A
D	Ty40 T86.A	Ty40 T86.A	Serum 6 T86.B	Serum 6 T86.A	Serum 6 T86.B	Serum 14 T86.A	Serum 14 T86.B	Serum 14 T86.A	Serum 14 T86.B	Serum 22 T86.A	Serum 22 T86.B	Serum 23 T86.A
E	Ty50 T86.A	Ty50 T86.A	Serum 7 T86.B	Serum 7 T86.A	Serum 7 T86.B	Serum 15 T86.A	Serum 15 T86.B	Serum 15 T86.A	Serum 15 T86.B	Serum 23 T86.A	Serum 23 T86.B	Serum 24 T86.A
F	Serum 1 T86.A	Serum 1 T86.B	Serum 8 T86.B	Serum 8 T86.A	Serum 8 T86.B	Serum 16 T86.A	Serum 16 T86.B	Serum 16 T86.A	Serum 16 T86.B	Serum 24 T86.A	Serum 24 T86.B	Serum 25 T86.A
G	Serum 2 T86.A	Serum 2 T86.B	Serum 9 T86.B	Serum 9 T86.A	Serum 9 T86.B	Serum 17 T86.A	Serum 17 T86.B	Serum 17 T86.A	Serum 17 T86.B	Serum 25 T86.A	Serum 25 T86.B	Serum 26 T86.A
H	Serum 3 T86.A	Serum 3 T86.B	Serum 10 T86.B	Serum 10 T86.A	Serum 10 T86.B	Serum 18 T86.A	Serum 18 T86.B	Serum 18 T86.A	Serum 18 T86.B	Serum 26 T86.A	Serum 26 T86.B	Serum 27 T86.A

Il est important de ne pas oublier de faire un plan de plaque papier.
Noter la température de la pièce sur le cahier de laboratoire

> Lecture

La mesure de la densité optique (DO) s'effectue à 750 nm au lecteur de microplaque. Exporter les résultats sur la clé USB à disposition.

> Résultats

$$\text{Sérum (au } U^{\text{optimal}}) = \frac{(\text{DO moyenne A} - \text{DO moyenne B}) \cdot b}{a}$$

Avec :
DO = Densité Optique
a = coefficient directeur de la droite de régression linéaire de la gamme étalon
b = ordonnée à l'origine

Enregistrer le fichier dans le logiciel Révélation sous la forme :

« pepsi_..._annumjPx »

avec :
 _ = espace ;
 aa = année ;
 mm = mois ;
 jj = jour ;
 Px = numéro de la plaque (s'il y en a plusieurs)

Ouvrir un ancien fichier « pepsi » (à partir d'avril 2019 soit pepsi 190401).

Enregistrer sous (dans le dossier correspondant aux sauvegardes des résultats) en modifiant la date du fichier comme indiqué précédemment.

Modifier et renvoyer le nom des échantillons dans l'onglet.

Ouvrir les résultats sauvegardés sur la clé USB et les ouvrir avec Excel.

Sélectionner l'ensemble de la page, copier et coller ses résultats sur le fichier final « pepsi 19... », dans l'onglet data.

Vérifier les valeurs de *a*, *b* et du témoin positif avant de valider les résultats.

La valeur de *R*² doit être comprise entre 0,98 et 0,999. La valeur de *b* inférieur à 0,05, et le témoin positif supérieur à 1500 mUnité de Tyrosine/ml. Enregistrer les valeurs de *a* et témoin positif dans le dossier « suivi des témoins ». Noter les valeurs de *a* et *b* dans le cahier de laboratoire.

Imprimer la page « Résultats » et l'archiver dans le classeur « Analyses » dans le labo de Diag (et un autre exemplaire si besoin selon le protocole de recherche).

Les résultats doivent être validés par un supérieur hiérarchique.

VI / REFERENCE

Publication :
 D. KERBOEUF, C. KOCH, E. LE DREAN, A. LACOURT : Méthode simplifiée de mesure de la concentration en pepsinogène dans le sérum. Revue Méd. Vét., 2002

SVANOVIR® O. *ostertagi*-Ab

Ostertagia ostertagi

Test d'anticorps

Contenu	N° d'article 10-2940-02
Microplaque / Microtitre plate Microplaque (96 puits) sensibilisée avec l'antigène non infectieux d' <i>O. ostertagi</i> (scellée et gardée au sec)	2 (Barrettes) 12 x 8
Conjugué / Conjugate Prêt à l'emploi (anticorps monoclonal anti-IgG de bovins conjugué à la peroxydase)	1 x 24 mL
Solution PBS-Tween / PBS-Tween Solution Concentrée 20 fois	1 x 125 mL
Solution de substrat / Substrate Solution ABTS - CONSERVER A L'OBSCURITE !	1 x 50 mL
Solution stop / Stop Solution Contient 1% SDS	1 x 25 mL
A. Sérum contrôle positif / Positive Control Serum - Contient des conservateurs	1 x 2.5 mL
B. Sérum contrôle négatif / Negative Control Serum - Contient des conservateurs	1 x 2.5 mL

Cette notice concerne le kit
 SVANOVIR® *O. ostertagi*-Ab kit : Article
 number 10-2940-02

Ostertagia ostertagi

Test d'anticorps

Nom et application

SVANOVIR® *O. ostertagi*-Ab est un kit immuno-enzymatique (ELISA) pour la détection d'anticorps spécifiques dirigés contre *O. ostertagi* dans les laits de tank. La détection des anticorps anti-*Ostertagia ostertagi* dans les échantillons de lait de bovin est un bon indicateur du niveau d'infection, ce qui fait de cet outil un instrument intéressant pour déterminer la nécessité d'un contrôle vermifuge.

Information générales

Ostertagia ostertagi est l'un des nematodes gastro-intestinaux les plus répandus dans le bétail à travers le monde. Le parasite a un cycle de vie comprenant deux phases différentes : la première phase en liberté dans les pâturages, et la deuxième phase comme un parasite chez l'hôte, infestant la caillette. Comme *Ostertagia ostertagi* est présent dans les pâturages, tous les bovins des régions à climat tempéré sont exposés au parasite.

Les larves de stade 1 se développent à partir des œufs dans les fèces, puis muent en larves de second stade. L'ingestion d'herbe contaminée par des larves de stade 3, qui se sont développées à partir du deuxième stade larvaire et toujours enfermées dans une gaine, conduira à l'infestation réelle. Les larves du troisième stade pénètrent dans les glandes gastriques de la caillette dans les 6 heures après l'ingestion. Le développement d'adulte du quatrième stade a lieu. Ces vers adultes vont alors émerger vers la lumière de la caillette. L'infestation de nématode dans les vaches adultes est principalement subclinique, mais peut conduire à une diminution de la production de lait. Il est important de déterminer le niveau d'infestation et la nécessité d'un traitement vermifuge.

Principe

La méthode du kit repose sur un test immuno-enzymatique indirect en phase solide (ELISA). Dans cette méthode, les échantillons de laits sont exposés à l'antigène *O. ostertagi* non infectieux dans les puits de la barrette de microtitrage. Les anticorps anti-*O. ostertagi* (si présents dans l'échantillon de sérum) se lient à l'antigène dans les puits. Le conjugué HRP qui est ajouté ensuite forme un complexe avec ces anticorps anti-*O. ostertagi*. L'excès non lié est éliminé par rinçages avant l'ajout de la solution de substrat. Une couleur bleu-vert se développe qui est due à la conversion du substrat par le conjugué. Un résultat positif est indiqué par l'apparition d'une couleur bleu-vert. La réaction est arrêtée par l'ajout de la solution d'arrêt. Le résultat est lu par un spectrophotomètre pour microplaque, où la densité optique (DO) est mesurée à 405 nm.

Matériels nécessaires mais non fournis

1. Micropipettes de précision
2. Embouts jetables pour micropipette
3. Eau distillée, déionisée ou de l'eau ultrapure
4. Pipetteur à canaux multiples ou laveur de microplaques
5. Récipient de 1 à 2 litres pour le PBSTween
6. Spectrophotomètre à microplaques (filtre de 405 nm)

Information sur les échantillons

Lait:

100µl de lait écrémé sont nécessaires pour chaque puits. Des échantillons frais, réfrigérés ou congelés sont utilisables. Les échantillons de lait doivent être centrifugés pendant 15 minutes à 2000 x g pour enlever la couche de lipide. Sinon, laisser les échantillons de lait reposer jusqu'à ce que la couche de graisse se forme sur le dessus de l'échantillon. Pipeter sous la couche de graisse.

Préparation des réactifs

Tampon PBS-Tween:

Diluer au 1/20 la solution concentrée de PBS-Tween dans de l'eau purifiée. Préparer 500 ml par plaque en diluant 25 ml dans 475 ml d'eau et bien mélanger.

N.B Avant la dilution, s'assurer qu'il ne reste pas de cristaux dans le tampon. Pour dissoudre les restes de cristaux, réchauffer et bien mélanger.

Précautions

1. Lire attentivement les instructions et s'y conformer strictement.
2. Conserver le kit et tous les réactifs entre 2 - 8°C.
3. Laisser les réactifs atteindre la température ambiante entre 18-25°C avant utilisation.
4. Manipuler tout le matériel conformément aux bonnes pratiques de laboratoire.
5. Ne pas mélanger les composants ni les manuels de différents lots de kits.
6. Prendre soin d'éviter toute contamination des composants du kit.
7. Respecter la date de péremption du kit.
8. Ne pas manger, boire, ni fumer là où sont manipulés les échantillons et les réactifs.
9. Changer d'embout de micropipette pour chaque échantillon.
10. Ne jamais pipeter à la bouche.
11. Inclure des contrôles de sérum négatif et positif sur chaque plaque ou série de barrettes.
12. N'utiliser que de l'eau distillée, déionisée ou ultrapure pour la préparation des réactifs.
13. Lors de la préparation des tampons, mesurer le volume requis.
14. L'élimination des matériaux biologiques doit être réalisée dans le respect des réglementations locales, régionales et nationales.

Recommandations !

Le volume des réactifs est suffisant pour au moins 8 tests séparés.

Les barrettes dont l'emballage est ouvert peuvent être conservées entre 2-8°C pendant 4 semaines au maximum.

Interprétation

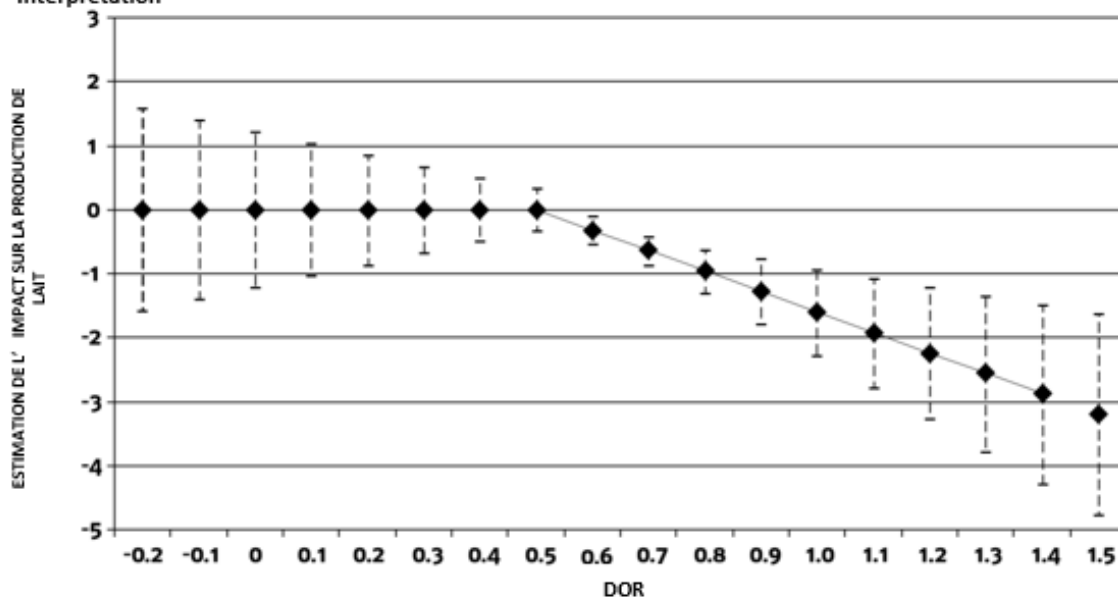


Figure 1

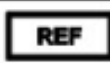









Pour évaluer l'importance de l'infestation par les nématodes gastro-intestinaux dans un troupeau, la valeur de DOR du lait de tank doit être reportée sur la ligne. L'effet probable de l'infestation sur le rendement laitier moyen du troupeau est lu sur l'axe Y.

References

1. Sanchez J., Dohoo I., Nødtvedt A., Keefe G., Markham F., Leslie K., DesCôteaux L., Campbell J., 2002. A longitudinal study of gastrointestinal parasites in Canadian dairy farms The value of an indirect *Ostertagia ostertagi* ELISA as a monitoring tool. *Vet. Parasitol.* 107, 209-226.
2. Charlier J., Duchateau L., Claerebout E., Vercruyse J., 2005. Assessment of the repeatability of a milk *Ostertagia ostertagi* ELISA and effects of sample preparation. *Preventive Veterinary Medicine* 68, 277-288.
3. Charlier J., Claerebout E., Duchateau L., Vercruyse J., 2005. A survey to determine relationships between bulk tank milk antibodies against *Ostertagia ostertagi* and milk production parameters. *Veterinary Parasitology* 129, 67-75.
4. Charlier J., Duchateau L., Claerebout E., Vercruyse J., 2007. Predicting milk-production responses after an autumn treatment of pastured dairy herds with eprinomectin. *Veterinary Parasitology* 143, 197-390.

The test has been developed in co-operation with the Department of Virology, Parasitology and Immunology- Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Belgium

Symbols

	Article No.
	Serial (batch) No.
	Temperature limit
	Expiry date
	Corrosive
	Number of tests
	See manual
	Manufacturer
	Telephone
	Fax



Produit par SVANOVA
Distribué par BIOSELLAL SAS
Bâtiment Accinov
317 Avenue Jean Jaurès
69007 LYON
France



+33 (0) 4 26 78 47 60

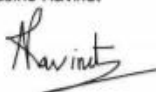
Support technique
+33 (0) 4 26 78 47 60
contact@biosellal.com

Permis d'imprimer

Vu: L'enseignant Rapporteur

De l'Ecole Nationale Vétérinaire,
Agroalimentaire et de l'Alimentation
Oniris

Nadine Ravinet



Vu: La Directrice Générale

De l'Ecole Nationale Vétérinaire,
Agroalimentaire et de l'Alimentation
Oniris

Laurence Deflesselle

Par ordre et par délégation



Oniris
ÉCOLE NATIONALE
D'ÉTUDES VÉTÉRINAIRES, AGROALIMENTAIRES ET DE L'ALIMENTATION
SANTÉ ET ALIMENTATION AU CŒUR DE LA VIE
Sandy LECOQ-ESPALLARGAS

Nantes, le 23/11/20 Directrice des Etudes
et de la Vie Etudiante

Vu:

Le Président de la Thèse

Professeur P. LUSTENBERGER



Vu:

Le Doyen de la Faculté de
Médecine de Nantes

Professeur Pascale JOLLIET

Vu et permis d'imprimer

NOM : GAOUÏ
Prénom : Siphaine

DIAGNOSTIC DE L'OSTERTAGIOSE CHEZ LES GENISSES EN FIN DE PREMIERE SAISON DE PATURAGE : EVALUATION DE L'INTERET DU PEPSINOGENE DE MELANGE ET DU NIVEAU D'ANTICORPS ANTI-OSTERTAGIA OSTERTAGI.

RESUME

Le dosage de pepsinogène sérique est un examen complémentaire permettant de quantifier l'infestation par *O. ostertagi* des génisses de première saison de pâturage. Afin d'établir un diagnostic de lot, au moins 5 génisses doivent être prélevées et c'est la moyenne des 5 dosages qui est interprétée.

Cette étude visait à :

- quantifier la variabilité des moyennes en fonction des aléas d'échantillonnage de 5 génisses par lot
- évaluer l'intérêt diagnostique du mélange de sérums
- évaluer la relation entre taux de pepsinogène et taux d'anticorps anti-*Ostertagia* (mesurés par ELISA).

Des taux de pepsinogène et d'anticorps anti-*Ostertagia* ont été déterminés sur 736 génisses issues de 124 lots répartis dans 96 élevages. Les moyennes des taux individuels ont été calculées pour chaque lot et comparées aux taux mesurés sur le mélange des sérums contribuant à la moyenne. Dans les lots de plus de 6 génisses, des tirages au sort de 5 animaux ont été effectués, et la moyenne issue de chaque tirage a été calculée et comparée à la moyenne du premier tirage. Dans 19,4% des cas, les moyennes des taux de pepsinogène obtenues en fonction du choix des génisses dans le lot se distribuaient de part et d'autre du seuil de 1500 mUTyr indiquant que la thérapeutique du lot est modifiée par ce choix. De plus, les taux de pepsinogène moyens et de mélange étaient corrélés, soulignant l'intérêt diagnostique du pepsinogène de mélange. Le coût de cet examen pourrait être diminué facilitant la mise en œuvre de traitements raisonnés. Enfin, aucune relation linéaire n'a été mise en évidence entre les taux de pepsinogène et d'anticorps anti-*Ostertagia* : l'ELISA ne peut donc remplacer le dosage de pepsinogène.

MOTS CLES

Génisses - Pâturage – Strongle digestif – *Ostertagia ostertagi* – Pepsinogène – Test ELISA

JURY Président : Monsieur Patrick LUSTENBERGER, *Professeur à la faculté de Médecine de Nantes*

Rapporteur : Madame Nadine RAVINET, *Maître de conférence à ONIRIS*

Assesseur : Monsieur Alain CHAUVIN, *Professeur à ONIRIS*

ADRESSE DE L'AUTEUR

Typhaine GADOIS
85 La Butte
61250 LE MENIL – BROÛT

ADRESSE DE L'IMPRIMEUR

LA COREP,
20, avenue René Laënnec -Université du
Maine
72000 – LE MANS