

ONIRIS - ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE, AGROALIMENTAIRE ET DE L'ALIMENTATION
NANTES ATLANTIQUE

ANNÉE 2020

**ÉLABORATION D'UN PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL VISANT À
ÉVALUER UN ALIMENT COMPLÉMENTAIRE DANS LE CONTRÔLE
DES INFESTATIONS PAR LES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX
CHEZ LES GÉNISSES EN PREMIÈRE SAISON DE PÂTURAGE**

THÈSE

pour le

diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement

Le 27 novembre 2020

devant

la Faculté de Médecine de Nantes

par

Julie Eugénie DESROCHES

Née le 12 juillet 1993 à Essey-lès-Nancy (54)

JURY

Président : Monsieur Patrick LUSTENBERGER, Professeur à la Faculté de Médecine de Nantes

Rapporteur : Monsieur Alain CHAUVIN, Professeur en Parasitologie à ONIRIS, Nantes

Assesseur : Madame Nadine RAVINET, Maître de Conférences à ONIRIS, Nantes

ONIRIS - ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE, AGROALIMENTAIRE ET DE L'ALIMENTATION
NANTES ATLANTIQUE

ANNÉE 2020

**ÉLABORATION D'UN PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL VISANT À
ÉVALUER UN ALIMENT COMPLÉMENTAIRE DANS LE CONTRÔLE
DES INFESTATIONS PAR LES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX
CHEZ LES GÉNISSES EN PREMIÈRE SAISON DE PÂTURAGE**

THÈSE

pour le

diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement

Le 27 novembre 2020

devant

la Faculté de Médecine de Nantes

par

Julie Eugénie DESROCHES

Née le 12 juillet 1993 à Essey-lès-Nancy (54)

JURY

Président : Monsieur Patrick LUSTENBERGER, Professeur à la Faculté de Médecine de Nantes

Rapporteur : Monsieur Alain CHAUVIN, Professeur en Parasitologie à ONIRIS, Nantes

Assesseur : Madame Nadine RAVINET, Maître de Conférences à ONIRIS, Nantes

Liste des membres du corps enseignant 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'Elevage 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)
Elevage, 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	Éric Betti (MC) Claude Guintard (MC)	Claire Douart (MC)
Pathologie chirurgicale et anesthésiologie	Éric Aguado (MC HDR) Éric Goyenville (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 Lebail (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 Semenou (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 de cette thèse est autorisée avec mention de la source. Toute reproduction partielle doit être fidèle au texte utilisé. Cette thèse devra donc être citée en incluant les éléments bibliographiques suivants :

- Nom et prénoms de l'auteur : Julie Eugénie Desroches
- Année de soutenance : 2020
- Titre : Élaboration d'un protocole expérimentale visant à évaluer un aliment complémentaire dans le contrôle des infestations par les strongles gastro-intestinaux chez les génisses en première saison de pâturage
- Intitulé du diplôme : Thèse de doctorat vétérinaire
- Université de soutenance : Faculté de Médecine de Nantes
- École de soutenance : Oniris, École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de L'alimentation Nantes Atlantique
- Nombre de pages : 94 p.

Remerciements

Au président du jury, Monsieur Patrick LUSTENBERGER,

Professeur émérite de la faculté de médecine de Nantes,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse,

Très sincères remerciements.

À mon tuteur de thèse, Monsieur Alain CHAUVIN,

Professeur de parasitologie à l'École Nationale Vétérinaire de Nantes,

Pour m'avoir guidée pendant la réalisation de ce travail et pour votre gentillesse,

Très sincères remerciements.

À Madame Nadine RAVINET,

Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire de Nantes,

Pour vos conseils et pour avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse en tant qu'assesseur,

Très sincères remerciements.

À mes parents,

Pour tout votre amour, votre soutien indéfectible depuis toujours et votre disponibilité de tous les instants. C'est en grande partie grâce à vous si je suis arrivée où j'en suis aujourd'hui.

Papa, pour ton dynamisme et ton investissement dans le travail que tu as su me transmettre,

Maman, pour toujours avoir été présente pour m'écouter dans les bons et les mauvais moments,
Merci infiniment. Je vous aime fort.

À mon frère, Alain,

Pour tous les moments de complicité que nous avons partagés ensemble depuis notre enfance et ceux que nous partagerons encore,

Un très grand merci.

À mon grand-père, papi Maurice,

Pour l'inspiration et la valeur du travail que tu as su me donner, ton affection discrète mais sincère, et tous les souvenirs heureux à tes côtés que je garderai,

Tu resteras toujours dans mes pensées. J'espère que tu es fier de moi.

À mes autres grands-parents,

Pour tous les souvenirs heureux à vos côtés,

Un grand merci.

À mes amis de Collège, de Lycée et de Prépa,

Samuel, Amélie, Anne, Dorian, Cécile, Alice et tous les autres,

Pour tous les moments passés ensemble et ceux que nous partagerons encore par la suite, même avec la distance et nos emplois du temps parfois difficilement compatibles.

À Céline,

Pour ces cinq années passées ensemble et tous les souvenirs que nous avons, nos aventures parfois rocambolesques, nos rires, nos discussions, nos moments de complicité, ton soutien sans faille dans les moments plus difficiles, et le récit de la fan fiction déjà bien alimenté (souvent malgré nous mais c'est drôle). Merci de toujours m'avoir écoutée sans jamais me juger. J'ai beaucoup de chance d'avoir une amie comme toi dans ma vie.

Un très grand merci.

À Marie,

Pour ces années passées ensemble à l'école, des cours magistraux au groupe de clinique, tous les autres moments de complicité et de discussions que nous avons partagés, ton soutien attentif quand j'en avais besoin. Je suis tellement heureuse que tu fasses partie de ma vie et j'ai hâte de continuer à partager la suite de nos aventures avec toi.

Pour toutes les soirées jeu de rôle où tu as toujours su canaliser nos aventures farfelues et toutes nos idées exubérantes,

Un très grand merci.

À Claire,

Pour ces cinq années passées ensemble, les bons moments passés ensemble et encore ceux à venir je l'espère, tes talents d'auteur de fan fiction en rotation d'équinoxe qui ont permis d'inspirer le tournage de la fameuse scène du foin. Je te souhaite le meilleur pour la suite,

Un très grand merci.

À Mégane,

Pour ta gentillesse et ta motivation de toute épreuve, dans le travail et le reste. J'espère que nous arriverons à nous revoir de temps en temps et faire des nouvelles soirées ensemble. Je te souhaite le meilleur dans ce nouveau chapitre de vie qui commence,

Un très grand merci.

À Clarisse, ma presque coloc,

Pour ces trois années passées ensemble dans la maison du Piccot, ta présence et ton écoute pendant le confinement, nos soirées films où tu as subi la trilogie du seigneur des anneaux en version longue (sauf le premier, il faudra y remédier), et nos repas raffinés (avec de la coriandre bien évidemment).

J'espère que nous pourrons nous revoir malgré la distance,

Un très grand merci.

À Camille, mon Roméo,

Pour notre rencontre récente mais déjà très précieuse à mes yeux, notre complicité naturelle, nos discussions, nos confessions mutuelles, ton obstination à vouloir me faire rester dans la région, notre passion commune pour la cuisine, nos sorties kayak,... J'espère que ce n'est que le début. La relève du Piccot est bien assurée !

Un très grand merci.

À Joël, le Parrain de Gachet,

Merci d'avoir toujours été un propriétaire au service de ses locataires (plus ou moins réactif selon les moments) et pour ta gentillesse,

Merci pour les grillades, les parties de pétanque, ton rire qui résonne dans tout le quartier, le récit de toutes tes péripéties, et tes invitations à manger où nous devons cuisiner nous-mêmes,

Un grand merci.

À Baptiste,

Après une rencontre inattendue et des débuts un peu difficiles, tu fais désormais partie de ma vie et tu sais quelle place tu tiens aujourd'hui... Même si tu m'esquintes de temps en temps (merci pour cette expression qui reste particulièrement bien en tête).

Merci pour l'amour et l'attention que tu m'apportes au quotidien, ta patience et ton écoute quand j'en ai besoin.

Un très grand merci.

À l'ensemble des vétérinaires des différentes cliniques où j'ai effectué mes stages tout au long de mes années d'études,

Pour m'avoir chaleureusement accueillie dans vos structures,

Pour m'avoir accompagnée et formée avec bienveillance et gentillesse à travers des échanges très riches d'enseignements.

Un très grand merci chères consœurs et chers confrères.

Merci d'avoir conforté mon envie d'exercer ce métier à travers vos expériences très formatrices !

« Je suis le maître de mon destin, je suis le capitaine de mon âme »

Invictus, William Ernest Henley

Sommaire

Liste des figures	14
Liste des tableaux	15
Liste des abréviations	16
Introduction	17
Partie I : Étude bibliographique	18
I. Contexte et enjeux des infestations des jeunes bovins en première saison de pâturage	18
a) Importance et présentation générale des strongles gastro-intestinaux	18
b) Conséquences médicales des strongyloses gastro-intestinales	19
c) Conséquences zootechniques et économiques	22
II. Problématiques actuelles de l'usage des anthelminthiques	24
a) Résistances aux anthelminthiques	24
b) Impact environnemental : problème de l'écotoxicité des anthelminthiques	30
c) Retard dans l'acquisition de l'immunité	33
III. Stratégies alternatives de maîtrise des strongyloses gastro-intestinales	37
a) Mesures agronomiques de gestion du pâturage	40
b) Alimentation et utilisation de plantes à activité anthelminthique	45
c) Lutte biologique contre les stades libres	50
d) Au niveau de l'hôte : stimulation de l'immunité	52
Partie II : Étude expérimentale	57
I. Mise au point d'un protocole expérimental	57
a) Objectifs de l'étude	57
b) Choix des animaux	57
c) Période de suivi et mise en pratique de l'essai	60
d) Choix des analyses	61
❖ Coproscopies avec la technique mini-FLOTAC	61
❖ Dosage du pepsinogène sérique	68
❖ Coprocultures	73
❖ Comptage des larves présentes dans l'herbe	78
II. Proposition d'un protocole	80
III. Projection et objectifs des analyses statistiques	82
IV. Conclusion	85
Bibliographie	86

Liste des figures

Figure 1 : Cycle parasitaire d' <i>Ostertagia ostertagi</i>	19
Figure 2 : Mécanisme physiopathologique lors d'une infestation par <i>O. ostertagi</i>	20
Figure 3 : Succession saisonnière des différents types d'ostertagiose chez les jeunes bovins	22
Figure 4 : Effet de la pression de sélection sur l'apparition des résistances.....	26
Figure 5 : Conséquences de l'acquisition de l'immunité chez les bovins contre <i>O. ostertagi</i>	33
Figure 6 : Organisation générale de la réponse immunitaire adaptative contre les SGI.....	34
Figure 7 : Stratégies de contrôle d'une infestation par les SGI	39
Figure 8 : Exemple de résultat du risque parasitaire donné par Parasit'Sim	41
Figure 9 : Mycélium de <i>D. flagrans</i> avec piège hyphal sur une larve de SGI.....	51
Figure 10 : Fill-FLOTAC et mini-FLOTAC.....	63
Figure 11 : Composants du mini-FLOTAC	64
Figure 12 : Œufs de strongles observés au microscope optique	66
Figure 13 : Œuf de <i>Nematodirus</i>	66
Figure 14 : Relation entre le taux de pepsinogène et la charge parasitaire.....	70
Figure 15 : Nombre moyen de strongles dans la caillette selon le taux de pepsinogène	71
Figure 16 : Dispositif proposé pour réaliser une coproculture.....	74
Figure 17 : Méthode de Baermann.....	74
Figure 18 : Morphologie générale d'une larve L3 de strongles digestifs	75
Figure 19 : Larve L3 d' <i>Ostertagia ostertagi</i> recueillie dans l'herbe	79
Figure 20 : Déroulement et organisation de l'essai.....	81
Figure 21 : Suggestion de présentation de la base de données pour un lot de génisses.....	82
Figure 22 : Dictionnaire des variables	82

Liste des tableaux

Tableau I : Principaux anthelminthiques strongylicides utilisés chez les bovins en France.....	27
Tableau II : Teneurs en TC de différents fourrages	46
Tableau III : Études <i>in vitro</i> sur l'activité AH de plantes contre les SGI chez les bovins.....	49
Tableau IV : Études <i>in vivo</i> sur l'activité AH de plantes contre les SGI chez les bovins	49
Tableau V : Étapes de la coproscopie avec la technique mini-FLOTAC	65
Tableau VI : Interprétation des résultats de la coproscopie	67
Tableau VII : Interprétation du taux de pepsinogène sérique avec la méthode de dosage INRA	72
Tableau VIII : Critères de diagnose des principales larves de SGI rencontrées chez les bovins.....	76
Tableau IX : Répartition des génisses dans les élevages participant à l'essai	80
Tableau X : Périodes de suivi en pâturage	81

Liste des abréviations

AH : Anthelminthique(s)

GMQ : Gain Moyen Quotidien

IFN : Interféron

IL : Interleukine

LM : Lactones Macrocycliques

LMR : Limite Maximale de Résidus

OPG : Œufs Par Gramme de fèces

PES : Produits d'Excrétion et Sécrétion

PSP : Première Saison de Pâturage

RT-PCR : Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

SGI : Strongles Gastro-Intestinaux

TCE : Temps de Contact Effectif

TC : Tanins Condensés

TCS : Traitement Ciblé et Sélectif

Introduction

Les strongyloses gastro-intestinales sont des parasitoses systématiques du tube digestif des bovins ayant accès au pâturage. Elles affectent négativement les productions des bovins à court et long terme (retard de croissance chez les jeunes, baisse de production laitière chez les adultes, ...), ce qui explique les conséquences économiques parfois importantes dans les élevages où ces infestations, qui évoluent de manière chronique, ne sont pas contrôlées. Jusqu'à présent, la stratégie de lutte de ces infestations reposait essentiellement sur le recours à des traitements anthelminthiques. Désormais, leur utilisation, parfois aléatoire et excessive, est remise en cause face à plusieurs limites. En effet, l'usage de ces molécules constitue une pratique à risque vis-à-vis du développement de résistances. Ces résistances peuvent conduire à une impasse thérapeutique suite à des échecs répétés aux traitements mis en place. Des résistances ont déjà été décrites pour la famille des lactones macrocycliques (El-Abdellati et al., 2010) dont les molécules sont actuellement privilégiées par les éleveurs, notamment en raison de la facilité d'administration des formulations « pour-on » et de leur activité rémanente.

De plus, on sait aujourd'hui que les résidus de certains anthelminthiques ont un impact environnemental non négligeable, notamment sur la microfaune coprophage prairiale (Lumaret et al., 2012 ; Virlouvét et al., 2006). Cette écotoxicité, de plus en plus prise en compte, renforce cette volonté globale de réduire le recours aux anthelminthiques chimiques usuels.

Enfin, les strongles gastro-intestinaux constituent une dominante parasitaire dans les premières années de vie des bovins en raison d'une immunité absente ou insuffisante. L'excès de traitements peut entraîner un retard d'installation de l'immunité chez les jeunes animaux naïfs exposés. En effet, lors des strongyloses gastro-intestinales, une immunité concomitante (ou immunité de prémunition) se met en place et nécessite un contact régulier et continu avec les parasites sur plusieurs mois pour obtenir une immunité protectrice complète mais qui ne persiste pas en cas de disparition des parasites chez l'hôte. L'enjeu majeur des infestations par les strongles gastro-intestinaux est donc de trouver un juste équilibre entre le contact avec les parasites permettant l'acquisition d'une immunité solide et efficace, et le maintien d'un niveau d'infestation suffisamment bas compatible avec les objectifs économiques de l'éleveur qui ne pénalise pas la croissance des animaux. De ce fait, le développement de nouvelles approches de maîtrise apparaît de plus en plus nécessaire pour pérenniser les possibilités de gestion de ce parasitisme.

Cette thèse sera organisée en deux parties : d'abord une étude bibliographique centrée sur les problèmes des strongyloses gastro-intestinales chez les jeunes bovins, les limites actuelles posées par le recours aux anthelminthiques puis les stratégies alternatives de maîtrise de ces infestations, puis, une étude expérimentale qui décrira et justifiera la démarche d'élaboration du protocole expérimental pour évaluer l'effet d'un aliment complémentaire à visée préventive dans le contrôle des infestations par les strongles gastro-intestinaux sur des génisses en première saison de pâturage, afin de proposer un protocole pour un essai de ce type.

Partie I : Étude bibliographique

I. Contexte et enjeux des infestations des jeunes bovins en première saison de pâturage

a) Importance et présentation générale des strongles gastro-intestinaux

Les strongles gastro-intestinaux (SGI) sont des vers ronds (nématodes) de l'ordre des *Strongylida*, qui parasitent le tube digestif des bovins. Mondialement répandus, ils sont retrouvés de manière systématique chez tous les bovins ayant accès au pâturage, l'infestation ayant lieu par ingestion de larves infestantes présentes dans l'herbe pâturée. Dans les zones tempérées comme en France, onze espèces de SGI d'importance variable sont communément recensées (Kilani et al., 2003).

Ostertagia ostertagi, localisée dans la caillette, et *Cooperia oncophora*, localisée dans l'intestin grêle, sont les deux espèces les plus fréquemment retrouvées chez les bovins lors de leur première saison de pâturage, mais *Ostertagia* a un pouvoir pathogène plus important que *Cooperia*. Les autres espèces de SGI sont généralement considérées comme secondaires, comme *Trichostrongylus axei* (caillette), *Nematodirus helvetianus* (intestin grêle) et *Oesophagostomum radiatum* (gros intestin).

Le cycle parasitaire évolutif des SGI est de type monoxène semi-direct et caractérisé par la succession de deux phases :

- Une **phase externe** sur les pâtures : les œufs sont émis dans les bouses des bovins infestés et évoluent dans l'herbe en trois stades larvaires jusqu'au 3^{ème} stade larvaire infestant (L3). Les larves L3 constituent la forme de résistance dans le milieu extérieur grâce à la gaine protectrice qui les entoure (exuvie du stade L2). Cette résistance explique la survie des larves L3 pendant l'hiver (on parle alors de larves transhivernantes) et la contamination résiduelle des parcelles lors de la mise à l'herbe l'année suivante. La durée d'évolution de cette phase libre dépend fortement des conditions environnementales (température, hygrométrie, oxygénation). Pour *Ostertagia ostertagi*, elle est de 5 à 7 jours lorsque la température est stable et comprise entre 22°C et 26°C (Stromberg, 1997). La température régule la vitesse de développement des œufs jusqu'aux larves L3. En période hivernale, la chute progressive de la température entraîne un fort ralentissement voire un arrêt de ce développement. De plus, le niveau d'humidité du milieu joue un rôle important dans la capacité de migration des larves et leur répartition sur les parcelles (Stromberg, 1997).
- Une **phase interne** chez le bovin : les larves infestantes L3 ingérées par le bovin pénètrent dans les glandes de la paroi digestive (caillette ou intestin grêle selon l'espèce parasitaire) et muent en larves L4. Lorsque les conditions extérieures sont défavorables au développement parasitaire (période hivernale), les larves L4 peuvent entrer en hypobiose, entraînant un arrêt momentané du cycle. Si ce n'est pas le cas, elles regagnent la lumière digestive et muent en pré-adultes avant d'acquies leur maturité sexuelle. Les adultes matures peuvent se reproduire et les femelles pondent des œufs qui sont ensuite excrétés dans les matières fécales. Lorsque l'évolution des stades parasitaires au sein du bovin est continue, la période prépatente,

correspondant à la durée entre l'infestation par les larves L3 et la ponte des femelles matures, est de 21 jours pour *Ostertagia ostertagi*, et entre 12 et 15 jours pour *Cooperia oncophora* (Charlier et al., 2020).

- Lorsque les conditions extérieures deviennent défavorables (baisse de la température, diminution de la photopériode), le développement parasitaire chez l'hôte peut s'interrompre au moment du 4^{ème} stade larvaire (Armour & Duncan, 1987). En effet, les larves L4 sont capables d'entrer dans un état de « dormance » pendant lequel elles restent inactives et inertes par un mécanisme d'inhibition métabolique. On parle de phénomène d'**hypobiose**. Les larves L4 d'*Ostertagia ostertagi* peuvent s'enkyster dans la muqueuse de la caillette jusqu'à 6 mois. En effet, jusqu'à 80 % des larves L4 sont en hypobiose sur la période s'étendant d'octobre à mars (Armour & Duncan, 1987). De plus, lorsque la densité de vers adultes est trop élevée, un phénomène de compétition densité-dépendant se met en place pour limiter l'installation de nouveaux parasites et diminuer leur fécondité. Ce phénomène, de même que pour l'hypobiose, permet parfois d'expliquer la faible corrélation entre le niveau d'excrétion fécale d'œufs et la charge parasitaire (Charlier et al., 2020).



Figure 1 : Cycle parasitaire d'Ostertagia ostertagi

b) Conséquences médicales des strongyloses gastro-intestinales

Les bovins infestés subissent deux types d'effets liés à la présence des strongles dans le tube digestif :

- Des **effets directs** : la pénétration des larves L3 dans les glandes gastriques puis leur sortie après leur mue en larves L4 ont une action traumatique directe sur la muqueuse gastrique. L'infestation par *Ostertagia ostertagi* entraîne une baisse de la sécrétion acide dans la caillette et des modifications physiologiques et histologiques au niveau de la muqueuse abomasale (Charlier et al., 2020). En effet, l'accumulation de vers adultes entraîne une hyperplasie de la muqueuse et une inhibition de l'activité des cellules pariétales, augmentant rapidement le pH abomasal de 2 à 7 (Fox, 1997). Ces effets sont liés à la présence des vers adultes qui libèrent au niveau de la muqueuse des produits d'excrétion-sécrétion (PES), principalement constitués de protéases et de molécules à activité anti-coagulante. En l'absence d'acide chlorhydrique

(HCl), le pepsinogène ne peut plus être converti en pepsine, la forme active de l'enzyme, et comme la perméabilité vasculaire est augmentée en raison du phénomène inflammatoire, le pepsinogène accumulé dans les glandes gastriques parasitées passe dans la circulation sanguine, entraînant une élévation du taux de pepsinogène sanguin. Ces PES induisent aussi la formation de facteurs pro-inflammatoires dans la muqueuse qui participent également à altérer la fonction des cellules pariétales. Après plusieurs semaines d'infestation, une diminution progressive du nombre de cellules pariétales est observée (Mihi et al., 2013). Les cellules à mucus et les cellules zymogènes sécrétrices du pepsinogène sont progressivement remplacées par des cellules indifférenciées (Taylor et al., 1989). De plus, la perte des jonctions serrées entre les cellules glandulaires entraîne une fuite de protéines plasmatiques vers la lumière de la caillette qui perturbe le métabolisme protéique (comme les synthèses protéiques musculaires), et peut même conduire à une hypoalbuminémie en cas de fortes infestations.

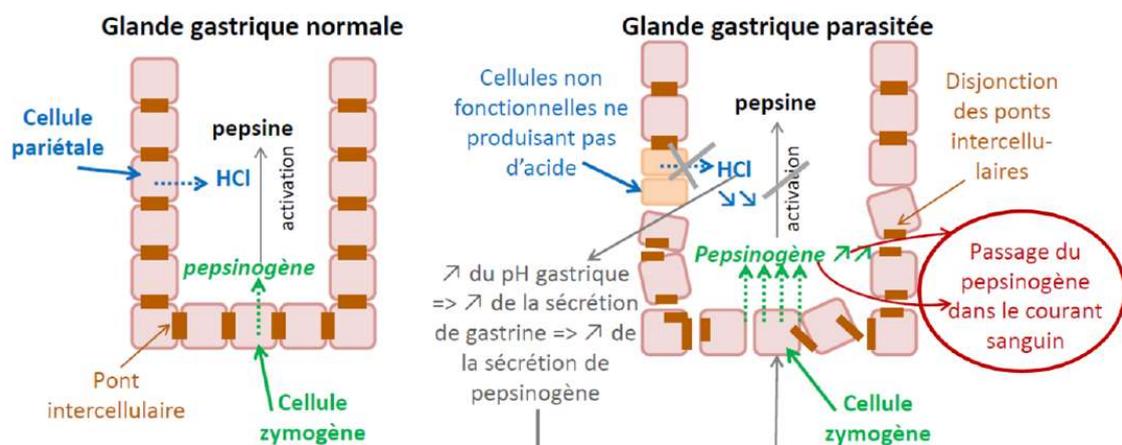


Figure 2 : Mécanisme physiopathologique lors d'une infestation par *O. ostertagi* (Ravinet et al., 2015)

L'infestation dans l'intestin grêle par *Cooperia oncophora*, essentiellement au niveau du duodénum et du jéjunum, va plutôt entraîner une atrophie et un épaississement des villosités, accompagnés d'une hypersécrétion de mucus (Charlier et al., 2020). L'effet pathogène isolé de *C. oncophora* est moins important que *O. ostertagi*. En effet, des manifestations cliniques liées uniquement à une infestation à *C. oncophora* sont rarement visibles. L'action spoliatrice du parasite liée à son régime chymivore ayant un impact sur le métabolisme protéique de l'hôte, l'infestation va plutôt se manifester sous des formes subcliniques. C'est souvent l'association mixte de plusieurs espèces de SGI localisées dans différentes portions du tube digestif qui va engendrer des manifestations cliniques plus ou moins marquées, sous la forme d'une gastro-entérite parasitaire (diarrhée, déshydratation, anorexie, amaigrissement, atteinte de l'état général,...), notamment si les espèces *C. oncophora* et *O. ostertagi* sont présentes simultanément.

- Des **effets indirects** : ils sont liés à la réponse de l'hôte. En effet, la présence de vers adultes a pour conséquence une infiltration de la sous-muqueuse par des cellules inflammatoires mononuclées et des éosinophiles (Charlier et al., 2020). Les PES stimulent également la réponse immunitaire.

Selon la charge parasitaire, l'infestation par les SGI entraîne une diminution plus ou moins importante de la prise alimentaire qui peut aller jusqu'à l'anorexie. Chez les animaux infestés par *O. ostertagi*, cette réduction peut atteindre jusqu'à 20 % et entraîner une perte de poids en 7 à 10 jours (Taylor et al., 1989). Plusieurs causes ont été évoquées pour expliquer la baisse d'ingestion spontanée chez les bovins infestés : des changements hormonaux, la variation du pH abomasal et des modifications de la population bactérienne (Holmes, 1985). Une étude récente a mis en évidence les interactions entre *Ostertagia ostertagi* et le microbiote abomasal en se basant sur la caractérisation génétique du microbiote (métagénomique). Il a été montré que l'infestation a un faible impact sur la diversité et la stabilité du microbiote abomasal chez les bovins immuns, contrairement à des animaux naïfs qui n'ont pas acquis une immunité protectrice (Li et al., 2011). Cependant, les mécanismes impliqués dans ces interactions ne sont pas clairement définis. L'infestation des jeunes bovins non immuns par les SGI peut donc perturber l'équilibre avec la flore commensale abomasale et renforcer de manière indirecte l'effet pathogène des parasites chez l'hôte.

Lors de la 1^{ère} saison de pâturage, les jeunes bovins non immuns, naïfs sur le plan immunitaire vis-à-vis des SGI, vont être pour la première fois en contact avec des larves de SGI présentes dans l'herbe. Ils sont soumis à une pression d'infestation, d'abord liée à la contamination résiduelle plus ou moins importante des parcelles par des larves L3 transhivernantes ou issues d'autres bovins ayant pâture préalablement sur les mêmes parcelles, puis liée au recyclage parasitaire par la succession des générations larvaires sur les pâtures. L'infestation des jeunes bovins par *Ostertagia ostertagi* peut être à l'origine de trois types de manifestations cliniques qui se succèdent dans le temps (Ravinet et al., 2015) :

- **Ostertagiose de type 1** : elle correspond à l'accumulation progressive du nombre de parasites dans la caillette au cours des générations parasitaires successives. Le taux d'infestation atteint un seuil suffisant pour déclencher des symptômes, le plus souvent à partir de 3 générations parasitaires, au début de l'été dans les régions tempérées. Les symptômes sont généralement frustes à peu marqués selon la sensibilité des animaux.
- **Ostertagiose de pré-type 2** : elle correspond au moment où les larves L4 entrent en hypobiose et s'enkystent dans les glandes gastriques de la caillette au début de l'hiver. Il n'y a pas de symptômes visibles à ce stade.
- **Ostertagiose de type 2** : elle correspond à la sortie simultanée et massive des larves L4 enkystées de la muqueuse de la caillette au début du printemps. Les symptômes sont ici très marqués, associant le plus souvent une diarrhée profuse très aqueuse, une déshydratation, de l'anorexie et une atteinte de l'état général.

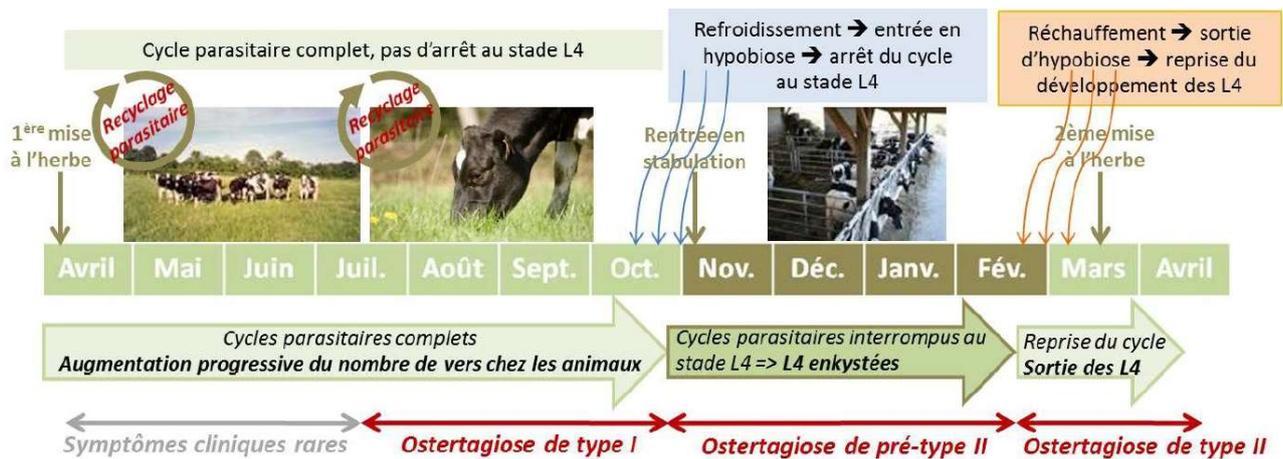


Figure 3 : Succession saisonnière des différents types d'ostertagiose chez les jeunes bovins non immuns (Ravinet et al., 2015)

c) Conséquences zootekniques et économiques

Les infestations par les SGI peuvent avoir des conséquences négatives sur les productions des bovins dont l'impact économique dans les élevages peut être parfois très important. Ces effets sont très hétérogènes entre les individus d'un même troupeau et entre différents troupeaux (Charlier et al., 2014). Cette variabilité peut s'expliquer par des taux d'infestation différents qui peuvent être liés à la capacité de « résilience » de certains animaux. En effet, la distribution des SGI dans un lot d'animaux est dite **sur-dispersée**, avec des individus faiblement parasités et une minorité d'individus fortement parasités. Certains individus exposés à la même pression d'infestation, dans les mêmes conditions de pâturage, peuvent supporter une charge parasitaire élevée sans avoir de conséquences cliniques ou de pertes de production. Néanmoins, il est difficile d'évaluer précisément la part réelle du parasitisme impliquée dans les pertes de production dont les causes sont souvent complexes et multifactorielles. Dans la littérature, l'évolution du poids constitue le critère le plus évalué chez les jeunes bovins en 1^{ère} saison de pâturage.

Chez les bovins non immuns, un niveau d'infestation minimum est nécessaire pour observer des effets négatifs sur les performances de croissance. De plus, les pertes de poids sont négativement corrélées au niveau d'infestation des animaux (Szyszka & Kyriazakis, 2013). Cette étude, menée sur des jeunes bovins naïfs, a comparé 3 groupes infestés expérimentalement avec 3 doses différentes de larves L3 d'*Ostertagia ostertagi* (75 000, 150 000, 300 000) à 3 reprises (J0, J7, J14) avec un groupe témoin non infesté. Le suivi a été réalisé pendant 55 jours. Des pertes de poids ont pu être observées dans les 2 groupes les plus infestés au bout de 23 jours, mais seul le groupe le plus infesté a présenté une perte de poids continue jusqu'à la fin de l'essai, alors qu'un gain de poids compensatoire a été observé dans le groupe moyennement infesté à partir du 30^{ème} jour. De plus, dans le groupe le plus infesté, des changements dans le comportement général des animaux ont été observés (+25% temps couché, -34% de déplacements) mais sans effet significatif objectivé sur la prise alimentaire. Enfin, aucune différence significative n'a été mise en évidence sur la prise de poids entre le groupe témoin et le groupe faiblement infesté (75 000), confirmant qu'un taux d'infestation minimal est requis pour avoir un impact négatif sur la croissance des jeunes bovins.

Ce retard de croissance, plus ou moins important selon la charge parasitaire accumulée lors de la 1^{ère} saison de pâture, va également impacter la croissance des animaux jusqu'à la fin de la 2^{ème} saison de pâture, même si un gain de poids compensatoire peut être observé lorsque les bovins sont traités avec un anthelminthique (Charlier et al., 2009). De plus, ce retard de croissance va aussi engendrer des pertes économiques ultérieures par un retard de l'âge au premier vêlage et une diminution de la production laitière lors de la 1^{ère} lactation (Zanton & Heinrichs, 2005). En effet, il existe une relation entre le gain moyen quotidien (GMQ) et le poids au vêlage sur la quantité de lait produite lors de la 1^{ère} lactation. Le GMQ a aussi un effet sur le taux protéique du lait, alors que le taux butyreux reste relativement constant malgré les variations de GMQ. Des pertes supplémentaires sont aussi à prendre en compte, par un rallongement du temps nécessaire pour atteindre un poids suffisant pour la mise à la reproduction, augmentant ainsi la durée de la phase improductive des génisses qui génère des coûts alimentaires non compensés à ce stade.

Les infestations par les SGI chez les jeunes bovins peuvent donc avoir des conséquences sur les productions des adultes mais les pertes économiques chiffrées sont difficilement estimables.

II. Problématiques actuelles de l'usage des anthelminthiques

Pour limiter ou éviter les conséquences cliniques et zootechniques des infestations par les SGI des jeunes bovins en 1^{ère} saison de pâture, l'usage des anthelminthiques chimiques usuels disponibles actuellement présente l'avantage d'avoir une action rapide avec peu de contraintes pratiques. Même si cette utilisation génère un coût, elle peut apporter des résultats satisfaisants dans certains élevages et encourager leur usage de façon répétée, parfois excessive ou inappropriée, souvent sans évaluation préalable du risque parasitaire.

Cependant, les risques liés à leur utilisation sont nombreux, et les problématiques concernant les résistances, les impacts environnementaux et le développement retardé de l'immunité sont de plus en plus mises en avant. D'ailleurs, la visite sanitaire 2020 en filière bovine qui porte sur les enjeux liés à l'utilisation des antiparasitaires s'intègre dans cette initiative et offre un support plutôt intéressant pour aborder ces risques avec les éleveurs et le principe de gestion intégrée du parasitisme propre à chaque élevage.

Cette partie va détailler les trois principales problématiques liées à l'usage des anthelminthiques.

a) Résistances aux anthelminthiques

La résistance aux anthelminthiques se définit comme la capacité héritable de certains parasites à survivre à une dose d'anthelminthique normalement efficace. En pratique, un parasite est considéré comme résistant s'il n'est pas éliminé avec la dose recommandée dans le RCP de l'anthelminthique. Cette aptitude, génétiquement transmissible à la descendance, repose sur une ou plusieurs mutations aléatoires et spontanées de certains gènes, et à faible fréquence dans la population parasitaire (point A de la [figure 4](#)). De ce fait, les allèles conférant une résistance aux anthelminthiques préexistent en très faible proportion au sein des populations de SGI encore non-exposées. La première exposition à un anthelminthique donné ne fait donc que sélectionner les individus déjà résistants naturellement. La résistance présente à ce moment un avantage sélectif sur la survie des parasites, ce qui n'est pas le cas avant que la population de SGI soit exposée pour la première fois. Cependant, les individus dits résistants, pouvant être considérés comme tolérants à la dose usuelle, peuvent être éliminés en étant exposés à une dose plus élevée de la même molécule anthelminthique.

Certaines pratiques de traitement contribuent à exercer une pression de sélection importante sur les populations de SGI et constituent des facteurs de risque dans l'apparition des résistances ([Torres-acosta & Hoste, 2008](#)). L'utilisation itérative de la même famille anthelminthique, la fréquence des traitements et l'usage de molécules rémanentes sont en effet des pratiques à risque.

Depuis l'apparition sur le marché de la famille des benzimidazoles en 1961 avec le thiabendazole, leur utilisation s'est rapidement généralisée dans de nombreux pays. Dès 1964, des cas d'inefficacité ont été rapportés chez les ovins pour *H. contortus* et chez les équidés pour les cyathostomes. Par la suite, les résistances aux benzimidazoles se sont largement répandues et concernaient de nombreuses espèces de nématodes chez les ovins et les équins.

Une nouvelle famille de molécules AH a donc été développée au début des années 80, les lactones macrocycliques, sous la forme de formulations « pour-on », révolutionnant le mode de traitement et

offrant de nouveaux choix de molécules dans l'arsenal thérapeutique disponible pour lutter contre les SGI. Ces formulations ont été très rapidement et largement adoptées par les éleveurs en raison de la facilité d'administration des spécialités et la possibilité de traiter en une seule fois les animaux contre les parasites internes et externes. Seulement, le comportement naturel de léchage des bovins influence la biodisponibilité des molécules (proportion de la substance active qui atteint la circulation sanguine sous forme inchangée). Laffont et al. (2003) ont montré que jusqu'à 76 % de la dose administrée en « pour-on » est en réalité absorbée par auto- et allo-léchage, et que ce comportement détermine en grande partie les profils de concentration systémique observés par rapport au passage transdermique initialement recherché, les taux plasmatiques atteints étant très variables en fonction de la quantité ingérée. Par ailleurs, l'allo-léchage entraîne une exposition partielle des animaux non traités. Le sous-dosage constitue un facteur de risque important sur l'apparition des résistances lors de l'utilisation de formulations « pour-on » en raison des variations importantes de biodisponibilité entre les animaux traités et ceux non traités. En effet, pour l'ivermectine par exemple, les concentrations plasmatiques peuvent varier de 0,1 à 1 ng/mL et l'efficacité anthelminthique, évaluée sur la réduction de l'excrétion fécale d'œufs, varie entre 30 et 80 % chez les génisses non traitées (Bousquet-mélou et al., 2011). Il paraît donc difficile voire illusoire de garantir que la dose recommandée soit réellement disponible à l'échelle individuelle.

C'est pourquoi les lactones macrocycliques constituent actuellement la famille présentant le plus de facteurs à risque chez les bovins en raison de leur utilisation fréquente et parfois exclusive dans les élevages sous forme de formulations « pour-on » et rémanentes.

À chaque répétition du même traitement, la fréquence des allèles de résistance augmente dans les générations parasitaires successives (Jacquet et al., 2014). La diffusion de la résistance au sein des populations parasitaires est donc un phénomène progressif et évolutif sous l'effet de la pression de sélection exercée par les traitements anthelminthiques. La résistance peut être détectée avec différents tests, comme le test de réduction d'excrétion fécale post-traitement (TREF), facilement réalisable et accessible sur le terrain. Si cette réduction est inférieure à 95 %, la résistance est considérée comme avérée avec au moins 25 % des parasites déjà porteurs des allèles de résistance (point B sur la [figure 4](#)). La perte d'efficacité du traitement devient cliniquement visible quand la réduction d'excrétion fécale est inférieure à 80 % et qu'environ 20 % des individus sont homozygotes résistants (point C).

Cette distinction entre la détection de la résistance au seuil de 95 % et le constat d'un échec de traitement apparent au seuil de 80 % doit donc être prise en compte et justifie la nécessité de détecter le plus précocement possible la résistance pour ralentir la propagation des allèles de résistance dans la population parasitaire.

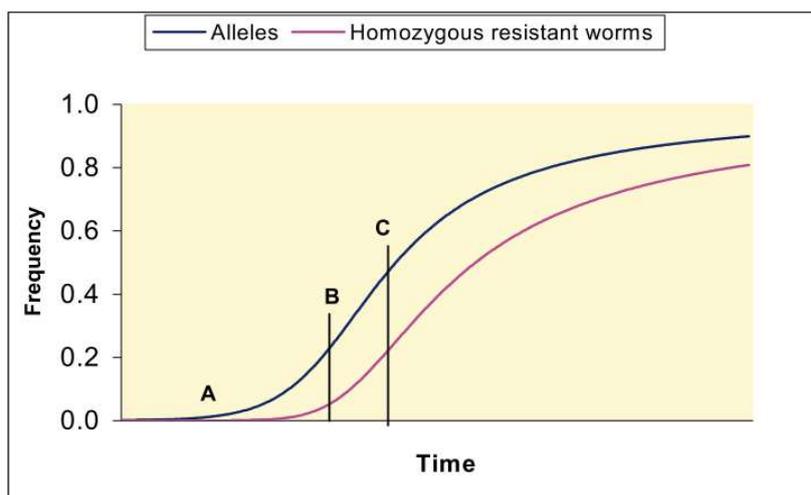


Figure 4 : Effet de la pression de sélection sur l'apparition des résistances (Jacquiet et al., 2014)

L'usage des anthelminthiques a souvent été restreint aux bovins en 1^{ère} saison de pâture comme solution de contrôle des infestations par les SGI pour limiter l'apparition de manifestations cliniques chez ces animaux au départ naïfs donc plus sensibles. Les traitements étaient couramment utilisés au début de la saison de pâture pour prévenir le recyclage parasitaire à partir des larves infestantes transhivernantes présentes sur les parcelles à la mise à l'herbe (Charlier et al., 2009). L'utilisation des anthelminthiques en 2^{ème} saison de pâture et aussi lors des saisons suivantes s'est plus récemment développée, en raison des effets bénéfiques observés sur les productions des animaux (production laitière, conformation et qualité de la carcasse), et le recours à des molécules avec un temps d'attente nul dans le lait. Aujourd'hui, l'apparition de résistances aux anthelminthiques strongylicides est de plus en plus décrite chez les bovins, notamment dans la famille des lactones macrocycliques, tandis que celle des benzimidazoles semble plutôt épargnée pour l'instant. Le [tableau I](#) présente les trois familles de molécules utilisables chez les bovins contre les SGI.

Tableau I : Principaux anthelminthiques strongylicides utilisés chez les bovins en France

Famille	Mode d'action	Molécule(s)	Voie(s) d'administration	Spectre d'activité
Benzimidazoles	Liaison avec la β -tubuline et inhibition de la polymérisation en microtubules Inhibition de la fumarate réductase et des transporteurs de glucose	Fenbendazole Oxfendazole Albendazole* Fébantel Néobimin	Voie orale	Activité adulticide et larvicide sur les strongles digestifs et pulmonaires *Activité sur les adultes de grande douve
Imidazothiazole	Agoniste cholinergique par fixation sur les récepteurs de l'acétylcholine entraînant un blocage neuromusculaire	Lévamisole	Voie orale Voie parentérale (IM, SC) Voie cutanée (« pour-on »)	Activité contre les formes larvaires (sauf celles inhibées) et adultes des strongles digestifs et pulmonaires
Lactones macrocycliques	Activation des canaux chlorures glutamate-dépendants et GABA-dépendants présents dans les synapses neuromusculaires entraînant une paralysie flasque	Ivermectine Doramectine Éprinomectine Moxidectine	Voie cutanée (« pour-on ») Voie parentérale (SC)	Activité adulticide et larvicide (dont les larves inhibées) sur les strongles digestifs et pulmonaires Acariens, poux, mouches

Face à ce constat, l'Agence européenne du médicament (EMA) a tiré la sonnette d'alarme et a publié en 2016 une note technique avec des recommandations pour lutter contre les résistances aux anthelminthiques, notamment par un usage plus rationné des anthelminthiques en ciblant les périodes à risque et en sélectionnant les individus à risque avéré. Pour cela, la note insiste particulièrement sur le recours préalable au diagnostic parasitologique avant tout traitement pour bien choisir les animaux à traiter.

Le choix de traitements ciblés et sélectifs a pour objectif de diminuer la pression de sélection sur les populations parasites et de ménager une population refuge constituée de parasites non exposés au traitement anthelminthique. Cette notion de « population refuge » introduite au début des années 2000 est désormais largement reconnue comme un concept fondamental et essentiel pour lutter contre les résistances. Le principe repose sur une population suffisante d'individus sensibles dans laquelle les individus résistants vont pouvoir être dilués, de manière à freiner la diffusion de la résistance au

sein de la population parasitaire (Besier, 2012). Cette population refuge est constituée par les stades larvaires libres présents dans le milieu extérieur, les stades parasites chez les animaux non traités, et les larves en hypobiose non atteintes par l'action strongylicide (sauf en cas d'usage des lactones macrocycliques).

La taille de la population refuge est variable selon la période au cours de la saison de pâturage. En effet, à la mise à l'herbe au printemps, peu de larves sont présentes sur les pâtures, le refuge est donc constitué quasi exclusivement des stades parasites chez les animaux, ce qui réduit fortement la taille de la population refuge, encore plus si les animaux sont traités à cette période. Inversement, au début de l'été, les larves accumulées au fur et à mesure des générations parasites successives sont abondantes, permettant d'avoir une population refuge de grande taille. L'évolution saisonnière de la taille de la population refuge doit donc être prise en compte avant chaque décision de traitement pour limiter la propagation des résistances au sein des populations parasites de SGI. C'est pourquoi un traitement suivi du déplacement des animaux sur une parcelle peu contaminée (« dose and move ») constitue une pratique à risque exerçant une forte pression de sélection et empêchant la création d'une population refuge suffisamment importante (Torres-acosta & Hoste, 2008).

En mai 2017, l'EMA a publié une nouvelle note de réflexion sur l'autorisation des médicaments vétérinaires contenant des substances ayant des caractéristiques de persistance, de bioaccumulation ou toxiques. Elle concerne la famille des lactones macrocycliques et insiste particulièrement sur les risques environnementaux liés à l'utilisation de ces molécules. Elle rappelle aussi l'importance de privilégier des approches alternatives non chimiques pour contrôler ces infestations.

La problématique des résistances aux anthelminthiques dans les élevages de bovins est donc une préoccupation d'actualité, incluse dans une volonté plus globale de limiter les intrants chimiques, à la fois pour des raisons économiques, environnementales, et même sociétales. La famille des lactones macrocycliques est la plus surveillée chez les bovins.

Chez les bovins, les signalements de résistance aux anthelminthiques sont plus récents et moins fréquents que chez les petits ruminants. Ils sont en augmentation depuis les années 2000, surtout dans certains pays de l'hémisphère Sud (Nouvelle-Zélande, Argentine, Brésil) où la situation est déjà très préoccupante.

Le 1^{er} cas de résistance mis en évidence chez les bovins a été décrit en 1998 dans un élevage laitier au Royaume-Uni et confirmé par infestation expérimentale et bilan parasitaire (Coles et al., 2001). Il concernait *Cooperia* vis-à-vis de l'ivermectine. Deux études multicentriques ont été par la suite réalisées en Europe en se basant sur le test de réduction d'excrétion fécale post-traitement.

La 1^{ère} étude multicentrique, menée en 2006-2007 dans 20 troupeaux bovins laitiers en Suède, Allemagne et Belgique, a évalué les résistances à l'ivermectine et à l'albendazole (Demeler et al., 2009). Pour l'ivermectine, six troupeaux sur vingt ont présenté une réduction de l'excrétion fécale post-traitement inférieure à 95 %, seuil en-dessous duquel la résistance est considérée comme avérée (Coles et al., 1992). Dans ces lots, les coprocultures ont mis en évidence une majorité de larves de *Cooperia oncophora*, ainsi que des larves d'*Ostertagia ostertagi*. Concernant l'albendazole, une réduction coproscopique post-traitement de 100 % a été observée dans les 12 troupeaux testés. De

plus, le suivi sur 4 ans d'un élevage inclus dans cette étude a révélé une majoration de la résistance pour l'ivermectine (73 à 0 %), ainsi qu'une réduction de l'excrétion fécale post-traitement insuffisante pour la moxidectine (< 95 %).

Une 2^{ème} étude multicentrique, menée en 2011 et 2012 dans 40 troupeaux bovins laitiers répartis dans différents pays d'Europe (France, Italie, Allemagne, Royaume-Uni), a confirmé l'émergence des résistances aux lactones macrocycliques, en particulier dans le genre *Cooperia* (Geurden et al., 2015). Deux raisons principales ont été avancées pour expliquer cette fréquence de résistances plus élevée chez *Cooperia* : d'abord la moindre sensibilité aux lactones macrocycliques potentiellement en lien avec des concentrations d'anthelminthiques atteintes dans l'intestin grêle plus faibles que dans la caillette, puis la plus grande prolificité de *Cooperia spp* par rapport à *O. ostertagi* qui justifierait l'apparition plus précoce de la résistance au sein des populations parasitaires. En France, les auteurs ont montré que sur un nombre total de huit élevages enquêtés dans le Grand-Ouest, trois élevages présentaient une résistance à l'ivermectine et cinq élevages à la moxidectine. Les résultats obtenus étant limités à une zone géographique restreinte et comme les informations à l'échelle nationale sont très peu nombreuses, l'ampleur de ce phénomène de résistance pour les lactones macrocycliques est en réalité difficile à évaluer avec des données de prévalences précises et représentatives. Néanmoins, les données disponibles jusqu'à présent chez les bovins suggèrent des efficacités insuffisantes avec les lactones macrocycliques sur *Cooperia spp* et un maintien de l'efficacité des benzimidazoles, qui devront être confirmées par des enquêtes épidémiologiques plus importantes.

Une récente étude réalisée en 2019 sur 35 troupeaux bovins laitiers (20) et allaitants (15) dans le Grand-Ouest s'est portée sur la résistance aux benzimidazoles en se basant sur le test d'éclosion des œufs et la recherche de mutations sur le gène de résistance de la β -tubuline par PCR chez *Cooperia spp* et *Ostertagia ostertagi* suivi de pyroséquençage. Les résultats ont montré dans tous les élevages une fréquence de l'allèle résistant de la β -tubuline inférieure à 10 % pour les 2 espèces étudiées, seuil de mutation au-dessus duquel une résistance est actuellement considérée comme présente (Bertocchi, 2019 ; Hirschauer, 2019).

La situation épidémiologique sur les résistances aux anthelminthiques chez les bovins se base sur peu d'études, contrairement aux petits ruminants chez lesquels le phénomène est largement décrit. Les cas qui sont signalés concernent le plus souvent *Cooperia spp*, genre pour lequel une immunité protectrice se met rapidement en place (4 mois) et considéré comme moins pathogène qu'*Ostertagia ostertagi*. De ce fait, très peu de conséquences, à la fois cliniques et zootechniques, sont visibles pour alarmer les éleveurs, ce qui favorise le développement à bas bruit des résistances dans les troupeaux. De plus, les SGI des bovins présentent des facteurs protecteurs propres qui peuvent aussi expliquer le faible nombre de signalements, avec les bouses qui jouent le rôle de réservoir et assurent un refuge environnemental des stades larvaires, contrairement aux fèces de petits ruminants plus sensibles à la sécheresse. De même, les spécificités de conduite de pâturage inhérentes au système allaitant avec la pratique d'un pâturage commun des différentes classes d'âges permettent un échange continu des parasites entre les jeunes et les adultes avec une dilution des parasites résistants dans une population parasitaire sensible (Gerald C. Coles, 2002). Enfin, l'importance de l'acquisition de l'immunité chez les bovins, par rapport aux petits ruminants, peut conduire à une moindre fréquence d'utilisation des traitements anthelminthiques, limitant les éventuelles suspicions de résistances face à des échecs de traitement.

b) Impact environnemental : problème de l'écotoxicité des anthelminthiques

Les résidus des anthelminthiques (AH) utilisés chez les bovins sont excrétés majoritairement dans les matières fécales, quelle que soit la voie d'administration, et peuvent avoir un impact délétère direct sur la faune non-cible, sur les organismes invertébrés terrestres et aquatiques, et indirectement sur les espèces incluses dans les réseaux trophiques dont le régime alimentaire comprend ces invertébrés (Lumaret et al., 2012). Pour mieux évaluer l'impact environnemental des anthelminthiques, plusieurs critères ont été établis (McKellar, 1997) :

- Les effets délétères directs et indirects de la substance active de l'anthelminthique ou de ses métabolites sur les organismes non-cibles.
- La quantité de substance active excrétée dans l'environnement : elle dépend de la quantité administrée, de la voie d'administration, de la métabolisation de l'anthelminthique, de la voie et de l'intensité d'excrétion des résidus présentant une activité biologique.
- La temporalité de l'excrétion : l'excrétion de résidus biologiquement actifs est d'autant plus longue que la rémanence de l'anthelminthique chez l'hôte est importante.
- La stabilité dans l'environnement et l'activité de la substance biologiquement active dans les bouses.
- Enfin, la contribution d'autres facteurs environnementaux (lumière, pluie,...).

De nombreuses études ont mis en évidence les effets des anthelminthiques sur l'environnement et particulièrement sur la faune non-cible. La famille des lactones macrocycliques (LM), constituée des avermectines (ivermectine, doramectine, éprinomectine) et des milbémycines (moxidectine), est particulièrement visée en raison de son large spectre d'activité (insectes, acariens, nématodes) qui augmente considérablement le risque d'affecter des espèces non-cibles. De plus, les LM peuvent s'accumuler dans le tissu adipeux des animaux et subir assez peu de biotransformations, entraînant une excrétion fécale prolongée sous la forme de résidus actifs. Leurs propriétés physico-chimiques les rendent faiblement biodégradables avec une forte affinité pour les matières organiques et le sol, ce qui leur permet de persister dans l'environnement à des concentrations relativement élevées pour avoir un impact écotoxique sur les pâtures (McKellar, 1997). La contamination de l'environnement peut aussi avoir lieu suite à l'épandage de fumier sur des terres arables.

Parmi les lactones macrocycliques, les avermectines sont considérées comme les plus écotoxiques pour la microfaune coprophage prairiale qui participe à la dispersion et à la dégradation des bouses des bovins. Elles sont principalement excrétées par voie fécale, l'excrétion urinaire ne représentant que 2 % de la dose initiale administrée.

Il existe actuellement en France deux voies d'administration de l'ivermectine chez les bovins : la voie parentérale (sous-cutanée) et la voie cutanée (pour-on). Depuis 2003, les bolus intra-ruminaux d'ivermectine ne sont plus commercialisés. Ces dispositifs à libération séquentielle entraînaient une excrétion fécale jusqu'à 120 jours après administration avec une concentration élevée et stable à 1,18 µg/g (Alvinerie et al., 1999). Ils ont été retirés du marché justement en raison de l'accumulation des résidus dans l'environnement engendrée par ce dispositif à longue action (Ministère de la santé et de la protection sociale, 2004). Concernant les deux autres voies d'administration de l'ivermectine, il a été montré que la concentration fécale initiale suite à une administration « pour-on » est nettement supérieure à celle obtenue par voie sous-cutanée (17,1 µg/g contre 1,38 µg/g, respectivement à 2 et 3

jours post-traitement) mais les valeurs deviennent similaires à partir du 5^{ème} jour (Herd et al., 1996). Dans les deux cas, les résidus d'ivermectine restent détectables dans les fèces jusqu'à 28 jours après administration du traitement. Cependant, les données disponibles sur les concentrations fécales et la durée de persistance de l'ivermectine dans les bouses sont nombreuses et donnent des résultats très variables selon les études.

L'influence de certains facteurs climatiques sur la dégradation des résidus d'ivermectine a aussi été étudiée. La photodégradation a pu être évaluée en suivant l'évolution des concentrations fécales d'ivermectine à la surface et à l'intérieur des bouses. Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre la croûte formée en surface par la dessiccation superficielle et des portions de bouses prélevées plus en profondeur (McKellar, 1997). L'ivermectine est donc très peu photodégradée. De plus, le lessivage par l'eau de pluie est assez limité du fait de la forte affinité de l'ivermectine pour la matière organique et le sol.

Les avermectines ont des effets létaux sur les insectes adultes et les stades larvaires plus sensibles. L'effet larvicide est particulièrement marqué avec 100 % de mortalité observée sur les bouses jusqu'à plusieurs semaines après traitement. Des effets sub-létaux sont aussi décrits sur la croissance, la mue et la reproduction des insectes (McKellar, 1997). Les coléoptères et les diptères sont particulièrement touchés (Gover et al., 1995 ; Floate, 1998). Ces effets larvicides peuvent néanmoins être avantageux en limitant la prolifération de certaines espèces de mouches considérées comme nuisibles dans les élevages (*Haematobia irritans*, *Musca autumnalis*, *M. vetustissima*) car sources de nuisances chez les bovins avec un impact potentiellement non négligeable sur les productions (GMQ), et aussi sur l'extension de *Stomoxys calcitrans*, mouche piqueuse qui peut jouer un rôle vecteur dans certaines maladies, comme la besnoitiose bovine et la dermatose nodulaire contagieuse. Cependant, certaines mouches considérées comme non nuisibles (*Muscoids*, *Cyclorrapha*) et les bousiers (*Copris*, *Onitis*, *Onthophagus*, *Bubas*, *Aphodius*) sont négativement impactés (Lumaret et al., 2012).

En revanche, les avermectines ne présentent pas de phytotoxicité. En effet, ni la germination ni la croissance des plantes n'est affectée par l'ivermectine. L'activité microbienne dans le sol n'est pas non plus altérée. De même, la pédofaune présente dans la couche superficielle du sol ne semble pas impactée, en particulier les populations de vers de terre (Svendsen et al., 2003).

Les insectes coprophages, et notamment les bousiers, jouent un rôle essentiel dans l'écosystème pâturé en permettant, d'une part, une aération des bouses par le creusement de galeries qui assurent le ruissellement et la percolation des eaux de pluie en surface et à travers le sol, et d'autre part, une action mécanique de dégradation et d'enfouissement de la matière fécale qui permet une fertilisation naturelle des parcelles par une meilleure disponibilité en azote dans le sol pour la végétation prairiale. De plus, les bousiers participent à l'assainissement parasitaire des pâtures grâce à leur activité de brassage qui favorise la destruction des œufs (Lumaret, 1986) et limite le développement larvaire des parasites des bovins (Fincher, 1981).

Dans les régions tempérées et humides, le travail de décomposition des insectes coprophages, qui ne représente que 2 à 5 % du processus global de dégradation des bouses (Lumbreras et al., 2000), est relayé par l'action conjuguée de la pluie et de nombreux autres invertébrés du sol comme les vers de terre. Le rôle des insectes coprophages est donc d'autant plus important dans les milieux chauds et secs où la présence de lombrics et les précipitations sont plus limitées. En assurant une dégradation

rapide et efficace des bouses, ces insectes permettent donc d'éviter leur accumulation sur les parcelles et favorisent la repousse végétale, limitant la perte de surface pâturée par les bovins autour des bouses, qualifiée de zone de refus. De ce fait, ils contribuent à une utilisation optimale des parcelles par les animaux.

L'équilibre et la diversité de l'écosystème prairial sont essentiels au renouvellement de l'herbe sur les pâtures. La perturbation de cet équilibre peut avoir des conséquences sur la productivité des prairies et donc sur les choix de conduites de pâturage des éleveurs.

D'autres facteurs influençant la dégradation des bouses peuvent aussi être évoqués, en plus des insectes coprophages, de la pédofaune et des conditions météorologiques, comme le piétinement des bouses par les animaux et la présence d'oiseaux entomophages.

La moxidectine, appartenant aux milbémycines, est moins toxique, de même que les résidus des benzimidazoles et du lévamisole qui ont peu d'impact sur la faune non-cible (Lumaret et al., 2012 ; McKellar, 1997).

En effet, les études sur les benzimidazoles montrent que les effets écotoxiques des résidus excrétés sont très faibles voire négligeables. La concentration fécale décroît assez rapidement (4 jours pour l'albendazole, 7 jours pour l'oxfendazole). De plus, l'administration d'un bolus d'oxfendazole chez des bovins en 1^{ère} saison de pâturage délivrant 5 doses de 750 mg à intervalles réguliers d'environ 3 semaines n'a pas mis en évidence d'effet délétère sur le nombre de vers de terre ni sur la dégradation des bouses sur l'ensemble de la période d'action du dispositif par rapport aux animaux témoins non traités (Lumaret et al., 2012).

Le lévamisole semble également avoir peu d'impact. Il est peu métabolisé donc largement excrété par voie urinaire sous sa forme initiale inchangée. Peu d'informations sont disponibles sur les effets écotoxiques des résidus excrétés dans les urines car il est difficile de mener des études appropriées. De plus, l'utilisation du lévamisole dans les élevages bovins laitiers est assez limitée en raison de l'absence de limite maximale de résidus pour le lait. Il y a donc assez peu de recul sur cette molécule anthelminthique.

Si beaucoup de connaissances ont déjà pu être accumulées, de nombreuses questions persistent pour mieux évaluer l'impact environnemental des anthelminthiques. La complexité des interactions au sein de l'écosystème et les nombreux facteurs de variation potentiels doivent être pris en compte et compliquent cette évaluation. Les différentes données sur la dynamique des populations d'insectes permettent d'anticiper les risques écotoxiques. De ce fait, il est possible de minimiser l'impact sur les espèces non-cibles en évitant l'utilisation des avermectines, qui ont un effet larvicide très important, pendant la période critique de reproduction des insectes coprophages, en particulier des coléoptères, qui s'étend de mai à août en France (Ravinet et al., 2017).

L'impact environnemental des AH, et particulièrement des avermectines, est donc un problème supplémentaire majeur qui doit motiver une réduction de l'utilisation de traitements rémanents à large spectre. Si l'impact de ces molécules sur les écosystèmes pâturés a pu être souvent négligé, les effets écotoxiques liés à leur usage sur les organismes non-cibles sont dorénavant largement pris en compte pour justifier la rationalisation des traitements et le développement de nouvelles stratégies de maîtrise des infestations par les SGI.

c) Retard dans l'acquisition de l'immunité

Les bovins acquièrent progressivement une immunité spécifique d'espèce dite concomitante (ou immunité de prémunition) qui nécessite un contact régulier avec les parasites pour être entretenue. Comme la mémoire immunitaire anti-parasitaire est limitée, elle peut disparaître assez rapidement en l'absence de parasites. Cette immunité permet d'installer un équilibre dynamique entre l'hôte et les parasites et de maintenir une charge parasitaire à un niveau relativement stable et faible.

En effet, lors d'une infestation par *Ostertagia ostertagi*, plusieurs effets liés au développement de l'immunité vont se succéder dans le temps (Klesius, 1988). Dans un premier temps, l'immunité va permettre de réduire la taille des vers adultes et la fécondité des femelles matures qui excrètent alors moins d'œufs dans les matières fécales de l'hôte. Ensuite, elle favorise l'enkystement des larves L4 dans la muqueuse de la caillette. Enfin, elle diminue le taux d'installation en limitant l'implantation des larves L3 ingérées dans la muqueuse et facilite l'expulsion des vers adultes. De ce fait, les bovins immuns excrètent peu d'œufs, hébergent pour la plupart peu de parasites et en majorité des larves L4 en hypobiose (figure 5).

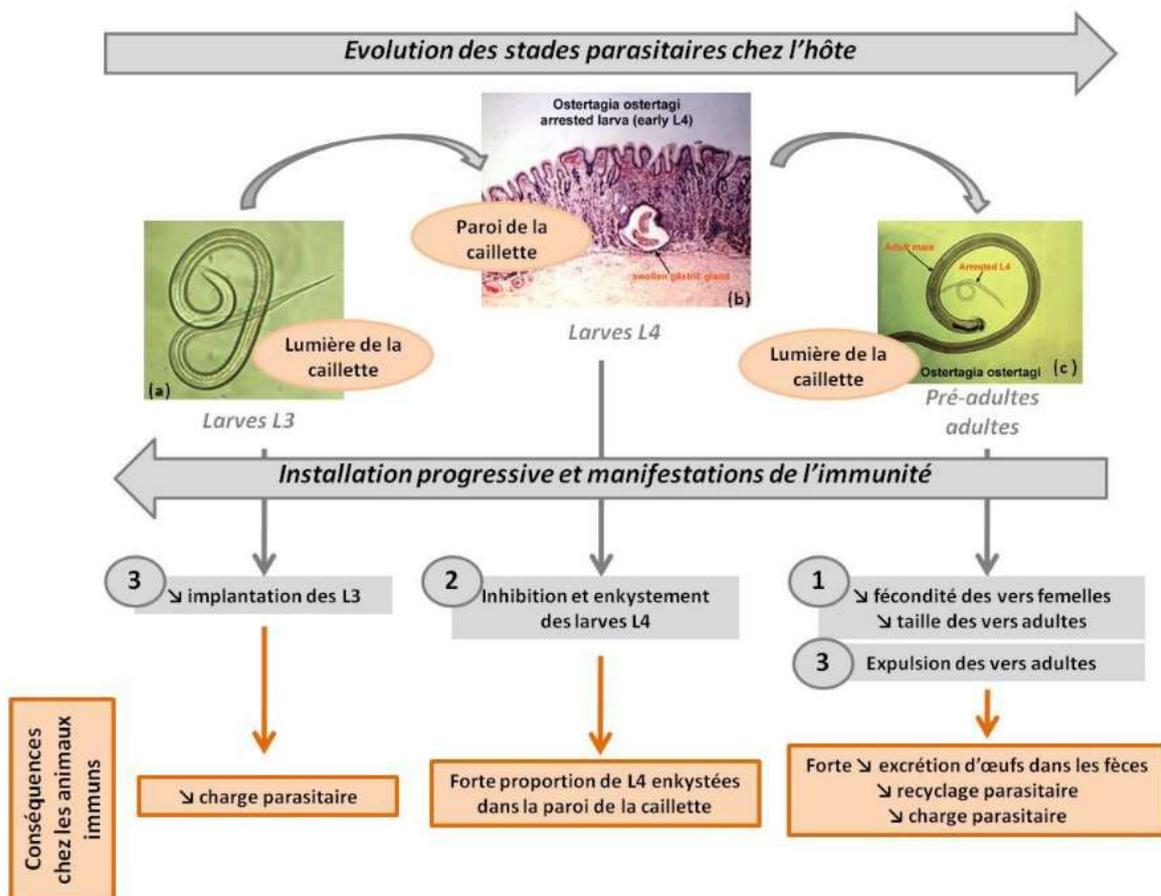


Figure 5 : Conséquences de l'acquisition de l'immunité chez les bovins contre *Ostertagia ostertagi* (Ravinet et al., 2015)

La réponse immunitaire des bovins face aux SGI comprend une réponse innée faisant intervenir des mécanismes non spécifiques et une réponse adaptative, composante essentielle de la réponse face aux SGI. Quatre étapes principales composent le déroulement de la réponse immunitaire adaptative dans les strongyloses gastro-intestinales (figure 6) :

- 1) Présentation des antigènes parasitaires par des cellules présentatrices d'antigènes (CPA) aux lymphocytes T CD4+ dans les structures lymphoïdes disséminées tout au long de la muqueuse digestive (plaques de Peyer, GALT).
- 2) Orientation de la réponse immunitaire vers une des deux voies de polarisation (Th1 ou Th2). De façon dichotomique, la réponse de type Th1 est davantage initiée lors d'infections intracellulaires (virus, bactéries, protozoaires), alors que la réponse de type Th2 intervient lorsqu'il s'agit de parasites extra-cellulaires.

Lors de la réponse Th2, les lymphocytes T CD4+ produisent de l'IL-4, cytokine clé de cette voie indispensable pour induire une réponse efficace et protectrice. Cette réponse Th2 semble la voie de polarisation majeure lors des études chez des modèles murins. Chez les bovins, les deux voies semblent mises en jeu.

- 3) Mise en place des différents effecteurs de cette réponse (cellules et anticorps) : activation des éosinophiles, différenciation des lymphocytes B en plasmocytes sécréteurs d'anticorps.
- 4) Conséquences sur les SGI précédemment détaillées : diminution de la fécondité des femelles, diminution de la taille et de la survie des adultes, enkystement des larves L4, diminution de l'installation des larves L3 dans la muqueuse digestive.

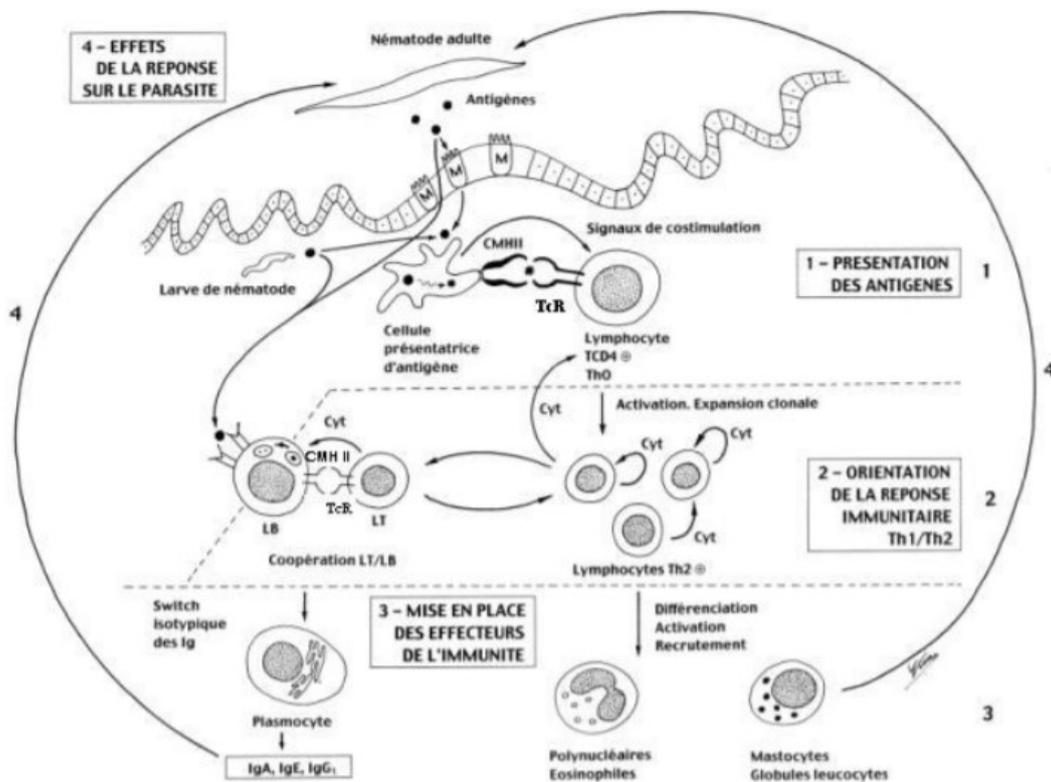


Figure 6 : Organisation générale de la réponse immunitaire adaptative contre les SGI (C. Lacroux, 2006, dessiné par Y. Gras, ENVT)

De nombreuses cytokines interviennent dans la réponse immunitaire (Moreau & Chauvin, 2010) :

- **Interleukine 4 (IL-4)** : elle est à l'origine de l'orientation vers une réponse de type Th2 et de la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes sécréteurs d'anticorps de type IgE. La différenciation de clones de lymphocytes T CD4+ naïfs en cellules productrices d'IL-4 est donc l'étape déterminante pour la mise en place d'une réponse Th2 efficace et protectrice.
- **IL-5** : elle stimule la formation des éosinophiles.
- **IL-13** : elle présente des fonctions similaires à l'IL-4 et intervient dans la phase effectrice de l'inflammation (activation des macrophages, notamment en cellules M2 qui synthétisent l'IL-10 impliquée dans la cicatrisation cellulaire) et le développement de la fibrose.
- **IL-10** : elle a des effets anti-inflammatoires.
- **Interféron γ (IFN γ)** : il s'agit d'un facteur majeur de régulation de la réponse de type Th1 qui présente un effet antagoniste vis-à-vis de l'IL-4, favorisant la survie des SGI.

De ce fait, lors d'une infestation par les SGI, la polarisation vers une réponse de type Th2 n'est pas aussi nette que chez les modèles murins. En effet, la majorité de plus de 60 clones de lymphocytes T antigène-spécifique étudiés chez les bovins co-expriment à la fois l'IL-4 et l'IFN γ et des profils cytokiniques polarisés sont peu observés (Brown et al., 1998). De plus, lors d'une primo-infestation par *O. ostertagi* chez des veaux, l'analyse par RT-PCR de la transcription des ARNm de différentes cytokines produites par des lymphocytes issus de la muqueuse abomasale révèle une sur-expression de l'IL-4 et l'IFN γ à 10 et 60 jours post-infestation (Almeria et al., 1997). La réponse immunitaire adaptative face à la présence de SGI chez les bovins est donc complexe et une réponse mixte Th1/Th2 est plutôt avancée, même si une polarisation vers la voie Th2 semble privilégiée. La plupart des études ont été réalisées *in vitro* sur des cellules cultivées puis soumises à des stimuli spécifiques et ne rendent pas forcément compte des modifications dynamiques sur de plus longues périodes ayant lieu *in vivo* lors de l'infestation des animaux. De ce fait, il persiste encore des interrogations sur les mécanismes effecteurs intervenant dans la mise en place d'une réponse immunitaire précoce et protectrice lors des strongyloses digestives chez les bovins.

L'infestation par *O. ostertagi* induit donc chez l'hôte une réponse immunitaire à la fois humorale et cellulaire. Les vers adultes sont capables de moduler cette réponse immunitaire, ce qui faciliterait leur survie et expliquerait le temps nécessaire à l'acquisition complète de l'immunité (Klesius, 1993). En effet, les PES des parasites interagissent avec les cellules immunitaires et permettent de réguler leur activité, indépendamment de l'influence des molécules immunorégulatrices de l'hôte comme les cytokines.

Le développement d'une immunité complète et efficace nécessite un temps de contact de plusieurs mois avec les larves L3 infestantes présentes sur les pâtures. Cette durée est variable selon l'espèce de SGI. On parle de temps de contact effectif (TCE). L'immunité acquise contre *Ostertagia ostertagi* se développe lentement et complètement après environ 8 mois de contact, alors que l'acquisition de l'immunité dirigée contre *Cooperia oncophora* se fait plus rapidement en 4-5 mois. En pratique, cela signifie qu'une immunité protectrice et efficace est complètement installée en 1^{ère} saison de pâturage pour *C. oncophora*, mais seulement en 2^{ème} saison de pâturage pour *O. ostertagi*.

L'installation de l'immunité chez les jeunes bovins peut être impactée par certaines pratiques de traitement, comme l'utilisation excessive de traitements AH rémanents qui réduit fortement la durée et l'intensité de contact avec les parasites. En effet, la charge parasitaire a une influence directe sur la qualité de l'immunité induite (Eysker et al., 2000). Ces traitements permettent à la fois d'éliminer les stades parasitaires chez l'hôte et de limiter l'apparition de nouvelles larves L3 sur les pâtures, ce qui permet d'assainir progressivement les parcelles et de prévenir les réinfestations pendant la durée de rémanence. Des génisses « surtraitées » sont donc peu infestées et développent peu d'immunité. D'autres facteurs peuvent altérer le développement de l'immunité, comme les périodes de sécheresse pendant lesquelles le contact avec les larves L3 infestantes est limité voire interrompu, ou le nombre de saisons de pâturage des génisses avant le premier vêlage.

Une utilisation excessive des anthelminthiques, notamment ceux rémanents, diminue le contact des animaux avec les parasites et donc le développement de l'immunité. Il est difficile de trouver un compromis entre le contact avec les SGI pour développer une immunité protectrice et une pression d'infestation suffisamment faible pour éviter des conséquences zootechniques ou des manifestations cliniques chez les jeunes animaux. Des mauvaises pratiques de traitement vont être délétères à la fois pour le pré-troupeau, mais aussi par la suite pour les bovins adultes. En effet, les vaches issues d'un pré-troupeau où le temps de contact avec les SGI est faible (inférieur à 8 mois) montrent un gain de production laitière post-traitement, ce qui indique que ces individus sont moins immunisés donc plus fortement infestés par les SGI (Ravinet et al., 2014). Des traitements AH supplémentaires sont donc nécessaires pour entretenir une meilleure productivité, ce qui génère des coûts en plus et augmente le risque de développement de résistances.

III. Stratégies alternatives de maîtrise des strongyloses gastro-intestinales

Le parasitisme par les strongles digestifs est systématique dans les élevages où les bovins pâturent. Si l'approche chimique classique avec l'utilisation des anthelminthiques soulève des problématiques importantes sur le développement des résistances et l'impact environnemental de ces molécules, leur usage reste indispensable et parfaitement justifié dans certaines situations. Le choix de traitement doit être préalablement réfléchi et non systématisé. S'il paraît compliqué de totalement s'affranchir des produits stronglycides usuels utilisés actuellement, il convient surtout de cibler les interventions en se posant deux questions :

- **Quand traiter ?** : il faut déterminer les périodes à risque où la pression d'infestation exercée sur les animaux est maximale. Les jeunes bovins en phase d'acquisition de leur immunité sont donc particulièrement à risque. En ciblant la période de traitement, on cherche à maintenir si possible une population refuge effective suffisamment importante constituée des stades libres présents dans le milieu extérieur. Des outils de modélisation, comme Parasit'sim par exemple, existent pour évaluer plus facilement le risque parasitaire et déterminer les périodes à risque en prenant en compte différents facteurs de variation qui seront détaillés ultérieurement. Cette approche de risque au niveau du même lot d'animaux se base donc sur la conduite de pâturage et permet de mettre en place une stratégie de traitement ciblé.
- **Qui traiter ?** : il faut définir les individus à risque, c'est-à-dire les animaux les plus parasités ou chez lesquels le parasitisme a le plus d'impact subclinique (retard de croissance marqué) ou clinique (symptômes de strongylose digestive). En sélectionnant les individus à traiter, on cherche à ménager une population refuge de vers sensibles chez les animaux non traités. Pour cela, plusieurs indicateurs peuvent être utilisés pour repérer les animaux les plus infestés du fait de la distribution agrégée des parasites dans un même lot. Des indicateurs parasitologiques (excrétion fécale d'œufs de SGI, dosage du pepsinogène), cliniques (notes d'état corporel) et de production (GMQ) ont été testés pour évaluer leur pertinence comme facteurs décisionnels dans le cadre d'une stratégie de traitement ciblé et sélectif (TCS). Cette stratégie permet une approche de risque au niveau individuel au sein d'un lot d'animaux donné.

Une étude menée en Irlande en 2015 par O'Shaughnessy et al. a évalué le potentiel de ces deux indicateurs parasitologiques combinés au GMQ sur 96 veaux au cours de leur 1^{ère} saison de pâturage et suivis de juillet à novembre. Ils ont été séparés en 2 groupes avec un groupe contrôle entièrement traité à 3 reprises durant la saison de pâturage (injection sous-cutanée d'ivermectine à J0, J42, J84) et un groupe TCS dans lequel les individus ont été traités à partir de critères parasitologiques d'alerte préalablement définis (présence de larves L1 de strongles pulmonaires, excrétion fécale ≥ 200 opg, concentration du pepsinogène sérique ≥ 2 UTyr). Aucune différence significative n'a été relevée pour le GMQ moyen (respectivement 500 g et 470 g par jour pour le groupe contrôle et le groupe TCS). L'essai a permis une réduction de 50 % des traitements dans le groupe TCS par rapport au groupe contrôle. Si une différence significative pour la concentration en pepsinogène sérique a été montrée entre les 2 groupes, les taux atteints en fin de saison, respectivement 1,2 et 2,0 UTyr pour le groupe contrôle et le groupe TCS, ne nécessitaient pas de traitement à la rentrée en stabulation.

Cependant, cette étude présente des limites afin d'évaluer de manière pertinente l'intérêt de ces critères parasitologiques pour réduire l'utilisation des traitements AH dans la gestion des infestations par les SGI. En effet, de nombreux animaux dans les deux groupes ont été exclus de cet essai car ils présentaient de la toux évocatrice de strongylose pulmonaire due à *Dictyocaulus viviparus*. De plus, la décision de traitement d'un animal dans le groupe TCS était prise à partir du moment où des larves de strongles respiratoires étaient observées (quel que soit leur nombre), ce qui fausse l'évaluation de la démarche vis-à-vis des SGI. En raison des fortes précipitations pendant la saison de pâturage qui ont favorisé le développement et la survie des larves sur les pâtures, la forte prolificité de *D. viviparus*, et le manque de données sur la prise en charge des strongyloses pulmonaires subcliniques, les auteurs ont choisi de traiter dès que des larves étaient présentes dans les fèces afin de limiter le risque pour les animaux (O'Shaughnessy et al., 2015).

Une autre étude sur la stratégie TCS basée sur le GMQ a été menée par Höglund et al. pendant 3 saisons de pâturage successives en comparant 3 groupes d'animaux différents (groupe TCS, groupe contrôle positif entièrement traité préventivement toutes les 4 semaines, groupe contrôle négatif non traité). Une différence significative sur le GMQ et le gain de poids total cumulé par saison de pâture a été montrée entre les 3 groupes. Seulement, le seuil théorique à partir duquel les animaux doivent être traités n'est pas clairement fixé car il dépend du type de pâture (quantité et qualité nutritionnelle de l'herbe) et du potentiel de croissance compensatoire (Höglund et al., 2013).

Si cette stratégie de TCS est intéressante, sa mise en œuvre sur le terrain peut être compliquée et coûteuse pour les éleveurs avec le suivi régulier des animaux par ces indicateurs. De plus, l'intérêt et l'efficacité du TCS dépendent de chaque conduite de pâturage, ce que les essais doivent simplifier. De ce fait, il est difficile d'extrapoler les résultats obtenus dans les différentes études en raison de la diversité des pratiques de pâturage dans les élevages. C'est pourquoi il serait intéressant de considérer simultanément les deux approches dans une même étude, au niveau du même lot de bovins (conduite de pâturage) et au niveau individuel (indicateurs parasitologiques, GMQ), et de mettre en perspective l'intérêt d'une stratégie de TCS selon les modalités du système de pâturage réellement pratiqué dans un élevage donné.

Par ailleurs, les indicateurs cliniques sont peu développés chez les bovins, contrairement en ovins ou en caprins (score de diarrhée, système FAMACHA® pour estimer l'état d'anémie des animaux en relation avec le parasitisme par *Haemonchus contortus* qui est hématophage). La toux d'été est assez caractéristique de la dictyocaulose bovine et peut être considérée comme un critère clinique pertinent pour traiter les animaux. Concernant les strongyloses digestives, il n'y a pas d'indicateurs cliniques validés suffisamment fiables et spécifiques pour l'instant.

Les notes d'état corporel ont aussi été évaluées comme indicateur du niveau d'infestation par les SGI mais ce paramètre ne semble pas suffisamment robuste et sensible comme critère de décision de traitement dans une stratégie TCS. Cependant, une très forte corrélation positive a été montrée entre la note d'état corporel et le GMQ (Höglund et al., 2013).

Ces différents indicateurs sont donc pour certains des paramètres intéressants et prometteurs dans une démarche de TCS mais qui nécessitent d'autres études comparatives avec les recommandations actuelles de contrôle du parasitisme par les SGI (en termes de traitement et de conduite de pâturage) et applicables à des conditions de terrain.

Une autre stratégie pour contrôler l'infestation des jeunes bovins par les SGI est d'intervenir dans la phase externe du cycle en réduisant la contamination larvaire de l'herbe et limitant l'ingestion de larves infestantes par les animaux en pâturage. Cette approche environnementale comporte plusieurs méthodes qui seront détaillées successivement :

- Mesures agronomiques de gestion du pâturage
- Alimentation et utilisation de plantes à activité anthelminthique (plantes à tanins condensés, plantes bioactives)
- Contrôle biologique (champignons nématophages, *Bacillus thuringiensis*)

Enfin, un autre volet d'approche dans les stratégies de maîtrise du parasitisme par les SGI est une approche immunitaire au niveau de l'hôte. Cette voie d'approche, de plus en plus étudiée, se base sur la réponse immunitaire de l'hôte. Elle est donc intéressante chez les jeunes bovins pour stimuler de façon précoce une réponse immunitaire dirigée contre ces parasites afin d'anticiper les conséquences cliniques, zootechniques et économiques des infestations lors de la 1^{ère} saison de pâturage.

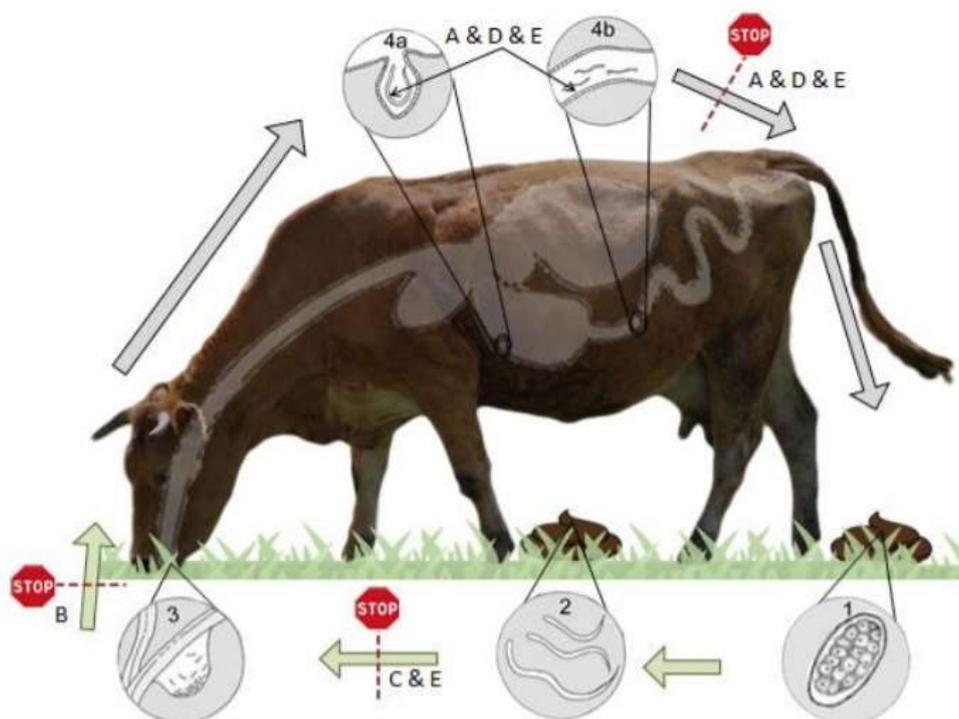


Figure 7 : Stratégies de contrôle d'une infestation par les SGI (Merlin Aurélie, 2017)

Les différents points de contrôle dans le cycle évolutif parasitaire sont marqués par les pointillés en rouge et les modes de contrôle sont indiqués par les lettres suivantes : A = anthelminthiques, B = conduite de pâturage, C = lutte biologique, D = alimentation, E = plantes à activité anthelminthique.

Nous développerons dans la suite les méthodes de contrôle du parasitisme par les SGI alternatives aux anthelminthiques, c'est-à-dire celles indiquées sur la [figure 7](#) par les lettres B, C, D et E.

a) Mesures agronomiques de gestion du pâturage

Les stratégies basées sur la gestion du pâturage ont été proposées à la fin des années 60, comme alternatives ou compléments des traitements anthelminthiques de synthèse conventionnels. En effet, certaines pratiques de gestion du pâturage peuvent être mises en place pour limiter l'infestation des bovins par les SGI. Cette approche environnementale et agronomique peut être divisée en 3 types de stratégies : stratégie de prévention, stratégie d'évasion, et stratégie de dilution.

➤ Stratégie de prévention

Cette stratégie consiste à limiter le contact des animaux avec les parasites, en les faisant pâturer sur des parcelles peu contaminées par les larves infestantes L3. L'objectif est de réduire au maximum la pression d'infestation sur les animaux en utilisant des pâtures relativement saines ou très faiblement infestées qui peuvent être obtenues par des pratiques culturales adaptées.

En effet, la mise en repos d'une prairie pour la fauche de l'herbe permet dans un premier temps de diluer les larves L3 en laissant pousser la végétation, puis de réduire le pouvoir contaminant des repousses. Cette mise au repos doit être suffisamment longue, notamment en raison de la durée de survie des larves infestantes comprise entre 6 et 12 mois dans les zones tempérées selon les espèces de SGI et les conditions de température et d'hygrométrie du milieu (Hoste et al., 2003). En pratique, pour minorer le risque à la mise à l'herbe, cela implique de mettre les animaux sur des parcelles non pâturées au minimum depuis le mois de juillet de l'année précédente. Cependant, une partie des larves conservent leur pouvoir infestant lors de la saison de pâture suivante. Il est donc illusoire d'obtenir un assainissement efficace et total lors d'une mise au repos d'une pâture.

De plus, le labourage d'une parcelle est aussi une pratique intéressante qui va permettre d'enfouir les larves infestantes.

Cependant, le principe de cette stratégie suppose de limiter le plus possible les contacts entre les bovins et les parasites. Si ce contrôle est trop strict, le développement de l'immunité, en particulier chez les jeunes bovins, peut être compromis et retardé au-delà du premier vêlage.

➤ Stratégie d'évasion

Cette stratégie repose sur le système de pâturage tournant dynamique avec rotation des animaux sur plusieurs parcelles. Les animaux sont déplacés régulièrement pour aller sur une nouvelle parcelle, permettant ainsi d'interrompre le cycle de succession des générations parasitaires. En théorie, il serait nécessaire de changer les animaux toutes les 3 semaines, durée correspondant à la période prépatente et donc à l'apparition sur la pâture de la nouvelle génération larvaire, sans les remettre sur la même parcelle avant l'année suivante. Seulement, ce schéma de rotation nécessite un nombre important de parcelles utilisables une seule fois au cours de la saison de pâturage, ce qui est difficilement applicable sur le terrain et limite l'optimisation des surfaces pâturables, la rotation étant souvent déterminée par rapport à la pousse de l'herbe (de 3 semaines au printemps à 40 jours en été).

C'est pourquoi la mise en œuvre de cette stratégie doit d'abord prendre en compte les possibilités de pratiques de pâturage propres à chaque élevage. Pour cela, l'utilisation d'outils de modélisation de la conduite de pâturage est intéressante pour évaluer le risque parasitaire spécifique à la situation d'un

élevage donné et pour élaborer un plan de contrôle adapté à ses contraintes. Deux outils informatiques sont disponibles en France pour simuler ce risque : Parasit'Sim et Eva3P.

Le premier outil informatisé, Parasit'Sim, élaboré par Chauvin et al. (2015), est un système expert qui intègre de nombreux paramètres dans la modélisation : conditions météorologiques (température, périodes de sécheresse), conduite d'élevage (utilisation d'un traitement AH immédiat ou rémanent, complémentation fourragère) et système de pâturage (date de la mise à l'herbe et de rentrée, choix d'une conduite de pâturage « type » ou saisie du planning de pâturage avec le nombre de parcelles utilisées et la durée de séjour sur chaque parcelle) pour un lot de génisses donné (1^{ère} ou 2nd saison de pâturage, âge et TCE à la mise à l'herbe). Ce système permet d'identifier précisément les périodes à risque au cours de la saison de pâturage. Le risque est représenté sous la forme d'une frise temporelle colorée en fonction du nombre de générations larvaires avec lesquelles les animaux sont en contact et correspondant à la conduite de pâturage saisie (figure 8). Lorsque la contamination résiduelle est faible à la mise à l'herbe, un risque potentiel est indiqué lorsque les bovins sont en contact avec des larves de 3^{ème} génération (GL3). À partir de la 5^{ème} génération larvaire (GL5), le risque est considéré comme élevé.

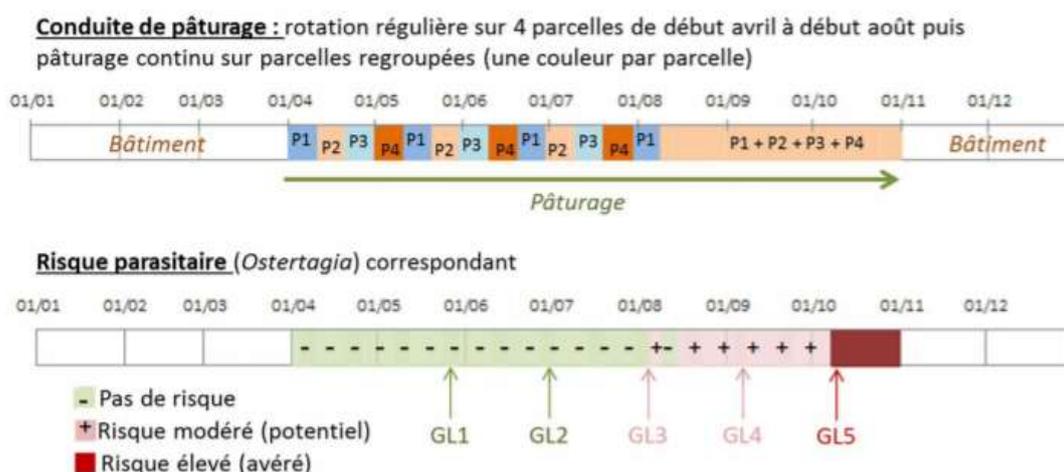


Figure 8 : Exemple de résultat du risque parasitaire donné par Parasit'Sim (Ravinet et al., 2019)

La période à risque s'interrompt pendant les périodes de sécheresse pendant lesquelles les larves infestantes restent à l'intérieur des bouses et les animaux reçoivent une complémentation fourragère qui réduit fortement voire totalement la part d'herbe pâturée dans la ration. Une 2^{ème} période à risque peut apparaître après, si la parcelle a été utilisée avant ou pendant la sécheresse. On parle alors de pic post-sécheresse correspondant à la migration massive des larves infestantes hors des bouses.

Ce système expert permet aussi de simuler l'impact de différentes interventions lors de la saison de pâturage, comme une modification dans la rotation de pâtures ou l'utilisation d'un traitement AH. Il prend également en compte l'installation progressive de l'immunité chez les animaux considérés immunisés contre *Ostertagia* après 240 jours (8 mois) de contact effectif avec les larves infestantes. Cette approche modélisée, basée sur le nombre de cycles réalisés depuis la mise à l'herbe en tenant compte de la durée d'évolution des parasites sur les pâtures et des dates d'apparition des générations successives larvaires, est donc un bon outil pour avoir une vision globale et personnalisée du risque parasitaire sur la saison de pâturage, notamment dans le cadre d'une stratégie d'évasion. De plus, elle

permet d'améliorer le planning de pâturage pour les années suivantes, de cibler la période à risque pour faire des prélèvements lors d'une démarche diagnostique, et de décider si nécessaire le moment et le type de traitement à mettre en œuvre dans le lot de génisses.

Le second outil informatique, nommé Eva3P et développé par Merial, se base sur la modélisation mathématique de l'ensemble du cycle parasitaire (Ravinet et al., 2017). Il prend également en compte la conduite de pâturage (succession de pâtures, densité animale sur chaque parcelle), la température, l'humidité, et l'installation de l'immunité. Le risque est représenté sous la forme de graphiques avec des courbes décrivant en fonction du temps (période de pâturage) l'excrétion fécale d'œufs (opg), le nombre de larves L3 sur les parcelles, la charge parasitaire et le nombre de larves L4 en hypobiose par animal.

Ces deux outils informatiques de modélisation permettent donc de visualiser le risque parasitaire au cours la saison de pâturage dans une démarche de contrôle des SGI chez les génisses (période sans risque favorable à l'installation de l'immunité, rationalisation des traitements AH grâce au repérage des périodes à risque pour le lot de génisses).

Selon la modélisation du risque, un traitement AH est parfois nécessaire au début ou au milieu de l'été quand généralement un risque potentiel apparaît, notamment chez les jeunes bovins susceptibles d'exprimer cliniquement l'infestation. Ce traitement est souvent réalisé au moment d'un changement de parcelle pour des raisons pratiques (« dose and move »), mais cette pratique favorise fortement le risque de développement de résistances aux AH. C'est pourquoi il est recommandé de plutôt traiter les animaux après le changement de pâture (« move and dose ») afin de diluer les parasites résistants dans une population refuge suffisante présente sur la nouvelle parcelle qui est déjà contaminée avant le traitement. Par ailleurs, le traitement à la rentrée en stabulation, couramment pratiqué sur le terrain, est très discutable puisqu'il entraîne une forte pression de sélection dans les populations parasites en raison de la disparition quasi complète de la population refuge (diminution hivernale du nombre de stades larvaires présents sur les pâtures). Cela justifie une approche de traitement sélectif se basant sur des indicateurs fiables dans la décision de traiter les animaux les plus infestés ou les plus impactés par ce parasitisme, ce qui assure le maintien d'un refuge par la présence de parasites chez ceux non traités.

Il est aussi possible de décaler quotidiennement la parcelle pâturée. La zone pâturée est délimitée par un fil avant que l'éleveur doit déplacer tous les jours pour faire progresser la surface pâturable. On parle de pâturage rationné (ou au fil). Un fil arrière peut être ajouté pour que les bovins n'aient plus accès à la portion de parcelle précédemment pâturée, empêchant ainsi le pâturage des repousses à proximité des zones de refus, ce qui diminue la probabilité de contamination par les L3. Ce mode de pâturage permet une très bonne exploitation de l'herbe mais il reste un système contraignant qui nécessite du temps de travail quotidien supplémentaire à l'éleveur avec le déplacement du fil et aussi des points d'eau.

➤ Stratégie de dilution

Cette stratégie consiste à réduire la pression d'infestation par diminution du nombre de larves L3 présentes sur les pâtures. Pour cela, plusieurs méthodes sont possibles.

La densité animale sur une parcelle est un premier levier d'action dans cette stratégie. En effet, la réduction du chargement permet de diminuer le nombre d'œufs excrétés et donc le nombre de larves présentes sur la pâture. La pression d'infestation est donc plus faible. Pour les jeunes bovins, la charge à l'hectare ne doit pas dépasser 4 à 6 UGB/ha au printemps sur les mois de forte croissance de l'herbe, et 2 UGB/ha à l'automne quand une complémentation est apportée aux animaux (Delagarde, 2018). Le chargement, qui se définit donc comme le rapport entre un nombre d'animaux donné et une surface fixée, varie selon la catégorie d'animaux et le moment de l'année. En effet, les conditions climatiques (température et pluviométrie) influent sur la croissance de l'herbe. De ce fait, les valeurs repères de chargement varient selon la saison et l'échelle de temps considérée. Les éleveurs doivent donc adapter le niveau de chargement des parcelles et leurs pratiques de façon réactive aux conditions climatiques et de croissance de l'herbe à un moment donné précis car la pousse de l'herbe est très irrégulière au fil de la saison de pâturage.

Par ailleurs, une densité trop élevée favorise la contamination des animaux qui pâturent plus à ras et à proximité des bouses où se concentrent de nombreuses larves L3 infestantes. Le surpâturage, lié à un chargement trop important ou à un temps passé sur la parcelle trop long, induit un pâturage plus à ras du sol qui augmente l'ingestion des larves situées majoritairement au niveau du collet, zone de transition entre la tige et le système racinaire. Il faut donc essayer au mieux de ne pas surcharger les pâtures, même si la superficie des parcelles disponibles et l'organisation agronomique de l'élevage ne permettent pas toujours la mise en place de cette mesure. L'augmentation du niveau de chargement permet d'augmenter les performances par hectare (viande et lait) au détriment des performances par animal si les autres pratiques de fertilisation azotée ou de complémentation (concentrés et fourrages) ne sont pas changées. Il convient aussi d'être vigilant au surpâturage ponctuel de certaines espèces végétales plus appétentes.

Il est intéressant d'avoir des repères de hauteur d'herbe à l'entrée et à la sortie sur une parcelle afin d'optimiser son utilisation tout en limitant le risque parasitaire pour les animaux, un compromis parfois délicat. Un chargement adapté doit permettre une bonne valorisation de l'herbe et un optimum économique tout en tenant compte de la composante parasitaire inhérente à la pratique du pâturage.

La pratique du copâturage, ou pâturage mixte, permet aussi de réduire le niveau de contamination des parcelles. Il consiste à associer en même temps (pâturage simultané) ou successivement (pâturage alterné ou système *leader-follower*) sur la même pâture des individus de la même espèce (catégories d'âge différentes) ou de deux espèces d'herbivores différentes.

Le mélange de génisses de 1^{ère} et 2^{nde} saisons de pâturage limite la pression d'infestation chez les animaux naïfs qui sortent pour la première fois au pâturage grâce à la présence des animaux en 2^{nde} saison de pâture qui ont acquis une immunité et excrètent moins d'œufs sur les parcelles. De la même façon, en élevage allaitant, le pâturage des veaux avec leur mère, à charge animale équivalente, réduit la contamination des veaux par la présence des mères immunisées. Un système de rotation peut aussi

se mettre en place en faisant pâturer d'abord les jeunes, de façon à ce qu'ils consomment seulement la partie supérieure de l'herbe, puis les adultes immunisés qui vont brouter la partie fibreuse basse de l'herbe où se concentrent la plupart des larves infestantes. Ces animaux étant immunisés, ils excrètent peu d'œufs, ce qui limite la contamination de la parcelle.

Le copâturage avec des espèces différentes, souvent des équidés ou des ovins, est intéressant pour interrompre le cycle parasitaire. En effet, les principales espèces de SGI chez les bovins sont plutôt spécifiques de leur hôte, ce qui limite les contaminations croisées pour *O. ostertagi* et *C. oncophora*. Les larves infestantes ingérées par une espèce hôte non adaptée ne peuvent pas évoluer jusqu'au stade d'adulte mature. Leur aptitude à contaminer la parcelle est donc nulle, permettant un assainissement progressif de la pâture : on parle de cul-de-sac épidémiologique. En effet, l'infestation des bovins par *O. ostertagi* est divisée par 3 après 12 semaines de pâturage par les ovins, et également par 3 pour *C. oncophora* après 24 semaines de pâturage par cette même espèce (Southcott & Barger, 1975). Seul *Trichostrongylus axei* présente un niveau de contamination croisée élevé, notamment avec les jeunes équidés qui sont très réceptifs.

Ce copâturage, qui permet la conduite en parallèle de deux systèmes, est donc bénéfique pour les deux espèces du point de vue du parasitisme en limitant la pression exercée par les SGI. Toutefois, cette pratique peut impacter les performances des animaux. En effet, la durée de pâturage est réduite et un phénomène de compétition entre les deux espèces peut se mettre en place pour l'utilisation de la ressource prairiale selon le chargement au pâturage, leurs niveaux d'ingestion d'herbe respectifs et leur aptitude à pâturer ras. Cependant, cette conduite permet de valoriser les stratégies alimentaires sélectives et complémentaires des espèces, et d'optimiser l'utilisation et le turn-over de la biomasse présente dans la prairie pâturée. Les bénéfices du système de pâturage mixte ont été largement étudiés et impliquent principalement les bovins et les ovins, avec des avantages plus nets sur les performances de croissance et sur la réduction du parasitisme gastro-intestinal chez les ovins (D'Alexis et al., 2015). Même si les conditions expérimentales entre les différentes études sont très variables, notamment sur les proportions respectives des deux espèces considérées, le système de pâturage (pâturage simultané ou alterné, nombre de parcelles,...) et le climat, l'intérêt du copâturage pour les bovins est intéressant mais n'est pas aussi manifeste que chez les ovins.

Ces stratégies agronomiques de contrôle du parasitisme par les SGI sont de plus en plus utilisées aujourd'hui pour limiter l'infestation des animaux à un niveau suffisamment bas pour éviter les effets cliniques et zootechniques tout en favorisant le développement de l'immunité. Cependant, elles sont rarement utilisées seules et sont assez souvent associées à l'usage de molécules AH conventionnelles. Néanmoins, face aux problématiques posées par leur utilisation et l'évolution des réglementations, l'attrait pour les médecines alternatives, comme la phytothérapie ou l'aromathérapie, est de plus en plus important, avec de nombreuses études ayant déjà été menées ou actuellement en cours qui portent sur l'activité anthelminthique de certaines plantes.

b) Alimentation et utilisation de plantes à activité anthelminthique

Chez les jeunes bovins, les carences nutritionnelles consécutives au parasitisme gastro-intestinal et responsables des retards de croissance sont liées à trois mécanismes : une baisse de l'appétit, une inflammation de la muqueuse digestive avec malabsorption/malassimilation et un détournement du métabolisme protéique pour maintenir l'homéostasie dans le sang et au niveau des tissus. La balance énergétique est moins affectée. C'est pourquoi, une alimentation équilibrée en quantité et en qualité, notamment au niveau des apports protéiques, joue donc un rôle important pour maintenir un équilibre dynamique stable entre les animaux et les parasites. Une ration alimentaire équilibrée participe donc à la résilience des animaux, c'est-à-dire leur capacité à limiter les effets pathogènes liés aux parasites, et à maintenir leurs performances de croissance. Elle favorise leur capacité de défense vis-à-vis de l'infestation par les SGI, ainsi que le développement de l'immunité.

Les plantes présentant une activité anthelminthique peuvent être distinguées en deux catégories : les plantes à tanins et les plantes bioactives. Cette dichotomie est choisie arbitrairement pour essayer de différencier en deux groupes ces plantes notamment par rapport aux composés qui les constituent pourvus d'une activité anthelminthique, même si cette distinction reste imparfaite car les constituants au sein d'une plante sont multiples et varient selon les différentes parties de l'appareil végétatif.

De nombreuses plantes riches en tanins ont déjà montré une activité anthelminthique. Les tanins sont des polymères phénoliques présents dans de multiples familles de plantes et catégorisés en deux groupes, les tanins hydrolysables et les tanins condensés (TC). Ces derniers sont les plus répandus et possèdent des propriétés anthelminthiques qui ont déjà été évaluées dans plusieurs études *in vitro* et *in vivo*. Ils augmentent donc la résilience de l'hôte. Certaines plantes sont particulièrement riches en TC, comme le sainfoin ou le lotier pédonculé (2 à 5 %). Elles sont définies comme « nutraceutiques » car les effets bénéfiques de leur consommation sur la santé des animaux sont considérés supérieurs à leurs apports nutritionnels directs (Andlauer & Fürst, 2002 ; Hoste et al., 2004).

L'utilisation de parcelles à vocation « anthelminthique », c'est-à-dire semées avec des plantes à tanins, a déjà été testée en Nouvelle-Zélande chez les ovins et a permis d'améliorer la résistance et la résilience des animaux contre l'infestation par les SGI avec une réduction de la charge parasitaire et de l'excrétion fécale d'œufs de SGI (Niezen et al., 1998). Par ailleurs, il a été observé une meilleure croissance des agneaux pâturent sur les parcelles contenant des plantes à tanins (sulla, lotier corniculé et lotier pédonculé) avec des gains de poids allant de 8 à 24 %, comparativement à ceux nourris sans tanins (ray-grass, trèfle blanc, luzerne).

Cependant, ces effets varient selon la teneur en TC contenue dans les plantes et une trop grande quantité ingérée peut avoir un impact délétère sur les animaux. En effet, lorsque la concentration en TC dépasse 55 g/kg de matière sèche dans un fourrage, la dégradation des fibres est diminuée, ce qui limite la digestibilité du fourrage, la prise alimentaire et l'apport énergétique (Min & Hart, 2003). Les performances de production peuvent donc être réduites. Selon la plante considérée, sa dose en tanins et l'espèce à qui elle est destinée, des effets positifs ou néfastes sur la reproduction des animaux ont aussi été signalés (taux de reproduction, taux d'ovulation,...).

Plusieurs études se sont particulièrement intéressées au mode d'action des TC et deux explications principales sont avancées.

Ils agiraient d'abord de façon indirecte. En effet, les TC ne traversent pas la barrière intestinale et améliorent la digestibilité des protéines. Ils forment des complexes avec les protéines, les protégeant de la dégradation ruminale jusque dans la caillette où ils se dissocient, permettant ainsi une meilleure absorption des acides aminés au niveau de l'intestin grêle après digestion enzymatique des protéines (Rahmann & Seip, 2007). Comme le parasitisme digestif s'associe souvent à une perte de protéines et à une diminution de leur absorption, l'apport de fourrages riches en TC peut contrebalancer cette perte protéique et augmenter la résilience des animaux. De même, la réponse immunitaire serait aussi améliorée, mais aucune étude n'a encore confirmé cette hypothèse.

Ils agiraient aussi directement sur les parasites. En effet, des études *in vitro* ont permis de montrer que les TC interagissent avec des protéines constitutives de la cuticule des vers ou de la gaine des L3, ce qui perturbe leurs fonctions physiologiques, comme la mobilité et la fécondité des vers femelles. De nombreuses études *in vivo* portant sur l'activité anthelminthique des tanins ont été réalisées chez les petits ruminants et ont mis en évidence une diminution significative de l'excrétion fécale d'œufs de SGI (Paolini et al., 2002). D'autres études menées chez les ovins et les caprins ont montré que les TC perturbent l'implantation des larves dans la muqueuse et l'évolution des stades larvaires. Ils ont également un effet sur le développement des œufs en larves infestantes (Min & Hart, 2003).

L'activité anthelminthique des plantes riches en tanins a déjà été largement étudiée et l'est encore. Seules les plantes contenant une concentration suffisamment élevée en TC sont considérées comme efficaces car les TC sont très répandus et retrouvés dans de nombreuses plantes. Le [tableau II](#) présente les teneurs en TC des principales espèces fourragères les plus étudiées.

Tableau II : Teneurs en TC de différents fourrages (Coffey et al., 2007)

(Traduit et adapté de Min & Hart, 2003 et Min et al., 2005)

Fourrage	TC en g/kg MS
Lotier corniculé	48
Lotier des marais	77
Sainfoin	29
Sulla	51-84
Luzerne	0,5
<i>Sericea lespedeza</i>	46-152
Ivraie (ray-grass) vivace	1,8
Chicorée	3,1
Mélange digitaire & fétuque élevée	3,2

La plupart des études (*in vitro* et *in vivo*) portant sur l'effet AH des plantes à TC ont été réalisées chez les petits ruminants.

Athanasiadou et al. (2005) ont démontré l'activité AH de la chicorée dans des études menées *in vitro* chez les ovins. Un essai *in vivo* a montré une efficacité AH contre les adultes de *T. circumcincta* (charge parasitaire) mais pas sur l'excrétion fécale d'œufs et sur l'implantation des larves infestantes.

Des études sur le lotier corniculé et le lotier pédiculé ont montré des résultats contradictoires. Si aucun effet *in vitro* n'a pu être mis en évidence, des résultats inconstants sur l'excrétion fécale et la charge parasitaire ont été obtenus, probablement liés à des variations de concentrations en TC.

Niezen et al. (1998) ont réalisé un essai visant à évaluer l'effet du sulla sur des agneaux pendant 6 semaines de pâturage. Les résultats ont mis en évidence une plus faible excrétion fécale d'œufs de strongles et une réduction de la charge parasitaire. Des études *in vitro* menées par Hoste et al. (2005) ont permis d'observer une baisse de l'éclosion des œufs mais pas de différence sur le développement larvaire. L'efficacité AH *in vivo* a été confirmée pour *H. contortus* mais pas pour *T. colubriformis* mais les résultats sont variables selon la durée de l'essai. En effet, une administration sur une courte période ne semble pas avoir d'effet positif significatif sur l'infestation, de même sur les performances de l'animal. Par ailleurs, la culture de sulla étant difficile, un approvisionnement à long terme sur de longues périodes paraît compliqué.

Pour le sainfoin, les études *in vitro* ont démontré une activité inhibitrice sur les larves L3 de *H. contortus* et *T. colubriformis*, et sur les adultes de *T. circumcincta*. Ces résultats ont été confirmés par plusieurs études *in vivo* avec une diminution significative de l'excrétion fécale, une réduction de la charge parasitaire et une plus faible implantation des larves infestantes. Le sainfoin présente donc un potentiel prometteur pour être intégré dans les pratiques agronomiques au sein d'un élevage. De plus, une étude *in vitro* sur les larves L1 d'*O. ostertagi* et *C. oncophora* a mis en évidence une inhibition significative de l'alimentation des larves positivement corrélée à la teneur en TC et liée à la taille du polymère qui contribuerait aussi à l'activité anthelminthique des TC (Novobilský et al., 2013).

De nombreuses autres plantes contenant des TC ont montré une activité anthelminthique *in vitro*, certaines ont même donné des résultats prometteurs dans des essais *in vivo*. Mais les résultats obtenus sont souvent inconstants voire contradictoires entre les essais *in vitro* et *in vivo*. Des études doivent encore être effectuées pour comprendre ces variations d'efficacité et préciser les conditions optimales d'utilisation de ces plantes en fonction du stade de la plante et des saisons. Par ailleurs, il persiste de nombreuses interrogations sur les composés biochimiques actifs responsables de cette activité AH et leurs modes d'action, avec un manque de données important sur les souches de nématodes résistantes aux AH de synthèse, comme la plupart des études ont été menées sur des souches sensibles.

Cependant, plusieurs limites se posent quant à l'utilisation des plantes à tanins comme moyen antiparasitaire alternatif ou complémentaire aux molécules AH conventionnelles. En effet, l'activité AH de ces plantes nécessite une administration prolongée, quotidienne, sur une période suffisamment longue pour être efficace. En pratique, il est compliqué d'apporter sur plusieurs jours voire semaines une dose constante et efficace en TC. Dans un système de pâturage tournant dynamique, le passage des animaux sur une parcelle à vocation « anthelminthique » sur laquelle des plantes à tanins ont été cultivées dans ce but est intéressante mais l'ingestion reste aléatoire et hétérogène entre les animaux. Par ailleurs, les contraintes posées par les conditions de culture de ces plantes peuvent être également

problématiques et non applicables dans les pratiques agronomiques de l'élevage. Quant à une portion qui serait incluse dans la ration fourragère quotidienne, elle représenterait un volume trop important pour atteindre une teneur suffisante en TC au détriment des propriétés nutritionnelles des fourrages.

Néanmoins, les plantes à tanins représentent une alternative très intéressante et prometteuse dans la lutte intégrée contre les SGI chez les bovins.

L'utilisation de plantes bioactives présentant des propriétés anthelminthiques représente un autre volet intéressant dans le contrôle alternatif des infestations par les SGI.

Dans de nombreux pays, l'utilisation de plantes basée sur un savoir empirique reste très répandue, notamment dans certains pays en voie de développement où l'accès aux AH de synthèse est difficile. Dans les pays développés en particulier, l'intérêt croissant pour une agriculture durable ou biologique conduit à explorer les propriétés de composés naturels bioactifs contenus dans certaines plantes afin de répondre à la demande de réduction des intrants chimiques en élevage.

Ces propriétés peuvent être exploitées sous la forme de préparations phyto- ou aromathérapeutiques à visée thérapeutique destinées à traiter les animaux infestés et données généralement sur une courte période, ou sous la forme d'un nutriment à visée préventive incorporé dans la ration sur une période plus longue (quelques jours minimum). Comme pour les plantes à tanins, l'intérêt de consommer ces plantes en tant que nutriment tient davantage à sa propriété à maintenir un bon état de santé chez l'animal qu'à sa valeur strictement nutritive. Il est le plus souvent donné sous forme de fourrages aux animaux de façon à exploiter entièrement les propriétés de la plante. Des formes solides ou liquides, contenant des extraits de plantes bioactives, peuvent aussi être proposées et incorporées dans la ration.

Différentes études *in vivo* portées sur l'effet anthelminthique de plantes bioactives confirment le potentiel de leur utilisation comme stratégie dans le contrôle des infestations par les SGI. Les [tableaux III et IV](#) ci-dessous résument les principaux essais *in vitro* et *in vivo* attestant d'une activité AH contre les SGI chez les bovins. L'utilisation de plantes ou de préparations à base de plantes se base soit sur une approche allopathique qui repose sur une efficacité AH testée et prouvée, soit sur une approche traditionnelle développée à partir de connaissances empiriques.

Un nombre limité d'études existe sur l'utilisation d'extraits de plantes bioactives chez les bovins. Cependant, les essais menés chez les petits ruminants étant plus nombreux, les résultats sont utiles et intéressants pour les bovins en raison des infestations croisées pour les mêmes espèces de SGI et des cycles parasitaires similaires. Cependant, des différences d'efficacité peuvent être attendues en raison des différences entre les bovins et les petits ruminants sur la taille du rumen, leur capacité d'ingestion et de digestion. De ce fait, les résultats ne sont pas si facilement extrapolables entre les espèces.

L'ail (*Allium sativum*) a déjà fait l'objet de nombreuses études mais les données sur son efficacité anthelminthique sont contradictoires. Une étude *in vivo* réalisée chez les ovins en 2015 a montré une diminution de 57 % de l'excrétion fécale d'œufs de strongles 21 jours après une administration orale unique de 5 g d'extrait de bulbe d'ail par animal (Kanojiya et al., 2015). L'allicine, composé organo-sulfuré présent abondamment dans l'ail, aurait une action nématocide par activation chez les parasites d'enzymes à groupements sulfhydriles.

Le thymol, composé phénolique contenu principalement dans l'huile de thym (*Thymus vulgaris*), a montré une efficacité *in vitro* contre trois stades parasitaires de *H. contortus* avec une diminution

de l'éclosion des œufs, une inhibition du développement et de la motilité larvaire, et une inhibition complète du mouvement des vers adultes au bout de 8 heures de contact (Ferreira et al., 2016).

L'avoine (*Avena sativa*) est une céréale intéressante pouvant être utilisée dans la ration des vaches laitières en raison de son contenu énergétique et protéique élevé. Elle contient des avénacosides qui réduisent le pouvoir infestant des larves L3 d'*Heligmosomoides bakeri*, un nématode chez la souris, par modification des protéines et blocage de l'activité de transport des P-glycoprotéines (Doligalska et al., 2017). Ces composés entraînent également l'expression de la protéine CED-9 qui fait partie de la cascade d'activation de l'apoptose. L'avoine présente donc des effets antiparasitaires intéressants contre les nématodes gastro-intestinaux qui pourraient potentiellement être appliqués chez les bovins.

Des essais *in vitro* sur la papaye (*Carica papaya*), utilisée traditionnellement dans plusieurs pays, ont confirmé une activité anthelminthique. Des études *in vivo* menées chez les ovins avec des graines de papaye ont montré une réduction de 80 % de l'excrétion fécale d'œufs de strongles. Une étude *in vivo* similaire réalisée sur des veaux a mis en évidence une diminution de 60 % (Rahmann & Seip, 2007).

Tableau III : Études in vitro sur l'activité AH de plantes contre les SGI chez les bovins

Plante	Parasite	Test ou effet AH observé	Référence
<i>Onobrychis viciifolia</i> <i>Lotus pedunculatus</i> <i>L. corniculatus</i>	<i>C. oncophora</i> <i>O. ostertagi</i>	Inhibition du développement larvaire Inhibition de l'alimentation des larves	Novobilský et al., 2011
<i>Parkia biglobosa</i>	Œufs de SGI	Test d'éclosion des œufs : diminution du pourcentage d'éclosion	Soetan et al., 2011
Mil à chandelle (<i>Pennisetum glaucum</i>)	Œufs de SGI	Test d'éclosion des œufs : diminution du pourcentage d'éclosion	Soetan & Lasisi, 2008

Tableau IV : Études in vivo sur l'activité AH de plantes contre les SGI chez les bovins

Plante	Parasite	Effet(s) AH observé(s)	Référence
Margousier (<i>Azadirachta indica</i>)	SGI	Réduction de l'excrétion fécale (67 %)	Akbar et al., 2003
Ananas (<i>Ananas comosus</i>)	SGI	Réduction de l'excrétion fécale (95 %)	Akbar et al., 2003
Mimosa odorant (<i>Acacia karroo</i>)	<i>Haemonchus sp.</i> <i>Oesophagostomum sp.</i>	Réduction de l'excrétion fécale Diminution de la charge parasitaire	Xhomfulana et al., 2009

c) Lutte biologique contre les stades libres

➤ Utilisation de champignons nématophages

Cette méthode se base sur l'utilisation de prédateurs naturels qui ciblent les stades libres de SGI présents sur les pâtures, des champignons microscopiques nématophages appartenant à la microflore du sol. Plus de 200 espèces de champignons ont été identifiées, dont la plus étudiée est *Duddingtonia flagrans*. Ces champignons peuvent agir sur les œufs ou sur les larves L3 au sein des fèces, réduisant ainsi le niveau de contamination des pâtures.

Les spores de *Duddingtonia flagrans*, après passage dans le tube digestif du bovin, sporulent dans les fèces. Leurs mycéliums agissent par des mécanismes d'endoparasitisme ou de prédation, formant un réseau tridimensionnel très collant et serré capable de piéger les L3 et produisant des enzymes qui dégradent la gaine. Ils pénètrent ensuite à l'intérieur des larves et utilisent leur contenu comme source nutritive (Larsen, 2000). Les spores peuvent être distribuées par voie orale dans l'alimentation sous forme de compléments alimentaires ou de pierres à lécher (Torres-acosta & Hoste, 2008) et exercent leur action de décontamination dans les fèces après avoir transitées dans le tube digestif des animaux. L'utilisation à forte dose de *D. flagrans* n'affecte pas les espèces non cibles (nématodes libres du sol, microarthropodes, insectes coprophages), ce qui ne modifie pas la dégradation des bouses malgré sa persistance sur les pâtures qui peut atteindre deux mois (Saumell et al., 2016). Elle ne présente donc *a priori* pas d'impact négatif à court terme sur ces différentes populations. De plus, *D. flagrans* ne se développe qu'en aérobiose, ce qui nécessite une aération des bouses grâce aux galeries creusées par les insectes coprophages.

L'efficacité de *D. flagrans* varie selon les travaux. Des essais menés *in vitro* chez les caprins ont montré une réduction du développement larvaire à partir du 2^{ème} jour après le début de la distribution de spores aux animaux se prolongeant 48 heures après la fin de l'administration (Paraud & Chartier, 2003). Une mortalité des larves infestantes jusqu'à 90 % selon les espèces de nématodes parasites et la dose de spores initialement administrée (0,5 à 1 million par kg de poids vif) a pu être observée par rapport à des fèces d'animaux témoins sans champignons en conditions expérimentales. Les résultats obtenus sur le terrain sont plus variables voire contradictoires chez les petits ruminants car le maintien d'une bonne efficacité nécessite une administration quotidienne de spores (Hoste et al., 2004).

L'efficacité en conditions d'élevage est donc moins nette et pose question quant à une éventuelle commercialisation des spores à grande échelle. Elles sont déjà disponibles sous forme de complément alimentaire (BioWorma[®]) en Australie et en Nouvelle-Zélande, et depuis récemment aux États-Unis.

Chez les bovins, une étude sur le terrain a été réalisée par Hertzberg et al. (2007) avec 3 groupes composés de 20 jeunes bovins en 1^{ère} saison de pâturage chacun (groupe témoin négatif, groupe traité avec des spores de *D. flagrans*, et groupe traité avec un AH de synthèse) durant l'été chaud et sec de 2003, limitant naturellement la pression d'infestation (réduction de la migration des larves infestantes L3, augmentation du taux de mortalité larvaire, et complémentation fourragère). Néanmoins, il a été montré, à partir de coprocultures réalisées mensuellement chez le groupe traité à *D. flagrans*, un taux de développement larvaire de 25 % contre 83 % dans le groupe témoin. Par ailleurs, une réduction de plus de 90 % du nombre de L3 présentes sur les pâtures du groupe traité à *D. flagrans* a été mise en évidence (Hertzberg et al., 2007). Le niveau d'infestation était faible dans les 3 groupes, avec un effet

préventif naturel lié aux conditions climatiques qui a surtout profité aux animaux du groupe témoin comme ces animaux ne reçoivent pas de traitement pour limiter leur niveau d'infestation. De ce fait, l'effet bénéfique supplémentaire apporté respectivement par les traitements vermifuge et biologique dans les 2 autres groupes peut être discutable sur l'intérêt de leur utilisation, car les infestations sont restées subcliniques avec un faible impact sur la croissance des animaux. En effet, aucune différence significative entre les 3 groupes sur le GMQ (676 à 688 g/jour) n'a été observée et le nombre d'œufs de SGI excrétés durant la saison de pâturage est resté bas (en moyenne < 60 opg).

L'utilisation de *D. flagrans* reste tout de même très prometteuse et intéressante comme stratégie complémentaire de lutte contre les SGI chez les bovins.



Figure 9 : Mycélium de *D. flagrans* avec piège hyphal sur une larve de SGI (Hertzberg et al., 2007)

➤ **Activité nématocide de *Bacillus thuringiensis* (Bt)**

Bacillus thuringiensis est une bactérie gram positive ubiquiste présente naturellement dans le sol. Connue et utilisée pour son activité insecticide dans les cultures (synthèse de toxines par les plantes transgéniques), elle présente une activité nématocide potentiellement intéressante dans les stratégies alternatives de lutte contre les SGI par l'intermédiaire de ses endotoxines qu'elle synthétise lors de la germination des spores. Ces endotoxines sont ingérées par le parasite et activées par protéolyse. Elles se fixent ensuite sur des récepteurs spécifiques au niveau des cellules intestinales, formant des pores qui entraînent la mort du nématode (Wei et al., 2003).

Des études *in vitro* menées chez les ovins ont montré une inhibition du développement larvaire et de la mobilité des stades libres L1 et L2 de *H. contortus*, *T. circumcincta* et *T. colubriformis*, le stade L3 infestant étant peu sensible à l'action toxique de la bactérie. De plus, l'ingestion de spores entraîne un délai de développement bactérien dans les fèces nécessaire pour la synthèse des toxines impliquant un décalage entre l'éclosion des œufs et l'exposition initiale des larves aux endotoxines de *Bt*, ce qui permettrait aux larves d'évoluer jusqu'à un stade larvaire tardif qui est relativement insensible à leur toxicité (Grady et al., 2007).

Une autre étude a pu mettre en évidence une réduction de la toxicité sur les larves de nématodes après exposition de suspensions de spores de *Bt* à des conditions de pH acide similaires à celles dans la caillette (Kotze et al., 2005). De ce fait, l'administration d'une suspension de spores par voie orale pourrait entraîner une inactivation dans le tube digestif des animaux. Si les stades libres larvaires sont sensibles aux effets de *Bt* dans les essais *in vitro*, une efficacité *in vivo* paraît difficilement applicable sans protection préalable des spores avant une administration *per os*.

Par ailleurs, aucune étude n'a encore été réalisée chez les bovins. Néanmoins, les études montrent que les endotoxines de *B. thuringiensis* peuvent être des agents potentiels de contrôle biologique dans la lutte contre les SGI.

d) Au niveau de l'hôte : stimulation de l'immunité

Il existe actuellement trois voies principales qui sont explorées dans le cadre de cette stratégie :

➤ Temps de Contact Effectif (TCE)

L'immunité en matière de SGI est particulièrement importante chez les bovins, supérieure à celle chez les petits ruminants. Cette immunité se développe au pâturage grâce au contact continu avec les parasites. De ce fait, il convient d'optimiser le TCE chez les génisses et d'atteindre au moins 8 mois de contact avec les larves infestantes L3, idéalement avant le premier vêlage, pour qu'une immunité complète et protectrice soit acquise. Seul ce critère peut être actuellement considéré comme le reflet du développement de l'immunité, même s'il n'est pas totalement exact. L'historique de pâturage d'un lot de génisses donné est donc très important car il n'existe pas d'outils diagnostiques qui mesurent le niveau d'immunité.

Pour déterminer le plus précisément le TCE, il faut additionner toutes les périodes de contact avec les larves infestantes L3 présentes dans l'herbe en retirant les périodes pendant lesquelles les génisses sont très peu voire pas exposés aux L3, c'est-à-dire pendant les périodes d'action de traitements AH rémanents, les périodes de sécheresse et les périodes d'affouragement quand la part principale de la ration est constituée de la complémentation fourragère et non plus de l'herbe pâturée. En pratique, le TCE est relativement simple à déterminer, surtout dans les élevages où les vêlages sont groupés car les génisses sont conduites dans des lots d'âge globalement homogène. La conduite de pâturage est donc similaire et limite les variations entre individus. Lorsque les vêlages sont étalés, l'évaluation du TCE est plus complexe car la mise à l'herbe des animaux est échelonnée dans le temps. Il est donc intéressant de déterminer un TCE minimal et un TCE maximal afin de visualiser le plus exactement possible le développement de l'immunité selon la date de naissance de la génisse.

Même si le TCE est primordial chez les jeunes bovins pour l'acquisition de l'immunité, il ne doit pas pour autant exposer les animaux à un risque parasitaire.

➤ Vaccination

La vaccination consiste à mettre en contact volontairement de manière préventive l'hôte avec des faibles doses d'antigènes parasitaires afin de stimuler une réponse immunitaire protectrice contre les infestations ultérieures par les mêmes parasites. Cette idée visant à vacciner les ruminants contre les parasites est avancée depuis les années 60 avec plusieurs études portant sur l'utilisation de larves L3 irradiées (Mulligan et al., 1961). Des études plus récentes se sont portées sur l'utilisation d'antigènes isolés à partir du tube digestif des SGI, introduisant la notion d'antigènes « cachés ». Ils ne sont pas directement exposés au système immunitaire.

Actuellement, un seul vaccin est disponible sur le marché pour lutter contre les SGI, Barbervax[®]. Déjà commercialisé en Australie, en Nouvelle-Zélande et en Afrique du Sud, il cible exclusivement *Haemonchus contortus* et utilise des antigènes cachés constitués de protéines intestinales du parasite natives et purifiées pour stimuler la synthèse d'anticorps spécifiques dirigés contre ces protéines. Lors d'une infestation naturelle ultérieure par des vers de la même espèce, ceux-ci ingèrent les anticorps qui se fixent alors sur leurs propres constituants internes, entraînant une diminution importante de la fécondité des vers femelles et un taux de mortalité accru des stades adultes. Ce vaccin est administré par voie sous-cutanée avec une primovaccination recommandée avant la mise à l'herbe en 3 injections espacées de 3-4 semaines puis des rappels toutes les 6 semaines.

Un essai testant un vaccin à base de protéines recombinantes de *T. circumcincta* a été réalisé en 2013 pour étudier la réponse immunitaire en IgA dirigée contre des antigènes spécifiques de surface des stades larvaires parasitaires (Nisbet et al., 2013). Des versions recombinantes de 8 antigènes avec un rôle potentiellement immunorégulateur, identifiés par immunoprotéomique, ont été administrées à des moutons dans un vaccin unique à trois reprises. Ils ont ensuite été infestés de façon répétée pour imiter au mieux la dynamique d'une infestation au pâturage en conditions terrain. L'essai a été réalisé à deux reprises. Un nombre d'œufs excrétés significativement plus bas a été constaté chez les moutons vaccinés par rapport au groupe témoin ayant reçu seulement l'adjuvant, avec une réduction moyenne de l'excrétion fécale de 70 % (essai 1) puis 58 % (essai 2). À l'autopsie, les charges parasitaires des animaux vaccinés étaient réduites de 75 % et 56 %. Cette étude est la première à mettre en évidence la réussite d'une immunisation à ce niveau d'efficacité grâce à un vaccin formé à partir de plusieurs sous-unités antigéniques recombinantes.

Depuis plusieurs dizaines d'années, de nombreux travaux ont cherché à élaborer un vaccin dirigé contre *O. ostertagi*. Plusieurs antigènes et mélanges d'antigènes ont déjà été évalués. Actuellement, le vaccin expérimental le plus prometteur se base sur des protéines dites « ASP » qui constituent les PES libérés par les parasites adultes. La vaccination avec une fraction de PES contenant ces protéines, ou directement avec des protéines ASP, a permis de mettre en évidence une diminution significative de l'excrétion fécale d'œufs (55 à 62 %) après l'infestation des animaux. Les tentatives pour générer des niveaux de protection aussi efficaces avec des protéines ASP recombinantes ont échoué jusqu'à présent. Les recherches actuelles se portent sur les différences de repliement et de glycosylation entre les protéines ASP natives et les protéines recombinantes pour identifier les épitopes importants pour induire une réponse immunitaire protectrice (Claerebout & Geldhof, 2020).

Après des premiers résultats prometteurs pour *O. ostertagi*, un vaccin expérimental utilisant des protéines ASP à double domaine (ddASP) purifiées et issues de PES de vers adultes de *C. oncophora*

a été testé avec succès. La vaccination a permis une réduction significative (91 %) du nombre d'œufs de strongles excrétés cumulés après une infestation artificielle. Un essai terrain a mis en évidence une diminution de 59 % de l'excrétion fécale, une réduction de 65 % du nombre de larves infestantes L3 de *C. oncophora* sur les pâtures des bovins vaccinés et une baisse significative de 82 % de la charge parasitaire à la rentrée en bâtiment (Vlaminck et al., 2015). De plus, la vaccination avec des protéines ddASP permet une protection croisée contre les espèces *C. oncophora* et *C. punctata*, ce qui suggère la conservation des épitopes immunogènes entre les espèces de *Cooperia*. Comme pour *O. ostertagi*, les recherches se focalisent actuellement sur un vaccin avec des antigènes recombinants.

➤ Amélioration ou complémentation de la ration de l'hôte

Comme cela a été précédemment détaillé, l'équilibre de la ration est important pour maintenir un métabolisme protéique non déficitaire chez les animaux en croissance, et favoriser le développement de l'immunité et leur résilience face à l'infestation.

De plus, certains produits peuvent être ajoutés à la ration pour stimuler le système immunitaire. Il s'agit de renforcer le système immunitaire en intensifiant la réponse immunitaire spontanée. La notion d'immunostimulation vient du principe de l'adjuvant, qui se définit comme une substance qui augmente la réponse immunitaire dirigée contre un antigène spécifique injecté en même temps. À la différence d'un adjuvant, la notion d'immunostimulation a été étendue de manière plus générale pour stimuler la réponse immunitaire globale, de façon non spécifique. L'activité immunostimulante d'une substance peut être mise en évidence *in vivo* par la détection de la réponse immunitaire en mesurant différents paramètres (nombre de leucocytes total, formule leucocytaire, profil électrophorétique des protéines sériques, taux d'anticorps sériques).

Ainsi, l'usage de plantes à activité immunostimulante, possédant des substances immunogènes, est recherché et s'inscrit dans la démarche globale de réduction des intrants chimiques en élevage et de recours à des pratiques alternatives pour contrôler les infestations par les SGI. Certaines plantes présentent des propriétés immunostimulantes grâce à divers métabolites primaires ou secondaires qui agissent sur le système immunitaire.

Des études récentes sur l'échinacée (*Echinacea purpurea*), plus particulièrement sur la racine de la plante, ont montré des propriétés immunostimulantes reposant sur la synergie de deux familles de molécules, les alkylamides et les polysaccharides. De nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont étudié leurs actions pharmacologiques spécifiques. Les alkylamides exercent une action immunostimulante sur l'immunité innée en augmentant l'activité phagocytaire des macrophages et des granulocytes. Ils favorisent la synthèse de médiateurs de l'inflammation (TNF- α , IL-1, ...). Quant aux polysaccharides, ils exercent un effet sur l'immunité adaptative en augmentant le nombre de lymphocytes T et B, et la production d'IgG et d'IgM. Ils ont aussi une action antioxydante par l'activation de certaines enzymes antioxydantes : glutathion peroxydase et superoxyde dismutase (Bachelet, 2013). En effet, un stress oxydatif est généré lorsque les parasites rentrent en contact avec la muqueuse digestive. Les cellules épithéliales possèdent des complexes enzymatiques membranaires, les NAD(P)H oxydases, capables de former des molécules oxydantes instables (anions superoxydes formant du peroxyde d'hydrogène par dismutation). Si les mécanismes antioxydants sont dépassés lors d'une charge parasitaire élevée,

ces molécules réactives formées en trop grande quantité peuvent entraîner l'oxydation non spécifique et irréversible de molécules dans l'organisme, notamment les acides aminés, les protéines et les acides gras polyinsaturés, générant une perte de fonction de ces molécules et des lésions cellulaires (Migdal & Serres, 2011). L'équilibre est rompu entre les systèmes antioxydants et les molécules oxydantes : on parle donc de stress oxydatif, toxique pour l'organisme.

Certaines plantes, dont *Echinacea purpurea*, pourraient donc limiter ce stress oxydatif généré lors des infestations par les SGI.

D'autres polysaccharides, comme le ginsan contenu dans le ginseng (*Panax ginseng*), augmentent aussi l'activité phagocytaire des macrophages.

Les composés phytogéniques peuvent aussi stimuler l'immunité acquise, notamment la voie Th2, de la même façon que les polysaccharides des racines d'échinacée. Lu et al. (2012) ont montré que le salidroside contenu dans la rhodiola augmente la formation des lymphocytes T CD4+ chez des rats complémentés pendant 45 jours. Par ailleurs, la rhodiola entraîne aussi une augmentation significative dose- et temps-dépendante de la synthèse d'IL-4 et IL-10 chez des souris nourries avec une solution de rhodiola (Lin et al., 2011).

Par ailleurs, Burger et al. (1997) ont mis en évidence une augmentation de la synthèse d'IL-10 et d'IL-6 par des macrophages mis en culture avec des solutions commerciales buvables (jus pressés) à base d'échinacée.

De plus, les ginsénosides Rg1 et Re contenus dans le ginseng (*Panax ginseng*) augmentent aussi la synthèse de cytokines (IL-4, IL-10, IL-12) orientant vers une réponse de type Th2 (Su et al., 2012).

L'avoine (*Avena sativa*) possède une activité anthelminthique directe, précédemment décrite, et augmente la production d'IL-4 chez l'hôte (Doligalska et al., 2017). Elle présente donc une activité immunostimulante, ainsi que des effets antioxydants et anti-inflammatoires par sa composition riche en avénanthramides et vitamine E.

Le thym (*Thymus vulgaris*) est aussi une plante utilisée pour la stimulation immunitaire (Jeune, 2011).

Les études sur les plantes contenant des composés à propriétés immunostimulantes portent surtout sur des essais *in vitro*, et leurs effets sur l'immunité antiparasitaire, en particulier celle dirigée contre les SGI des bovins, ne sont pas encore clairement étudiés de manière précise et ciblée. Seul un essai *in vitro* utilisant des extraits d'*E. purpurea* a mis en évidence une réduction significative de l'invasion des cellules épithéliales par *Eimeria tenella* (Burt et al., 2013).

Malgré le manque actuel important de données, les différentes études sur ces plantes, rapprochées aux connaissances sur les mécanismes immunitaires intervenant lors de la réponse immunitaire contre les SGI, sont potentiellement intéressantes dans l'approche immunitaire du contrôle des infestations par les SGI chez les bovins.

D'autres plantes présentent des propriétés dites adaptogènes, comme le ginseng (*Panax ginseng*) et la rhodiola (*Rhodiola rosea*). Le terme adaptogène a été utilisé pour la première fois en 1947 par le Docteur Lazarev, et a ensuite été défini officiellement par le Docteur Breckhman qui a effectué les premiers travaux sur les plantes adaptogènes, notamment sur la rhodiola. Les substance adaptogènes

possèdent des propriétés pharmacologiques non spécifiques capables d'induire un état de résistance augmenté dans un organisme face à des agressions biologiques, chimiques ou physiques. Dans le cas des plantes adaptogènes, elles pourraient donc stimuler des mécanismes de défense non spécifiques favorisant la résistance et la résilience des bovins de façon préventive face à des perturbations internes comme les infestations par les SGI qui génèrent un stress biologique plus ou moins important chez l'hôte (Bachelet, 2013). Cependant, aucune étude n'a encore été faite pour tester cette hypothèse.

Cependant, si des plantes peuvent présenter un intérêt pour leurs propriétés immunostimulantes, plusieurs limites se posent quant à leur utilisation chez les bovins sous la forme de nutriment :

- La dose nécessaire pour atteindre une efficacité suffisante,
- La forme et la durée d'administration,
- La toxicité éventuelle des composés bioactifs constitutifs de la plante chez l'animal,
- Et les effets potentiellement néfastes des résidus chez le consommateur.

En effet, la problématique des limites maximales de résidus (LMR) se pose chez les animaux de production vis-à-vis du risque pour le consommateur. Cependant, l'aliment complémentaire ne rentre pas dans le cadre de la réglementation du médicament vétérinaire nécessitant des LMR comme il ne dispose pas d'une allégation thérapeutique.

L'approche immunitaire comme stratégie alternative de lutte contre les SGI chez les bovins est donc une voie prometteuse répondant à la volonté de développer de nouvelles solutions alternatives ou complémentaires des traitements AH de synthèse pour éviter l'apparition de résistances et limiter l'impact environnemental. Elle s'intègre dans une nouvelle vision durable de l'élevage. L'utilisation d'un aliment complémentaire à base d'extraits de plantes aux propriétés immunostimulantes, sous la forme d'un nutriment pouvant être incorporé facilement à la ration des animaux, est une solution à visée préventive intéressante dont l'intérêt est croissant.

Cependant, il persiste un manque important de données sur la réelle efficacité de ces plantes chez les bovins, nécessitant plus de recherches pharmacologiques sur les composés bioactifs agissant sur l'immunité, ainsi que plus d'études expérimentales *in vitro* et en conditions de terrain, pour proposer une utilisation plus rationnelle et standardisée incluse dans une stratégie de maîtrise des infestations par les SGI.

Dans l'étude personnelle qui va suivre, il sera détaillé les étapes successives de réflexion qui sont nécessaires pour l'élaboration d'un protocole expérimental souhaitant tester l'efficacité d'un aliment complémentaire de ce type, afin de réaliser ultérieurement un essai sur le terrain.

Partie II : Étude expérimentale

Cette partie va détailler les étapes de l'élaboration d'un protocole expérimental dans le cadre d'un essai visant à tester l'effet d'un aliment complémentaire dans le contrôle des infestations des jeunes bovins par les SGI. Les différents points de réflexion porteront sur le choix des animaux, la période de suivi, les modalités de mise en pratique de l'essai et le choix des analyses. Les intérêts et les points limites ou de vigilance de chaque analyse seront également discutés et justifiés.

À l'issue de cette description détaillée des éléments de mise au point de l'essai, un protocole sera proposé pour faciliter et optimiser la réalisation de l'essai dans des conditions de terrain.

I. Mise au point d'un protocole expérimental

a) Objectifs de l'étude

L'objectif principal sera d'évaluer l'intérêt d'un aliment complémentaire phytogénique, c'est-à-dire élaboré à base d'extraits de plantes, qui stimulerait l'immunité, dans le contrôle des infestations par les SGI chez des génisses en première saison de pâture. L'effet de l'aliment complémentaire sera évalué par la mesure de différents paramètres qui seront détaillés par la suite. Les effets attendus chez les animaux recevant cet aliment complémentaire par rapport aux témoins négatifs sont :

- Une plus faible excrétion d'œufs de strongles par gramme de fèces
- Une réduction progressive des proportions des différentes espèces de strongles selon leur TCE respectif nécessaire à l'acquisition d'une immunité complète (d'abord *Cooperia* puis *Ostertagia*)
- Une concentration en pepsinogène sérique moins élevée
- Une faible contamination larvaire des pâtures

Cet essai permettra d'évaluer la résistance des génisses immunitairement naïves vis-à-vis des SGI en première saison de pâturage lors de l'utilisation d'un aliment complémentaire immunostimulant. Il permettra d'apporter de nouvelles informations sur les alternatives préventives disponibles dans la gestion du parasitisme par les SGI, sujet actuel de nombreuses recherches en raison des problèmes de résistances et de l'écotoxicité des molécules allopathiques couramment utilisées.

b) Choix des animaux

Pour évaluer l'effet d'un aliment complémentaire dans le contrôle des infestations chez les bovins par les SGI, le choix des animaux en rapport avec leur historique de pâturage est un premier point à prendre en compte. En effet, les jeunes bovins en 1^{ère} saison de pâturage, naïfs à la mise à l'herbe, sont plus sensibles à l'infestation, et particulièrement exposés au risque de manifestations cliniques ou à des retards de croissance. Par ailleurs, l'immunité vis-à-vis des SGI va se mettre progressivement en place au pâturage, mais seulement à partir de l'âge de 4-6 mois quand le système immunitaire est pleinement mature et que les animaux ont une capacité d'ingestion d'herbe suffisante pour que le recyclage parasitaire sur les pâtures soit suffisant. Pour ces différentes raisons, il paraît plus pertinent

de choisir des animaux en 1^{ère} saison de pâturage, âgés d'au minimum 6 mois à la mise à l'herbe, afin de mettre en évidence un éventuel effet d'un aliment complémentaire participant à la stimulation de l'immunité. Même si les bovins en 2^{ème} saison de pâturage n'ont pas acquis totalement leur immunité, la protection déjà partiellement développée pourrait fausser ou rendre plus difficile la distinction entre un groupe témoin n'ayant pas reçu l'aliment mais en partie immunisé et un groupe test recevant cet aliment et aussi incomplètement protégé. De plus, il conviendra d'avoir des lots de génisses d'âges relativement homogènes pour que la mise à l'herbe ait lieu au même moment pour toutes les génisses d'un même lot et que le TCE soit identique dans les deux groupes test et témoin.

De plus, il conviendrait d'avoir une population d'individus appartenant à la même race pour éviter des variations en termes de résistance et de résilience à l'infestation que la sélection génétique au sein des races peut influencer de façon plus ou moins héritable. Une étude menée par Gasbarre et al. (2001) a mis en évidence des phénotypes significativement différents concernant le nombre d'œufs excrétés par gramme de fèces (opg) chez des veaux de race Angus produits en utilisant pour l'insémination de la semence de taureaux à opg respectivement faibles et élevés. La génétique de l'hôte influence donc ce paramètre et l'héritabilité de ce trait a été attribuée à environ 0,3 (Gasbarre et al., 2001).

De ce fait, la génétique de l'hôte peut modifier la dynamique de l'infestation. En ayant conscience de ces différences interindividuelles liées au génome qui expliquent la distribution sur-dispersée du parasitisme et donc de l'excrétion fécale au sein d'un même lot, il serait préférable de limiter au maximum cette variabilité en choisissant des animaux de la même race.

Le nombre d'animaux à inclure dans ce type d'essai devra être également suffisant pour avoir des données complètes exploitables statistiquement. Au total, en anticipant les pertes potentielles au cours de l'étude, la population initiale devra comporter 80 génisses pour obtenir une taille de population finale de 60 génisses avec des résultats entièrement utilisables et statistiquement acceptables à la fin de l'essai, soit au total 30 génisses recevant l'aliment complémentaire et 30 génisses témoins négatifs. Les génisses seront réparties en lots dans des élevages différents avec un lot par élevage. Chaque lot sera divisé en deux groupes, un groupe test qui recevra l'aliment complémentaire et un groupe témoin négatif auquel sera administré idéalement un aliment placebo. Si cela est possible, cet aliment placebo devra ressembler à l'aliment complémentaire à tester (forme et appétence) sans contenir de « principe actif ». Son effet éventuel sera donc indépendant du principe actif (ou de l'association de principes actifs) qui est testé.

L'utilisation d'un groupe témoin positif avec des génisses traitées par une molécule strongylicide allopathique pourrait être envisagée. Seulement, cela pourrait fausser l'essai en raison de la protection croisée indirecte apportée aux génisses recevant l'aliment complémentaire en diminuant la pression d'infestation par dilution des larves infestantes sur la pâture. On préférera donc une comparaison avec un groupe témoin négatif.

Les génisses incluses dans l'étude ne devront pas recevoir de traitement ou de complémentation autre que l'aliment complémentaire testé, que ce soit à visée antiparasitaire ou non. Si une génisse est malade et nécessite un traitement, elle devra être sortie de l'essai pour éviter de biaiser les résultats.

Le choix d'inclure 80 génisses permet à la fois de limiter le nombre d'animaux pour répondre aux impératifs éthiques des essais expérimentaux impliquant des animaux (restreindre leur manipulation, leur contention et les prélèvements) et de rendre pertinente l'analyse statistique ultérieure des résultats obtenus avec au moins 30 animaux dans chaque groupe (témoin et test). En effet, afin de mettre en évidence un éventuel effet positif significatif de l'aliment complémentaire entre les deux groupes, il convient d'augmenter la puissance statistique avec un nombre suffisamment élevé d'individus dans la population d'étude pour mettre en évidence une différence potentiellement discrète entre les deux groupes. Pour comparer les deux groupes, le nombre d'individus nécessaire devrait donc être le plus petit effectif théorique qui permettra de garantir l'observation d'une différence significative. Comme l'effet attendu est a priori plutôt petit, un effectif important est donc nécessaire. Idéalement, il faudrait calculer la taille minimale de la population d'étude de façon statistique avec un niveau de confiance et une marge d'erreur fixés, afin d'avoir un nombre adapté, ni trop petit qui ne permettrait pas d'avoir des résultats significatifs et donc de répondre à la question posée, ni surdimensionné qui conduirait à inclure des animaux inutilement. Cependant, en pratique, les aspects financiers et logistiques associés à ce type d'essai doivent être pris en compte. Le nombre d'animaux requis est donc estimé de façon très approximative et dépendra d'abord du nombre d'élevages volontaires pour participer à l'étude et du temps nécessaire à sa réalisation (prélèvements, analyses, traitement des données,...).

Les élevages participant à l'essai devront être de taille suffisamment grande pour avoir au moins 15 génisses en première saison de pâture dans chaque élevage. Si les élevages se localisent dans une zone d'élevage laitier, le recrutement de 5 élevages devrait être suffisant pour avoir une population initiale d'étude de 80 génisses. Les éleveurs voulant bien participer à l'étude devront accepter de ne pas traiter les génisses incluses dans l'essai, sauf en cas de force majeure (maladie), et prévenir le cas échéant l'expérimentateur et leur vétérinaire qu'un traitement est nécessaire. De plus, ils devront aussi posséder des moyens de contention adaptés (cornadis au bâtiment et barrières au pré), afin de réaliser les prélèvements en toute sécurité pour l'animal, l'expérimentateur et l'éleveur.

Le choix des élevages devra également prendre en compte la conduite de pâturage (nombre de parcelles, temps de séjour sur chaque parcelle,...) et la zone géographique pour limiter au maximum les facteurs de variation dans la population d'étude sur le temps et les conditions de contact avec les parasites. Les élevages sélectionnés devront se localiser à proximité dans une aire géographique assez restreinte pour faciliter les déplacements de l'expérimentateur et que les conditions météorologiques soient homogènes entre les élevages. En effet, les conditions climatiques vont notamment influencer la durée de la phase externe du cycle parasitaire et la répartition des larves sur la pâture, ce qui modifie le niveau d'exposition aux larves infestantes L3 et la vitesse du recyclage parasitaire. Par ailleurs, la conduite de pâturage pour chaque lot de génisses intégré dans l'étude devra être clairement détaillée pour définir les dates de prélèvements au moment d'apparition d'une nouvelle génération parasitaire et interpréter les résultats des analyses en parallèle de l'évolution du risque parasitaire au cours de la saison de pâturage selon les modalités de la conduite de pâturage de chaque élevage.

Cette étude doit reposer sur une démarche expérimentale randomisée. De ce fait, dans chaque lot, les groupes de génisses devront être constitués de manière aléatoire avec un essai comparatif conduit idéalement en double aveugle lors de l'administration de l'aliment (l'éleveur et l'expérimentateur ne doivent pas connaître la nature des aliments), cela afin de supprimer tout facteur humain susceptible

d'influencer les résultats. L'objectif est donc d'avoir un niveau de preuve suffisamment fiable pour établir un lien de causalité et déterminer si l'effet observé est imputable ou non à l'action spécifique de l'aliment complémentaire testé. En pratique, les groupes traités et témoins négatifs seront formés par un tirage au sort aléatoire par rapport à leur numéro d'identification en respectant un nombre égal de génisses traitées et témoins dans chaque élevage.

Par ailleurs, les deux aliments (aliment complémentaire testé et aliment placebo), correspondant respectivement à chaque groupe de génisses (groupe « test » traité et groupe témoin négatif), pourront être connus ultérieurement si une différence significative est mise en évidence entre les deux groupes dans un lot donné, permettant de tirer une conclusion d'efficacité indépendante de l'effet placebo.

c) Période de suivi et mise en pratique de l'essai

Le suivi des génisses devra être effectué idéalement pendant toute la période de pâturage, de leur mise à l'herbe jusqu'à la rentrée en stabulation à l'automne. L'aliment complémentaire sera distribué avant la sortie des animaux ou au cours de la saison de pâturage, selon les recommandations données par le fabricant. Il faudra tenir compte de la ration de départ dans laquelle l'aliment complémentaire sera ajouté, et adapter si nécessaire la forme de distribution pour assurer une bonne homogénéisation dans la ration et donc optimiser l'ingestion par les animaux en limitant les refus. Par ailleurs, il serait intéressant de détailler la composition de la ration de chaque lot de génisses avant la mise à l'herbe pour déterminer si des constituants sont pourvus de certaines propriétés pouvant interférer de façon directe ou indirecte sur le parasitisme digestif des animaux.

La période de suivi pourra être réduite et arrêtée au courant du mois de juillet pour permettre une analyse des premiers résultats et mettre en évidence une éventuelle première différence significative entre les 2 groupes sur la première partie de la saison de pâturage. De plus, cette période correspond à la période d'installation des SGI avant l'apparition d'un risque potentiel d'infestation (au moment de l'apparition de la 3^{ème} génération parasitaire), ce qui permettrait de faire un état des lieux en milieu de saison de pâturage sur le niveau d'infestation des génisses dans les 2 groupes, d'avoir une première idée sur l'effet de l'aliment complémentaire testé, et d'éviter de les exposer par la suite à une pression d'infestation trop élevée susceptible d'entraîner des troubles digestifs ou de retarder leur croissance. Un traitement AH pourra être proposé à ce moment à l'éleveur si les résultats indiquent un niveau d'infestation trop important avec un risque avéré d'ostertagiose de type 1.

La période de suivi pourra être étendue à toute la saison de pâturage pour renforcer la pertinence de l'évaluation de l'effet de l'aliment complémentaire testé, d'autant plus si l'effet attendu est discret. En effet, comme cet aliment doit stimuler l'immunité des animaux, l'effet pourra être observé au bout de plusieurs semaines voire mois de pâturage, ou être variable au cours de la saison de pâturage avec une durée d'efficacité qu'il serait alors intéressant d'estimer et à mettre en perspective selon le niveau d'infestation des animaux. C'est pourquoi il serait préférable d'effectuer un suivi sur la totalité de la saison de pâturage pour augmenter la puissance de l'étude à l'échelle temporelle.

Des points de prélèvements réguliers devront être réalisés pour suivre le niveau d'infestation des animaux sur toute la période de pâturage avec un premier point de prélèvements (P1) effectué avant

la mise à l'herbe pour avoir des valeurs de base en référence. Les dates de prélèvements pourront être déterminées pour chaque lot dans chaque élevage en s'appuyant sur les dates prévisibles d'apparition des générations parasites au cours de la saison de pâturage à l'aide de la modélisation proposée par le système expert Parasit'sim. Si le suivi veut être effectué jusqu'à juillet, il faudra prévoir environ 4 points de prélèvements après P1 qui seront réalisés approximativement toutes les 3 à 4 semaines. Cet intervalle de temps entre chaque point de prélèvements correspond à la durée d'évolution d'un cycle parasite complet.

Les génisses de chaque groupe pourront soit être rassemblées sur la même parcelle, soit séparées sur deux parties adjacentes d'une même parcelle délimitées physiquement par une clôture temporaire. La séparation des deux groupes sur deux portions de pâture permettra d'évaluer si l'aliment a un effet positif significatif sur le niveau d'infestation dans des conditions identiques de pâturage. Seulement, d'un point de vue pratique, la mise en place d'une clôture temporaire pour séparer la parcelle en deux parties équivalentes peut être chronophage et contraignante pour l'éleveur. Par ailleurs, un dispositif temporaire ne sera pas forcément suffisant pour empêcher les génisses de franchir la clôture, avec un risque important de fausser l'essai si les animaux des deux groupes se mélangent. Si la séparation des deux groupes est préférée, il conviendra de choisir des fermes expérimentales qui pourront déployer plus facilement des clôtures solides et suffisamment résistantes pour assurer une délimitation continue des groupes test et témoin pendant toute la saison de pâturage. Le regroupement des génisses sur la même parcelle sera plus facile à mettre en œuvre et permettra d'évaluer l'influence des animaux du groupe test recevant l'aliment complémentaire sur le recyclage parasite et sur la contamination de la pâture, et si une protection indirecte peut être observée chez les génisses du groupe témoin pâturant sur la même parcelle grâce à une pression d'infestation réduite par dilution des parasites sur la pâture.

d) Choix des analyses

Le suivi du risque parasite et l'évaluation de l'effet du produit testé porteront sur 4 méthodes de diagnostic complémentaires. L'évaluation du risque parasite dans chaque lot de génisses selon une conduite de pâturage préalablement détaillée va donc reposer sur plusieurs outils de diagnostic quantitatifs déterminant le niveau d'infestation des animaux (coproscopie et dosage du pepsinogène sérique) et le niveau de contamination des parcelles (comptage des larves L3 présentes dans l'herbe). Un diagnostic strictement qualitatif ne présente pas d'intérêt car l'infestation est systématique à partir du moment où les bovins pâturent. Par ailleurs, une coproculture par groupe (groupe test et groupe témoin) dans chaque lot de génisses sera aussi réalisée à chaque point de prélèvements pour faire une diagnose d'espèce fiable et estimer les proportions respectives entre les espèces de strongles.

À chaque visite, la réalisation des différents gestes techniques lors des prélèvements devra suivre un protocole précis afin d'avoir une bonne reproductibilité et des conditions de sécurité optimales.

❖ Coproscopies avec la technique mini-FLOTAC

Pour évaluer le niveau d'infestation, des coproscopies devront être réalisées sur toutes les génisses incluses dans cet essai et à chaque point de prélèvements pour quantifier l'excrétion fécale d'œufs de

SIG en nombre d'œufs par gramme de fèces (opg). Cependant, cet examen direct présente des limites et son interprétation pour statuer sur le risque parasitaire peut être parfois délicate. En effet, la valeur diagnostique de la coproscopie quantitative n'est pas forcément fiable selon le contexte. Le seuil en opg entre une infestation subclinique avec ou sans répercussion sur la croissance n'est pas défini. La coproscopie n'est donc pas très intéressante dans les cas d'infestations subcliniques car il existe une mauvaise corrélation entre le niveau d'excrétion fécale et la charge parasitaire (Charlier et al., 2020). Plusieurs éléments expliquent que la quantité d'œufs excrétés ne soit pas proportionnelle à la charge parasitaire :

- 1) La fécondité de *Cooperia* est supérieure à celle d'*Ostertagia*, alors que le rapport est inversé concernant leur pouvoir pathogène. La coproscopie ne permet pas de différencier les espèces de SIG à partir des œufs donc un nombre élevé d'opg dans des cas d'infestations subcliniques ne signifie pas forcément que le risque de retard de croissance est important, et inversement. La prolificité des parasites issus des larves transhivernantes étant élevée, la valeur d'opg peut être relativement importante en début de saison de pâturage alors que le niveau d'infestation est encore limité.
- 2) L'installation de l'immunité réduit la ponte des femelles et favorise l'enkystement des larves L4 dans la muqueuse.
- 3) L'activité des larves L4 en hypobiose est inhibée. Elles n'évoluent plus vers le stade adulte et ne pondent pas d'œufs. De ce fait, à la rentrée en stabulation, comme une grande proportion de parasites, jusqu'à 80 % des L4 (Armour & Duncan, 1987), sont en hypobiose (ostertagiose de pré-type 2), la charge parasitaire peut être élevée alors que l'excrétion fécale est basse.
- 4) Un phénomène de compétition dit « densité-dépendant » limitant l'installation de nouveaux parasites et diminuant leur fécondité se met en place lorsque la densité de vers adultes est trop importante.

Toutefois, la coproscopie présente un vrai intérêt en cas de manifestations cliniques évocatrices d'une strongylose digestive pour confirmer une suspicion de gastro-entérite d'origine parasitaire en cours de saison de pâturage lors d'une ostertagiose de type 1. Dans ce cas, la ponte des femelles n'est pas encore entravée par le développement de l'immunité ou le phénomène d'hypobiose.

La corrélation entre le nombre d'œufs excrétés (opg) et le nombre de parasites présents chez l'hôte est donc meilleure. De ce fait, la coproscopie sera, à ce moment, un bon reflet de la charge parasitaire et aura une valeur diagnostique suffisamment fiable pour établir si les bovins sont malades à cause d'une charge parasitaire trop élevée.

Dans cet essai, le suivi régulier des animaux avec les coproscopies et les dosages de pepsinogène sérique permettra de surveiller leur niveau d'infestation. En cas de résultats indiquant un risque, quel que soit le groupe de génisses (test ou témoin), un traitement anthelminthique approprié pourra être proposé à l'éleveur selon la durée de pâturage restante et les possibilités de changement de parcelle. On privilégiera au maximum un traitement anthelminthique à action immédiate (benzimidazoles), en accord avec les problématiques précédemment détaillées liées à l'usage des anthelminthiques, et le cas échéant, après avoir changé les animaux de parcelle pour éviter l'apparition de populations de parasites résistants aux anthelminthiques.

Méthode

➤ Réalisation et conservation des prélèvements

Les prélèvements de fèces devront être effectués directement dans le rectum ou lors de défécation naturelle juste après émission en évitant le contact avec le sol (partie haute des bouses) pour limiter la contamination avec des éléments du milieu extérieur (nématodes libres par exemple).

Les bouses seront prélevées avec des gants de fouille qui seront changés entre chaque animal. Le maximum de fèces sera ensuite déposé dans un pot en plastique identifié du numéro de travail de la génisse, afin de faciliter par la suite la réalisation des coproscopies.

Les coproscopies devront être réalisées le plus rapidement possible après les prélèvements pour éviter l'évolution ou l'altération des éléments parasitaires (dans les 24 heures). Si elles doivent être différées, il est possible de conserver les prélèvements à basse température (2°C à 8°C) jusqu'à une semaine pour fixer les éléments parasitaires dans le stade de leur émission, ralentir leur évolution de façon réversible (possibilité de coproculture ultérieure) et ne pas modifier leur morphologie.

➤ Coproscopie quantitative par flottation : technique mini-FLOTAC

Dans cet essai, les coproscopies seront réalisées après concentration des éléments parasitaires par flottation. Le principe repose sur une dilution du prélèvement de fèces dans une solution de densité élevée (appelée liquide de flottation) afin de concentrer les œufs de SGI que l'on souhaite observer, de densité inférieure, à la surface du liquide.

Nous utiliserons une solution saturée de chlorure de sodium (NaCl) de densité 1,20 (liquide de Willis). Ce liquide de flottation présente plusieurs avantages : il est facile à réaliser, son coût est faible et il est sans risque pour le manipulateur et l'environnement.

Le choix d'une technique coproscopique quantitative s'est porté sur la technique mini-FLOTAC. Récemment développée en 2013 par le Pr Cringoli, cette méthode repose sur le principe de flottation et se présente en un kit composé de 2 éléments ([figure 10](#)) :



Figure 10 : Fill-FLOTAC et mini-FLOTAC (Barda et al., 2013)

- **Fill-FLOTAC** : il s'agit d'un pot gradué constitué d'un collecteur conique pour la préparation et l'homogénéisation d'un volume donné d'échantillon fécal dans la solution de flottation, et d'un filtre sous le couvercle pour obtenir une suspension fécale dépourvue des débris fécaux non délités et des longues fibres végétales.
- **Mini-FLOTAC** (figure 11) : il comprend 2 composants physiques, la base (i) et le disque de lecture (ii) avec 2 chambres de 1 mL chacune (soit un volume total de 2 mL). Ce dispositif permet d'abord la flottation dans les chambres en faisant intervenir les différences de densité entre les œufs et le liquide dans lequel ils sont en suspension, puis la translation grâce à la clé (iii) qui permet de faire tourner le disque de lecture, et enfin la lecture au microscope optique au niveau des réseaux grâce à un adaptateur spécial (iv). Seul un film très mince est observé, ce qui améliore le confort de lecture.

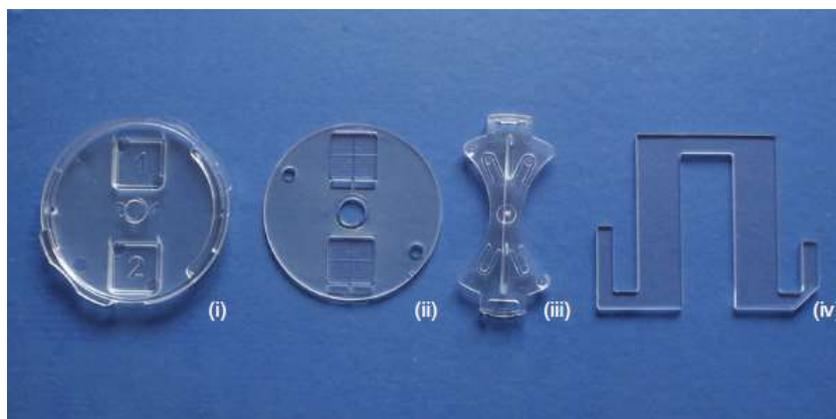
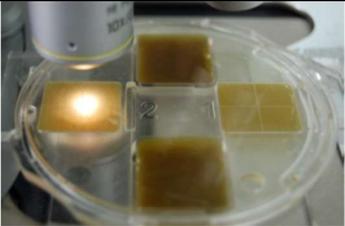


Figure 11 : Composants du mini-FLOTAC (Cringoli et al., 2017)

Cette méthode nécessite entre 10 et 15 minutes de préparation avant l'analyse au microscope. Sa réalisation est décrite étape par étape dans le [tableau V](#) ci-dessous.

Tableau V : Étapes de la coproscopie avec la technique mini-FLOTAC

<p>Étape n°1</p>		<p>Ajouter 45 mL de liquide de flottation dans le pot du Fill-FLOTAC</p>
<p>Étape n°2</p>		<p>Échantillonner le prélèvement de fèces avec le collecteur d'un volume équivalent à 5 g en nivelant la surface</p>
<p>Étape n°3</p>		<p>Homogénéiser l'échantillon de fèces dans le liquide de flottation : on obtient alors une solution d'un volume total de 50 mL</p>
<p>Étape n°4</p>		<p>Remplir les deux chambres de lecture du mini-FLOTAC avec la suspension fécale filtrée</p>
<p>Étape n°5</p>		<p>Laisser reposer 10 minutes (flottation des œufs)</p>
<p>Étape n°6</p>		<p>Tourner la clé pour faire tourner le disque de lecture (translation)</p>
<p>Étape n°7</p>		<p>Lecture/comptage des œufs sur 1 ou 2 chambre(s) au niveau du/des réseau(x) à l'objectif x10</p>

Le résultat sera donné en opg et dépend du nombre de chambres lues. On multipliera le nombre d'œufs par un coefficient multiplicateur de 5 si on lit les 2 chambres (volume de 2 mL) et de 10 si on lit une seule chambre (volume de 1 mL). Ces coefficients multiplicateurs sont déterminés à partir de cette formule :

$$\text{Coef. multiplicateur} = \frac{\text{Volume total de la suspension (liquide de flottation + fèces)}}{\text{Volume lu} * \text{Poids de l'échantillon}} = \frac{50}{(1 \text{ ou } 2) * 5}$$

La technique mini-FLOTAC qui sera utilisée dans cette étude répond à tous les critères recherchés pour une coproscopie quantitative : praticité, facilité de réalisation, bonne sensibilité, faible coût du fait que le matériel soit réutilisable, et bonne reproductibilité. Le seuil limite de détection est de 5 opg dans les conditions expérimentales précédemment détaillées. Mais cette sensibilité de détection peut varier selon la quantité de fèces prélevée, le volume de liquide de flottation ou la nature de la solution de flottation utilisée. Il est donc important de bien respecter le protocole décrit dans le [tableau V](#).

Lecture et interprétation

➤ Reconnaissance des œufs de strongles

Les œufs de strongles digestifs sont facilement identifiables. De taille moyenne (80-100 µm x 30-50 µm) et de forme ellipsoïde, ils ont des pôles arrondis et une coque mince. Le contenu est composé d'une morula formée de nombreux blastomères (≥ 16) remplissant plus ou moins l'œuf ([figure 12](#)). Si cet aspect caractéristique est facile à reconnaître, la diagnose d'espèce à partir des œufs n'est pas possible, à l'exception de l'œuf de *Nematodirus* qui est aisément reconnaissable par sa grande taille (> 130 µm x 70-120 µm), ses pôles pointus et sa morula constituée de gros blastomères peu nombreux ([figure 13](#)). Pour les autres espèces, seule la coproculture permettra de faire la distinction à partir des larves L3, notamment pour connaître les proportions respectives de *O. ostertagi* et *C. oncophora* et estimer leur impact. Cette méthode est très peu réalisée en routine pour des raisons pratiques (délai de culture) et économiques.

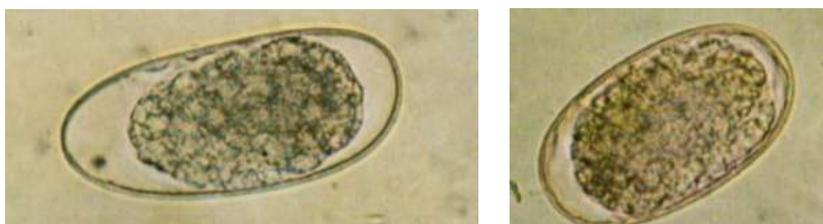


Figure 12 : Œufs de strongles observés au microscope optique (Parasitologie ONIRIS)

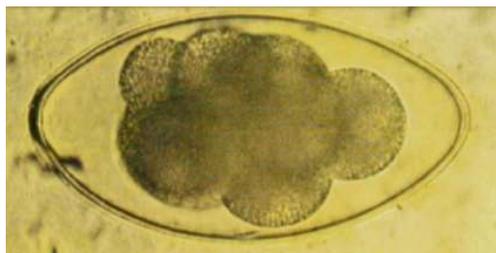


Figure 13 : Œuf de *Nematodirus* (Parasitologie ONIRIS)

➤ Signification du nombre d'œufs par gramme de fèces (opg)

Des seuils diagnostiques indicatifs par intervalles d'opg sont donnés pour déterminer le niveau d'infestation des animaux ([tableau VI](#)). Ces seuils ne sont pas fixes et constituent d'abord des repères pour confirmer ou infirmer une suspicion de strongylose digestive clinique.

Tableau VI : Interprétation des résultats de la coproscopie

Niveau d'excrétion fécale (opg)	Interprétation de l'infestation
opg < 50	Faible
50 < opg < 500	Moyenne
500 < opg < 2500	Élevée
opg > 2500	Très élevée

Des niveaux d'excrétion moyens à très élevés sont plus en faveur de cette hypothèse, alors qu'un niveau d'excrétion faible doit être interprété plus prudemment en fonction de la date du prélèvement. Comme détaillé précédemment, la corrélation entre la valeur en opg déterminée par coproscopie et la charge parasitaire de l'animal dépend du contexte et de la date au moment du prélèvement au cours de la saison de pâturage.

Si l'automne est déjà bien avancé ou au moment de la rentrée en stabulation, il est intéressant de compléter la coproscopie par un dosage du pepsinogène sérique car l'hypobiose a déjà pu se mettre en place.

❖ Dosage du pepsinogène sérique

Des dosages de pepsinogène sérique seront aussi réalisés sur toutes les génisses incluses dans cet essai et à chaque point de prélèvements pour évaluer le niveau d'infestation des animaux et surveiller le risque parasitaire.

Le pepsinogène est le précurseur de la pepsine (enzyme protéolytique) produit physiologiquement par les cellules principales de la muqueuse de la caillette. Quand l'organe est intact, il est activé sous l'action de l'acide chlorhydrique sécrété par les cellules pariétales des glandes gastriques et une petite partie seulement passe de la lumière abomasale dans la circulation sanguine. En cas de lésions de la caillette, dues notamment à *O. ostertagi*, l'activité sécrétrice des cellules pariétales est altérée, ce qui entraîne une augmentation du pH et donc limite la conversion du pepsinogène en pepsine. De plus, ces lésions conduisent à une perte des jonctions serrées intercellulaires, ce qui facilite le passage du pepsinogène accumulé dans le sang. C'est cette valeur qui est mesurée lors du dosage. Le pepsinogène est donc un bon indicateur lésionnel de la caillette qui permettra d'évaluer le niveau d'infestation par *O. ostertagi* notamment.

Prélèvement

Les prélèvements de sang seront réalisés sur toutes les génisses et à chaque point de prélèvements sous la queue au niveau de la veine coccygienne sur tube sec sans anticoagulant (EDTA ou héparine) pour ne pas modifier la réaction de dosage, avec une aiguille neuve changée entre chaque animal et un vacutainer. Le volume de sang prélevé sera de 4 à 5 mL environ, jusqu'au trait indiquant le niveau de remplissage optimal. Chaque tube sera ensuite homogénéisé et identifié du numéro de travail de la génisse avant acheminement au laboratoire. Le sérum à analyser sera récupéré après formation et rétraction du caillot sanguin. Une centrifugation préalable des tubes peut être effectuée pour faciliter la récupération du sérum. En cas d'hémolyse, il faudra tenir compte de la variation du pH pour la réaction de dosage.

Principe de la méthode de dosage du pepsinogène sérique (méthode INRA)

La mesure du taux de pepsinogène sérique repose sur la quantification de l'activité enzymatique de la pepsine formée à partir du pepsinogène contenu dans le sérum. Il s'agit donc d'une méthode indirecte de mesure du pepsinogène sérique, basée sur l'estimation de la quantité de peptides libérés par réaction enzymatique sur un substrat protéique de référence riche en acides aminés aromatiques. Cette méthode comprend 4 étapes principales (Kerboeuf et al., 2002) :

- 1) Transformation du pepsinogène en pepsine active sous l'action conjuguée de la chaleur et de l'acidité du milieu. Un échantillon de sérum servant de contrôle positif interne est ajouté à chaque série d'analyse pour vérifier la reproductibilité de la mesure.
- 2) Attaque de la protéine de référence (hémoglobine bovine) par la pepsine formée, notamment au niveau des liaisons peptidiques reliant les acides aminés aromatiques. Les protéines qui ne sont pas dégradées par la pepsine sont précipitées par l'acide trichloracétique.

Le substrat utilisé est l'hémoglobine car elle est plus sensible à la protéolyse que l'albumine. En effet, la quantité de peptides libérés est quasiment doublée avec l'hémoglobine (Berghen et al., 1987).

- 3) Coloration spécifique des acides aminés aromatiques (réactif de Folin et Ciocalteu) et mesure de la quantité produite par lecture spectrophotométrique donnée en densité optique (DO).
- 4) Comparaison de la DO obtenue à celles d'une gamme étalon de tyrosine qui sert de référence. Le résultat est donc exprimé en milli-unités de tyrosine (mUTyr).

Interprétation

Le taux de pepsinogène sanguin est un marqueur lésionnel de la caillette. De nombreuses études ont cherché à établir une relation quantitative entre le taux de pepsinogène et la charge parasitaire, et entre le taux de pepsinogène et l'impact clinique et subclinique sur les animaux. L'augmentation de la concentration sérique de pepsinogène est proportionnelle à l'étendue et la gravité des lésions de la muqueuse de la caillette, elles-mêmes liées au nombre de parasites présents.

Dans cet essai, le suivi par dosages de pepsinogène sera réalisé de la mise à l'herbe jusqu'au début de l'été (début juillet). Les mesures chercheront plutôt à mettre en évidence des charges parasitaires élevées dans un contexte de risque potentiel d'ostertagiose de type 1. En effet, pendant cette période, des cycles parasitaires complets se succèdent, entraînant une augmentation progressive du nombre de parasites chez les animaux. Il faudra donc surveiller en particulier le risque de strongylose digestive clinique. Si les prélèvements se poursuivent jusqu'à la rentrée en stabulation, les mesures de taux de pepsinogène obtenues permettront d'évaluer si la gestion de l'infestation a été suffisante au cours de la saison de pâturage, si un traitement anthelminthique est nécessaire (charge élevée de larves L4 en hypobiose) et s'il y a un risque d'ostertagiose de type 2 au printemps suivant.

➤ Relation entre le taux de pepsinogène et la charge parasitaire

Kerboeuf et al. (1981) ont réalisé le suivi pendant 4 ans de 53 génisses allaitantes en 1^{ère} et 2^{ème} saisons de pâturage en mesurant le taux de pepsinogène et la charge parasitaire totale (autopsie avec comptage parasitaire des vers adultes et des formes immatures dans la caillette). Les six génisses en 1^{ère} saison de pâture, âgées entre 8 et 9 mois et restées avec leurs mères en pâture jusqu'au sevrage, avaient une faible charge parasitaire concordant avec des valeurs de pepsinogène normales comprises entre 300 et 600 mUTyr. En effet, la faible part d'herbe pâturée par ces animaux permet d'expliquer que leur niveau d'infestation soit resté bas. Pour l'autre groupe constitué des génisses en 2^{ème} saison de pâturage, une relation quantitative entre la charge parasitaire et le taux de pepsinogène a pu être établie (Kerboeuf et al., 1981), permettant alors d'estimer respectivement pour un groupe de 5 et 10 génisses la charge parasitaire moyenne correspondant à un taux de pepsinogène donné.

Les données obtenues ont donc permis d'établir une équation reliant le taux de pepsinogène et la charge parasitaire totale dans la caillette, représentée dans la [figure 14](#) sous la forme d'une droite de régression (trait plein), et de prévoir les risques liés à la décision de traiter ou non les individus d'un même lot. Des intervalles de confiance de 10 % (droites en pointillés) ont été choisis et représentés pour un groupe de 5 génisses ($k = 5$) en 2^{ème} saison de pâturage. Ce graphique montre que pour une

valeur de pepsinogène donnée, 80 % des animaux ont un nombre de parasites compris entre les deux droites en pointillés. Pour faciliter la lecture, un tableau de correspondance entre les deux paramètres peut être proposé pour prévoir la charge parasitaire chez les bovins en 1^{ère} et 2^{ème} saisons de pâture (figure 15).

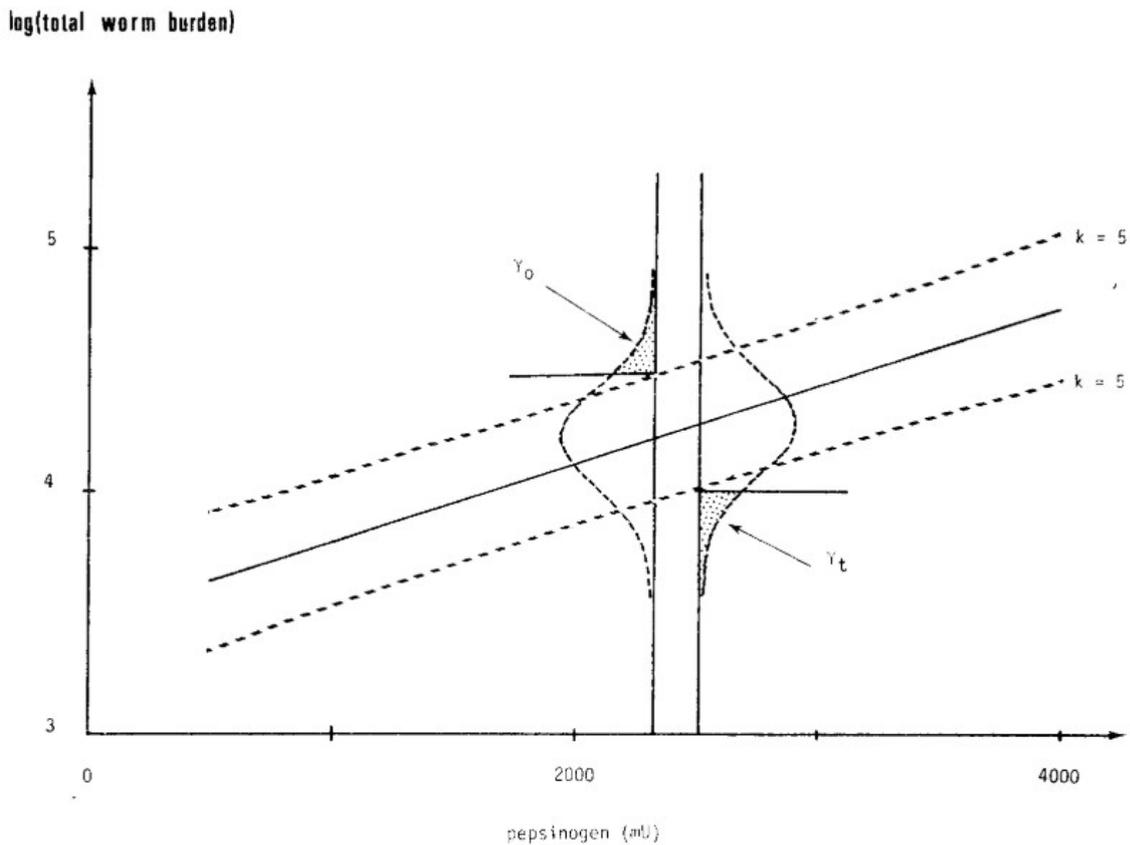


Figure 14 : Relation entre le taux de pepsinogène et la charge parasitaire (Kerboeuf et al., 1981)

y_0 : risque de ne pas traiter les animaux avec une charge parasitaire élevée

y_t : risque de traiter inutilement des animaux faiblement parasités

Pepsinogène mU	Moyenne du nombre total de vers	Intervalle de confiance pour un groupe de 5 animaux	Intervalle de confiance pour un groupe de 10 animaux
500	4 200	2 200 - 8 100	2 500 - 7 500
750	5 100	2 700 - 9 600	3 200 - 8 300
1 000	6 100	3 300 - 11 500	3 800 - 9 900
1 250	7 400	4 000 - 13 700	4 700 - 11 700
1 500	8 900	4 800 - 16 300	5 700 - 14 000
1 750	10 700	5 900 - 19 600	6 900 - 16 700
2 000	12 900	7 100 - 23 600	8 300 - 20 100
2 250	15 600	8 500 - 28 400	10 000 - 24 300
2 500	18 700	10 200 - 34 400	11 000 - 29 500
2 750	22 600	12 200 - 41 800	14 200 - 36 000
3 000	27 200	14 500 - 51 000	16 800 - 43 900
3 250	32 800	17 200 - 62 400	19 900 - 53 900
3 500	39 500	20 400 - 76 400	23 500 - 66 400
3 750	47 500	24 100 - 93 900	27 600 - 82 000
4 000	57 300	28 400 - 115 600	32 300 - 101 500
4 250	69 000	33 400 - 142 600	37 800 - 126 000
4 500	83 100	39 200 - 176 400	44 200 - 156 000

Figure 15 : Estimation du nombre moyen de strongles dans la caillette selon le taux de pepsinogène

Cette étude est la première à établir un lien mathématique entre ces 2 paramètres mais l'intervalle de confiance bilatéral de 10 % donne des valeurs étendues. Par exemple, avec 5 prélèvements, pour une valeur de pepsinogène moyenne de 2000 mUTyr, la charge parasitaire moyenne sera de 12 900 vers avec un intervalle de confiance de 7100 à 23 600 vers. Il n'est donc pas possible de déterminer de manière individuelle et précise la charge parasitaire d'un individu pour une valeur de pepsinogène donnée. De plus, cette mesure ne doit pas s'interpréter de manière individuelle car une valeur isolée anormalement élevée peut avoir une autre origine non parasitaire (exemple : ulcère de la caillette). D'autre part, ces résultats ne sont pas extrapolables à d'autres classes d'âges car ils correspondent à une situation bien précise avec des animaux ayant passé leur 1^{ère} saison de pâturage sous la mère et des mesures réalisées au cours de la 2^{ème} saison de pâturage.

Pour réduire au maximum l'incertitude de mesure, l'interprétation d'une valeur de pepsinogène doit donc se baser sur une moyenne de plusieurs dosages individuels. La valeur diagnostique de ce dosage n'est valable qu'à l'échelle d'un même lot d'animaux. Il convient de prélever 5 à 10 individus dans un même lot homogène en termes d'âge, de conduite de pâturage et de traitements reçus pour proposer une interprétation de la valeur moyenne des taux individuels, permettant ainsi d'évaluer si le phénomène lésionnel est lié à la présence de parasites dans la caillette (augmentation de la valeur prédictive positive du dosage).

De plus, la distribution des taux individuels sur les animaux testés doit aussi être prise en compte dans l'interprétation de la moyenne. En effet, un seul individu avec un niveau de pepsinogène sérique très élevé peut avoir une atteinte de la caillette non liée aux strongles et contribuer à augmenter une moyenne alors que les autres individus testés du même groupe ont des valeurs faiblement hautes ou normales.

Le **tableau VII** ci-dessous présente pour la méthode de dosage INRA utilisée dans l'essai les seuils d'interprétation de la moyenne des taux de pepsinogène selon le contexte épidémiologique. Les trois dernières lignes correspondent à des situations nécessitant un traitement anthelminthique.

Tableau VII : Interprétation du taux de pepsinogène sérique avec la méthode de dosage INRA (d'après Ravinet et al., 2015)

Moyenne des dosages individuels de pepsinogène sérique*	Interprétation	Commentaires
Entre 300 et 600 mUTyr	Valeurs « normales »	Une petite quantité de pepsinogène passe physiologiquement dans le sang.
Autour de 1000 mUTyr (rentrée en stabulation, fin de PSP)	Faible charge parasitaire	Contrôle de l'infestation efficace, installation de l'immunité
Entre 1500 et 2000 mUTyr (rentrée en stabulation, fin de PSP)	Charge parasitaire élevée avec une majorité de larves L4 en hypobiose	Risque de conséquences zootechniques Risque d'ostertagiose de type 2
Entre 2000 et 2500 mUTyr (en cours de saison de pâturage)	Ostertagiose de type 1	Ostertagiose clinique d'été ou de début d'automne
Entre 2000 et 4000 mUTyr (début de printemps chez des génisses ayant pâTURé l'année précédente)	Ostertagiose de type 2	Ostertagiose clinique de fin d'hiver due à la sortie simultanée et massive des larves L4 en hypobiose

* Moyenne des taux de pepsinogène sérique mesurés individuellement sur 5 à 10 individus d'un même lot homogène en âge, conduite de pâturage et traitements anthelminthiques reçus.

❖ Coprocultures

Des coprocultures seront aussi réalisées à chaque point de prélèvements. Il est envisagé d'en faire une par groupe (groupe test et groupe témoin), soit deux coprocultures par élevage à chaque point de prélèvements. L'intérêt de la coproculture est d'identifier précisément les différentes espèces de SGI en laissant évoluer les œufs présents dans les fèces des animaux prélevés jusqu'à leurs larves L3. Elle permet d'avoir une idée des proportions respectives des espèces de SGI dans un groupe de génisses en réalisant la coproculture à partir d'un mélange de fèces et non seulement à partir d'un seul individu pris au hasard qui ne serait pas forcément représentatif de l'ensemble des animaux du même groupe. De plus, les résultats d'une coproculture individuelle seraient difficilement extrapolables compte tenu de la distribution sur-dispersée des charges parasitaires au sein d'un lot de génisses qui suit la même conduite de pâturage.

Cette technique permet de réaliser une diagnose d'espèce fiable, et de différencier notamment *O. ostertagi* et *C. oncophora*. En effet, ce sont les deux espèces de SGI les plus fréquentes dans les zones tempérées. *O. ostertagi* est considérée comme l'espèce la plus pathogène chez les bovins avec une immunité qui s'installe plutôt lentement (8 mois), tandis que l'acquisition de l'immunité vis-à-vis de *C. oncophora* est plus rapide (4 mois) et son pouvoir pathogène est modéré.

De nombreuses méthodes existent mais elles se basent toutes sur les mêmes principes. Les œufs de strongles sont incubés pendant 8 à 15 jours dans des conditions de milieu contrôlées (température, oxygénation, hygrométrie) puis les larves sont récupérées par sédimentation (méthode de Baermann) et observées au microscope. Les larves L3 sont identifiées en utilisant les critères morphologiques de diagnose des larves de strongles proposés par Wyk et Mayhew en 2013. Les pourcentages respectifs de chaque espèce de SGI sont établis à partir de l'observation de 100 larves L3. Si l'échantillon donne moins de 100 L3, toutes les larves sont identifiées. De ce fait, sur le nombre total de larves identifiées, il est possible de déterminer le pourcentage de chaque espèce présente.

Les coprosopies devront être réalisées avant les coprocultures pour avoir un aperçu des éléments parasitaires présents en plus des SGI (strongles respiratoires, *Strongyloides*, nématodes libres,...).

➤ **Réalisation de la coproculture** (figures 16 et 17)

Dans un premier temps, il faut préparer le milieu de culture en étalant directement les fèces dans le support de coproculture choisi (boîte de Pétri par exemple). Les conditions de culture devront être maintenues constantes, en particulier la température, l'hygrométrie et l'oxygénation. Ces paramètres sont essentiels au bon développement des œufs jusqu'au stade larvaire L3 dans l'environnement et conditionnent la rapidité d'évolution en L3, notamment la température. C'est pourquoi, en conditions de laboratoire, il est nécessaire d'appliquer pendant toute la durée de l'incubation (entre 8 et 15 jours) une température relativement élevée de 18 à 20°C, une hygrométrie avec un taux d'humidité de 50 à 80 % (ajout d'eau tous les 3-4 jours sur le milieu de culture ou réalisation d'une enceinte fermée avec des éponges humides), et une oxygénation suffisante (éviter d'étaler une couche trop épaisse de fèces dans le support de coproculture et mélange des fèces à de la vermiculite pour avoir une bonne aération du prélèvement).

Dans un second temps, les larves sont isolées et récoltées par la technique de Baermann à partir d'un échantillon frais du milieu de culture car les larves doivent être vivantes. En effet, cette méthode se base sur l'hydrotropisme positif des larves vivantes qui migrent donc activement dans l'eau, ce qui permet leur concentration au fond du tube relié à l'entonnoir. L'échantillon de fèces préalablement incubé est donc déposé sur une couche de gaze qui est repliée pour former un baluchon, de sorte qu'il soit totalement immergé. Le dispositif est laissé au repos pendant 12 heures à température ambiante, puis les premières gouttes contenant les larves sont recueillies en ouvrant le robinet ou la pince qui serre le tube. Après avoir agité le liquide récolté pour répartir les larves de manière homogène, on en prélève une petite quantité à l'aide d'une pipette qu'on dépose sur une lame. Les larves sont ensuite observées au microscope à l'objectif x 10 ou x 40. Pour faciliter leur identification, elles peuvent être immobilisées dans une solution iodée (1 goutte de lugol à 1 %).

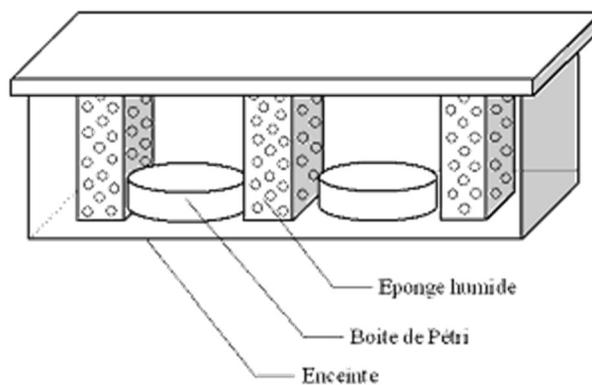


Figure 16 : Dispositif proposé pour réaliser une coproculture (site Vetagro-sup)

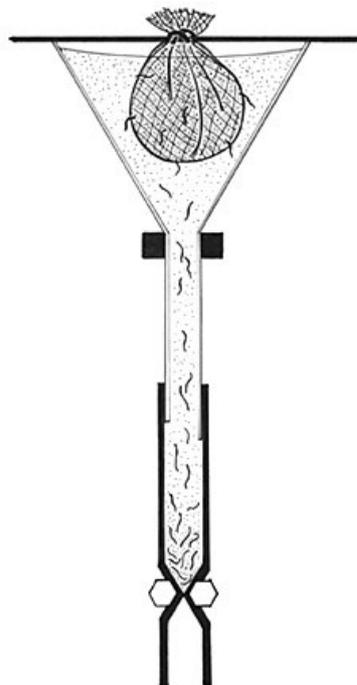


Figure 17 : Méthode de Baermann (d'après RVC/FAO)

➤ Identification des larves et interprétation

L'identification au microscope des larves au stade L3 (figure 18) est plus complexe que celle des œufs de strongles. Elle se base sur plusieurs caractères morphologiques : la taille (longueur totale) de la larve, la longueur et la forme de l'œsophage, la longueur de la queue de la gaine, et la forme et le nombre de cellules intestinales (Wyk & Mayhew, 2013). En pratique, elle repose principalement sur l'observation des extrémités crâniale (tête) et caudale (queue) des larves préalablement immobilisées.

La gaine est un critère morphologique de diagnose important pour l'identification de l'espèce. Un espace peut se former entre la tête et la gaine chez une larve « vieillissante », déformant alors la forme caractéristique de l'extrémité crâniale, ce qui augmente le risque d'erreur lors de l'identification (Wyk & Mayhew, 2013). La longueur de la queue de la gaine, correspondant à la portion de gaine libre au-delà du bout de la queue, est un critère important qui facilite la différenciation des larves. Le tableau VIII ci-dessous présente les différents éléments de diagnose des larves des principaux SGI rencontrés chez les bovins.

La coproculture permet donc d'affiner le diagnostic parasitaire en précisant les espèces de SGI présentes chez les animaux. La diagnose d'espèce étant quasiment impossible par coproscopie à partir de l'observation simple des œufs (sauf pour *Nematodirus*), la coproculture permettra d'évaluer si les génisses du groupe test présentent des proportions réduites des différentes espèces de SGI au cours de la saison de pâturage, en supposant qu'elles développent plus rapidement leur immunité. Comme le temps pour acquérir une immunité complète et protectrice est très variable selon l'espèce de SGI, cette technique permettra aussi de distinguer si une espèce est préférentiellement réduite, notamment *C. oncophora* qui est particulièrement prolifique et chez laquelle l'immunité s'installe en 3 à 4 mois.

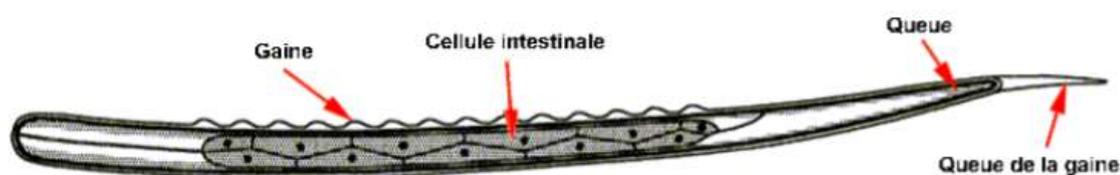
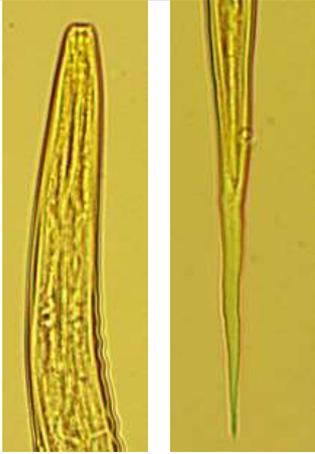
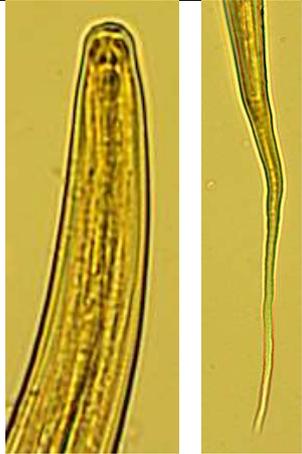
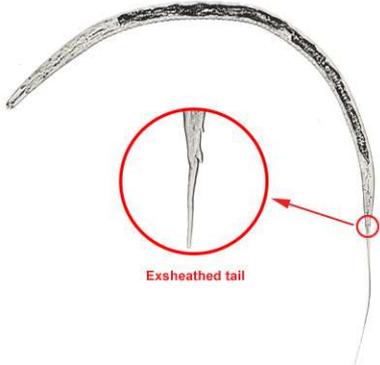
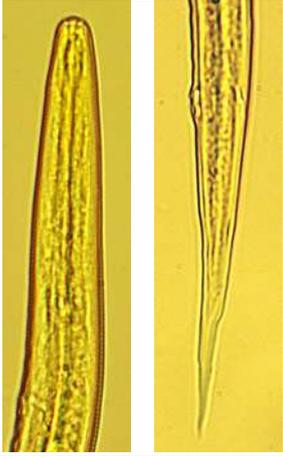


Figure 18 : Morphologie générale d'une larve L3 de strongles digestifs (d'après RVC/FAO)

*Tableau VIII : Critères de diagnose des principales larves de SGI rencontrées chez les bovins
(d'après RVC/FAO Guide to Veterinary Diagnostic Parasitology)*

Espèce	Description de la larve L3	Photos
<i>Ostertagia ostertagi</i>	<p>Extrémité antérieure carrée 16 cellules intestinales Taille : 700-850 µm Queue de la gaine longue (> 100 µm), en forme de cône et comportant une légère inflexion</p>	
<i>Cooperia oncophora</i>	<p>16 cellules intestinales Taille : 750-850 µm Extrémité antérieure carrée avec 2 corps ovalaires réfringents de chaque côté de l'œsophage en partie antérieure Queue de la gaine effilée (< 200 µm)</p>	
<i>Nematodirus spp</i>	<p>Extrémité antérieure large et arrondie 8 cellules intestinales Grande taille : > 1 mm Queue de la gaine très longue, filamenteuse Queue larvaire « encochée »</p>	
<i>Oesophagostomum radiatum</i>	<p>Extrémité antérieure large et arrondie 20 à 32 cellules intestinales Taille : 750-800 µm Queue de la gaine longue (> 200 µm) en forme de fouet, filamenteuse</p>	

Espèce	Description de la larve L3	Photos
<p data-bbox="225 421 496 461"><i>Trichostrongylus spp</i></p>	<p data-bbox="596 315 954 389">Extrémité antérieure effilée et carrée</p> <p data-bbox="632 405 919 439">16 cellules intestinales</p> <p data-bbox="647 450 903 483">Taille : 650-750 μm</p> <p data-bbox="592 495 959 568">Queue de la gaine courte (< 100 μm) et de forme conique</p>	

❖ Comptage des larves présentes dans l'herbe

Cette technique permet de déterminer le niveau de contamination larvaire d'une pâture et donc d'évaluer le risque parasitaire auquel sont soumis les animaux. Dans cet essai, le comptage des larves L3 présentes dans l'herbe sera effectué à deux reprises dans chaque élevage, avant la mise à l'herbe des animaux pour mesurer la contamination résiduelle de la parcelle par les larves transhivernantes ou par les larves issues d'autres bovins s'ils ont pâturé avant la sortie du lot de génisses sur la même surface, et à la fin de la période de suivi pour évaluer le recyclage parasitaire. Cette méthode permet également, comme la coproculture, de faire une estimation relativement précise des pourcentages des différentes espèces de SGI présentes.

➤ **Prélèvement d'herbe**

Il s'agit de prélever un échantillon d'herbe représentatif de la pâture à analyser. Pour cela, il est nécessaire de réaliser plusieurs points de prélèvement quadrillant l'ensemble de la parcelle. Dans cet essai, le choix de technique se portera sur la méthode de Raynaud. Elle consiste à prélever en 2 étapes à chaque bouse quelques brins d'herbe (tige et feuilles en évitant de récupérer les racines avec de la terre), d'abord à proximité (moins de 20 cm autour de la bouse) en recueillant 4 pincées d'herbe aux 4 points cardinaux, puis plus éloigné (plus d'un mètre) en prélevant de façon identique. Au final, il faut obtenir au minimum un kilo d'herbe.

Comme les larves présentes dans l'herbe sont sensibles à la dessiccation, il convient d'acheminer rapidement le prélèvement d'herbe au laboratoire pour que l'analyse soit réalisée dans un délai court (maximum 24 heures après prélèvement).

➤ **Analyse de l'herbe**

Les prélèvements d'herbe peuvent être traités selon deux méthodes pour recueillir les larves qu'ils contiennent et en réaliser la diagnose :

- 1) Méthode par lavage : l'herbe prélevée est mélangée avec de l'eau pendant plusieurs minutes. L'herbe lavée est ensuite récupérée grâce à un tamis à mailles de 1,5 mm. Le filtrat obtenu est de nouveau passé à travers un tamis à mailles de 200 µm, permettant de récolter une solution contenant les larves à identifier.
- 2) Méthode par trempage : l'herbe prélevée est laissée à tremper dans un récipient d'eau équipé d'un plateau grillagé permettant de ressortir l'herbe sans les larves après égouttage. Le filtrat obtenu est passé, comme dans l'autre méthode, à travers un tamis à mailles de 200 µm.

Les larves sont ensuite concentrées par sédimentation à partir du filtrat préalablement obtenu par l'une de ces deux méthodes. Cela permet de faciliter l'observation des larves au microscope pour les compter et estimer les proportions des différentes espèces de SGI présentes. L'identification se base sur les mêmes critères morphologiques de diagnose des larves que ceux précédemment détaillés pour la coproculture ([tableau VIII](#)).

L'herbe est séchée en étuve puis pesée pour pouvoir donner un résultat en nombre de larves L3 par kilogramme d'herbe sèche.

➤ **Interprétation**

Cette technique permet d'évaluer l'état de contamination de la pâture et donc d'estimer la pression parasitaire exercée sur les bovins. Elle apporte une idée plutôt précise du potentiel de contamination des bovins, notamment jusqu'au milieu de la première saison de pâturage (Vercruyse & Claerebout, 2001). En effet, le développement de l'immunité va limiter le taux d'installation des larves ingérées et leur évolution au sein de l'hôte. Ainsi, la contamination des animaux sera inférieure à celle de la pâture.

Par ailleurs, même si une contamination résiduelle notable de la pâture avant la mise à l'herbe est mise en évidence, elle doit au départ diminuer et rester faible grâce à l'ingestion des larves présentes par les animaux et à leur dilution par la pousse de l'herbe.



Figure 19 : Larve L3 d'Ostertagia ostertagi recueillie dans l'herbe (<http://www.thebeefsite.com/>)

II. Proposition d'un protocole

L'essai sera mené dans 5 élevages ayant recours au pâturage, sur des lots de génisses qui entreront dans leur 1^{ère} saison de pâturage. Toutes les génisses participant à cet essai seront âgées de plus de 6 mois à la mise à l'herbe. Au total, 80 génisses seront incluses au début de l'essai, réparties dans 5 élevages, pour disposer à la fin d'au minimum 60 génisses avec des données complètes exploitables statistiquement, avec la moitié des animaux représentant la population témoin. L'objectif sera donc de tester l'aliment sur 5 lots de génisses avec un lot par élevage. Chaque lot sera divisé en 2 groupes de génisses formés aléatoirement, un groupe test et un groupe témoin :

- **Groupe test** : les génisses de ce groupe recevront l'aliment complémentaire avant la mise à l'herbe et/ou pendant la saison de pâturage, selon les recommandations de durée et de rythme d'administration données par le fabricant (administration quotidienne, sous forme de « cures » répétées,...). L'aliment aura été préalablement mélangé à la ration.
- **Groupe témoin** : les génisses recevront la même ration mais sans l'aliment complémentaire à tester (aliment placebo).

Dans les 5 élevages, la distribution de l'aliment devra être réalisée en même temps pour les deux groupes. Elle pourra être effectuée par l'éleveur, mais l'expérimentateur devra s'assurer de sa correcte réalisation et de la consommation de l'aliment par les animaux.

Tableau IX : Répartition des génisses dans les élevages participant à l'essai

Liste des élevages	Nombre total de génisses dans le lot	Nombre de génisses dans le groupe témoin	Nombre de génisses dans le groupe test
Élevage n°1			
Élevage n°2			
Élevage n°3			
Élevage n°4			
Élevage n°5			

Au total, 5 points de prélèvements seront réalisés par élevage sur toute la période de l'essai, un 1^{er} point de prélèvements (P1) avant la mise à l'herbe pour avoir des valeurs de base, puis 4 points de prélèvements (P2 → P5) sur la période de pâturage répartis en fonction du développement modélisé des générations parasitaires par le système expert Parasit'Sim. À chaque point de prélèvements, une prise de sang pour la mesure du taux de pepsinogène et un prélèvement intra-rectal de matières fécales pour la coproscopie et la coproculture seront effectués.

Le [tableau X](#) ci-dessous récapitule par élevage la date de mise à l'herbe, la date du dernier point de prélèvements (P5) et la durée de la période de suivi des génisses en pâturage.

Tableau X : Périodes de suivi en pâturage

Liste des élevages	Date de mise à l'herbe	Date du dernier point de prélèvements (P5)	Durée de la période de suivi en pâturage
Élevage n°1			
Élevage n°2			
Élevage n°3			
Élevage n°4			
Élevage n°5			

Deux prélèvements d'herbe seront effectués, un avant la mise à l'herbe pour avoir une idée de la contamination initiale de la parcelle, et un à la fin de l'essai pour évaluer la contamination accumulée de la pâture et le niveau de recyclage parasitaire.

La **figure 20** représente sous la forme d'une frise chronologique le déroulement de l'essai dans le cas particulier où l'aliment complémentaire serait distribué 7 jours consécutifs avant la mise à l'herbe. Elle s'étend de la première rencontre avec l'éleveur jusqu'au dernier point de prélèvements, avec les différents points de prélèvements répartis sur une période de suivi des animaux qui se terminerait en juillet. À l'issue de cette période, si les résultats des analyses mettent en évidence un risque pour les animaux, quel que soit le groupe concerné, un traitement antiparasitaire approprié sera alors proposé à l'éleveur. L'aliment devra idéalement être administré à chaque fois par l'expérimentateur au groupe test pour éviter une éventuelle erreur de distribution entre les deux groupes test et témoin, et s'assurer de la bonne ingestion du produit mélangé à la ration. Si l'aliment complémentaire est sous une forme solide, on préférera des concentrés pour faciliter le mélange et permettre une meilleure appétence. Si l'aliment est sous une forme liquide, il pourra être administré individuellement à chaque génisse du groupe test avec une seringue drogueuse, permettant de donner une dose précise à chaque animal et d'éviter des pertes éventuelles de produit dans les refus. De plus, pour limiter les déplacements dans les élevages sur plusieurs jours consécutifs, l'administration pourra être confiée à l'éleveur avec une présence de l'expérimentateur au minimum les deux premiers jours et le septième jour pour vérifier qu'elle se déroule bien et effectuer les premiers prélèvements.

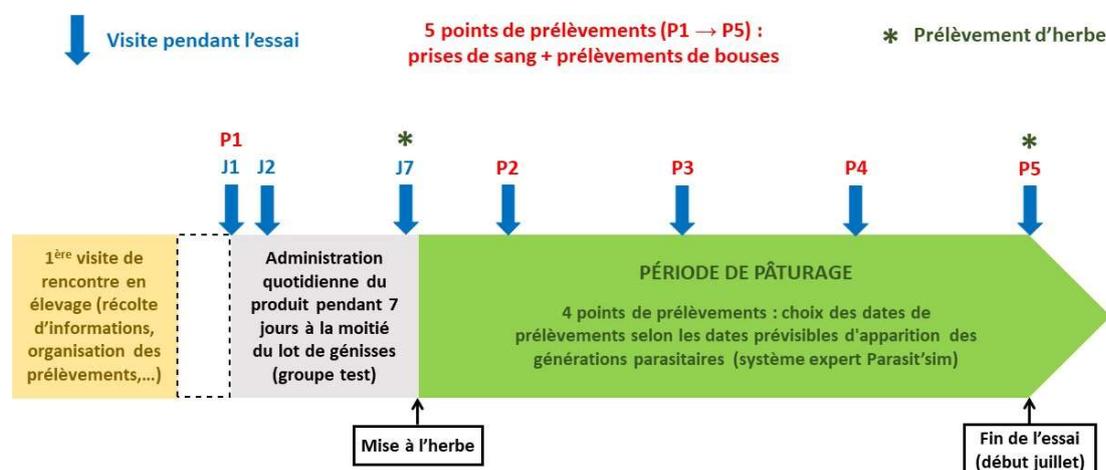


Figure 20 : Déroulement et organisation de l'essai

III. Projection et objectifs des analyses statistiques

Cette partie va présenter la démarche générale du traitement statistique des résultats obtenus dans le cadre de cet essai. Il s'agit uniquement d'une proposition qui devra être adaptée et modifiée quand des résultats concrets seront recueillis pour construire des modèles statistiques adaptés.

Dans cet essai, le choix des analyses statistiques devra suivre plusieurs étapes de raisonnement. Au total, 60 génisses réparties dans 5 élevages seront incluses avec des données complètes collectées à chaque point de prélèvements. L'objectif sera d'évaluer l'impact de l'aliment complémentaire sur l'infestation par les SGI de génisses en 1^{ère} saison de pâturage. La question biologique principale qui se posera pourra être formulée de la manière suivante : y-a-t-il une différence significative entre le niveau d'infestation du groupe test recevant cet aliment et le niveau d'infestation du groupe témoin dans un lot donné suivant la même conduite de pâturage ? Le niveau d'infestation peut se décomposer en deux paramètres (valeur du pepsinogène sérique, nombre d'œufs de strongles excrétés) qui seront comparés respectivement entre les deux groupes d'un même lot à chaque point de prélèvements de façon similaire mais indépendamment l'un de l'autre. Pour chacun de ces paramètres, il faudra dans un premier temps définir les facteurs fixes, aléatoires et les interactions ayant du sens d'un point de vue biologique pour construire les modèles statistiques.

Les valeurs des taux de pepsinogène seront comparées entre les 2 groupes à partir des moyennes des dosages individuels réalisés dans chaque groupe. De la même façon, le nombre d'opg pourra être comparé entre les 2 groupes à chaque point de prélèvements en se basant sur la moyenne des résultats coproscopiques individuels dans chaque groupe.

Les données nécessaires pour l'analyse statistique pourront être présentées sous la forme suivante avec la liste des variables et leurs types (figures 21 et 22). Tous les résultats obtenus pendant l'étude seront recueillis dans un fichier de données dans le tableur Excel avec une feuille par élevage. Chaque feuille comportera une ligne par individu statistique (numéro de travail de la génisse ou **Num_G**) et une colonne par variable (valeur du pepsinogène lors du point de prélèvements n°X ou **Pepsi_PX** et valeur de la coproscopie en opg lors du point de prélèvements n°X ou **OPG_PX**).

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	Num_G	Pepsi_P1	Pepsi_P2	Pepsi_P3	Pepsi_P4	Pepsi_P5	OPG_P1	OPG_P2	OPG_P3	OPG_P4	OPG_P5
2											

Figure 21 : Suggestion de présentation de la base de données pour un lot de génisses

	A	B	C	D
1	Code	Signification	Type	Unité
2	Num_G	Numéro de travail de la génisse	Qualitatif	
3	Pepsi_PX	Valeur du pepsinogène lors du point de prélèvement n°X	Quantitatif	mUTyr
4	OPG_PX	Valeur de opg lors du point de prélèvement n°X	Quantitatif	opg
5				

Figure 22 : Dictionnaire des variables

La base de données sera ensuite importée dans le logiciel R. Pour vérifier que l'importation s'est correctement effectuée, les dimensions de la table importée avec le nombre de lignes et le nombre de colonnes pourront être demandées. De plus, l'affichage du type de variable de chaque colonne pourra aussi être vérifié.

Pour les coprocultures, les proportions des différentes espèces de SGI seront normalement mises sous forme de pourcentages sur un total de 100 larves comptées et identifiées. Il s'agira ensuite d'une analyse univariée avec une variable qualitative, l'espèce de SGI. Une représentation graphique sous forme de diagramme en barres ou camembert pourra être proposée pour visualiser la distribution des différentes espèces de SGI dans la coproculture de chaque groupe de génisses dans un lot donné et à chaque point de prélèvements. Ensuite, les proportions respectives de chaque espèce de SGI pourront être comparées entre le groupe test et le groupe témoin de chaque lot de génisses afin de déterminer si une différence significative existe entre les 2 groupes pour une espèce de SGI donnée (notamment les espèces d'intérêt *O. ostertagi* et *C. oncophora* pour des raisons précédemment détaillées) et le cas échéant, à quel niveau d'infestation et à quel moment de la saison de pâturage.

Pour les taux de pepsinogène sérique (variable quantitative), il s'agira dans un premier temps de déterminer la valeur moyenne des dosages individuels dans chaque groupe de génisses dans un lot donné et à chaque point de prélèvements. Il sera possible de générer simultanément les indicateurs de la distribution de cette variable (moyenne, écart-type, min, max,...). Un modèle linéaire pourra être utilisé pour traiter les valeurs de pepsinogène sérique en considérant le « traitement » des génisses et le prélèvement comme des effets fixes, avec une interaction entre les deux afin d'évaluer l'effet de l'aliment complémentaire dans le groupe traité à chaque point de prélèvements.

De la même façon, l'intensité de l'excrétion fécale d'œufs de SGI dans chaque groupe de génisses dans un lot donné et à chaque point de prélèvements pourra être exploitée à partir de la moyenne des valeurs individuelles en opg de chaque coproscopie réalisée. Un modèle de Poisson pourra être choisi car il est bien adapté pour traiter des résultats de comptages. De la même façon que précédemment, le traitement et le prélèvement seront définis comme des effets fixes avec une interaction entre les deux.

Même si les élevages sélectionnés pour participer à l'essai seront situés relativement à proximité, les conditions rencontrées dans chaque élevage seront différentes (conduite de pâturage, période de suivi, dates de prélèvements,...). Les résultats ne seront donc pas totalement comparables.

Cependant, pour chaque modèle testé, si les variables « élevage » et « individu » sont définies en tant qu'effets aléatoires, cela permettra de prendre en compte les caractéristiques propres de chaque élevage et de chaque animal. La prise en compte de ces deux spécificités, par un effet « élevage » et un effet « individu », permettra donc de mieux modéliser les données et facilitera l'extrapolation des résultats à l'ensemble des élevages de la population d'étude. Par ailleurs, cet effet aléatoire au niveau individuel est important car les mesures seront répétées aux différents points de prélèvements.

Si des différences entre les deux groupes proches de la significativité sont mises en évidence, il faudra calculer la différence minimale pouvant être détectée par le modèle et le nombre d'individus nécessaire dans l'étude afin de confirmer la différence mise en évidence. La fonction `power.t.test` de R pourra calculer ces deux données sachant que les effets aléatoires ne sont pas pris parfaitement en compte.

La simple observation des moyennes et des écarts-types des valeurs de pepsinogène et des niveaux d'excrétion fécale d'œufs de SGI ne permettra pas forcément de mettre en évidence une efficacité de l'aliment complémentaire, notamment si les niveaux d'infestation parasitaire relevés sont faibles. On pourra donc comparer ces deux variables quantitatives (valeurs de pepsinogène sérique, intensités de l'excrétion fécale d'œufs de SGI) entre les animaux des groupes test et témoin à l'aide d'un test de Wilcoxon-Mann-Whitney (`wilcox.test` avec R). Il s'agit d'un test statistique simple non paramétrique intéressant pour comparer deux échantillons indépendants et de petite taille. En effet, chaque lot sera constitué de 15 à 20 génisses et formé de deux groupes avec au maximum 10 individus par groupe. De plus, toutes les mesures seront indépendantes car chaque animal ne sera associé qu'à une mesure unique à un point de prélèvements donné. Ce test permettra donc de tester si les moyennes de chacun des deux groupes sont proches ou différentes.

Il sera aussi possible d'utiliser le test de Student pour comparer les moyennes de chaque groupe en s'assurant préalablement que la variable quantitative étudiée suit une loi normale. On déterminera les hypothèses H_0 (les moyennes sont égales) et H_1 (les moyennes ne sont pas égales). Avec un risque d'erreur α fixé à 5 %, on pourra rejeter H_0 et conclure que la moyenne observée dans le groupe test est significativement différente de la moyenne du groupe témoin si la p-value est inférieure à 5 %. La p-value correspond à la probabilité de rejeter H_0 à tort (absence d'effet) et donne une indication sur la significativité d'un résultat. Plus la p-value est petite, plus la probabilité de rejeter par erreur H_0 est donc faible. Nous choisirons dans cette étude une p-value de 0,05 (5 %), avec un résultat considéré statistiquement significatif si la p-value est inférieure ou égale à 0,05, et un résultat considéré comme non significatif si la p-value est supérieure à 0,05.

Pour vérifier la normalité de la variable quantitative (taux de pepsinogène ou nombre d'opg), on pourra utiliser le test de Shapiro-Wilk avec comme hypothèse H_0 : les données de la variable suivent une distribution normale, et hypothèse H_1 : la variable ne suit pas une loi normale.

Ces tests statistiques pourront permettre de déterminer si une différence significative existe entre le groupe test recevant l'aliment complémentaire et le groupe témoin dans un lot de génisses donné.

IV. Conclusion

Cette étude expérimentale est un travail préliminaire de présentation d'un protocole expérimental visant à tester l'effet d'un aliment complémentaire phytogénique à visée préventive dans le contrôle des infestations par les SGI chez les jeunes bovins en première saison de pâturage. La mise en pratique de ce protocole dans le cadre d'un essai terrain ultérieur permettra la collecte de données exploitables statistiquement pour évaluer l'intérêt d'utilisation de ce type de produit.

Le raisonnement de la démarche pour aboutir à cette proposition de protocole pourra être revu et adapté selon les éventuelles contraintes imposées par les modalités de réalisation de cet essai dans les élevages. Mais les points clés de réflexion ou d'attention qui ont été détaillés pour un essai de ce type seront normalement maintenus. Ils constituent une trame assez pertinente pour appliquer ce protocole sur le terrain et statuer de façon précise et fiable sur l'effet du produit.

Ce travail s'inscrit dans une tendance de plus en plus forte et justifiée pour des stratégies de lutte contre les SGI alternatives aux traitements anthelminthiques conventionnels utilisés chez les bovins. Les SGI peuvent avoir un impact négatif important sur les jeunes bovins si la gestion de l'infestation est mauvaise, avec des conséquences cliniques et/ou zootechniques sur le pré-troupeau pouvant avoir des répercussions considérables sur les performances des adultes.

C'est pourquoi, un contrôle intégré du parasitisme digestif chez les jeunes bovins est primordial. En combinant plusieurs approches, il permet d'optimiser la croissance des jeunes animaux et d'éviter les problématiques posées par l'utilisation des molécules strongylicides. L'approche immunitaire est une de ces options et offre un éventail de possibilités prometteuses, dont l'utilisation préventive d'un nutriment à base d'extraits de plantes possédant une activité sur le système immunitaire, en accord avec les nouvelles attentes économiques, sociétales et environnementales vis-à-vis de l'élevage.

Bibliographie

- Akbar, M.A., Ahmed, T.U., Mondal, M.H. (2003). Study on the efficacy of different herbal plants against nematode infection in cattle. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 3, 515–518.
- Almeria, S., Canals, A., Zarlenga, D.S., Gasbarre, L.C. (1997). Quantification of cytokine gene expression in lamina propria lymphocytes of cattle following infection with *Ostertagia ostertagi*. *Journal of Parasitology*, 83(6), 1051-1055. <https://doi.org/10.2307/3284360>
- Alvinerie, M., Sutra, J. F., Galtier, P., Lifschitz, A., Virkel, G., Sallovitz, J., & Lanusse, C. (1999). Persistence of ivermectin in plasma and faeces following administration of a sustained-release bolus to cattle. *Research in Veterinary Science*, 66(1), 57–61. <https://doi.org/10.1053/rvsc.1998.0240>
- Andlauer, W., & Fürst, P. (2002). Nutraceuticals: A piece of history, present status and outlook. *Food Research International*, 35(2–3), 171–176. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00179-X](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00179-X)
- Armour, J., & Duncan, M. (1987). Arrested larval development in cattle nematodes. *Parasitology Today*, 3(6), 171–176. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(87\)90173-6](https://doi.org/10.1016/0169-4758(87)90173-6)
- Athanasiadou, S., Tzamaloukas, O., Kyriazakis, I., Jackson, F. & Coop, R.L. (2005). Testing for direct anthelmintic effects of bioactive forages against *Trichostrongylus colubriformis* in grazing sheep. *Veterinary Parasitology*, 127(3-4), 233–243. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.09.031>
- Bachelet, B. (2013). Impact de la phytothérapie sur le système immunitaire. *Thèse Pour Le Doctorat Vétérinaire, Faculté de Médecine de Créteil*, 142 pages.
- Barda, B. D., Rinaldi, L., Ianniello, D., Zepherine, H., Salvo, F., Sadutshang, T., Cringoli, G., Clementi, M., & Albonico, M. (2013). Mini-FLOTAC, an Innovative Direct Diagnostic Technique for Intestinal Parasitic Infections: Experience from the Field. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002344>
- Berghen, P., Dorny, P., & Vercruyse, J. (1987). Evaluation of a simplified blood pepsinogen assay. *American Journal of Veterinary Research*, 48(4), 664-669.
- Bertocchi, M. (2019). Résistances des strongles digestifs aux benzimidazoles chez les bovins laitiers du Grand Ouest. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine, Nantes. Oniris : École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, 94 pages.
- Besier, R. B. (2012). Veterinary Parasitology Refugia-based strategies for sustainable worm control : Factors affecting the acceptability to sheep and goat owners. *Veterinary Parasitology*, 186(1–2), 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.057>
- Bousquet-mélou, A., Jacquet, P., Hoste, H., Clément, J., Bergeaud, J.P., Alvinerie, M., & Toutain, P.L. (2011). Licking behaviour induces partial anthelmintic efficacy of ivermectin pour-on formulation in untreated cattle. *International Journal for Parasitology*, 41(5), 563–569.

<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.12.007>

- Brown, W.C., Rice-Ficht, A.C., Estes, D.M. (1998). Bovine type 1 and type 2 responses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 63(1-2), 45-55. [https://doi.org/10.1016/s0165-2427\(98\)00081-6](https://doi.org/10.1016/s0165-2427(98)00081-6)
- Burger, R.A., Torres, A.R., Warren, R.P., Caldwell, V.D., Hugues, B.G. (1997). Echinacea-induced cytokine production by human macrophages. *International Journal of Immunopharmacology*, 19(7), 371-379. [https://doi.org/10.1016/s0192-0561\(97\)00061-1](https://doi.org/10.1016/s0192-0561(97)00061-1)
- Burt, S. A., Tersteeg-Zijderveld, M. H. G., Jongerius-Gortemaker, B. G. M., Vervelde, L., & Vernooij, J. C. M. (2013). In vitro inhibition of *Eimeria tenella* invasion of epithelial cells by phytochemicals. *Veterinary Parasitology*, 191(3-4), 374-378. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.001>
- Charlier, J., Höglund, J., Morgan, E. R., Geldhof, P., Vercruysse, J., & Claerebout, E. (2020). Biology and Epidemiology of Gastrointestinal Nematodes in Cattle. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 36(1), 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.11.001>
- Charlier, J., Höglund, J., von Samson-Himmelstjerna, G., Dorny, P., & Vercruysse, J. (2009). Gastrointestinal nematode infections in adult dairy cattle: Impact on production, diagnosis and control. *Veterinary Parasitology*, 164(1), 70-79. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.04.012>
- Charlier, J., van der Voort, M., Kenyon, F., Skuce, P., & Vercruysse, J. (2014). Chasing helminths and their economic impact on farmed ruminants. *Trends in Parasitology*, 30(7), 361-367. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.04.009>
- Chauvin, A., Ravinet, N., & Vermesse, R. (2015). Development of a simulation model of the parasitic risk related to gastrointestinal nematode infection in grazing heifers. In : Proceedings of the 25th WAAVP Workshop, 16th-20th August, Liverpool, UK, p. 197.
- Claerebout, E., & Geldhof, P. (2020). Helminth Vaccines in Ruminants : From Development to Application. *Veterinary Clinics of North America : Food Animal Practice*, 36(1), 159-171. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.10.001>
- Coffey, L., Hale, M., Terrill, T., Mosjidis, J., Miller, J., & Burke, J. (2007). Tools for Managing Internal Parasites in Small Ruminants : Sericea Lespedeza. *NCAT/ATTRA and Southern Consortium for Small Ruminant Parasite Control*, 8 pages [en ligne]. https://www.simsbrothers.com/pdfs/tools_for_managing.pdf
- Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F. H. M., Geerts, S., Klei, T. R., Taylor, M. A., & Waller, P. J. (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 44, 35-44. [https://doi.org/10.1016/0013-4686\(89\)87190-7](https://doi.org/10.1016/0013-4686(89)87190-7)
- Coles, G.C., Watson, C.L., & Anziani, O.S. (2001). Ivermectin-resistant *Cooperia* in cattle. *Veterinary Record*, 148, 283-284.
- Coles, G. C. (2002). Cattle nematodes resistant to anthelmintics : why so few cases ? *Veterinary*

Research, 33(5), 481–489. <https://doi.org/10.1051/vetres>

- Cringoli, G., Maurelli, M. P., Levecke, B., Bosco, A., Vercruysse, J., Utzinger, J., & Rinaldi, L. (2017). The Mini-FLOTAC technique for the diagnosis of helminth and protozoan infections in humans and animals. *Nature Protocols*, 12(9), 1723–1732. <https://doi.org/10.1038/nprot.2017.067>
- D’Alexis, S., Angeon, V., Arquet, R., & Boval, M. (2015). Les systèmes mixtes d’élevage de petits ruminants et de bovins : une alternative pour améliorer les performances animales au pâturage. *Innovations Agronomiques*, 43, 19–28.
- Delagarde, R. (2018). Le chargement, c’est quoi ? (fiche 68). Guide pâturage : 100 fiches pour répondre à vos questions, *RMT Prairies Demain*, INRA. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02306188>
- Demeler, J., Van Zeveren, A. M. J., Kleinschmidt, N., Vercruysse, J., Höglund, J., Koopmann, R., Cabaret, J., Claerebout, E., Areskog, M., & von Samson-Himmelstjerna, G. (2009). Monitoring the efficacy of ivermectin and albendazole against gastro intestinal nematodes of cattle in Northern Europe. *Veterinary Parasitology*, 160(1–2), 109–115. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.10.030>
- Doligalska, M., Józwicka, K., Donskow-Łysoniewska, K., Kalinowska, M. (2017). The antiparasitic activity of avenacosides against intestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*, 241, 5–13. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.05.003>
- El-Abdellati, A., Geldhof, P., Claerebout, E., Vercruysse, J., & Charlier, J. (2010). Monitoring macrocyclic lactone resistance in *Cooperia oncophora* on a Belgian cattle farm during four consecutive years. *Veterinary Parasitology*, 171(1–2), 167–171. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.03.003>
- Eysker, M., Boersema, J. H., Kooyman, F. N. J., & Ploeger, H. W. (2000). Resilience of second year grazing cattle to parasitic gastroenteritis following negligible to moderate exposure to gastrointestinal nematode infections in their first year. *Veterinary Parasitology*, 89(1–2), 37–50. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00189-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00189-8)
- Ferreira, L. E., Benincasa, B. I., Fachin, A. L., Franc, S. C., Contini, S. S. H. T., Chagas, A. C. S., & Belebony, R. O. (2016). Thymus vulgaris L. essential oil and its main component thymol : Anthelmintic effects against *Haemonchus contortus* from sheep. *Veterinary Parasitology*, 228, 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.08.011>
- Fincher, G.T. (1981). The potential value of dung beetles in pasture ecosystems. *Journal of Georgia Entomological Society*, 16(1), 316–333.
- Floate, K.D. (1998). Off-target effects of ivermectin on insects and on dung degradation in southern Alberta, Canada. *Bulletin of Entomological Research*, 88(1), 25–35.
- Fox, M. T. (1997). Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants : recent developments. *Veterinary Parasitology*, 72(3-4), 285–308. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(97\)00102-7](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(97)00102-7)

- Gasbarre, L. C., Leighton, E. A., & Sonstegard, T. (2001). Role of the bovine immune system and genome in resistance to gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*, 98(1-3), 51–64. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(01\)00423-x](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(01)00423-x)
- Geurden, T., Chartier, C., Fanke, J., Frangipane, A., Traversa, D., Samson-himmelstjerna, G. Von, Demeler, J., Bindu, H., Bartram, D. J., & Denwood, M. J. (2015). Anthelmintic resistance to ivermectin and moxidectin in gastrointestinal nematodes of cattle in Europe. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 5(3), 163–171. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2015.08.001>
- Gover, J. & Strong, L. (1995). The effects of ivermectin in ingested cow-dung on the mortality and oviposition of the dung fly *Neomyia cornicina* (Diptera : Muscidae). *Bulletin of Entomological Research*, 85(1), 53- 57.
- Grady, J. O., Akhurst, R. J., & Kotze, A. C. (2007). The requirement for early exposure of *Haemonchus contortus* larvae to *Bacillus thuringiensis* for effective inhibition of larval development. *Veterinary Parasitology*, 150(1-2), 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.09.012>
- Herd, R. P., Sams, R. A., & Ashcraft, S. M. (1996). Persistence of ivermectin in plasma and faeces following treatment of cows with ivermectin sustained-release, pour-on or injectable formulations. *International Journal for Parasitology*, 26(10), 1087–1093. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(96\)80007-5](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(96)80007-5)
- Hertzberg, H., Maurer, V., Heckendorn, F., Wanner, A., Gutzwiller, A., & Mosimann, E. (2007). Lutte contre les parasites gastro-intestinaux chez des jeunes bovins pâturant en conditions sèches. *Revue Suisse Agric.*, 39(2), 89–93. <https://ira.agroscope.ch/it-CH/Page/Publikation/Index/2522>
- Hirschauer, L. (2019). Résistance des strongles digestifs aux benzimidazoles chez les bovins allaitants du Grand Ouest. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine, Nantes. Oniris : École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, 88 pages.
- Höglund, J., Dahlström, F., Sollenberg, S., & Hessle, A. (2013). Weight gain-based targeted selective treatments (TST) of gastrointestinal nematodes in first-season grazing cattle. *Veterinary Parasitology*, 196(3–4), 358–365. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.03.028>
- Holmes, P. H. (1985). Pathogenesis of trichostrongylosis. *Veterinary Parasitology*, 18(2), 89–101. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(85\)90059-7](https://doi.org/10.1016/0304-4017(85)90059-7)
- Hoste, H., Guitard, J.P., & Pons, J.C. (2003). Pâturage mixte entre ovins et bovins : intérêt dans la gestion des strongyloses gastro-intestinales. *Fourrages*, 176, 425-436. <https://orgprints.org/6966/1/fourrages1.pdf>
- Hoste, H., Paolini, V., Paraud, C., & Chartier, C. (2004). Gestion non chimique du parasitisme par les nématodes chez les petits ruminants. *Bulletin Des GTV*, Hors-série [en ligne].
- Hoste, H., Paolini, V., Valderrabano, J., Uriarte, J., Barrau, E. & Fouraste, I. (2005). Use of

bioactive plants to control infections of the gastrointestinal tract with nematodes in goats in the Southern part of Europe. In : Thamsborg, S.M., Larsen, M. & Busch, M. (eds). (2004). Sustainable, non-chemical control of small ruminant nematode parasites in Europe. Proceedings from an International Workshop held at Danish Centre of Experimental Parasitology Royal Veterinary and Agricultural University.

Jacquet, P., Fidelle, F., Lepetitcolin, E., Privat, S., Gaillac, C., Bergeaud, J.-P., & Hoste, H. (2014). Etat des lieux de la résistance aux anthelminthiques en France chez les ovins. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire - Elevages et Santé*, 7(29), 16–22.

Jeune, D. (2011). Pratiques de médecines alternatives en élevage bovin français. *Thèse Pour Le Doctorat Vétérinaire, Université Claude-Bernard - Lyon I*, 100 pages.

Kanojiya, D., Shanker, D., Sudan, V., Jaiswal, A.K., & Parashar, R. (2015). Assessment of in vitro and in vivo anthelmintic potential of extracts of *Allium sativum* bulb against naturally occurring ovine gastrointestinal nematodiosis. *The Veterinary Quarterly*, 35(4), 200-206. <https://doi.org/10.1080/01652176.2015.1099080>

Kerboeuf, D., Koch, C., Le Dréan, E., & Lacourt, A. (2002). Méthode simplifiée de mesure de la concentration en pepsinogène dans le sérum. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 153(11), 707–712. https://www.revmedvet.com/2002/RMV153_707_712.pdf

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. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 12(2), 201–213. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00901325>

Kilani, M., Guillot, J., Polack, B., & Chermette, R. (2003). Helminthoses digestives. In : Lefèvre, P.C., Blancou, J., Chermette, R. (Eds.), Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail : Europe et régions chaudes. *Éditions médicales internationales*, Vol. 2, partie 5, section 2, pp. 1310-1312.

Klesius, P. H. (1988). Immunity to *Ostertagia ostertagi*. *Veterinary Parasitology*, 27(1–2), 159–167. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(88\)90071-4](https://doi.org/10.1016/0304-4017(88)90071-4)

Klesius, P. H. (1993). Regulation of immunity to *Ostertagia ostertagi*. *Veterinary Parasitology*, 46(1–4), 63–79. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(93\)90048-R](https://doi.org/10.1016/0304-4017(93)90048-R)

Kotze, A. C., Grady, J. O., Gough, J. M., Pearson, R., Bagnall, N. H., Kemp, D. H., & Akhurst, R. J. (2005). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to parasitic and free-living life-stages of nematode parasites of livestock. *International Journal for Parasitology*, 35(9), 1013–1022. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.03.010>

Lacroux, C. (2006). Régulation des populations de Nématodes gastro-intestinaux (*Haemonchus contortus* et *Trichostrongylus colubriformis*) dans deux races ovines, INRA 401 et Barbados Black Belly. *Thèse pour le titre de docteur de l'Institut National Polytechnique de Toulouse*, 234 pages.

Laffont, C., Bousquet-Mélou, A., Bralet, D., Alvinerie, M., Fink-Gremmels, J. & Toutain, P.L.

- (2003). A pharmacokinetic model to document the actual disposition of topical ivermectin in cattle. *Veterinary Research*, 34(4), 445-460. <https://doi.org/10.1051/vetres:2003014>
- Larsen, M. (2000). Biological control of helminths. *International Journal for Parasitology*, 29(1), 139-146. [https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(98\)00185-4](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(98)00185-4)
- Li, R. W., Wu, S., Li, W., Huang, Y., & Gasbarre, L. C. (2011). Metagenome plasticity of the bovine abomasal microbiota in immune animals in response to ostertagia ostertagi infection. *PLoS ONE*, 6(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024417>
- Lin, S.S., Chin, L.W., Chao, P.C., Lai, Y.Y., Lin, L.Y., Chou, M.Y. (2011). In vivo Th1 and Th2 cytokine modulation effects of *Rhodiola rosea* standardised solution and its major constituent, salidroside. *Phytotherapy Research*, 25(11):1604-1611 <https://doi.org/10.1002/ptr.3451>
- Lu, L., Yuan, J., & Zhang, S. (2012). Rejuvenating activity of salidroside (SDS): dietary intake of SDS enhances the immune response of aged rats. *Age (Dordr.)*, 35(3), 637-646. <https://doi.org/10.1007/s11357-012-9394-x>
- Lumaret, J.P. (1986). Toxicité de certains helminthocides vis-à-vis des insectes coprophages et conséquences sur la disparition des excréments de la surface du sol. *Acta Oecologica Oecologia Applicata*, 7(4), 313–324.
- Lumaret, J.P., Errouissi, F., Floate, K., Rombke, J., & Wardhaugh, K. (2012). A Review on the Toxicity and Non-Target Effects of Macrocyclic Lactones in Terrestrial and Aquatic Environments. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(6), 1004–1060. <https://doi.org/10.2174/138920112800399257>
- Lumbreras, C.J. & Galante, E. (2000). El impacto de los insecticidas ganaderos somber los escarabajos de la dehesa. *Quercus*, 177, 26-30.
- McKellar, Q. A. (1997). Ecotoxicology and residues of anthelmintic compounds. *Veterinary Parasitology*, 72(3–4), 413–435. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00108-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00108-8)
- Merlin, A. (2017). Optimisation de l'usage des antiparasitaires chez la 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 : École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, 208 pages.
- Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/Sciences N°4*, 27, 405–412. <http://dx.doi.org/10.1051/medsci/2011274017>
- Mihi, B., Van Meulder, F., Rinaldi, M., Van Coppennolle, S., Chiers, K., Van Den Broeck, W., Goddeeris, B., Vercruyssen, J., Claerebout, E., & Geldhof, P. (2013). Analysis of cell hyperplasia and parietal cell dysfunction induced by *Ostertagia ostertagi* infection. *Veterinary Research*, 44(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-44-121>
- Min, B. R., & Hart, S. P. (2003). Tannins for suppression of internal parasites. *Journal of Animal Science*, 81, 102–109. https://doi.org/10.2527/2003.8114_SUPPL_2E102X
- Moreau, E., & Chauvin, A. (2010). Immunity against Helminths : Interactions with the Host and the

Intercurrent Infections. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, 9 pages.
<https://doi.org/10.1155/2010/428593>

- Mulligan, W., Gordon, H.M., Stewart, D.F. & Wagland, B.M. (1961). The use of irradiated larvae as immunizing agents in *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* infections in sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*, 12(6), 1175-1187.
<https://doi.org/10.1071/AR9611175>
- Niezen, J. H., Robertson, H. A., Waghorn, G. C., & Charleston, W. A. (1998). Production, faecal egg counts and worm burdens of ewe lambs which grazed six contrasting forages. *Veterinary Parasitology*, 80(1), 15–27. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(98\)00202-7](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(98)00202-7)
- Nisbet, A. J., Mcneilly, T. N., Wildblood, L. A., Morrison, A. A., Bartley, D. J., Bartley, Y., Longhi, C., Mckendrick, I. J., Palarea-albaladejo, J., & Matthews, J. B. (2013). Successful immunization against a parasitic nematode by vaccination with recombinant proteins. *Vaccine*, 31(37), 4017–4023. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.05.026>
- Novobilský, A., Mueller-Harvey, I., & Thamsborg, S. M. (2011). Condensed tannins act against cattle nematodes. *Veterinary Parasitology*, 182(2–4), 213–220.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.06.003>
- Novobilský, A., Stringano, E., Hayot Carbonero, C., Smith, L. M. J., Enemark, H. L., Mueller-Harvey, I., & Thamsborg, S. M. (2013). In vitro effects of extracts and purified tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) against two cattle nematodes. *Veterinary Parasitology*, 196(3–4), 532–537. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.03.024>
- O’Shaughnessy, J., Earley, B., Mee, J. F., Doherty, M. L., Crosson, P., Barrett, D., & de Waal, T. (2015). Controlling nematodes in dairy calves using targeted selective treatments. *Veterinary Parasitology*, 209(3–4), 221–228. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.02.024>
- Paolini, V., Dorchies, P., Athanasiadou, S., & Hoste, H. (2002). Effects of condensed tannins and tanniferous plants on gastrointestinal parasitism of goats by nematodes. In *9th Meeting on Ruminant Research*, 4th-5th December, Paris, 411–414.
- Paraud, C. & Chartier, C. (2003). Biological control of infective larvae of a gastro-intestinal nematode (*Teladorsagia circumcincta*) and a small lungworm (*Muellerius capillaris*) by *Duddingtonia flagrans* in goat faeces. *Parasitology Research*, 89(2), 102-106.
<https://doi.org/10.1007/s00436-002-0717-1>
- Rahmann, G., & Seip, H. (2007). Bioactive forage and phytotherapy to cure and control endo-parasite diseases in sheep and goat farming systems - A review of current scientific knowledge. *Landbauforschung Volkenrode*, 57(3), 285–295.
<https://www.researchgate.net/publication/237327682>
- Ravinet, N., Bareille, N., Lehebel, A., Ponnau, A., Chartier, C., & Chauvin, A. (2014). Change in milk production after treatment against gastrointestinal nematodes according to grazing history, parasitological and production-based indicators in adult dairy cows. *Veterinary Parasitology*, 201(1–2), 95–109. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.12.031>

- Ravinet, N., Chartier, C., Hoste, H., Mahieu, M., Duvauchelle-Wache, A., Merlin, A., Bareille, N., Jacquiet, P., & Chauvin, A. (2017). Enjeux et outils du traitement raisonné contre les strongles gastro-intestinaux chez les bovins et les petits ruminants. *Productions Animales*, 30(1), 57–76. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2017.30.1.2233>
- Ravinet, N., Chartier, C., Merlin, A., & Chauvin, A. (2019). Influence de la conduite du pâturage sur le risque parasitaire lié aux strongles digestifs. *Journées AFPP – Élevage à l’herbe : quels bénéfices complémentaires ?*, 12-13 Mars, 47–58.
- Ravinet, N., Chauvin, A., Chartier, C., & Duvauchelle-Wache, A. (2015). Guide d’intervention pour la maîtrise du risque parasitaire lié aux strongles digestifs en troupeaux bovins laitiers. *UMT Maitrise de La Santé Des Troupeaux Bovins*, 121 pages [en ligne].
- Saumell, C. A., Fernández, A. S., Echevarria, F., Gonçalves, I., Iglesias, L., Sagües, M. F., & Rodríguez, E. M. (2016). Lack of negative effects of the biological control agent *Duddingtonia flagrans* on soil nematodes and other nematophagous fungi. *Journal of Helminthology*, 90(6), 706–711. <https://doi.org/10.1017/S0022149X1500098X>
- Soetan, K.O., & Lasisi, O.T. (2008). Studies on the anthelmintic activities of saponins from Pearl millet (*Pennisetum glaucum*). *Tropical Veterinarian*, 26(1-2), 14–19.
- Soetan, K.O., Lasisi, O.T., Agboluaje, A.K. (2011). Comparative assessment of in vitro anthelmintic effects of the aqueous extracts of the seeds and leaves of the African locust bean (*Parkia biglobosa*) on bovine nematode eggs. *Journal of Cell and Animal Biology*, 5(6), 109–112.
- Southcott, W. H., & Barger, I. A. (1975). Control of nematode parasites by grazing management - II. Decontamination of sheep and cattle pastures by varying periods of grazing with the alternate host. *International Journal for Parasitology*, 5(1), 45–48. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(75\)90096-x](https://doi.org/10.1016/0020-7519(75)90096-x)
- Stromberg, B. E. (1997). Environmental factors influencing transmission. *Veterinary Parasitology*, 72(3–4), 247–264. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00100-3](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00100-3)
- Su, F., Yuan, L., Zhang, L., & Hu, S. (2012). Ginsenosides Rg1 and Re act as adjuvant via TLR4 signaling pathway. *Vaccine*, 30(27), 4106–4112 <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.03.052>
- Svendsen, T.S., Grønvold, J., Holter, P. & Sommer, C. (2003). Field effects of ivermectin and fenbendazole on earthworm populations and the disappearance of dung pats from bolus-treated cattle. *Applied Soil Ecology*, 24(3), 207–218. [https://doi.org/10.1016/s0929-1393\(03\)00096-9](https://doi.org/10.1016/s0929-1393(03)00096-9)
- Szyska, O., & Kyriazakis, I. (2013). What is the relationship between level of infection and “sickness behaviour” in cattle? *Applied Animal Behaviour Science*, 147(1–2), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2013.05.007>
- Taylor, L. M., Parkins, J. J., Armour, J., Holmes, P. H., Bairden, K., Ibarra-Silva, A. M., Salman, S. K., & McWilliam, P. N. (1989). Pathophysiological and parasitological studies on *Ostertagia ostertagi* infections in calves. *Research in Veterinary Science*, 46(2), 218–225. [https://doi.org/10.1016/s0034-5288\(18\)31148-2](https://doi.org/10.1016/s0034-5288(18)31148-2)

- Torres-acosta, J. F. J., & Hoste, H. (2008). Alternative or improved methods to limit gastrointestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 77, 159–173. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.03.009>
- Vercruysse, J. & Claerebout, E. (2001). Treatment vs non-treatment of helminth infections in cattle : defining the threshold. *Veterinary Parasitology*, 98(1-3), 195-214. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(01\)00431-9](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(01)00431-9)
- Virlouvet, G., Bichon, E., André, F., & Bizec, B. Le. (2006). Faecal elimination of cypermethrin by cows after pour-on administration : Determining concentrations and measuring the impact on dung beetles. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 88(3), 489-499. <https://doi.org/10.1080/02772240600703643>
- Vlaminck, J., Borloo, J., Vercruysse, J., Geldhof, P., & Claerebout, E. (2015). Vaccination of calves against *Cooperia oncophora* with a double-domain activation-associated secreted protein reduces parasite egg output and pasture contamination. *International Journal for Parasitology*, 45(4), 209–213. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.11.001>
- Wei, J., Hale, K., Carta, L., Platzer, E., Wong, C., Fang, S., & Aroian, R. V. (2003). Bacillus thuringiensis crystal proteins that target nematodes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(5), 2760–2765. <https://doi.org/10.1073/pnas.0538072100>
- Wyk, J. A. Van, & Mayhew, E. (2013). Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle : A practical lab guide. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 80(1), 14 pages. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v80i1.539>
- Xhomfulana, V., Mapiye, C., Chimonyo, M., & Marufu, M.C. (2009). Supplements containing Acacia karroo foliage reduce nematode burdens in Nguni and crossbred cattle. *Animal Production Science*, 49(8), 646–653. <https://doi.org/10.1071/AN09028>
- Zanton, G. I., & Heinrichs, A. J. (2005). Meta-analysis to assess effect of prepubertal average daily gain of Holstein Heifers on first-lactation production. *Journal of Dairy Science*, 88(11), 3860–3867. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)73071-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73071-X)

Vu: L'enseignant Rapporteur

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

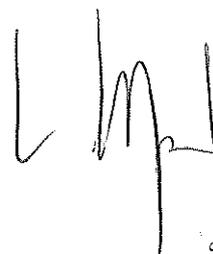


Pr Alain Chauvin

Vu: Le Directeur Général
par intérim

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

Narc GOÛNY



Sandy LECOQ-ESPALLARGAS

Directrice des Etudes
et de la Vie Etudiante

Nantes, le 21/11/2020

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 : DESROCHES

Prénom : Julie

ÉLABORATION D'UN PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL VISANT À ÉVALUER UN ALIMENT COMPLÉMENTAIRE DANS LE CONTRÔLE DES INFESTATIONS PAR LES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX CHEZ LES GÉNISSES EN PREMIÈRE SAISON DE PÂTURAGE

RÉSUMÉ

Les strongyloses gastro-intestinales sont des parasitoses systématiques des bovins au pâturage. Les jeunes bovins, naïfs à la première mise à l'herbe, sont particulièrement sensibles à ces infestations avec des risques de conséquences cliniques et zootechniques. Pour lutter contre ce problème, l'usage de traitements anthelminthiques s'est fortement développé, notamment avec l'apparition des lactones macrocycliques sous forme de formulations pour-on et rémanentes. Seulement, plusieurs limites se posent actuellement sur leur utilisation, surtout en raison de l'émergence de résistances, de l'impact environnemental et du retard d'acquisition de l'immunité chez les jeunes bovins. C'est pourquoi, des stratégies alternatives de contrôle sont mises en place, comme la gestion du système de pâturage, le recours à des plantes à activité anthelminthique, et la lutte biologique. L'approche immunitaire, c'est-à-dire la stimulation de l'immunité, est une autre voie d'action intéressante et prometteuse en cours de développement. Dans cet objectif, un protocole expérimental est proposé pour tester l'effet d'un aliment complémentaire dans une population de génisses en première saison de pâturage. Chaque lot sera divisé en un groupe « test » et un groupe témoin qui suivront la même conduite de pâturage. Des points de prélèvements seront réalisés pour évaluer le niveau d'infestation des animaux et le niveau de contamination des parcelles. La réalisation d'un essai respectant cette démarche pourrait permettre une évaluation fiable et pertinente de l'effet d'un nutriment phytogénique à visée préventive dans le contrôle des infestations par les strongles digestifs, compatible avec une vision agro-écologique de l'élevage.

MOTS-CLÉS :

- Génisse
- Pâturage
- Strongle digestif
- Parasitologie
- Complément alimentaire
- Immunité

JURY Président : Monsieur Patrick Lustenberger, Professeur à la Faculté de Médecine de Nantes

Rapporteur : Monsieur Alain Chauvin, Professeur en Parasitologie à l'ENVN

Assesseur : Madame Nadine Ravinet, Maître de Conférences à l'ENVN

ADRESSE DE L'AUTEUR

7 rue en Buttel

54270 Essey-lès-Nancy

Nom de l'imprimeur

www.impression-these.com