VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2020 - Thèse n° 064

ÉTUDE DE LA TRANSMISSION DE STRONGLES DIGESTIFS RÉSISTANTS AUX ANTHELMINTHIQUES ENTRE LES BOUQUETINS DES ALPES ET LES MOUTONS DOMESTIQUES EN CO-PÂTURAGE DANS LE MASSIF DE BELLEDONNE ET LE PARC NATIONAL DES ÉCRINS

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 29 octobre 2020
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

SERAFINO Anna

VetAgro Sup

UNIVERSITÉ DE LYON

VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2020 - Thèse n° 064

ÉTUDE DE LA TRANSMISSION DE STRONGLES DIGESTIFS RESISTANTS AUX ANTHELMINTHIQUES ENTRE LES BOUQUETINS DES ALPES ET LES MOUTONS DOMESTIQUES EN CO-PÂTURAGE DANS LE MASSIF DE BELLEDONNE ET LE PARC NATIONAL DES ÉCRINS

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 29 octobre 2020
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

SERAFINO Anna

VetAgro Sup

UNIVERSITÉ DE LYON

Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon *(01-09-2019)*

ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
AYRAL	Florence	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BECKER	Claire	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BELLUCO	Sara	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENAMOU-SMITH	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENOIT	Etienne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BERNY	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BOULOCHER	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BURONFOSSE	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
CACHON	Thibaut	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CADORÉ	Jean-Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
CAROZZO	Claude	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CHALVET-MONFRAY	Karine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DJELOUADJI	Zorée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ESCRIOU	Catherine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GALIA	Wessam	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
GONTHIER	Alain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GRANCHER	Denis	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
GREZEL	Delphine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
JANKOWIAK	Bernard	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
JOSSON-SCHRAMME	Anne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
KODJO	Angeli	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
KRAFFT	Emilie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LAMBERT	Véronique	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LE GRAND	Dominique	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
LEBLOND	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LEDOUX	Dorothée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEGROS	Vincent	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOISSONNIER	Pierre	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOUNIER	Luc	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
PEPIN	Michel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
PIN	Didier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PONCE	Frédérique	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PORTIER	Karine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
POUZOT-NEVORET	Céline	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
PROUILLAC	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
REMY	Denise	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
SABATIER	Philippe	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
SAWAYA	Serge	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
SCHRAMME	Michael	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
SERGENTET	Delphine	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
THOMAS-CANCIAN	Aurélie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur

REMERCIEMENTS

À Monsieur le Professeur Jean-François NICOLAS

De l'Université Claude Bernard Lyon 1, Faculté de Médecine de Lyon,

Pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,

Veuillez recevoir mes hommages respectueux.

À Monsieur le Docteur Gilles BOURGOIN

De VetAgro Sup – Campus Vétérinaire de Lyon,

Pour sa gentillesse et son investissement dans l'élaboration de cette thèse

Pour sa patience et sa disponibilité,

Veuillez accepter l'expression de ma sincère gratitude et de ma reconnaissance.

À Monsieur le Professeur Philippe BERNY

De VetAgro Sup – Campus Vétérinaire de Lyon,

Pour nous avoir fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,

Veuillez trouver ici l'expression de mes remerciements les plus sincères.

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES ANNEXES **15**
TABLE DES FIGURES **17**
TABLE DES TABLEAUX **19**
LISTE DES ABREVIATIONS **21**
INTRODUCTION **23**
PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE **25**
I. PHYSIOLOGIE DES STRONGLES DIGESTIFS **27**
A. CYCLE PARASITAIRE 27
1. Phase exogène *27*
a) De l'éclosion de l'œuf au stade infestant 27
b) Conditions climatiques favorables 28
2. Phase endogène *28*
a) De l'ingestion de la larve à l'excrétion d'œufs 28
b) Hypobiose 30
B. STRUCTURES ET FONCTIONS 31
1. Paroi corporelle *32*
a) La cuticule et l'épicuticule 32
b) L'hypoderme 32
c) Les muscles 32
d) Pseudocoelome 33
2. Nutrition et appareil digestif *33*
a) Structures et fonctions 33
b) Modes de nutrition 33
3. Reproduction *34*
a) Appareils reproducteurs 34
b) Reproduction 34
4. Métabolisme *35*
5. Système excréteur *35*
a) Le tube excréteur 36
b) La glande excrétrice 36
6. Système nerveux *36*
II. STRONGYLOSES OVINES **37**
A. ÉPIDEMIOLOGIE 37
1. Hôtes susceptibles *37*
2. Distribution saisonnière des infestations au SGI *37*
3. Importance de la conduite d'élevage *38*
a) Dynamique de la contamination du milieu 38
b) La conduite au pâturage et la conduite des jeunes 38
c) L'alimentation 39
4. Importance de la météorologie *39*
5. Impact du changement climatique sur la répartition mondiale des SGI *40*
B. PATHOGENIE 40
1. Effet mécanique *40*
2. Spoliation *40*
3. Effets des produits d'excrétion/sécrétion parasitaires *41*
4. Réponse de l'hôte à l'infestation *41*
5. Conséquences cliniques du parasitisme et pertes zootechniques *41*
a) Perte d'appétit 41
b) Malabsorption et maldigestion 42
c) Modification du métabolisme 42
C. IMMUNITE PROTECTRICE DE L'HOTE 42
1. La nécessité d'un contact suffisant et continu avec le parasite *42*
2. L'équilibre entre l'hôte et le parasite *43*
3. Mécanismes *43*

a) La réponse innée 43
b) La réponse adaptative 43
D. DIAGNOSTIC 45
1. Symptomatologie 45
a) Haemonchose 45
b) Ostertagiose 46
c) Nématodirose 46
2. Diagnostic de laboratoire 47
a) La coproscopie 47
b) Dosage du pepsinogène sérique 47
E. IMPACT ECONOMIQUE 48
III. LES ANTHELMINTHIQUES 49
A. LUTTE CHIMIQUE DU PARASITISME 49
1. Les anthelminthiques classiques 49
a) Les benzimidazoles 49
b) Les imidathiazoles 49
c) Les lactones macrocycliques 49
d) Les tétrahydropyrimidines 50
2. Les classes d'anthelminthiques plus récentes 50
a) Les amino-acétonitriles 50
b) Les spiroindoles 51
c) Les cyclooctadepsipeptides 52
3. Inconvénients 53
B. LA RESISTANCE AUX ANTHELMINTHIQUES 53
1. Définition 53
2. Apparition de résistances 54
3. État des lieux actuel 55
C. MECANISMES DE RESISTANCE 56
1. La résistance aux benzimidazoles 56
2. La résistance au lévamisole 57
3. La résistance aux lactones macrocycliques 57
4. Autres mécanismes de résistances 58
D. CIRCONSTANCES D'APPARITION ET FACTEURS DE RISQUE 58
E. DISSEMINATION DE LA RESISTANCE 60
F. OUTILS DE DETECTION DES RESISTANCES 61
1. Test in vivo : le test de réduction d'excrétion fécale d'œufs 61
a) Principe 61
b) Inconvénients et variantes 62
2. Tests in vitro : le test d'éclosion d'œufs et le test de développement larvaire 63
a) Le test d'éclosion d'œufs (EHT) 63
b) Le test de développement larvaire (LDT) 64
3. Les tests moléculaires 64
G. LA LUTTE INTEGREE : STRATEGIES ET ALTERNATIVES THERAPEUTIQUES 65
1. Objectifs 65
2. Rationalisation du traitement 65
3. Utilisation de différentes classes d'anthelminthiques : combinaison ou rotation ? 66
a) L'alternance des classes d'anthelminthiques 66
b) La combinaison d'anthelminthiques 67
c) Les recommandations du SCOPS 67
d) Quelle stratégie utiliser ? 68
4. Gestion des pâtures 68
5. Alternatives thérapeutiques 69
a) Les champignons prédateurs/endoparasites des nématodes 69
b) Les huiles essentielles 69
c) Augmentation de l'efficacité des anthelminthiques par l'administration de lopéramide 70
6. Améliorer la résistance de l'hôte par la sélection génétique 71
7. Améliorer la résistance et la résilience de l'hôte par l'alimentation 72
8. Effets de la lutte intégrée sur les strogyloses ovines 74
IV. TRANSMISSION DE STRONGLES RESISTANTS AUX POPULATIONS DE RUMINANTS SAUVAGES 75
A. CIRCULATION DE PARASITES ENTRE LES HOTES SAUVAGES ET DOMESTIQUES 75

1. Augmenter son spectre d'hôte : le passage des filtres de rencontre et de compatibilité 75
2. Application aux strongles gastro-intestinaux des ovins 77
3. Transmission aux populations sauvages 78
a) La parasitologie descriptive 79
(1) Identification post-mortem 79
(2) Identification par séquençage haut débit : le némabiome 80
(3) Les analyses génétiques 80
b) Les transmissions expérimentales 81
4. Impact sur la santé des populations sauvages 81
5. Facteurs influençant le parasitisme des populations sauvages 82
(1) Le climat 82
(2) La saison 83
(3) Le sexe de l'hôte 83
(4) La densité du bétail, le type d'habitat et la nutrition de l'hôte 83
(5) Les interactions entre espèces sauvages 84
6. Impact sur le parasitisme des ruminants domestiques 84
7. Effets du réchauffement climatique 85
8. Place des ruminants sauvages dans la résistance aux anthelminthiques : problème ou solution ?.. 85

PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE 89

I. OBJECTIFS DE L'ETUDE 91

II. MATERIELS ET METHODES 92

A. ZONES D'ETUDE 92
1. Le Parc National des Écrins 92
2. La Réserve Nationale de Belledonne – Sept-Laux. 92
3. Les populations de bouquetins des Alpes 93
4. Élevages ovins et protocole anthelminthique 95
5. Organisation de l'étude et prélèvements fécaux 97
6. Coproscopie et préparation des échantillons 97
7. Sélection des échantillons 97
8. Analyses génétiques par PCR-RFLP 98
a) Amplification de la portion d'ADN d'intérêt 98
9. Recherche de la mutation F200Y 99
10. Recherche de la mutation E198A 99
11. Particularités de l'étude 100

III. RESULTATS 100

A. RESULTATS COPROSCOPIQUES 100
1. Parasitisme des bouquetins vivant en sympatrie avec des moutons 100
2. Comparaison avec les moutons 102
B. RESULTATS DES ANALYSES GENETIQUES 102
1. RFLP avec l'enzyme TaaI 102
2. RFLP avec l'enzyme HpyCH4-V 104

IV. DISCUSSION 106

A. CONCERNANT LES RESULTATS COPROSCOPIQUES 106
B. CONCERNANT LES ANALYSES GENETIQUES 106
1. La méthode utilisée 106
2. Les résultats obtenus 108

CONCLUSION 109

ANNEXES 111

BIBLIOGRAPHIE 125

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Protocole de prélèvements fécaux.

Annexe 2 : Fiche de relevés terrain: prélèvements fécaux bouquetins.

Annexe 3 : Protocole de Mac Master selon la technique de H. Ferté (Laboratoire de parasitologie vétérinaire – Vetagro Sup Lyon).

Annexe 4 : Coproculture et coproscopie de Baermann (Laboratoire de parasitologie vétérinaire – Vetagro Sup Lyon).

Annexe 5 : Comptage des larves L3 de SGI.

Annexe 6 : Protocole d'extraction d'ADN avec le kit QIAamp® PowerFecal® DNA - Protocole modifié.

TABLE DES FIGURES

Figure 1. *Classification des strongles gastro-intestinaux.*

Figure 2. *Cycle parasitaire des strongles digestifs des ovins.*

Figure 3. *Morphologie générale des nématodes.*

Figure 4. *Organisation générale d'un nématode en coupe transversale.*

Figure 5. *Ultrastructure de la paroi corporelle observée au microscope électronique à transmission (MET) et mise en évidence du manteau de surface au MET sur Toxocara canis.*

Figure 6. *Extrémité caudale d'un nématode mâle appartenant à la super-famille des Trichostrongyloidea.*

Figure 7. *Ultrastructure des 3 cellules composant le tube excréteur observée au microscope électronique à transmission et mise en évidence par immunofluorescence du cytoplasme de la cellule canalaire .*

Figure 8. *Mécanismes et acteurs de l'immunité impliqués dans la réponse anti-strongle digestif.*

Figure 9. *Adultes d'H. contortus fixés à la paroi de la caillette.*

Figure 10. *Œufs de strongles digestifs ovins.*

Figure 11. *Mécanisme d'augmentation du pepsinogène sérique en cas de parasitisme de la caillette.*

Figure 12. *Effets du derquantel et de l'abamectine sur les fibres musculaires de Ascaris suum.*

Figure 13. *Principales étapes du protocole du test d'excrétion fécale d'œufs ou FECRT.*

Figure 14. *Les 5 étapes consécutives de la technique Mini-FLOTAC avec le kit Fill-FLOTAC.*

Figure 15. *Filaments de Duddingtonia flagrans s'organisant en réseau tridimensionnel pour piéger les larves de parasites dans les fèces observés au microscope à balayage et larve de strongle « étranglée » par un filament de D. flagrans observée au microscope optique.*

Figure 16. *Relation entre le nombre d'œufs par gramme de fèces, la charge parasitaire, et la biodisponibilité de l'ivermectine obtenus après administration en sous-cutané d'ivermectine seule ou en combinaison avec du lopéramide chez des agneaux infestés par des vers résistants.*

Figure 17. *Observation de la partie céphalique de H. contortus au microscope électronique à balayage après contact in vitro avec des extraits de Lysiloma latisiliquum, légumineuse riche en tannins condensés.*

Figure 18. *Taux de production de cytokines (IL-4 et IL-12) dans la cavité péritonéale de souris infestées par H. bakeri et traitées avec les saponines de A. sativa par rapport au même taux produit chez les souris non infestées.*

Figure 19. *Illustration schématique des possibilités d'hôte d'un parasite en fonction de son «sloppy fitness space ».*

Figure 20. *Perspective phylogénétique du spectre d'hôte d'H. contortus au sein des ongulés.*

Figure 21. *Exemple de parasitologie descriptive montrant la prévalence (P), l'abondance (P) et l'index d'importance (I) de différents helminthes de la caillette récoltés sur 76 cerfs élaphes (Cervus elaphus), 280 chevreuils (Capreolus capreolus), 101 chamois (Rupicapra rupicapra), 155 bouquetin des Alpes (Capra ibex), 29 mouflons (Ovis musimon) et 19 moutons (Ovis aries) tués ou retrouvés morts depuis les Alpes centrales (Valtellina, Engadin) aux Alpes de l'Est (Dolomites, Asiago).*

Figure 22. *Proportion relative de différentes espèces de nématodes ou némabiome au sein de 89 prélèvements fécaux correspondant à 89 individus différents.*

Figure 23. *Zones d'études correspondant à la présence de bouquetins dans le massif de Belledonne, le massif des Cerces et le massif de l'Arcanier-Muzelle.*

Figure 24. *Chevrée sur le massif des Cerces, dans le Briançonnais, Parc des Écrins.*

Figure 25. *Jeune bouquetin mâle du Champsaur et bouquetin adulte mâle des Cerces.*

Figure 26. *Zones d'étude au niveau du Parc National des Écrins.*

Figure 27. *Zone d'étude de Belledonne avec ses différentes unités pastorales.*

Figure 28. *Répartition des excrétions d'œufs de strongles digestifs chez les bouquetins des 3 zones étudiées.*

Figure 29. *Résultats de la PCR-RFLP avec l'enzyme TaaI.*

Figure 30. *Résultats de la PCR-RFLP avec l'enzyme HpyCH4-V. * SNP supplémentaire suspecté.*

TABLE DES TABLEAUX

- ***Tableau I.*** *Différentes niches écologiques des SGI les plus fréquent chez les ovins en France.*
- ***Tableau II.*** *Anthelminthiques utilisés chez les ovins.*
- ***Tableau III.*** *Principales molécules utilisées dans le contrôle chimique des nématodes gastro-intestinaux chez le mouton.*
- ***Tableau IV****. Sélection des échantillons.*
- ***Tableau V.*** *Nombre d'échantillons fécaux de bouquetins ou de moutons présentant H. contortus pour chaque zone étudiée.*
- ***Tableau VI.*** *Prévalence et abondance (médiane et intervalle de confiance à 95%) de strongles digestifs en œufs par gramme de fèces.*

LISTE DES ABREVIATIONS

- ABA= Abamectine
- ADCC = Antibody-dependant cell-mediated cytotoxicity
- Ag = Antigène
- BZ = Benzimidazoles
- DQL = Derquantel
- EHT = *Egg Hatch Test*
- FAO = *Food and Agriculture Organization*
- FECRT = *Fecal Egg Count Reduction Test*
- GluClR = Récepteur chlore-dépendant du glutamate
- GMQ = Gain moyen quotidien
- HS = Herbe sèche
- Ig = Immunoglobuline
- ITS-2 = Espace interne transcrit 2
- IVM = Ivermectine
- LEV = Lévamisole
- LDT = *Larval Development Test*
- DL50 = Dose létale à 50%
- LM = Lactones macrocycliques
- L1 = Larve de stade 1
- L2 = Larve de stade 2
- L2 = Larve de stade 3
- L4 = Larve de stade 4
- MOX = Moxidectine
- MPL = Monépantel
- nAchR = Récepteur nicotinique à l'acétylcholine
- OFB = Office Français de la Biodiversité
- OIE = Organisation mondiale de la santé animale
- OMS = Organisation mondiale de la santé
- OPG = Œufs Par Gramme
- pb = Paire de bases
- PCR = *Polymerase Chain Reaction*
- PPP = Période pré-patente
- RNCFS = Réserve Nationale de la Chasse et de la Faune Sauvage
- SCOPS = *Sustainable Control Of Parasites in Sheep*
- SGI = Strongle gastro-intestinaux
- SNP = *Single Nucleotide Polymorphism*
- TC = Tanin condensé
- WAAVP = *World Association for the Avancement of Veterinary Parasitology*

INTRODUCTION

La résistance aux antibiotiques est aujourd'hui un défi mondial qui met en péril le succès de la médecine moderne. Une ère post-antibiotique où les infections courantes sont de nouveau mortelles est une éventualité du XXIème siècle à prendre en considération. D'après l'organisation mondiale de la santé (OMS), l'antibio-résistance des bactéries est actuellement responsable d'au moins 700 000 décès annuels dans le monde. On estime qu'en 2050, ce phénomène représentera la première cause de mortalité des pays occidentaux devant les cancers avec près de 10 millions de morts par an. Outre la menace qui pèse sur la santé humaine mais aussi sur la santé animale, la résistance aux antibiotiques est un enjeu de taille qui grève l'économie mondiale et impacte l'ensemble de la société

.

Alarmée par la situation, l'OMS adopte en 2015 un plan d'action mondial pour lutter contre les résistances aux antimicrobiens. Rédigé en collaboration avec l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) et l'Organisation des Nations unies pour l'agriculture et l'alimentation (FAO), ce plan d'action intègre l'approche d'Une Seule santé « One Health » qui considère que la santé humaine, animale et environnementale sont interconnectées. L'objectif principal est de disposer le plus longtemps possible d'antibiotiques surs, efficaces et utilisés de façon responsables. Cette collaboration tripartite invite ses états membres à le mettre en œuvre au niveau national. En France, le plan Ecoantibio a pour but de réduire l'utilisation des antibiotiques vétérinaires. De 2012 à 2017, on compte une baisse de 38 % au lieu des 25% visés. Fort de son succès, le plan Ecoantibio est reconduit jusqu'en 2021 en tenant compte des recommandations de l'OMS (Ministère de l'agriculture et de l'alimentation, 2017).

La résistance aux médicaments est donc bien connue chez les bactéries : des mesures gouvernementales sont appliquées dans le monde entier et son ampleur est de plus en plus comprise par la population. Cependant aujourd'hui d'autres micro-organismes font, à leur tour, l'objet de résistances de grande ampleur devenant alors une nouvelle source de préoccupation pour l'OMS (Organisation mondiale de la santé, 2018). L'émergence de parasites et en particuliers de vers résistants, n'a pas encore été démontrée en médecine humaine mais est fortement suspectée. Cette suspicion s'appuie sur le constat d'une diminution d'efficacité de certaines molécules, utilisées dans le cadre de programmes de prévention à grande échelle, mais également sur l'expérience vétérinaire (Albonico et al., 2003 ; Florh et al., 2007 ; Krucken et al., 2017). Cette nouvelle escalade de la résistance des micro-organismes appelle l'OMS à prendre de nouvelles mesures et à donner des axes de recherches basés sur les preuves vétérinaires (Word Heath Organisation, 2015). Voilà un des rares cas où la médecine humaine prend exemple sur la médecine vétérinaire. Cette thèse a pour vocation de faire le lien entre l'homme et ses activités d'élevage, l'animal domestique et la faune sauvage dans le contexte de résistance aux anthelminthiques.

Les différentes parties abordées ici se hiérarchisent de manière à traiter progressivement le sujet d'intérêt. La première partie bibliographique établit les bases biologiques, écologiques et pathogéniques des strongles gastro-intestinaux des ovins de manière à comprendre la lutte chimique employée à leur encontre en élevage et la résistance aux anthelminthiques qui en découle. Les facteurs de risques, les outils de détection ou encore les stratégies de ralentissement de la résistance en élevage ovin sont décrits. Enfin, la transmission de parasites entre ruminants domestiques et ruminants sauvages partageant la même pâture est exposée. La seconde partie concerne l'étude expérimentale réalisée dans le cadre de cette thèse, à savoir, la

transmission de strongles digestifs résistants entre les troupeaux de moutons et les bouquetins des Alpes en co-pâturage dans le massif de Belledonne et le Parc National des Écrins.

PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Physiologie des strongles digestifs

Chez les ruminants, le terme de strongles digestifs ou strongles gastro-intestinaux (SGI) est communément employé en médecine vétérinaire pour désigner les nématodes (vers ronds) appartenant à l'Ordre des Strongylida, d'importance vétérinaire, qui parasitent le tractus digestif des ruminants. Ils appartiennent en particulier aux superfamilles des *Trichostrongyloidea* (genres : *Haemonchus, Trichostrongylus, Teladorsagia, Nematodirus, Cooperia)* et *Strongyloidea* (genres : *Oesophagostomum*, *Chabertia*) (Cabaret, 2000 ; Euzeby, 2008) (Figure 1).

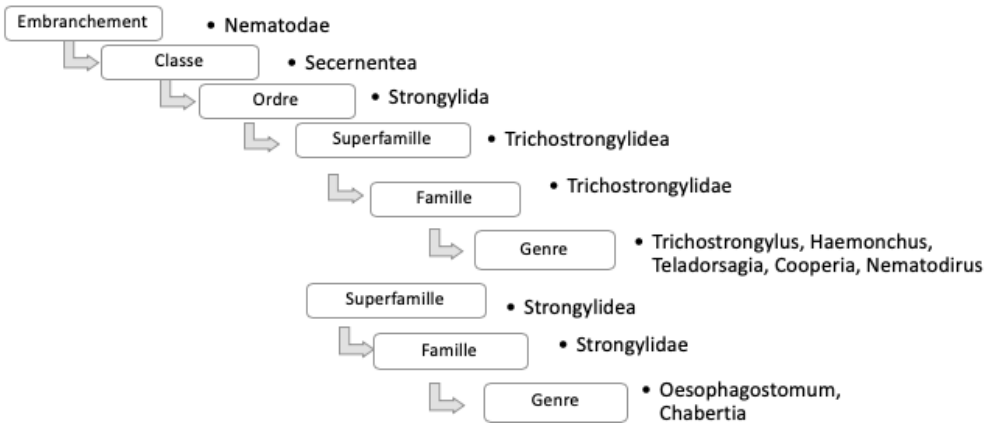


Figure 6. *Classification des strongles gastro-intestinaux. Modifié d'après Taylor et al., 2016.*

A. Cycle parasitaire

1. Phase exogène

a) De l'éclosion de l'œuf au stade infestant

Les œufs pondus par la femelle sont excrétés dans le milieu extérieur par les fèces. L'œuf des strongles digestifs renferme une morula, un embryon ou une larve entourée d'une coque protectrice. Cette dernière est composée, entre autres, d'une couche interne lipidique imperméable et d'une couche externe épaisse rigide chitineuse permettant à l'œuf de se protéger des aléas climatiques et en particulier de la dessiccation et du froid. La survie et le développement de l'embryon en larve de stade 1 (L1), reposent sur ses réserves énergétiques (Lee et Atkinson, 1976 ; Perry et Moens, 2011). L'éclosion est contrôlée par des facteurs tels que la température et l'humidité mais aussi par la larve elle-même. En effet la coque est altérée de l'intérieur par des enzymes (estérase, protéase et chitinase) la rendant perméable à l'eau. L'eau environnante est alors absorbée par la larve de l'extérieur vers l'intérieur de l'œuf. La larve grossit et la coque finit par rompre en laissant échapper L1 (Taylor et al., 2016). Durant ce premier stade, le métabolisme et le développement musculaire de la larve augmentent ce qui

lui permet de se nourrir activement et de former de nouvelles réserves énergétiques (Harder, 2016). Elle se nourrit essentiellement de bactéries présentes dans les fèces. Le développement de la larve passe par trois stades (L1, L2 et L3) se terminant chacun par une mue (Figure 2). Lors de la mue, on observe une léthargie durant laquelle la cuticule est renouvelée (Lee et Atkinson, 1976). L'activité et le métabolisme diminuent ensuite au fur et à mesure du passage en L2 puis en L3, le stade infestant (Harder, 2016). En effet, la larve L3, dite « engainée », ne se nourrit plus car l'exuvie du stade précédent persiste et forme une gaine autour d'elle. Sa survie et sa capacité d'infestation dépendent donc de ses réserves énergétiques. Cette gaine lui confère cependant une protection face au gel et à la dessiccation (Lee et Atkinson, 1976 ; Taylor et al., 2016). Dans les conditions optimales, la durée de la phase exogène dure entre 7 et 10 jours chez les strongles digestifs (Hansen et Perry, 1995).

b) Conditions climatiques favorables

La phase exogène des strongles digestifs est une phase pré-parasitaire où les larves sont libres. Il n'y a pas d'hôte intermédiaire, le cycle est dit monoxène direct. Dans certains cas il est possible que les vers de terre ingèrent et accumulent les L3 jouant ainsi le rôle d'hôtes paraténiques. Les paramètres environnementaux (température et humidité) conditionnent donc la survie des larves libres. Les formes libres sont très sensibles à la chaleur et à la sècheresse. La température optimale pour leur survie et leur développement varie entre 22 et 26°C. À plus haute température, le développement est plus rapide et la larve plus active ce qui consomme ses réserves et augmente le taux de mortalité. Lorsque la température diminue, le processus ralentit et, en dessous de 10°C, le développement de l'œuf jusqu'au stade L3 ne se fait plus. En revanche, en dessous de 5°C, les mouvements et le métabolisme des L3 sont minimes ce qui favorise leur survie (Taylor et al., 2016 ; Hansen et Perry, 1995). La neige et le froid durant l'hiver sont donc propices à la conservation des larves infestantes. Elle peuvent par conséquent survivre en moyenne 6 à 8 mois ce qui rend les pâturages contaminés d'une année sur l'autre (Mage, 2008).
L'humidité optimale est de 80 à 100%. Ainsi, le microclimat présent au sein des fèces ou au sein d'une herbe dense et touffue présente un degrés d'hygrométrie suffisant pour assurer le développement des larves. Les déplacements des L3 n'excèdent pas 5 à 10 cm. La direction des larves est aléatoire et leur contact avec l'herbe est accidentel. Ce sont les eaux de ruissellements qui dispersent les larves à distance des fèces (Hansen et Perry, 1995).

2. Phase endogène

a) De l'ingestion de la larve à l'excrétion d'œufs

L'infestation se fait par ingestion de la larve L3. Elle se débarrasse de la cuticule de L2 au sein d'une partie bien précise du tractus digestif de l'hôte en réponse à une certaine augmentation du CO2, à un certain pH et à une certaine température, spécifiques à chaque genre/espèce de SGI (Tableau I). Ainsi *Haemonchus contortus* commence à perdre son exuvie dans le rumen et se développe en adulte dans l'abomasum alors que *Trichostrongylus colubriformis* s'en débarrasse dans l'abomasum et se développe en adulte dans l'intestin grêle (Lee, 2002). L3 mue

en L4 puis en adulte immature. Ce dernier présente des modifications de sa cuticule telles que des pièces buccales adaptées à son mode de nutrition au sein de l'hôte. Il devient mature après le développement de ses gonades et de ses structures de copulation (Lee et Atkinson, 1976 ; Taylor et al., 2016). La fécondité des strongles digestifs est différente selon les espèces, elle dépend notamment de la longueur des femelles. Elle est de 5000 à 15000 œufs par jour pour *Haemonchus contortus* alors qu'elle est seulement de 1000 à 3000 œufs par jour pour *Cooperia* sp. et de 100 à 200 œufs par jour pour *Ostertagia* sp. Le nombre d'œufs pondus dépend aussi de la capacité des défenses immunitaires de l'hôte. En effet, autour du part, période d'immunodépression physiologique, on observe une augmentation de la fécondité des femelles parasites (Hansen et Perry, 1995). La durée de la phase endogène s'appelle la période pré-patente (PPP) et est propre à chaque espèce de nématode. Elle est cependant relativement homogène chez les strongles digestifs avec une durée de 2 à 3 semaines (Taylor et al., 2016 ; Hansen et Perry, 1995).

Tableau I. *Différentes niches écologiques de SGI les plus fréquents chez les ovins en France. Modifié d'après Foreyt, 2002 et Paraud, 2015.*

Strongle digestif (espèce ou genre)	**Localisation**
Haemonchus contortus	Caillette
Teladorsagia circumcincta	
Trichostrongylus axei	
Nematodirus sp.	Intestin grêle
Trichostrongylus colubriformis	
Cooperia sp.	
Chabertia ovina	Gros intestin
Oesophagostomum venulosum	

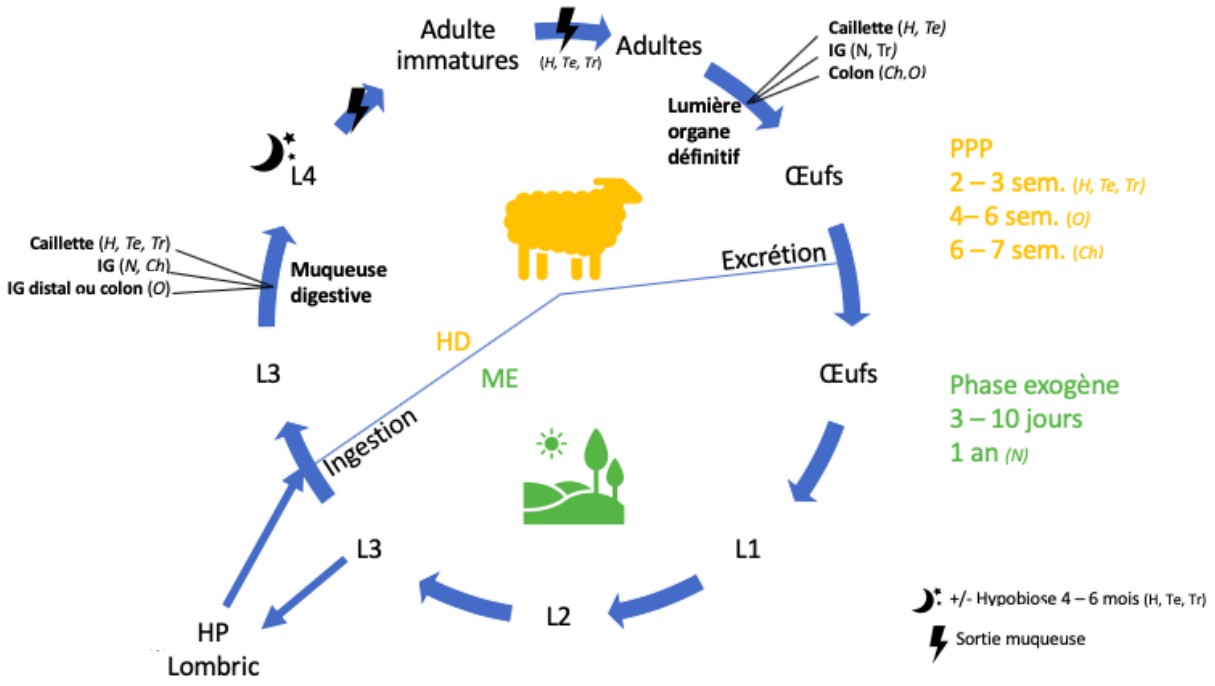


Figure 7. *Cycle parasitaire des strongles digestifs des ovins. H = Haemonchus contortus, Te = Teladorsagia circumcincta, Tr = Trychostongylus colubriformis, N = Nematodirus* sp., *Ch = Chabertia ovina, O = Oesophagostomum* sp. *IG = intestin grêle. PPP = période pré-patente. HD = hôte définitif, HP = hôte paraténique, ME = milieu extérieur.*

b) Hypobiose

Un arrêt temporaire du développement larvaire au sein de l'hôte, appelé hypobiose, est possible le plus souvent au stade L4 (Figure 2). Il peut durer plusieurs semaines à plusieurs mois. Ce phénomène est connu chez certains genres de *Trichostrongyloidea* à savoir *Haemonchus*, *Trichostrongylus* et *Ostertagia*. C'est un état de dormance au cours duquel les L4 inhibent leur métabolisme et restent inactives au sein de la muqueuse digestive de l'hôte (Ravinet et al., 2015). Le stimulus initiant ce phénomène serait environnemental et lié à la température et à la lumière. Il serait perçu par les L3 libres avant leur ingestion par l'hôte. Ce retard de développement coïncide avec l'hiver dans l'hémisphère nord et les périodes de sécheresse dans les zones tropicales et subtropicales. Ainsi, l'hypobiose permet de décaler la production d'œufs aux périodes les plus favorables augmentant ainsi les chances de survie et de développement des progénitures à l'extérieur. L'hypobiose semble également liée au cycle de reproduction de l'hôte, à son statut hormonal mais aussi immunitaire. La levée d'hypobiose, c'est-à-dire la reprise du développement, apparaît alors au printemps aux alentours de la parturition et de la lactation ou lors de baisse de l'état général. Elle est associée à l'augmentation de la fécondité des strongles adultes permettant la contamination massive de l'environnement et l'infestation de nouveaux hôtes susceptibles comme les agneaux. Ce phénomène est plus communément appelé « *spring-rise* » ou « *periparturient-rise* » et est couramment observé chez les ovins. Selon le degrés d'infestation, ce phénomène peut avoir pour conséquences une baisse de la production lactée et des signes cliniques chez les jeunes (Taylor et al., 2016, Hansen et Perry, 1995). Le mécanisme de l'hypobiose n'est pas encore bien élucidé mais elle semble dépendre

de la quantité de vers adultes et des réactions immunitaires de l'hôte. Le nombre de L4 enkystées d'*Ostertagia* est corrélé à la quantité d'Ig A et d'Ig G1 dirigés contre le parasite (Stear et al., 1995). C'est pourquoi une forte proportion de larves L4 enkystées est hébergée par les animaux immuns.

B. Structures et fonctions

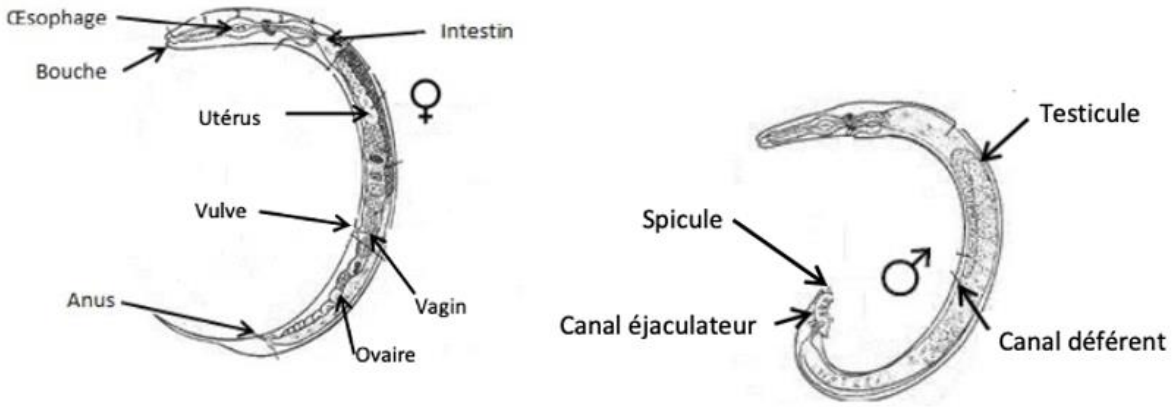


Figure 8. *Morphologie générale des nématodes. A gauche, une femelle et à droite un mâle.*

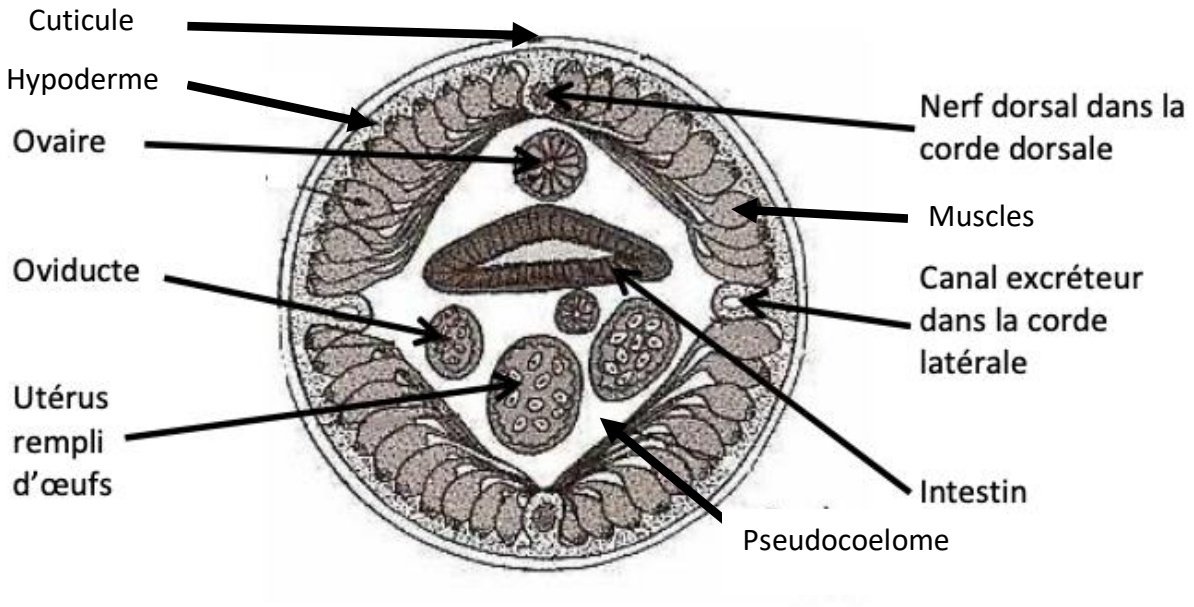


Figure 9. *Organisation générale d'un nématode en coupe transversale.*

1. Paroi corporelle

a) La cuticule et l'épicuticule

Le corps des nématodes est cylindrique et fusiforme (Figure 3). Cette forme est en partie attribuable à la présence d'une cuticule, couche externe robuste et flexible de la paroi corporelle (Figure 4). Elle est synthétisée plusieurs fois au cours de la vie du nématode par la couche sous-jacente. La cuticule est une matrice extracellulaire composée majoritairement de cuticuline, protéine insoluble, et de collagène organisé en réseau fibrillaire (Page et Johnstone, 2007). Elle constitue une protection mécanique vis à vis de l'extérieur mais aussi des attaques par les enzymes digestives et le système immunitaire de l'hôte (Harder, 2016). Elle donne également forme à de nombreux organes externes comme les lèvres, les papilles céphaliques, les pores ou encore les bourses copulatrices (Lee et Atkinson, 1976). La cuticule est perméable à l'eau, aux ions organiques et inorganiques, aux nutriments et à certains anthelminthiques (Harder, 2016 ; Lanusse et al., 2016). Ainsi la cuticule participe à la régulation de la pression osmotique, à l'élimination des déchets du métabolisme et à la nutrition (Wharton et Perry, 2011).
La cuticule est surmontée d'une fine couche de lipides et de protéines appelée épicuticule (Figure 5) qui est sécrétée par la glande excrétrice (Page et Johnstone, 2007). Chez certaines espèces, les glycolipides et les glycoprotéines qui la composent forment à sa surface une enveloppe glucidique, amorphe, mucoïde, labile appelée « manteau de surface » ou « *fuzzy coat* » (Blaxter et al., 1992) (Figure 5). Il s'agit d'une interface entre le vers et le système immunitaire de l'hôte permettant au premier d'échapper au second. En effet, l'épicuticule est constamment renouvelée par la glande excrétrice et se détache lorsqu'elle se lie à des anticorps ou à des éosinophiles (Blaxter et al., 1992 ; Harder, 2016). L'épicuticule permet également le camouflage du parasite grâce à des glycoprotéines, en particulier les lectines C, qui fixent des antigènes du soi et trompent le système immunitaire (Lozano et Smant, 2011).

b) L'hypoderme

L'hypoderme est la couche intermédiaire de la paroi corporelle. Il se compose d'un épithélium syncitial contenant d'importantes quantités de réserves énergétiques. Il s'invagine au sein de la cavité corporelle pour former des cordes latérales, dorsale et ventrale au niveau desquelles se trouvent nerfs et canaux excréteurs (Lee et Atkinson, 1976 ; Taylor et al. 2016) (Figure 4, Figure 5).

c) Les muscles

La couche interne est composée de cellules musculaires myoépithéliales disposées longitudinalement et réparties en quatre masses, deux ventrales et deux dorsales (Figure 4). Leurs contractions alternées sont à l'origine d'une locomotion par ondulation du corps et de la circulation interne du fluide pseudocoelomien. (Lee et Atkinson, 1976 ; Taylor et al. 2016).

d) Pseudocoelome

L'espace situé entre le tégument et le tube digestif est appelé pseudocoelome (Figure 4). C'est une cavité cœlomique primaire contenant un fluide sous haute pression dans lequel baignent les dérivés mésodermiques (Taylor et al., 2016). Il contribue, avec la cuticule, à former le squelette hydrostatique des nématodes. C'est également un milieu d'échange (nutriments, gaz) entre l'environnement, l'appareil digestif et les tissus. Il se compose de protéines, lipides, carbohydrates, enzymes, ions, hémoglobine et cœlomocytes. (Lee et Atkinson, 1976 ; Taylor et al. 2016)

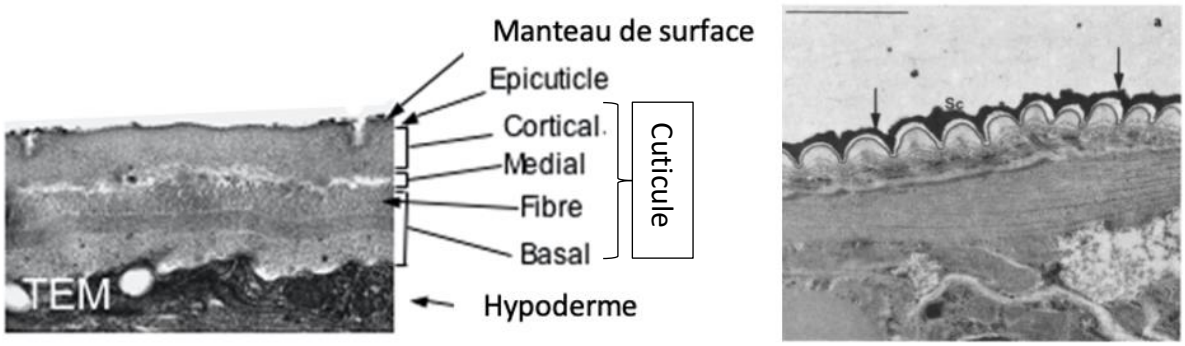


Figure 10. *Ultrastructure de la paroi corporelle observée au microscope électronique à transmission (TEM) (à gauche). D'après Page, 2007. (À droite) Mise en évidence du manteau de surface (flèches) au TEM sur Toxocara canis. D'après Blaxter et al., 1992.*

2. Nutrition et appareil digestif

a) Structures et fonctions

Le système digestif est tubulaire. La bouche s'ouvre sur une capsule buccale tapissée par la cuticule. Les lèvres peuvent être surmontées de denticules permettant l'attachement à la muqueuse digestive de l'hôte. La capsule buccale donne ensuite sur l'œsophage également tapissé de cuticule et entouré de muscles et de glandes permettant l'aspiration de nourriture vers l'intestin et sa digestion enzymatique. L'intestin est composé d'un épithélium unistratifié absorbant les éléments nutritifs. S'en suit le rectum puis l'anus chez la femelle. Chez le mâle, l'intestin s'abouche sur le cloaque au niveau duquel se trouve également le *vas deferens* et les spicules (Taylor et al., 2016) (Figure 3).

b) Modes de nutrition

Les *Trichostrongyloidea* adultes ont une petite capsule buccale, ils se nourrissent en général de produits issus de la digestion de l'hôte et de débris cellulaires. Certains d'entre eux (*Haemonchus* sp., *Nematodirus* sp.) réalisent une digestion extracorporelle de la muqueuse digestive par sécrétion d'enzymes *in situ* (Taylor et al., 2016). *Haemonchus contortus* se fixe et déchire la muqueuse de la caillette à l'aide de sa capsule buccale surmontée d'une néoformation dentale. Des enzymes digestives et un anticoagulant sont secrétés au niveau de la plaie. Des hémorragies peuvent persister plusieurs minutes. On le qualifie souvent de « grand

gaspilleur » de sang. Par le même mécanisme, la L4 d'*H. contortus*, également hématophage mais aussi histophage, s'enfonce dans la muqueuse de l'abomasum et s'y nourrit (Lee et Atkinson, 1976).
Les *Strongyloidea* comme *Chabertia* sp. ont une capsule buccale plus large armée de dents, crochets ou lames et se nourrissent directement de la muqueuse digestive dont les morceaux prélevés sont digérés par les enzymes de la capsule buccale (Taylor et al., 2016).

3. Reproduction

a) Appareils reproducteurs

Les sexes sont séparés et les mâles sont généralement plus petits que les femelles (Figure 3). L'appareil génital mâle se compose d'un testicule contigu et d'un canal déférent s'abouchant au sein du cloaque, zone au niveau de laquelle se trouvent les organes accessoires : spicules et gubernaculum. De larges expansions de la cuticule autour du cloaque forment les bourses copulatrices (Figure 6). L'étude de la morphologie des bourses copulatrices et des spicules constitue une source majeure pour l'identification des différentes espèces de strongles.
Les femelles des strongles digestifs sont ovipares. Elles possèdent un ou deux ovaires se prolongeant par un oviducte puis un utérus et dans certaines espèces un ovi-éjecteur, structure musculaire aidant le passage des œufs, s'abouchant sur un vagin court puis sur une vulve (Figure 3). La vulve peut être couverte d'un clapet et peut se situer à l'avant, au milieu ou à l'arrière du corps, ce qui constitue là encore un critère de diagnose (Lee et Atkinson, 1976 ; Taylor et al., 2016).

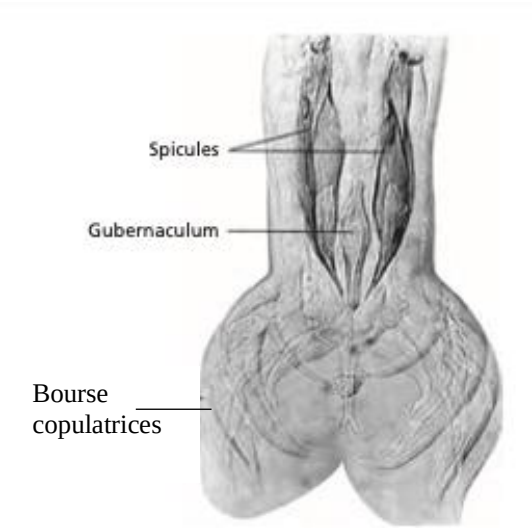


Figure 6. *Extrémité caudale d'un nématode mâle appartenant à la super-famille des Trichostrongyloidea. D'après Taylor et al., 2016.*

b) Reproduction

L'attraction sexuelle se fait par chimiotactisme du mâle vers la femelle. Le mâle s'enroule autour de la femelle, il s'oriente à l'aide de ses organes sensoriels présents en région crâniale

et caudale. Il enveloppe ensuite la région vulvaire à l'aide des bourses copulatrices et introduit les spicules au sein du vagin pour l'élargir, facilitant ainsi le trajet des spermatozoïdes du cloaque vers le tractus génital femelle (Lee et Atkinson, 1976).

4. Métabolisme

Les formes libres ont pour principale source d'énergie les lipides. Ils sont stockés sous forme de gouttelettes lipidiques dans l'hypoderme et dans la lumière intestinale. Le métabolisme est essentiellement aérobie. La survie et la capacité d'infection de la L3 repose sur ses réserves énergétiques car, étant engainée, elle ne peut plus se nourrir. Chez les formes parasites, le métabolisme est aérobie par décarboxylation oxydative au contact de la muqueuse intestinale de l'hôte ou anaérobie par glycolyse une fois détachés de la muqueuse (Taylor et al., 2016). Cette énergie est principalement utilisée pour la production d'œufs et pour la régulation complexe du système neuromusculaire (Harder, 2016).
L' oxygène traverse la cuticule ou l'intestin passivement et diffuse jusqu'aux tissus selon les gradients de pression. Le fluide du pseudocoelome contient une hémoglobine primitive similaire à la myoglobine et ayant la plus forte affinité pour l'oxygène jamais connue dans le règne animal. Elle permet de faciliter la diffusion de l'O_2 en maintenant ses gradients. Elle le libère dès lors que la demande des tissus augmente ou que l'environnement s'appauvrit en oxygène (Lee et Atkinson, 1976).
Les déchets du métabolisme sont éliminés par excrétion via l'anus ou par diffusion au travers de la cuticule (Taylor et al., 2016).

5. Système excréteur

Le système excréteur des nématodes a récemment été étudié chez le modèle *Caenorhabitis elegans* qui constitue également un modèle à la compréhension du développement et des dysfonctionnements du rein chez l'homme. En effet son système excréteur est unique, il se compose :

- d'un tube excréteur constitué de seulement trois cellules (Figure 7) formant chacune :
  - un pore,
  - un conduit,
  - une cellule canalaire (Figure 7) ;
- d'une glande excrétrice (Sundaram et Buechner, 2016).

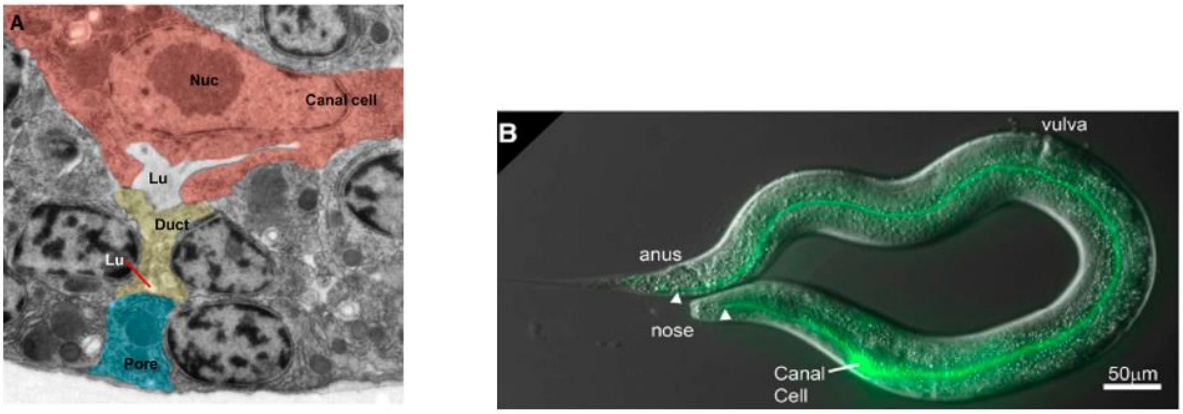


Figure 7. *(A) Ultrastructure des 3 cellules composant le tube excréteur observée au microscope électronique à transmission. (B) Mise en évidence par immunofluorescence du cytoplasme de la cellule canalaire . Son cytoplasme parcoure toute la longueur du corps de C. elegans. Nose = nez, Canal Cell = Cellule canalaire, vulva = vulve, Lu = Lumière, Duct = conduit, Nuc = Nucléole. D'après Sundaram et Buechner, 2016.*

a) Le tube excréteur

La cellule canalaire est en forme de « H ». Ses extensions cytoplasmiques parcourent le long du corps au niveau des cordes latérales (Figure 4). La cellule est reliée à un canal puis un pore excréteur qui se situent à l'avant du corps (Sundaram et Buechner, 2016) (Figure 7). Il permet la régulation osmotique du pseudocoelome par évacuation de l'eau en excès permettant le maintien de la forme du nématode et sa locomotion (Wharton et Perry, 2011).

b) La glande excrétrice

La glande excrétrice est un syncytium cellulaire binucléé en forme de « A ». Elle a une fonction d'excrétion, via le conduit et le pore excréteur, de molécules qui aideraient à la digestion extracorporelle, à la mue et à l'évasion du système immunitaire de l'hôte en particulier par la synthèse de l'épicuticule et de modulateurs de l'immunité (Blaxter et al., 1992 ; Sundaram et Buechner, 2016). Cette glande est également à l'origine de sécrétions endogènes de nature inconnue. Il s'agirait à priori d'hormones stéroïdiennes permettant le développement du système reproducteur (Sundaram et Buechner, 2016).

6. Système nerveux

Le système nerveux des nématodes est constitué d'un système nerveux central primitif et d'un système nerveux périphérique. Le premier correspondant à un anneau nerveux situé en région crâniale formé de nerfs et de ganglions, et le second se constitue de 6 nerfs crâniens et de 6 à 8 nerfs dans chaque corde hypodermique parcourant le long du corps (Lee et Atkinson, 1976).
De tous les nématodes, c'est le système nerveux de *C. elegans* qui est le mieux connu. Il comprend approximativement 5000 synapses chimiques et 600 synapses électriques. Plus du tiers des synapses libère de l'acétylcholine, neurotransmetteur excitateur majeur permettant la contraction musculaire grâce à son récepteur nicotinique. Son action stimulatrice est contrebalancée par les effets inhibiteurs des récepteurs du GABA et du glutamate ou encore du

récepteur SLO-1, plus récemment découvert lors de recherches intensives sur le mode d'action de l'émodepside. Une importante partie de l'énergie est consommée pour le bon fonctionnement synaptique c'est à dire pour le transport présynaptique de vésicules contenant le neurotransmetteur le long de microtubules (Harder, 2016).

II. Strongyloses ovines

A. Épidémiologie

1. Hôtes susceptibles

De par la biologie des SGI, les animaux s'infestent au contact de l'herbe. Les plus sensibles sont ceux dont le système immunitaire est faible à savoir les jeunes, les femelles autour de la parturition et les adultes en mauvais état corporel, en carence ou à la suite d'un stress. Les strongyloses ovines peuvent donc tout aussi bien apparaître l'hiver en bergerie par levée d'hypobiose (Mage, 2008).
Les agneaux et les brebis en reproduction dans les 2 semaines avant et 6 semaines après le part, approximativement, sont les plus gros contaminateurs de la pâture. La relaxation immunitaire physiologique des brebis autour du part ainsi que l'immaturité du système immunitaire des jeunes sont à l'origine de cycles parasitaires plus courts et d'une prolificité des parasites plus importante. Ils amplifient ainsi la contamination de la pâture par un recyclage parasitaire rapide (Mcrae et al., 2015). Au contraire, les adultes immunisés diminuent la charge parasitaire de la parcelle mais continuent tout de même de l'entretenir à bas bruit. Ils présentent également une symptomatologie fruste voire subclinique qui peut se traduire uniquement par des pertes zootechniques (Chartier, 1995).
Certaines races, notamment locales et rustiques des régions humides ont été identifiées comme plus résistantes par rapport aux races spécialisées de nos régions tempérées, sélectionnées pour leurs productivités. Ceci pourrait s'expliquer par une meilleure adaptation de ces races au milieu grâce à une plus forte pression parasitaire en l'absence de traitements anthelminthiques. Il existe également une variabilité intra-race où certains individus sont plus résilients c'est à dire qu'ils continuent à produire malgré l'infestation mais restent des contaminateurs, ou plus résistants c'est à dire qu'ils sont capables de limiter l'implantation et la reproduction des SGI et ainsi la contamination du milieu. Le caractère résistant de certains individus aux parasites fait l'objet de sélection génétique (De la Chevrotière et al., 2011 ; Moreno-Romieux et al., 2017).

2. Distribution saisonnière des infestations au SGI

Les strongyloses ovines les plus représentées en région tempérée sont dues à *Haemonchus contortus, Teladorsagia circumcincta, Trichostrongylus colubriformis, Nematodirus battus* et dans une moindre mesure à *Chabertia ovina et Oesophagostomum venulosum*. Elles apparaissent généralement pendant la période de pâturage avec quelques particularités épidémiologiques pour certaines :

- La nématodirose se rencontre au début du printemps (de mai à juin) de manière brutale et affecte les agneaux entre 4 et 8 semaines d'âge ;
- L'ostertagiose apparaît au début du printemps (février à mai) pour le type II et touche les jeunes adultes ayant ingéré des larves infestantes en fin de saison de pâture de l'année précédente donc à la levée d'hypobiose. L'ostertagiose de type I peut se manifester quant à elle durant toute la saison de pâture (juin à octobre) en affectant l'ensemble d'un lot d'agneaux naïfs ;
- L'haemonchose apparaît de manière brutale durant l'été et le début d'automne en touchant d'abord les agneaux à l'herbe puis les brebis en mauvais état corporel ou en lactation (Cabaret, 2000 ; Mage, 2008).
-

3. Importance de la conduite d'élevage

a) Dynamique de la contamination du milieu

Hamer et al. (2019) mesurent l'excrétion fécale d'œufs de brebis et de leurs agneaux sur une année au sein de trois élevages du sud-est de l'Ecosse réalisant un agnelage de printemps. Comme attendu, un pic d'excrétion correspond au « *periparturient rise* » est détecté chez les brebis pour les trois fermes d'avril à juillet. Cette excrétion est ensuite faible tout au long de l'année. Chez les agneaux, l'excrétion fécale d'œufs augmente progressivement durant l'été. Ceci est dû à leur immunité encore peu effective et à la montée des températures qui accélère le développement larvaire et donc le recyclage parasitaire. Elle dépasse les 200 œufs par gramme (opg) environ 2 mois après le « *periparturient rise* ». Cette contamination importante du milieu par les brebis au printemps initie l'infestation des agneaux, qui, étant immunitairement naïfs, l'entretiennent et l'amplifient rapidement. L'excrétion fécale d'œufs ondule en réponse aux traitements anthelminthiques que les agneaux reçoivent durant. L'excrétion fécale d'œufs des agneaux présente un pic en automne atteignant jusqu'à 1000 à 1800 opg selon les fermes. Ce même pic d'excrétion automnal a également été mis en évidence par Parnell en 1954 sur des agneaux non traités. La contamination de la pâture diminue ensuite de fin octobre à décembre au fur et à mesure que les températures diminuent. Ceci s'expliquerait par l'entrée des larves en hypobiose, le ralentissement du développement larvaire et la mise en place de l'immunité anti-helminthe.

b) La conduite au pâturage et la conduite des jeunes

L'intensité des infestations est liée à la conduite d'élevage. Elle est par exemple positivement corrélée au temps passé sur la pâture pour les agneaux à l'herbe (Cabaret et al., 2002). Sur une unique parcelle accueillant brebis et agneaux durant toute la saison de pâture, un pic important de contamination peut survenir pendant l'été avec un risque de strongylose clinique fort. Ce pic est plus important et plus précoce si la parcelle est déjà contaminée c'est-à-dire si elle a hébergé des brebis et leurs agneaux durant la saison précédente (Autef, 2008). En effet, les larves transhivernantes sont particulièrement prolifiques.
La diminution du risque parasitaire repose sur la réduction de l'exposition des animaux aux larves infestantes. Plusieurs stratégies concernant la conduite au pâturage et la conduite des

jeunes existent et sont fréquemment utilisées dans les fermes biologiques afin de limiter l'usage des traitements anthelminthiques. Il s'agit de :

- L'évasion : déplacement des animaux vers une autre prairie avant que la pression ne soit trop importante par rotation de pâture et utilisation de parcelles saines (neuves, mises au repos prolongé, non utilisées durant l'automne, labourées) ;
- La dilution : pâturage mixte ou alterné bovins/ovins, mélange d'individus sensibles avec des résistants, réduction de la saison de pâturage, diminution de la densité d'animaux ;
- La prévention : placement des agneaux sur une parcelle saine ou peu contaminée (ayant hébergé des brebis sans agneaux ou des agneaux traités) (Hoste et Chartier, 2002 ; Cabaret et al., 2002 ; Paraud, 2015).

c) L'alimentation

L'alimentation est un autre paramètre à prendre en compte dans la conduite d'élevage. Les animaux complémentés ont une meilleure tolérance vis à vis des infestations. Le groupe de chevreaux à l'herbe complémentés en sorgo et en soja présente une diminution de la taille et de la prolificité des femelles de *Haemonchus* et *Trichostrongylus* dans l'étude de De Montellano et al. (2007). De plus, dans l'étude d'Abbott et al. (1986) le groupe d'agneaux recevant une ration complète à faible taux protéique présente une mortalité et des signes cliniques plus importants suite à l'infestation par *H. contortus* que celui recevant une ration riche en protéines.

4. Importance de la météorologie

L'intensité de la pression d'infestation du milieu dépend aussi des saisons : les hivers rudes, les étés secs et l'arrivée précoce du froid en automne entrainent la mort des larves ou leur mise en hypobiose.

L'exemple de *Nematodirus* illustre bien l'effet de la météo sur la pression d'infestation. En effet, les parasites appartenant à ce genre possèdent une particularité épidémiologique : les œufs sont très résistants au gel et à la dessiccation et peuvent rester 2 ans sur la pâture. La larve se développe lentement dans l'œuf en 2 à 3 mois jusqu'au troisième stade. L'éclosion des larves infestantes a lieu au printemps suivant lorsque les températures dépassent les 10°C. Il y a donc une seule génération de *Nematodirus* par an et celle-ci se concentre sur une petite période de l'année. La concordance du pic d'éclosion des œufs en dormance avec l'agnelage de printemps est donc importante à prendre en compte : si le printemps est doux et précoce le pic apparaît avant la mise à l'herbe des agneaux et le risque parasitaire est faible. Cependant si le printemps est froid et tardif, le pic est retardé et le risque parasitaire des agneaux à l'herbe devient important (Mage, 2008 ; Autef, 2008).

Basé sur l'écologie de *T. colubriformis* et des échantillonnages d'herbe sur 9 mois, Barnes et ses collaborateurs construisent en 1988 un modèle mathématique prédisant le nombre de larves infestantes sur la pâture en fonction des conditions météorologiques générales. Cependant, et ce sera un des sujets de leur discussion, ils ne prennent pas en compte le microclimat au sein des fèces qui pourrait expliquer que dans certains cas le modèle ne colle pas tout à fait aux observations de terrains.

5. Impact du changement climatique sur la répartition mondiale des SGI

Avec le réchauffement climatique de nos latitudes, les hivers plus doux sont propices à la survie des larves infestantes. On assiste donc depuis quelques années à l'expansion des aires de distribution des SGI et à l'intensification des contaminations et c'est particulièrement le cas pour *H. contortus*. En effet, *H. contortus* est d'abord un parasite des climats chauds et humides mais le réchauffement climatique ainsi que son adaptabilité écologique permise par son haut degrés de polymorphisme génétique, la capacité de survie de sa L3 et ses mécanismes adaptatifs tels que l'hypobiose, lui ont permis de conquérir d'autres aires climatiques à savoir les zones tempérées les plus chaudes (Besier et al., 2016). De plus, une recrudescence de cas d'haemonchose clinique au Royaume-Unis, peu commune jusqu'alors, a été rapportée ces dernières années. C'est aussi le cas en Australie (Zajac et Garza, 2020).
Un model informatique de prédiction des effets du réchauffement climatique sur les formes libres d' *H. contortus* et *T. circumcincta*, nommé GLOWORM-FL, est élaboré en 2015 en tenant compte des connaissances actuelles sur l'écologie de ces deux espèces. Le scénario climatique envisagé pour la période 2070-2100 est une augmentation moyenne de température de 4,57°C en zone tempérée avec des hivers plus chauds et plus humides et des étés plus chauds et plus secs. Les résultats sont alarmants : le model prévoit une augmentation de la pression d'infestation sur toute l'année à cause d'une accélération du développement larvaire et de la disparition de contraintes sur ce dernier durant les mois d'hiver. Une multiplication des « explosions » de cas dans les zones où le risque actuel est faible est donc attendu (Rose et al., 2015).

B. Pathogénie

1. Effet mécanique

Les larves L3 pénètrent la muqueuse de la caillette et plus particulièrement les culs-de-sac glandulaires *(Ostertagia, Haemonchus, Trichostrongylus axei)* ou la muqueuse de l'intestin grêle *(Trichostrongylus colubriformis*). Elles peuvent y rester 10 à 14 jours, elles muent alors en L4 puis en adulte immature et retournent dans la lumière digestive provoquant ainsi des lésions importantes de la muqueuse (Hansen et Perry, 1995). Leur développement et leur nutrition au sein des glandes gastriques créent des lésions ce qui diminue le nombre de cellules productrices d'acide chlorhydrique engendrant une augmentation du pH gastrique (Hoste et al., 1997) (Figure 11).
De plus, le contact étroit des parasites adultes avec la muqueuse digestive favorise l'abrasion des villosités et cet effet est d'autant plus important que certaines espèces présentent des crêtes cuticulaires (Gibbons, 2002). Aussi, *H. contortus* a la capacité de se fixer à la muqueuse gastrique et de la déchirer grâce à une néoformation dentale (Lee et Atkinson, 1976).

2. Spoliation

Les larves L4 et les adultes d'*Haemonchus contortus* sont à l'origine d'une spoliation sanguine pouvant aller jusqu'à une anémie sévère. Chaque vers adulte consomme 30 à 50 µL de sang par

jour. Dans l'étude de Albers et Le Jambre en 1983 sur 6 moutons infestés chacun par 10 000 larves L3 d'*H. contortus*, il a été estimé que près de 40 à 120 mL de sang étaient perdus par jour par mouton entre le 11ème et le 46ème jour post-infestation.

3. Effets des produits d'excrétion/sécrétion parasitaires

Certains strongles émettent, via leur système excréteur, des molécules dont la quantité et la nature dépendent du stade parasitaire. Ces substances participent au développement, à la survie et à la pathogénicité des parasites. Ce sont principalement des protéases permettant la digestion extracorporelle de la muqueuse, la spoliation sanguine grâce à leurs propriétés anticoagulantes (dégradation du fibrinogène et du plasminogène), à la modulation du système immunitaire, et la diminution du péristaltisme intestinale, rendant l'environnement du vers plus propice à sa survie (Hoste et al., 1997). Nombre de ces molécules sont immunogènes ce qui intéresse grandement la communauté scientifique vétérinaire mais les études se penchant sur leurs rôles sont encore peu nombreuses. L'analyse in vitro des produits d'excrétions de *T. circumcincta,* réalisée par Craig et son équipe (2006), a mis en évidence une variété de protéines telles que la thioredoxine peroxydase, une enzyme qui peut détoxifier les radicaux libres issus de la réponse inflammatoire de l'hôte ou encore des galectines qui peuvent influencer la différenciation et la morphogénèse des cellules à l'origine des changements cellulaires observés au niveau des glandes gastriques.

4. Réponse de l'hôte à l'infestation

La sévérité des signes cliniques dépend de l'intensité de l'infestation, de l'association de différents strongles et de la susceptibilité de l'hôte. Sa réponse immunitaire à l'infestation a pour facteurs de variation sa génétique, son âge, son statut nutritionnel et physiologique et son historique parasitaire (Hansen et Perry, 1995 ; Besier et al., 2016). En effet, comme vu précédemment, la maladie concernera avant tout les animaux immunitairement naïfs ou affaiblis. Cependant les animaux trop résistants peuvent déclencher une réponse immunitaire exacerbée ayant parfois des effets tout aussi néfastes. C'est le cas du phénomène de *« self-cure »*, expulsion rapide des vers, à l'origine de diarrhées aiguës (Hoste et al., 1995). De plus, la réaction inflammatoire issue de la réponse immunitaire innée engendre à elle seule des lésions sur le tractus gastro-intestinal telles qu'une atrophie des villosités et une hyperplasie des cryptes, un œdème de la sous-muqueuse et une entérite par infiltration éosinophilique (Meeusen, 1999).

5. Conséquences cliniques du parasitisme et pertes zootechniques

a) Perte d'appétit

Les infestations du tractus digestif chez les ruminants se traduisent par une réduction progressive de la consommation d'aliments pouvant aller jusqu'à l'anorexie en cas d'infestation massive. Elle est en partie compensée par un tri alimentaire, les animaux sélectionnant les aliments les plus riches en protéines. L'inconfort digestif voire la douleur ainsi qu'une

modification d'hormones gastro-intestinales agissant sur le centre de la satiété en seraient responsables. On peut aussi observer du pica (Hoste et al., 1995).

b) Malabsorption et maldigestion

Les dégâts causés sur la muqueuse digestive sont à l'origine d'une baisse des capacités digestives de l'organe concerné. Le pH gastrique étant plus élevé, il n'y a plus de conversion du pepsinogène en pepsine. L'abrasion des villosités et de la bordure en brosse de l'intestin diminue l'absorption mais aussi la digestion. En effet la membrane des microvillosités est le siège de nombreuses enzymes impliquées dans l'absorption et la digestion de nutriments. On y trouve les peptidases permettant l'étape terminale de la digestion des protéines. En outre, l'altération des épithélia et surtout de leurs jonctions serrées est à l'origine d'une modification de leur perméabilité ayant pour conséquences des fuites de protéines et autres macromolécules vers la lumière intestinale (Figure 11). Ainsi il est possible d'observer cliniquement des diarrhées, une déshydratation, des œdèmes suite à une hypoprotéinémie, voire une mortalité (Hoste et al., 1995).

c) Modification du métabolisme

Le métabolisme protéique chez les animaux infestés est réorienté vers le renouvellement des cellules épithéliales, l'inflammation, la cicatrisation, la production de mucus et d'immunoglobulines. En effet, lors de parasitisme gastro-intestinal, les pertes protéiques et la spoliation liées aux effets pathogéniques directs des SGI, mais aussi la consommation de protéines, liée au maintien de l'intégrité du tractus intestinal et à sa défense, peuvent engendrer une hypoprotéinémie. Les synthèses protéiques sont alors fortement augmentées pour faire face à la demande et tenter de maintenir l'homéostasie et cela au détriment de l'anabolisme et de la formation de muscles et de poils (Hoste et al., 1997). On pourra donc observer une diminution de la qualité de la carcasse, du gain moyen quotidien et de la production de lait et de laine (Hansen et Perry, 1995). On comprend dès lors le lourd impact économique des strongyloses ovines en élevage.

C. Immunité protectrice de l'hôte

1. La nécessité d'un contact suffisant et continu avec le parasite

L'immunité anti-helminthe acquise est considérée comme la stratégie de défense la plus efficace. Elle est cependant longue à se mettre en place et s'acquiert de manière progressive au contact des SGI (Mcrae et al., 2015). Elle est cependant instable et est maintenue par la présence des SGI. On n'envisage donc jamais un parasitisme « zéro » sinon l'immunité disparaît (Ravinet et al., 2015).

L'immunité anti-helminthe se met en place généralement au bout de quelques mois de contact avec le parasite. Elle se traduit par une diminution de la charge parasitaire via une réduction de l'implantation des L3 ingérées, une inhibition des larves L4 ainsi qu'une une expulsion des vers adultes. Ce mécanisme serait médié par des Ig A et une éosinophilie locale. Cette immunité se

traduit également par une diminution de la longueur et de la fécondité des vers femelles qui serait médiée par des IgE et par la dégranulation de mastocytes (Singleton et al., 2010). Chez les agneaux, une immunité compétente vis à vis des SGI se met en place à partir de 2-3 mois d'âge et devient significativement protectrice au bout des 10-12 mois (Mcrae et al., 2015).
Chez le veau, il est estimé, par modélisation mathématique, qu'un temps de contact de 320 jours avec *Ostertagia ostertagi* est nécessaire pour réduire de 99% la charge parasitaire alors qu'un temps de contact de 150 jours avec le parasite réduit la charge parasitaire de 50% seulement (Grenfell et al., 1987).

2. L'équilibre entre l'hôte et le parasite

La charge parasitaire reste stable et basse par équilibre entre le système immunitaire de l'hôte et le parasite. Il s'agit d'une immunité dite concomitante où le parasite est contrôlé mais pas éliminé grâce à un subtil équilibre entre la réponse immunitaire de l'hôte et l'échappement et la modulation de celle-ci par le parasite, résultat de leur étroite coévolution. L'infestation chronique à bas bruit est donc la règle. Les études du projet CASDAR n°1127 ont montré, grâce à des méthodes coproscopiques plus sensibles que celles employées classiquement, que toutes les vaches adultes laitières au pâturage excrétaient des œufs à des niveaux faibles. Ces résultats montrent bien que l'immunité n'empêche pas l'infestation mais la réduit (Ravinet et al., 2015).

3. Mécanismes

a) La réponse innée

Les SGI possèdent une variété d'antigènes (Ag) de par leurs molécules excrétées et celles présentes à leur surface. Avec les alarmines, libérées lors des dégâts tissulaires causés par la larve, ils font partie des « signaux de dangers » reconnus par des récepteurs tels que les *Toll-Like Receptors* présents à la surface des cellules sentinelles et des mastocytes mais qui sont encore peu connus dans le cas des infestations par les nématodes. S'en suit alors une réponse inflammatoire locale et une dégranulation des mastocytes. D'autres effecteurs de l'inflammation sont au fur et à mesure recrutés par la libération de cytokines, comme les neutrophiles, les éosinophiles, les macrophages ou encore les cellules *natural killer* (Mcrae et al., 2015).

b) La réponse adaptative

Les cellules sentinelles ayant fixé un Ag de SGI s'activent et deviennent des cellules présentatrices d'antigène. Elles migrent alors vers les nodules lymphatiques satellites, présentent l'Ag aux cellules T naïves et induisent une réponse Th2. Ceci conduit à la production d'anticorps spécifiques IgA locaux, IgG1 et IgE mais aussi au recrutement sur place d'éosinophiles, de basophiles et de mastocytes, armés de leurs IgE, via les interleukines IL-4, IL-13 et IL-5 (Figure 8). Ainsi le mécanisme de l'immunité acquise anti-helminthe comprend, entre autres, une hypersensibilité de type I, une cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) et une neutralisation.

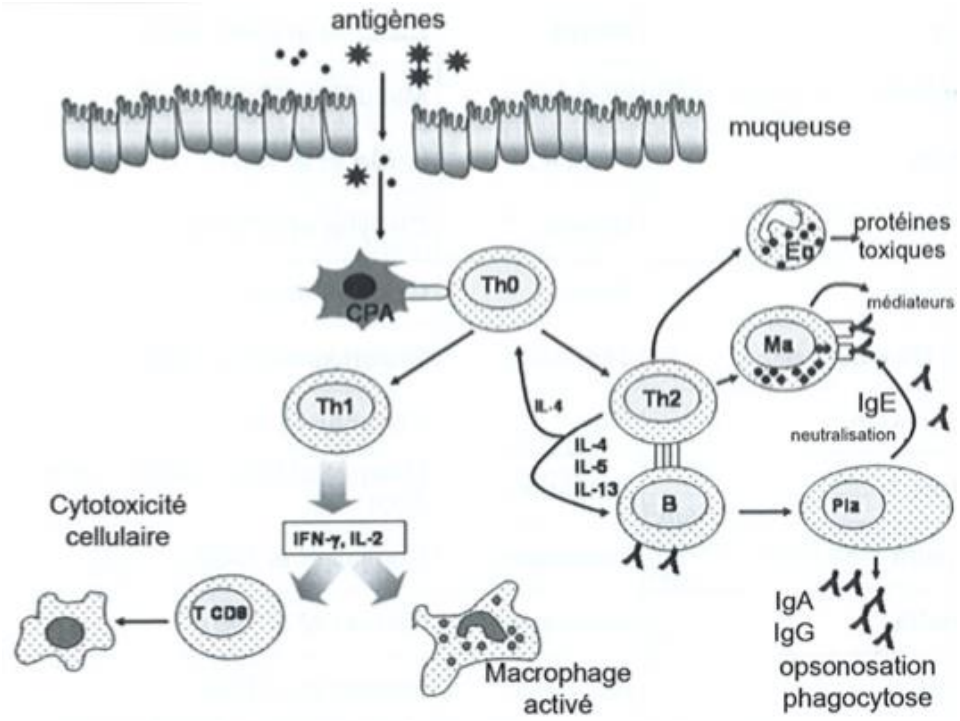


Figure 8. *Mécanismes et acteurs de l'immunité impliqués dans la réponse anti-strongle digestif. D'après De la Chevrotière et al., 2011. CPA = Cellule présentatrice d'antigène, Th = Lymphocyte T helper/auxilliaire, B = Lymphocyte B, Pla = Plasmocyte, Ma = Mastocyte, Eo = Eosinophile.*

L'hypersensibilité de type I se traduit par la dégranulation des mastocytes et des basophiles médiée par les IgE. Elle est responsable d'une inflammation locale mais aussi d'une hypersécrétion de mucus et d'une augmentation du péristaltisme permettant d'engluer les parasites et de les expulser (Mcrae et al., 2015). Cette réaction est aussi appelée « *self-cure* » et est décrite chez *T. circumcincta* (Stear et al., 1995). Elle entraine une diarrhée aigue généralement transitoire et de faible intensité mais dans certain cas elle est exacerbée et s'associe à des pertes de production non négligeables. Le risque avec les programmes de sélection génétique est de sélectionner des individus « hypersensibilisés » au parasitisme (Hoste et al., 1997 ; Meeusen, 1999).

Les éosinophiles en association avec les IgE, sont très efficaces dans la réponse anti-helminthe via le phénomène d'ADCC. En effet, les IgE se lient aux antigènes de surface du nématode puis recrutent et activent les éosinophiles par le récepteur de haute affinité FCεR1 entrainant alors leur dégranulation et la libération de médiateurs toxiques affectant la viabilité du vers. Cependant, le vers peut s'entourer d'une enveloppe mucoïde, labile (« *fuzzy coat* ») qui se détache lorsqu'elle fixe des Ac et/ou des éosinophiles ce qui lui permet d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte. La vitesse d'activation des éosinophiles semble donc être cruciale dans ce mécanisme. L'IL-5 sécrétée par les cellules Th2 amplifie la capacité cytotoxique des éosinophiles, par conséquent ce mécanisme deviendrait plus efficace au fur et à mesure que la réponse immunitaire adaptative se met en place (Meeusen, 1999 ; Abbas et al., 2016).

Enfin, le troisième mécanisme cité est médié par les IgA et les IgG1 présents dans le mucus intestinal. Ils neutralisent le vers en se fixant à un antigène de surface. Ce mécanisme est détaillé par l'équipe de Harrisson en 2003 et en 2008 qui met en évidence un antigène immunogène et protecteur spécifique du stade infestant de *Trichostrongylus clolubriformis.* Il s'agit d'un glycolipide de l'épicuticule de la larve L3, appelé « Tc35CarLA » (pour *T. colubriformis* 35-kDa carbohydrate larval antigen) ou « CarLA », dont la partie oligosaccharide est immunogène. Des anticorps monoclonaux spécifiques Ig A et Ig G1 contenus dans le mucus intestinal de l'hôte reconnaissent CarLA et empêchent l'implantation des L3. Ils ont également une action croisée avec d'autres antigènes de surface de poids moléculaire similaire présents chez *H. contortus* et *O. circumcincta*. Cet antigène pourrait être le candidat pour le développement d'un futur vaccin contre les SGI (Harrisson et al., 2003 a, b, 2008). Par ailleurs, les Ac pourraient être impliqués dans d'autres mécanismes. En effet, les travaux menés par Stear et ses collègues (1995) sur l'immunité des ovins contre *T. circumcincta* ont montré que l'intensité de la réponse Ig A locale était positivement associée à la réduction de la charge parasitaire et de la fécondité des femelles.

Cependant les hypothèses sont nombreuses concernant le l'immunité contre les SGI du mouton et le mécanisme précis reste à élucider (Mcrae et al., 2015).

D. Diagnostic

Le diagnostic est épidémiologique, clinique, zootechnique et de laboratoire voire post-mortem.

1. Symptomatologie

La symptomatologie des nématodoses digestives est généralement assez fruste voire subclinique au niveau individuel. Elles peuvent se traduire seulement par des baisses de performances zootechniques mises en évidence par leur amélioration après traitement anthelminthique (Chartier, 1995). Par exemple, l'infestation modérée (3000 larves L3) de 30 brebis à 4 mois de gestation par *H. contortus* montre une diminution de 17 à 32% de la production laitière par rapport aux témoins alors que les brebis sont asymptomatiques (Cobon et O'Sullivan, 1992). Cependant en cas d'infestation massive chez les animaux sensibles, les strongyloses se manifestent cliniquement et certains symptômes sont caractéristiques mais non pathognomoniques et peuvent aider au diagnostic.

a) Haemonchose

Haemonchus contortus est un strongle hématophage à l'origine de la plus fréquente et de la plus grave nématodose digestive des petits ruminants notamment à cause de son mode de nutrition et de ses capacités d'augmentation rapide et importante de population (Besier et al., 2016).
Cette maladie peut être à l'origine de mort subite chez les agneaux chétifs par gastrite hémorragique suite à une infestation massive, et d'une forme subaiguë à chronique chez les agneaux plus âgés et les brebis affaiblies (Figure 9). Les animaux infestés présentent

rapidement un syndrome anémique, environ 10 à 12 jours après l'infestation soit avant la mise en évidence coprologique d'œufs. Un œdème sous glossien non pathognomonique appelé « bouteille » est régulièrement observé. La diarrhée n'est pas un symptôme caractéristique de l'haemonchose mais elle peut être présente en cas d'association avec d'autres strongyloses digestives. Le taux de mortalité est élevée en l'absence de traitement (Mage, 2008 ; Besier et al., 2016).

Figure 9. *Adultes d'H. contortus fixés à la paroi de la caillette. On observe des plages hémorragiques au sein de la muqueuse. D'après Taylor et al., 2016.*

b) Ostertagiose

Teladorsagia circumcincta, anciennement appelé *Ostertagia circumcincta,* est un des SGI les plus rencontrés chez les petits ruminants en région tempérée. Sa principale action pathogène est le traumatisme de la muqueuse. On distingue deux formes :

- L' ostertagiose de type I est la forme aigue de la maladie correspondant aux migrations larvaires et se traduit par des symptômes digestifs frustres à marqués en particulier de la diarrhée et une perte de poids ;
- L'ostertagiose de type II est la forme subaiguë correspondant à la levée d'hypobiose. La maladie se manifeste par une diarrhée profuse en jet, parfois associée à du méléna, une anorexie, une perte de poids puis la mort en l'absence de traitement (Mage, 2008).

c) Nématodirose

Plusieurs espèces de *Nematodirus* parasitent les ovins *mais N. battus* est le principal responsable de cette maladie courante. Les adultes chymivores se localisent dans l'intestin grêle et sont responsables de l'abrasion de la muqueuse lors d'infestation massive. Les principaux symptômes sont une diarrhée profuse d'apparition brutale et une baisse rapide de l'état général pouvant conduire à la mort par déshydratation. La nématodirose favorise en outre les enterotoxémies de l'agneau (Autef, 2008). Nematodirus est peu prolifique, la ponte quotidienne est estimée entre 50 et 100 œufs (Hansen et Perry, 1995). Leur présence en faible quantité à l'examen coprologique sera significative.

2. Diagnostic de laboratoire

a) La coproscopie

La coproscopie est une méthode permettant d'identifier et de dénombrer les œufs de parasites excrétés dans les fécès. La méthode la plus utilisé est celle de Mac Master. Il s'agit d'une technique de flottation des œufs de parasites contenus dans les fèces : le liquide dense utilisé permet la remontée des œufs moins denses à la surface de la cellule de Mac Master. La quantité d'œuf par gramme de fèces (opg) est un marqueur direct du pouvoir contaminant de la pâture mais aussi un marqueur indirect de la charge parasitaire. En effet, le résultat coproscopique est à interpréter avec précaution car il n'y a pas de corrélation entre la charge parasitaire et le nombre d'œufs excrétés chez l'adulte immunisé, celui-ci dépendant de l'espèce de strongle, de l'immunité de l'hôte et de la saison.
Les œufs de strongles se ressemblent fortement à l'examen microscopique (Figure 10), il sera donc impossible de mettre en évidence l'espèce ou le genre de parasite en cause. Cela pourra être possible à la suite d'une mise en culture des fèces, ou coproculture, où les larves L3 ainsi obtenues pourront être morphologiquement distinguables selon l'espèce.

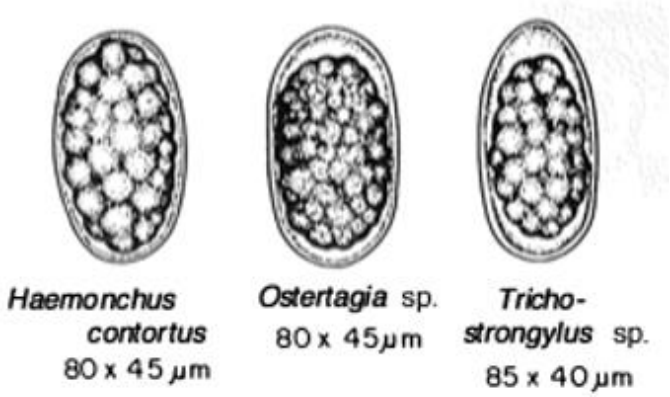


Figure 10. *Œufs de strongles digestifs ovins. D'après Foreyt, 2012.*

b) Dosage du pepsinogène sérique

Cette méthode permet un diagnostic quantitatif indirect de strongylose de la caillette. Comme il a été vu précédemment en cas de parasitisme de cet organe, le pepsinogène s'accumule puis traverse la paroi lésée pour rejoindre le courant sanguin (Figure 11). Le pepsinogène sérique est donc un marqueur des lésions de la caillette. Elles sont dues au migrations larvaires et en particulier aux sorties des larves de la muqueuse. Ses valeurs sont proportionnelle à la charge parasitaire uniquement chez les jeunes. Chez les petits ruminants la valeur normale du pepsinogène sérique est comprise entre 200 et 300 mU. Il est mesuré à 2000-2500 mU lors d'ostertagiose de type I et à 3000-4000 lors d'ostertagiose de type II. Il est recommandé de prélever du sang sur tube sec sur 5 à 7 animaux d'un même lot homogène et de faire une

moyenne afin de limiter les variations individuelles. Les seuils d'interprétation sont variables suivant la technique de dosage utilisée (Kerboeuf et al., 2002)

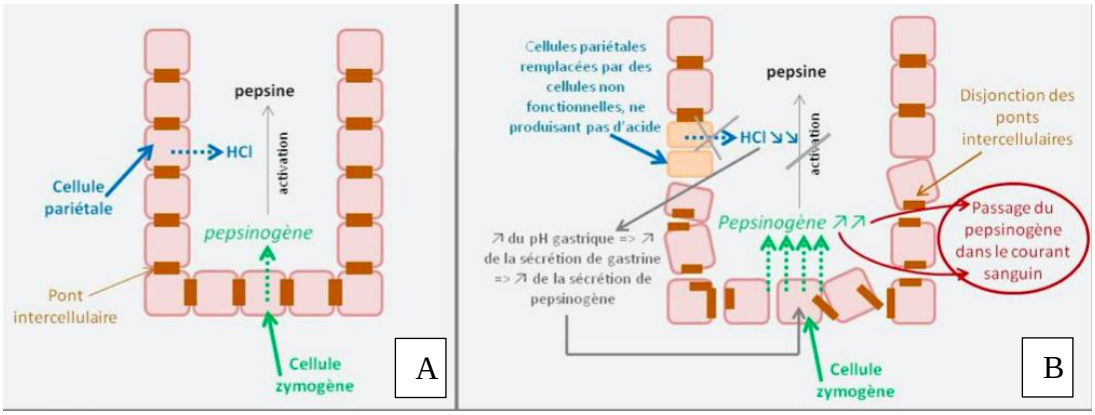


Figure 111. *Mécanisme d'augmentation du pepsinogène sérique en cas de parasitisme de la caillette : glande gastrique normale (A° et glande gastrique parasitée (B). D'après Ravinet et al., 2015.*

E. Impact économique

Nieuwof et Bishop ont estimé en 2005 le coût des trois plus grandes maladies endémiques du mouton en Grande-Bretagne en prenant compte des dépenses liées aux pertes zootechniques, aux mesures préventives et aux traitements. Il en sort que ce sont les infestations par les strongles gastro-intestinaux qui coutent largement le plus avec près de 84 millions £ de pertes annuelles suivi de la pododermatite infectieuse et de la gale avec 24 millions £ et 8 millions £ respectivement. Cependant les effets des infestations par les SGI et leurs impacts économiques sont subtils à évaluer et sont élevage-dépendants (van der Voort et al., 2013).

III. Les anthelminthiques

A. Lutte chimique du parasitisme

La lutte contre les strongyloses digestives est majoritairement chimique via l'emploi des anthelminthiques. Les quatre classes d'anthelminthiques disponibles en France pour les ovins sont les benzimidazoles (BZ), les imidathiazoles comprenant le lévamisole (LM), les lactones macrocycliques (LM) et les salicylanilides (closantel, nitroxinil). Il existe également deux autres classes, les amino-acétonitriles comprenant le monépantel (MNP) et les spiroindoles comprenant le derquantel (DQL) (Jacquiet, 2015) (Tableau II). De par leur ancienneté et leur spectre large, les trois premières classes citées sont les plus utilisées.

1. Les anthelminthiques classiques

a) Les benzimidazoles

En 1961, le thiabendazole (TBZ) fait son apparition sur le marché vétérinaire. Il s'agit du premier anthelminthique à spectre large, il est ainsi rapidement et massivement utilisé (Ghisi et al., 2007). Le TBZ appartient avec le mebendazole, l'albendazole, le flubendazole, le fenbendazole et l'oxfendazole à la classe des BZ. Ces molécules se fixent avec une forte affinité sur les β-tubulines des parasites. La β-tubuline est une sous unité globulaire formant avec l'α-tubuline un hétérodimère constitutif du microtubule, composant essentiel du cytosquelette. Les microtubules participent au maintien de l'intégrité cellulaire, à la mitose et à la méiose mais également au transport de vésicules contenant par exemple des neurotransmetteurs (Harder, 2016). Ainsi les benzimidazoles inhibent la polymérisation des microtubules conduisant *in fine* à la mort du parasite.

b) Les imidathiazoles

Le lévamisole (Capizol ®, Levasole ®, Nemisol ®) est le seul représentant des imidathiazoles. Il s'agit de la forme lévogyre, seule à être active, du tétramizole primairement utilisé. C'est un cholinomimétique qui agit sur les nAchR aux niveau des ganglions nerveux des nématodes conduisant à une paralysie spastique puis à leur mort. Il est métabolisé par le foie et son élimination est principalement urinaire. Le lévamisole agit aussi sur les nAChR des mammifères et est très liposoluble. Cependant grâce aux pompes d'efflux, les glycoprotéines-P, présentes au niveau de la barrière hémato-encéphalée, le lévamisole ne se distribue pas dans le SNC de l'hôte. Cependant, l'index thérapeutique est étroit. Le résumé des caractéristiques du produit indique la dose de 7,5 mg/kg de poids vif sans dépasser les 0,375 g par ovin pour ne pas atteindre la dose toxique (dose pour laquelle il y a saturation des pompes d'efflux) (McKellar et Jackson, 2004 ; Abongwa et al., 2017).

c) Les lactones macrocycliques

Les lactones macrocycliques (LM) se distinguent en deux groupes aux propriétés pharmacologiques légèrement différentes : les avermectines et les milbémycines. Ce sont des composés chimiques dérivés de micro-organismes du sol appartenant au genre *Streptomyces*.
La première LM introduite sur le marché est l'ivermectine en 1981. C'est à l'époque une molécule de choix contre les nématodoses digestives (Ghisi et al., 2007). Parmi les molécules disponibles dans le commerce on trouve également la doramectine, l'abamectine (ABA), la selamectine, l'éprinomectine ou encore la milmémycine oxime et la moxydectine. La principale cible des LM est le récepteur chlore-dépendant du glutamate (GluClR), uniquement présent chez les nématodes et les arthropodes au niveau des neurones et des cellules musculaires. Les LM sont des agonistes irréversibles des GluClRs entrainant une inhibition de l'activité neuronale et des contractions musculaires à l'origine de la mort du parasite (Kotze et al. 2014) Les avermectines ont en plus une action antagoniste moindre sur les récepteurs GABA et les nAchR (Abongwa et al., 2017 ; Sangster et al., 2018).

d) Les tétrahydropyrimidines

Les tétrahydropyrimidines sont également des agonistes des nAchR. Cette classe d'anthelminthique comprend le pyrantel et ses dérivés à spectre plus large, l'oxantel et le morantel. Le pyrantel est une molécule à large spectre développée en 1966, non disponible pour les ovins en France mais ayant une activité strongylicide (Paraud, 2015 ; Abongwa et al., 2017).

2. Les classes d'anthelminthiques plus récentes

Elles sont apparues durant ces vingt dernières années en réponse au développement croissant de résistance. Elles ne sont cependant pas toutes disponibles partout ni pour toutes les espèces (Epe et Kaminsky, 2013).

a) Les amino-acétonitriles

Le monépantel (MPL) est décrit pour la première fois en 2008 (Kaminsky et al., 2008a) et est commercialisé (Zolvix ®) en 2009 en Nouvelle-Zélande pour le contrôle des nématodoses du mouton. Il est par la suite disponible en Australie, Europe et Amérique du Sud. Il s'agit du premier représentant des amino-acétonitriles constituant une nouvelle classe d'anthelminthiques active contre les nématodes résistants aux anthelminthiques classiques. Kaminsky et son équipe (2008b) ont montré son efficacité contre des souches d'*H.contortus* et *T. colubriformis* résistants au BZ, LM et LEV. En effet, il cible une certaine une sous-unité du récepteur nicotinique à l'acétylcholine spécifique des nématodes. Le nAchR est activé ce qui entraine une paralysie spastique puis la mort du parasite. Le mécanisme général est donc similaire à celui des imidathiazoles et des avermectines mais la cible n'est pas tout à fait la même (Kaminsky et al., 2008 a,b). Il existe, en effet, de nombreux types de nAchR qui se distinguent par leur sous-unités. Les nAchR se composent de 5 sous-unités assemblées en pentamère formant un canal ionique. De nombreuses sous-unités sont spécifiques des nématodes et leurs combinaisons sont à l'origine d'un vaste nombre de récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine différents. Seuls ceux ayant cette sous-unité particulière seront la cible du monépantel (Kotze et al., 2014). Le MPL s'administre oralement à la dose de 2,5 mg/kg de poids vif.

b) Les spiroindoles

Le derquantel (DQL) , dérivé semi-synthétique de son prédécesseur le paraherquamide, appartient à la classe des spiroindoles. Le derquantel agit spécifiquement sur un certain type de nAchR et provoque une paralysie flasque du vers. Il est introduit en 2010 en Nouvelle-Zélande à destination des ovins puis en 2012 au Royaume-Uni et en 2014 en Australie. Il n'est pas disponible en France. Il est uniquement disponible en association avec une LM, l'abamectine, dans la préparation commerciale Startect®. En effet, cette combinaison permet d'élargir le spectre d'action. De plus, elle est à l'origine d'un effet synergique antagoniste sur les nAchR qui a été mis en évidence *in vitro* sur des tissus musculaires du nématode *Ascaris suum* dans l'étude de Puttachary et al. (2013) (Figure 12). Le derquantel s'administre oralement à la dose de 2 mg/kg de poids vif (Little et al., 2010, Epe et Kaminsky, 2013, Abongwa et al., 2017).

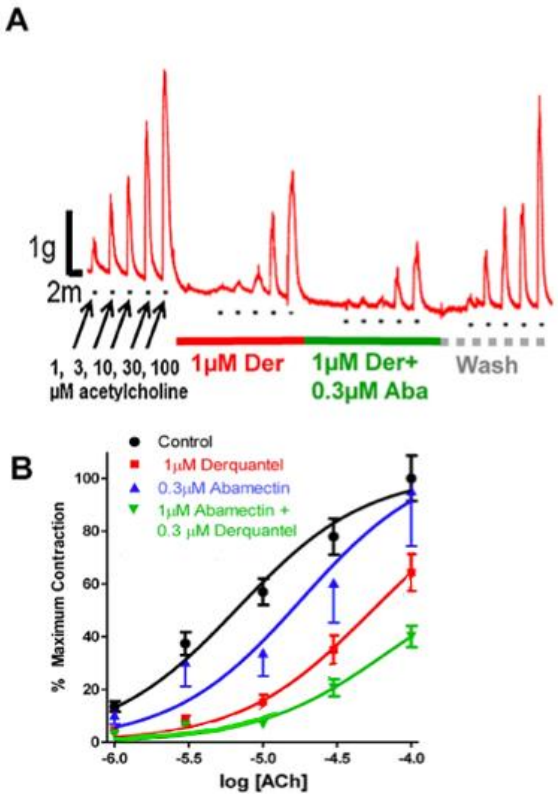


***Figure 12**. Effets du derquantel et de l'abamectine sur les fibres musculaires de Ascaris suum. A : contractions isométriques des fibres musculaires de A. suum produites par l'application d'une concentration croissante d'acetylcholine et antagonisée par l'addition de 1 µM (barre rouge), 1 µM derquantel + 0,3 µM abamectine (barre verte), puis rincée (barre bleue). B : Contractions musculaire en fonction de la concentration en acetylcholine (courbe noire). Avec addition de 1 µM derquantel (courbe rouge), 0,3 µM abamectine (courbe bleue),1 µM derquantel + 0,3 µM abamectine (courbe verte). Noter que l'ajout de derquantel diminue les contractions et que le second ajout d'abamectine les diminue encore plus. Modifié d'après Puttachary et al. 2013.*

c) Les cyclooctadepsipeptides

Pour information, il existe une autre molécule anthelminthique à large spectre, l'émodepside appartenant aux cyclooctadepsipeptides, commercialisée pour le moment uniquement chez le chien et le chat sous le produit Profender ®. Cette molécule est détaillée ici car elle possède une activité contre *H. contortus* et *T. colubriformis* et pourrait dans les années à venir être disponible pour les ruminants (Epe et Kaminsky, 2013).

L'efficacité anthelminthique de cette molécule a été mise en évidence par Harder et Von Samson Himmelstjerna en 2002. C'est une molécule semi-synthétique appartenant à la classe des cyclooctadepsipeptides découverte dans les années 1990 à partir de *Mycelia sterilia*, un champignon de la plante *Camellia japonica*. L'émodepside possède un spectre large et est actif contre les vers résistants aux anthelminthiques classiques. Il agit à la fois sur les récepteurs SLO-1, canaux potassiques calcium-dépendants pré et post-synaptiques, et sur les récepteurs *latrophilin-like* pré-synaptiques. Il en résulte ainsi une paralysie et une inhibition de l'aspiration pharyngée puis la mort du parasite (Krücken et al., 2012 ; Epe et Kaminsky, 2013 ; Abongwa et al., 2017).

Tableau II. *Anthelminthiques utilisés chez les ovins. * Existe uniquement en combinaison avec l'abamectine. Tela = Teladorsagia, Nem = Nematodirus, Trich = Trichostrongylus, Chab = Chabertia, Oes = Oesophagostomum, Coop = Cooperia, H. cont = Haemoncus contortus, F. hep = Fasciola hepatica.*

Classe thérapeutique	Composé	Spectre d'activité	Activité contre		
			Tela Trich Nem Coop Chab Oes	H. cont	F. hep
Benzimidazoles (BZ)	Albendazole	Large	+	+	+
	Fenbendazole	Large	+	+	
	Mebendazole	Large	+	+	
	Ricobendazole	Large	+	+	+
	Oxfenbendazole	Large	+	+	
	Triclabendazole	Étroit			+
Imidathiazoles	Levamisole	Large	+	+	
Lactones macrocycliques	Ivermectine	Large	+	+	
	Moxidectine	Large	+	+	
	Doramectine	Large	+	+	
Amino-acétonitriles	Monépantel	Large	+	+	
Spiroindoles	Derquantel*	Large	+	+	
Tétrahydropyrimidines	Closantel	Étroit		+	+
	Nitroxynil	Étroit		+	+

3. Inconvénients

L'emploi de traitements chimiques antiparasitaires montre de nombreux inconvénients. En effet, les anthelminthiques diminuent le temps de contact entre l'hôte et le parasite limitant ainsi la mise en place d'une immunité naturelle anti-helminthes solide. Pour rappel, il s'agit d'une immunité concomitante s'installant de manière progressive par contact répétés avec les SGI et se maintenant à leur contact (Ketzis et al., 2006 ; Ravinet et al., 2015 ; Mcrae et al., 2015). L'administration d'anthelminthiques conduirait même, d'après le modèle de Singleton et al. (2010), à une augmentation de l'excrétion fécale d'œufs chez les agneaux à la fin de la saison de pâture par mise en place retardé d'une immunité spécifique. De plus, les traitements chimiques sont source d'inquiétudes pour les consommateurs vis à vis des possibles résidus dans les aliments et l'environnement (Ketzis et al., 2006). En effet, les résidus de LM retrouvés dans les fèces des animaux traités sont particulièrement toxiques pour les bousiers et par conséquent pour l'écosystème de la pâture. Les bousiers sont des coléoptères coprophages qui dispersent, creusent et entèrent les excréments. Ils participent ainsi à l'aération, la fertilisation et l'hygiène des sols. Ainsi, à long terme, l'absence de recyclage des matières fécales par la faune coprophage mise à mal par les résidus d'anthelminthiques risque d'éroder la biodiversité et le bon fonctionnement des pâtures (Lumaret et Errouissi, 2002). Le service agro-systémique rendu par les bousiers est estimé à 380 millions de dollars en ce qui concerne la filière bovine américaine (Losey et Vaughan, 2006). Enfin, l'inconvénient majeur est l'apparition de résistance aux anthelminthiques qui prend de plus en plus d'ampleur à l'échelle mondiale. En effet, l'utilisation massive et traditionnelle des BZ, du LEV et des LM font de ces classes les plus concernées par les résistances. Celles-ci sont largement diffusées aux quatre coins du monde mais en réalité toutes les classes d'anthelminthiques sont touchées par ce phénomène et des cas de vers « multi-résistants » (résistants à plusieurs classe d'anthelminthiques à la fois) sont largement rapportés. L'industrie des petits ruminants est la plus impactée par cette problématique menaçant alors sa pérennité et sa rentabilité économique (McKellar et Jackson, 2004 ; Mottier et Prichard, 2008 ; Kaplan, 2004 ; Kaplan et Vidyashankar, 2012). Charlier et son équipe (2020) estiment le coût annuel en Europe de la résistance des SGI aux anthelminthiques en fonction des pertes de production et du coût des traitements. Ils l'évaluent à 2 460 742 € pour la filière ovine laitière et de 7 997 228 € pour la filière ovine viande. La France se situerait en seconde position derrière le Royaume-Uni pour ses pertes économiques liées à la résistance aux anthelminthiques dans la filière ovine viande avec près de 2 millions d'euros par an. La France occuperait également la seconde position derrière la Roumanie dans la filière ovine laitière avec près de 800 000 euros par an de pertes.

B. La résistance aux anthelminthiques

1. Définition

Une résistance est présente lorsque « la fréquence de vers capables de tolérer un anthelminthique dans une population est plus grande que dans une population normale de la même espèce » (Prichard et al., 1980). La résistance aux anthelminthiques se définie également

comme la diminution d'efficacité d'une molécule anthelminthique contre une population de parasites qui jusqu'à présent étaient sensible à cette dernière (Abongwa et al., 2017).

2. Apparition de résistances

La première résistance aux anthelminthiques a été rapportée il y a près de 50 ans chez les moutons dans un contexte où des résistances aux insecticides avaientt déjà été observées dès la fin des années 1950 avec le phenothiazine sur *Haemonchus contortus*, mis sur le marché en 1940. En 1961, le thiabendazole, premier anthelminthique à spectre large et à faible toxicité, est commercialisé. A partir de cette date et pendant 30 ans, les anthelminthiques sont un succès et leur développement est majeur. En effet, les filières gagnent en productivité ce qui leur permet de nourrir une population mondiale grandissante. Cependant, leur utilisation massive entraine l'apparition successive de résistances malgré le développement de nouvelles molécules. Seulement trois ans après la sortie du thiabendazole sur le marché, des résistances apparaissent d'abord chez *H. contortus* puis chez *T. circumcincta* et *T. colubriformis*, strongles digestifs principaux des ovins (Tableau III). Cette résistance est par la suite retrouvée chez les parasites des chevaux et des bovins et depuis les années 1970, elle se constate dans le monde entier. Le même schéma s'est répété après l'introduction de nouvelles classes d'anthelminthiques (imidazothiazole, tetrahydropyrimidine, lactones macrocycliques) dans les années 1970-1980 (Tableau III) (Kaplan, 2004 ; McKellar et Jackson, 2004 ; James et al., 2009).

Un premier cas de vers multi-résistants est rapporté au début des années 1980. Actuellement, des SGI multi-résistants sont documentés dans le monde entier et représentent une menace majeure pour la santé des petits ruminants et l'économie de la filière ovine déjà sous pression dans plusieurs régions du monde (Kaplan, 2004 ; Kaplan et Vidyashankar, 2012).

En ce qui concerne les dernières classes d'anthelminthiques mises sur le marché, des résistances sont là aussi à craindre. En effet, le premier cas de résistance au monépantel est mis en évidence en 2013 en Nouvelle-Zélande, alors commercialisé depuis seulement 2009 (Tableau III). Elle est suspectée suite à l'expression clinique de strongyloses digestives sur plusieurs animaux dans une ferme ayant utilisé le produit pendant 2 ans en 17 fois. Les tests de réduction d'excrétion fécale d'œufs (FECRT) révèlent une résistance chez au moins deux espèces de SGI en particulier *T. colubriformis* et *T. circumcincta* (Scott et al., 2013). Des cas de résistance au monépantel chez *H. contortus* ont par la suite été rapportés en Australie chez des moutons, avec notamment l'étude de Sales et Love (2016) qui montre une réduction d'excrétion fécale d'œufs de seulement 10%. Quant au derquantel, uniquement disponible en association avec l'abamectine dans le produit Startec ®, les conclusions sont moins franches. En effet de 2006 à 2009, l'efficacité de ce produit sur des nématodes résistants à un ou plusieurs anthelminthiques classiques est testée en Nouvelle-Zélande et les résultats sont très prometteurs (Little et al., 2010). Cependant, en 2016, une baisse d'efficacité de ce produit, alors commercialisé en 2014, est relevée dans une ferme en Australie. Le test *in vivo* de détection de résistance montre une efficacité du produit de 90% ce qui corrobore l'hypothèse de résistance sans pour autant la confirmer. Selon les auteurs de l'étude, une résistance au derquantel n'est

pas certaine puisqu'une résistance accrue à l'ABA seulement suffit à avoir de tels résultats (Sales et Love, 2016).

Tableau III. *Principales molécules utilisées dans le contrôle chimique des nématodes gastro-intestinaux chez le mouton.* [a] *: la date exacte de sortie de la molécule dépend du pays. D'après Kaplan 2004 et modifié selon les données de Scott et al. 2013, Sales et Love 2016.*

Molécule	Année de sortie [a]	Année de la première publication documentant une résistance
Thiabendazole	1961	1964
Lévamisole	1970	1979
Ivermectine	1981	1988
Moxidectine	1991	1995
Monépantel	2009	2013
Derquantel + Abamectine	2014	2016

3. État des lieux actuel

En 2012, Kaplan et Vidyashankar alertent la communauté scientifique en dressant un bilan mondial sur la résistance aux anthelminthiques qu'ils nomment le « *Global Worming* ». Ils pointent du doigt la présence de vers multi-résistants partout dans le monde et en particulier en région sub-tropicale. Ce phénomène affecte surtout les petits ruminants et notamment les caprins.
C'est au Brésil que le bilan est le plus préoccupant : les molécules classiquement utilisées se révèlent inefficaces et les vers multi-résistants sont chose commune. Seules les combinaisons d'anthelminthiques ont une réduction d'excrétion fécale d'œufs notable mais encore insuffisante (entre 55,8 et 68% selon les études). Il s'agit majoritairement de résistance chez *H. contortus*. Le sud des Etats-Unis n'est pas non plus épargné. En Afrique, 14 pays sont concernés par la résistance d' *H. contortus* et tout particulièrement le Kenya et l'Afrique du Sud. Dans certaines régions d'Australie, la prévalence de la résistance de *T. circumcincta* aux avermectines double de 2000 à 2012 pour atteindre 80% alors que la prévalence de la résistance aux BZ et au LEV est déjà proche de 100%. En Nouvelle-Zélande ce sont toutes les espèces de SGI qui sont concernées par la résistance aux benzimidazoles avec un plus fort pourcentage pour *Nematodirus* sp. et *T. circumcincta*, et une prévalence de la multi-résistance aux trois classes de 14% (Kaplan et Vidyashankar, 2012).

En Europe, le phénomène est moins important et concerne surtout *H. contortus* et *Trichostrongylus* sp. La résistance est rare en Italie alors qu'elle est courante au Royaume-Uni (Kenyon et al., 2016) à tel point qu'un groupe d'experts a mis en place des stratégies et des recommandations nationales pour freiner le développement de la résistance (Abott et al., 2012).

En effet, la surveillance de la résistance menée depuis les années 2000 au Royaume-Uni a d'abord montré des résistances aux BZ puis au LEV largement diffusées sur le territoire et des résistances aux LM émergentes en particulier concernant *T. circumcincta*. Des souches multi-résistantes sont également rencontrées de manière sporadique en Ecosse (Kaplan et Vidyashankar 2012 ; Abott et al., 2012).

En France, les BZ ont massivement été utilisées jusqu'en 2014. En effet, il s'agissait des seules molécules dépourvues de temps d'attente lait chez les ovins. Aujourd'hui il s'agit de la classe d'anthelminthiques la plus concernée par les résistances (Paraud, 2015). Le premier cas de strongle ovin multi-résistant est rapporté par Paraud et al. en 2016. Il s'agit d'une souche sauvage de *T. circumcincta* résistante à la MOX (FECRT = 13%) et à l'IVM (FECRT = 0%) trouvé dans un troupeau de la Loire. Cazajous et al. (2018) mettent en évidence deux ans plus tard pour la première fois un isolat de *H. contortus* résistant au BZ (FECRT = 0%) et à l'IVM (FECRT = 45%) après suspicion d'échec du traitement par le vétérinaire traitant. Le troupeau a reçu pendant 20 ans des LM de manière systématique et de manière exclusive les quatre dernières années. Par ailleurs, la transhumance de ces bêtes l'été est pointée du doigt par les auteurs comme étant un risque majeur de transmission de souches multi-résistantes aux autres troupeaux partageant la même pâture.

C. Mécanismes de résistance

1. La résistance aux benzimidazoles

Le premier mécanisme moléculaire de résistance, et l'unique bien connu à ce jour, concerne les benzimidazoles. En effet le mécanisme est simple, il consiste en un changement de la cible, la β-tubuline, devenant alors moins affine pour les benzimidazoles. Un seul gène, celui codant l'isotype 1 de la β-tubuline, est impliqué dans ce mécanisme et ses allèles résistants sont récessifs. Le polymorphisme associé à cette résistance chez les champignons phytopathogènes (*Venturia inaequalis, Monilinia fructicola*) ou les organismes fongiques mutés (*Aspergillus nidulans, Neurospora crassa*) concerne généralement la partie centrale de la β-tubuline entre les acides aminés 165 et 257 et a permis de guider les travaux de résistances chez les nématodes (Kwa et al., 1994 ; Elard et al., 1996 ; Ghisi et al., 2007). Trois mutations par substitution de nucléotide ou SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) sur le gène de β-tubuline ont ainsi été associé à une résistance aux BZ :

- Le codon T**T**C en position 200 remplacé par le codon T**A**C, à l'origine d'une substitution de l'acide aminé phénylalanine par la tyrosine (F200Y) mis en évidence chez *H. contortus* et *T. colubriformis* (Kwa et al., 1994) puis chez *T. circumcincta* (Elard et al., 1996). Les travaux de transgénèse menés par Kwa et son équipe en 1995 montrent que l'expression chez *C. elegans* de l'allèle résistant mis en évidence chez *H. contortus* suffit à le rendre résistant, confirmant ainsi l'association entre la mutation et le phénotype.

- Le codon T**T**C en position 167 remplacé par le codon T**A**C, à l'origine d'une substitution de la phénylalanine par la tyrosine (F167Y) mis en évidence chez *H. contortus* et *T. circumcincta* (Silvestre et Cabaret, 2002).

- Le codon G**A**A en position 198 remplacé par le codon G**C**A, à l'origine d'une substitution du glutamate par l'alanine (E198A) mis en évidence chez *H. contortus* (Ghisi et al., 2007 ; Rufener et al., 2009). L'étude menée par Redman et ses collaborateurs (2015) relève un polymorphisme à cette position chez *T. circumcincta* où le glutamate est substitué par la leucine (E198L) dans 4 fermes sur 7 au Royaume-Uni avec une fréquence élevée proche de la fixation dans une des fermes.

Ainsi la connaissance du mécanisme à l'échelle moléculaire a permis de développer des outils de détection pour la surveillance de ce phénomène de plus en plus préoccupant et ainsi prendre les mesures adéquates afin de limiter sa propagation. Cependant, même s'il s'avère que les mutations du gène de l'isotype 1 de la β-tubuline constituent le meilleur paramètre pour déterminer une résistance aux BZ, cette résistance dépend d'autres gènes moins spécifiques tels que ceux codant les pompes d'efflux ou les enzymes de détoxification (Yilmaz et al., 2017).

2. La résistance au lévamisole

Le mécanisme moléculaire de la résistance au lévamisole n'est pas encore élucidé à ce jour. Sachant que le nAchR le plus sensible au lévamisole comporte parmis les cinq sous-unités différentes, quatre sous-unités particulières (UNC-29, UNC-38, UNC-63 et ACR-8), il est aisé de comprendre que, si une des sous-unité est remplacée par une autre ou est tronquée dans le pentamère, alors le récepteur est moins sensible au lévamisole et peut être source de résistance. De nombreux gènes sont impliqués et les mécanismes de résistance rencontrés à ce jour sont divers. On retrouve des mutations de type SNP, des mutations par délétion ou encore une expression moindre des gènes des sous-unités précédemment citées ainsi qu'une possible surexpression des pompes d'efflux. Cette résistance polygénique complexe ne permet pas d'imaginer des outils de détection moléculaire efficace de la résistance au lévamisole (Kotze et al., 2014 ; Sarai et al., 2014).

3. La résistance aux lactones macrocycliques

Aucun polymorphisme des gènes codant le GluClR ou le récepteur GABA, cibles des LM, n'a été mis en évidence à ce jour sur les souches résistantes sauvages. Des pistes de mécanismes ont été découvertes sur des souches rendues résistantes *in vitro* (mutation L256F du gène de la sous-unité α du GluClR ou absence du résidus glycine du troisième domaine transmembranaire du GluClR) mais qui se sont finalement soldées par un échec puisqu'aucune n'était compatible avec les souches résistantes isolées du terrain (Kotze et al., 2014). Ainsi, l'attention scientifique s'est tournée vers le mécanisme des pompes d'efflux, les glycoprotéines-P, des nématodes. En effet, les LM sont substrats des pompes d'efflux des mammifères, permettant leur élimination par le tractus hépatobiliaire et digestif ainsi que leur faible toxicité neurologique (Abongwa et al., 2017 ; Kotze et al., 2014 ; Sangster et al., 2018). Ainsi des SNP ou la surexpression de gènes

de certaines glycoprotéines-P ont été mis en évidence sur des parasites résistants aux LM et pourraient être un des mécanismes principaux par élimination de la molécule (Dicker et al., 2011 ; Kotze et al., 2014 ; Sangster et al., 2018). Cependant, la résistance aux LM est polygénique, le nombre et la diversité de pompes d'efflux sont importants et leur régulation complexe ce qui ne permet pas pour le moment d'élucider le mécanisme précis en cause (Kotze et al., 2014).

4. Autres mécanismes de résistances

Outre les modifications de cible conduisant à une diminution d'affinité pour l'anthelminthique, qu'elles soient qualitatives (mutation par substitution ou par délétion d'acide(s) aminé(s)) ou quantitatives (réduction du nombre de récepteur par expression moindre du gène), il existe d'autres mécanismes moins spécifiques permettant d'empêcher l'anthelminthique d'atteindre sa cible. En effet, au sein du vers, le médicament peut être éliminé via les glycoprotéines P (gp-P) ou encore inactivé via des enzymes de détoxifications (James et al., 2009).
Les gp-P (ou MDR1 ou ABCB), plus communément appelées pompes d'efflux, sont des transporteurs transmembranaires actifs de nombreuses molécules aussi appelés transporteurs ABC pour *ATP-Binding-Cassette,* très conservés au cours de l'évolution. Elles sont impliquées dans les mécanismes de résistance de plusieurs pathogènes tels que des champignons, les bactéries, les protozoaires ou encore les insectes (Kotze et al., 2014). Elles sont présentes chez les nématodes et leur surexpression est associée à une résistance aux anthelminthiques (Sarai et al., 2014 ; Dicker et al., 2011 ; Lifschitz et al., 2011 ; Kotze et al., 2014 ; Sangster, 2018). L'augmentation du nombre de pompes d'efflux diminue la quantité de médicaments au niveau de leurs cibles réduisant ainsi leur efficacité. Il s'agirait d'un des mécanismes de multi-résistance (Kotze et al., 2014).

Un plus grand nombre et une plus grande diversité de métabolites de BZ ont été trouvés chez des souches résistantes de *H. contortus* par rapport aux souches sensibles (Raisova et al., 2018). Cela sous-entend que des enzymes de biotransformation sont impliquées dans les mécanismes de résistance via leur (sur)expression. Sotirchos et ses collaborateurs (2008) mettent en évidence une expression 5 à 20 fois plus importante des thioredoxines chez des souches de *H. contortus* rendues résistantes à l'IVM. D'autres études suggèrent aussi que le cytochrome P450 (Yilmaz et al., 2017) et la gluthatione - S- transférase (Kerboeuf et Aycardi, 1999) interviennent dans les phénotypes de haute résistance aux benzimidazoles : la tolérance vis-à-vis de cette classe augmente alors même qu'ils sont déjà résistants.

D. Circonstances d'apparition et facteurs de risque

La résistance se développe par sélection de vers résistants, reproduction de ces derniers puis transmission à d'autres hôtes. Quand un animal reçoit un traitement anthelminthique, les parasites possédant les gènes et les allèles de résistance, déjà présents à fréquence faible dans la population, survivent. Ils présentent un avantage reproducteur par rapport aux vers sensibles pendant 2-3 semaines suivant le traitement. Ainsi le génotype résistant est transmis à la descendance et ainsi de suite au fur et à mesure des différents traitements réalisés. La résistance

est totale si l'allèle résistant est à l'état de « fixation » c'est à dire si sa prévalence est égale à 1 (Abott et al., 2012 ; Shalaby, 2013).

La résistance à une molécule donnée entraine une résistance à l'ensemble de la classe et parfois à une résistance croisée lorsque plusieurs classes ont la même cible (Abott et al., 2012 ; Abongwa et al., 2017). Par exemple les nématodes résistants au LEV sont résistants à d'autres molécules agissant sur le nAchR comme le morantel ou le pyrantel (Wolstenholme et al., 2004).

Plusieurs pratiques augmentent le risque de développement de résistances :

- L'utilisation fréquente ou pendant longtemps d'une seule classe d'anthelminthique. Il s'agit du facteur qui a le plus d'influence sur le développement de la résistance (Shalaby, 2013 ; Jacquiet, 2015 ; Sangster et al. 2018). En effet, plus la fréquence du traitement approche la période pré-patente des SGI, moins les vers encore sensibles ont de chance de s'installer et de produire des œufs et plus la population initiale est au fur et à mesure remplacée par la population résistante (Abott et al., 2012);

- L'utilisation de forme longue action. En effet, cela retarde également la ré-infestation de l'hôte après traitement par des vers susceptibles et donc augmente la période de reproduction des vers résistants survivant au traitement (Abott et al., 2012) ;

- Le sous-dosage c'est à dire traiter à dose plus faible que la dose thérapeutique. Cela permet la survie de vers hétérozygotes et donc augmente la fréquence de l'allèle résistant. Deux paramètres sont également à prendre en compte dans ce cas-là. Le premier peut être illustré par l'exemple des biodisponibilités différentes des BZ et du LEV chez deux espèces pourtant très proches : la chèvre et le mouton. En effet, celle de la chèvre étant plus basse, il est recommandé de multiplier la dose recommandée chez les ovins par 1,5 à 2 pour un emploi chez les caprins. Or pendant longtemps les doses employées chez les caprins étaient les mêmes que celles des ovins, ce qui a participé à l'essor majeur de la résistance dans l'industrie caprine. Le second paramètre influençant le sous-dosage est l'association de plusieurs espèces de SGI à l'origine de la strongylose. En effet, toutes n'ont pas la même susceptibilité pour une certaine dose d'anthelminthique ce qui peut se traduire par un sous-dosage pour certaines d'entre elles (Van Wyk, 2001 ; Shalaby, 2013);

- Les traitements de masse. Traiter l'ensemble du troupeau empêche la possibilité de préserver une population refuge (Van Wyk, 2001 ; Hodgkinson et al., 2019);

- Les mouvements d'animaux (achat et transhumance). Ils participent à la transmission et à la dispersion de la résistance (Redman et al, 2015 ; Chaudry et al., 2015 ; Jacquiet, 2015 ; Cazajous et al., 2018);

- La pratique « *drug and move* ». Traiter les animaux puis les transférer immédiatement vers une parcelle « propre » retarde la ré-infestation des animaux par des vers sensibles

déjà peu présents dans l'environnement ce qui augmente la période favorable de reproduction des résistants. De plus, la parcelle est comme « ensemencée » d'œufs résistants, ce qui participe davantage à un développement rapide et important de la résistance (Abott et al., 2012 ; Jacquiet, 2015 ; Paraud, 2015).

E. Dissémination de la résistance

L'étude de Chaudry et al. de 2015 est une première preuve génétique de la dissémination de la résistance aux benzimidazoles. Cette étude est menée au Sud de l'inde puisqu'ils considèrent que l'état de la résistance y est moins avancé qu'en Europe ou en Amérique du Nord ce qui facilite grandement les analyses phylogénétiques. En effet les traitements anthelminthiques sont sporadiques et le climat chaud et humide préserve une large population refuge sur les pâtures autorisant ainsi une pression de sélection moindre.
Les analyses phylogénétiques menées sur des populations d'*H. contortus* résistants et collectés chez des moutons issus de différentes fermes suggèrent que la mutation E198A est apparue une seule fois puis s'est répandue via les mouvements d'animaux. De plus, les analyses structurelles des populations d'*H. contortus* de la région, à l'aide de marqueurs microsatellites, ont montré une très faible variabilité génétique entre elles ce qui est en faveur de mouvements d'animaux importants entre les fermes.

La mutation F200Y, la plus rencontrée dans l'étude, serait quant à elle apparue plusieurs fois de manière indépendante. Le même travail effectué sur 7 fermes au Royaume-Uni suggère au moins 4 origines indépendantes de la mutation F200Y. De plus, les phénotypes résistants se seraient dispersés sur le territoire britannique au travers des mouvements d'animaux puisque que le même haplotype résistant est retrouvé dans 5 fermes (Redman et al., 2015). Les mouvements d'animaux sont à l'origine de la diffusion de la résistance entre les fermes. C'est pourquoi, la gestion de la quarantaine des animaux nouvellement acquis dans un élevage est une étape fondamentale pour un contrôle durable du parasitisme (Abott et al., 2012).

Les études menées aux quatre coins du monde s'accordent à dire que la mutation F200Y est la plus commune (Silvestre et Cabaret, 2002 ; von Samson-Himmelstjerna et al., 2009 ; Redman et al., 2015 ; Chaudry et al., 2015 ; Avramenko et al., 2018 ; Sargison et al., 2019 ; Melville et al. 2020). Les enquêtes génétiques suggèrent que F200Y apparaît de manière fréquente et indépendante au sein de différentes populations ce qui expliquerait sa répartition mondiale homogène (Redman et al., 2015 ; Chaudry et al., 2015). Les mutations F167Y et E198A ont quant à elles une fréquence moindre et une répartition inégale selon les régions du monde (Silvestre et Cabaret, 2002 ; von Samson-Himmelstjerna et al., 2009 ; Redman et al., 2015 ; Chaudry et al., 2015 ; Avramenko et al., 2018 ; Sargison et al., 2019 ; Melville et al., 2020). E198A a, par exemple, une prévalence qui varie de 0 à 87% dans huit régions chinoises géographiquement distinctes (Tuersong et al., 2020). De plus, en tenant compte des résultats de leur étude en Inde, Chaudry et ses collaborateurs (2015) émettent l'hypothèse que ces mutations apparaissent plus rarement puis se diffusent via les mouvements commerciaux d'animaux ce qui expliquerait l'hétérogénéité de leur distribution mondiale.

F. Outils de détection des résistances

L'enjeu ici est de pouvoir surveiller l'apparition de résistance le plus précocement possible pour prendre les décisions les plus adaptées quant à la gestion du parasitisme pour maintenir l'efficacité des anthelminthiques sur le long terme. En effet, dès lors que les anthelminthiques apparaissent cliniquement inefficaces, le phénomène de résistance est déjà bien avancé et installé dans l'élevage. D'où l'importance de contrôler régulièrement l'efficacité des molécules utilisées dans un élevage pour détecter de manière précoce les résistances (Abott et al. 2012).

1. Test *in vivo* : le test de réduction d'excrétion fécale d'œufs

a) Principe

En 1992, Coles et son équipe standardisent les tests de diagnostic de résistance au travers les recommandations de la *World Association for the Avancement of Veterinary Parasitology* (WAAVP) avec notamment un test *in vivo* nommé « test de de réduction d'excrétion fécale d'œuf » ou « *Fecal Egg Count Reduction Test* » (FECRT). Il s'agit du test *Gold Standart* de la détection de la résistance. En effet il peut être utilisé pour toute classe d'anthelminthique (Coles et al., 2006).

Le principe est de comparer le nombre d'œufs de strongle excrétés avant et après traitement, soit entre 3 et 17 jours après traitement selon la molécule utilisées (Figure 13).

Le test de réduction fécale d'œufs chez les moutons et les chèvres.

1. Choisir aléatoirement dans chaque groupe **10** individus parmi les animaux de **3 à 6 mois** d'âge ou plus âgé avec une excrétion d'œufs **> 150 opg.**
2. Prélever des fèces directement dans le **rectum** et les mettre dans un pot.
3. Dès que possible réaliser le comptage en utilisant la technique de **McMaster.**
4. Stocker les prélèvements à **4°C** pendant **24h maximum** s'ils sont utilisés pour une **coproculture**.
5. Prélever une **deuxième** fois des fèces directement dans le **rectum** un certain temps **après** le traitement :
   - Lévamisole **3-7 jours**
   - Benzimidazole **8-10 jours**
   - Lactone macrocyclique **14-17 jours**
   - Toutes les classes **14 jours**
6. Réitérer le comptage et interpréter.

Figure 13. *Principales étapes du protocole du test d'excrétion fécale d'œufs ou FECRT. opg : œufs par grammes de fèces. Modifié d'après Coles et al., 2006.*

Le groupe d'animaux traité sera également comparé à un groupe contrôle non traité afin de prendre en compte les changements naturels d'excrétion d'œufs. En effet, dans le cadre d'infestations naturelles au pâturage, le comptage d'œufs en pré- et post-traitement sur les deux groupes permet de corriger les biais liés aux constantes ré-infestations et au développement

larvaire continu faisant grimper artificiellement le nombre d'œufs excrétés (Lyndal-Murphy et al., 2014).

Il y a résistance à un anthelminthique si deux conditions sont réunies : (i) la réduction occasionnée doit être strictement inférieure à 95% et (ii) la borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95% doit être inférieure à 90%. Si une des deux conditions seulement est satisfaite alors la résistance à cette molécule est suspectée.
Une coproculture est réalisée ensuite pour identifier les espèces de SGI en cause.

b) Inconvénients et variantes

Le FECRT est peu sensible en particulier lorsque moins de 25% de la population parasitaire est résistante (Coles et al., 1992 ; Coles et al., 2006).

Dans certain cas, selon le nombre d'animaux prélevés, le FECRT peut surévaluer la résistance. Des simulations statistiques ont en effet montré que lorsque l'efficacité réelle du médicament est à la limite des 95%, donc considéré comme encore efficace, une résistance est jugée dans 55%, 45% et 21% des cas si respectivement 6, 10 ou 20 animaux sont prélevés pour le FECRT. De même si son efficacité réelle est de 97,5%, les strongles sont dit résistants dans 6,5%, 2,4%, 0% pour respectivement 6, 10, 20 animaux prélevés (Pepper et al., 2003). Les dernières recommandations de la WAAVP indiquent un prélèvement de 10 animaux par groupe minimum (Coles et al., 2006).

Le FECRT est un test laborieux, couteux, et chronophage d'autant plus lorsqu'il s'agit d'études de surveillance à grande échelle ou de contrôles de routine.

Pour limiter ces difficultés, Rinaldi et ses collaborateurs (2014) proposent de mélanger les prélèvements de plusieurs individus. Ils montrent une corrélation entre le FECRT individuel et le FECRT de mélange de 94 %. Cependant les anthelminthiques dans cette étude italienne sont efficaces. Ainsi, pour valider cette corrélation entre mesures individuelles et sur mélange pourdans le cadre d'évaluation de la résistance, Kenyon et al. utilisent le même protocole (2016) sur des moutons écossais. La corrélation n'est plus que de 91% en utilisant une coproscopie Mac Master 15 (sensibilité de 15 œufs par gramme (opg)) avec un mélange de 20 prélèvements alors qu'elle est de 96%, 98% et 99% pour respectivement un mélange de 5, 10 et 20 prélèvements en utilisant la coproscopie Mini FLOTAC (sensibilité de 10 opg). De même, les travaux menés dans le cadre du projet CASDAR innovation et partenariat (2012-2015), réalisés sur 19 élevages ovins français, ont comparé la moyenne des mesures individuelles et la coproscopie de mélange sur 15 individus, en utilisant la méthode Mac Master modifiée par Raynaud. Une corrélation significative forte de 98% a pu être mise en évidence faisant alors de la coproscopie de mélange une option plus pratique et plus économique. Cependant, ces travaux cherchent à mettre en évidence des indicateurs pratiques d'intensité du parasitisme de manière à orienter les traitements ciblés chez les ovins et non de diagnostiquer une résistance à un anthelminthique via un FECRT (Jacquiet, 2015).

La WAAVP recommande la coproscopie Mac Master pour le comptage des œufs dans ce test (Coles et al., 2006). Cependant les récentes méthodes FLOTAC ou Mini-FLOTAC offrent des avantages non négligeables pouvant pallier les difficultés du FECRT (Cringoli et al., 2010 ; Cringoli et al., 2013). Elles ont en effet montré des sensibilités plus importantes (Bosco et al. 2014) et sont d'un point de vue pratique plus simples et plus rapides à réaliser. En effet, la Mini-FLOTAC, en combinaison avec le kit de prélèvement Fill-FLOTAC, dispense de peser les prélèvements et de les centrifuger et permet de travailler en système clos plus sécuritaire (Cringoli et al., 2013 ; Bosco et al., 2014) (Figure 14).

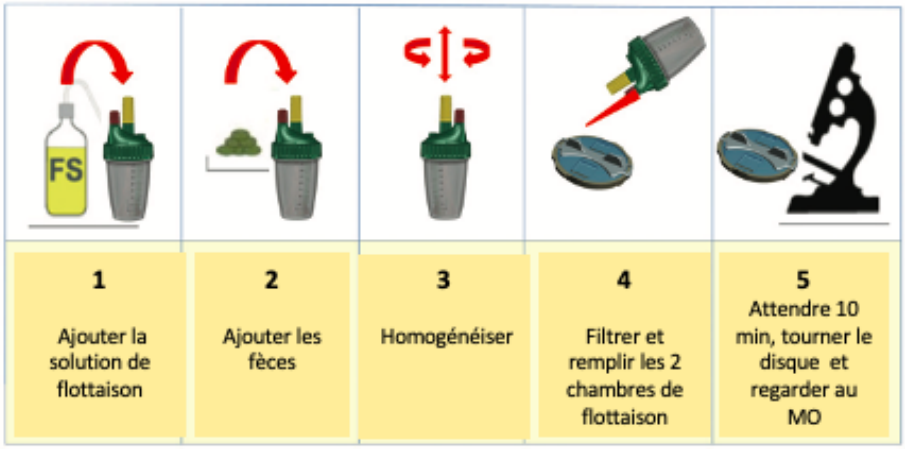


Figure 14. *Les 5 étapes consécutives de la technique Mini-FLOTAC avec le kit Fill-FLOTAC (MO = microscope optique). D'après Cringoli et al., 2013.*

2. Tests in vitro : le test d'éclosion d'œufs et le test de développement larvaire

a) Le test d'éclosion d'œufs (EHT)

Le test d'éclosion d'œufs ou *Egg Hatch Test* (EHT) est le second test décrit dans les recommandations de la WAAVP de 1992. Ce test n'est valable que pour la résistance aux BZ *de H. contortus, T. circumcincta* et *T. colubriformis*. Le principe est de soumettre les œufs de strongles à 5 concentrations de thiabendazole (TBZ) différentes (de 0,05 à 0.5 µg/mL) et de compter le nombre de larves L1 ayant éclot et le nombre d'œufs non éclos afin de déterminer la dose qui empêche l'éclosion de 50% des œufs, c'est- à - dire la dose létale à 50 % (DL50). Notons que la dose de TBZ qui empêche l'éclosion de 99% des œufs sensibles, aussi appelée dose discriminante, est de 0,1 µg/mL et est définie pour les trois espèces précédemment citées. Par conséquent, si seulement 50% des œufs n'ont pas éclot à cette dose, c'est-à-dire si DL50 ≥ 0,1 µg/mL , alors il y a résistance aux BZ.

Seule la résistance au benzimidazoles est évaluée par ce test car le TBZ a la particularité d'être ovicide. Le EHT doit être effectué dans les 3h après l'excrétion d'œufs car la sensibilité des œufs au TBZ diminue au fur et à mesure de l'embryogénèse. Cette difficulté peut être contrecarrée par un stockage anaérobique pouvant augmenter le délais à 7 jours. Ce test présente

également une faible sensibilité à des faibles prévalences de résistance ainsi que des résultats qui varient d'un laboratoire à un autre (Coles et al., 1995 ; Coles et al., 2006).

b) Le test de développement larvaire (LDT)

Le test de développement larvaire ou *Larval Development Test* (LDT) est décrit dans les recommandations de la WAAVP de 2006. Ce test est valable pour la résistance aux BZ et au LEV de tous les nématodes ovins. Le principe est similaire au précédent : il s'agit de soumettre les œufs de strongles à différentes concentrations d'anthelminthique et de compter le nombre de L3 ainsi que les œufs, les L1 et les L2 afin de déterminer la dose létale à 50 % (DL50). Cette dernière empêche le développement larvaire jusqu'au stade L3 de 50% des œufs. Les doses discriminantes du TBZ et du LEV sont respectivement 0,02 µg/mL et 0,5 µg/mL. Par conséquent, si la DL50 est supérieure à la dose discriminante alors il y a résistance. A la différence du EHT, l'âge des œufs n'a pas d'importance et les L3 obtenues peuvent faire l'objet d'une diagnose d'espèce (Coles et al., 2006)

3. Les tests moléculaires

Les tests moléculaires sont plus sensibles que les tests *in vitro* et *in vivo* ce qui permet une détection plus précoce de la résistance au sein d'une population. Ils reposent sur les connaissances actuelles des mécanismes de résistance. Ainsi, pour le moment, seule est concernée la résistance aux BZ puisque son mécanisme connu et simple repose sur un polymorphisme monogénique défini par trois SNP. Plusieurs méthodes sont utilisées pour identifier l'espèce et les mutations de l'isotype 1 du gène de la β-tubuline. Parmi elles, on compte les méthodes d'amplification de la séquence d'ADN d'intérêt avec la *polymerase chain reaction* (PCR) qualitative (Kwa et al., 1994 ; Elard et al., 1999 ; Silvestre et Humbert, 2000 ; Coles et al., 2006 ; Rufener et al., 2009), la PCR quantitative ou temps réel (Alvarez-Sánchez et al., 2005) et enfin la PCR-RFLP (Tiwari et al., 2006 ; Coles et al., 2006 ; Ghisi et al., 2007) où la PCR est suivie d'une digestion enzymatique dont le site de restriction comprend le SNP d'intérêt. Récemment, la PCR isotherme a été appliquée à la détection de résistance chez *H. contortus* en position 198 du gène de la β-tubuline (Tuersong et al., 2020). La PCR qualitative présente toutefois des limites puisque le nombre de vers d'une seule espèce nécessaire pour détecter un résistant est de 100 si la résistance a une prévalence de 4% dans la population et 20 si elle est de 12% (Elard et al., 1999). La PCR temps réel est plus sensible (Álvarez-Sánchez et al., 2005) et la PCR isotherme plus rapide (Tuersong et al., 2020).

Une autre méthode consiste à séquencer la séquence d'ADN d'intérêt avec le pyroséquençage (Von Samson-Himmelstjerna et al., 2009 ; Avramenko et al., 2018 ; Sargison et al., 2019 ; Melville et al., 2020) ou bien le séquençage haut débit. Les séquençages nouvelle génération ou séquençages haut débit, également appelés « séquençages massifs en parallèle » ont montré la plus grande efficacité dans la détection du polymorphisme génique grâce à un gain de sensibilité et de temps. Leur très forte sensibilité leur permet de détecter des mutations ayant une fréquence très basse, jusqu'à 0,1 % (Avramenko et al., 2018 ; Melville et al., 2020). Les travaux de Sargison et al. (2019) mettent en évidence, sur une souche de *T. circumcincta*

considérée sensible, une fréquence de la mutation F200Y de 3,7% par séquençage haut débit alors qu'elle n'est pas détectée par pyroséquençage. Ces technologies offrent la possibilité de déterminer la fréquence des différentes mutations présentes chez différentes espèces de trichostrongylidés en une seule fois.
Avramenko et son équipe (2015) appliquent pour la première fois ces nouvelles technologies aux SGI, leur permettant de déterminer la communauté d'espèces résidant au sein d'un hôte et ainsi de concevoir le concept de *némabiome* (Figure 22).

G. La lutte intégrée : stratégies et alternatives thérapeutiques

1. Objectifs

L'objectif du traitement anthelminthique a été pendant longtemps l'éradication des SGI. Il ne s'agit plus d'une « lutte » mais d'un « contrôle » du parasitisme de manière à le maintenir à un niveau acceptable n'entrainant ni pertes de production ni signes cliniques (Paraud, 2015). Les nouvelles méthodes de contrôle ne cherchent donc plus à éliminer un maximum de nématodes mais au contraire à favoriser la survie d'un certain nombre d'entre eux, en réduisant l'emploi des anthelminthiques, de manière à préserver une population refuge bénéfique. La population refuge de SGI est la population de vers encore sensibles aux anthelminthiques qui est présente au sein des hôtes non traités et dans l'environnement. La population refuge ainsi préservée permet de maintenir des croisements entre SGI sensibles et résistants, de réduire la fréquence des allèles résistants et donc de « diluer » la résistance (VanWyk, 2001 ; Hodgkinson et al., 2019). D'autre part, réduire l'emploi des anthelminthiques permet également de préserver l'immunité anti-helminthe de l'hôte. En effet, on ne cherche plus un parasitisme « zéro » sinon cette immunité peine à s'installer chez les agneaux et disparaît chez les adultes. De nouvelles stratégies cherchent donc à améliorer cette immunité en particulier la résistance et la résilience de l'hôte par la sélection génétique de races ou de lignées compétentes mais aussi par la nutrition (Singleton et al., 2010 ; Moreno-Romieux et al., 2017 ; De Montellano et al., 2007).
Pour y parvenir la lutte doit être intégrée, raisonnée et diversifiée. Elle ne doit plus se concentrer uniquement sur l'hôte parasité par utilisation d'anthelminthiques mais doit prendre en compte l'ensemble hôte-parasite-environnement. Agir de manière raisonnée sur plusieurs fronts permet d'éviter une pression de sélection trop importante qui pourrait conduire le parasite à évoluer vers une résistance ou une virulence plus grande (Abott et al., 2012 ; Moreno-Romieux et al., 2017).

2. Rationalisation du traitement

La rationalisation du traitement est une stratégie permettant d'éviter un traitement massif et systématique favorisant l'apparition rapide de résistances par élimination de la population refuge. L'objectif est de savoir quand traiter et qui traiter, avec quelle dose et quelle molécule.

Le vétérinaire traitant doit d'abord identifier avec l'éleveur les périodes à risque (mise à l'herbe, agnelage, rentrée en bergerie, date de transhumance, date de lutte etc.) pour déterminer les lots à traiter.

Ensuite, l'intensité du parasitisme de ces lots doit être mesurée via une coproscopie de mélange sur 15 individus représentatifs de l'état du lot. Si elle est supérieure à 500 opg alors le parasitisme est considéré comme modéré à sévère et un traitement sélectif doit être entrepris dans ce lot (Jacquiet, 2015). Des indicateurs cliniques et zootechniques peuvent être utilisés pour sélectionner les animaux à traiter. Les individus en mauvais état général, maigres ou immatures, ou présentant une baisse de production seront traités. Ainsi, la note d'état corporel, le niveau de souillure de l'arrière-train par la diarrhée, le gain moyen quotidien ou encore la couleur des muqueuses et la présence d'œdème sous-glossien sont des indicateurs qui peuvent être utilisés. L'indice FAMACHA© est un indicateur clinique permettant de diagnostiquer une anémie sur la base de la couleur de la muqueuse du sac conjonctival. Cet indice est utilisable uniquement dans les régions où *H. contortus* est le SGI le plus fréquent et sur les brebis, la sensibilité de cet indice étant faible chez les agneaux (Cintra et al. 2018). Il a été développé en Afrique du Sud et validé aux Etats-Unis, au Royaume-Uni et au Brésil (Abott et al., 2012 ; Maqbool et al., 2016 ; Cintra et al., 2018) et est, lorsque les conditions sont réunies, considéré comme l'un des meilleurs critères de sélection. Cependant certains parasitologistes émettent des réserves sur l'efficacité de cet indice. Il n'est pas utilisable en France métropolitaine car les nématodes hématophages ne sont pas les parasites majoritaires (Jacquiet, 2015). Les primipares peuvent également être candidates au traitement puisque leur excrétion d'œufs est particulièrement marquée autour de l'agnelage (Jacquiet, 2015). Par ailleurs, il suffit de laisser 10% du lot non traité pour préserver la population refuge (Abott et al., 2012).

Pour administrer le traitement de manière efficace et sûre, la dose du groupe traité doit être basée sur l'individu le plus lourd afin d'éviter un sous-dosage (Abott et al., 2012).
L'anthelminthique le plus approprié est celui dont le spectre d'action est le plus étroit possible. Par exemple, le closantel ou le nitroxynil pourront être utilisé dans la lutte contre *H. contortus* et les BZ contre *Nematodirus* (Abott et al., 2012) (Tableau II).

3. Utilisation de différentes classes d'anthelminthiques : combinaison ou rotation ?

a) L'alternance des classes d'anthelminthiques

La rotation de différentes classes d'anthelminthiques en tant que moyen de retarder le développement de la résistance ne fait pas l'unanimité au sein de la communauté scientifique. Pendant longtemps cette stratégie était conseillée aux éleveurs car elle se basait sur le fait qu'une réversion, ou du moins une baisse de la fréquence de l'allèle résistant, était possible si la classe n'était pas utilisée par diminution de la valeur sélective (*fitness*) des vers résistants. En effet, en l'absence de pression anthelminthique, le coût associé à cette résistance serait désavantageux pour les vers qui la portent par rapport au vers susceptibles ; leur capacité de résistance pouvant se payer sur leur potentiel reproducteur. Telle est l'hypothèse émise par Leathwick en 2013. Cependant cette stratégie ne fonctionnerait qu'aux prémices de la résistance lorsque la fréquence de l'allèle résistant est très basse. La résistance aux BZ étant déjà largement distribuée sur le territoire britannique et celles au LEV et aux LM étant croissantes, le SCOPS considère que la rotation de classes d'anthelminthiques n'est plus efficace (Abott et al., 2012).

Certains parasitologues appellent même à l'arrêt de cette pratique (Shalaby, 2013). En France, la rotation de classes d'anthelminthiques reste d'actualité (Paraud, 2015).

b) La combinaison d'anthelminthiques

Il existe une controverse quant à l'utilisation de différentes classes d'anthelminthiques en combinaison simultanée. Certains pensent que cela retarderait l'apparition de résistance. Le principal objectif est d'assurer l'efficacité du traitement contre des vers résistants à un ou plusieurs composants de la combinaison. Différents mélanges de BZ, LEV, LM ou closantel existent mais ne sont pas disponibles partout (Besier et al., 2016). C'est aussi la synergie des composés qui est recherchée dans les combinaisons. Ainsi, les molécules doivent agir sur la même cible, au même moment et avec un mécanisme d'action différent (McKellar et Jackson, 2004 ; Shalaby, 2013). L'association DQL + ABA semble être un exemple de combinaison synergétique efficace, les molécules agissant toutes deux sur les nAchR (Puttachary et al., 2013). La résistance à l'ABA est connue et fréquente alors qu'en association avec le DQL, aucune résistance n'est rapportée (Sales et Love, 2016). L'étude de Geurden et ses collaborateurs (2012) menées sur 4 fermes en Angleterre met en évidence l'efficacité de cette combinaison contre des vers multirésistants *T. circumcincta.* En effet, le FECRT est inférieure à 95% pour IV, FBZ et LV alors qu'il est supérieur à 98% pour DQL + ABA. De plus, Sales et Loves (2016) montrent que l'efficacité du MPL sur les *H. contortus* ayant précédemment survécu à un traitement à base d'ABA ou de MOX, passe de 10% à 29% et de 10% à 51% respectivement ce qui, selon les auteurs, renforce l'intérêt des combinaisons d'anthelminthiques.

En revanche, d'autres pensent que les combinaisons d'anthelminthiques renforcent le risque de développer des vers multi-résistants. Des travaux suggèrent que la résistance aux LM prédispose celle aux BZ alors même que les cibles sont différentes. L'analyse génétique des isolats d'*H. contortus* sauvages ou de laboratoire résistants à IVM et/ou MOX a mis en évidence une fréquence plus élevée des mutations F200Y et F167Y de l'isotype 1 de la β-tubuline, que les isolats sensibles aux LM. Cette potentielle résistance croisée remet en question l'association BZ/LM en combinaison (Mottier et Prichard, 2008).

c) Les recommandations du SCOPS

Le SCOPS (*Sustainable Control Of Parasites in Sheep*) est un groupe d'experts au Royaume-Uni qui a pour objectif de développer des stratégies durables pour contrôler le parasitisme dans un contexte où la résistance aux anthelminthiques est considérée comme un des plus gros défis de la santé et de la rentabilité futures de la filière ovine (Terms of Reference for SCOPS, 2018). Leurs dernières recommandations représentent un compromis quant à l'utilisation des combinaisons d'anthelminthiques : elles doivent être limitée à la quarantaine. En effet, l'arrivée de nouveaux individus dans un élevage est un moment clef où le risque d'importation de résistance dans l'élevage est élevé. Le traitement doit être efficace. L'association de deux molécules à large spectre et à faible niveau de résistance sur le territoire est conseillée comme par exemple l'association MOX + Zolvix® ou MOX + Startec® (Abott et al., 2012).

d) Quelle stratégie utiliser ?

Un modèle mathématique compare l'efficacité de la rotation annuelle et de la combinaison de deux classes d'anthelminthiques différentes pour retarder le développement de la résistance. Les variables prises en compte sont l'ampleur du coût associé à la résistance ou « *fitness cost* », la fréquence initiale de gènes de résistance dans la population et la part de la population refuge. Il en ressort que la résistance se développerait plus lentement avec une combinaison plutôt qu'avec une rotation d'anthelminthique. En effet, si les gènes de résistance ont un coût sur la valeur sélective des vers, alors ceux qui survivent à la suite d'une combinaison d'anthelminthiques sont des vers multi-résistant qui ont par conséquent plusieurs gènes de résistance et donc un coût reproducteur encore plus important (Leathwick, 2013).

4. Gestion des pâtures

Plusieurs stratégies de gestion des pâtures existent et permettent de diminuer la contamination du milieu.

La première s'appelle « l'évasion » et consiste à déplacer les animaux vers une autre parcelle avant que la pression d'infestation ne soit trop importante. Cela évite en outre le surpâturage et donc une ingestion d'herbe à proximité des fèces augmentant les risques d'infestation. Cette parcelle pourra être neuve ou préalablement assainie. L'assainissement peut se faire par sa mise au repos prolongée pendant 3 mois à 1 an, durée correspondant à la survie des larves en milieu tempéré, ou encore par retournement de la terre par labour tous les 2-3 ans. Seront donc exploitées en premier, lors de la mise à l'herbe au printemps ou lors de rotation de pâture, les parcelles inutilisées à l'automne dernier, neuves ou labourées.

La seconde stratégie est « la dilution ». Elle repose sur la présence au pâturage d'hôtes alternatifs réfractaires (espèce différente non sensible) ou plus résistants qui élimineraient les L3 ingérées. Ainsi, du fait de la faible quantité d'espèces parasitaires communes, un pâturage mixte ou alterné bovins/ovins est possible.

Enfin « la prévention » est une stratégie qui consiste à limiter l'exposition parasitaire des individus non immuns ou dont l'immunité concomitante est encore insuffisante pour faire face à une pression d'infestation trop importante. Ainsi, les agneaux seront placés préférentiellement sur une parcelle saine ou peu contaminée ayant, par exemple, hébergé des brebis sans agneaux (Hoste et Chartier, 2002 ; Cabaret et al., 2002 ; Paraud, 2015 ; Maqbool et al., 2016 ; Hodgkinson et al., 2019).

Pour préserver la population refuge, la pratique « *drug and move* » est interdite. Cependant si la pâture est très contaminée et que les individus n'ont pas l'immunité suffisante, le SCOPS recommande de rester 4 à 7 jours sur la pâture après traitement avant le changement de pâture de sorte que la réinfestation soit faible mais suffisante pour ensemencer la future parcelle « propre » de vers sensibles (Abott et al., 2012 ; Paraud, 2015).

5. Alternatives thérapeutiques

a) Les champignons prédateurs/endoparasites des nématodes

Parmi les alternatives au traitement anthelminthique ou en combinaison pour limiter leur utilisation, on trouve la lutte biologique. Il s'agit d'utiliser des champignons pouvant parasiter ou piéger les formes libres des nématodes (Figure 15). Plusieurs espèces fongiques existent mais ce sont surtout les spores d'*Arthrobothrys oligospora* et *Duddingtonia flagrans* qui sont à l'étude du fait de leur capacité à survivre et à germer dans les fèces après passage au sein du tractus digestif de l'hôte. Leur distribution prolongée de 6 à 8 semaines via l'alimentation est recommandée en début de saison de pâture. L'efficacité de cette méthode est supérieure à 70% pour les parasites des ovins (Hoste et Chartier, 2002 ; Ketzis et al., 2006).

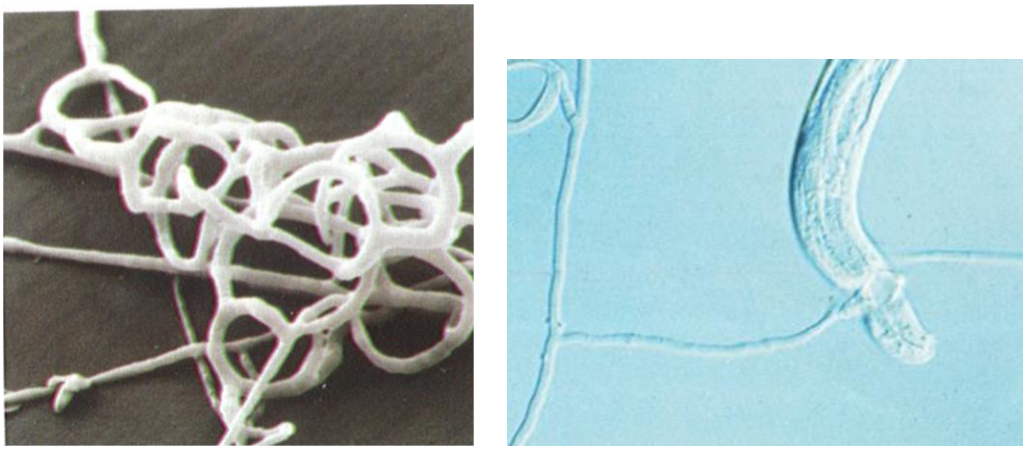


Figure 15. *À gauche : Filaments de Duddingtonia flagrans s'organisant en réseau tridimensionnel pour piéger les larves de parasites dans les fèces observés au microscope à balayage. Cliché de B.Nordbring-Hertz et d'après Hoste et Chartier 2002. À droite : Larve de strongle « étranglée » par un filament de D. flagrans. Cliché de B.A. Jaffer et d'après Hoste et Chartier, 2002.*

b) Les huiles essentielles

La phyto-aromathérapie s'avère être une alternative envisageable. En effet, certaines huiles essentielles ont montré une activité anthelminthique *in vitro* sur différents stades de développement de *H. contortus.* Cette activité est permise par les terpènes et terpenoïdes présents dans les huiles essentielles de citron vert lime, de camomille et de lavande mais aussi par le thymol présent dans l'huile essentielle de thym, toutes utilisées en médecine traditionnelle. Cependant leur efficacité *in vivo* reste à démontrer puisque se pose le problème de la biodisponibilité et des possibles destruction et insolubilité de ces molécules dans le rumen (Ferreira et al., 2016 ; Ferreira et al., 2018).

c) Augmentation de l'efficacité des anthelminthiques par l'administration de lopéramide

Les glycoprotéines-P (gp-P) ou pompes d'efflux, participent au mécanisme de résistance des nématodes aux anthelminthiques et en particulier aux lactones macrocycliques (LM). Ainsi, l'inhibition ou la modulation de l'activité de ces transporteurs est une possible stratégie thérapeutique pour reverser la résistance (Kotze et al. 2014). La co-administration de lopéramide (LOP), opioïde et modulateur des gp-P, et d'IVM améliore l'efficacité de l'IVM in vivo sur des vers résistants. En effet, la biodisponibilité de l'IVM augmente de 41% après administration de LOP sans effet neurotoxique associé. La charge parasitaire i.e le nombre d'adultes présents dans le tractus digestif, est d'avantage réduite à la suite de cette association (Figure 16). De plus, l'efficacité du traitement, évaluée par le FECRT, passe de 78,6%, en employant l'IVM seule, à 96% en employant l'association IVM + LOP. La réduction fécale d'œufs passe également de 0% après administration d' IVM seule à 72,5% après admistration conjointe d'IVM et de LOP sur *H. contortus*. Ces résultats sur les isolats d'*H. contortus* hautement résistants pourrait s'expliquer par une diminution de leur mécanisme d'efflux, mécanisme associé à une résistance à l'IVM. Par conséquent, le LOP permet d'augmenter le contact de l'IVM avec sa cible en augmentant sa biodisponibilité chez l'hôte mais aussi en évitant son élimination au sein des vers résistants (Lifschitz et al., 2010).

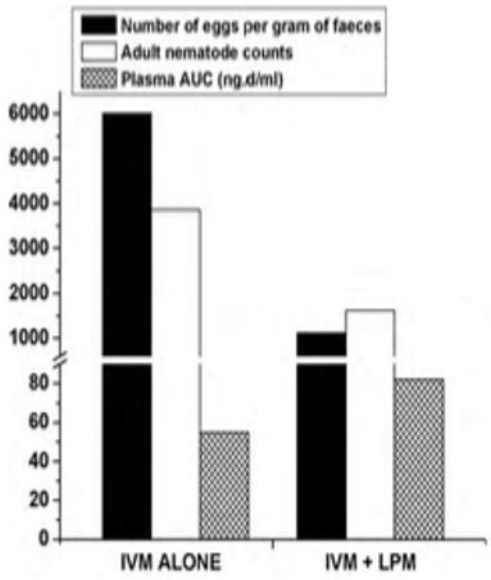


Figure 16. *Relation entre le nombre d'œufs par gramme de fèces (noir), la charge parasitaire (blanc) et la biodisponibilité de l'ivermectine (grisé) obtenus après administration en sous-cutané d'ivermectine (IVM) seule (à gauche) ou en combinaison avec du lopéramide (LPM) (à droite) chez des agneaux infestés par des vers résistants. D'après Lifschitz et al., 2010.*

6. Améliorer la résistance de l'hôte par la sélection génétique

La résistance génétique d'un hôte à l'infestation par les SGI se définit comme sa capacité à limiter la taille de la population vermineuse hébergée en prévenant l'installation des larves, en provoquant l'élimination rapide des adultes et en limitant leur reproduction (De la Chevrotière et al., 2011 ; Moreno-Romieux et al., 2017).

Sélectionner des individus résistants permet donc de diminuer la charge parasitaire, les signes cliniques et la contamination de la pâture. L'indicateur utilisé pour évaluer cette résistance est le nombre d'œufs excrétés par gramme de fèces ou « *Fecal Egg Count* » (FEC). C'est une estimation indirecte de la charge parasitaire, le mieux étant d'avoir directement le nombre de vers installés. Cependant ce dernier est un indicateur qui n'est pas applicable dans les programmes de sélection génétique puisqu' il s'évalue en post-mortem. Le FEC est un critère fiable ayant une héritabilité modérée entre 0,2 et 0,4 chez les ovins. Le protocole de phénotypage est bien défini mais sa lourdeur et son coût ne permettent pas de l'envisager sur les animaux de ferme. Le principe étant de mesurer le FEC hors pâturage suite à deux infestations expérimentales d'un SGI avec une dose précise de L3 sur des animaux immunitairement naïfs (De la Chevrotière et al., 2011 ; Moreno-Romieux et al., 2017).

La corrélation de la résistance génétique, évaluée par le FEC, entre l'infestation naturelle et l'infestation expérimentale est forte, ainsi que celle entre différentes espèces de parasites et entre les différents stades de production. Ainsi, une agnelle sélectionnée donnera une brebis ayant une intensité et une durée de pic d'excrétion d'œufs moindre autour du part et ce pour tous les SGI. De plus, la sélection de ce caractère n'influe pas sur les autres caractères sélectionnés comme les caractères de production par exemple (De la Chevrotière et al., 2011 ; Moreno-Romieux et al., 2017).

D'autres méthodes plus pratiques d'évaluation de la résistance ont été étudiées. Parmi elles, on trouve la mesure de l'immunité contre les SGI via les IgA. Cependant la corrélation entre le taux d'IgA anti-CarLA salivaires et le FEC est faible et s'expliquerait par le fait que la réaction immunitaire ne se met en place qu'en présence des L3 et pas des adultes (Shaw et al., 2012), CarLA étant un antigène immunogène de l'épicuticule des L3 (Harrisson et al., 2003 a, b, 2008). En 2019, Fairlie-Clarke et al. mesurent les IgA salivaires spécifiques d'Ag de L3 de *T. circumcincta* par ELISA sur 5000 Lleyns et montrent également une corrélation faible avec le FEC (r = - 0,26). Pourtant, ils montrent aussi une héritabilité de ce caractère deux fois supérieure à celle du FEC mesurée, ce qui d'après les auteurs, serait un paramètre plus efficace quant à l'évaluation des individus résistants.

Dans le cadre de la co-évolution hôte/parasite et de la fameuse « course aux armements », le risque de sélectionner des individus résistants est de faire évoluer des nématodes plus virulents. C'est particulièrement le cas pour *H. contortus* car sa forte variabilité génétique lui donne des capacités adaptatives importantes (Moreno-Romieux et al., 2017 ; Combes et al., 2018).

7. Améliorer la résistance et la résilience de l'hôte par l'alimentation

La qualité de l'alimentation joue également un rôle important dans la résistance et la résilience des hôtes.

La résilience se définie comme la capacité de l'hôte à maintenir ses constantes biologiques et son niveau de production malgré l'infestation (Moreno-Romieux et al., 2017). Une supplémentation en protéine (tourteaux de soja ou de tournesol, farine de graines de cotton ou de poisson…) améliore ces deux paramètres. Une supplémentation protéique de 20 à 25% par rapport à la ration de maintenance chez les agneaux en croissance et les brebis autour du part suffit à augmenter leurs productions et leur immunité (Ketzis et al., 2006). L'étude de De Montellano et ses collaborateurs (2007) met en évidence une diminution de la taille et de la prolificité des femelles de *Haemonchus* et *Trichostrongylus* chez le groupe de chevreaux à l'herbe complémenté en sorgo et en soja. De même, le groupe d'agneaux recevant une ration complète à faible taux protéique présente une mortalité et des signes cliniques plus importants suite à l'infestation par *H. contortus* par rapport au groupe recevant une ration riche en protéines (Abott et al., 1986).

Par ailleurs, certains fourrages sont bio-actifs, ils possèdent des métabolites ayant une activité anthelminthique. Parmi eux, se trouvent majoritairement les tanins condensés (TC) issus des plantes ligneuses (chêne, tamarin, légumineuses comme les trèfles, les lotiers ou le sainfoin). Cette activité est décrite depuis les années 60 mais le contexte actuel leur donne un regain de popularité. Les TC sont des oligomères ou polymères de favan-3-ols. Ils agissent de manière directe et indirecte sur les parasites. En effet, ils diminuent l'installation larvaire, le nombre d'adultes et la ponte (Ketzis et al., 2006 ; Hoste et al., 2012). L'exposition des nématodes aux TC provoquent une déformation de leur cuticule et une dégénérescence musculaire (Klongsiriwet et al., 2015) (Figure 17). Les TC agissent aussi de manière indirecte sur les parasites en améliorant l'immunité de l'hôte. En effet, ils protègent les protéines de la dégradation ruminale ce qui augmente leur absorption dans le tractus intestinal. Par conséquent, la résistance des individus aux SGI est améliorée. Les groupes de moutons pâturant du fourrage riche en TC ont une diminution du FEC de près de 50% par rapport aux groupes contrôles. Cependant, les TC auraient des effets anti-nutritifs (diminution de la digestibilité de la ration et de la prise alimentaire) : les animaux sont moins parasités donc moins malades mais ne produisent pas forcément plus (Ketzis et al., 2006 ; Hoste et al., 2012).

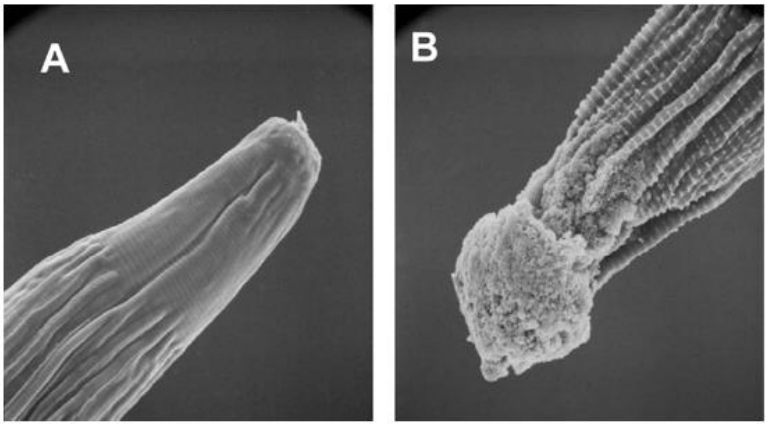


Figure 17. *Observation de la partie céphalique de H. contortus au microscope électronique à balayage. A = contrôle, B = après contact in vitro avec des extraits de Lysiloma latisiliquum, légumineuse riche en tannins condensés. On peut observer une agrégation des extraits en région buccale ainsi qu'un changement de la cuticule. D'après Klongsiriwet et al., 2015.*

Souvent, les plantes contenant des TC contiennent aussi d'autres flavonoïdes comme la quercétine et la lutéoline. Les travaux *in vitro* de Klongsiriwet et al. (2015) montrent pour la première fois une action inhibitrice synergique des TC associés à l'une ou l'autre de ces deux molécules sur la L3 de *H. contortus*. Le mécanisme anthelminthique n'est pas encore connu mais une accumulation de produits métaboliques à l'origine d'une toxicité cellulaire est suspectée, la quercétine étant un inhibiteur connu des gp-P. Récemment, l'équipe de Doligalska (2017) met en évidence une activité anti-nématode des saponines stéroïdes (avénacosides A et B) contenus dans l'Avoine cultivée, *Avena sativa*. Leurs tests in vivo chez des souris infestées par *Heligmosomoides bakeri*, nématode modèle des SGI, montre que les L3 infestantes préalablement exposées au dérivé de l'avénacoside B, la 26-desglucoavénacoside B, provoque une diminution de leur infectivité. La charge parasitaire est alors diminuée et le taux d'IL-4 contenu dans le liquide péritonéal des souris est nettement augmenté (Figure 18). Or, pour rappel, l'IL-4 est une cytokine reflétant l'immunité induite par la présence du nématode. Les auteurs suggèrent ainsi une perte de l'action immunorégulatrice du nématode.

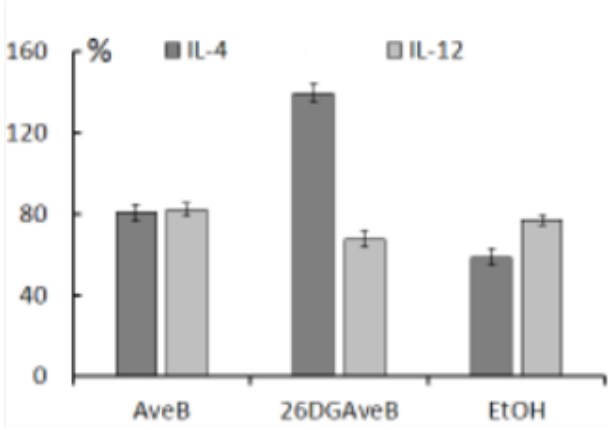


Figure 18. *Taux de production de cytokines (IL-4 et IL-12) dans la cavité péritonéale de souris infestées par* H. bakeri *et traitées avec les saponines de* A. sativa *par rapport au même taux produit chez les souris non infestées (Ave B = avénacoside B, 26DGAveB = 26-desglucoavenacoside B, EtOH = éthanol). Modifié d'après Doligalska et al., 2017.*

8. Effets de la lutte intégrée sur les strogyloses ovines

L'étude de Learmount et ses collaborateurs (2015) évalue les effets des recommandations du SCOPS par rapport au contrôle traditionnel des strongyloses ovines. Le GMQ et la charge parasitaire sont monitorés sur 40 à 50 agneaux depuis leur naissance jusqu'à l'abattage sur 8 fermes traditionnelles et 8 fermes suivant les recommandations du SCOPS au Royaume-Uni. Il en ressort une absence de différences significatives entre les deux pratiques. La réduction de l'emploi des anthelminthiques n'a donc pas d'impact sur la production et le niveau d'infestation ce qui constitue un argument intéressant pour les éleveurs qui seraient encore réticents à réduire leur consommation d'anthelminthiques par crainte de perdre en production.

IV. Transmission de strongles résistants aux populations de ruminants sauvages

A. Circulation de parasites entre les hôtes sauvages et domestiques

1. Augmenter son spectre d'hôte : le passage des filtres de rencontre et de compatibilité

Le parasitisme consiste pour un organisme « à retirer de l'énergie d'un autre organisme sans pour autant qu'il soit mort, qu'il soit une proie ou qu'il en retire lui-même un quelconque avantage » (Combes et al., 2018). Qu'il s'agisse de virus, bactéries, helminthes, arthropodes ou plantes, le parasitisme représente le mode de vie le plus courant sur Terre. Depuis le XIXème siècle, l'idée que les interactions hôte-parasite évoluent dans une seule direction à savoir l'hyperspécialisation du parasite à son hôte est répandue. Cependant il a été montré que les parasites généralistes étaient souvent issus de parasites spécialistes. Le modèle un parasite pour un hôte en coévolution est donc remis en question, l'association entre les deux organismes étant plus labile que prévu. En effet les changements d'hôtes sont fréquents et peuvent se faire rapidement en l'espace de 2 jours minimum (Agosta et al., 2010).

Pour que le parasite puisse exploiter un nouvel hôte, des filtres successifs sont à franchir. Les premiers constituent les filtres de rencontre : l'hôte doit d'abord habiter dans le même écosystème que son potentiel parasite puis doit entrer concrètement en contact avec ses stades infestants. Les hôtes candidats qui pour des raisons comportementales ne peuvent interagir avec le parasite ne sont pas retenus par ce second filtre dit éthologique (Combes et al., 2018). L'opportunité de la rencontre entre l'hôte et le parasite se fait à la suite d'une perturbation écologique ou d'une rupture de barrière physique ou biologique qui empêchait leur contact. L'intervention de l'homme dans un environnement telle que l'introduction d'animaux domestiques pour l'agriculture ou d'animaux sauvages pour leur conservation constituent des perturbations écologiques (Hoberg et Zarlenga, 2016).

Pour compléter le changement d'hôte, le parasite doit posséder les aptitudes à exploiter le nouvel hôte. Il devra avoir les caractères permettant d'identifier un organisme en tant qu'hôte afin d'initier le processus de nutrition en étant capable d'absorber, digérer puis métaboliser la nouvelle ressource et de déclencher la ponte tout en se protégeant du système immunitaire inné de l'hôte par des mécanismes de défense ou d'évasion (Agosta et al., 2010 ; Combes et al. 2018). Il s'agit ici de franchir les filtres de compatibilité nommés successivement « angle d'exigence du parasite » et « évasion immunitaire » (Combes et al., 2018).

Enfin, le changement d'hôte est possible si le parasite est doté d'une plasticité phénotypique préexistante allant au-delà de la gamme de conditions dans laquelle il s'est primairement développé lui permettant de s'installer dans le nouveau micro-habitat. Le parasite est comme « pré-adapté » à son nouvel hôte, ce dernier pouvant partager avec l'hôte de départ des caractères identiques voire très similaires ou ayant déjà été exploité dans le passé. Cette tolérabilité nommée « *sloppy fitness space* » ainsi que les traits acquis et conservés au cours de

son évolution permet au parasite d'élargir rapidement son spectre d'hôtes en dehors de tout degrés de spécificité d'hôte (Agosta et al., 2010) (Figure 19).

Par ailleurs, Agosta et son équipe (2010) remettent en cause les termes de parasite « généraliste » et « spécialiste » souvent vaguement définis dans les publications. En effet, la spécificité d'hôte est de manière générale mesurée au nombre d'hôtes du parasite. Walker et Morgan (2014) définissent le parasite généraliste ainsi : « une espèce parasite capable de survivre et de se reproduire dans plus d'un type d'hôte à un stade donné de son cycle de vie ». Or, les parasites ne sont pas adaptés à des hôtes mais à un ensemble de ressource déterminant une niche écologique. Une même ressource peut se retrouver au sein de différents hôtes plus ou moins similaires donc du point de vue du parasite il n'y aura pas de distinction d'hôte. Le concept de spécificité d'hôte doit donc prendre en compte les dimensions de la niche écologique et donc des différentes ressources qui la composent. Il est possible de rencontrer de « faux généralistes » qui sont plutôt des « poly-spécialistes » et de « faux spécialistes » qui sont plutôt de vrais généralistes mais restreints à un faible nombre de ressources à cause de facteurs écologiques tels que le climat local ou la compétition interspécifique (Figure 19).

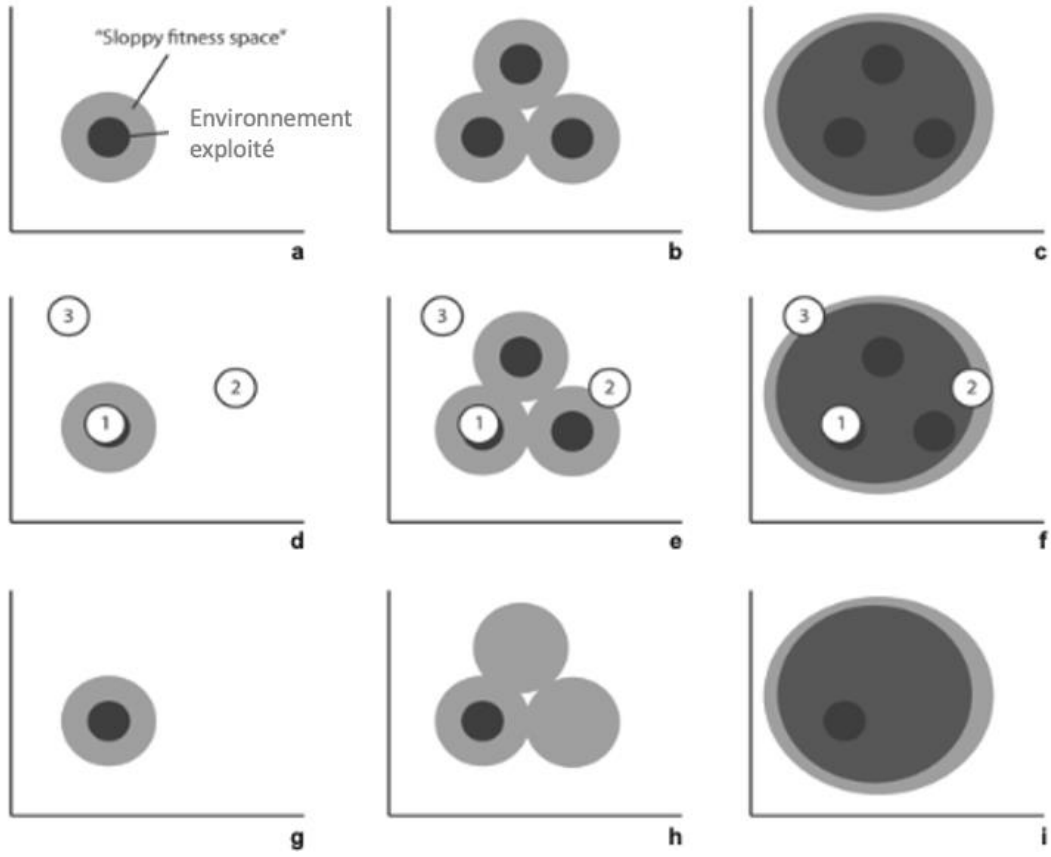


Figure 19. *Illustration schématique d'un environnement en 2 dimensions exploité par le parasite et correspondant à son hôte ancestral (cercle noir). Le « sloppy fitness space » permet au parasite de tolérer un environnement en dehors de sa « zone de confort », autrement dit en dehors des conditions de l'environnement usuellement exploité et auquel il est adapté.*
Les schémas a, d et g illustrent un parasite spécialiste adapté à un seul hôte.

Les schémas b, e et h illustrent un poly-spécialiste c'est à dire un parasite qui s'est adapté indépendamment à trois autres hôtes (les deux autres cercles noirs avec leur « sloppy fitness space ».
Les schémas c, f et i illustrent un vrai généraliste possédant une vaste niche écologique avec des capacités de reconnaissance et de tolérance de l'hôte lui permettant d'exploiter n'importe quel hôte se trouvant dans la zone gris foncé.
Les cercles numérotés sur les schémas d, e et f représentent trois nouveaux hôtes. Le spécialiste du schéma d peut coloniser l'hôte 1, qui est plus ou moins similaire à l'hôte ancestral, mais pas les hôtes 2 et 3. Le poly-spécialiste du schéma e peut coloniser l'hôte 1 mais aussi l'hôte 2 qui tombe dans son aire de « sloppy fitness space ». Le généraliste du schéma f peut coloniser les trois hôtes.
Dans les schémas g, h et i, un seul hôte est disponible, les trois parasites apparaissent spécialistes mais ont une histoire évolutive et une écologie qui leur sont propres.
D'après Agosta et al., 2010.

2. Application aux strongles gastro-intestinaux des ovins

La transmission de nématodes entre les populations domestiques et sauvages intéresse la communauté scientifique depuis les années 1930. En effet la particularité de leur cycle de vie, se composant d'une phase libre à l'extérieur, facilite la transmission du parasite à d'autres espèces, notamment celles vivant en sympatrie avec l'hôte ancestral (Walker et Morgan, 2014). Il n'est pas rare d'apercevoir des ruminants sauvages sur les aires de pâturage de ruminants domestiques (Verheyden et al., 2020). Pour compléter les filtres de rencontre, l'hôte devant être en contact avec les formes infestantes, les conditions climatiques doivent respecter une certaine température et une certaine humidité permettant l'éclosion des œufs, la survie et le développement des larves. Par exemple, la rencontre entre les stades infestants de *H. contortus* et le chamois des Alpes dans la province de Lecco est permise par des conditions climatiques particulières. En effet, l'altitude basse et les températures chaudes qu'offre cette région autorisent la survie des formes libres de *H. contortus*, d'habitude peu résistantes au climat alpin. C'est l'inverse pour les espèces de *Marshallagia* sp. qui, étant plus adaptées au froid, sont normalement présentes sous les conditions climatiques alpines mais absentes dans cette région (Citterio et al., 2006). Ainsi, en broutant sur les mêmes aires, les ruminants sauvages peuvent se contaminer par voie oro-fécale en ingérant les L3 des SGI ovins et vice-versa.

L'importante capacité adaptative de certaines espèces de trichostrongylides telles que *H. contortus* (Chaudry et al., 2015) leur permet au fur et à mesure des rencontres avec le nouvel hôte de traverser les filtres de compatibilité leur laissant ainsi la possibilité de s'installer et de l'exploiter durablement (Combes et al., 2018 ; Zaffaroni et al., 2000 ; Cerutti et al., 2010).

Bien que le mouton soit son hôte principal, *H. contortus* est considéré comme un parasite généraliste car il possède un spectre d'hôte très large au sein duquel se trouvent 40 genres d'artiodactyles distribués aux quatre coins du monde (Walker et Morgan, 2014 ; Hoberg et Zarlenga, 2016) (Figure 20). Il est présent depuis les Alpes italiennes chez le bouquetin (*Capra ibex ibex*), le chamois (*Rupicapra rupicapra*), le chevreuil (*Capreolus capreolus*) ou encore le cerf (*Cervus elaphus*) (Zaffaroni et al., 2000 ; Cerutti et al., 2010 ; Citterio et al., 2006) jusqu'en Mauritanie chez le zébu (*Bos taurus indicus*) (Jacquiet et al., 1998) en passant par les steppes arides du Kazakhstan chez l'antilope saïga (*Saiga tatarica*) (Morgan et al., 2007). Ce parasite prend ses origines au Miocène, en Afrique, au sein d'ongulés tels que les antilopes avec des

formes libres pouvant survivre aux différents milieux arides à mésiques de la savane. Ces contraintes environnementales historiques pourraient expliquer ses adaptations écologiques dans les différentes aires géographiques rencontrées et par conséquent sa diffusion. Le spectre d'hôtes actuel de *H. contortus* reflète son histoire évolutive (Figure 20). En effet, les processus de changement d'hôte, d'introduction de cet hôte sur des continents hors d'Afrique puis d'invasion à d'autres espèces d'hôtes témoignant des routes commerciales et culturelles précoces, de l'agriculture, et des colonisations, expliquent cette diversité.
Bien que les trois haemonchinés *H. contortus, H. similis* et *H. placei* aient connu les mêmes évènements anthropologiques, *H. contortus* a en plus la particularité de posséder le « *sloppy fitness space* » le plus large ce qui lui permet de faciliter le processus de changement d'hôte (Hoberg et Zarlenga, 2016).

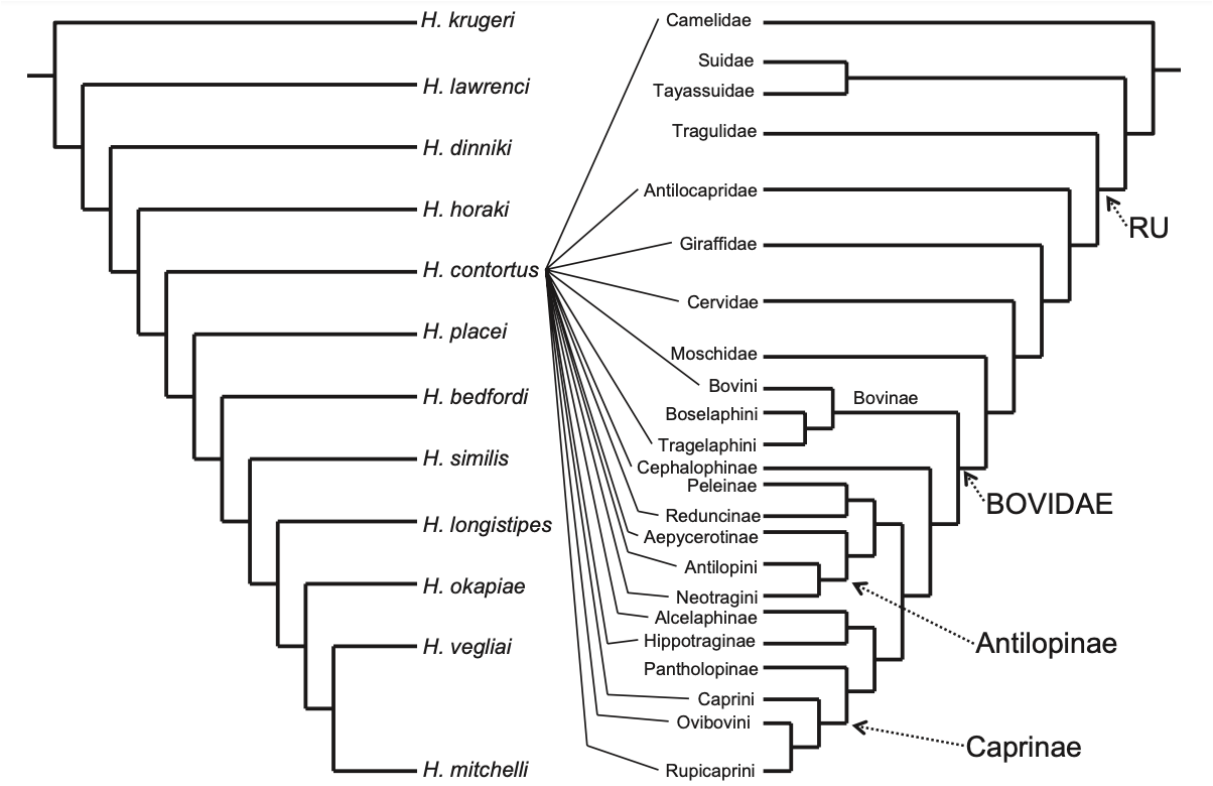


Figure 20. *Perspective phylogénétique du spectre d'hôte d'H. contortus au sein des ongulés. D'après Hoberg et Zarlenga 2016.*

3. Transmission aux populations sauvages

Les SGI peuvent être considérés comme des indices d'interactions indirectes entre les populations d'hôtes (Citterio et Lanfranchi, 2006). De nombreuses études utilisent la parasitologie descriptive en comparant les espèces de SGI présentes chez le bétail et celles présentes chez les populations sauvages (Figure 21). Cependant, les parasites en commun ainsi mis en évidence ne pourront que suggérer une transmission entre les hôtes sans pour autant la prouver. Pour cela, seules les analyses génétiques et les transmissions expérimentales sont adaptées (Walker et Morgan, 2014).

a) La parasitologie descriptive

(1) Identification post-mortem

L'examen du contenu intestinal de 218 chevreuils du nord-ouest de la péninsule ibérique met en évidence un fort degré de parasitisme. En effet, 20 espèces différentes de nématodes sont identifiées et la totalité des caillettes sont infestées par 2 espèces différentes au minimum. De plus, la présence des genres *Chabertia*, *Haemonchus* et *Teladorsagia*, parasites infestant ordinairement les ovins, suggère un partage de la pâture et le possible rôle des chevreuils en tant que réservoir sauvage dans cette région (Pato et al., 2013).

La méta-analyse de Walker et Morgan (2014) évalue 241 articles publiés de 1982 à 2009 s'intéressant à la transmission des nématodes entre les ongulés domestiques et sauvages, 31% des publications étant réalisées en Europe. Au total, 412 espèces de nématodes sont rapportées chez 76 espèces sauvages et 8 espèces domestiques. Les parasites spécifiques représentent moins de la moitié des parasites présents chez une espèce donnée alors que la part de parasites partagés entre ongulés domestiques et ongulés sauvages est élevée. Chez le chamois, 41 espèces sont recensées dont 3 sont spécifiques du chamois, 25 sont partagées avec les ongulés domestiques et 13 avec d'autres ongulés sauvages. Chez le bouquetin des Alpes, 16 sont recensées et 12 sont partagées avec les ongulés domestiques, le reste étant partagé avec les ongulés sauvages.

Espèces	*C. capreolus* (*N*=280)			*C. elaphus* (*N*=76)			*O. aries* (*N*=19)			*O. musimon* (*N*=29)			*R. rupicapra* (*N*=101)			*C. ibex* (*N*=155)		
	Cervidae			*Cervidae*			*Bovidae*			*Bovidae*			*Bovidae*			*Bovidae*		
	P	A	I	P	A	I	P	A	I	P	A	I	P	A	I	P	A	I
Spiculopteragia spiculoptera	85	189.3	37.800	70	66.9	94.770							8	3.1	0.274			
Ostertagia leptospicularis	86	223.4	45.177	34	5.4	3.765							12	3.4	0.448	1	0.1	0.000
Rinadia mathevossiani	28	7.3	0.478	17	2.6	0.900							1	0.1	0.001			
Ostertagia kolchida	69	71.5	11.514	13	2.0	0.538							3	0.4	0.013			
Teladorsagia circumcincta	12	13.0	0.372				74	244.5	72.698	100	83.3	90.598	66	67.9	49.737	79	365.7	55.901
Teladorsagia trifurcata	3	2.2	0.017				47	13.6	2.595	38	3.0	1.237	23	3.7	0.923	25	8.2	0.386
Teladorsagia pinnata	3	0.5	0.003				37	3.1	0.462	55	7.9	4.759	21	5.0	1.136	32	12.2	0.758
Marshallagia marshalli	1	0.2	0.001				5	11.9	0.253	24	1.7	0.444	56	66.1	41.154	86	204.2	34.010
Marshallagia occidentalis	1	0.1	0.000				5	2.9	0.063	3	0.2	0.008	29	12.1	3.847	53	33.4	3.407
Ostertagia ostertagi	10	6.3	0.152				5	0.1	0.001	7	0.3	0.026				5	1.3	0.012
Haemonchus contortus	24	43.4	2.440	3	0.2	0.011	47	41.4	7.916				18	5.6	1.106	1	0.1	0.000
Trichostrongylus axei	29	19.0	1.278	3	0.3	0.018	42	75.9	12.893	3	0.3	0.012	20	5.1	1.125	33	45.2	2.862
Trichostrongylus capricola	25	12.9	0.767							14	1.0	0.155	6	1.1	0.071	17	12.2	0.395
Trichostrongylus vitrinus	1	0.0	0.000				32	22.8	2.910	14	1.1	0.171	9	1.5	0.143	38	22.0	1.610
Trichostrongylus colubriformis	1	0.0	0.000				16	3.3	0.208	10	0.7	0.078	2	0.2	0.005	4	16.1	0.120
Nematodirus filicollis							5	0.1	0.001	38	6.1	2.503	4	0.4	0.017	9	1.6	0.027
Nematodirus helvetianus																1	6.3	0.016
Nematodirus abnormalis										3	0.3	0.010				17	5.6	0.180
Nematodirus davtiani alpinus																12	14.2	0.318
Ostertagia lyrata	1	0.1	0.000															

Figure 21. *Exemple de parasitologie descriptive montrant la prévalence (P), l'abondance (P) et l'index d'importance (I) de différents helminthes de la caillette récoltés sur 76 cerfs élaphes (Cervus elaphus), 280 chevreuils (Capreolus capreolus), 101 chamois (Rupicapra rupicapra), 155 bouquetin des Alpes (Capra ibex), 29 mouflons (Ovis musimon) et 19 moutons (Ovis aries) tués ou retrouvés morts depuis les Alpes centrales (Valtellina, Engadin) aux Alpes de l'Est (Dolomites, Asiago). L'index d'importance évalue l'importance relative de chaque parasite au sein de l'helminthofaune de chaque hôte. D'après Zaffaroni et al., 2000.*

(2) Identification par séquençage haut débit : le némabiome

Une étude récente aux États-Unis analyse le némabiome (Avramenko et al., 2015) de 84 individus appartenant aux espèces sauvages suivantes : le cerf de Virginie, le wapiti, le cerf mulet et le caribou et le némabiome de 5 vaches (Figure 22). Les prélèvements fécaux sont soumis à une coproculture permettant d'obtenir des larves infestantes. L'extraction d'ADN des L3, la PCR puis le séquençage haut-débit de l'espaceur interne transcrit 2 (ITS-2) de l'ADN ribosomique permet de sélectionner les prélèvements contenant des nématodes communément trouvés chez les ruminants domestiques. Il en ressort que les strongles infestant typiquement et étant le plus adaptés aux ruminants domestiques composent également l'helminthofaune des 89 échantillons testés de ruminants sauvages. Parmi les échantillons de la faune sauvage, la prévalence d'*Ostertagia ostertagi* est de 55%, celle de *T. colubriformis* est de 35% et enfin, celle de *H. contortus* est de 24% (Barone et al., 2020).

Figure 22. *Proportion relative de différentes espèces de nématodes ou némabiome au sein de 89 prélèvements fécaux correspondant à 89 individus différents. D'après Barone et al., 2020.*

(3) Les analyses génétiques

Les enquêtes phylogénétiques sur les populations de *H. contortus* récoltées chez des ruminants domestiques et sauvages des Alpes ont permis de mettre en évidence deux haplotypes communs confirmant une transmission interspécifique (Cerutti et al., 2010). De plus, la comparaison des microsatellites de différentes populations d'*H. contortus,* collectées chez des ovins et des caprins de différentes fermes d'Inde du Sud, apporte une preuve supplémentaire quant à sa faible spécificité d'hôte. En effet, aucune différenciation génétique significative n'est trouvée

entre ces populations ce qui suggère un libre échange de ce parasite entre les deux espèces d'hôte via le mouvement des animaux entre les fermes (Chaudhry et al., 2015).

b) Les transmissions expérimentales

En Mauritanie il existe, durant la saison sèche, des zones de co-pâturage entre les dromadaires, les zébus, les moutons et les chèvres. Dans cette région, ces espèces sont le plus touchées par le genre *Haemonchus*. L'hôte usuel de *H. placei* est le zébu mais l'infestation est de faible intensité. En 1998, Jacquiet et ses collaborateurs testent la compatibilité de ce parasite avec ses hôtes potentiels, hôtes vivants en sympatrie avec l'hôte usuel, en évaluant après inoculation de L3, le taux d'installation larvaire, la prolificité des femelles, la capacité des œufs à éclore et enfin l'infectivité des L3. L'infestation expérimentale hétérologue de *H. placei* est un succès chez les chèvres et les moutons alors qu'elle prend fin chez le dromadaire. Ces résultats montrent qu'il y a bien une circulation croisée de *H. placei* entre les petits ruminants et les zébus dans cette région. Les données de terrain concordent avec ces résultats car près de 56% de la totalité des *H. placei* prélevés en post-mortem se trouvent chez les moutons et près de 34% chez les chèvres. Sachant que les conditions climatiques en Afrique de l'Ouest durant la saison sèche sont particulièrement hostiles, la survie de *Haemonchus* se fait à l'intérieur de l'hôte. Or, sa prévalence étant faible chez l'hôte usuel et sa transmission possible chez d'autres espèces, les auteurs de cette étude émettent l'hypothèse que l'augmentation du spectre d'hôte de *H. placei* est une stratégie de survie lui permettant d'augmenter la probabilité de rencontre entre ses stades infestants et les hôtes susceptibles.

L'inoculation de larves infestantes de *H. contortus* issues d'un cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*) sauvage chez des veaux et des agneaux permet d'obtenir une infectivité similaire à l'inoculation de cette même souche chez le faon. De même, avec l'infestation croisée de *H.contortus* issu d'un bovin chez un faon. Ces résultats montrent bien qu'il y a une transmission possible de *H.contortus* entre ces trois espèces (Mcghee et al., 1981).

4. Impact sur la santé des populations sauvages

La présence des nématodes gastro-intestinaux a un impact négatif sur les populations de ruminants sauvages. Les nématodoses ne sont pourtant pas à l'origine d'une forte mortalité mais elles affectent la santé et la dynamique des populations (Walker et Morgan, 2014 ; Segonds-Pichon et al., 2000).

Il est cependant difficile d'évaluer des taux généraux de mortalité et de morbidité chez les hôtes sauvages (Walker et Morgan 2014). En effet, les signes cliniques sont généralement frustes, peu spécifiques, et leur apparition dépend des interactions entre l'hôte et son parasite. Ces interactions sont influencées par l'espèce de l'hôte, son poids, son âge, son statut immunitaire, sa nutrition mais aussi les autres espèces parasites présentes et les conditions environnementales et les interactions avec les autres espèces. Ainsi pour chaque espèce, chaque situation doit être prise en compte et traitée de manière indépendante (Hoberg et al., 2001). Des disparités climatiques régionales (Pato et al., 2013 ; Citterio et Lanfranchi, 2006), d'habitat (Verheyden

et al., 2010) ou d'interactions interspécifiques (Bye et al. 1987) chez une même espèce sauvage suffisent à modifier l'intensité et la diversité du parasitisme. Par exemple, la composition de l'helminthofaune chez le chevreuil est la même au Royaume-Uni et aux Pays-Bas mais la proportion de chaque espèce varie considérablement (Dunn, 1965).

Quelques données sont cependant disponibles. L'infestation expérimentale d'*H. contortus* chez le cerf de Virginie montre qu'une charge parasitaire supérieure à 70 vers par kg de poids vif représente un seuil pour lequel il y a une diminution du taux d'hémoglobine et des protéines totales (Mcghee et al., 1981). De plus, une mortalité des chevreuils (*Capreolus capreolus*) est observée pour une charge parasitaire supérieure à 1000 adultes d'*H. contortus* (Hoberg et al., 2001). En effet, *H. contortus* est, avec *T. axei*, le nématode provenant du bétail le plus pathogène chez les ruminants sauvages (Zaffaroni et al., 2000 ; Citterio et al., 2006).
De plus, l'haemonchose apparaît comme une cause prédisposante à d'autres maladies. L'étude de Citterio et al. (2006) démarre en 1998 et s'étalera sur 5 ans à la suite des observations de chasseurs et de garde-forestiers rapportant un mauvais état corporel des chamois (*Rupicara rupicapra*) dans la province de Lecco en Italie. L'observation des animaux révèle en effet un mauvais état général des chevreuils avec pour certains des signes d'hémorragies des muqueuses et des œdèmes, les cas les plus graves se trouvant dans la zone B2, zone où l'alimentation se fait rare. L'analyse parasitaire sur les cinq années montre que *H. contortus* est l'espèce majoritaire avec un pic de prévalence jamais atteint pour l'année 2001. Une épidémie de pneumonie est enregistré la même année dans la zone B2 ravageant la population de chamois. La pneumonie étant une maladie multifactorielle, les auteurs suggèrent que l'haemonchose, en plus du facteur nutritionnel, a pu jouer un rôle dans cet évènement (Citterio et al., 2006).

Une corrélation négative significative entre la charge parasitaire et le statut nutritionnel des chevreuils a également pu être obtenue sur 44 chevreuils autopsiés, leur statut nutritionnel étant évalué par la quantité de gras autour des reins (Zaffaroni et al., 1997 ; Segonds-Pichon et al., 2000).

5. Facteurs influençant le parasitisme des populations sauvages

(1) Le climat

Les fluctuations climatiques peuvent influencer l'intensité et la diversité des macroparasites gastro-intestinaux (Citterio et Lanfranchi, 2006). En effet, les conditions environnementales conditionnent la survie et le développement des larves jusqu'au stade infestant. Dans l'étude de Pato et al. (2013), le facteur ayant le plus d'influence sur le parasitisme est le climat, les chevreuils présents sur les côtes étant plus parasités que ceux habitant les terres. De plus, les conditions non extrêmes de la province de Lecco dans les Alpes italiennes expliquent probablement la présence de *H. contortus* en quantité importante, habituellement peu résistant aux conditions alpines, et l'absence de *Marshallagia* sp., typique des aires plus froides, chez le chamois (Citterio et al., 2006).

(2) La saison

Le phénomène de « *spring rise* », bien connu chez les ruminants domestiques et correspondant à l'augmentation de l'infestation parasitaire au printemps, est lié entres autres choses à l'augmentation de la fécondité des femelles de parasite, la levée d'hypobiose et la baisse de l'immunité des femelles de ruminants autour du part. Ce phénomène semblerait être présent chez le chevreuil d'après une étude réalisée en Ecosse et au nord de l'Angleterre. En effet la quantité de nématodes adultes dans les tractus digestifs de chevreuils évaluée en post-mortem tous les mois, augmente de mars à juin avec un pic allant jusqu'à 1205 vers en moyenne (Dunn, 1965). Cependant, on ne sait pas si les SGI réalisent l'hypobiose au sein de leurs hôtes sauvages (Citterio et Lanfranchi, 2006)

(3) Le sexe de l'hôte

D'après plusieurs études, les mâles sont plus parasités que les femelles (Pato et al., 2013 ; Segonds-Pichon et al., 2000 ; Citterio et al., 2006). Cette différence pourrait s'expliquer par le comportement territorial des mâles les rendant plus actifs que les femelles ce qui augmenterait leur exposition aux SGI. Également, les stéroïdes sexuels, modulant l'immunité, rendraient les mâles plus susceptibles aux agents pathogènes (Citterio et al., 2006 ; Pato et al., 2013). De plus, la saison de chasse pourrait être source de stress qui diminue aussi l'immunité (Citterio et al., 2006).

(4) La densité du bétail, le type d'habitat et la nutrition de l'hôte

Verheyden et al. (2020) testent l'hypothèse que l'intensité du parasitisme par les SGI chez le chevreuil est lié à la densité de ruminants domestiques. Pour cela, ils suivent les mouvements de 74 chevreuils portant des colliers GPS et capturent 87 individus pour réaliser des prélèvements de fèces. Ainsi il est observé que les chevreuils occupent une variété d'habitats allant d'espaces plus ou moins boisés à des champs ouverts sur un territoire moyen de 110 ha, et étant dans la majorité des cas fragmentés par des pâtures où broutent des bovins, chevaux et moutons en densité variable. Cette étude montre que les champs agricoles et leurs environs sont attractifs pour ce ruminant sauvage et que ce dernier vient brouter sur les mêmes aires que les animaux domestiques. De plus, l'excrétion fécale d'œufs de strongles chez le chevreuil augmente avec la densité du bétail avec lequel il cohabite. Ainsi, la sélection de l'habitat et la densité du bétail exposent davantage les populations sauvages aux SGI des ovins ce qui constitue un facteur de risque de transmission croisée (Chintoan-Uta et al., 2014 ; Verheyden et al., 2020). Par ailleurs, l'accès à une alimentation de meilleure qualité et plus riches en tanins condensés permettrait au chevreuil de développer une meilleure immunité anti-helminthe, bien qu'il soit davantage exposé aux parasites (Verheyden et al., 2020).

(5) Les interactions entre espèces sauvages

Les rennes *(Rangifer tarandus platyrhynchus)* de l'archipel norvégien du Svalbard sont quantitativement et qualitativement plus infestés sur les fjords qu'à l'intérieur des terres alors que l'inverse était attendu compte tenu des conditions moins extrêmes au niveau des côtes. Les rennes à l'intérieur des terres sont en effet porteurs d'un plus grand nombre de *Marshallagia marshalli,* espèce pourtant plus typique des bovidés plus que des cervidés. Il a été précédemment rapporté que le bœuf musqué (*Ovibos moschatus*), introduit en 1929 dans l'archipel, était porteur de *M. marshalli* ainsi que de nématodes primairement rencontrés chez les rennes (*Ostertagia gruehneri* et *Skrijabinagia arctica*). Du fait du recouvrement des aires de distribution de la population de bœufs musqués et celle des rennes situés dans les terres, les auteurs suggèrent une circulation de leurs parasites entre elles. L'introduction du bovidé sur cette terre isolée aurait enrichi l'helminthofaune de cette population de rennes d'où la disparité observée avec la population vivant sur les côtes (Bye et al., 1987).

6. Impact sur le parasitisme des ruminants domestiques

Il est généralement admis que la transmission des SGI entre les populations de ruminants sauvages et domestiques est bidirectionnelle (Barone et al., 2020). Plusieurs études montrent que 18 à 76% des nématodes issus des populations sauvages se retrouvent chez les ruminants domestiques, les ruminants sauvages les plus en cause étant le bouquetin des Alpes, le mouflon et le bouquetin d'Espagne (Walker et Morgan, 2014). D'après Dunn (1965), les moutons sont faiblement susceptibles aux parasites du chevreuil, leur co-pâturage par conséquent ne représente pas de risque pour les moutons (Dunn, 1965). Le plus gros risque étant le réservoir que constituent les populations sauvages. En effet, en l'absence du bétail, les parasites ayant pour hôte usuel les ruminants domestiques, pourront se maintenir et survivre via leur hôte sauvage permissif. Au retour du bétail, les parasites pourront les infester à nouveau (Zaffaroni et al., 2000 ; Jacquiet et al., 1998 ; Hoberg et Zarlenga, 2016 ; Barone et al., 2020). Des preuves de transmission « retour » existent avec notamment l'infestation expérimentale de *H. contortus* du cerf de Virginie au mouton qui semblerait efficace (Mcghee et al., 1981) ainsi que l'inoculation à un veau de larves extraites de la coproculture des fèces d'un chevreuil sauvage (Chintoan-Uta et al., 2014).

Par ailleurs, ces espèces permissives sauvages constituent également des agents de diffusions de ces parasites par leur migration. En 2007, Morgan et ses collaborateurs modélisent la dynamique de la transmission de SGI entre les saïgas et les moutons domestiques en co-pâturage au Kazakhstan. Le saïga est une espèce rare d'antilope des grandes steppes d'Asie centrale ayant la particularité d'effectuer en troupeau de très longues migrations pour fuir la neige. Ainsi il peut être en contact avec différentes populations de moutons à différents moments de l'année. Ces deux espèces d'hôtes partagent de nombreux nématodes en particulier ceux du genre *Marshallagia* sp., trichostrongylidés pathogènes de la caillette typiques des régions froides. Le modèle prédit leur transmission du mouton vers le saïga au sud du Kazakhstan en hiver et du saïga au mouton au nord en été. Ainsi, les saïgas contribueraient à la diffusion des SGI, à leur survie et par conséquent à l'infestation des moutons de toute la région.

7. Effets du réchauffement climatique

Le réchauffement climatique est une perturbation écologique à l'origine d'une altération des habitats conduisant à une modification de la distribution spatiale des ruminants sauvages et ainsi de leurs interactions avec les ruminants domestiques. De plus, l'augmentation des températures permet d'augmenter la survie des larves et d'accélérer le cycle parasitaire. Par conséquent la transmission et la circulation de nématodes entre les ruminants sauvages et domestiques, ainsi que l'intensité et la diversité des infestations sont à même de s'amplifier. (Barone et al., 2020 ; Hoberg et Zarlenga, 2016). Le réchauffement climatique autorise en particulier l'expansion de l'aire de répartition de *H. contortus,* un des nématodes les plus pathogènes et responsable de fortes pertes économiques en élevage, par l'augmentation de milieux chauds et humides qui lui sont propices ce qui est une situation préoccupante (Besier et al., 2016 ; Hoberg et Zarlenga, 2016).

8. Place des ruminants sauvages dans la résistance aux anthelminthiques : problème ou solution ?

Dans un contexte où la résistance aux anthelminthiques prend de plus en plus d'ampleur au Royaume-Uni et où la transmission croisée de SGI entre espèces sauvages et domestiques a déjà été rapportée, Chintoan-Uta et al. publient pour la première fois en 2014 une étude sur la circulation de la résistance aux benzimidazoles des nématodes entre le chevreuil sauvage et le bétail. L'analyse parasitaire de daims (*Dama dama*), chevreuils et cerfs sauvages en co-pâturage avec un élevage intensif de bovins montre que le chevreuil présente la plus forte intensité et la plus grande diversité parasitaire. De plus, près de la moitié des strongles récoltés chez le chevreuil sont généralistes alors que ce n'est pas le cas des deux autres espèces. Le chevreuil semble donc être dans cette étude une espèce plus sensible ou plus à même d'être exposée aux nématodes du bétail. La recherche de parasites résistants issus du bétail se fait donc par la suite sur cette espèce. Une PCR pour la recherche du polymorphisme du gène de l'isotype-1 de la β-tubuline en position 167, 198 et 200, à l'origine de la résistance aux BZ, est réalisée sur des adultes de *H. contortus* récoltés dans la caillette. Les résultats sont en faveur d'une résistance puisque les mutations F200Y et F167Y sont présentes avec une prévalence de 64,5% et 7% respectivement. De plus, l'inoculation de L3 provenant de fèces de chevreuils à un veau et du veau à un agneau est un succès et montre la présence de vers résistants. En effet, les *H. contortus* retrouvés chez l'agneau montrent une prévalence de la mutation F200Y de 60%. Cette résistance est ensuite confirmée in vitro et in vivo.

Une récente étude menée en Slovaquie teste la transmission d'une souche résistante de *H. contortus* depuis les moutons vers les chevreuils pâturant au même endroit. Deux agneaux sont infestés expérimentalement et placés sur une parcelle « propre » puis deux chevreuils non parasités sont introduits sur cette même parcelle. La mesure de l'excrétion fécale d'œufs confirme le succès de la transmission entre les deux espèces, les tests in vitro (EHT et LDT) confirment la présence d'une résistance et l'identification morphologique des L3 confirme qu'il s'agit bien de *H. contortus* (Laca Megyesi et al., 2020). Ainsi, cette étude montre le succès de la transmission naturelle de vers résistants depuis le mouton vers le chevreuil et complète celle

de Chintoan-Uta et al. (2014) qui, elle, montre le succès d'une transmission expérimentale de vers résistants du chevreuil au mouton.

Les chevreuils et plus largement les ruminants sauvages pourraient donc constituer un réservoir de SGI résistants aux anthelminthiques et issus de ruminants domestiques traités (Chintoan-Uta et al., 2014 ; Walker et al., 2018 ; Barone et al., 2020). Cependant, tous les ruminants sauvages n'ont pas la même réceptivité aux infestations transmises par le mouton et cela peut influencer sur leurs qualités d'hôte réservoir. L'étude par Laca Megyesi et al. (2020) montre que le mouflon est, à la suite de l'inoculation d'une souche de *H. contortus* résistante et d'une souche de *H. contortus* sensible, la seule espèce parmi deux autres testées (chevreuil et daim) à avoir une infestation importante, persistance et similaire à celle du mouton. Le taux de résistance, évalué par EHT et LDT, est également similaire entre ces deux espèces. Ces résultats montrent que le mouflon et le mouton ont le même type d'infestation ce qui pourrait s'expliquer par l'étroite parenté entre les deux espèces. De plus, cela suggère une bonne réceptivité du mouflon aux infestations transmises par le mouton. En revanche, dans cette région d'étude, le mouflon n'est pas, contrairement au chevreuil, un problème pour le mouton. En effet, l'habitats et le comportement des chevreuils les exposent davantage aux parasites des moutons (Verheyden et al., 2020), c'est pourquoi certaines études choisissent le chevreuil comme modèle pour la transmission naturelle de parasites avec le mouton (Laca Megyesi et al., 2020).

Les mouvements de ces hôtes réservoirs pourraient être responsables du transport et de la dispersion des allèles résistants dans la faune sauvage et dans différentes populations de moutons, la transmission interspécifique étant bidirectionnelle (Mcghee et al., 1981 ; Chintoan-Uta et al., 2014). Certains hôtes sauvages traversent des centaines de kilomètres au cours de leur migration saisonnière (Morgan et al., 2007). L'équipe de Chintoan-Uta (2014) les nomment même « vecteurs » de la résistance. En revanche, les nématodes portés par leurs hôtes sauvages permissifs peuvent aussi constituer une population refuge encore susceptible aux anthelminthiques (Barone et al., 2020) permettant la dilution des allèles résistants (Van Wyk, 2001). Les résultats de l'étude de Nagy et al. (2017) soutiennent cette hypothèse. Dans cette étude, les *H. contortus* adultes récoltés chez les chevreuils, les cerfs et moutons vivant en sympatrie dans une région du sud-ouest de la Hongrie sont testés pour la résistance aux BZ en position 200 du gène de la β-tubuline, F200Y étant la mutation la plus fréquente (Silvestre et Cabaret, 2002 ; von Samson-Himmelstjerna et al., 2009 ; Redman et al., 2015 ; Chaudry et al., 2015 ; Avramenko et al., 2018 ; Sargison et al., 2019 ; Melville et al., 2020). Il en ressort que les moutons sont fortement parasités par des *H. contortus* résistants. La fréquence de l'allèle portant la mutation est de 83%. Chez les chevreuils cette fréquence est de 31,4% et le génotype homozygote sensible a une fréquence de 54,3%. Chez les cerfs, aucune résistance n'est trouvée ce qui pourrait s'expliquer par le fait qu'ils aient été chassés en hiver, période durant laquelle le parasitisme est faible. Les auteurs suggèrent également que l'exposition aux parasites est moindre chez cette espèce à cause de possibles comportements d'évitement des pâtures occupées par les moutons (Nagy et al., 2017). À l'inverse les chevreuils seraient attirés par leurs pâturages nutritionnellement plus riches (Verheyden et al., 2020). Là encore, il est prouvé que les chevreuils sont porteurs de nématodes résistants. Par contre, la part de génotypes homozygotes sensibles est importante et pourrait diluer les génotypes résistants transmis par

les moutons. De plus, l'allèle résistant ne présenterait pas d'avantage sélectif dans une caillette de ruminant sauvage non traité. Les vers résistants auraient un succès reproducteur ou *fitness* moindre par rapport aux vers sensibles. En effet, les gènes de résistance auraient un coût pouvant se payer sur leur potentiel reproducteur ce qui les éliminerait au fur et à mesure en l'absence de traitement (Leathwick, 2013). L'infestation des ruminants sauvages par des nématodes résistants participerait donc à réduire la résistance de ceux présents chez les moutons en augmentant la population refuge et en diminuant leur fitness.

PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE

I. Objectifs de l'étude

Le bouquetin des Alpes (*Capra ibex ibex*) est un animal emblématique des Alpes. C'est une espèce grégaire adaptée au milieu montagnard escarpé. Son domaine vital est un milieu ouvert étendu sur environ 22 km^2 pour 100 individus, qui se compose de trois quartiers saisonniers. Le quartier d'hiver ou de rut est occupé d'octobre à mars et se compose de grands versants rocheux exposés sud pouvant rapidement être déneigés offrant alors une herbe sèche. Au printemps, d'avril à juin, il se déplace vers le bas de la vallée à la recherche d'herbe jeune. Il remonte ensuite au fur et à mesure de la fonte du manteau neigeux pour atteindre son quartier d'été, de juin à octobre, qui se trouve en altitude et en zones escarpées (Catusse et al., 1996). Son habitat varie de 242 à 3689 mètres d'altitude dans les Alpes françaises (Fiche OFB 2016). Les quartiers peuvent être séparés de 20 km par des crêtes rocheuses faisant office de corridors de circulation (Catusse et al., 1996). Au cours de ses migrations de printemps les bouquetins sont amenés à utiliser les mêmes zones alimentaires que différentes populations de moutons en estive (Catusse et al., 1996 ; Richomme et al., 2006). Dans ce contexte, des transmissions de nématodes entre bouquetins et moutons sont suspectés (Cerutti et al., 2010 ; Walker et Morgan, 2014). En effet, de nombreux strongles digestifs sont en commun entre ces deux espèces et le bouquetin des Alpes serait un des ruminants sauvages les plus susceptibles de transmettre des helminthes aux moutons (Walker et Morgan, 2014). L'analyse génétique de *H. contortus*, parasite d'importance chez les petits ruminants, récolté dans différentes populations de ruminants sauvages et domestiques des Alpes, a montré une grande diversité génétique confirmant sa faible spécificité d'hôte. De plus, dans cette étude, deux haplotypes communs sont présents chez les *H. contortus* des ruminants domestiques et sauvages ce qui témoigne d'origines communes et donc de possibles transmissions (Cerutti et al., 2010). Le bouquetin pourrait par conséquent constituer un hôte réservoir pour les vers issus de moutons, voire même jouer le rôle de vecteur d'un troupeau de mouton à un autre lors de leurs migrations saisonnières. Se pose alors la question du rôle des bouquetins vis à vis des souches de parasites présentant une la résistance aux anthelminthiques. Peuvent-ils héberger et être vecteurs de vers résistants ? Pour y répondre, cette étude se penche sur la recherche de polymorphismes génétiques de *H. contortus* associés à de la résistance aux benzimidazoles. Il s'agit plus particulièrement de détecter les mutations F200Y et E198A du gêne de l'isotype 1 de la β-tubuline chez *H. contortus*.

Le parasite *H. contortus* est sélectionné dans cette étude car ces mutations sont bien connues chez cette espèce, il s'agit d'un des nématodes ayant le plus d'impact sur la santé et l'économie des élevages de petits ruminants et c'est un parasite généraliste présent chez le bouquetin. Ainsi, cette étude a pour but de discuter sur la place du bouquetin dans la transmission de la résistance aux anthelminthiques.

II. Matériels et méthodes

A. Zones d'étude

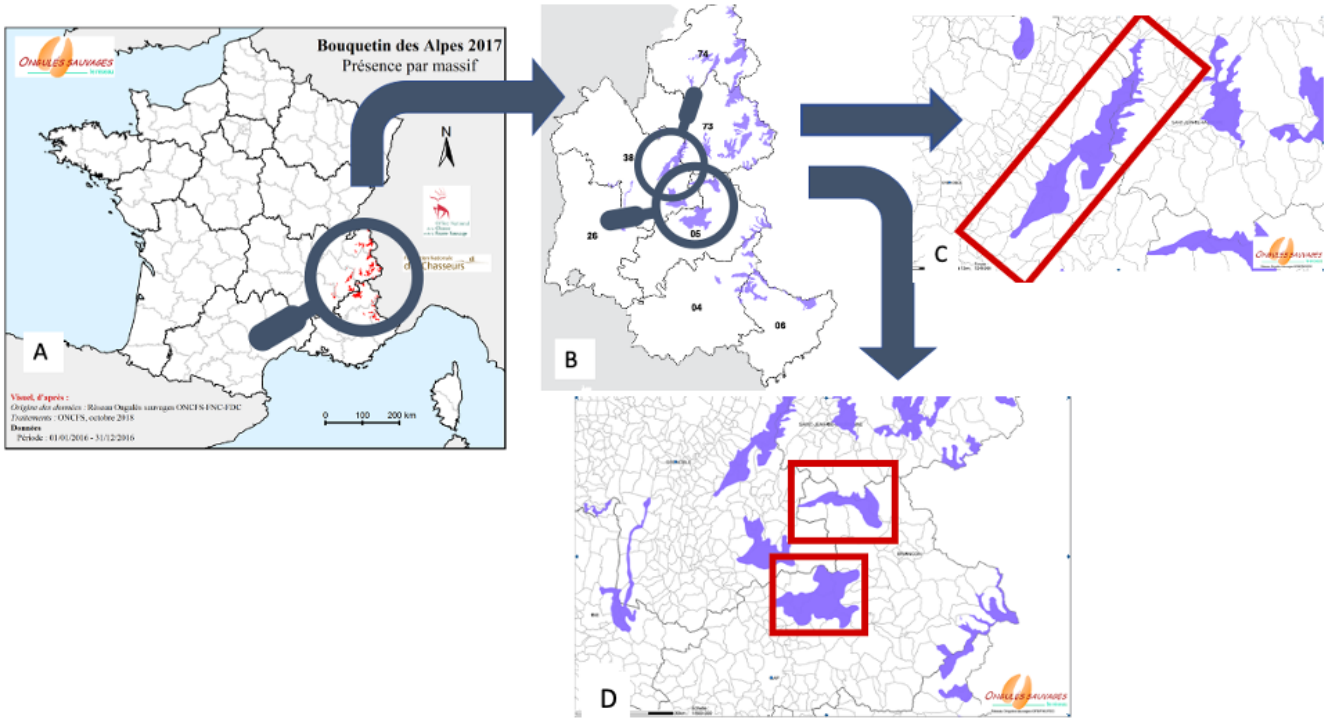


Figure 23. *Zones d'études correspondant à la présence de bouquetins dans le massif de Belledonne, le massif des Cerces et le massif de l'Arcanier-Muzelle. A : présence de bouquetin des Alpes par massif en 2017 à l'échelle nationale, B : idem à l'échelle départementale, C et D : idem à l'échelle communale. L'encadré rouge correspond au massif de Belledonne (C) et aux massifs des Cerces et de l'Arcanier-Muzelle (D). Cartes issues du Réseau Ongulés Sauvages, 2017.*

1. Le Parc National des Écrins

Le Parc National des Écrins a officiellement été créé en 1973. C'est le 5ème parc national sur les dix présents aujourd'hui au sein du territoire français. La réintroduction du bouquetin en France se fait dans le massif des Cerces en 1959. En 1989, 16 bouquetins provenant du parc de la Vanoise et du Vercors sont réintroduits avec succès dans le Valbonnais, de même qu'en 1995 où 31 bouquetins sont réintroduits dans le Champsaur. Ainsi, trois populations distinctes sont présentes aujourd'hui dans le parc des Écrins : la population du massif des Cerces au nord dans le Briançonnais, du massif de l'Arcanier-Muzelle à l'ouest dans le Valbonais - Oisans et du massif du Vieux Chaillol-Sirac au niveau du Champsaur et de ses secteurs voisins (Figure 23 et 26). Depuis 2013, des bouquetins sont géolocalisés grâce à des colliers GPS. Ils émettent 4 fois par jour des données permettant de suivre quasiment en temps réel les déplacements de chaque individu équipé. Ce suivi GPS est consultable par tous sur le site internet du Parc. En ce qui concerne les alpages, 40% de la surface du Parc leur est dédiée. Environ 115 000 brebis pâturent l'été pendant 3 à 4 mois sur 104 000 hectares répartis en 113 unités pastorales (Site du Parc National des Écrins).

2. La Réserve Nationale de Belledonne – Sept-Laux.

La réserve nationale de la chasse et de la faune sauvage de Belledonne – Sept-Laux est située sur le massif de Belledonne, en Isère. Il s'agit d'un territoire expérimental qui s'étend sur 2307 hectares. Elle a été créée en 1984 pour garantir le succès d'une opération de réintroduction de 20 bouquetins des Alpes provenant de Suisse. L'altitude varie de 1200 à 2900 mètres. Ce territoire de haute montagne se compose de parois rocheuses, de landes et de pelouses. Il constitue une référence nationale pour l'étude du bouquetin des Alpes. L'Office Français de la Biodiversité (OFB) gère, protège cette zone et a pour mission d'évaluer la dynamique de cette population de bouquetins mais aussi l'impact des activités agricoles et du changement climatique sur cette espèce. Le premier collier GPS sur faune sauvage de montagne a été posé dans cette réserve. Depuis 1986, plus de 1200 bouquetins ont été marqués et suivi individuellement. Par ailleurs, le pastoralisme est l'activité principale de la réserve (Office Français de la Biodiversité, 2018).

3. Les populations de bouquetins des Alpes

En France, d'après les données de 2016, le bouquetin occupe une surface de 2622 km^2 soit une augmentation de 5,8% par rapport à l'année 2010. Il existe 33 populations distinctes réparties sur 7 départements et 208 communes. Le bouquetin est réintroduit en France pour la première fois en 1959 dans le Massif des Cerces à partir de deux individus suisses. Grâce aux opérations de réintroduction, la population atteint en 2010, 9 000 individus sur le territoire français. En 2019 et sur l'ensemble de l'arc alpin, 50 000 individus sont présents (Office Français de la Biodiversité, 2013 ; Site du Parc National des Écrins).
D'un point de vue juridique, cette espèce est protégée et non chassée en France. Elle est inscrite sur la liste rouge des mammifères continentaux de France métropolitaine dans la section « quasi-menacée » autrement dit il s'agit d'une espèce proche du seuil des espèces « menacées » ou qui pourrait l'être en absence de mesures de conservation (Site de l'Inventaire National du Patrinoine Naturel).

Dans cette étude, nous nous intéressons aux populations de bouquetins du Briançonnais et du Champsaur, toutes deux situées dans le parc des Écrins, et la population de Belledonne.
La population du Briançonnais et en particulier celle des Cerces (Figure 24) est issue de la première réintroduction du bouquetin en France en 1959 où deux individus provenant de Suisse ont été relâchés au niveau du Col du Lautaret. En 1963, on dénombrait une dizaine d'individus et depuis la fin des années 2000 on estime une population stable autour de 300 individus.
En revanche, les populations du Valbonnais et du Champsaur semblent être en croissance démographique, toutes deux réintroduites respectivement quelques années plus tard en 1989 et 1995. La population champsaurienne est présente dans le cœur du parc sur le massif du Vieux Chaillol-Sirac et s'étend sur les secteurs de l'Embrunais, de la Vallouise et du Valgaudemar. Certains individus ont cependant montré des déplacements jusqu'au Valbonnais. Les opérations de l'hiver 2019-2020 ont pu dénombrer 420 individus soit environ deux fois plus qu'en 2012 (Site du Parc National des Écrins).
La population de Belledonne est issue de la réintroduction d'animaux provenant de suisse en 1984 (Office Français de la Biodiversité, 2018).

Figure 24. *Chevrée sur le massif des Cerces, dans le Briançonnais, Parc des Écrins (A. Serafino).*

Figure 25. *A gauche, jeune bouquetin mâle du Champsaur (R. Papet). A droite, bouquetin adulte mâle des Cerces (J.Ginot).*

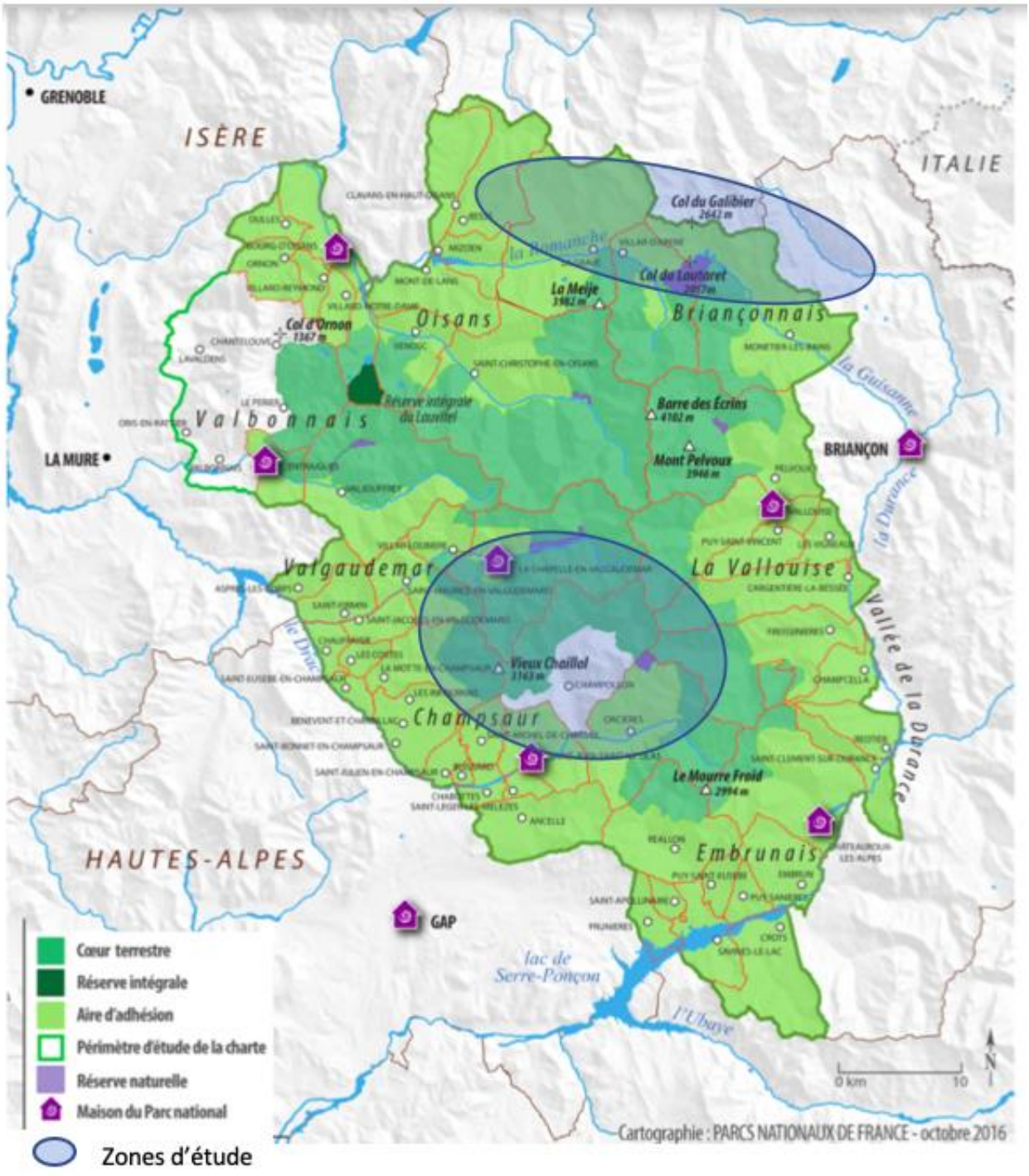


Figure 26. *Zones d'étude au niveau du Parc National des Écrins (Site du Parc National des Écrins)*

4. Élevages ovins et protocole anthelminthique

Six unités pastorales (UP) ont été sélectionnées dans cette étude car elles se situent dans les aires de distribution des bouquetins. Trois se trouvent dans la RNCFS de Belledonne (Âne et Buyant, La Pesée et les Sept-Laux) (Figure 27), une dans le Champsaur (Tourond) et deux dans les Cerces (Montagne de l'Oule et Aiguillette du Lauzet). Les observations des bergers des UP de Belledonne témoignent de la présence du bouquetin à proximité des ovins, en particulier dans les Sept-Laux où ils ont été aperçus une trentaine de fois durant l'été 2018.

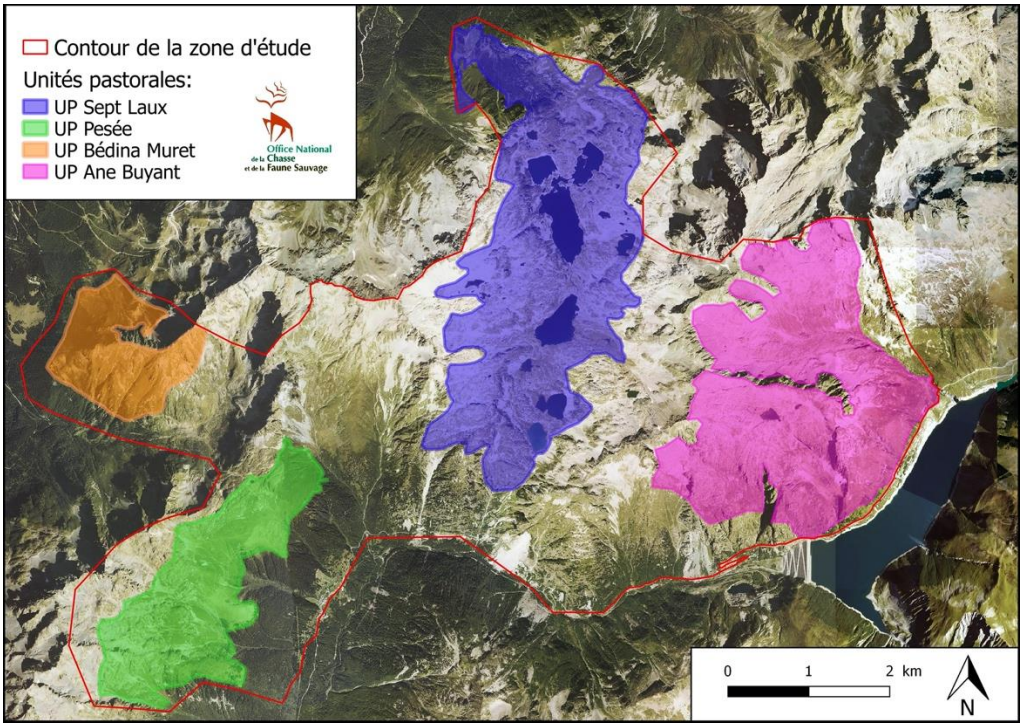


Figure 27. *Zone d'étude de Belledonne avec ses différentes unités pastorales (UP)(C. TOIGO).*

L'UP de Âne et Buyant (Figure 27) se compose de 1600 brebis de la race Mérinos d'Arles provenant d'un élevage de Crau. Les bêtes reçoivent généralement du fenbendazole (Panacur ®) au mois de février. Concernant la conduite d'élevage, les brebis sont à l'herbe toute l'année. L'estive dure de fin juin à début septembre.

Le troupeau occupant la zone de La Pesée (Figure 27) se compose de 770 brebis et leurs agneaux, de 12 béliers de la race Mérinos d'Arles antique ainsi qu'une dizaine de chèvres, tous issus du même élevage. Un traitement à base de fenbendazole (Panacur ®) est réalisé systématiquement sur tout le troupeau, tous les ans, avant la montée en estive. Si des symptômes apparaissent sur des individus durant l'estive, une seconde dose est administrée au cas par cas. Ils reçoivent également à la redescente un traitement à base de netobimin (Hapadex ®), précurseur de l'albendazole. Les animaux arrivent sur l'alpage fin juin et redescendent fin septembre. Le reste de l'année, les animaux sont à l'herbe.

L'UP des Sept-Laux (Figure 27) se compose de 900 brebis sans agneaux ainsi que de 12 béliers de la race Mérinos d'Arles. L'entièreté du troupeau est systématiquement traitée avant la montée en estive mais la molécule utilisée est inconnue. Les brebis restent en alpage de début juillet à mi-septembre. L'hiver elles sont en bergerie et le reste du temps en pâture.

L'UP du Tourond regroupe 4 élevages différents provenant du Vaucluse, des Hautes Alpes et de Lozère. En tout, ce sont 1073 ovins et 5 caprins qui se partagent la pâture sous la surveillance d'un berger durant toute la durée d'estive. Les données sur le protocole anti-parasitaire utilisé est fruste mais on sait qu'un troupeau de 399 têtes a reçu du netobimin (Hapadex ®) en février et qu'un troupeau de 70 têtes, issu d'un élevage bio, a reçu de l'ivermectine en avril.

Quant aux UP de l'Aiguillette du Lauzet et de la Montagne de l'Oule, toutes deux situées dans le massif des Cerces, aucune information n'est disponible.

5. Organisation de l'étude et prélèvements fécaux

Pour les prélèvements au niveau de la RNCFS Belledonne, nous avons pris contact avec François COUILLOUD, Carole TOIGO (OFB), et leur équipe. Pour les prélèvements au sein du Parc National des Écrins, nous avons fait appel à Rodolphe PAPET, technicien patrimoine dans le secteur du Champsaur, et son équipe pour la partie sud du parc ainsi qu'à Éric VANNARD, technicien de secteur dans le Briançonnais, et son équipe pour la partie nord. Grâce à leur travail sur le terrain, nous avons pu réaliser des coproscopies sur 138 prélèvements fécaux de bouquetins et 90 prélèvements fécaux de moutons ramassés sur la période de mi-mai à début juillet 2019. Les selles ont été ramassées au sol individuellement dès lors qu'elles ont été émises par l'animal puis sont placées dans un sachet plastique hermétique. L'air contenu dans le sachet est retiré en le roulant sur lui-même. Des kits de prélèvements accompagnés d'un protocole et d'une fiche de relevés, indiquant en particulier la localisation du prélèvement, le sexe et la classe d'âge de l'animal, ont été envoyés à chacune des trois équipes de manière à harmoniser les ramassages (Annexes 1 et 2).

6. Coproscopie et préparation des échantillons

Une coproscopie de Mac Master est réalisée sur chaque prélèvement fécal des deux populations d'hôte de chaque territoire (Annexe 3).
Le reste des fèces est placé individuellement en culture (Annexe 4) de manière à obtenir des larves L3. Elles sont récupérées par la technique de Bermann (Annexe 4) puis sont comptées (Annexe 5). L'ADN des larves L3 est ensuite extrait grâce au kit *QIAamp® PowerFecal® DNA* modifié (Annexe 6) pour réaliser les analyses génétiques de la phase 2.

7. Sélection des échantillons

Après l'analyse coproscopique sur les 138 prélèvements fécaux de bouquetins et les 90 prélèvements fécaux de moutons, 135 et 70 prélèvements ont été retenus respectivement pour le reste de l'étude. En effet suite au comptage de larves L3 obtenues par coproculture, seuls les échantillons ayant plus de 50 larves ont été sélectionnés pour l'analyse moléculaire.

Dans un second temps, il était prévu d'étudier le némabiome et la proportion de vers résistants aux benzimidazoles excrétés de chaque individu grâce à un séquençage haut débit. Les échantillons auraient dû partir pour l'Université de Calgary au Canada en mars 2020 mais les contraintes liées à la COVID-19 ne l'ont pas permis. Cette analyse est cependant reportée à 2021. Il a donc fallu sélectionner des échantillons qui comptaient suffisamment de larves L3 et donc d'ADN pour pouvoir à la fois réaliser des PCR quantitatives, des PCR qualitatives et un séquençage haut débit. En effet, la thèse de Justine Ginot se focalise sur la transmission de strongles gastro-intestinaux entre les bouquetins sauvages et les moutons domestiques en co-pâturage sur chaque territoire étudié. Les PCR en temps réel permettent de quantifier la proportion de *T. colubriformis, H. contortus* et *T. circumcincta*, les trois SGI d'importance chez les ovins, dans chaque prélèvement. Notre travail, quant à lui, se focalise sur la transmission d'*H. contortus* résistants aux benzimidazoles entre ces deux hôtes sympatriques. Une méthode de PCR -RFLP est employée pour mettre en évidence 2 types de mutations associées à une résistance aux benzimidazoles (E198A et F200Y) chez *H. contortus*. Ces deux méthodes « de

secours » sont complémentaires mais ne valent pas la précision du séquençage haut débit. Ainsi, 29 échantillons de moutons et 45 échantillons de bouquetins ont été sélectionnés pour les analyses de PCR quantitatives.

Ces analyses ont mis en évidence H. contortus dans 5 échantillons de moutons et 27 échantillons de bouquetins. Nos analyses sur les résistances aux benzimidazoles chez *H. contortus* se sont donc focalisées sur ces échantillons-là. Parmi eux 24/32 ont plus de 500 *H. contortus.* Le nombre d'échantillons par zone étudiée et par espèce est décrit dans le Tableau V. La sélection des échantillons est récapitulée dans le Tableau IV.

Tableau IV. *Sélection des échantillons.*

	Nombre de prélèvements initial	Nombre de prélèvements ayant plus de 50 L3	Nombre de prélèvements ayant dû être sélectionnés à cause du COVID	Nombre de prélèvements contenant H. contortus = finaux
Mouton	90 →	70 →	29 →	5
Bouquetin	138 →	135 →	45 →	27

Tableau V. *Nombre d'échantillons fécaux de bouquetins ou de moutons présentant H. contortus pour chaque zone étudiée.*

	Champsaur	Briançonnais	Belledonne
Bouquetins	13	1	12
Moutons	0	5	1

8. Analyses génétiques par PCR-RFLP

a) Amplification de la portion d'ADN d'intérêt

La paire d'amorce utilisée est celle décrite par Tiwari et ses collaborateurs en 2006. Il s'agit du couple d'amorces *Avika (* Avika-*F* = 5'– CTACCCTTTCCGTCCATCAA -3' et Avika-R : 5'– TGAAGACGAGGGAATGGAAC -3'). Les amorces encadrent la portion d'ADN d'intérêt qui s'étend de la 2665ème à la 2969ème paire de base (pb) du gène de l'isotype 1 de la béta-tubuline, spécifique de *H. contortus*. La région ainsi amplifiée mesure 305 pb. Le témoin positif ici est la souche 17-539 de *H. contortus* du laboratoire de parasitologie de VetAgro Sup.
Le thermocycleur est programmé pour une étape de dénaturation de l'ADN à 95°C pendant 5 minutes puis une répétition de 50 cycles comprenant une étape de dénaturation de l'ADN à 95°C pendant 30 secondes puis une étape d'hybridation des amorces à l'ADN à 56°C pendant 30 secondes et enfin une étape d'élongation du nouvel ADN à 72°C pendant 60 secondes de manière à amplifier le fragment d'ADN. Enfin, le programme se termine par une phase d'élongation à 72°C pendant 10 minutes puis une phase de refroidissement à 4°C.

9. Recherche de la mutation F200Y

Les échantillons sont ensuite placés en incubation à 37°C pendant 1h avec l'enzyme de restriction *TaaI* (BioLabs, Réf : R0618S) qui reconnaît la séquence 5'-ACTGT-3' et la coupe en 5'-ACT / GT-3'. Pour rappel, un des polymorphismes associés à une résistance aux benzimidazoles consiste en un changement du codon 200 TTC en TAC et plus particulièrement de la 2710ème base azotée T en A. Si mutation il y a, alors *TaaI* reconnaît la zone correspondante et coupe l'ADN en deux fragments de 48 pb et 257 pb. L'électrophorèse permettra de distinguer les fragments obtenus par migration sur gel d'agarose selon leurs poids moléculaire et donc selon leur taille. L'interprétation se fait sous lumière ultra-violet à 260 nm en utilisant les propriétés absorbantes des bases puriques et pyrimidiques à cette longueur d'onde.
Ainsi il sera obtenu pour les *H. contortus* :

- présence uniquement de gènes de résistance (notés « R ») : 2 bandes à 257 pb et 48 pb ;
- présence uniquement de gènes de résistance (notés « S ») : 1 bande à 305 pb ;
- présence uniquement de gènes de résistance (notés « S/R ») : 3 bandes à 305 pb, 257 pb et 48 pb (Tiwari et al. 2006).

10. Recherche de la mutation E198A

La technique est décrite par Ghisi et ses collaborateurs en 2007. Ils proposent d'utiliser l'enzyme *HpyCH4-V* (BioLabs, Réf : R0620S) pour la digestion de l'ADN. Après la PCR, les échantillons d'ADN amplifié sont incubés à 37°C pendant 5-15 minutes puis placés sous électrophorèse sur gel d'agarose.
Pour rappel, un second polymorphisme associé à une résistance aux benzimidazoles repose sur le changement du codon 198 GAA en GCA. Si mutation il y a, alors *HpyCH4-V* reconnaît la zone correspondante et coupe l'ADN en deux fragments de 266 pb et 39 pb.
En revanche, certains *H. contortus* présentent un autre SNP qui n'est pas corrélé à une résistance mais qui est reconnu par *HpyCH4-V*. Ainsi même en l'absence de résistance, l'ADN peut être coupé en un fragment de 190 pb et un autre de 115 pb.

Ainsi, dans le cas où ce SNP n'existe pas, les résultats obtenus pour les *H. contortus* seront :

- présence uniquement de gènes de résistance (notés « R ») : 2 bandes à 266 pb et 39 pb ;
- présence uniquement de gènes de résistance (notés « S ») : 1 bande à 305 pb ;
- présence uniquement de gènes de résistance (notés « S/R ») : 3 bandes à 305 pb, 266 pb et 39 pb.

Si ce SNP supplémentaire est présent, les résultats seront :

- présence uniquement de gènes de résistance (notés « R ») : 3 bandes à 151pb, 39 pb et 115 pb ;
- présence uniquement de gènes de résistance (notés « S ») : 2 bande à 190 pb et 115 pb ;
- présence uniquement de gènes de résistance (notés « S/R ») : 4 bandes à 190 pb, 151 pb, 39 pb et 115 pb.

Il est attendu que les fragments de petites tailles (39 pb et 48 pb) ne soient pas visibles sur le gel après électrophorèse. En effet, ils pourraient migrer « trop loin », voire hors du gel.

11. Particularités de l'étude

L'équipe de Tiwari (2006) et Ghisi (2007) travaillent sur des échantillons individuels d'adultes de *H. contortus.* Or s'agissant ici de prélèvements fécaux, des L3 de plusieurs espèces dont différents individus de *H. contortus* sont présents dans le même échantillon. Le premier problème est résolu par la spécificité de la paire d'amorces utilisée pour *H. contortus* (Tiwari et al., 2006) et par la présence effective de cette espèce dans les échantillons sélectionnés. Le second problème demeure un biais puisqu'est évaluée ici la résistance pour toute une population de *H. contortus* au sein d'un individu hôte. On ne peut donc pas raisonner par génotype individuel en donnant un profil homozygote ou hétérozygote. Les résultats demeurent néanmoins informatifs puisqu'on pourra avoir une idée des allèles majoritaires présents dans la population. Par exemple si l'allèle sensible est majoritaire dans la population, alors on aura tendance à obtenir un profil « S ». Il est néanmoins possible de passer à côté d'une résistance peu représentée dans la population. Si un grand nombre de *H. contortus* de l'échantillon est résistant alors on aura tendance à avoir un profil « R/S ».

III. Résultats

A. Résultats coproscopiques

1. Parasitisme des bouquetins vivant en sympatrie avec des moutons

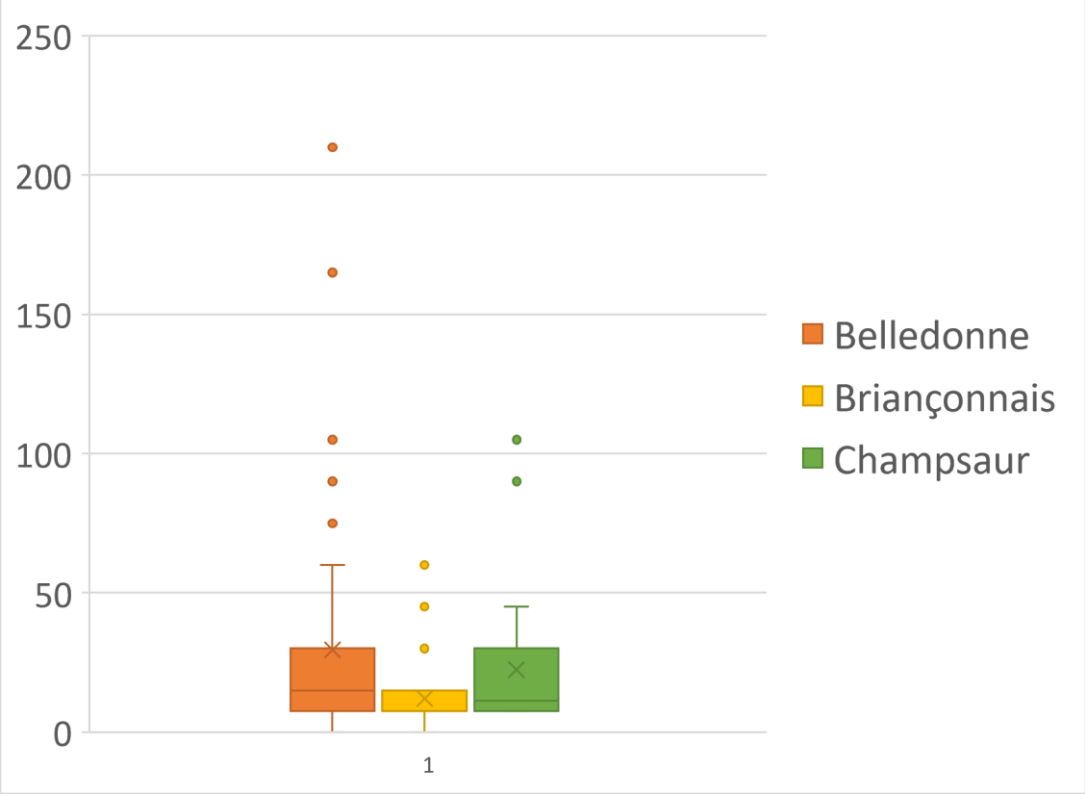


Figure 28. *Répartition des excrétions d'œufs de strongles digestifs chez les bouquetins des 3 zones étudiées. Chaque diagramme correspond à une boîte à moustache ou box-plot renseignant sur les quartiles, les valeurs extrêmes, la médiane et la moyenne.*

Nous pouvons voir que, sur nos prélèvements réalisés au printemps, dans le secteur du briançonnais, près de 90% des bouquetins sont parasités par des strongles digestifs. Cependant la charge parasitaire semble globalement faible puisque 63,8 % des prélèvements fécaux comptent moins de 7,5 opg et seulement 5 individus présentent plus de 30 opg.

Dans le secteur du Champsaur, tous les bouquetins sont parasités par des SGI. De même que dans le briançonnais, il semblerait qu'ils soient de faible excréteurs. Exactement 50 % d'entre eux ont moins de 7,5 œufs de strongles par gramme de fèces et seulement 5% des prélèvements révèlent plus de 90 opg.

A Belledonne, environ 89 % des bouquetins sont parasités. Il semblerait que l'intensité de l'infestation soit plus importante que dans les autres zones. En effet, 21 % des prélèvements révèlent plus de 60 opg. De plus, les bouquetins de Belledonne sont en moyenne significativement plus parasités que les bouquetins du Briançonnais (p-value = 0,017). Deux bouquetins de Belledonne sont de forts excréteurs de strongles avec respectivement 210 et 300 opg.

Ces données montrent donc bien que les bouquetins sont infestés de manière plus ou moins forte selon les territoires par des strongles gastro-intestinaux (Figure 28). Dans on le cas où on considère qu'il y a échange de parasites entre ces deux espèces, la différence d'infestation entre les zones peut s'expliquer par des densités de bouquetins et des densités de moutons plus ou moins importantes sur le territoire étudié. Elle peut aussi s'expliquer par des différences climatiques locales qui peuvent être plus en faveur de la survie et du développement larvaire des SGI.

2. Comparaison avec les moutons

Tableau VI. *Prévalence (médiane) et abondance (intervalle de confiance à 95%) de strongles digestifs en œufs par gramme de fèces (opg). Un test de comparaison des valeurs d'abondance entre les différentes populations de moutons et de bouquetins dans Belledonne, Champsaur et le secteur du Briançonnais. * p- value obtenue par un test de Mann-Whitney-Wilcoxon. Si p-value < 0,05 alors on conclut à une différence significative entre les deux moyennes.*

Zone	Espèce - UP	Nombre de prélèvement	Prévalence	Abondance	p-value*
Belledonne	Bouquetin	53	15	19,5 – 49,8	
	Mouton Âne, Buyant	15	30	0 – 32,9	0,2
	Mouton La Pesée	15	7,5	2,3 - 48,7	0,3
	Mouton Sept Laux	15	2	0 - 4,5	4,4 e - 6
Champsaur	Bouquetin	38	11,2	14,2 - 30,4	
	Mouton Tourond	15	7,5	3,6 – 14,5	0,009
Briançonnais	Bouquetin	47	7,5	8,7 – 15,2	
	Mouton Aiguillette du Lauzet	15	7,5	6,1 – 23,9	0,92
	Mouton Montagne de L'Oule	15	7,5	5,6 – 86,4	0,23

Dans le Champsaur, les bouquetins excrètent significativement plus de strongles digestifs que les moutons de l'unité pastorale de l'aiguillette du Lauzet avec lesquels ils vivent en sympatrie (p-value < 0,05). De même, les bouquetins de Belledonne excrètent significativement plus par rapport aux moutons des Sept Laux (p-value < 0,05) (Tableau VI).

B. Résultats des analyses génétiques

1. RFLP avec l'enzyme *TaaI*

Toutes les populations de H. contortus issues des différents prélèvements fécaux de moutons et la majorité de celles issues des bouquetins ne semblent pas posséder la mutation F200Y du gène de l'isotype 1 de la béta-tubuline.
Le résultat obtenu sur le bouquetin du Briançonnais montre une bande faible de 257 pb. Il y aurait donc la mutation F200Y au sein de la population d'H. contortus hébergée par ce bouquetin. Cependant, comme la bande est faible, la prévalence de cette mutation au sein de cette sous-population semble peu importante.
De plus, le résultat obtenu sur un des bouquetins du Champsaur semble également montrer une bande très légère de 257 pb (Figure 29). Cela peut être un artefact ou bien la mutation est très faiblement présente dans la population car la bande correspondante apparaît très peu visible.

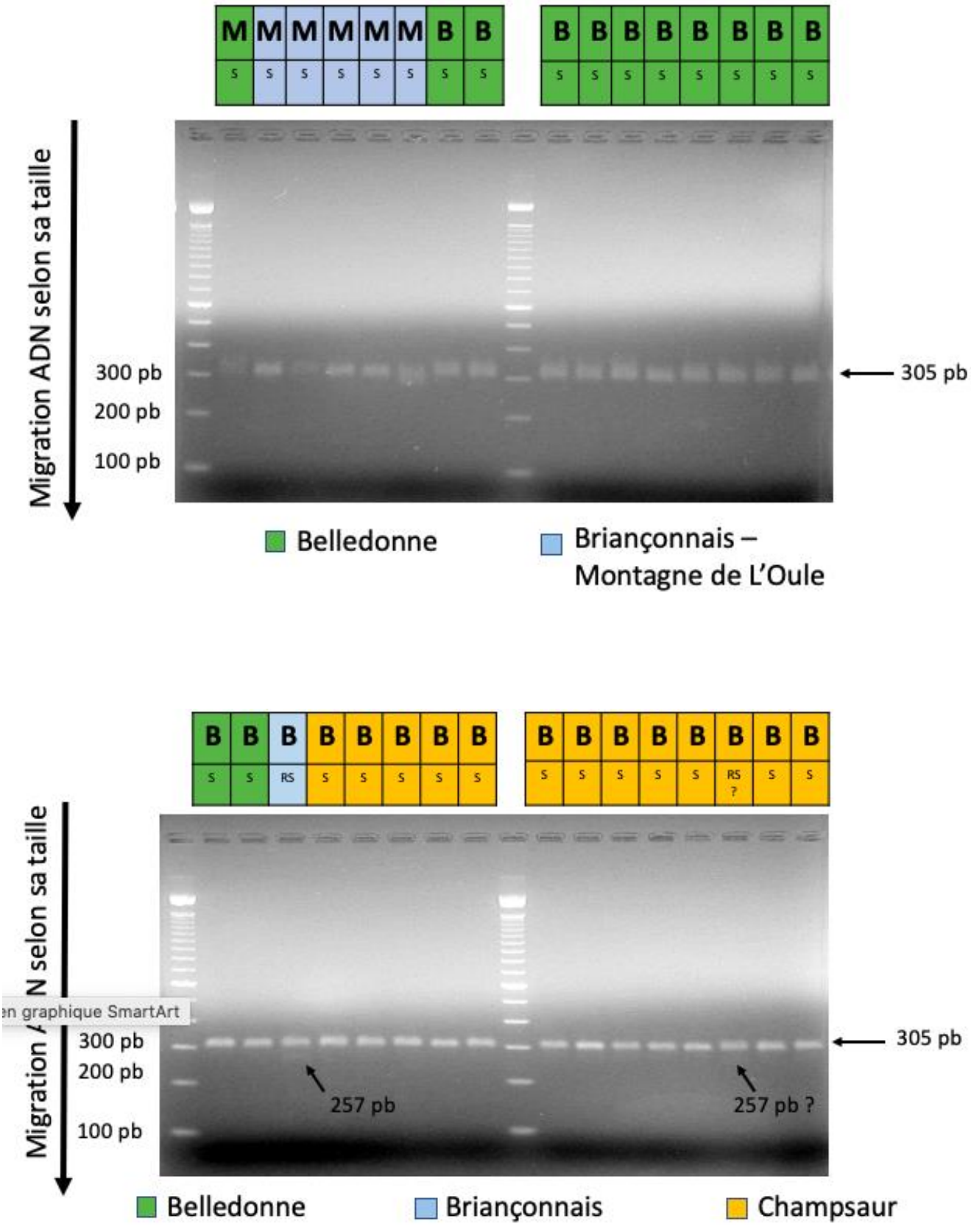
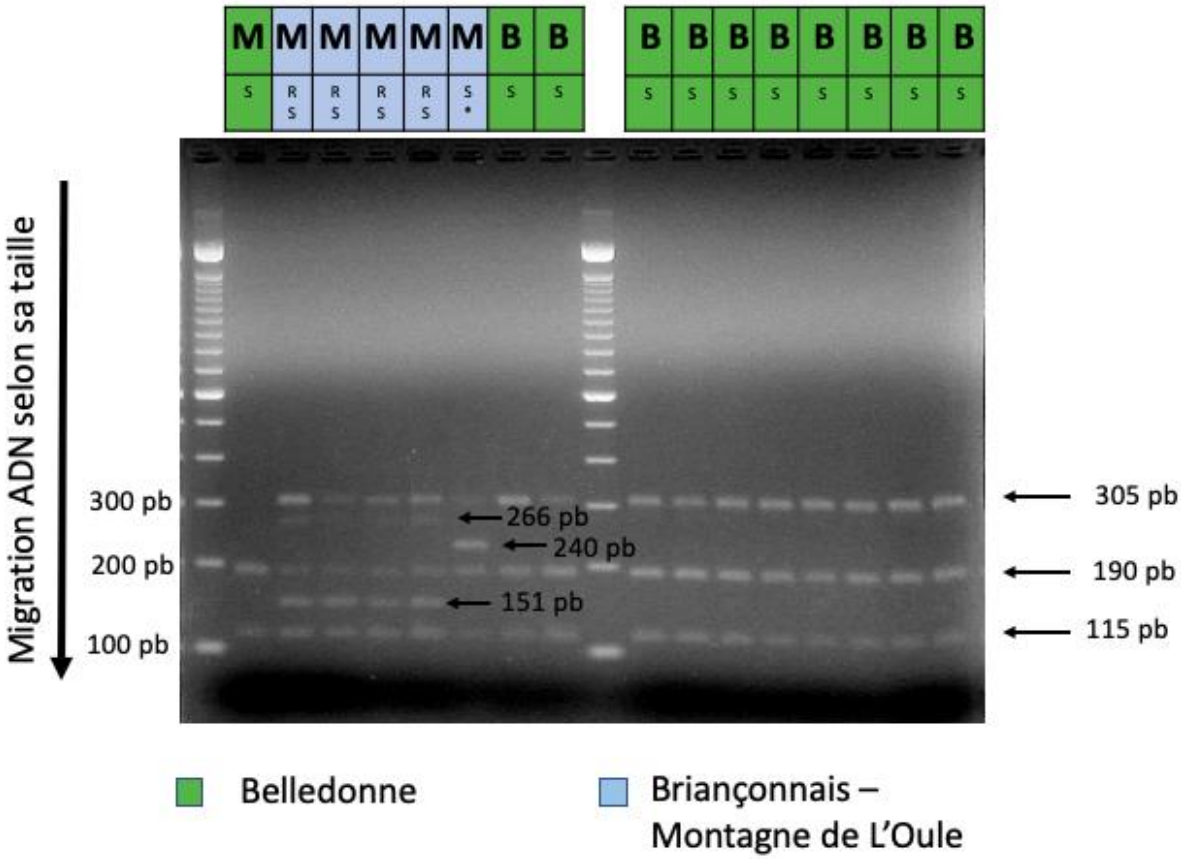


Figure 29. *Résultats de la PCR-RFLP avec l'enzyme TaaI.*

2. RFLP avec l'enzyme *HpyCH4-V*

La majorité des populations de *H. contortus* analysées ici chez les bouquetins ont un profil « S » pour la mutation en position 198. On ne peut cependant pas exclure la présence d'individus résistants en très faible proportion avec cette méthode. En revanche, les échantillons de 4 moutons sur 5 de la zone briançonnaise semblent héberger un nombre important d' *H. contortus* résistants puisque nous observons bien des bandes dont les longueurs correspondent à la présence à la fois de gènes de sensibilité et de résistance (profil « S/R »). Les fragments d'ADN de 151 pb et 266 pb semblent être suffisamment présents dans les différentes populations d'*H. contortus* pour que les bandes correspondantes soient bien visibles. Une bande non attendue estimée autour de 240 pb est présente dans un échantillon de mouton du Briançonnais. Il s'agit sans doute d'une mutation du gène de l'isotype 1 de la béta-tubuline à l'origine d'un nouveau site de restriction de cette l'enzyme, non associée à un phénotype résistant (Figure 30).



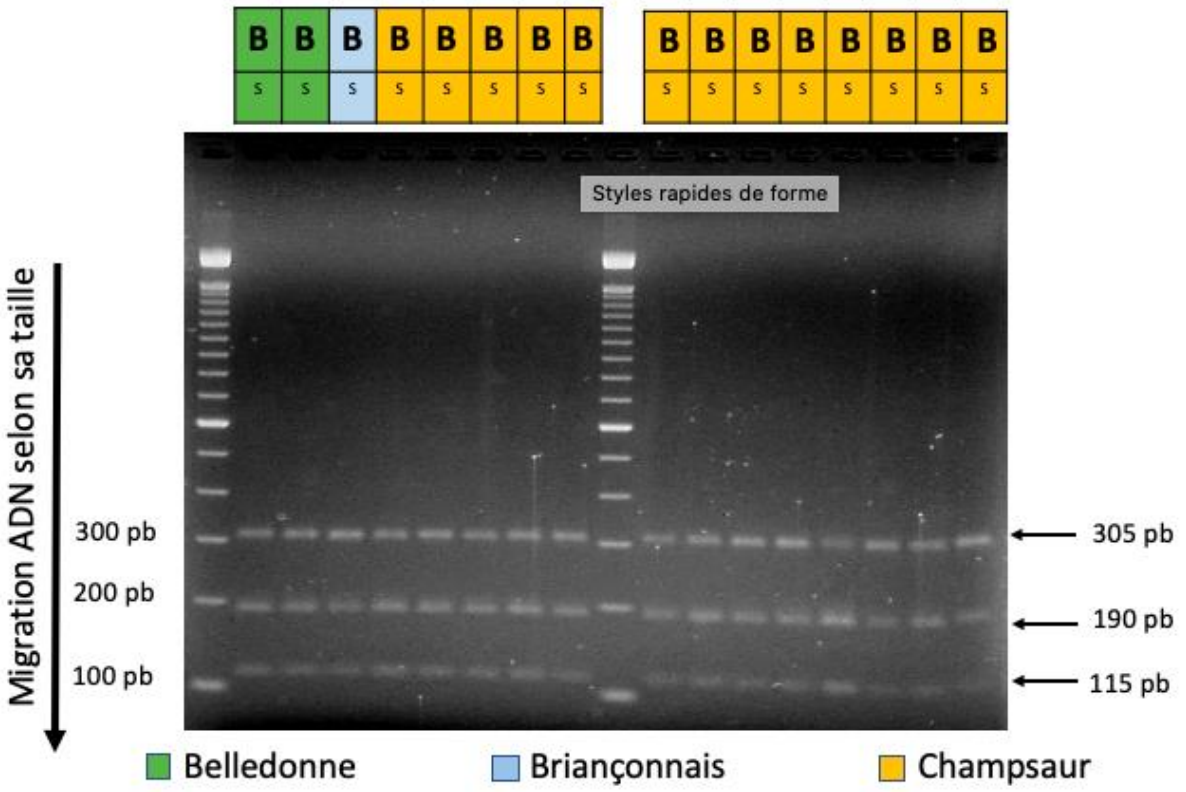


Figure 30. *Résultats de la PCR-RFLP avec l'enzyme HpyCH4-V. * SNP supplémentaire suspecté*

IV. Discussion

A. Concernant les résultats coproscopiques

La présence de *H. contortus* chez les bouquetins sauvages co-pâturant avec des moutons domestiques est déjà un indicateur de sa transmission, sans la démontrer pour autant, entre les deux espèces. En effet, comme vu précédemment, il s'agit d'un parasite généraliste déjà décrit chez le bouquetin des Alpes (Zaffaroni et al., 2000) dont le principal hôte est le mouton (Walker et Morgan, 2014 ; Hoberg et Zarlenga, 2016).

Dans le cas où il y aurait effectivement transmission de *H. contortus* entre les deux espèces hôtes, les différences d'excrétion significatives relevées dans certaines zones entre les bouquetins et les moutons reflètent un risque parasitaire augmenté pour les moutons en co-pâturage avec les bouquetins. En effet, les ruminants sauvages peuvent constituer une source de contamination de SGI pour les ruminants domestiques et ce dès le début de l'estive. En effet, quelle que soit la zone, les fèces de bouquetin ont été prélevés de fin mai à mi-juin, soit avant que les moutons soient prélevés c'est à dire de fin juin à début juillet. De plus, on observe une forte excrétion parasitaire pour certains bouquetins. Il est donc tout à fait envisageable que les unités pastorales de ces territoires soient déjà fortement contaminées par les bouquetins avant même l'arrivée des moutons en alpage.

La différence d'infestation entre les deux espèces peut s'expliquer par le traitement anthelminthique reçu par les moutons avant la transhumance, les prélèvements fécaux de moutons étant réalisés en début d'estive. Pour les troupeaux concernés, le traitement est généralement à base de fenbendazole ou de netobimin, actifs contre les SGI. Traiter avant de déplacer le troupeau sur une autre pâture revient à réaliser l'équivalent du fameux « *drug and move* ». Pour rappel, il s'agit d'une pratique à risque pour le développement de la résistance aux anthelminthiques et la contamination de nouvelles pâtures « propres ». Ici, si les alpages sont déjà contaminés par des strongles issus de bouquetins, ces derniers peuvent former une population refuge de vers sensibles limitant ainsi l'effet néfaste de cette pratique.

B. Concernant les analyses génétiques

1. La méthode utilisée

La lecture sur gel d'agarose, après électrophorèse des bandes d'ADN segmenté, est un résultat qualitatif permettant de connaître la présence ou non de fragments de la taille attendue. Le gène de la béta-tubuline amplifié dans chaque échantillon correspond à ceux de la population de *H. contortus* présents dans le prélèvement fécal. Ainsi plusieurs individus sont représentés dans un seul échantillon, 75% des échantillons possédant plus de 500 *H. contortus*, ce qui diminue la précision de ce test et augmente les difficultés de lecture et d'interprétation. En effet, toutes les combinaisons de fragments sont possibles, encore faut-il que les polymorphismes soient suffisamment représentés dans la population pour qu'ils apparaissent sur le gel. A cela s'ajoute les possibles mutations dans la portion d'ADN amplifiée qui ne sont pas associées à une résistance mais qui peuvent former une séquence reconnue par l'enzyme de restriction et qui rendent les lectures encore plus difficiles.
Pour pallier un minimum à cela, il aurait fallu utiliser des témoins positifs pour les sites de restrictions avec ou sans le SNP supplémentaire en ce qui concerne la digestion avec l'enzyme HpyCH4-V. En effet, comme dit plus haut, la lecture peut rapidement devenir hasardeuse avec la multiplication des bandes et les mutations ne correspondant pas à de la résistance. Les

témoins nous donneraient donc l'emplacement exacte sur l'échelle des tailles des fragments d'intérêt.

Rappelons que la méthode PCR-RFLP employée ici utilise à la fois le protocole de Tiwari et al. (2006) et celui de Ghisi et al (2007) avec les deux enzymes de restrictions *TaaI* et *HpyCH4-V*. La séquence ainsi amplifiée par PCR est une séquence de 305 pb pour laquelle il est possible de faire agir les enzymes de restriction au position 198 et 200 en présence des mutations F200Y (TTC>T**A**C) et E198A (GAA>G**C**A). Or, il existe une autre mutation en position 198 (E198L = GAA>**TT**A) (Redman et al, 2015 ; Avramenko et al., 2018) et une autre mutation en position 167 (F167Y = TTC>T**A**C) (Silvestre et Cabaret, 2002) ainsi que chez d'autres espèces de strongles qu' *H. contortus*, comme *T. colubriformis* et *T. circumcincta*. Avramenko et ses collaborateurs publient en 2018 la fréquence des mutations F200Y, E198L et F167Y chez sept espèces de strongles différentes trouvées sur 164 moutons. Leurs résultats sont obtenus par séquençage haut débit, le gain de temps et de précision étant considérable avec cette technique. Ils trouvent la mutation F200Y chez Trichostrongylus axei et *Cooperia oncophora* mais aussi la mutation F167Y chez *Cooperia curticei*. On voit donc bien la diversité tant génétique que spécifique des possibilités qui existent pour la résistance aux benzimidazoles et à quel point la méthode utilisée ici, dans notre étude, ne permet pas d'explorer complètement les résistances aux benzimidazoles. L'idée de départ était donc de réaliser les même analyses que celles décrites par Avramenko et son équipe (2018) sur nos prélèvements de moutons et de bouquetins. Les séquençages nouvelle génération et l'analyse des données auraient dû être réalisées par le laboratoire de l'Université de Calgary au Canada. Les contraintes liées à la COVID-19 n'ont pas permis d'envoyer les échantillons en temps et en heure mais le seront dans les prochains mois. Plus d'échantillons seront ainsi analysés, pour plus d'espèces et pour plus de mutations. Nous espérons que ces analyses pourront être réalisées au cours de l'année 2021.

De plus, la recherche de résistance aux anthelminthiques de manière plus générale comprend également la résistance aux autres classes comme les lactones macrocycliques ou encore le lévamisole. Pour explorer cela, des tests in vitro comme le test de développement larvaire ou le test d'éclosion d'œufs sont envisageables. En revanche, les tests in vivo s'avèrent plus difficiles à réaliser sur la faune sauvage. En effet, pour réaliser le test de réduction fécale d'œufs, il aurait fallu mettre des prélèvements fécaux de bouquetins en culture pour ensuite infester expérimentalement des moutons non parasités par les L3 ainsi obtenues et enfin compter le nombre d'œufs excrétés par les moutons avant puis après traitement.

De plus, on note un manque cruel d'échantillons de bouquetin et de mouton pour certaines zones. En effet, même si l'échantillonnage des individus ne se veut pas représentatif de la population d'une zone particulière, il est difficile de se faire une idée de l'état de la résistance avec une seul individu dans une zone comme c'est le cas pour Belledonne et le secteur du Briançonnais. Aussi, aucun échantillon de mouton du Champsaur n'a été analysé. En effet, peu d'échantillons comportaient des Haemonchus. Le séquençage haut débit permettra d'explorer les résistances pour les autres espèces de strongles dont *T. circumcincta*, déjà présent dans les 45 échantillons de bouquetins et les 29 échantillons de moutons analysés par PCR en temps réel.

2. Les résultats obtenus

Bien qu'un bon nombre de publications s'accordent à dire que la mutation F200Y est la mutation associée à la résistance aux benzimidazoles la plus fréquente, la mutation majoritairement détectée ici est la mutation E198A. Les animaux concernés sont les moutons de l'unité pastorale de la Montagne de L'Oule dans le Briançonnais. Malheureusement, aucune information sur le protocole de vermifugation employé dans cet élevage n'est disponible.
Par ailleurs, l'enzyme *TaaI* semble avoir mis en évidence, la présence de la mutation F200Y au sein de la population d' *H. contortus* hébergée par un, voire deux bouquetins du Parc des Ecrins mais avec une prévalence très faible. Ces résultats constituent donc un élément de plus en faveur d'une transmission de parasites des moutons vers les bouquetins car seuls les moutons sont traités. Par conséquent, la résistance trouvée ici chez les moutons de la Montagne de L'Oule constitueraient un facteur de risque pour la diffusion de la résistance dans le secteur via l'infestation et la migration des bouquetins sauvages. En revanche au vu du reste des résultats, les bouquetins étudiés ici ne seraient pas, voire très peu, porteurs de résistances. Par conséquent, ils constitueraient un sanctuaire de vers sensibles permettant une dilution des allèles résistants de *H. contortus*. Des études avec un suivi temporel seraient intéressantes pour déterminer le rôle soit de vecteur, soit de dilution des résistances que jouent les espèces sauvages dans la dynamique des populations des strongles résistants.
Dans le Briançonnais, la mutation F200Y possiblement présente chez l'hôte sauvage est différente de celle retrouvée chez les hôtes domestiques. Il pourrait s'agir d'*H. contortus* résistants provenant d'une transmission antérieure avec un autre élevage.

On l'aura compris, la place des bouquetins dans le parasitisme des moutons est difficile à cerner. Les bouquetins, par leur potentiel rôle de réservoir, peuvent à la fois constituer une source de contamination pour les ovins en alpage et donc augmenter le risque parasitaire mais également constituer un apport de vers sensibles sur la pâture permettant d'augmenter la population refuge et donc de diminuer le risque associé à la résistance.
En revanche si la résistance est avancée dans un troupeau, il est possible que les bouquetins en contact indirect avec lui via la pâture deviennent des réservoirs de vers résistants. Dans ce cas ils seraient à la fois source de contamination mais aussi vecteurs de vers résistants. En effet, leur liberté de circulation au sein des territoires accueillant différents troupeaux de moutons l'été pourrait être à l'origine d'une diffusion de la résistance.

Finalement, que les bouquetins sauvages soient à l'origine d'une diffusion ou d'une dilution de la résistance, le cœur de la problématique réside avant tout dans le statut des élevages qui transhument vis-à-vis de la résistance aux anthelminthiques. Voilà ainsi toute l'importance de la détection précoce de la résistance et de la gestion intégrée du parasitisme au sein des élevages pour réduire le développement et la diffusion de la résistance aux autres troupeaux en alpage. Malheureusement, comme déjà souligné par Philippe Jacquiet en 2015, les éleveurs français semblent peu sensibilisés à cette problématique puisqu'on retrouve encore aujourd'hui des pratiques à risque, comme ici, le « *drug and move* » et le traitement systématisé à l'ensemble du troupeau.

CONCLUSION

La résistance aux anthelminthiques est une problématique émergente et mondiale qui menace la santé publique et la santé animale. Elle touche à la fois les hommes et leurs activités, les animaux domestiques mais aussi les populations d'animaux sauvages, tous étant interconnectés les uns aux autres. En effet, il a été montré que des vers résistants pouvaient se transmettre de ruminants domestiques à des ruminants sauvages en co-pâturage et de manière bidirectionnelle (Mcghee et al., 1981 ; Chintoan-Uta et al., 2014). Ainsi les pratiques à risque en élevage peuvent avoir une répercussion sur le parasitisme de la faune sauvage et inversement, la faune sauvage peut devenir réservoir de vers résistants et accroitre les problèmes liés à la résistance au sein de l'élevage. L'usage fréquent et déraisonné des anthelminthiques a conduit au développement de populations de parasites résistants dans le monde entier et devient une préoccupation de plus en plus importante en humaine (Kaplan et Vidyaskankar, 2012). Les recherches en santé humaine se basent sur l'expérience vétérinaire, tant du point de vue des facteurs de risque (Geerts et Gryseels, 2000), des méthodes de prélèvements (Mekonnen et al., 2013) et d'analyses coproscopiques (Vlaminck et al., 2019) que du mécanisme moléculaire en cause (Albonico et al., 2004 ; Zuccherato et al., 2019). La résistance aux anthelminthiques se situe donc bien au cœur du concept « One Health » qui considère que la santé humaine, animale et environnementale sont interdépendantes.

Cette thèse se penche de manière très spécifique sur la transmission de *H. contortus* résistant aux benzimidazoles entre les moutons domestiques et les bouquetins sauvages dans le massif de Belledonne et le Parc National des Écrins. Les résultats montrent que les résistances ne sont pas ou très peu présentes chez les bouquetins étudiés. Finalement, les bouquetins pourraient constitueraient une source de vers sensibles bénéfique dans la lutte contre la résistance grâce à un effet dilution. En revanche, seulement une espèce de strongle a été testée pour la résistance. Or on sait que les résistances, en particulier aux benzimidazoles, ont été décrites chez *T. circumcincta* et *T. colubriformis* (Kwa et al., 1994 ; Elard et al., 1996). De plus dans cette étude, seules les mutations en position E198A et F200Y du gène de la béta- tubuline ont été recherchées alors qu'il en existe d'autres aux mêmes codons et aussi une en position 167 (Avramenko et a. 2018). Par conséquent, la recherche de résistance n'est pas exhaustive dans cette étude. Pour étudier cela plus précisément, nous avions prévu d'envoyer nos échantillons au laboratoire de l'Université de Calgary (Canada) pour analyser le gène de l'isotype 1 de la

béta-tubuline par séquençage haut débit. Cette analyse aurait permis de détecter le polymorphisme au niveau des trois positions chez plusieurs espèces de strongles.

Pour les raisons sanitaires actuelles liées à la COVID-19, les prélèvements n'ont pas pu être envoyés et analysés mais devraient l'être dans les prochains mois. Enfin, des études avec un suivi temporel sont nécessaires afin de déterminer le rôle soit de vecteur, soit de dilution des résistances que jouent les espèces sauvages dans la dynamique des populations des strongles résistants.

ANNEXES

Annexe 1 : protocole de prélèvements fécaux

Matériel :

- Kits de prélèvement
- Fiche de relevés terrain + stylo
- Thermomètre
- GPS
- Sachet plastique poubelle

Collecte :

-Réaliser de préférence les prélèvements **en début de semaine** (lundi – mercredi) pour les envois postaux.
-Prélever des crottes fraiches (humides).
-L'idéal est d'attendre la fin d'une période de repos car ils ont tendance à déféquer au moment de repartir.

1) Mettre un **gant neuf** puis :

Contenant	**Réalisation du prélèvement**	**Conservation et/ou envoi**
Sachet plastique	Prélever le reste de la crotte et la mettre dans le **sachet plastique du kit**. Bien **enlever l'air du sachet** en le roulant puis le fermer	Température ambiante (10°C < T < 20°C) et envoi postal dans la journée

2) Remplir la fiche de terrain pour chaque prélèvement ou lot de prélèvement (date, espèce, individu si connu, localisation/lieu-dit, température, …). A défaut de connaître précisément le propriétaire de la crotte (sexe, classe d'âge), noter les informations sur la composition du groupe (nombre, sexe, classes d'âge, …) sur la fiche de relevé terrain.

- **Crottes dans les sachets**, à température **ambiante** : Envoyer si possible **dans la journée** les prélèvements à l'adresse suivante :

VetAgroSup – Service de Parasitologie, 1 Avenue Bourgelat, 69280 Marcy-l'Etoile.

Si l'envoi n'est pas possible le jour même, conserver les sachets dans une pièce « fraîche » (10-17°C, mais pas au frigo), en attendant l'envoi le lendemain.

Annexe 2 : fiche de relevés de terrain : prélèvements fécaux de bouquetins

Date:	Opérateurs:

			Individu (si connu)		Composition du groupe		
Identifiant kit(s)	**Localisation (coordonnées)**	**Température ambiante (°C)**	**Classe âge**	**Sexe**	**Nombre**	**Classe d'âge**	**Sexe ratio**

Annexe 3 : protocole de Mac Master selon la technique de H. Ferté (Laboratoire de parasitologie vétérinaire – Vetagro Sup, Lyon)

- **Gestes techniques**

1) Délayer 5g (à défaut 2,5g) de matières fécales exactement pesées dans 70 mL de sulfate de magnésium (Mg SO_4) de densité 1,26.
2) Tamiser.
3) Réaliser une agitation magnétique pendant 3 minutes pour homogénéiser le filtrat.
4) Prélever à l'aide d'une pipette et remplir les deux chambres de la cellule de Mac Master.
5) Avec le reste du filtrat, remplir un tube à hémolyse à ras bord et placer une lamelle en haut du tube.
6) Centrifuger à 2000 tours par minute pendant 3 minutes
7) Déposer la lamelle sur une lame, elle est appelée « lame de flottaison » ou « lame de contrôle »

- **Lecture de la lame Mac Master**

1) Laisser reposer 3 à 5 minutes.
2) A l'aide d'un microscope optique, faire la lecture au grossissement x100 de la totalité des 2 chambres c'est à dire en prenant en compte les éléments en dehors du réseau de la chambre.
3) Pour chaque type d'élément sur la totalité des 2 chambres, on considère qu'un élément vu équivaut à 15 éléments par gramme de fèces.

- **Lecture de la lame de flottaison**

1) Laisser reposer 30 minutes à 1 heure.
2) La présence d'un élément vu et absent en cellule de Mac Master équivaut à < 7,5 éléments par gramme de fèces. Cette lame permet aussi de s'assurer de la présence des éléments vu en cellule Mac Master.

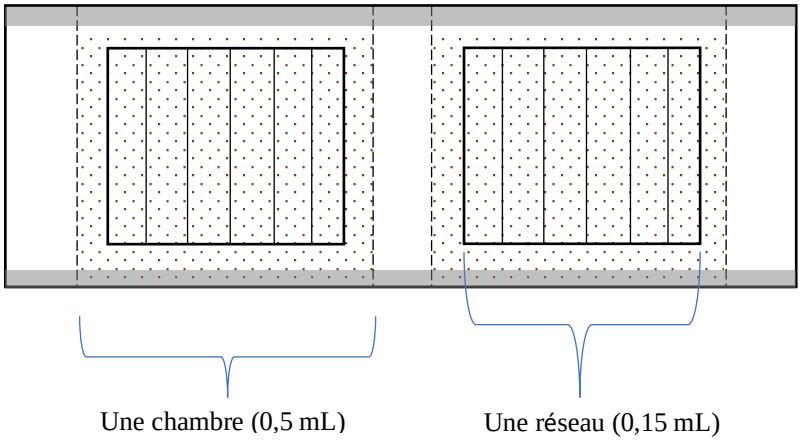
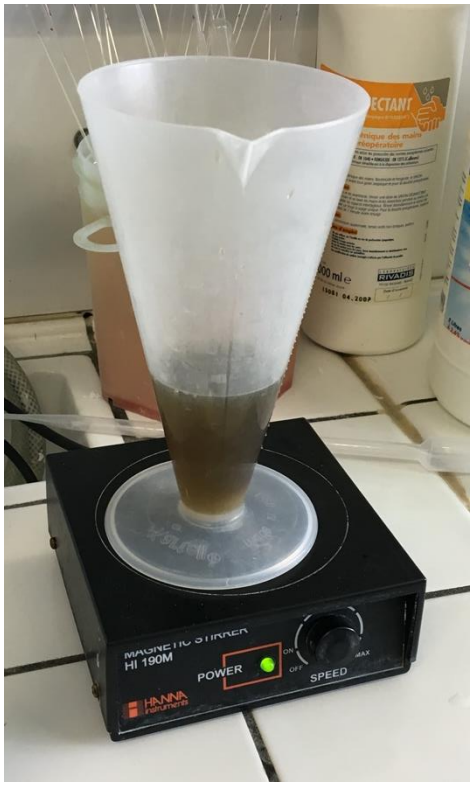


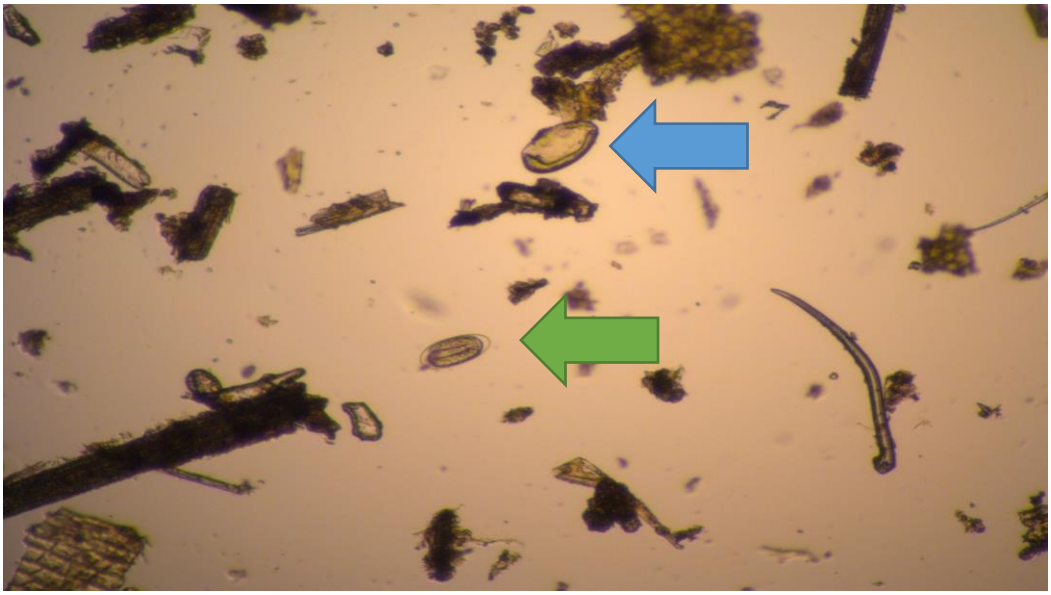
Schéma d'une lame de Mac Master.

Étape 2 (A. Serafino).



Étape 3 (A. Serafino).

Étape 5 (A. Serafino).



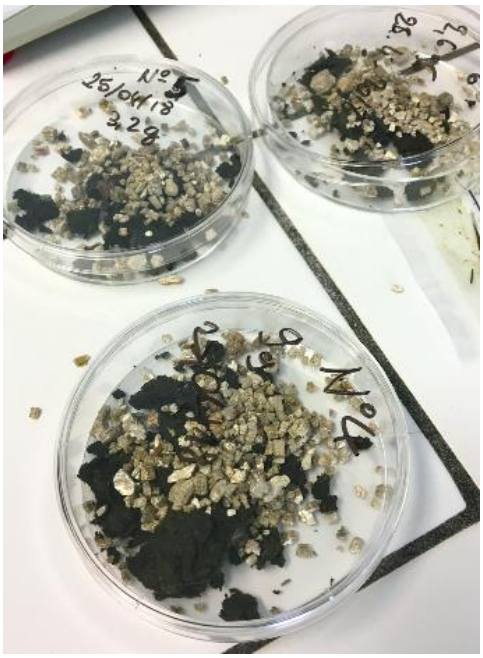
Exemple de ce que l'on peut observer sur une lame de Mac Master au grossissement X100 d'un microscope optique. Flèche bleu : œuf de Fasciola hepatica. Flèche verte : œuf de strongle digestif (A. Serafino).

Annexe 4 : coproculture et coproscopie de Baermann (Laboratoire de Parasitologie – Vetagro-Sup, Lyon)

Étape 1 : coproculture

Objectif : éclosion des œufs de SGI et obtention de L3

- Étaler les fèces (les déliter un peu avec de l'eau si elles sont trop sèches) dans une boîte de Petri et y ajouter de la vermiculite. Une boite de pétrie remplie de fèces constitue un individu.
- Mettre les boites de Petri à l'étuve durant 10-15 jours à l'étuve à 24°C. Il faut maintenir les conditions suivantes : humidité entre 50 et 80%, température entre 23 et 25°C, oxygénation satisfaisante.
- Humidifier les fèces tous les 2 jours au besoin.



À gauche, boite de Pétri contenant des fèces et de la vermiculite. À droite, étuve du laboratoire de parasitologie (Vetagro Sup, Lyon) (A. Serafino).

Étape 2 : coproscopie de Baermann

Objectif : récupérer les larves de stade 3

- Homogénéiser le prélèvement avec un mortier et un pilon (humidifier si les fèces sont trop sèches).
- Peser l'échantillon et le placer dans le fond d'une passoire à thé.
- Remplir l'appareil de Baermann d'eau distillée à température ambiante.
- Poser la passoire remplie sur les rebords de l'entonnoir.

- Compléter le niveau d’eau de sorte que celui-ci affleure la partie inférieure du prélèvement.
- Laisser reposer pendant au moins 24h.
- Ouvrir le clamp et recueillir le liquide dans un tube.
- Centrifuger 10 minutes à 1500 tours/min et récolter le culot avec une pipette.
- Placer le culot dans un tube Ependorf ® de 1 mL et compléter avec de l’eau distillée.

Annexe 5 : comptage des larves L3 de SGI (Laboratoire de Parasitologie – Vetagro-Sup, Lyon)

- Maintenir dans l'eau les échantillons récoltés à l'issue des coprocultures et de la méthode de Baermann.
- Mesurer le volume initial des tubes contenant les larves.
- Prélever un aliquot de 20 uL.
- Comptage sous un microscope optique des L3 ayant la particularité d'être engainées. Cette différence permet leur distinction avec les adultes de strongles respiratoires et les nématodes libres dans l'environnement (*Protostrongylus* spp.).
- Estimer le nombre de larves totales de SGI dans le tube par proportionnalité.

Annexe 6 : Protocle d'extraction d'ADN avec le kit QIAamp® PowerFecal® DNA - Protocole modifié

Notes avant de commencer : Effectuez toutes les étapes de centrifugation à température ambiante (15-25 ° C). Si la solution C1 a précipité, chauffer à 60 ° C jusqu'à dissolution du précipité. Shake pour mélanger la solution C4 avant utilisation.
Si les échantillons sont dans un tampon de lyse, décongeler et travailler sur de la glace.

1. Transférez le contenu du tube Dry Bead fourni (perles) dans un nouveau tube eppendorf de 1,5 ml.
2. Après l'homogénéisation, transférer l'échantillon (tout ou partie aliquote) dans le tube Dry Bead vide.
1. Utilisez un embout avec un large orifice si l'échantillon contient beaucoup de débris.
2. Si l'échantillon contient trop de débris (c'est-à-dire plus de 250 µl de débris après centrifugation, transférez dans 2-3 tubes et effectuez 2-3 extractions pour cet échantillon).
3. Centrifuger à 3 000 G pendant 4 min pour agglomérer le parasite à l'aide de la grande centrifugeuse et des paniers pour plaques.
4. Retirer et jeter la majorité du surnageant (ne pas toucher le culot)
5. Remplir le tube (~ 1,5 ml) avec de l'eau stérile, de qualité PCR et PBS 1X, sans ADN, et remettre le culot en suspension avec une pipette.
6. Centrifuger à 3 000 G pendant 4 min pour agglomérer le parasite à l'aide de la grosse centrifugeuse et des paniers pour plaques.
7. Retirer et jeter la majorité du surnageant (ne pas toucher au culot)
8. Ajoutez 750 µl de solution PowerBead dans le tube à billes. Inverser plusieurs fois
9. Centrifuger à 3 000 G pendant 4 min pour agglomérer le parasite à l'aide de la grosse centrifugeuse et des paniers pour plaques.
10. Retirer et jeter 300 µl de surnageant
11. Transférer les billes du tube eppendorf de 1,5 ml de l'étape 1 dans le tube à billes.
12. Ajouter 60 µl de solution C1 et inverser plusieurs fois ou vortexer brièvement.
13. Placez sur thermomixer à 65 ° C pendant 10 min avec agitation à 800 tr / min
14. Utilisez le Beadbeater pendant 5 min
15. Centrifuger les tubes à 13 000 x g pendant 1 min.
16. Transférer le surnageant dans un tube collecteur propre de 2 ml (fourni). Attendez-vous entre 400 et 500 ul de surnageant.
17. Ajouter 250 µl de solution C2 et vortexer brièvement pour mélanger. Incuber à 2-8 ° C pendant 5 min.
18. Centrifuger les tubes à 13 000 x g pendant 1 min.
19. En évitant le culot, transférer jusqu'à 600 µl de surnageant dans un tube collecteur propre de 2 ml.
20. Ajouter 200 µl de solution C3 et vortexer brièvement. Incuber à 2-8 ° C pendant 5 min.
21. Centrifuger les tubes à 13 000 x g pendant 1 min.
22. En évitant le culot, transférer le surnageant dans un tube collecteur propre de 2 ml (fourni). Ne transférez pas plus de 750 µl à cette étape.
23. Ajouter 1200 µl de Solution C4 au surnageant et vortexer pendant 5 s.
24. Charger 650 µl de surnageant sur une colonne MB Spin et centrifuger à 13 000 x g pendant 1 min. Jeter le flux à travers et répéter jusqu'à ce que tout le surnageant a été traité.
Remarque: chaque échantillon traité nécessitera un total de trois chargements.
25. Ajouter 500 µl de solution C5 et centrifuger pendant 1 minute à 13 000 x g.

26. Jeter le flux et centrifuger à nouveau pendant 1 min à 13 000 x g.
27. Placez soigneusement la colonne MB Spin dans un tube collecteur propre de 2 ml (fourni). Remarque: évitez de projeter la solution C5 sur la colonne MB Spin.
28. Ajoutez 50 à 150 µl (voir la feuille de données Excel) d'eau de qualité PCR sans ADN au centre de la membrane filtrante blanche.
29. Centrifuger à 13 000 x g pendant 1 min et jeter le panier de filtre anti-rotation. L'ADN dans le tube est maintenant prêt pour toute application en aval.
30. Sur glace, préparer une aliquot à 10% (4 µl dans 36 µl d'eau) pour chaque échantillon

BIBLIOGRAPHIE

ABBAS, A. K., LICHTMAN, A. H. et PILLAI, S. (2016). Mécanisme d'action de l'immunité humorale. Les bases de l'immunologie fondamentales et cliniques – 5ème Edition. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson, pp. 137-154. ISBN 978-2-294-75242-1

ABONGWA, M., MARTIN, R. J. et ROBERTSON, A. P., 2017. A brief review on the mode of action of antinematodal drugs. Acta Veterinaria. 2017. Vol. 67, n° 2, pp. 137-152. DOI 10.1515/acve-2017-0013.

ABBOTT, E. M., PARKINS, J. J. et HOLMES, P. H., 1986. The effect of dietary protein on the pathophysiology of acute ovine haemonchosis. Veterinary Parasitology. 1986. Vol. 20, n°4, pp. 291-306. DOI 10.1016/0304-4017(86)90126-3.

ABBOTT, K. A., TAYLOR, M. et STUBBINGS, L. A., 2012. Sustainable Worm Control Strategies for Sheeps. A Technical Manual for Veterinary Surgeons and Advisors. SCOPS 4th edition. Londres : Context Publishing. 53 pages. ISBN 0-9547447-4-8.

AGOSTA, S. J., JANZ, N. et BROOKS, D. R., 2010. How specialists can be generalists: resolving the « parasite paradox » and implications for emerging infectious disease. Zoologia (Curitiba). 2010. Vol. 27, n° 2, pp. 151-162. DOI 10.1590/S1984-46702010000200001.

ALBERS, G.A.A. et LE JAMBRE, L. F., 1983. Erythrocyte potassium concentration : a simple parameter for erythropoiesis in sheep infected with Haemonchus contortus. Research in Veterinary Science. 1983. Vol. 35, n° 3, pp. 273-276.

ALBONICO, M., BICKLE, Q., RAMSAN, M., MONTRESOR, A., SAVIOLI, L. et TAYLOR, M., 2003. Efficacy of mebendazole and levamisole alone or in combination against intestinal nematode infections after repeated targeted mebendazole treatment in Zanzibar. Bulletin of the World Health Organization. 2003. Vol. 81, n° 5, pp. 343-352. DOI : 10.1590/S0042-96862003000500008

ALBONICO, M., WRIGHT, V. et BICKLE, Q., 2004. Molecular analysis of the beta-tubulin gene of human hookworms as a basis for possible benzimidazole resistance on Pemba Island. Molecular and Biochemical Parasitology. 2004. Vol. 134, n° 2, pp. 281-284. DOI 10.1016/j.molbiopara.2003.12.008.

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

AVRAMENKO, R. W., REDMAN, E. M., LEWIS, R., YAZWINSKI, T. A., WASMUTH, J. D. et GILLEARD, J. S., 2015. Exploring the Gastrointestinal "Nemabiome": Deep Amplicon Sequencing to Quantify the Species Composition of Parasitic Nematode Communities. PLOS ONE. 2015. Vol. 10, n° 12, pp. 1-18. DOI 10.1371/journal.pone.0143559.

AVRAMENKO, R. W., REDMAN, E. M., MELVILLE, L., BARTLEY, Y., WIT, J., QUEIROZ, C., BARTLEY, D. J. et GILLEARD, J. S., 2019. Deep amplicon sequencing as a powerful new tool to screen for sequence polymorphisms associated with anthelmintic resistance in parasitic nematode populations. International Journal for Parasitology. 2019. Vol. 49, n° 1, pp. 13-26. DOI 10.1016/j.ijpara.2018.10.005.

AUTEF, P., 2008. La nématodirose ovine. SNGTV. 2008. Fiche n° 138. Disponible sur http://ovine.sngtv.pagesperso-orange.fr/Nematodirose.pdf [consulté le 6 juin 2020]

BARNES, E. H., DOBSON, R. J., DONALD, A. D. et WALLER, P. J., 1988. Predicting populations of Trichostrongylus colubriformis infective larvae on pasture from meteorological data. International Journal for Parasitology. 1988. Vol. 18, n° 6, pp. 767-774. DOI : 10.1016/0020-7519(88)90117-8

BARONE, C. D., WIT, J., HOBERG, E. P., GILLEARD, J. S. et ZARLENGA, D. S., 2020. Wild ruminants as reservoirs of domestic livestock gastrointestinal nematodes. Veterinary Parasitology. 2020. Vol. 279, pp. 1-7. DOI 10.1016/j.vetpar.2020.109041.

BESIER, R. B., KAHN, L. P., SARGISON, N. D. et VAN WYK, J. A., 2016. The Pathophysiology, Ecology and Epidemiology of Haemonchus contortus Infection in Small Ruminants. In : GASSER R. B., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G. (dir.) (2016) Advances in parasitology : Haemonchus contortus and Haemonchosis – Past, Present and Future Trends. Vol. 93. Londres : Elsevier, pp. 69 -94. ISBN 978-0-12-810395-1.

BLAXTER, M. L., PAGE, A. P., RUDIN, W. et MAIZELS R. M., 1992. Nematode Surface Coats : Actively Evading Immunity. Parasitology Today. 1992. Vol. 8, n° 7, pp. 243 -247.

BOSCO, A., RINALDI, L., MAURELLI, M., MUSELLA, V., COLES, G. et CRINGOLI, G., 2014. The comparison of FLOTAC, FECPAK and McMaster techniques for nematode egg counts in cattle. Acta Parasitologica. 2014. Vol. 59, n° 4. DOI 10.2478/s11686-014-0282-7.

BYE, K., HALVORSEN, O. et NILSSEN, K., 1987. Immigration and regional distribution of abomasal nematodes of Svalbard reindeer. Journal of Biogeography. 1987. Vol. 14, n° 5, pp. 451-458. DOI 10.2307/2844975.

CABARET, J., 2000. Les strongyloses digestives des ovins et des caprins. L'Action Vétérinaire n°1525. 2000. Cahiers cliniques n° 56.

CABARET, J., MAGE, C. et BOUILHOL, M., 2002. Helminth intensity and diversity in organic meat sheep farms in centre of France. Veterinary Parasitology. 2002. Vol 105, n°1, pp. 33 – 47. DOI 10.1016/s0304-4017(01)00647-1.

CATUSSE, M., CORTI, R., CUGNASSE, J. M., DUBRAY, D., GIBERT, P., MICHALLET, J., (1996). *La grande faune de montagne.* Paris : Hatier. 260 pages. ISBN 2.7438.0051.8.

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

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

CHARLIER, J., RINALDI, L. MUSELLA, V., PLOEGER, H.W., CHARTIER, C., ROSE VINEER, H., HINNEY, B., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., BACESCU, B., MICKIEWICZ, M., MATEUS, T. L., MARTINEZ-VALLARES, M., QUEALY, S., AZAIZEH, H., SEKOVSKA, B., AKKARI, H., PETKEVICIUS, S., HEKTOEN, L., HÖGLUND, J., MORGAN, E.R., BARTLEY, D.J. et CLAEREBOUT, E., 2020. Initial Assessment of the Economic Burden of Major Parasitic Helminth Infections to the Ruminant Livestock Industry in Europe. Preventive Veterinary Medecine. 2020. Vol. 182, pp. 1- 12. DOI 10.1016/j.prevetmed.2020.105103.

CHARTIER, C. 1995. Production laitière et strongyloses digestives chez les ruminants. Revue Méd. Vét. 1995. Vol. 146, n° 1, pp. 23-28.

CHAUDHRY, U., REDMAN, E. M., RAMAN, M. et GILLEARD, J. S., 2015. Genetic evidence for the spread of a benzimidazole resistance mutation across southern India from a single origin in the parasitic nematode Haemonchus contortus. International Journal for Parasitology. 2015. Vol. 45, n° 11, pp. 721-728. DOI 10.1016/j.ijpara.2015.04.007.

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

CINTRA, M. C. R., OLLHOFF, R. D., SANTOS SOTOMAIOR, C., 2018. Sensitivity and specificity of the FAMACHA© system in growing lambs. Veterinary Parasitology. 2018. Vol. 251, pp. 106-111. DOI 10.1016/j.vetpar.2018.01.005.

CITTERIO, C. V., CASLINI, C., MILANI, F., SALA, M., FERRARI, N. et LANFRANCHI, P., 2006. Abomasal nematode community in an alpine chamois (Rupicapra r. rupicapra) population before and after a die-off. Journal of Parasitology. 2006. Vol. 92, n° 5, pp. 918-927. DOI 10.1645/GE-3551.1.

CITTERIO, C. V. et LANFRANCHI, P., 2006. Dynamics of parasite communities and interactions between wild and domestic ruminants. Parassitologia. 2006. Vol. 48, n° 1-2, pp. 33-35.

COBON, D. H. et O'SULLIVAN, B.M., 1992. Effect of Haemonchus contortus on productivity of ewes, lambs and weaners in a semi-arid environment. Journal of Agricultural Science. 1992. Vol. 118, n° 2, pp. 245-248. DOI 10.1017/S0021859600068854.

COLES, G. C., BAUER, C., BORGSTEEDE, F. H. M., GEERTS, S., KLEI, T. R., TAYLOR, M. A. et 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.1992. Vol. 44, n° 1-2, pp. 35-44. DOI 10.1016/0304-4017(92)90141-u.

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

COMBES, C., GAVOTTE, L., MOULIA, C. et SICARD, M. (2018). Parasitisme : écologie et évolution des interactions durables. Paris : Dunod, 332 p. ISBN 978-2-10-076172-2.

CRAIG, H., WASTLING, J. M. et KNOX, D. P., 2006. A preliminary proteomic survey of the in vitro excretory/secretory products of fourth-stage larval and adult Teladorsagia circumcincta. Parasitology. 2006. Vol. 132, n° 4, pp. 535-543. DOI 10.1017/S0031182005009510.

CRINGOLI, G., RINALDI, L., ALBONICO, M., BERGQUIST, R. et UTZINGER, J., 2013. Geospatial (s)tools : integration of advanced epidemiological sampling and novel diagnostics. Geospatial Health. 2013.Vol. 7, n° 2, pp. 399-404. DOI 10.4081/gh.2013.97.

CRINGOLI, G., RINALDI, L., MAURELLI, M. P. et UTZINGER, J., 2010. FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. Nature Protocols. 2010. Vol. 5, n° 3, pp. 503-515. DOI 10.1038/nprot.2009.235.

DE LA CHEVROTIERE, C., MORENO, C., JAQUIET, P. et MANDONNET, N., 2011. La sélection génétique pour la maîtrise des strongyloses gastro-intestinales des petits ruminants. INRA Productions Animales. 2011. Vol. 24, n° 3, pp 221-234.

DE MONTELLANO, C. M. O., VARGAS-MAGAÑA, J.J., AGUILAR-CABALLERO, A.J., SANDOVAL-CASTRO, C.A., COB-GALERA, L., MAY-MARTÍNEZ, M., MIRANDA-SOBERANIS, R., HOSTE, H., SARMIENTO, R. C. et TORRES-ACOSTA, J.F.J., 2007. Combining the effects of supplementary feeding and copper oxide needles for the control of gastrointestinal nematodes in browsing goats. Veterinary Parasitology. 2007. Vol. 146, n° 1-2, pp. 66-76. DOI 10.1016/j.vetpar.2007.02.012.

DICKER, A. J., NISBET, A. J. et SKUCE, P. J., 2011. Gene expression changes in a P-glycoprotein (Tci-pgp-9) putatively associated with ivermectin resistance in Teladorsagia circumcincta. International Journal for Parasitology. 2011. Vol. 41, n° 9, pp. 935-942. DOI 10.1016/j.ijpara.2011.03.015.

DOLIGALSKA, M., JÓŹWICKA, K., DONSKOW-ŁYSONIEWSKA, K. et KALINOWSKA, M., 2017. The antiparasitic activity of avenacosides against intestinal nematodes. Veterinary Parasitology. 2017. Vol. 241, pp. 5-13. DOI 10.1016/j.vetpar.2017.05.003.

DUNN, A.M., 1965. The gastro-intestinal helminths of wild ruminants in Britain I. Roe deer, Capreolus capreolus capreolus. Parasitology. 1965. Vol. 55, n°4, pp. 739-745. DOI: https://doi.org/10.1017/S0031182000086303

ELARD, L., CABARET, J. et HUMBERT, J. F., 1999. PCR diagnosis of benzimidazole-susceptibity or -resistance in natural populations of the small ruminant parasite, Teladorsagia circumcincta. Veterinary Parasitology. 1999. Vol. 80, n° 3, pp. 231-237.

ELARD, L., COMES, A. et HUMBERT, J. F., 1996. Sequences of beta-tubulin cDNA from benzimidazole-susceptible and -resistant strains of Teladorsagia circumcincta, a nematode parasite of small ruminants. Molecular and Biochemical Parasitology.1996. Vol. 79, n° 2, pp. 249-253.

EPE, C. et KAMINSKY, R., 2013. New advancement in anthelmintic drugs in veterinary medicine. Trends in Parasitology. 2013. Vol. 29, n° 3, pp. 129-134. DOI 10.1016/j.pt.2013.01.001.

EUZEBY, J. (2008). Grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire. Paris : Éditions TEC & DOC, Lavoisier. 815 pages. ISBN : 978-2-7430-1044-7

FAIRLIE-CLARKE, K., KASEJA, K., SOTOMAIOR, C., BRADY, N., MOORE, K. et STEAR, M., 2019. Salivary IgA: A biomarker for resistance to Teladorsagia circumcincta and a new estimated breeding value. Veterinary Parasitology. 2019. Vol. 269, pp. 16-20. DOI 10.1016/j.vetpar.2019.04.005.

FERREIRA, L. E., BENINCASA, B. I., FACHIN, A. L., FRANÇA, S. C., CONTINI, S. S.H.T., CHAGAS, A. C.S. et BELEBONI, R. O., 2016. Thymus vulgaris L. essential oil and its main component thymol: Anthelmintic effects against Haemonchus contortus from sheep. Veterinary Parasitology. 2016. Vol. 228, pp. 70-76. DOI 10.1016/j.vetpar.2016.08.011.

FERREIRA, L. E., BENINCASA, B. I., FACHIN, A. L., CONTINI, S. H. T., FRANÇA, S. C., CHAGAS, A. C. S. et BELEBONI, R. O., 2018. Essential oils of Citrus aurantifolia, Anthemis nobile and Lavandula officinalis: in vitro anthelmintic activities against Haemonchus contortus. Parasites & Vectors. 2018. Vol. 11, n° 1, pp. 269. DOI 10.1186/s13071-018-2849-x.

FLOHR, C., NGUYEN TUYEN, L., LEWIS, S., TAN MINH, T., CAMPBELL, J., BRITTON, J., WILLIAMS, H., TINH HIEN, T., FARRAR, J., et QUINNELL, R. J., 2007. Low Efficacy of Mebendazole Against Hookworm in Vietnam : Two Randomized Controlled Trials. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. Avril 2007. Vol. 76, n° 4, pp. 732-736.

FOREYT, W. J. Parasites of Cattle, Sheep and Goats (2002). Veterinary Parasitology – Reference Manual – Fifth Edition. Ames : Blackwell Publishing, pp. 69-114. ISBN : 0-8138-2419-2.

GEERTS, S. et GRYSEELS, B., 2000. Drug Resistance in Human Helminths : Current Situation and Lessons from Livestock. Clinical Microbiology Reviews. 2000. Vol. 13, n° 2, pp. 207-222. DOI 10.1128/cmr.13.2.207-222.2000.

GEURDEN, T., HODGE, A., NOÉ, L., WINSTANLEY, D., BARTLEY, D. J., TAYLOR, M., MORGAN, C., FRASER, S. J., MAEDER, S. et BARTRAM, D., 2012. The efficacy of a combined oral formulation of derquantel–abamectin against anthelmintic resistant gastro-intestinal nematodes of sheep in the UK. Veterinary Parasitology. 2012. Vol. 189, n° 2-4, pp. 308-316. DOI 10.1016/j.vetpar.2012.04.008.

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

GIBBONS L.M. General Organisation. In : LEE D. L. (2002). *The Biology of Nematodes*. Londres : Taylor & Francis, pp. 59 -140. ISBN 978-0-415-27211-7.

GRENFELL, B. T., SMITH, G. et ANDERSON, R. M., 1987. The regulation of Ostertagia ostertagi populations in calves : the effect of past and current experience of infection and proportional establishment and parasite survival. Parasitology. 1987. Vol. 95, pp 363-372. DOI 10.1017/s0031182000057802.

HAMER, K., MCINTYRE, J., MORRISSON, A., JENNINGS, A., KELLY, R. F., LEESON, S., BARTLEY, D. J., CHAUDHRY, U., BUSIN, V. et SARGISON, N., 2019. The dynamics of ovine gastrointestinal nematode infections within ewe and lamb cohorts on three Scottish sheep farms. Preventive Veterinary Medicine. 2019. Vol. 171, pp. 1-10. DOI 10.1016/j.prevetmed.2019.104752.

HANSEN J. et PERRY B. Épidémiologie des helminthiases (1995). Épidémiologie, diagnostic et prophylaxie des helminthiases des ruminants domestiques. Rome : FAO, pp 13 – 54. ISBN 92-5-203483-8.

HARDER A. The biochemistry of Haemonchus contortus and other Parasitic Nematodes. In : GASSER R. B., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G. (dir.) (2016) Advances in parasitology : Haemonchus contortus and Haemonchosis – Past, Present and Future Trends. Vol. 93. Londres : Elsevier, pp 69 -94. ISBN 978-0-12-810395-1.

HARRISON, G. B. L., PULFORD, H. D., HEIN, W. R., BARBER, T. K., SHAW, R. J., McNEILL, M., WAKEFIELD, ST. J. et SHOEMAKER, C. B., 2003 a. Immune rejection of Trichostrongylus colubriformis in sheep ; a possible role for intestinal mucus antibody against an L3-specific surface antigen. Parasite Immunology. 2003. Vol. 25, n° 1, pp. 45-53. DOI 10.1046/j.1365-3024.2003.00602.x.

HARRISON, G. B. L., PULFORD, H. D. , HEIN, W. R., SEVERN, W. B. et SHOEMAKER, C. B., 2003 b. Characterization of a 35-kDa carbohydrate larval antigen (CarLA) from Trichostrongylus colubriformis ; a potential target for host immunity. Parasite Immunology. 2003. Vol. 25, n° 2, pp. 79-86. DOI 10.1046/j.1365-3024.2003.00606.x.

HARRISON, G. B. L., PULFORD, H. D., DOOLIN, E. E., PERNTHANER, A., SHOEMAKER, C. B. et HEIN, W. R., 2008. Antibodies to surface epitopes of the carbohydrate larval antigen CarLA are associated with passive protection in strongylid nematode challenge infections. Parasite Immunology. 2008. Vol. 30, n° 11-12, pp. 577-584. DOI 10.1111/j.1365-3024.2008.01058.x.

HOBERG, E. P. et ZARLENGA, D. S. Evolution and Biogeography of Haemonchus contortus : Linking Faunal Dynamics in Space and Time. In : GASSER R. B., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G. (dir.) (2016). Advances in parasitology : Haemonchus contortus and Haemonchosis – Past, Present and Future Trends. Vol. 93. Londres : Elsevier, pp. 69 -94. ISBN 978-0-12-810395-1.

HOBERG, E. P., KOCAN, A. A et RICKARD, L. G. Gastrointestinal Strongyles in Wild Ruminants [en ligne]. In : SAMUEL, W. M., PYBUS, M. J., KOCAN, A. A. (dir.) (2001). Parasitic Diseases of Wild Mammals – 2nd ed. Iowa State University Press, pp. 193-227. Disponible sur : https://digitalcommons.unl.edu/parasitologyfacpubs/623 [consulté le 20 août 2020].

HODGKINSON, J. E., KAPLAN, R. M., KENYON, F., MORGAN, E. R., PARK, A. W., PATERSON, S., BABAYAN, S. A., BEESLEY, N. J., BRITTON, C., CHAUDHRY, U., DOYLE, S. R., EZENWA, V. O., FENTON, A., HOWELL, S. B., LAING, R., MABLE, B. K., MATTHEWS, L., MCINTYRE, J., MILNE, C. E., MORRISON, T. A., PRENTICE, J. C., SARGISON, N. D., WILLIAMS, D. J.L., WOLSTENHOLME, A. J. et DEVANEY, E., 2019. Refugia and anthelmintic resistance : Concepts and challenges. International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance. 2019. Vol. 10, pp. 51-57. DOI 10.1016/j.ijpddr.2019.05.001.

HOSTE, H. et CHARTIER, C. Gestion du parasitisme chez les ruminants : réduire la contamination parasitaire du milieu. Le Point Vétérinaire. 2002. N° 231, pp 44-46.

HOSTE, H., HUBY, F. et MALLET, S. 1997. Strongyloses gastro-intestinales des ruminants : conséquences physiopathologiques et mécanismes pathogéniques. Le Point Vétérinaire. 1997. Vol. 28, n° spécial « Parasitologie des ruminants », pp 53-59.

INVENTAIRE NATIONAL DU PATRMOINE NATURE (INPN). Site de l'INPN [en ligne]. URL : https://inpn.mnhn.fr/accueil/index [consulté le 29 août 2020].

JACQUIET, P., 2015. Comment rationaliser les traitements anthelminthiques en élevage ovin ? Le Nouveau Praticien Vétérinaire – Élevages et Santé. 2015. Vol. 8, n° 30, pp. 45-50.

JACQUIET, P., CABARET, J., THIAM, E. et CHEIKH. D., 1998. Host range and the maintenance of Haemonchus spp. in an adverse arid climate. International Journal for Parasitology. 1998. Vol. 28, n° 2, pp. 253-261. DOI 10.1016/s0020-7519(97)00185-9.

JAMES, C. E., HUDSON, A. L. et DAVEY, M. W., 2009. Drug resistance mechanisms in helminths: is it survival of the fittest? Trends in Parasitology. 2009. Vol. 25, n° 7, pp. 328-335. DOI 10.1016/j.pt.2009.04.004.

KAMINSKY, R., GAUVRY, N., SCHORDERET WEBER, S., SKRIPSKY, T., BOUVIER, J., WENGER, A., SCHROEDER, F., DESAULES, Y., HOTZ, R., GOEBEL, T., HOSKING, B. C., PAUTRAT, F., WIELAND-BERGHAUSEN, S. et DUCRAY, P., 2008. Identification of the amino-acetonitrile derivative monepantel (AAD 1566) as a new anthelmintic drug development candidate. Parasitology Research. 2008. Vol. 103, n° 4, pp. 931-939. DOI 10.1007/s00436-008-1080-7.

KAMINSKY, R., DUCRAY, P., JUNG, M., CLOVER, R., RUFENER, L., BOUVIER, J., WEBER, S. S., WENGER, A., WIELAND-BERGHAUSEN, S., GOEBEL, T., GAUVRY, N., PAUTRAT, F., SKRIPSKY, T., FROELICH, O., KOMOIN-OKA, C., WESTLUND, B., SLUDER, A. et MÄSER, P., 2008. A new class of anthelmintics effective against drug-resistant nematodes. Nature. 2008. Vol. 452, n° 7184, pp. 176-180. DOI 10.1038/nature06722.

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

KAPLAN, R. M., 2004. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. Trends in Parasitology. 2004. Vol. 20, n° 10, pp. 477-481. DOI 10.1016/j.pt.2004.08.001.

KENYON, F., RINALDI, L., MCBEAN, D., PEPE, P., BOSCO, A., MELVILLE, L., DEVIN, L., MITCHELL, G., IANNIELLO, D., CHARLIER, J., VERCRUYSSE, J., CRINGOLI, G. et LEVECKE, B., 2016. Pooling sheep faecal samples for the assessment of anthelmintic drug efficacy using McMaster and Mini-FLOTAC in gastrointestinal strongyle and Nematodirus infection. Veterinary Parasitology. 2016. Vol. 225, pp. 53-60. DOI 10.1016/j.vetpar.2016.03.022.

KERBOEUF, D., BLACKHALL, W., KAMINSKY, R. et VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., 2003. P-glycoprotein in helminths: function and perspectives for anthelmintic treatment and reversal of resistance. International Journal of Antimicrobial Agents. 2003. Vol. 22, n° 3, pp. 332-346. DOI 10.1016/S0924-8579(03)00221-8.

KERBOEUF, D. et AYCARDI, J., 1999. Unexpected increased thiabendazole tolerance in Haemonchus contortus resistant to anthelmintics by modulation of glutathione activity. Parasitology Research. 1999. Vol. 85, pp. 713-718. DOI 10. 1007/s004360050620.

KETZIS, J. K., VERCRUYSSE, J., STROMBERG, B. E., LARSEN, M., ATHANASIADOU, S. et HOUDIJK, J. G.M., 2006. Evaluation of efficacy expectations for novel and non-chemical helminth control strategies in ruminants. Veterinary Parasitology. 2006. Vol. 139, n° 4, pp. 321-335. DOI 10.1016/j.vetpar.2006.04.022.

KLONGSIRIWET, C., QUIJADA, J., WILLIAMS, A. R., MUELLER-HARVEY, I., WILLIAMSON, E. M. et HOSTE, H., 2015. Synergistic inhibition of Haemonchus contortus exsheathment by flavonoid monomers and condensed tannins. International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance. 2015. Vol. 5, n° 3, pp. 127-134. DOI 10.1016/j.ijpddr.2015.06.001.

KOTZE, A. C., HUNT, P. W., SKUCE, P., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., MARTIN, R. J., SAGER, H., KRÜCKEN, J., HODGKINSON, J., LESPINE, A., JEX, A. R., GILLEARD, J. S., BEECH, R. N., WOLSTENHOLME, A. J., DEMELER, J., ROBERTSON, A. P., CHARVET, C. L., NEVEU, C., KAMINSKY, R., RUFENER, L., ALBERICH, M., MENEZ, C. et PRICHARD, R. K., 2014. Recent advances in candidate-gene and whole-genome approaches to the discovery of anthelmintic resistance markers and the description of drug/receptor interactions. International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance. 2014. Vol. 4, n° 3, pp. 164-184. DOI 10.1016/j.ijpddr.2014.07.007.

KRÜCKEN, J., HARDER, A., JESCHKE, P., HOLDEN-DYE, L., O'CONNOR, V., WELZ, C. et VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., 2012. Anthelmintic cyclooctadepsipeptides: complex in structure and mode of action. Trends in Parasitology. 2012. Vol. 28, n° 9, pp. 385-394. DOI 10.1016/j.pt.2012.06.005.

KRÜCKEN, J., FRAUNDORFER, K., MUGISHA, J. C., RAMÜNKE, S., SIFFT, K. C., GEUS, D., HABARUGIRA, F., NDOLI, J., SENDEGEYA, A., MUKAMPUNGA, C.,

BAYINGANA, C., AEBISCHER, T., DEMELER, J., GAHUTU, J. B., MOCKENHAUPT, F. P., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., 2017. Reduced efficacy of albendazole against Ascaris lumbricoides in Rwandan schoolchildren. International Journal for Parasitology : Drugs and Drug Resistance. 2017. Vol. 7, n° 3, pp. 262-271. DOI 10.1016/j.ijpddr.2017.06.001.

KWA, M. S. G., VEENSTRA, J. G. et ROOS, M. H., 1994. Benzimidazole resistance in Haemonchus contortus is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in beta-tubulin isotype 1. Molecular and Biochemical Parasitology.1994. Vol. 63, n°2, pp. 299-303. DOI 10.1016/0166-6851(94)90066-3.

KWA, M. S. G., VEENSTRA, J. G., DIJK, M. V. et ROOS, M. H., 1995. Beta-Tubulin Genes from the Parasitic Nematode Haemonchus contortus Modulate Drug Resistance in Caenorhabditis elegans. Journal of Molecular Biology. 1995. Vol. 246, n° 4, pp. 500-510. DOI 10.1006/jmbi.1994.0102.

LACA MEGYESI, Š., KÖNIGOVÁ, A., BABJÁK, M., MOLNÁR, L., RAJSKÝ, M., SZESTÁKOVÁ, E., MAJOR, P., SOROKA, J., URDA DOLINSKÁ, M., KOMÁROMYOVÁ, M. et VÁRADY, M., 2020. Wild ruminants as a potential risk factor for transmission of drug resistance in the abomasal nematode Haemonchus contortus. European Journal of Wildlife Research. 2020. Vol. 66, n° 1, pp. 9. DOI 10.1007/s10344-019-1351-x.

LANUSSE, C. E., ALAVAREZ, L. I. et LIFSCHITZ, A. L. Gaining insights into the pharmacology of Anthelmintics Using Haemonchus contortus as a Model Nematode. In : GASSER R. B., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G. (dir.) (2016) Advances in parasitology : Haemonchus contortus and Haemonchosis – Past, Present and Future Trends. Vol. 93. Londres : Elsevier, pp 464 -518. ISBN 978-0-12-810395-1.

LEARMOUNT, J., GETTINBY, G., BOUGHTFLOWER, V., STEPHENS, N., HARTLEY, K., ALLANSON, P., GUTIERREZ, A. B., PEREZ, D. et TAYLOR, M., 2015. Evaluation of ‘best practice’ (SCOPS) guidelines for nematode control on commercial sheep farms in England and Wales. Veterinary Parasitology. 2015. Vol. 207, n° 3-4, pp. 259-265. DOI 10.1016/j.vetpar.2014.12.004.

LEATHWICK, D. M., 2013. Managing anthelmintic resistance – Parasite fitness, drug use strategy and the potential for reversion towards susceptibility. Veterinary Parasitology. 2013. Vol. 198, n° 1-2, pp. 145-153. DOI 10.1016/j.vetpar.2013.08.022.

LEE D. L. Life Cycles (2002). The Biology of Nematodes. Londres : Taylor & Francis, pp 141-161. ISBN 978-0-415-27211-7.

LEE D. L. et ATKINSON H. J. (1976). Physiology of nematodes – second edition. Londres : The MacMillan Press LTD. 215 pages. ISBN 978-1-349-02669-2.

LIFSCHITZ, A., ENTROCASSO, C., ALVAREZ, L., LLOBERAS, M., BALLENT, M., MANAZZA, G., VIRKEL, G., BORDA, B. et LANUSSE, C., 2010. Interference with P-glycoprotein improves ivermectin activity against adult resistant nematodes in sheep. Veterinary Parasitology. 2010. Vol. 172, n° 3-4, pp. 291-298. DOI 10.1016/j.vetpar.2010.04.039.

LITTLE, P. R., HODGE, A., WATSON, T. G., SEED, J.A. et MAEDER, S. J., 2010. Field efficacy and safety of an oral formulation of the novel combination anthelmintic, derquantel-abamectin, in sheep in New Zealand. New Zealand Veterinary Journal. 2010. Vol. 58, n° 3, pp. 121-129. DOI 10.1080/00480169.2010.67513.

LOZANO J. et SMANT G. Survival of Plant-Parasitic Nematodes inside the Host. In : PERRY R.N., WHARTON D. A. (dir.) (2011). Molecular and Physiological Basis of Nematodes Survival. Wallingford : CABI, pp. 256 – 275. ISBN 978.184593.687.7.

LOZEY, J. E., VAUGHAN, M., 2006. The Economic Value of Ecological Services Provided by Insects. BioScience. 2006. Vol. 56, n° 4, pp. 311-323. DOI 10.1641/0006-3568(2006)56[311:TEVOES]2.0.CO;2.

LUMARET, J.P et ERROUISSI, F, 2002. Use of anthelmintics in herbivores and evaluation of risks for the non target fauna of pastures. Veterinary Research. 2002. Vol. 33, n° 5, pp. 547-562. DOI 10.1051/vetres:2002038.

LYNDAL-MURPHY, M., SWAIN, A.J. et PEPPER, P.M., 2014. Methods to determine resistance to anthelmintics when continuing larval development occurs. Veterinary Parasitology. 2014. Vol. 199, n° 3-4, pp. 191-200. DOI 10.1016/j.vetpar.2013.11.002.

MAGE, C. (2008) Parasites des Moutons : Prévention – Diagnostic – Traitement, 2nd édition. Paris : France Agricole. 115 pages. ISBN 13 : 978-285557-148-5.

MAQBOOL, I., WANI, Z. A., SHAHARDAR, R. A., ALLAIE, I. M. et SHAH, M. M., 2017. Integrated parasite management with special reference to gastro-intestinal nematodes. Journal of Parasitic Diseases. 2017. Vol. 41, n° 1, pp. 1-8. DOI 10.1007/s12639-016-0765-6.

MCGHEE, M.B., NETTLES, V.F., ROLLOR, E. A., PRESTWOOD A. K., DAVIDSON, W. R., 1981. Studies on cross-transmission and pathogenicity of Haemonchus contortus in white-tailed deer, domestic cattle and sheep. Journal of Wildlife Diseases. 1981. Vol. 17, n° 3, pp. 353-364. DOI 10.7589/0090-3558-17.3.353.

MCKELLAR, Q. A. et JACKSON, F., 2004. Veterinary anthelmintics: old and new. Trends in Parasitology. 2004. Vol. 20, n° 10, pp. 456-461. DOI 10.1016/j.pt.2004.08.002.

MCRAE, K. M., STEAR, M. J., GOOD, B. et KEANE, O. M., 2015. The host immune response to gastrointestinal nematode infection in sheep. Parasite Immunology. 2015. Vol. 37, n° 12, pp. 605-613. DOI 10.1111/pim.12290.

MEEUSEN E. N. T., 1999. Immunology of Helminth Infections, with Special Reference to Immunopathology. Veterinary Parasitology. 1999. Vol. 84, n° 3-4, pp. 259-273. DOI 10.1016/s0304-4017(99)00038-2.

MEKONNEN, Z., MEKA, S., AYANA, M., BOGERS, J., VERCRUYSSE, J. et LEVECKE, B., 2013. Comparison of Individual and Pooled Stool Samples for the Assessment of Soil-Transmitted Helminth Infection Intensity and Drug Efficacy. PLOS Neglected Tropical Diseases. 2013. Vol. 7, n° 5, pp. 1-9. DOI 10.1371/journal.pntd.0002189.

MELVILLE, L. A., REDMAN, E., MORRISON, A. A., REBECCA CHEN, P. C., AVRAMENKO, R., MITCHELL, S., VAN DIJK, J., INNOCENT, G., SARGISON, F., AITKEN, C., GILLEARD, J. S. et BARTLEY, D. J., 2020. Large scale screening for benzimidazole resistance mutations in Nematodirus battus, using both pyrosequence genotyping and deep amplicon sequencing, indicates the early emergence of resistance on UK sheep farms. International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance. 2020. Vol. 12, pp. 68-76. DOI 10.1016/j.ijpddr.2020.03.001.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION, 2017. Éco-antibio : réduire l'utilisation des antibiotiques vétérinaires [en ligne]. Disponible sur https://agriculture.gouv.fr/le-plan-ecoantibio-2-2017-2021 [consulté le 6 juin 2020].

MORENO-ROMIEUX, C., SALLÉ, G., JACQUIET, P., BLANCHARD, A., CHYLINSKI, C., CABARET, J., FRANCOIS, D., SACCAREAU, M., ASTRUC J. M., BAMBOU J. C. et MANDONNET, N., 2017. La résistance génétique aux infections par les nématodes gastro-intestinaux chez les petits ruminants : un enjeu de durabilité pour les productions à l'herbe. INRA Productions Animales. 2017. Vol. 30, n° 1, pp. 47-56.

MORGAN, E.R., MEDLEY, G.F., TORGERSON, P.R., SHAIKENOV, B.S. et MILNER-GULLAND, E.J., 2007. Parasite transmission in a migratory multiple host system. Ecological Modelling. 2007. Vol. 200, n° 3-4, pp. 511-520. DOI 10.1016/j.ecolmodel.2006.09.002.

MOTTIER, M. L et PRICHARD, R. K., 2008. Genetic analysis of a relationship between macrocyclic lactone and benzimidazole anthelmintic selection on Haemonchus contortus. Pharmacogenetics and Genomics. 2008. Vol. 18, n° 2, pp. 129-140. DOI 10.1097/FPC.0b013e3282f4711d.

NAGY, G., CSIVINCSIK, Á., SUGÁR, L. et ZSOLNAI, A., 2017. Benzimidazole resistance within red deer, roe deer and sheep populations within a joint habitat in Hungary. Small Ruminant Research. 2017. Vol. 149, pp. 172-175. DOI 10.1016/j.smallrumres.2017.02.012.

NIEUWHOF, G. J. et BISHOP, S. C., 2005. Costs of the major endemic diseases of sheep in Great Britain and the potential benefits of reduction in disease impact. Animal Science. Août 2005. Vol. 81, n° 1, pp. 23-29. DOI 10.1079/ASC41010023.

OFFICE FRANÇAIS DE LA BIODIVERSITE (OFB), 2013. Le Bouquetin des Alpes. Disponible sur http://www.oncfs.gouv.fr/spip.php?article1527 [consulté le 29 août 2020].

OFFICE FRANÇAIS DE LA BIODIVERSITE (OFB), 2018. Focus : la réserve nationale de la chasse et de la faune sauvage de Belledonne [en ligne]. Disponible sur http://www.oncfs.gouv.fr/IMG/pdf/Focus-RNCFS_Belledonne-Web.pdf [consulté le 29 août 2020].

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE (OMS). Site de l'OMS [en ligne]. URL : https://www.who.int/fr [consulté le 6 juin 2020].

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE (OMS), 2018. Lignes directrices : La chimioprévention pour combattre les géohelminthiases dans les groupes de population à risque [en ligne]. ISBN : 978 92 4 255011 5. Disponible sur https://www.who.int/nutrition/publications/guidelines/deworming/fr/ [consulté le 8 juin 2020].

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE (OMS), 2015. Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Third WHO report on neglected tropical diseases [en ligne]. Février 2015. 191 p. ISBN: 978 92 4 156 486 1. Disponible sur https://www.who.int/neglected_diseases/9789241564861/en/ [consulté le 6 juin 2020].

PAGE, A. P. et JOHNSTONE, I. L. The cuticle. In : KRAMER, M. et MOERMAN, D. G. (dir.) (2007). WormBook [en ligne]. The C. elegans Research Community, WormBook, DOI 10.1895/ wormbook.1.138.1. Disponible sur http://www.wormbook.org [consulté le 17 juin 2020].

PARAUD, C., 2015. Comment prévenir et traiter les strongyloses chez les petits ruminants laitiers. Le nouveau praticien vétérinaire : élevage et santé. Avril 2015, Vol. 8, n° 30, pp. 51-54.

PARAUD, C., MARCOTTY, T., LESPINE, A., SUTRA, J.F., PORS, I. et DEVOS, I., 2016. Cross-resistance to moxidectin and ivermectin on a meat sheep farm in France. Veterinary Parasitology. Août 2016. Vol. 226, pp. 88-92. DOI 10.1016/j.vetpar.2016.06.033.

PARC NATIONAL DES ECRINS. Site du Parc National des Écrins [en ligne]. URL : http://www.ecrins-parcnational.fr [consulté le 29 août 2020].

PARC NATIONAL DES ECRINS. Biodiv'Écrins [en ligne]. URL : https://biodiversite.ecrins-parcnational.fr [consulté le 29 août 2020].

PARNELL, I. W., 1954. The sequence and the levels of the helminth infestations in Scottish hill sheep. British Veterinary Journal. 1954. Vol. 110, n° 12, pp. 499–507. DOI 10.1016/S0007-1935(17)50019-6.

PATO, F.J., VÁZQUEZ, L., DÍEZ-BAÑOS, N., LÓPEZ, C., SÁNCHEZ-ANDRADE, R., FERNÁNDEZ, G., DÍEZ-BAÑOS, P., PANADERO, R., DÍAZ, P. et MORRONDO, P., 2013. Gastrointestinal nematode infections in roe deer (Capreolus capreolus) from the NW of the Iberian Peninsula : Assessment of some risk factors. Veterinary Parasitology. 2013. Vol. 196, n° 1-2, pp. 136-142. DOI 10.1016/j.vetpar.2013.01.027.

PEPPER, P. M., SWAIN, A. J. et LYNDAL-MURPHY, M., 2003. Using Simulation Techniques To Investigate Methods To Determine Resistance Of Helminths To Anthelmintic Treatment. Proceedings MODSIM 2003 International Congress on Modelling and Simulation. 2003. Vol. 4, pp. 1580-1585.

PERRY R. N. et MOENS M. Survival of Parasitic Nematodes outside the Host. In : PERRY R.N., WHARTON D. A. (dir.) (2011). Molecular and Physiological Basis of Nematodes Survival. Wallingford : CABI, pp. 256 – 275. ISBN 978-1-84593-687-7.

PRICHARD, R. K., HALL, A., KELLY, J. D., MARTINS, I. C. A. et DONALD, A.D., 1980. The problem of anthelminthic resistance in nematodes. Australian Veterinary Journal. 1980. Vol. 56, pp. 239-250. DOI 10.1111/j.1751-0813.1980.tb15983.x.

PUTTACHARY, S., TRAILOVIC, S. M., ROBERTSON, A. P., THOMPSON, D. P., WOODS, D. J. et MARTIN, R. J., 2013. Derquantel and abamectin: Effects and interactions on isolated tissues of Ascaris suum. Molecular and Biochemical Parasitology. 2013. Vol. 188, n° 2, pp. 79-86. DOI 10.1016/j.molbiopara.2013.02.004.

RAVINET, N., CHAUVIN, A., CHARTIER, C. et DUVAUCHELLE WACHÉ, A. Maitrise de la Santé des troupeaux bovins, 2015. « Guide d'intervention pour la maîtrise du risque parasitaire lié aux strongles digestifs en troupeaux bovins laitiers » [en ligne]. Disponible sur http://idele.fr/no_cache/recherche/publication/idelesolr/recommends/maitrise-du-risque-parasitaire-lie-aux-strongles-digestifs-en-troupeaux-bovins-laitiers-1.html [consulté le 10 juillet 2020].

REDMAN, E., WHITELAW, F., TAIT, A., BURGESS, C., BARTLEY, Y., SKUCE, P. J., JACKSON, F. et GILLEARD, J. S., 2015. The Emergence of Resistance to the Benzimidazole Anthlemintics in Parasitic Nematodes of Livestock Is Characterised by Multiple Independent Hard and Soft Selective Sweeps. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2015. Vol. 9, n° 2, pp. 1-24. DOI 10.1371/journal.pntd.0003494.

RESEAU ONGULES SAUVAGES, 2017. Cartographie de répartition du Bouquetin des Alpes Bouquetin des Alpes en 2017. Disponible sur http://carmen.carmencarto.fr/38/Bouquetin_Alpes.map# [consulté le 29 août 2020].

RICHOMME, C., GAUTHIER, D., et FROMONT, E., 2006. Contact rates and exposure to inter-species disease transmission in mountain ungulates. Epidemiology and Infection. 2006. Vol. 134, n° 1, pp. 21-30. DOI 10.1017/S0950268805004693

RINALDI, L., LEVECKE, B., BOSCO, A., IANNIELLO, D., PEPE, P., CHARLIER, J., CRINGOLI, G. et VERCRUYSSE, J., 2014. Comparison of individual and pooled faecal samples in sheep for the assessment of gastrointestinal strongyle infection intensity and anthelmintic drug efficacy using McMaster and Mini-FLOTAC. Veterinary Parasitology. 2014. Vol. 205, n° 1-2, pp. 216-223. DOI 10.1016/j.vetpar.2014.06.011.

ROSE, H., WANG, T., VAN DIJK, J. et MORGAN, E. R., 2015. GLOWORM-FL: A simulation model of the effects of climate and climate change on the free-living stages of gastro-intestinal nematode parasites of ruminants. Ecological Modelling. 2015. Vol. 297, pp. 232-245. DOI 10.1016/j.ecolmodel.2014.11.033.

RUFENER, L., KAMINSKY, R. et MÄSER, P., 2009. In vitro selection of Haemonchus contortus for benzimidazole resistance reveals a mutation at amino acid 198 of β-tubulin. Molecular and Biochemical Parasitology. 2009. Vol. 168, n° 1, pp. 120-122. DOI 10.1016/j.molbiopara.2009.07.002.

SALES, N. et LOVE, S., 2016. Resistance of Haemonchus sp. to monepantel and reduced efficacy of a derquantel / abamectin combination confirmed in sheep in NSW, Australia. Veterinary Parasitology. 2016. Vol. 228, pp. 193-196. DOI 10.1016/j.vetpar.2016.08.016.

SANGSTER, N. C., COWLING, A. et WOODGATE, R. G., 2018. Ten Events That Defined Anthelmintic Resistance Research. Trends in Parasitology. 2018. Vol. 34, n° 7, pp. 553-563. DOI 10.1016/j.pt.2018.05.001.

SARAI, R. S., KOPP, S. R., COLEMAN, G. T. et KOTZE, A. C., 2014. Drug-efflux and target-site gene expression patterns in Haemonchus contortus larvae able to survive increasing concentrations of levamisole in vitro. International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance. 2014. Vol. 4, n° 2, pp. 77-84. DOI 10.1016/j.ijpddr.2014.02.001.

SARGISON, N. D., MACLEAY, M., MORRISON, A. A., BARTLEY, D. J., EVANS, M. et CHAUDHRY, U., 2019. Development of amplicon sequencing for the analysis of benzimidazole resistance allele frequencies in field populations of gastrointestinal nematodes. International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance. 2019. Vol. 10, pp. 92-100. DOI 10.1016/j.ijpddr.2019.08.003.

SCOTT, I., POMROY, W.E., KENYON, P.R., SMITH, G., ADLINGTON, B. et MOSS, A., 2013. Lack of efficacy of monepantel against Teladorsagia circumcincta and Trichostrongylus colubriformis. Veterinary Parasitology. 2013. Vol. 198, n° 1-2, pp. 166-171. DOI 10.1016/j.vetpar.2013.07.037.

SEGONDS-PICHON, A., FERTÉ, H., GAILLARD, J. M., LAMARQUE, F. et DUNCAN, P., 2000. Nematode infestation and body condition in roe deer (Capreolus capreolus). Game and Wildlife Science. 2000. Vol. 17, pp. 241-258.

SHALABY, H. A., 2013. Anthelmintics Resistance ; How to Overcome it ? Iranian Journal of Parasitology. 2013. Vol. 8, n° 1, pp. 18-32.

SHAW, R.J., MORRIS, C.A., WHEELER, M., TATE, M. et SUTHERLAND, I.A., 2012. Salivary IgA: A suitable measure of immunity to gastrointestinal nematodes in sheep. Veterinary Parasitology. 2012. Vol. 186, n° 1-2, pp. 109-117. DOI 10.1016/j.vetpar.2011.11.051.

SINGLETON, D. R., STEAR, M. J. et MATTHEWS, L., 2010. A mechanistic model of developing immunity to Teladorsagia circumcincta in lambs. Parasitology. 2010. Vol. 138, pp. 322-332. DOI :10.1017/S0031182010001289.

SOTIRCHOS, I. M., HUDSON, A. L., ELLIS, J. et DAVEY, M. W., 2008. Thioredoxins of a parasitic nematode: Comparison of the 16- and 12-kDA thioredoxins from Haemonchus contortus. Free Radical Biology and Medicine. 2008. Vol. 44, n° 12, pp. 2026-2033. DOI 10.1016/j.freeradbiomed.2008.03.007.

STEAR, M. J., BISHOP, S. C., DOLIGALSKA, M., DUNCAN, J. L., HOLMES, P. H., IRVINE, J., McCRIRIE, L., MCKELLAR, Q. A., SINSKI, E. et MURRAY, M., 1995. Regulation of egg production, worm burden, worm length and worm fecundity by host responses in sheep infected with Ostertagia circumcincta. Parasite Immunology. 1995. Vol°17, n° 12, pp. 643-652. DOI 10.1111/j.1365-3024.1995.tb01010.x.

STUCHLÍKOVÁ, L. R., MATOUŠKOVÁ, P., VOKŘÁL, I., LAMKA, J., SZOTÁKOVÁ, B., SEČKAŘOVÁ, A., DIMUNOVÁ, D., NGUYEN, L. T., VÁRADY, M. et SKÁLOVÁ, L., 2018. Metabolism of albendazole, ricobendazole and flubendazole in Haemonchus contortus adults: Sex differences, resistance-related differences and the identification of new metabolites.

International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance. 2018. Vol. 8, n° 1, pp. 50-58. DOI 10.1016/j.ijpddr.2018.01.005.

SUNDARAM, M. V. et BUECHNER, M., 2016. The Caenorhabditis elegans Excretory System: A Model for Tubulogenesis, Cell Fate Specification, and Plasticity. Genetics. 2016. Vol. 203, n° 1, pp. 35-63. DOI 10.1534/genetics.116.189357.

SUSTAINABLE CONTROL OF PARASITES IN SHEEP. Site du SCOPS [en ligne]. URL : https://www.scops.org.uk [consulté le 20 août 2020].

TAYLOR M.A., COOP R.L. et WALL R.L. (2016) Veterinary Parasitology – Fourth Edition. Oxford : WILEY Blackwell, 1007 pages. ISBN 978-0-470-67162-7.

TIWARI, J., KUMAR, S., KOLTE, A.P., SWARNKAR, C.P., SINGH, D. et PATHAK, K.M.L., 2006. Detection of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* using RFLP-PCR technique. *Veterinary Parasitology*. 2006. Vol. 138, n° 3-4, pp. 301-307. DOI 10.1016/j.vetpar.2006.02.003.

TUERSONG, W., HE, L., ZHU, T., YANG, X., ZHANG, Z., AHMAD, A. A., DI, W., WANG, C., ZHOU, C., LIU, H., CHEN, J. et HU, M., 2020. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the detection of the E198A SNP in the isotype-1 β-tubulin gene of *Haemonchus contortus* populations in China. *Veterinary Parasitology*. 2020. Vol. 278, pp. 109040. DOI 10.1016/j.vetpar.2020.109040.

VAN DER VOORT, M., CHARLIER, J., LAUWERS, L., VERCRUYSSE, J., VAN HUYLENBROECK, G. et VAN MEENSEL, J., 2013. Conceptual framework for analysing farm-specific economic effects of helminth infections in ruminants and control strategies. *Preventive Veterinary Medicine*. 2013. Vol. 109, n° 3-4, pp. 228-235. DOI 10.1016/j.prevetmed.2012.10.017.

VAN WYK, J. A., 2001. Refugia-overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 2001.Vol. 68, n° 1, pp. 55-67.

VERHEYDEN, H., RICHOMME, C., SEVILA, J., MERLET, J., LOURTET, B., CHAVAL, Y. et HOSTE, H., 2020. Relationship between the excretion of eggs of parasitic helminths in roe deer and local livestock density. *Journal of Helminthology*. 2020. Vol. 94, pp. 1-6. DOI 10.1017/S0022149X20000449.

VLAMINCK, J., COOLS, P., ALBONICO, M., AME, S., AYANA, M., CRINGOLI, G., DANA, D., KEISER, J., MAURELLI, M. P., MATOSO, L. F., MONTRESOR, A., MEKONNEN, Z., MIRAMS, G., CORRÊA-OLIVEIRA, R., PINTO, S. A., RINALDI, L., SAYASONE, S., THOMAS, E., VERCRUYSSE, J., VERWEIJ, J. J., LEVECKE, B., 2019. Therapeutic efficacy of albendazole against soil-transmitted helminthiasis in children measured by five diagnostic methods. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2019. Vol. 13, n° 8, pp. 1-23. DOI 10.1371/journal.pntd.0007471.

VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., WALSH, T. K., DONNAN, A. A., CARRIÈRE, S., JACKSON, F., SKUCE, P. J., ROHN, K. et WOLSTENHOLME, A. J., 2009. Molecular detection of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* using real-time PCR and pyrosequencing. *Parasitology*. 2009. Vol. 136, n° 3, pp. 349-358. DOI 10.1017/S003118200800543X.

WALKER, J. G., EVANS, K. E., ROSE VINEER, H., VAN WYK, J. A. et MORGAN, E. R., 2018. Prediction and attenuation of seasonal spillover of parasites between wild and domestic ungulates in an arid mixed-use system. *Journal of Applied Ecology*. 2018. Vol. 55, n° 4, pp. 1976-1986. DOI 10.1111/1365-2664.13083.

WALKER, J. G. et MORGAN, E. R., 2014. Generalists at the interface: Nematode transmission between wild and domestic ungulates. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. 2014. Vol. 3, n° 3, pp. 242-250. DOI 10.1016/j.ijppaw.2014.08.001.

WHARTON D. A. et PERRY R.N. Osmotic and Ionic Regulation. In : PERRY R.N., WHARTON D. A. (dir.) (2011). *Molecular and Physiological Basis of Nematodes Survival.* Wallingford : CABI, pp. 256 – 275. ISBN 978-1-84593-687-7.

WOLSTENHOLME, A. J., FAIRWEATHER, I., PRICHARD, R., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. et SANGSTER, N. C., 2004. Drug resistance in veterinary helminths. *Trends in Parasitology*. 2004. Vol. 20, n° 10, pp. 469-476. DOI 10.1016/j.pt.2004.07.010.

YILMAZ, E., RAMÜNKE, S., DEMELER, J. et KRÜCKEN, J., 2017. Comparison of constitutive and thiabendazole-induced expression of five cytochrome P450 genes in fourth-stage larvae of *Haemonchus contortus* isolates with different drug susceptibility identifies one gene with high constitutive expression in a multi-resistant isolate. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*. 2017. Vol. 7, n° 3, pp. 362-369. DOI 10.1016/j.ijpddr.2017.10.001.

ZAFFARONI, E., CITTERIO, C., SALA, M., LAUZI, S., 1997. Impact of abomasal nematodes on roe deer and chamois body condition in an alpine environment. *Parassitologia*. 1997. Vol. 39, n° 4, pp. 313-317.

ZAFFARONI, E., MANFREDI, M. T., CITTERIO, C., SALA, M., PICCOLO, G. et LANFRANCHI, P., 2000. Host specificity of abomasal nematodes in free ranging alpine ruminants. *Veterinary Parasitology*. 2000. Vol. 90, n° 3, pp. 221-230. DOI 10.1016/s0304-4017(00)00240-5.

ZAJAC, A. M. et GARZA, J., 2020. Biology, Epidemiology and Control of Gastrointestinal Nematodes in Small Ruminants. *Veterinary Clinics : Food Animal Practice*. 2020. Vol. 36, n°1, pp. 73-87. DOI 10.1016/j.cvfa.2019.12.005.

ZUCCHERATO, L. W., FURTADO, L. F., MEDEIROS, C. D. S., PINHEIRO, C. D. S., RABELO, E. M., 2018. PCR-RFLP screening of polymorphisms associated with benzimidazole resistance in *Necator americanus* and *Ascaris lumbricoides* from different geographical regions in Brazil. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2018. Vol. 12, n° 9, pp. 1-13. DOI 10.1371/journal.pntd.0006766.

SERAFINO Anna

ÉTUDE DE LA TRANSMISSION DE STRONGLES DIGESTIFS RÉSISTANTS AUX ANTHELMINTHIQUES ENTRE LES BOUQUETINS DES ALPES ET LES MOUTONS DOMESTIQUES EN CO-PÂTURAGE DANS LE MASSIF DE BELLEDONNE ET LE PARC DES ÉCRINS.

Thèse d'État de Doctorat Vétérinaire : Lyon*, le 29 octobre 2020.*

RÉSUMÉ : La résistance des strongles digestifs des ovins aux anthelminthiques met en péril la santé et l'économie de toute une filière. Certaines pratiques d'élevage, comme la transhumance vers les hautes montagnes l'été, peuvent impacter ce phénomène. En effet, en se partageant les pâtures, les troupeaux de moutons entrent en contact avec les ruminants sauvages et la transmission oro-fécale de vers résistants peut avoir lieu. Il s'agit ici de savoir si la faune sauvage constitue un réservoir de vers résistants pouvant aggraver l'état de la résistance au sein d'un troupeau à son contact ou si elle constitue une source de vers sensibles pouvant « diluer » la résistance. Cette thèse cherche à évaluer la résistance de *Haemonchus contortus* présent chez les moutons et les bouquetins des Alpes en co-pâturage, par la recherche des mutations F200Y et E198A du gène de l'isotype 1 de la béta-tubuline responsables d'une résistance aux benzimidazoles, par PCR-RFLP. Les résultats suggèrent que les bouquetins étudiés ne sont pas voire très peu porteurs d'*H. contortus* résistants ce qui serait en faveur d'un rôle de « dilution » de la résistance par augmentation de la population refuge de vers. En revanche, on ne peut rien affirmer ici puisque la recherche de la résistance aux anthelminthiques n'est pas exhaustive.

MOTS CLES :

- Parasites
- Benzimidazoles
- Résistance aux médicaments
- Bouquetin des Alpes
- Nématodes

JURY :

Président :	Monsieur le Professeur Jean-François NICOLAS
1er Assesseur :	Monsieur le Docteur Gilles BOURGOIN
2ème Assesseur :	Monsieur le Professeur Philippe BERNY

DATE DE SOUTENANCE : 29 octobre 2020