
Etude de la résistance aux anthelminthiques des nématodes gastro-intestinaux chez le mouton en Wallonie

Auteur : Fournier, Antoine

Promoteur(s) : Mignon, Bernard

Faculté : Faculté de Médecine Vétérinaire

Diplôme : Master en médecine vétérinaire

Année académique : 2019-2020

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/9577>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

**ETUDE DE LA RESISTANCE AUX
ANTHELMINTHIQUES DES
NEMATODES GASTRO-INTESTINAUX
CHEZ LE MOUTON EN WALLONIE**

***STUDY OF ANTHELMINTIC RESISTANCE
TO SHEEP GASTRO-INTESTINAL
NEMATODES IN WALLONIA***

Antoine FOURNIER

Travail de fin d'études

Présenté en vue de l'obtention du grade

de Médecin Vétérinaire

ANNEE ACADÉMIQUE 2019/2020

**ETUDE DE LA RESISTANCE AUX
ANTHELMINTHIQUES DES
NEMATODES GASTRO-INTESTINAUX
CHEZ LE MOUTON EN WALLONIE**

***STUDY OF ANTHELMINTIC RESISTANCE
TO SHEEP GASTRO-INTESTINAL
NEMATODES IN WALLONIA***

Antoine FOURNIER

Tuteur : Professeur Bernard MIGNON

Travail de fin d'études

Présenté en vue de l'obtention du grade

de Médecin Vétérinaire

ANNEE ACADÉMIQUE 2019/2020

ETUDE DE LA RESISTANCE AUX ANTHELMINTHIQUES DES NEMATODES GASTRO- INTESTINAUX CHEZ LE MOUTON EN WALLONIE

OBJECTIFS DU TRAVAIL :

L'objectif de ce travail est d'évaluer les possibles résistances actuelles aux anthelminthiques dans les cheptels ovins en Wallonie. Ce travail permet d'apporter des réponses aux vétérinaires utilisant habituellement certaines molécules, via des analyses coprologiques individuelles suivies du test Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT) réalisées dans plusieurs fermes wallonnes.

RESUME :

Les affections parasitaires gastro-intestinales font partie des pathologies majeures touchants les ovins. Des baisses de productivité ainsi qu'une dégradation de l'état général de l'animal peuvent être constatées. La situation actuelle en Belgique montre une augmentation des élevages ovins et donc une demande plus forte auprès des vétérinaires concernant les soins ou les traitements. Ainsi, l'utilisation d'anthelminthique est au cœur des discussions, notamment par la présence de nombreuses molécules disponibles sur marché. Pour certaines d'entre-elles, des résistances ont été mises en évidence en Europe. Ce travail expérimental consiste à étudier la situation en Belgique, plus particulièrement en Wallonie.

Pour cette étude, les prélèvements de matières fécales, en vue d'effectuer des examens coprologiques, ont été réalisés dans huit fermes initialement. Suite aux premières analyses, trois fermes ont été retenues comme rentrant dans les critères du test FECRT. En effet, 4 expériences consistant à prélever les matières fécales des lots témoins et lots traités à intervalles de temps régulier ont été effectuées dans ces fermes. Elles ont permis de comparer l'efficacité d'anthelminthiques de la famille des benzimidazoles (albendazole) et des lactones macrocycliques (doramectine, ivermectine et eprinomectine). En parallèle de ces protocoles, des coprocultures ont été lancées à partir des prélèvements issus de ces mêmes fermes, dans le but de réaliser des PCR. Cependant, ces mises en culture n'ont pas abouti à l'éclosion des œufs et donc à l'obtention des larves pour réaliser les PCR.

Le travail expérimental réalisé en ferme met en évidence des différences d'efficacité entre les anthelminthiques disponibles. Le vétérinaire devra donc travailler avec les éleveurs pour limiter ces résistances, tout en adaptant les traitements s'ils sont nécessaires, afin de contrôler le parasitisme gastro-intestinal ovin.

STUDY OF ANTHELMINTIC RESISTANCE TO SHEEP GASTRO-INTESTINAL NEMATODES IN WALLONIA

PURPOSE OF THE WORK :

This work aims at evaluating current potential resistance to anthelmintic in ovine population in Wallonia.

Moreover, this work aims at providing answers to veterinarians who usually use some molecules, via individual coprological examinations followed by FECRT test carried out in many Walloon's farms

SUMMARY :

The gastrointestinal parasitic diseases are part of major pathologies affecting sheep. Lower productivity and a degradation of general condition of the animal can be noted.

In Belgium, the current situation shows an increase of sheep farming and thus a stronger request from veterinarians about care and treatments. So, using anthelmintic is at the centre of discussions, including the presence of some molecules available on the market. For some of them, resistance have been identified in Europe. This experimental work consists in studying Belgium situation, more particularly in Wallonia.

For this study, in order to performing coprological examinations, samples of fecal matter have initially been done in eight farms. After the first analysis, three farms have been selected as complying with criteria of FECRT test. Indeed, 4 experiences consisting in taking fecal matter from control group and treatment group at regular time interval were made in these farms.

They have allowed to compare the anthelmintic efficacy of benzimidazole family (albendazole) and macrocyclic lactone family (doramectin, ivermectin and eprinomectin). In parallel with this protocols, coprocultures have been started with samples coming from these same farms, in order to carry out some PCR. Nevertheless, these cultures didn't lead to egg hatching and the obtention of larva to perform the PCR.

The experimental work achieved in farm highlights differences of efficacy between available anthelmintic. The veterinarian will have to work with farmers in order to limit these resistances, while adapting treatments if they are necessary, so as to control the sheep gastrointestinal parasitism.

REMERCIEMENTS

TABLE DES MATIERES

1. Introduction générale	7
1.1. Les parasites gastro-intestinaux des ovins	7
1.1.1. Les principaux nématodes rencontrés en Belgique	7
1.1.2. Biologie et cycle des nématodes.....	11
1.1.3. Épidémiologie des strongyloses gastro-intestinales ovines.....	14
1.2. Les anthelminthiques disponibles en médecine ovine en Belgique.....	16
1.2.1. Les benzimidazoles.....	16
1.2.2. Les lactones macrocycliques	17
1.2.3. Les salicylanilidés et dérivés phénol	18
1.2.4. Les dérivés d'aminocétonitrile.....	18
1.2.5. Les formes galéniques et leur mode d'action	19
1.3. Les résistances aux anthelminthiques	20
1.3.1. Définition et mécanismes d'apparition.....	20
1.3.2. Types de résistances	21
1.3.3. Facteurs influençant la pression de sélection des résistances	21
1.4. Méthodes de diagnostic de résistances : in vivo et in vitro.....	22
1.4.1. Examen coprologique	22
1.4.2. Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT).....	24
1.4.3. Coproculture et méthode de Baermann	25
1.4.4. Test d'éclosion des œufs et Test de développement larvaire	25
1.4.5. PCR.....	26
2. Introduction de l'article	26
3. Matériels et méthodes	27
3.1. Fermes et animaux	27
3.2. Groupes traités et procédures.....	27
3.3. Diagnostic parasitologies	27
3.3.1. Coprologies.....	27
3.3.2. FECRT	27
3.4. Analyses statistiques	27
4. Résultats	27
4.1. Analyses statistiques	27
5. Discussion et conclusion	27
5.1. Limite d'études	27
6. Annexes	29
7. Bibliographie	34

1. Introduction générale

1.1. Les parasites gastro-intestinaux des ovins

Les nématodes gastro-intestinaux infectants les ovins sont la cause de pathologie majeure, notamment par la baisse de l'état général mais également par une perte de production. Les nématodes les plus représentés font partie de l'ordre des Strongylida, plus particulièrement de la super famille des Trichostrongyloidea. Ils se localisent principalement dans la caillette et l'intestin grêle. Les nombreuses espèces concernées sont regroupées dans le tableau 1, où l'on met en évidence leur type de nutrition, leur fréquence en fonction du climat ainsi que leur pouvoir pathogène. On remarque dans ce tableau la présence de nématodes colonisant le gros intestin et faisant parti de la super famille des Strongyloidea. Ces derniers parasites ne font pas partis d'agents pathogènes majeurs et ils ne seront pas plus développés par la suite (Zajac, 2006).

Tableau I : Caractéristiques des différentes nématodes gastro-intestinaux rencontrés chez les ovins adapté de (Cabaret *et al.*, 2002; O'Connor *et al.*, 2006; Jacquet, 2019).

Localisation	Espèce	Nutrition	Fréquence	Pouvoir pathogène
Caillette	<i>Haemonchus contortus</i>	Hématophages	++++ en climat chaud et humide	Fort
	<i>Teladorsagia circumcincta</i>	Larves : Histophages Adultes : Chymivores / Hématophages	+++	Moyen à fort
	<i>Trichostrongylus axei</i>	Chymivores / Hématophages	++	Moyen
Intestin grêle	<i>Cooperia curticei</i>	Chymivores	+ / ++	Faible à moyen
	<i>Nematodirus battus</i> , <i>N. filicolis</i>	Chymivores	+++ (agneau)	Moyen à fort
	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	Chymivores	+++	Faible à moyen
Gros intestin	<i>Chabertia ovina</i>	Histophages	+	Moyen
	<i>Oesophagostomum venulosum</i>	Chymivores	+ / 0	Faible

1.1.1. Les principaux nématodes rencontrés en Belgique

Bien que la population ovine ne soit pas encore très importante en Belgique, les strongyloses gastro-intestinales sont les pathologies vermineuses les plus fréquemment rencontrées sur le terrain (Losson et Demblon, 2006). Les espèces retrouvées avec la prévalence la plus élevée sont les suivantes : *Teladorsagia circumcincta*, *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* et *Nematodirus battus* (Losson et Demblon, 2006; Ploeger *et al.*, 2016; Sargison,

2016). Ces espèces sont à l'origine de conséquences pouvant être graves chez les petits ruminants, c'est ainsi qu'elles sont fortement étudiées en parasitologie.

- *Haemonchus contortus* : il s'agit du nématode le plus répandu dans de nombreux pays du monde et celui causant le plus de problème en élevage. *H. contortus* est considéré comme le strongle « rouge » de la caillette des petits ruminants. Il est rouge car son mode de nutrition est strictement hématophage, ce qui lui permet de provoquer de sévère anémie chez les animaux parasités. Cette couleur et sa taille de presque 3cm pour la femelle lui permet d'être facilement reconnaissable à l'œil nu sur la muqueuse de la caillette lors d'autopsie (Eichstadt, 2017). *Haemonchus* est un vers très prolifique, la femelle peut pondre des milliers d'œufs par jour et ainsi les pâturages peuvent se retrouver fortement contaminés par les larves à la mi-juillet (Zajac, 2006; Menzies, 2010)

L'Haemonchose est une maladie se retrouvant plus facilement dans les climats chauds mais également humides. L'humidité assure un bon développement ainsi qu'une survie des larves qui au contraire sont très sensibles aux faibles températures et à la dessiccation. En présence de climat tropical, les larves infestantes de type L3 (cf 1.1.2.) peuvent survenir en 4-5 jours après éclosion et ainsi provoquer une haemonchose aigüe (Taylor *et al.*, 2016; Eichstadt, 2017). D'autre part, le changement climatique serait responsable d'une augmentation de la prévalence d'*H. contortus* en Europe actuellement, ce qui viendrait accentuer le risque de parasitose dans les troupeaux (Taylor, 2013). De plus, le phénomène d'hypobiose (cf 1.1.3.) qui correspond à l'arrêt du développement de la larve L4 dans l'hôte pour sa survie, est un système d'adaptation aux périodes plus sèches et froides lors du climat tempéré comme en Europe (Zajac, 2006). O'Connor et collaborateurs (2006) ont également appuyé ce phénomène comme responsable de la présence d'haemonchose en Suède, en France ou encore aux Pays-bas.

H. contortus est un nématode de la caillette strictement hématophage responsable le plus souvent d'une anémie hémorragique aigüe. Lors d'une infestation par 5000 vers en moyenne, chaque nématode peut consommer 0,05mL de sang et ainsi faire perdre 250mL de sang par jour à l'animal. Ainsi, l'anémie devient apparente 2 semaines après l'infection à partir du moment où l'érythropoïèse ne peut plus compenser les pertes. Dans les cas d'infection plus sévères, jusqu'à 30 000 vers peuvent être présents simultanément, c'est ce que l'on appelle l'haemonchose suraigüe. Dans cette situation, des ovins en bon état général souffrent subitement d'une sévère gastrite hémorragique et peuvent en décéder. Enfin, en plus de

l'anémie marquée, une fuite des protéines plasmatiques est souvent marquée par l'œdème sous-maxillaire présent ou « œdème de la bouteille » (Demeler, 2005; Taylor *et al.*, 2016).

- *Teladorsagia circumcincta* : il s'agit d'un nématode d'1cm environ, décrit comme le strongle brun de la caillette des ovins. Il est fréquemment retrouvé dans les élevages ovins en zone tempérée (Hafsi *et al.*, 2012). Sa prolificité est moindre en comparé d'*H.contortus*, près de 200 œufs par jour et par femelle. Comme vu dans le tableau 1, les adultes sont en partie hématophages mais les larves L4 sont quant à elles histophages. Ces dernières peuvent ainsi s'intégrer dans les glandes de la muqueuse abomasale afin d'assurer leur développement (Eichstadt, 2017).

Compte tenu du climat et de l'adaptation de *T.circumcincta*, deux types d'infestation sont observables chez les ovins. Tout d'abord, la période milieu d'été-début de l'automne (type I) correspond au pic des larves L3 (cf 1.1.2.) suite à la contamination de la pâture par les œufs, provenant des matières fécales des brebis et des agneaux depuis la sortie de bergerie (Taylor *et al.*, 2016). De plus, une réactivation des larves L4 en hypobiose (cf 1.1.3.), issues du pâturage durant l'automne précédent, est possible en fin d'hiver (type II), notamment chez les jeunes adultes. Cela amène donc à une possible pathologie avant même la mise au pré (Abbott *et al.*, 2012; Bowman, 2014; Taylor *et al.*, 2016). Enfin, la téladorsagiose est possible en début du printemps notamment pour les jeunes agneaux suite à la présence importante de larves trans-hivernantes résistantes dans les pâtures (Sargison, 2016).

La maladie résulte de la présence de vers adultes en surface de la muqueuse mais également de nodules blancs et gris en lieu et place des glandes (« cuir marocain »), issus de l'émergence des larves L4. Ainsi, les glandes abomasales perdent leur structure et leur fonction, la digestion est ainsi compromise (Zajac, 2006; Menzies, 2010). Sur le terrain, il est le plus souvent constaté une baisse d'appétit de l'animal, une hypoprotéïnémie, une anémie, de la diarrhée intermittente et une perte de poids importante (Abbott *et al.*, 2012; Taylor *et al.*, 2016). Dans les cas les plus graves, la mort peut survenir et l'autopsie confirmera la pathologie par la présence des nombreux nodules ainsi que des vers en grande quantité dans la caillette (Bowman, 2014).

- *Trichostrongylus colubriformis* : le nématode se localise préférentiellement dans la partie antérieure de l'intestin grêle et il peut mesurer 1cm au grand maximum. Il est appelé vers de la diarrhée noire « black scour worm » (Taylor *et al.*, 2016).

T.colubriformis est un des parasites majeurs dans les régions tempérées comme en Europe. En effet, il peut se développer à des températures plus basses qu'*H.contortus* et il résiste mieux à

la dessiccation, tout comme *T.circumcincta* (O'Connor *et al.*, 2006). De plus, l'adulte vit plus longtemps dans l'hôte que *Teladorsagia* ou *Haemonchus* et surtout c'est lui et non la larve L4 qui peut résister dans l'hôte durant l'hiver (Zajac, 2006).

Les infections de *T.colubriformis* sont le plus souvent concomitantes avec *T.circumcincta*, et elles se déroulent selon les mêmes critères épidémiologiques. En effet, son caractère cosmopolite lui permet un développement aisé même en région tropicale (Eichstadt, 2017). Comme les autres espèces de *Trichostrongylus*, les ovins sont exposés au retour en pâture aux larves L3 trans-hivernantes assez résistantes. Avec le réchauffement de l'été, les dernières larves de l'hiver auront disparu mais la charge à l'hectare du pâturage aura augmenté jusqu'au pic de l'infestation au milieu de l'été-début de l'automne (Bowman, 2014).

Les actions principales du nématode sont mécaniques, avec une irritation de la muqueuse intestinale allant jusqu'à la destruction des entérocytes dans leur intégralité (Chartier et Hoste, 1997). Le vers adulte creuse des tunnels dans la muqueuse jusqu'à rompre cette dernière et provoquer une légère hémorragie avec perte de protéines plasmatiques dans la lumière. Il s'en suit une entérite avec déformation et perte de fonction des villosités (Taylor *et al.*, 2016). Les adultes infectés développent de l'inappétence, une diarrhée « foncée », ainsi qu'une baisse de production. Dans le cas d'agneau atteint par la forme aiguë, on note une diarrhée profuse, de la déshydratation, de l'œdème et de la mortalité possible (Abbott *et al.*, 2012; Eichstadt, 2017).

- *Nematodirus battus* : C'est un nématode de grande taille, de 1 à 2cm de long. Son corps est assez enroulé, ce qui lui permet de s'agglutiner en amas. Ces derniers se forment préférentiellement dans la lumière de l'intestin grêle (Menzies, 2010). On le retrouve fréquemment en Europe notamment en Norvège, en Suède ou aux Pays-Bas. Les œufs de *Nematodirus battus* sont caractéristiques par leur très grande taille (150-180µm sur 67-80µm) leur permettant de les distinguer de tous les autres nématodes gastro-intestinaux lors d'analyse coprologique (Taylor *et al.*, 2016; Eichstadt, 2017).

Le cycle de ce nématode comporte des spécificités en comparaison des espèces de la famille des *Trichostrongylidae* (cf 1.1.2.). Après la ponte de cet œuf caractéristique dans les matières fécales, ce dernier hébergera les différents stades de la larve jusqu'au stade infestant L3. En effet, les différentes mues à partir du stade L1 ne sont pas libres (Bowman, 2014). De plus, l'éclosion et la libération de L3 se font suite à des stimuli climatiques bien particuliers : une période de refroidissement doit précéder une période à des températures supérieures à 10°C. En raison de ces conditions spécifiques, les éclosions de nombreux d'œufs se concentrent au

printemps et libèrent ainsi de nombreuses larves L3 infestantes de façon simultanée (Zajac, 2006; Taylor *et al.*, 2016). Il est important de souligner que le cycle de développement est bien plus lent, les œufs sont capables de vivre plus longtemps en extérieur et ainsi contaminer les agneaux en pâturage l'année d'après (Abbott *et al.*, 2012).

Concernant la pathogénie, les ovins adultes semblent développer une immunité correcte contre ce nématode alors que les agneaux sont beaucoup plus touchés. Compte tenu du cycle, lorsque l'éclosion massive se déroule au printemps et donc lors du pâturage d'agneaux jeunes de 6 à 12 semaines, d'importants épisodes de Nématodirose peuvent survenir. L'activité pathogène majeure est à attribuer aux stades larvaires L3 qui, ingérés en masse, perturbent la muqueuse intestinale jusqu'à l'éroder et provoquer une atrophie des villosités (Abbott *et al.*, 2012; Taylor *et al.*, 2016). Des diarrhées très sévères et abondantes ainsi que de la déshydratation peuvent conduire à la mort des agneaux les plus touchés (Bowman, 2014). Compte tenu de la rapidité des signes cliniques, il peut être retrouvé un faible nombre d'œufs dans les matières fécales lors d'autopsie (Menzies, 2010).

1.1.2. Biologie et cycle des nématodes

L'anatomie des nématodes varie en fonction des espèces, cela permet notamment de les différencier au stade adulte. Cependant, plusieurs systèmes et organes sont en place afin d'assurer le bon développement et l'adaptation aux conditions climatiques des vers pour leur survie (Zajac, 2006).

Tout d'abord, les nématodes sont des vers ronds non segmentés, leur corps est entouré d'une couche incolore importante dans leur cycle, la cuticule. Cette dernière a un rôle principal de protection, de mouvement et de perméabilité (Scott et Sutherland, 2009). Sous l'hypoderme sécrétant la cuticule, on retrouve une cavité appelé pseudo-cœlome. Elle contient du fluide à haute pression qui assure la forme et la turgescence de son corps. On retrouve flottant dans la cavité de nombreux organes mais également des cordons longitudinaux musculaires au nombre de 4. La contraction/relaxation de ces derniers aide au mouvement. Les cordons musculaires latéraux contiennent respectivement le système excréteur primitif aboutissant dans la région œsophagienne (Bowman, 2014; Taylor *et al.*, 2016).

Le système digestif est tubulaire et constitué d'une bouche, d'un œsophage, d'un intestin et d'un rectum (cloaque chez les mâles). La morphologie de la bouche varie entre les espèces et leur permet de s'accrocher voir plus en fonction de leur type de nutrition (tableau I). L'œsophage est le plus souvent rhabditiforme, l'intestin possède quant à lui des microvillosités lui augmentant sa surface d'absorption. Les caractéristiques de ce système sont souvent

présentes au stade larvaire et contribuent au diagnostic des différentes espèces (Taylor *et al.*, 2016). Les organes sexuels chez la femelle comme chez le mâle flottent dans la cavité corporelle. Chez la femelle, on retrouve un ou deux ovaires connectés à l'utérus et qui se termine par un vagin s'ouvrant par une vulve. En fonction de la position de cette dernière sur la face ventrale, on peut caractériser l'espèce (Demeler, 2005). Chez le mâle, on retrouve un unique testicule relié à la vésicule séminale par un long canal déférent, abouchant pour finir dans le cloaque. De plus, le mâle dispose d'organes sexuels accessoires chitineux : les spicules ainsi que le gubernaculum. En plus d'être liés à la fonction de copulation, ces derniers permettent l'identification des différentes espèces (Taylor *et al.*, 2016). Enfin, le système nerveux est composé d'un ganglion majeur autour de l'œsophage et de fibres disposées dans des cordons ventraux et dorsaux au sein de l'hypoderme (Bowman, 2014). On y retrouve également de nombreux neurones moteurs et sensoriels. Ces derniers sont capables de répondre à des nombreuses stimulations chimiques, thermiques ou mécaniques. Ainsi, beaucoup d'anthelminthiques ciblent ce système nerveux par le biais de neuromédiateurs comme l'acétylcholine, le glutamate ou l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) (Scott et Sutherland, 2009).

L'annexe 2 schématise par des coupes longitudinales l'ensemble des organes décrit auparavant.

Le cycle de développement de la majorité des nématodes gastro-intestinaux est repris par la Figure 1. Il s'agit d'un cycle direct ou monoxène qui ne nécessite donc pas d'hôte intermédiaire. On retrouve 2 phases bien distinctes dans ce dernier : une phase parasitaire au sein du mouton et une phase libre dans l'environnement. Chacune de ces 2 phases nécessitent des conditions spécifiques pour un bon développement et prennent donc une durée qui peut être variable (Losson, 2017). Lors du cycle, on note la présence de 4 mues successives, donnant des stades larvaires de L1 à L5 (adulte immature). Les adultes matures s'accouplent ensuite pour libérer des œufs non embryonnés dans les matières fécales (Abbott *et al.*, 2012).

Concernant la phase libre dans l'environnement, elle est très largement dépendante de la température et de l'humidité (rôle assuré par les matières fécales) mais elle se déroule en minimum 1 semaine. En effet, l'éclosion de l'œuf est inhibée par le froid donc des températures plus chaudes accélèrent la libération de L1. Les larves L1 donnent après mue la larve L2 qui se comporte de la même façon, elles sont très actives, se nourrissent de micro-organismes dans les matières fécales mais restent peu mobiles (Zajac, 2006; Bowman, 2014). Lors de la mue suivante et donc l'obtention du stade infestant, la larve L3, elle va conserver la cuticule de L2. Ce phénomène lui permettra de résister beaucoup plus longtemps dehors, notamment pour

résister au froid ainsi qu'à la dessiccation. D'autre part, en plus d'être résistante, la larve L3 ne pourra plus s'alimenter et elle utilisera donc les réserves accumulées par les stades précédents. Enfin, le stade L3 quant à lui est « mobile » afin de se faire ingérer par l'hôte principal au sein des pâtures. La larve se déplacera activement par le biais de la rosée ou passivement par le vent ou le passage des ovins (Losson, 2017; Jacquet 2019).

Après ingestion de la larve L3, on rentre dans la phase parasitaire de l'hôte. Après la perte de la cuticule résistante dans la lumière des organes digestifs, la mue en larve L4 se déroule dans la muqueuse. La larve L4 retournera dans la lumière de l'organe de prédilection, la caillette ou l'intestin grêle pour former la dernière larve L5 qui précède l'adulte. Après la maturation des adultes, ces derniers feront continuer le cycle du parasite par la ponte d'œufs qui se retrouveront dans les matières fécales. La période prépatente, entre l'ingestion de la larve infestante L3 et la production des œufs, est d'environ 16 à 21 jours pour la majorité des nématodes. Cette période viendrait à varier en fonction des conditions climatiques qui pousseraient les espèces à entrer en hypobiose (cf 1.1.3.) (Abbott *et al.*, 2012; Taylor *et al.*, 2016).

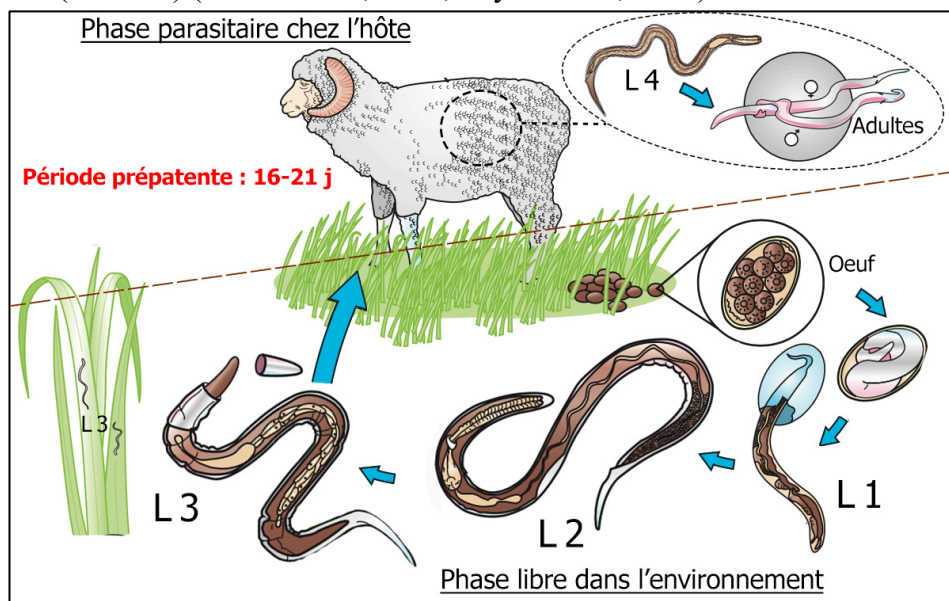


Figure 1 : Cycle typique d'un nématode gastro-intestinal chez le mouton adapté de (Abbott *et al.*, 2012; Bowman, 2014).

Enfin, il est à noter qu'une espèce ne respecte pas complètement le cycle présenté ci-dessus, il s'agit de l'espèce *Nematodirus*. En effet, les stades larvaires de L1 à L3 se déroulent au sein même de l'œuf. Ce dernier éclot lorsque les conditions climatiques le permettent : une période de froid doit précéder un réchauffement (cf 1.1.1.). La pâture est ainsi exposée à une charge importante simultanée de larves L3 infestantes (Zajac, 2006).

1.1.3. Épidémiologie des strongyloses gastro-intestinales ovines

Le cycle typique de développement des nématodes gastro-intestinaux a été décrit auparavant. Cependant, de nombreux paramètres interviennent dans les différentes phases du cycle et des adaptations aux conditions climatiques sont également à mentionner.

Il faut tout d'abord considérer la période de la ponte des œufs jusqu'au développement de larves infectantes L3. Il faut rappeler que chaque œuf pondu par les adultes donnera une larve L1 après éclosion, ainsi, le taux de contamination des pâtures est donc proportionnel à la charge parasitaire de l'hôte infesté (Bowman, 2014). Comme vu précédemment, la température ainsi que l'humidité sont les deux paramètres principaux qui influencent le développement des parasites dans l'intégralité du cycle. De plus, comme l'a longuement décrit O'Connor et collaborateurs (2006), les recherches ont été plus poussées au sujet des différentes gammes de températures idéales. Concernant l'éclosion des œufs, on a vu que les températures froides ralentissaient cette dernière. Cependant, il a été prouvé notamment en comparant *T.circumcincta* avec *H.contortus* que la T° minimale d'éclosion était respectivement de 4°C et 9°C pour ces espèces. De même, pour un développement in vitro à 10°C, il faut 48h pour l'éclosion de *Telosardagia* alors qu'il faut le double du temps pour le même résultat avec *Haemonchus*. En plus de ces tests in vitro, l'application sur le terrain a montré (notamment en Angleterre) que les œufs de *Telosardagia* avaient la capacité de survivre lors de l'hiver et de se développer lors de la montée des températures au printemps. Pour ce même test, dans le cas *Trichonstrongylus* et *Haemonchus*, il n'y avait que très peu d'œufs et aucun œufs viables respectivement.

D'autre part, des études sur le comportement des larves jusque L3 ont été réalisées en parallèle des études comparant les éclosions. En effet, il a été montré que *T.circumcincta* avait une durée d'éclosion la plus rapide à 25°C et un développement de L1 à L3 le plus efficient en temps à 30°C. En comparaison pour ce dernier critère, *Trichonstrongylus* et *Haemonchus* ont montré des développements en L3 plus rapides à partir de 30°-35°C, et même 37°C pour *Haemonchus*. A partir des différents résultats, un graphique reflétant au mieux les intervalles de températures idéales de développement des 3 espèces principales de nématodes gastro-intestinaux du mouton est repris dans l'annexe 3 (O'Connor *et al.*, 2006; Jacquet, 2019).

Pour s'intéresser à l'épidémiologie des larves L3 lors de leur arrivée en pâture, il y a plusieurs phénomènes à distinguer. Il faut considérer les différentes saisons de l'année comme un frein ou bien des conditions propices au développement des larves et à leur survie. Lors de la mise à l'herbe, les brebis seront les premières contaminées par le biais de larves trans-

hivernantes L3 qui auront résistées lors de l'hiver. Ces dernières sont beaucoup moins actives en période froides et résistent donc mieux. Les brebis rencontreront beaucoup plus facilement les larves de *Teladorsagia* plutôt qu'*Haemonchus* qui ne résiste pas au passage de l'hiver à l'extérieur (Abbott *et al.*, 2012; Bowman, 2014). Par suite, avec l'augmentation des températures ambiantes, les larves L3 ne résisteront pas car elles devront consommer beaucoup plus leur réserve tout en augmentant leur métabolisme, ce qui leur sera défavorable. On arrivera donc à un faible de taux de larves infestantes vers le mois de mai. Les agneaux nés au printemps commenceront donc à pâturer derrière leur mère à la fin du printemps-début de l'été. Ils pourront ainsi s'infecter par le biais de larves L3 issus des œufs déposés par leur mère quelques mois auparavant. En effet, les œufs pondus en début de mise à l'herbe ont ralenti leur développement pour atteindre des températures plus importantes pour ainsi apporter quelques larves L3 infestantes (Losson, 2017). De plus, le phénomène de « péri-parturient rise » qui correspond à un relâchement immunitaire de la brebis avant et après le part pendant quelques semaines, accroît la ponte des larves adultes et donc la charge parasitaire en pâture (Abbott *et al.*, 2012; Bowman, 2014; Jacquiet, 2019).

Ainsi, comme le résume la figure 2, les œufs pondus par les brebis et les agneaux attendront des conditions plus favorables pour se développer en même temps. Les œufs qui arriveront eux durant l'été se développeront en moins d'une semaine. Il en résultera un pic de larves infestantes L3 en pâture à partir du mois de juillet avec des températures fortement augmentées. *Teladorsagia* arrivera en premier à partir de ce pic, puis *Trichonstrongylus* suivra fin de l'été et enfin *Haemonchus* profitera des hautes températures et de l'humidité de la fin de l'été et de l'automne pour créer des infestations massives. Il faut donc toujours garder en tête qu'en fonction des modifications climatiques, des infestations massives par développement rapide de larves L3 peuvent survenir du printemps jusqu'en automne (Abbott *et al.*, 2012).

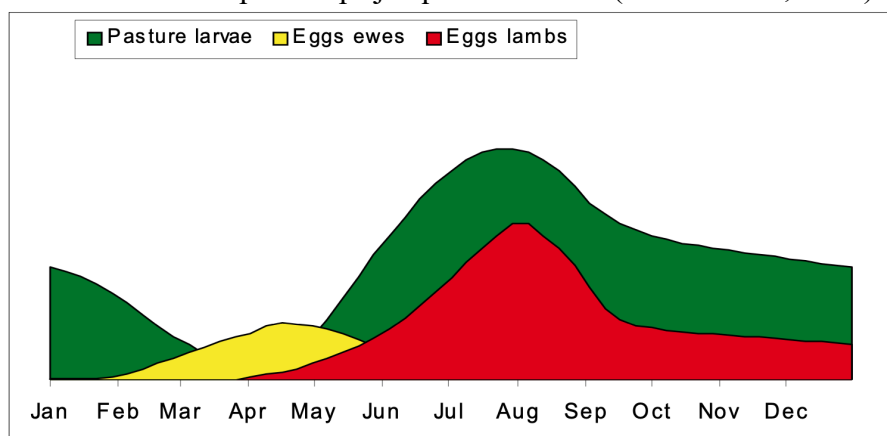


Figure 2 : Évolution saisonnière de la charge parasitaire en pâture par les nématodes gastro-intestinaux ovins (Abbott *et al.*, 2012).

En outre, depuis quelques années, les conditions climatiques se modifient avec des saisons estivales plus longues et plus fréquentes, alors que les hivers très froids se font plus rares. Dès maintenant, cela peut favoriser le renouvellement et l'augmentation des générations de larves sur les pâtures (Taylor, 2013; Taylor *et al.*, 2016).

Enfin, l'hypobiose est à considérer comme un important mécanisme d'adaptation climatique et de survie des larves chez l'hôte. Ce phénomène est décrit comme une interruption du développement de la larve chez l'hôte au stade L4. Cette période peut durer quelques mois et est en concordance avec des conditions défavorables à la survie des larves dehors (Zajac, 2006; Taylor *et al.*, 2016). En effet, cela arrive dans les pays chauds pour contrer la sécheresse (*Haemonchus* surtout) ou alors en climat tempérée pour éviter le refroidissement. Les larves concernées sont celles ingérées durant l'automne et le début de l'hiver, elles deviennent métaboliquement inactives et s'installent dans la muqueuse de la caillette ou de l'intestin grêle. Le métabolisme réduit de ces L4 diminue l'efficacité des anthelminthiques dirigés contre ce dernier (Menzies, 2010; Abbott *et al.*, 2012).

La fin de cette période est appelée « levée d'hypobiose » et coïncide avec des conditions favorables pour le développement des œufs de nématodes sur les pâtures. Elle est également fortement liée à l'hôte et à mettre en lien à plusieurs facteurs : le stress de la sortie en pâture, le péri-parturient rise, ou une autre baisse d'immunité (Bowman, 2014; Losson, 2017). Cela contribue donc à augmenter la charge parasitaire des pâtures au printemps. Toutes les espèces majeures réalisent l'hypobiose même si *Haemonchus* le fait beaucoup plus pour résister aux conditions sèches et froides et également *Teladorsagia* pour contaminer les jeunes adultes à la sortie d'hiver (Abbott *et al.*, 2012; Taylor *et al.*, 2016).

1.2. Les anthelminthiques disponibles en médecine ovine en Belgique

1.2.1. Les benzimidazoles

Les benzimidazoles ont un spectre large d'activité, ils ont une action contre les nématodes à tous les stades (œuf, larves et adultes) mais également une action sur les ténias (cestodes) et certaines substances pour la grande et petite douve en fonction des doses. Ils sont le plus souvent administrés per-os sous forme de suspension. Ils se stockent ensuite dans le rumen pour être libérés progressivement dans la circulation sanguine. Les benzimidazoles agissent en inhibant la polymérisation de la β -tubuline en microtubules au niveau des cellules intestinales. Il en résulte une perturbation du métabolisme énergétique et de son embryogénèse et donc la mort du parasite (Abbott *et al.*, 2012; Taylor *et al.*, 2016). Ces molécules possèdent une activité moyenne sur les larves hypobiotiques, elles ne sont pas rémanentes et elles sont

embryotoxiques dans le premier tiers de gestation. Une résistance à *H.contortus* a déjà été décrite pour cette famille chez les ovins (Richard, 2011; Gustin, 2019).

Cette famille comprend 4 substances actives ayant une activité nématocides au niveau gastro-intestinal : albendazole, fenbendazole, mebendazole et oxfendazole. On y retrouve également le triclabendazole ayant seulement une action sur tous les stades de la grande douve (Abbott *et al.*, 2012; Taylor *et al.*, 2016). Nous retrouvons en Belgique avec une AMM pour les ovins les médicaments suivants : à base de fenbendazole (Panacur[®] boli 250mg, MSD) et (Panacur[®] susp 2,5%, MSD), à base d'albendazole (Valbazen[®] 1,9%, Elanco), et enfin dans une préparation du mebendazole avec du closantel (Flukiver Combi[®], Elanco). Toutes ces préparations ont une activité commune contre tous les nématodes digestifs à tous les stades et l'albendazole agit également sur la grande et petite douve à plus forte dose (Gustin, 2019).

1.2.2. Les lactones macrocycliques

Les lactones macrocycliques sont divisées en deux classes principales, les avermectines (ivermectine, doramectine, éprinomectine et la sélamectine) et les milbémeycines (moxidectine). Elles sont synthétisées par des *Streptomyces*. On retrouve quasiment toutes les formes galéniques possibles pour ces molécules (Demeler, 2005; Gustin, 2019). Elles ont une activité importante contre tous les stades (adultes et également les larves hypobiotiques) des nématodes gastro-intestinaux mais également contre les arthropodes. Elles ne sont en revanche pas actives sur les trématodes ni les cestodes. Les lactones macrocycliques se fixent sur les récepteurs des canaux Cl⁻ glutamate dépendants des cellules nerveuses et musculaires. Elles favoriseraient également la libération du GABA qui se fixant sur les précédents récepteurs, augmenteraient l'entrée d'ions Cl⁻ dans la cellule. Ces deux phénomènes génèrent une hyperpolarisation et par suite une paralysie flasque du parasite. Les molécules de cette famille ont un point commun, c'est leur grande lipophilie. Après administration chez l'animal, elles se stockent dans les graisses et sont libérées durablement dans l'organisme. Cela est d'autant plus vrai lors d'injection sous-cutanée. Par leur caractère lipophile, elles sont douées d'une grande rémanence selon la molécule utilisée. Elles sont d'une grande sécurité d'emploi vu leur site d'action. Enfin, il faut noter que l'éprinomectine est la seule molécule nématocide avec AMM bovin disposant d'un délai d'attente dans le lait qui est nul (Taylor *et al.*, 2016; Jacquet, 2019).

On retrouve en Belgique 4 molécules de la famille des lactones macrocycliques utilisées en médecine ovine. Trois de ces molécules disposent de l'AMM et la dernière (l'éprinomectine) est utilisée par le principe de la cascade avec l'AMM bovin. Il y a donc parmi les avermectines avec AMM ovin en Belgique, les médicaments suivants : à base d'ivermectine (Ecomectin[®] inj,

Eco AH), (Ivomec® 1%, Boehringer Ingelheim), (Virbamec® 1%, Virbac) et avec du closantel ajouté (Closamectin® inj, Norbrook Lab) ; à base de doramectine (Dectomax®, Elanco). De plus et comme vu avant, l'éprinomectine (Eprinex® pour on, Boehringer Ingelheim) avec AMM bovin sera utilisé pour les brebis laitières par le biais de la cascade afin de bénéficier de son délai d'attente nul dans le lait. Enfin, on compte parmi les milbémycines avec AMM ovin en Belgique, les médicaments suivants : à base de moxidectine (Cydectin® 0,1%, Zoetis) et avec du triclabendazole (Cydectin triclamoX® sol orale, Zoetis). Des cas de résistantes ont été mis en évidence en Europe notamment pour *H.contortus* et *T.circumcincta* (Gustin, 2019). Toutes ces préparations sont reconnues comme très efficaces à faibles doses, elles ne sont pas toxiques et elles ont un très large spectre contre toutes les formes des nématodes gastro-intestinaux des ovins (Bowman, 2014).

1.2.3. Les salicylanilidés et dérivés phénol

Les molécules de cette famille disponibles en Belgique sont le closantel et l'oxyclozanide. Elles ont principalement une activité contre la grande douve du foie (*Fasciola hepatica*) mais particulièrement sur les formes adultes et très peu ou pas sur les formes immatures. Le closantel a également une activité contre les nématodes hématophages comme *H.contortus*. Compte tenu de leur activité, ces molécules sont souvent utilisées en combinaison avec d'autres familles d'anthelminthiques afin d'élargir leur spectre d'action. De plus, aucune résistance au closantel n'a été décrite pour les nématodes hématophages chez les ovins en Belgique (Richard, 2011; Gustin, 2019). Ces molécules se fixent très fortement aux protéines plasmatiques, ce qui leur assure une rémanence de plusieurs semaines dans l'hôte. Leur fixation sur l'albumine plasmatique explique bien leur action envers les nématodes hématophages. Les salicylanilidés et dérivés phénol découplent la phosphorylation oxydative au sein des mitochondries et privent donc les parasites de leur métabolisme énergétique (Demeler, 2005; Taylor *et al.*, 2016).

Il existe 2 médicaments vétérinaires disponibles en Belgique avec l'AMM ovin, ceux sont les suivants : le closantel associé au mebendazole (Flukiver Combi®, Elanco) et le closantel associé à l'ivermectine (Closamectin® inj, Norbrook Lab). Ces deux associations permettent d'élargir la gamme des nématodes gastro-intestinaux touchés chez l'ovine, plutôt que de se restreindre à *H.contortus* (Gustin, 2019).

1.2.4. Les dérivés d'aminoacétonitrile

Cette famille d'antihelminthique est la dernière à être apparue sur le marché en 2009 en Belgique. Elle ne contient qu'une molécule active et disponible, le monepantel. Cette dernière

est indiquée comme efficace contre les nombreuses souches de nématodes résistants aux anthelminthiques déjà sur le marché. Le monepantel a un spectre large d'activité comprenant strictement les nématodes gastro-intestinaux (forme larvaire, hypobiotiques et adultes) des ovins mais elle n'est cependant pas rémanente. Il agit sur un site spécifique du récepteur nicotinique à l'acétylcholine, ce site étant spécifique aux nématodes et confère donc une sécurité d'emploi de la molécule. Après fixation, une hyper-contraction musculaire est provoquée ainsi qu'une paralysie spastique du parasite jusqu'à sa mort (Taylor *et al.*, 2016).

Cette famille d'anthelminthique étant la dernière mise sur le marché, il n'existe qu'une seule molécule disponible en Belgique avec AMM ovin, comme vu avant c'est le monépantel. Le médicament vétérinaire disponible per os est le suivant (Zolvix[®], Elanco). Aucune résistance n'a été décrite pour cette molécule, elle est indiquée contre les souches résistances aux benzimidazoles, salicyanilidés et les lactones macrocycliques (Gustin, 2019).

1.2.5. Les formes galéniques et leur mode d'action

En médecine ovine, les anthelminthiques sont administrés soit par voie parentérale, soit par voie orale ou encore par voie transcutanée. Il est souvent plus pratique d'administrer des produits per os si une bonne contention de l'animal est réalisée. De plus, le calcul de dose doit toujours être calculé par rapport à l'animal le plus lourd du groupe (Demeler, 2005). Cependant, il faut toujours mettre en lien les voies d'administration avec la biodisponibilité des molécules chez l'hôte. En effet, pour les antiparasitaires internes, les meilleures biodisponibilités sont le plus souvent obtenues par les voies injectables alors que les voies transcutanées seraient moins satisfaisantes. Pour les voies orales qui sont régulièrement utilisées, elles présentent des résultats moyens. Ainsi, par voie pour on, les moutons absorbent moins bien le produit et une variabilité inter-individuelle de la concentration sanguine finale de la molécule est importante (Hellriegel *et al.*, 1996). Des animaux peuvent ainsi être sous-traités, les vers sensibles seront éliminés mais la proportion de vers résistants ne fera qu'augmenter. Comme vu auparavant, la voie orale est intermédiaire en termes de biodisponibilité. Il faut mettre cela en lien avec les différents facteurs influençant l'action du produit : la flore ruménale, le métabolisme de la paroi digestive ou encore le rôle réservoir du rumen. Ainsi, de par les données reçues et par le stockage des molécules dans le rumen, les benzimidazoles sont les plus adaptés pour cette voie. Concernant les formes injectables, elles seraient à privilégier afin d'assurer que la dose administrée soit celle retrouvée dans l'organisme. Néanmoins, cette voie d'administration est bien plus contraignante pour l'éleveur en termes de contention et peut-être douloureuse pour l'animal (Taylor *et al.*, 2016; Lanusse *et al.*, 2018). Enfin, des bolus à libération prolongée

existent afin de contrer les familles d'anthelminthique n'ayant pas une activité rémanente au sein de l'hôte. C'est le cas notamment des benzimidazoles. Ils se localisent dans la jonction réseau-rumen et libèrent progressivement la molécule souhaitée (Jacquet, 2019).

1.3. Les résistances aux anthelminthiques

1.3.1. Définition et mécanismes d'apparition

La résistance aux anthelminthiques est un caractère héréditaire dont dispose les parasites, qui leur permet de résister à une concentration d'une molécule qui leur est normalement efficace. Ainsi, un parasite est résistant s'il survit suite à l'exposition à une dose standard d'anthelminthique. C'est également décrit comme la nécessité d'utiliser une dose plus grande que la normale afin de tuer le parasite ou même sans y arriver, jusqu'à la dose maximale autorisée (Demeler, 2005). Au départ et avant tout traitement, les nématodes disposent d'une très faible quantité d'allèles résistants. De par le caractère héréditaire de la résistance, si aucun traitement n'est administré, la transmission par la reproduction sera neutre voir même négative. A partir du moment où un traitement est effectué, une grande majorité des nématodes (sensibles) sera éliminée mais il persistera une petite quantité de parasites (résistants) porteurs des gènes de résistances adaptés à l'anthelminthique. Par suite, les individus résistants transmettront leur caractère de génération en génération afin de créer une population plus résistante (Wolstenholme *et al.*, 2004; Abbott *et al.*, 2012). Ce mécanisme est illustré dans la figure 3 et met bien en évidence l'évolution de la sélection des individus résistants parmi une population. Cette figure illustre bien la complexité de détection de ces résistances, il faut agir avant qu'il y ait des signes cliniques dans l'élevage et que ça soit trop tard. C'est ainsi que de nombreux tests seront détaillés en 1.4 afin de détecter précocement ces problèmes de résistances (Abbott *et al.*, 2012).

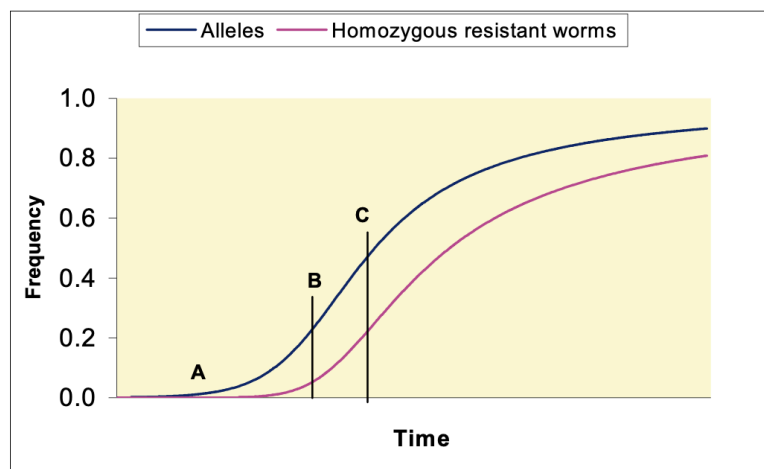


Figure 3 : Évolution de la fréquence des allèles de résistances et des vers résistants homozygotes au cours du temps par les traitements (A : taux faible d'allèle résistant, B : détection des résistances à 95% par les tests, C : expression clinique des résistances) (Abbott *et al.*, 2012)

Pour plusieurs familles d'anthelminthique, des mécanismes de résistance souvent liés aux récepteurs des molécules seraient impliqués. Dans le cas des benzimidazoles, il y a une modification de l'isotype 2 de la β -tubuline des parasites en isotype 1, ce qui en modifie sa liaison. Ce changement est fortement corrélé à la possible résistance et est étudié par PCR. Quant aux lactones macrocyliques, on retrouve une modification d'un allèle du gène codant pour une sous-unité du canal Cl⁻ glutamate dépendant mais aussi une surexpression des glycoprotéines P (Wolstenholme *et al.*, 2004).

1.3.2. Types de résistances

Plusieurs termes ont été établis après les nombreuses recherches sur le domaine de la résistance. La résistance en tant que telle a été définie plus haut comme une plus grande fréquence de parasites dans une population qui n'est plus affectée par une dose habituelle d'anthelminthique. Le principe de résistance de famille ou de co-résistance apparaît lorsqu'une population de parasite est résistante aux molécules d'une même famille car ces dernières utilisent le même mode d'action. On a des résistances multiples lorsque les nématodes sont résistants à au moins deux familles d'anthelminthique. Ce type de résistance peut apparaître indépendamment des familles par le biais de sélection ou alors par le biais d'une résistance croisée entre deux molécules. Enfin, la réversion est la diminution de la fréquence du gène de résistance dans une population parasitaire suite à l'arrêt d'utilisation d'un anthelminthique (Wolstenholme *et al.*, 2004; Demeler, 2005; Abbott *et al.*, 2012).

1.3.3. Facteurs influençant la pression de sélection des résistances

Comme vu auparavant, la résistance est un caractère héréditaire pouvant se propager rapidement dans une population suite à l'utilisation d'anthelminthique comme sélectionneur de résistance. De plus, de nombreux facteurs influencent le taux d'apparition des résistances et il est important de les connaître afin de pouvoir les gérer. Le sous-dosage des antiparasitaires est un premier facteur à considérer. En effet, en cas de dose sub-optimal, les individus sensibles sont éliminés mais pas les résistants. Cela peut notamment venir d'une mauvaise estimation du poids, d'une utilisation trop intensive de molécule rémanente dont la concentration diminue chez le mouton mais également de l'utilisation trop fréquente d'une même famille d'anthelminthique, surtout pour les benzimidazoles. La fréquence des traitements peut aussi être mise en cause. En effet, après chaque traitement et pendant sa durée d'action, les parasites résistants possèdent un avantage reproductif sur le reste de la population parasitaire et peuvent ainsi pondre plus d'œufs qui se retrouveront sur les pâtures. Par suite, si les traitements sont encore plus rapprochés, ils ne laisseront plus le temps de développement des souches sensibles

dans les hôtes et in fine sur les pâtures. La notion de « refuge » est également très importante à comprendre. Elle est définie comme la population parasitaire sensible non soumise à l'action des anthelminthiques et donc non sélectionnée. Cela comporte donc les stades larvaires libres sur la pâture, les vers hébergés chez les hôtes non traités et les stades larvaires (comme les larves hypobiotiques) non atteints par le traitement. Ainsi, cette population refuge est un moyen de diluer les gènes de résistances aux anthelminthiques en maintenant des individus sensibles dans la population parasitaire globale. Il est donc très important que la taille de ce refuge soit importante car la vitesse de développement de résistance en est très fortement liée. La taille du refuge est également influencée par le traitement de masse d'un lot, les périodes de faibles infestivités des pâtures comme en sortie d'hiver ou pendant la sécheresse ou encore par les fréquences trop importantes de traitement. Le principe des refuges ainsi que la pression de sélection des résistances qui sont liés sont repris dans l'annexe 4 (Abbott *et al.*, 2012; Chartier *et al.*, 2018). La rotation des pâtures intervient aussi dans la gestion des résistances. Elle est souvent liée à la notion de refuge, surtout lorsqu'un traitement est effectué sur des hôtes en pâture. En effet, depuis pas mal d'année le principe de « dose and move » était employé, il consistait à traiter les animaux avant de les changer de parcelle afin de garder cette dernière saine. Cependant, ce principe accentue les problèmes de résistances car le peu de parasites présents sur la parcelle dite saine seront des populations résistantes. Il est donc conseillé de pratiquer le « move and dose » afin de garantir une population refuge possédant des individus sensibles sur la nouvelle pâture (Losson, 2017). Enfin, le délai de ré-infestation après traitement joue également un rôle de dilution dans l'apparition de résistances (voir annexe 4). En effet, après traitement, les populations résistantes profitent pour se reproduire. Mais si le pâturage est très infectieux, alors les populations sensibles pourront de nouveau parasiter les hôtes et ainsi diluer les vers résistants. C'est le cas inverse lorsque la pâture n'est pas assez contaminée, si par exemple la période est trop sèche ou bien que les ovins aient développé une trop grande immunité ne permettant pas de s'immuniser avec les populations sensibles (Abbott *et al.*, 2012).

1.4. Méthodes de diagnostic de résistances : *in vivo* et *in vitro*

Comme vu précédemment, les résistances aux anthelminthiques prennent une ampleur importante en élevage ovin, c'est dans ce but que plusieurs moyens de diagnostic ont été mis en place afin d'anticiper les impacts cliniques de ce phénomène (Abbott *et al.*, 2012).

1.4.1. Examen coprologique

Une des premières analyses facilement réalisable est l'analyse macroscopique et microscopique des matières fécales ou examen coprologique. Le but de cet examen est la mise

en évidence des œufs de strongles gastro-intestinaux. Il peut être réalisé de manière quantitative ou bien qualitative (voir annexe 6), sachant que pour les petits ruminants les résultats ne sont pas interprétables de la même façon. En effet, les analyses qualitatives ne donnent aucune interprétation sur le parasitisme car l'absence d'œuf ne permet pas d'exclure une possible contamination. Il faut procéder aux analyses quantitatives qui permettent de connaître précisément le nombre moyen d'œuf par gramme (OPG) de matières fécales excrétées par l'hôte. C'est également le reflet de l'infestation de l'animal qui est mis en évidence (Zajac, 2006; Eichstadt, 2017).

La méthode quantitative la plus utilisée actuellement après de nombreux tests fait appel au principe d'enrichissement par flottation. Le but est d'utiliser un liquide de densité élevée afin de concentrer les éléments parasitaires (œufs) de densité inférieure à la surface. Ils seront ainsi plus facilement observables et quantifiables. La méthode qui sera détaillée par la suite et utilisée est la méthode de flottation de MacMaster modifiée par Raynaud en 1970 (Coles *et al.*, 1992). La caractéristique principale de cette méthode est l'utilisation d'une lame de MacMaster pour le dénombrement des OPG (voir figure 4). Le liquide utilisé dans le protocole est du chlorure de sodium saturée en solution avec une densité de 1,19. Le protocole complet de cette méthode est à retrouver dans l'annexe 5. La préparation pour l'analyse coprologique nécessite des prélèvements sur le terrain et idéalement en intra-rectale afin d'éviter la contamination au sol. A partir du moment où l'échantillon est réalisé, il est idéal de l'analyser au plus vite ou de le conserver au frais à 4°C. Lors de l'examen microscopique, il n'est pas possible de distinguer les différents nématodes gastro-intestinaux de par leur morphologie commune, sauf pour le cas de l'espèce *Nematodirus spp* (Demeler, 2005; Eichstadt, 2017). L'exemple même de cette différence des œufs est repris dans la figure 5. Pour compléter l'analyse, l'ensemble des œufs observable au microscope chez les ruminants est repris dans l'annexe 7.

D'autre part, l'interprétation des résultats obtenus à partir du protocole de MacMaster modifié est à prendre avec du recul. En effet, plusieurs facteurs peuvent influencer l'excrétion fécale des strongles gastro-intestinaux à un instant t. Comme vu au 1.1.1., la prolificité des espèces varie entre elles, le statut physiologique et immunitaire de l'hôte comme lors de la phase de péri-parturient rise (cf 1.1.3.) modifie également la ponte. De plus, en fonction du cycle parasitaire à cet instant, on peut avoir la présence de larves hypobiotiques L4 sans que l'on s'en rende compte dans les fèces, la consistance de ces dernières peut également influencer la dilution de l'analyse.



Figure 4 : Lame de MacMaster comportant 2 chambres remplies de liquide de dilution des matières fécales.



Figure 5 : Œuf de *Nématodirus spp* (rond bleu) et de strongles gastro-intestinaux (ronds rouges) au microscope optique (x100)

Enfin, des indications de traitement ou non en fonction des résultats de l'analyse coprologique sont à connaître. Si les résultats moyens d'OPG sont inférieurs à 100, il n'est pas conseillé de traiter alors que c'est l'inverse pour des valeurs supérieures à 500. Pour des valeurs intermédiaires (100-500opg), il faut regarder l'état clinique et le stade physiologique des animaux (Zajac, 2006; Eichstadt, 2017).

1.4.2. Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT)

Le test FECRT est décrit comme le test *in vivo* de résistance aux anthelminthiques le plus simple d'utilisation en laboratoire de parasitologie. Il permet de fournir une estimation de l'efficacité d'un anthelminthique, en comparant l'excrétion des œufs dans les matières fécales, avant et après traitement (Coles *et al.*, 1992, 2006). Pour évaluer la résistance d'un traitement, il convient de calculer le pourcentage de réduction d'excrétion dans les fèces selon la formule suivante : $FECR = 100 (1 - [T2/T1] \times [C1/C2])$ (avec T1 et T2 les valeurs d'excrétions moyenne avant et après traitement dans le lot traité respectivement, et C1 et C2 ces mêmes valeurs mais dans le lot contrôle). On calcule également l'intervalle de confiance à 95%. A partir de ces valeurs, on peut émettre une suspicion de résistance aux anthelminthiques si le pourcentage de réduction est inférieur à 95%, et si la limite inférieure de l'intervalle de confiance est inférieure à 90% (Coles *et al.*, 1992; Mejía *et al.*, 2003). La démarche à suivre ainsi que le protocole du test sont à retrouver dans l'annexe 8. En outre, il ne faut pas oublier certains facteurs qui peuvent influencer ce test. Il a été démontré que ce dernier n'est pas fiable si la proportion de vers résistants est inférieure à 25%. Cela veut donc dire que ce test permet une détection plus tardive de la situation. De plus, le FECRT est directement impacté par la prolificité des différentes espèces (voir 1.1.1.). Ainsi une forte infestation d'*H.contortus* très prolifique et sensible au

traitement peut masquer une faible part de *T.circumcincta* résistante et moins prolifique (Coles *et al.*, 1992; Eichstadt, 2017).

1.4.3. Coproculture et méthode de Baermann

La coproculture est une expérience *in vitro* souvent utilisée en parallèle du test FECRT détaillé auparavant. En effet, par le biais de ce test, on réalise des analyses coprologiques qui ne permettent pas de distinguer les différentes espèces de strongles gastro-intestinaux. La mise en culture de matières fécales ou coproculture permet quant à elle d'obtenir des larves L3 de ces nématodes et ainsi de pouvoir les différencier morphologiquement. De plus, on réalise souvent des coprocultures avant et après traitement lors d'un protocole FECRT, dans le but de mettre en évidence le ou les espèces résistantes parmi l'infestation. Pour réaliser une mise en culture correcte, il faut récupérer plusieurs échantillons de fèces d'animaux du même groupe traité et les mélanger équitablement pour en avoir 50g. Il faut ensuite homogénéiser le mélange, l'humidifier et y ajouter un substrat comme de la mousse ou des copeaux. Le tout sera disposé dans un pot de culture en verre, qui sera recouvert mais non scellé (oxygénation permise) et l'ensemble sera disposé à 22-27°C avec 80% d'humidité pendant 7 jours au minimum. Ces conditions précises sont choisies pour mimer au maximum la température et l'humidité présente en pâture lors du cycle de développement des œufs vers le stade L3 (Coles *et al.*, 2006; Abbott *et al.*, 2012). Après cette durée, il y a normalement eu éclosion des œufs et il faut donc récupérer les larves L3. Pour ce faire, les méthodes de Baermann ou de Baermann modifiée peuvent être utilisées. Elles permettent de récupérer et d'isoler les larves L3 développées afin de les observer et les identifier morphologiquement au microscope. Les protocoles de ces dernières sont repris dans l'annexe 9. Des clés de détermination pour identifier les larves sont proposées dans la littérature (Eichstadt, 2017).

1.4.4. Test d'éclosion des œufs et Test de développement larvaire

Les deux tests développés par la suite sont des tests *in vitro* qui ne dépendent pas des variations inter individus et qui sont facilement réalisables en laboratoire (Abbott *et al.*, 2012). Le test d'éclosion des œufs ou Egg hatch test (EHT) permet d'étudier les résistances aux benzimidazoles. On peut tester que cette famille d'anthelminthique car c'est la seule qui est ovicide. En effet, on va évaluer la capacité du thiabendazole (le 1^{er} benzimidazole) à inhiber l'éclosion d'œufs de nématodes gastro-intestinaux. Pour cela, on va exposer des œufs frais (moins de 3h) issus de matières fécales, à différentes concentrations de thiabendazole croissantes. Après 48h d'incubation entre les œufs et l'anthelminthique, il faut compter les œufs présents morts ou embryonnés ainsi que les larves obtenues. On peut ainsi calculer la DL₅₀

(dose à laquelle 50% des œufs n'ont pas éclos) à partir des différentes concentrations de thiabendazole. Il est également intéressant de calculer la dose discriminante, qui correspond à 99% des œufs sensibles arrêtés en développement. Après plusieurs études, la dose de 0,1mg/ml correspondrait à cette dose discriminante. Les œufs qui ont alors éclos avec cette dose discriminante sont dit résistants (Coles *et al.*, 2006, 1992; Eichstadt, 2017).

Le test de développement larvaire (TDL) sert à évaluer la capacité de développement des œufs en larves L3 en présence d'un anthelminthique. On peut ici étudier la résistance aux benzimidazoles, au lévamisole ainsi qu'aux lactones macrocyliques. Contrairement au EHT, l'âge des œufs utilisés n'a pas d'importance. On met en incubation un nombre œufs précis, de l'anthelminthique à différentes concentrations ainsi que de la levure pour le développement des larves. L'incubation de ces mélanges doit durer au moins 6 à 8 jours. Il faut ensuite évaluer après chaque incubation le nombre de larves L3 vivantes issu des œufs initiaux. On peut également identifier les espèces des larves morphologiquement. Des doses discriminantes comme pour le principe du EHT sont établis pour les différents anthelminthiques (Coles *et al.*, 2006; Eichstadt, 2017).

1.4.5. PCR

La Polymerase chain reaction (PCR) est une méthode moléculaire de détection d'allèle de résistance. Cette méthode est très sensible car on peut détecter une résistance dans une population dès 1% de vers résistants, et elle est également bien plus rapide et reproductible. Elle est actuellement réalisable pour les benzimidazoles et les autres familles sont en cours d'étude. Comme vu en 1.3.1., la liaison des benzimidazoles avec le parasite se fait sur la bêta-tubuline et il a été identifié qu'une substitution de l'acide aminé 200 sur cette dernière est responsable de cette résistance. La PCR permet donc une multiplication spécifique de l'allèle responsable de la substitution d'une phénylalanine en tyrosine. Des études sont en cours sur les modifications d'autres codons qui pourraient être en lien avec les résistances (Coles *et al.*, 2006; Eichstadt, 2017).

2. Introduction de l'article

3. Matériels et méthodes

3.1. Fermes et animaux

3.2. Groupes traités et procédures

3.3. Diagnostic parasitologies

3.3.1. Coprologies

3.3.2. FECRT

3.4. Analyses statistiques

4. Résultats

4.1. Analyses statistiques

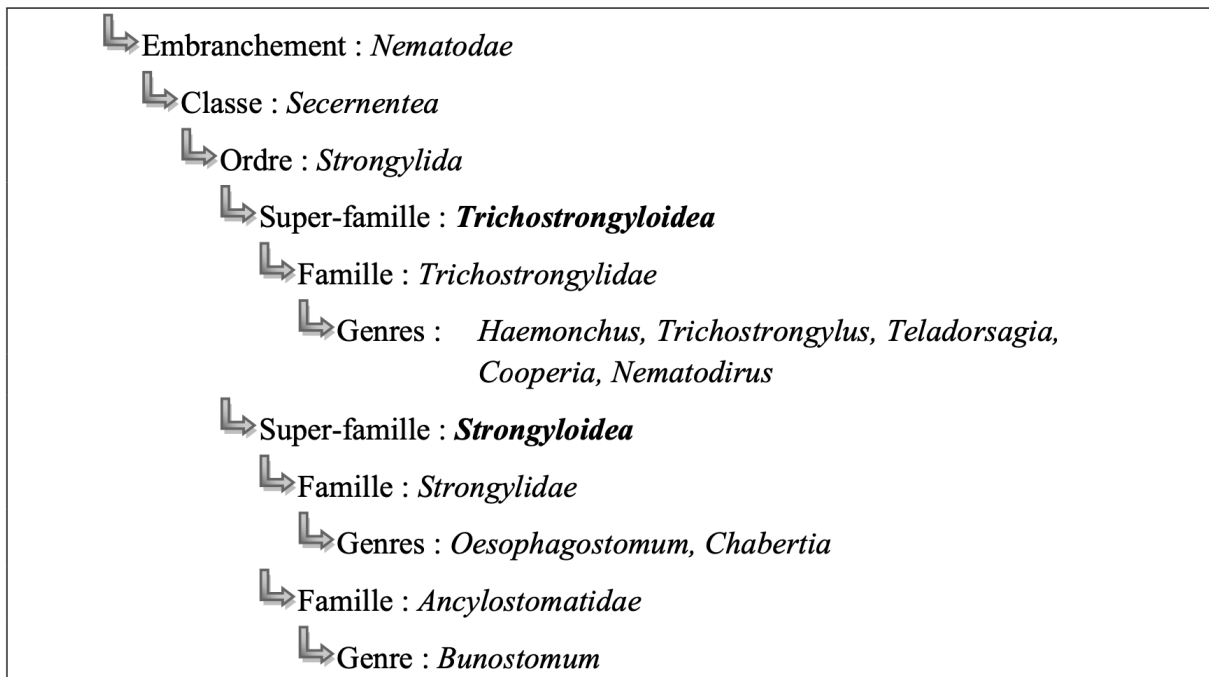
Parler de l'échec des coprocultures plus en faire une interprétation

5. Discussion et conclusion

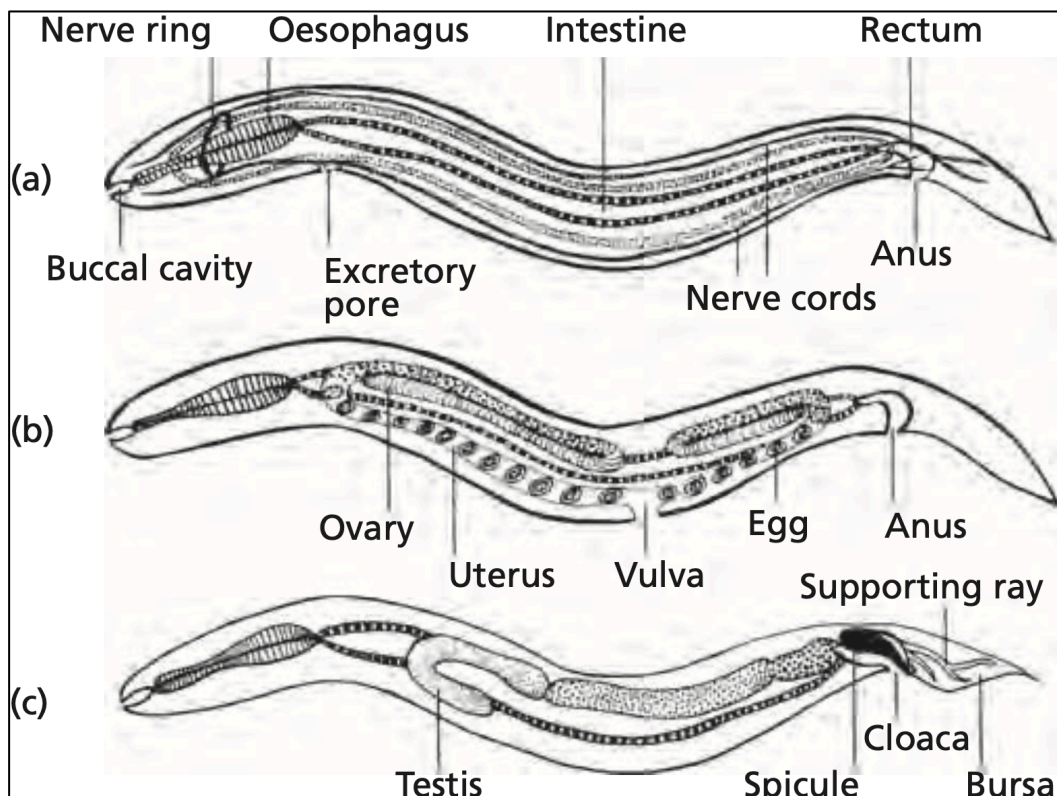
5.1. Limite d'études

5.2. Perspectives => parler de faire coproculture avant et après etc, PCR, ...

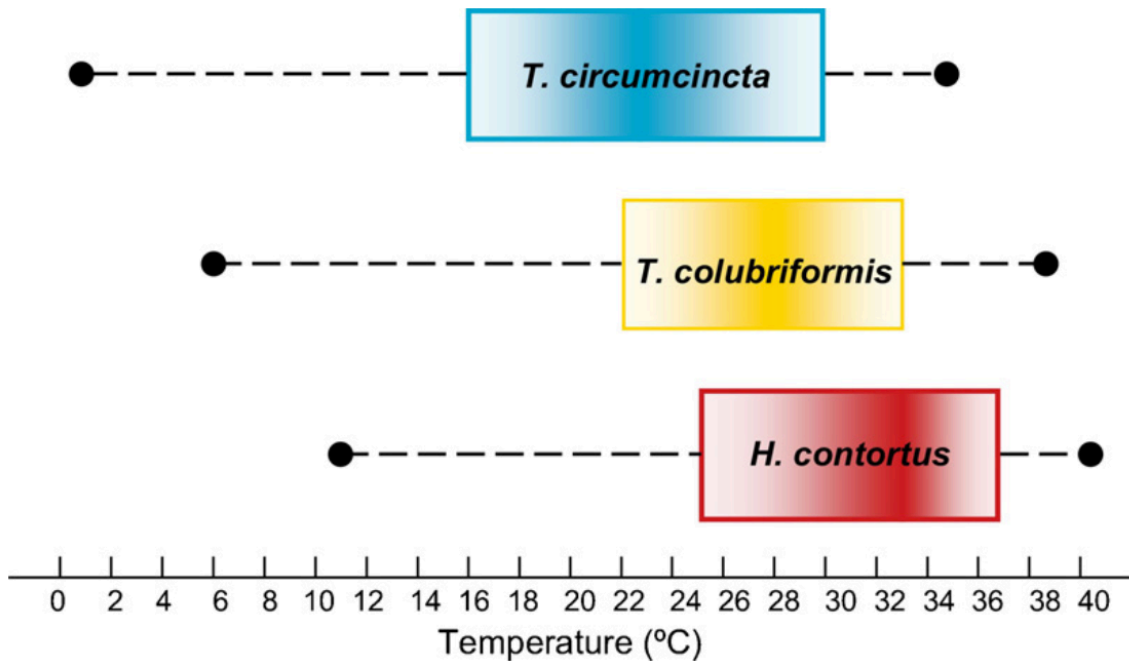
6. Annexes



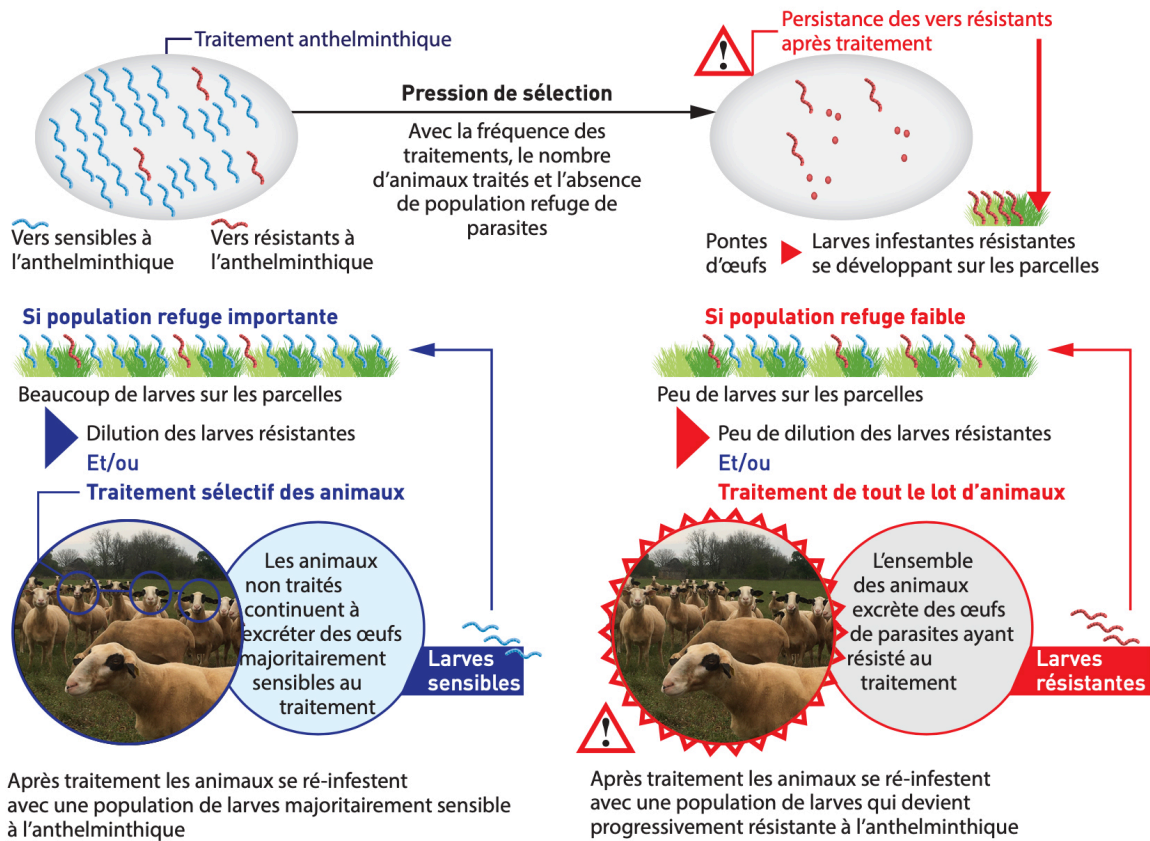
Annexe 1. : Distribution des genres parasites responsables des strongyloses gastro-intestinales des ovins (Tanguy, 2011)



Annexe 2 : Coupe transversale de nématode dans son intégralité, (a) représente le système digestif, excréteur et nerveux, (b) correspond au tractus génital femelle et (c) au tractus génital mâle avec son cloaque (Taylor *et al.*, 2016).



Annexe 3 : Intervalle de température optimal pour le développement des œufs non embryonnés en larve L3 infestantes pour les 3 principaux nématodes gastro-intestinaux des ovins. Les pointillés permettent de délimiter les températures minimales et maximales de développement alors que les cadres de couleur représentent les températures idéales (O'Connor *et al.*, 2006).



Annexe 4 : Traitement anthelminthique et rôle du refuge dans la gestion des populations de nématodes gastro-intestinaux résistants des ovins adapté de (Chartier *et al.*, 2018)

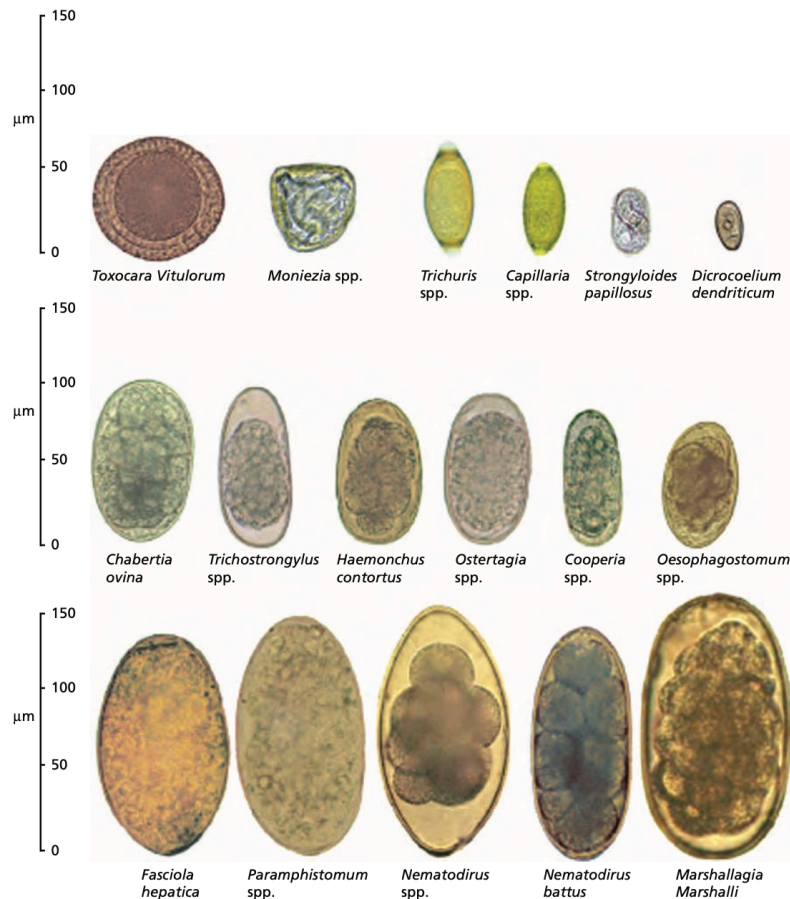
- Après la récolte des matières fécales intra-rectale (au minimum 10g dans un pot), il faut conserver ces dernières au frais et les analyser les jours suivants
- On pèse 4g de fèces exactement dans un bécher
- Il faut ajouter 56mL de NaCl saturé (solution de flottation) dans le bécher
- On mélange l'ensemble afin d'homogénéiser la solution puis on le passe au travers un tamis de 150µm. On récupère le filtrat dans un nouveau bécher
- On pipete ensuite le filtrat obtenu
- On remplit les 2 chambres de la lame de MacMaster rapidement sans apporter de bulles
- On laisse reposer ensuite 5 minutes chaque lame avant observation
- On effectue le comptage par lecture au microscope au grossissement x100 (mise au point effectuée sur le quadrillage des chambres)
- On compte au départ les œufs dans une chambre et on multiplie cette valeur par 100 pour obtenir le total d'OPG (si les deux chambres venaient à être comptabilisées, il faut multiplier par 50 le total). **Donc 1 œuf = 100 OPG pour une chambre**

Annexe 5 : Protocole complet de l'analyse coprologique quantitative individuelle par la méthode de MacMaster modifiée (Laboratoire de parasitologie FMV Liège 2019)

- On pèse au minimum 4g de fèces dans un bécher après l'analyse quantitative
- On ajoute 56mL d'eau
- On mélange, homogénéise et tamise l'ensemble. On récupère le filtrat dans un bécher de 1L
- On remet ce filtrat dans un bécher de 60mL
- On centrifuge ce filtrat à 3000 t/min
- Il faut éliminer ensuite le surnageant.
- On ajoute ensuite 10mL de ZnCl-NaCl saturé au culot. Après agitation, on remet en suspension le culot
- On remet l'ensemble dans un tube de 10mL
- On centrifuge ce tube à 1000 t/min
- On pose ensuite ce tube dans un support, et on ajoute avec la pissette du ZnCl-NaCl jusqu'à la formation d'un ménisque supérieur
- On appose une lamelle sur le ménisque
- On laisse reposer 5 minutes
- On récupère la lamelle que l'on dépose sur une lame

- On observe cette lame au microscope au grossissement x100. On peut ainsi voir de manière qualitative les œufs présents dans les fèces sans pour autant interpréter leur importance quantitativement.

Annexe 6 : Protocole complet de l'analyse coprologique qualitative (ou enrichissement) individuelle au chlorure de zinc saturé (Laboratoire de parasitologie FMV Liège 2019)



Annexe 7 : ensemble des œufs d'helminthes excrétés chez les ruminants (Taylor *et al.*, 2016)

Il faut tout d'abord trouver des ovins de minimum 3 à 6 mois ou plus âgés, qui n'ont pas reçu de traitements antiparasitaires dans les 2 à 3 derniers mois et qui ont une excrétion fécale d'au moins 150 opg. On réalise ensuite des groupes de minimum 10 individus, cela permettra de faire des lots traités en fonction du nombre de molécules à tester (qui recevront un traitement) mais également un lot contrôle (sans traitement durant le protocole). La distribution des animaux dans chaque groupe peut être aléatoire ou bien en fonction du nombre d'OPG obtenus après les premières analyses coprologiques. Pour les réaliser, il faut prélever un minimum de 5g de matières fécales en intra-rectale idéalement par animal. Ces fèces sont ensuite conservées dans des pots et gardées au frais le temps de l'analyse. Dans la suite du protocole, la technique

d'analyse coprologique individuelle est celle décrite au 1.4.1. avec la méthode de flottation de MacMaster modifiée. Suite aux résultats d'OPG obtenus par animaux, on note ces derniers comme ceux de référence pour les valeurs avant traitement (J0). Il convient ensuite de peser chaque animal et de les traiter en conséquence (le jour J0) avec les produits choisis par lots, et de garder un lot témoin sans traitement. Une nouvelle analyse coprologique individuelle sera effectuée par lots 8 à 10j après J0 pour un benzimidazole administré et 14 à 16j pour une lactone macrocyclique. Avec les valeurs à J0 puis après traitement, les calculs de FECR et leur interprétation sont possibles.

Annexe 8 : Démarche et protocole à respecter pour effectuer un test FECRT (Coles *et al.*, 2006, 1992; Devos *et al.*, 2015)

Méthode de Baermann :

- On doit disposer d'un entonnoir, d'un tamis, d'une gaze ou d'un filtre à café, d'un tube caoutchouc et de pince à tubulure.
- Après avoir correctement pincer le caoutchouc relié à l'entonnoir pour ne laisser passer aucun liquide, on remplit ce dernier d'eau jusqu'au niveau inférieur du tamis posé dedans
- On étale le contenu des pots de coproculture sur le filtre à café que l'on retourne ensuite sur le tamis, le tout devant être bien humidifier.
- On laisse ensuite sédimenter le mélange par le tamis afin de récupérer les larves dans le caoutchouc obturé.
- On récupère ensuite le contenu sédimenté dans un tube, on enlève le liquide accompagnant les larves avec la pompe à vide et on va ensuite analyser les larves L3.
- Souvent, on essaie d'isoler 100 larves et on va ensuite identifier chacune d'entre elle pour donner un pourcentage de l'ensemble.

Méthode de Baermann modifiée :

- Il faut disposer une boîte de pétri.
- Après au minimum 7j d'incubation dans le pot de coproculture, on va remplir ce dernier d'eau jusqu'au bord.
- On appose ensuite la boîte de pétri à l'envers sur le pot puis on retourne ce pot en maintenant la boîte. L'ensemble est ensuite posé sur une table.
- On remplit ensuite la boîte de pétri jusqu'au 2/3 de sa hauteur.
- Après 24h, les larves présentes dans le pot vont migrer dans la boîte de pétri en étant attirées par la lumière et l'eau.

- On aspire ensuite le liquide de la boîte de pétri puis on va centrifuger le tout pour récolter les larves dans le culot.
- Le culot du tube contient donc les larves L3 à analyser. Comme la méthode de Baermann, on essaie d'isoler 100 larves pour les identifier.

Annexe 9 : Protocole de la méthode de Baermann et de Baermann modifiée (Laboratoire de parasitologie FMV Liège 2019)

7. Bibliographie

- Abbott, K., Taylor, M., Stubbings, L., 2012. Sustainable Worm Control Strategies for Sheep. A Tech. Man. 4th Editio, 1–78.
- Bowman, D.D., 2014. Georgis' Parasitology for Veterinarians. 10th Edition. Elsevier, St Louis, Missouri. <https://doi.org/10.2307/3279008>
- Cabaret, J., Mage, C., Bouilhol, M., 2002. Helminth intensity and diversity in organic meat sheep farms in centre of France. *Vet. Parasitol.* 105, 33–47. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00647-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00647-1)
- Chartier, C., Hoste, H., 1997. Response to challenge infection with *Haemonchus contortus* and *trichostrongylus colubriformis* in dairy goats: Differences between high and low-producers. *Vet. Parasitol.* 73, 267–276. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00131-3](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00131-3)
- Chartier, C., Ravinet, N., Hoste, P., Merlin, A., Chauvin, A., 2018. Résistance aux anthelminthiques et traitement raisonné contre les strongles gastro-intestinaux chez les bovins et les petits ruminants. *Bull. des GTV Numero Spe*, 17.
- Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F.H.M., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A., Waller, P.J., 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 44, 35–44.
- Coles, G.C., Jackson, F., Pomroy, W.E., Prichard, R.K., Von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., Taylor, M.A., Vercruysse, J., 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 136, 167–185. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.11.019>
- Demeler, J., 2005. The physiological site of action and the site of resistance to the macrocyclic lactone anthelmintics in sheep parasitic trichostrongyloid nematodes. University of Veterinary Medicine Hanover.
- Devos, J., Marcotty, T., Pors, I., Paraud, C., 2015. Un premier cas de résistance aux lactones

- macrocycliques chez les nématodes gastro-intestinaux confirmé en élevage ovin. *Bull. des GTV* 80, 55–61.
- Eichstadt, M., 2017. Evaluation de la résistance des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques dans quatre élevages ovins allaitants de Corrèze. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT.
- Gustin, P., 2019. Répertoire commenté des médicaments à usage vétérinaire. Centre Belge d'Information Pharmacothérapeutique - CBIP, Université de Liège.
- Hafsi, F., China, B., Ghalmi, F., 2012. Le monepantel, un nouvel anthelminthique efficace contre les nématodes gastro-intestinaux des ovins. *Ann. Med. Vet.* 156, 66–74.
- Hellriegel, E.T., Bjornsson, T.D., Hauck, W.W., 1996. Interpatient variability in bioavailability is related to the extent of absorption: Implications for bioavailability and bioequivalence studies. *Clin. Pharmacol. Ther.* 60, 601–607.
[https://doi.org/10.1016/S0009-9236\(96\)90208-8](https://doi.org/10.1016/S0009-9236(96)90208-8)
- Jacquet, P., 2019. Maladies parasitaires induisant des troubles digestifs, Maladies infectieuses des animaux de production. Université de Liège.
- Lanusse, C., Alvarez, L., Sallovitz, J.M., Sanchez Bruni, S., 2018. Antinematodal drugs, in: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Wiley Blackwell, p. 1550.
- Losson, B., 2017. Les maladies parasitaires des petits ruminants. Université de Liège.
- Losson, B., Demblon, D., 2006. Le parasitisme en élevage ovin. Filière ovine et caprine 13–17.
- Mejía, M.E., Fernández Igartúa, B.M., Schmidt, E.E., Cabaret, J., 2003. Multispecies and multiple anthelmintic resistance on cattle nematodes in a farm in Argentina : the beginning of high resistance ? *Vet. Res.* 34, 461–467.
- Menzies, P., 2010. Handbook control of parasites of sheep. University of Guelph.
- O'Connor, L.J., Walkden-Brown, S.W., Kahn, L.P., 2006. Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Vet. Parasitol.* 142, 1–15.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.08.035>
- Ploeger, H.W., Antonis, A.F.G., Verkaik, J.C., Vellema, P., Bokma-Bakker, M.H., 2016. Perceptions and actions of Dutch sheep farmers concerning worm infections. *Vet. Parasitol.* 229, 150–158. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.10.012>
- Richard, C., 2011. Analyse risques / bénéfiques de l'utilisation des antiparasitaires en élevage en Région Wallonne. University of Liège - Gembloux.
- Sargison, N.D., 2016. Keys to solving health problems in small ruminants: Anthelmintic

- resistance as a threat to sustainable nematode control. *Small Rumin. Res.* 142, 11–15.
<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.02.021>
- Scott, I., Sutherland, I., 2009. *Gastrointestinal Nematodes of Sheep and Cattle : Biology and Control*. Wiley Blackwell.
- Tanguy, I., 2011. Evaluation de la résistance des strongles digestifs aux anthelminthiques dans les élevages ovins en Bretagne. *Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort - ENVA*.
- Taylor, M.A., 2013. Parasite control in sheep: A risky business. *Small Rumin. Res.* 110, 88–92. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.11.010>
- Taylor, M.A., Coop, R.L., Wall, R.L., 2016. *Veterinary Parasitology*. 4th Edition. Wiley Blackwell, Chichester.
- Vercruysse, J., Dorny, P., Meurrens, K., 1989. Benzimidazole resistance of nematodes in sheep in Belgium. *Vet. Rec.* 125, 602–603.
- Wolstenholme, A.J., Fairweather, I., Prichard, R., Von Samson-Himmelstjerna, G., Sangster, N.C., 2004. Drug resistance in veterinary helminths. *Trends Parasitol.* 20, 469–476.
<https://doi.org/10.1016/j.pt.2004.07.010>
- Zajac, A.M., 2006. Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants: Life Cycle, Anthelmintics, and Diagnosis. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.* 22, 529–541.
<https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2006.07.006>

