

38430



ECOLE  
NATIONALE  
VÉTÉRINAIRE  
TOULOUSE

ANNEE 2001

THESE : 2001 - TOU 3 - 4081

# TRAITEMENT ET PRÉVENTION DE LA FASCIIOLOSE À *FASCIOLA HEPATICA* EN ÉLEVAGE BOVIN LAITIER :

## ESSAI D'UN PROTOCOLE UTILISANT LE CLOSANTEL ET L'OXYCLOZANIDE

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2001  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**Dominique, Jean DONNADIEU**  
Né, le 11 juin 1970 à BRIVE (Corrèze)

---

Directeur de thèse : M. le Docteur Philippe JACQUIET

---

### JURY

PRESIDENT :

**M. Jean-François MAGNAVAL**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :

**M. Philippe JACQUIET**  
**M. Philippe DORCHIES**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

**M. Christian MAGE**

Ingénieur Chef de projet Institut de l'Elevage

TRAITEMENT ET PREVENTION DE LA  
FASCIIOLOSE A *FASCIOLA HEPATICA* EN  
ELEVAGE BOVIN LAITIER : ESSAI D'UN  
6608-2001 1



**Traitement et prévention de la  
fasciolose à *Fasciola hepatica* en  
élevage bovin laitier :**

**Essai d'un protocole utilisant  
le closantel et l'oxyclozanide.**

## Résumés

La fasciolose à *Fasciola hepatica* est une parasitose très répandue dans les élevages en France et est cause de sous-productivité en élevages ovins et bovins. Ceci est d'autant plus marqué dans les zones où les animaux sont amenés à pâturer des prairies naturelles comme dans la région Limousin. Cela oblige les éleveurs à traiter animaux et pâtures pour contrôler cette parasitose.

L'élevage de bovins laitiers se trouve en plus confronté au problème des résidus médicamenteux dans le lait, générateurs de délais d'attente incompatibles avec la livraison quotidienne du lait. L'emploi d'un antiparasitaire sans délai d'attente est la solution employée le plus souvent par les éleveurs mais peut s'avérer insuffisante ; l'idée de faire un traitement au tarissement offre l'avantage de s'affranchir de cette contrainte. Aussi, dans le cadre de deux élevages choisis dans le sud du Limousin et ayant des problèmes de fasciolose, un traitement au closantel a été effectué au tarissement en plus du traitement à l'oxyclozanide employé jusque là seul par les éleveurs . Un seul des deux élevages a subi le traitement au closantel alors que l'autre conservait le protocole antiparasitaire avec l'oxyclozanide.

Le suivi sur une année de l'infestation des bovins a été réalisé de même que l'évolution des données technico-économiques (production laitière, résultats de reproduction). S'il en ressort une certaine efficacité du traitement au closantel, on perçoit nettement par le suivi de l'élevage traité que le seul aspect parasitaire ne peut suffir à expliquer des baisses de performances ou une sous-productivité.

Fascioliosis, due to *Fasciola hepatica*, is a widely parasitosis in French breedings and caused often low productivity in cattle and sheep breedings. This phenomenon is more acute in areas where animals have to go on natural pastures like in Limousin. Breeders have to treat animals and pastures to limit this parasitosis. In addition, dairy cattle breedings have to take into account residues in milk which means withholding time. The use of antiparasitic without withholding time is commonly adopted by breeders but it can be unsatisfactory. The idea to treat at the end of lactation let the possibility of using a drug without taking into account withholding time. Also, two *F. hepatica* infected dairy cattle herds were chosen in south Limousin. A treatment with closantel at the end of lactation was added to the oxyclozanide treatment in one of the two cattle herds ; the other one continuing the treatment with oxyclozanide alone.

Levels of cows' infestation and evolution of technico-economic results (dairy production, reproduction) have been followed for one year. If some efficiency of the treatment was noticed, it is obvious that, in the treated group parasitic aspects cannot explain alone productivity and performances losses.

# Sommaire

Résumés	2
Sommaire	3
Liste des figures	6
Liste des tableaux	7
Introduction	8
<b>PREMIERE PARTIE</b>	<b>9</b>
<b>1. Etiologie de la fasciolose</b>	<b>10</b>
1.1. Le parasite	10
1.2. Le cycle biologique	10
1.2.1. Développement de l'œuf de <i>Fasciola hepatica</i>	
1.2.2. Evolution du miracidium dans l'hôte intermédiaire	
1.2.3. Evolution des cercaires dans le milieu extérieur	
1.2.4. De la métacercaire à l'adulte : évolution chez l'hôte définitif.	
1.3. Epidémiologie	13
1.3.1. Biologie et écologie de <i>Limnaea truncatula</i> Müller, hôte intermédiaire de <i>Fasciola hepatica</i> .	
1.3.1.1. Les migrations de la limnée tronquée	
Les cycles journaliers	
Les cycles saisonniers	
1.3.1.2. Les succession de générations de limnées	
Le cycle à 2 générations	
Le cycle à 3 générations	
1.3.1.3. Variation du milieu extérieur	
1.3.2. L'infestation des bovins	
L'infestation de printemps	
L'infestation de début d'été	
L'infestation de fin d'été – automne	
<b>2. Interaction hôte-parasite</b>	<b>18</b>
2.1. Pathogénie	18
2.1.1. Migration des douves	
2.1.2. Actions induites chez l'hôte définitif par la migration des jeunes douves.	
action mécanique des jeunes douves	
action antigénique	
action inflammatoire	
induction d'abcès	
2.1.3. Actions induites chez l'hôte définitif par la présence des douves adultes dans les canaux biliaires.	
2.2. Réponses immunitaires lors de la fasciolose à <i>F. hepatica</i>	19
2.2.1. Variations de l'expression de la parasitose à <i>Fasciola hepatica</i>	

2.2.2. Les réponses immunitaires à l'infestation par la <i>Fasciola hepatica</i>	
2.2.2.1. l'immunité non spécifique	
2.2.2.2. l'immunité spécifique à médiation humorale et cellulaire.	
2.2.2.3. Echappement du parasite à la réaction immunitaire	
2.3. Symptômes et lésions de la fasciolose clinique et subclinique ; répercussions économiques	22
2.3.1. L'anémie	
2.3.2. Evolution de la protéinémie	
2.3.3. Répercussions hépatiques	
La fibrose post-nécrotique	
La nécrose et la fibrose post-ischémique	
La fibrose péricanaliculaire	
2.3.4. Conséquences zootechniques de la fasciolose	
2.3.4.1. La fasciolose chez les bovins à viande	
2.3.4.2. La fasciolose chez les bovins laitiers	
<b>3. Lutte contre le parasite</b>	<b>26</b>
3.1. Les différentes méthodes de diagnostic	26
3.2. Les molécules utilisées dans la lutte contre la fasciolose	27
3.2.1. Les familles de fasciolicides et leur mode d'action	
3.2.2. Résistance de <i>Fasciola hepatica</i> aux substances fasciolicides	
3.2.3. Méthode d'évaluation de l'efficacité des fasciolicides	

<b>DEUXIEME PARTIE</b>	30
<b>1. Justificatif ; question posée</b>	31
<b>2. Matériel et méthodes</b>	31
2.1. Elevages expérimentaux	31
2.2. Allotement – Traitement	31
2.3. Conduite d'élevage	32
2.4. Contrôles	32
2.5. Analyses	34
2.5.1. Recherche des anticorps	
2.5.1.1. Méthode de recherche d'anticorps dans le sérum par hémagglutination passive ou H.A.P.	
2.5.1.2. Méthode de recherche d'anticorps dans le lait ELISA Pourquoiier	
2.5.2. Les coproscopies	
2.6. Enregistrement des paramètres agronomiques et zootechniques.	37
2.7. Evaluation de l'efficacité des traitements.	37
<b>3. Résultats</b>	38
3.1. Diagnostic immunologique de <i>Fasciola hepatica</i> .	38
3.1.1. Examen par hémagglutination passive (HAP)	
3.1.2. Examen avec le test ELISA Pourquoiier	
3.2. Efficacité des modalités du traitement douvicide	42
3.3. Diagnostic coproscopique de <i>Fasciola hepatica</i>	43
3.4. Evolution de la production de lait	44
3.5. Données de reproduction	44
3.6. Zones de pâturage à risque dans les deux exploitations	52
<b>4. Discussion</b>	53
4.1. Choix du douvicide	53
4.2. Choix des techniques de diagnostic	54
4.3. Données zootechniques	55
4.4. Discussion sur les résultats obtenus	55
<b>5. Perspectives pour les élevages laitiers</b>	58
Conclusion	60
Bibliographie	61

## Liste des figures

<u>Figure 1</u> : Cycle évolutif de <i>Fasciola hepatica</i> .	12
<u>Figure 1bis</u> : Les successions de générations de limnées.	15
<u>Figure 2</u> : Planning des prélèvements et des traitements.	33
<u>Figure 3</u> : Anticorps anti- <i>Fasciola hepatica</i> diagnostiqués par hémagglutination passive dans deux élevages de vaches laitières.	39
<u>Figure 4</u> : Pourcentage de bovins prélevés et à sérologie positive aux différentes périodes de prélèvements.	40
<u>Figure 5</u> : Evolution des anticorps anti- <i>Fasciola hepatica</i> dignostiqués par ELISA Pourquoiier.	41
<u>Figure 6</u> : Quantité de lait produit par vache et par jour	45
<u>Figure 7</u> : Evolution des taux protéiques (g/l).	46
<u>Figure 8</u> : Evolution des taux butyreux (g/l)	47
<u>Figure 9</u> : Histogramme de répartition des intervalles vêlage-vêlage	48
<u>Figure 10</u> : Nombre de vêlages mensuels.	50
<u>Figure 11</u> : Evolution de l'intervalle vêlage-vêlage dans le troupeau de bovins expérimental.	51

## Liste des tableaux

- Tableau 1 : Infestation par *Fasciola hepatica* et fécondité en élevage laitier  
25
- Tableau 2 : Efficacité du traitement sur la réduction du nombre de bovins positifs : «Extensity Effect ».  
42
- Tableau 3 : Efficacité du traitement sur la réduction du taux d'anticorps anti-*Fasciola hepatica* : «Intensity Effect ».  
43
- Tableau 4 : Présentation des résultats des coproscopies au début et à la fin de l'essai.  
43
- Tableau 5 : Intervalles Vêlage-Vêlage (I.V.V.) moyens, Intervalles Vêlage 1<sup>ère</sup> Insémination Artificielle (I.V. 1<sup>ère</sup> I.A.) moyens et nombre d'Inséminations Artificielles pour une Insémination Artificielle Fécondante (I.A./I.A.F.).  
44
- Tableau 6 : Moyenne des Intervalles Vêlages-1<sup>ère</sup> Insémination Artificielle (I.V.-1<sup>ère</sup> I.A.) et moyenne du nombre d'Inséminations Artificielles pour une Insémination Artificielle Fécondante (I.A./I.A.F.) avant et après début du traitement (élevage expérimental).  
49
- Tableau 7 : Présentation des surfaces sèches et humides de chaque exploitation.  
52



## INTRODUCTION

La fasciolose à *Fasciola hepatica* est une parasitose très répandue dans les élevages en France. Elle est une des causes de sous productivité en élevages ovins et bovins (Mage, 1988 et Hope-Cawdery, 1977).

Dans les zones d'élevage où les animaux sont amenés à pâturer des prairies naturelles, comme dans la région du Limousin, la fasciolose est un problème permanent qui oblige les éleveurs à traiter leurs animaux contre ce parasite mais aussi à faire en sorte que le milieu naturel soit moins favorable à son développement : ceci passe par la suppression des zones où réside l'hôte intermédiaire de *Fasciola hepatica* (i.e. la limnée tronquée, *Limnaea truncatula* Müller), zones humides que l'on s'efforce d'assécher en les drainant.

Ces méthodes de lutte ne sont pas toujours faciles à mettre en place pour des raisons techniques et/ou financières, concernant le drainage, ou pour des raisons de résidus de médicaments dans les productions, la production la plus sensible à ce problème étant sans doute la production laitière.

Dans ce type de production, le seul traitement réalisable en lactation sans période d'attente est un traitement avec la molécule d'oxyclozanide ; ce traitement est uniquement adulticide et peut s'avérer insuffisant. D'autres molécules peuvent être utilisées hors lactation.

L'idée d'utiliser une autre molécule – par exemple le closantel, adulticide et larvicide - , lors du tarissement pour compléter le traitement à l'oxyclozanide et d'en mesurer l'effet sur des troupeaux dont le diagnostic de fasciolose a été effectué et où des problèmes éventuellement dus à cette parasitose ont été détectés peut s'avérer intéressante. Le relevé de données technico-économiques de l'élevage peut permettre l'évaluation de l'effet de ce traitement supplémentaire. C'est ce que nous nous proposons de faire dans cette étude dont l'objectif était de valider une démarche de prévention thérapeutique de la fasciolose dans les élevages de vaches laitières.

# **PREMIERE PARTIE**

# 1. Etiologie de la fasciolose

## 1.1 Le parasite

*Fasciola hepatica* ou grande douve du foie est un vers plat appartenant à l'Embranchement des Plathelminthes, Classe des Trématodes, Famille des Fasciolidés.

Ce ver est foliacé, long de 2 à 3 cm et large de 1 à 1,5 cm. Il est de couleur marron clair.

Une ventouse buccale est présente sur la partie antérieure de ce parasite au niveau d'un rétrécissement formant le cône céphalique. Une ventouse ventrale musculieuse permet à la douve de se fixer. Le tégument est recouvert d'épines orientées vers l'arrière.

Le tube digestif de *Fasciola hepatica* est constitué de la ventouse buccale, point de départ de l'appareil digestif, suivi d'un pharynx musculieux puis d'un œsophage. Il se termine par un intestin ramifié en de nombreux diverticules aveugles : les caeca. Il n'y a pas d'anus.

Au stade adulte, la douve est hémaphrogame ; ses formes immatures sont histophages.

La grande douve est un ver hermaphrodite ; l'appareil génital mâle est constitué de 2 testicules suivi chacun d'un canal déférent ; l'appareil génital femelle est constitué d'un seul ovaire aboutissant à un atrium génital commun aux deux appareils génitaux.

## 1.2. Le cycle biologique.

Le cycle évolutif de la grande douve du foie est bien connu depuis les études de Leuckart (1883) et de Thomas (1883). Il est résumé à la figure 1.

Les œufs sont pondus par les formes adultes dans les canaux biliaires des hôtes définitifs. Ils ont une forme elliptique, une couleur jaunâtre, des dimensions approximatives de 130 à 150 µm sur 70 à 90 µm.

### 1.2.1. Développement de l'œuf de *Fasciola hepatica*

Les œufs sont éliminés par la bile et se retrouvent dans les fèces avant d'être rejetés avec eux dans le milieu extérieur.

Pour qu'ils puissent poursuivre leur développement, il faut :

- un délitage des matières fécales (pluie, piétinement des animaux...),
- une atmosphère suffisamment humide et aérée,
- une température comprise entre 10 et 30 ° C,
- de la lumière.

Après une incubation de trois semaines, le miracidium, larve mobile, est libéré de l'œuf. Pour poursuivre son évolution, cette larve de première génération doit rapidement pénétrer dans un mollusque spécifique : *Limnaea truncatula* ou limnée tronquée. La rencontre du mollusque est favorisée par :

- un phototropisme positif du miracidium, le poussant à aller vers les zones ensoleillées et à la surface de l'eau, lieu où vivent habituellement les limnées,
- un chimiotropisme exercé par les limnées elles-mêmes.

### 1.2.2. Evolution du miracidium dans l'hôte intermédiaire

Avant d'atteindre le stade cercaire, stade sortant de la limnée, le miracidium se transforme en sporocyste, puis le sporocyste en rédies, elles-mêmes évoluant en cercaires.

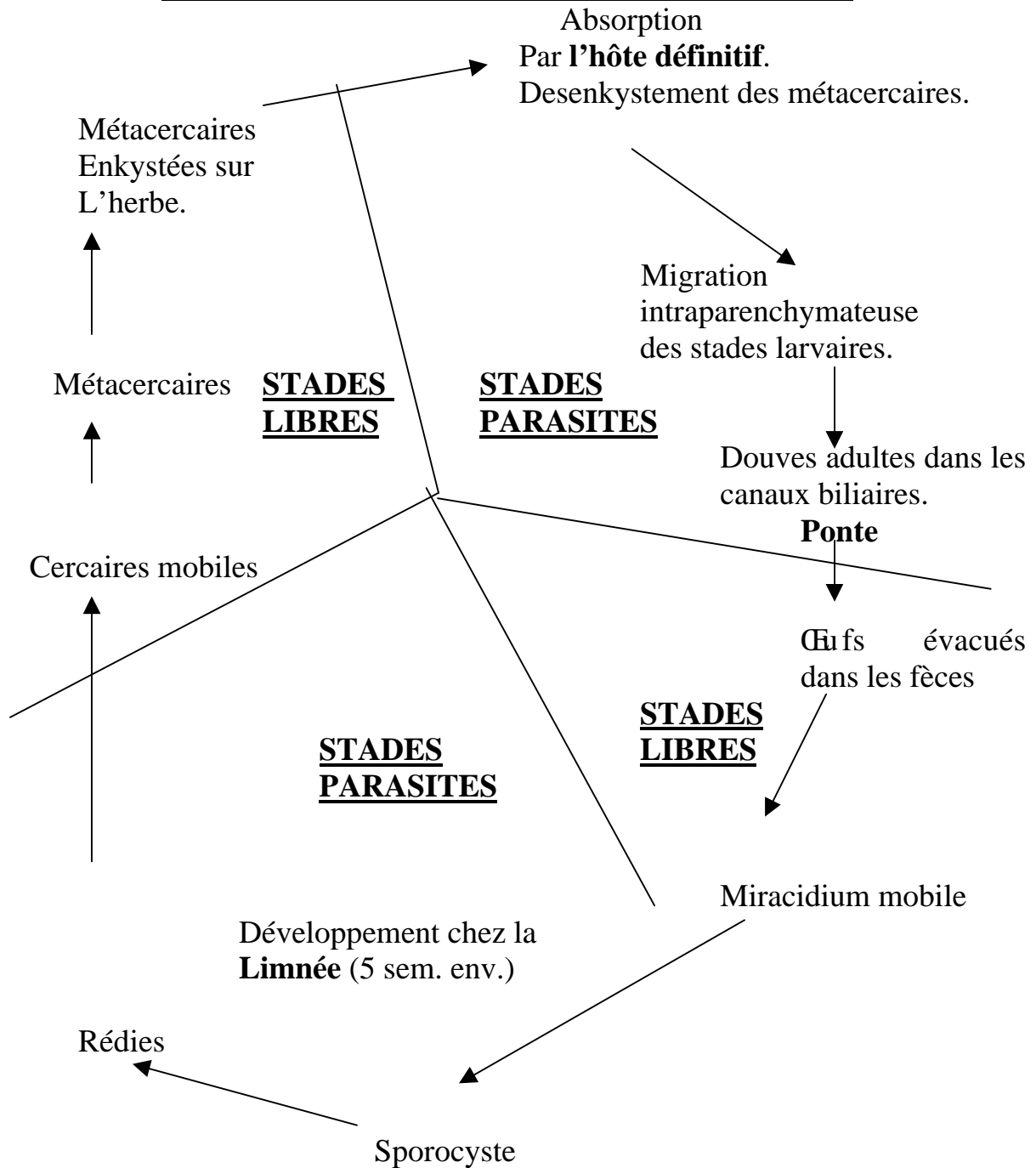
Les premières rédies apparaissent progressivement à partir du 14<sup>ème</sup> jour (à 20 °C) ; elles gagnent ensuite la glande digestive de la limnée. Chaque rédie forme de 16 à 20 cercaires pourvues d'une queue mobile. Elles seront rejetées ainsi dans le milieu extérieur.

### 1.2.3. Evolution des cercaires dans le milieu extérieur

A la température de 20°C, les cercaires sont expulsées de la limnée vers le milieu extérieur vers le 50<sup>ème</sup> jour du cycle. Après s'être légèrement dispersées, elles se fixent grâce à leur ventouse ventrale sur un support le plus près possible de la surface de l'eau, le plus souvent sur des végétaux aquatiques, source de contamination des animaux.

L'évolution de la cercaire sur son support s'effectue de la façon suivante : la queue se détache, le corps devient sphérique, une substance visqueuse l'entoure et forme, après solidification, un kyste protecteur très adhérent au support. On se trouve alors au stade métacercaire, élément infestant. Sa durée de vie varie suivant les conditions climatiques (notamment température, humidité) (Meek et Morris, 1979). L'enveloppe formée par la substance visqueuse constitue une protection pour la métacercaire contre le froid, la chaleur et, dans une moindre mesure, la sécheresse.

**Figure 1 : Cycle évolutif de *Fasciola hepatica*.**



La durée du développement et le nombre de cercaires subissent l'influence des conditions climatiques. La température joue un rôle important sur la durée du cycle, sur la vitalité et le pouvoir infestant des métacercaires. En effet, celles-ci sont sensibles aux températures élevées et leur pouvoir infestant est diminué (Boray et Enigk, 1964). Il en est de même pour des températures négatives ( $< -2^{\circ}\text{C}$ ). Ainsi, entre  $-2^{\circ}\text{C}$  et  $25-30^{\circ}\text{C}$ , le pouvoir infestant des métacercaires n'est pas affecté. On estime à 11 mois leur durée de survie entre  $-3^{\circ}\text{C}$  et  $+12^{\circ}\text{C}$  (Raynaud et Kerboeuf, 1981) ; un hiver doux est donc sans effet sur elles.

#### 1.2.4. De la métacercaire à l'adulte : évolution chez l'hôte définitif.

Celui-ci se contamine en ingérant les métacercaires enkystées aux extrémités des feuilles des végétaux.

Le cycle évolutif peut alors se poursuivre ; il est caractérisé par une migration des jeunes douves libérées de l'enveloppe kystique par le suc du tractus digestif du nouvel hôte. Les jeunes douves se déplacent en traversant la muqueuse digestive et pénètrent dans le foie à travers la capsule de Glisson. Après une migration dans le parenchyme hépatique, elles pénètrent puis se fixent dans les canaux biliaires et deviennent adultes. La ponte débute environ 12 semaines après l'infestation ; la période prépatente est donc de trois mois environ.

Les jeunes douves, histophages, se nourrissent des tissus qu'elles traversent durant leur migration ; les douves adultes se nourrissent dans les canaux biliaires du sang qui s'écoule lorsqu'elles lèsent la paroi de ces canaux avec leurs épines tégumentaires.

Dans les deux cas, l'action des douves entraîne une irritation des tissus et des traces de réaction inflammatoire peuvent s'observer sur des foies d'animaux très parasités sous la forme d'épaississement des canaux biliaires (fibrose).

### 1.3. Epidémiologie

#### 1.3.1. Biologie et écologie de *Limnaea truncatula* Müller, hôte intermédiaire de *Fasciola hepatica*.

*Limnaea truncatula* est un Mollusque Gastéropode Pulmoné mesurant 6 à 10 mm de hauteur et 3 à 5 mm de largeur, à l'état adulte. Elle vit préférentiellement sur des petites plages de boue, des endroits humides et pénètre dans l'eau pour se nourrir d'algues.

Géographiquement, la limnée tronquée se rencontre à peu près partout dans les pays tempérés, des zones de plaines aux régions plus montagneuses tant que ses exigences écologiques sont satisfaites concernant l'humidité, la lumière, la température et la nature du sol.

Ainsi, en France, seul le Midi est moins peuplé en limnées. (Germain, 1930-1931).

La durée de vie des limnées est de 6 à 12 mois ; elles survivent à des températures comprises entre 0 et 28° C ; elles sont actives entre 10 et 20°C. En conditions défavorables, les limnées entrent en état de dormance et peuvent survivre ainsi sur de longues périodes avant de reprendre une vie active lorsque les conditions redeviennent favorables. Toutefois, cet état de dormance semble abaisser leur potentiel de survie sur la période favorable qui suit.

### 1.3.1.1. Les cycles d'activités de la limnée tronquée

On observe des cycles d'activités journalier et saisonnier chez la limnée.

#### Les cycles journaliers

D'après Rondelaud et Vincent (1974), on observe, chez les limnées non parasitées par les cercaires de douves, des migrations vers les buttes le soir ou la nuit alors que durant la journée, ces limnées recherchent des milieux plus humides.

En revanche, les limnées parasitées séjournent beaucoup plus en zone humide et s'éloignent moins, la nuit, de ces zones.

#### Les cycles saisonniers

Certaines conditions du milieu extérieur peuvent faire passer les limnées d'une vie active à une vie ralentie.

Durant la belle saison, lors d'un assèchement, on observe cette vie ralentie avec une fixation des mollusques sur les végétaux.

Durant l'hiver, les limnées s'immergent dans la boue.

Par ailleurs, on observe une augmentation de l'immersion et de la mortalité lorsque la durée des jours diminue ainsi que lorsque l'intensité lumineuse et la température s'abaissent.

### 1.3.1.2. Les successions de générations de limnées

Plusieurs générations de limnées se succèdent au cours d'une année (figure 1bis). On observe deux modalités différentes dans la succession de ces générations définissant :

#### Le cycle à 2 générations

Les limnées ayant résisté à l'hiver pondent aux mois de mai – juin ; elles meurent au cours de l'été. De cette ponte est issue la 2<sup>ème</sup> génération qui apparaît en été, pond en septembre – octobre et meurt pour partie à l'entrée de l'hiver ; les survivantes assurant la pérennité de l'espèce l'année suivante.

#### Le cycle à 3 générations (en conditions climatiques favorables)

Les limnées transhivernantes pondent en avril - mai ; elles meurent au début de l'été. Les limnées qui en sont issues pondent en juillet – août et meurent en septembre (2<sup>ème</sup> génération). La 3<sup>ème</sup> génération pond en septembre – octobre et meurt, pour partie elle aussi, au début de l'hiver.

### Lien avec la biologie de *Fasciola hepatica* et son cycle :

Les limnées transhivernantes peuvent s'infester à l'automne ou au printemps avec des miracidiums issus d'oeufs ayant résisté à l'hiver.

Elles engendreront des infestations de printemps ou d'été précoce en libérant des cercaires (sur ces périodes). Leurs descendantes provoqueront des infestations d'été tardif.

Il est à noter que les limnées parasitées survivent moins bien que les limnées saines.

Ainsi 3 périodes à risque d'infestation des bovins se dégagent : au printemps , au début de l'été, puis à l'automne.

#### 1.3.1.3. Variation du milieu extérieur

Euzeby (1971) a étudié l'influence du milieu extérieur sur le cycle de *Fasciola hepatica* ainsi que sur celui de son hôte intermédiaire.

Les principaux facteurs semblent être l'hygrométrie et la température dont va dépendre l'étendue des habitats à limnées. On peut en distinguer 2 sortes : les habitats permanents et les habitats temporaires.

Les habitats permanents, lieux de vie et de reproduction des limnées, constituent un « réservoir » à partir duquel elles vont aller coloniser des habitats temporaires constitués par des lieux propices seulement une partie du temps à la vie des limnées (i.e. suffisamment humides). Les limnées se reproduisent dans ces habitats uniquement en période favorable humide.

Il est à noter que ce ne sont pas les limnées qui se déplacent activement d'un habitat à un autre mais qu'elles sont déplacées par des eaux de débordement ou de ruissellement.

#### 1.3.2. L'infestation des bovins

Elle se fait par l'ingestion des métacercaires, stades enkystés issus des cercaires, éliminées par les limnées et présentes sur les tiges des herbes consommées par les ruminants. Nous avons commencé à l'évoquer ci-dessus au chapitre « succession des générations de limnées » en parlant des 3 périodes à risque de contamination des bovins par *Fasciola hepatica*.

- infestation de printemps
- infestation de début d'été
- infestation de fin d'été – automne.

Ceci est évidemment à moduler en fonction des données climatiques du lieu considéré mais aussi de l'année (année sèche ou plus humide).



### L'infestation de printemps

C'est, dans l'année, le début de la présence des premières métacercaires infestantes provenant soit de la population de métacercaires ayant survécu à l'hiver, soit de cercaires issues de limnées parasitées transhivernantes ; les bovins, après une saison passée à l'étable ou au pré avec comme fourrage principal le foin ont un goût particulier pour l'herbe à cette saison. La quantité d'herbe produite par la forte poussée de la végétation à cette période de l'année limite le pâturage des zones à risque par les animaux et limite la probabilité de rencontre des métacercaires et des bovins et donc la contamination de ces derniers. Ceci est renforcé par le faible nombre d'éléments infestants présents ; on est à la période de reprise d'activité pour les limnées.

L'infestation de printemps n'est donc pas une infestation quantitativement importante.

### L'infestation de début d'été

A cette période, la pousse de la végétation est ralentie. L'herbe se fait plus rare ; les animaux vont avoir tendance à se rapprocher des zones qu'ils pouvaient avoir jusque là délaissées i.e. les zones humides et se rapprochent en même temps des zones d'habitat des limnées et donc d'une possible consommation de métacercaires. La pratique du surpâturage exacerbe ce risque.

D'après les études menées par Mage (1989), ce n'est cependant pas la période durant laquelle s'effectue la plus forte contamination.

### L'infestation de fin d'été – automne

Elle concerne les animaux jusqu'à la rentrée à l'étable ; sur cette période, l'herbe n'atteint pas son abondance du printemps et l'humidité redevient suffisamment favorable pour que les limnées infestées s'éloignent de leurs zones de vie permanente et libèrent à cette occasion des cercaires. Les bovins vont se rapprocher des zones humides qu'ils avaient jusque là plus ou moins délaissées, où l'herbe est plus abondante. Par ailleurs, le nombre de limnées s'est accru tout au long de la belle saison ; le nombre de limnées parasitées s'est accru en proportion. On se trouve donc avec une charge élevée en éléments infestants sur les végétaux. Tous ces facteurs contribuent à faire de cette période, la période majeure de contamination comme a pu le montrer Mage en 1989 dans son étude menée sur l'infestation naturelle des veaux sous la mère ; alors que moins de un animal sur deux (44 %) est infesté après la belle saison, tous les animaux (100 %) le sont à la rentrée en étable en novembre.

Cette période de fin d'été – automne constitue donc une période privilégiée pour l'infestation des bovins.

Toutes ces données sont à moduler en fonction de l'année considérée ; par exemple, un été sec pourra favoriser une contamination plus précoce des animaux.

## 2. Interaction hôte-parasite

### 2.1. Pathogénie

L'hôte définitif – par exemple un bovin – s'infeste en ingérant les métacercaires présentes sur les végétaux qu'il consomme. Rapidement transformées en jeunes douves ou adolescaria, elles migrent à travers les tissus pour finalement aller se loger dans le foie où elles se fixent dans les canaux biliaires, et, une fois adultes, elles pondent des œufs rejetés avec la bile dans le tube digestif puis dans le milieu extérieur.

#### 2.1.1. Migration des douves

Après s'être désenkystées dans l'estomac de leur hôte définitif, les jeunes douves migrent jusqu'à atteindre le foie dans lequel elles pénètrent en traversant la capsule de Glisson. Cette migration nécessite environ deux semaines. Elle a lieu très majoritairement par voie intra-péritonéale ; une migration circulatoire est citée, qui serait à l'origine de localisations erratiques des douves (Alzieu et Mage 1991).

Un arrêt de migration et une inhibition des adolescaria serait possible, d'après Moreau et al. (1997), dans la cavité abdominale et dans les nœuds lymphatiques mésentériques.

#### 2.1.2. Actions induites chez l'hôte définitif par la migration des jeunes douves.

La migration des larves jusqu'au foie n'engendrerait que peu de séquelles (Alzieu et Mage, 1991).

Il n'en est pas de même pour la migration intra-parenchymateuse hépatique ; les jeunes douves y sont reconnues comme des corps étrangers et induisent une réaction tissulaire et immunitaire (Doy et Hugues, 1984) .

Leur régime alimentaire histophage renforce cette réaction.

#### action mécanique des jeunes douves

Aidées d'une collagénase, elles détruisent le tissu hépatique, creusant de véritables galeries dans le foie.

### action antigénique

Une synthèse d'immunoglobuline (Ig) M et d'Ig G est induite par la migration des adolescaria (ou jeunes douves). Ceci perturbe la croissance de ces larves par un mécanisme de cytotoxicité dépendante d'anticorps.

### action inflammatoire

La destruction des cellules lors de la migration est à l'origine de cette action ainsi que les déchets du métabolisme des douves.

### induction d'abcès

De volumineux abcès hépatiques sont souvent décrits, associés à la présence de trajets de migrations de douves. Des germes anaérobies sont souvent à l'origine de ces abcès (type clostridies).

### 2.1.3. Actions induites chez l'hôte définitif par la présence des douves adultes dans les canaux biliaires.

Les adolescaria finissent leur migration dans les canaux biliaires ; elles s'y transforment en jeunes douves adultes ; l'obstruction des canalicules biliaires entraîne une augmentation des  $\gamma$ -glutamyl transférases (ou  $\gamma$ -GT) sériques (Rico et al., 1977).

Les douves adultes se nourrissent du sang qu'elles font s'écouler en lésant la paroi des canaux biliaires : on a donc une action mécanique lésionnelle, une action inflammatoire directement induite par la précédente ainsi qu'une action spoliatrice liée au sang consommé, estimé à 0.5 à 1 ml par jour et par douve ; c'est une spoliation faible mais bien réelle et régulière. Le danger pour l'hôte définitif vient de la lenteur du phénomène qui n'entraîne pas de phénomène compensateur dans l'organisme et aboutit à une sorte de « saignée » lente de l'animal.

## 2.2. Réponses immunitaires lors de la fasciolose à *F. hepatica*

Après l'ingestion des métacercaires, on constate que toutes les infestations n'évoluent pas de la même manière : il existe une variation individuelle d'expression de la fasciolose. Ceci est dû à une certaine mortalité des métacercaires dès leur ingestion, à une immunité acquise après une précédente infestation incluant une réponse immunitaire humorale et cellulaire.

Cependant, le parasite, de son côté, dispose de différents moyens pour échapper aux défenses de son hôte.

### 2.2.1. Variations de l'expression de la parasitose à *Fasciola hepatica*

Après ingestion, les métacercaires, même chez un individu primo-infesté, n'arrivent pas toutes au stade de douve adulte. Ainsi chez les bovins, le pourcentage de douves s'installant dans les canaux biliaires est d'environ 5 à 15 % des métacercaires ingérées constituant la dose infestante (Doyle, 1971, 1972) alors qu'il est de 20 à 30 % chez le mouton (Boyce et al., 1987).

De plus, la durée de vie des douves dans les canaux biliaires chez les bovins est relativement restreinte du fait d'un mécanisme tardif de défense entraînant l'élimination d'environ 80 % des douves installées dans les canaux 6 mois après l'infestation (Doyle, 1972).

Ainsi, la charge parasitaire est de 10 % environ de la dose infestante trois mois après l'infestation et peut encore diminuer à 2 % quatre mois plus tard.

Aussi, même avec des infestations répétées, les bovins peuvent très bien ne pas exprimer de signes cliniques de fasciolose au contraire des ovins où ce mécanisme tardif de défense est inexistant ; les douves peuvent s'accumuler dans le foie des ovins au fur et à mesure des infestations et déterminer une fasciolose clinique.

### 2.2.2. Les réponses immunitaires à l'infestation par *Fasciola hepatica*

Elles sont de trois ordres : immunité non spécifique ; immunité à médiation humorale, immunité à médiation cellulaire. Elles se traduisent chez les bovins par une résistance à la réinfestation, se manifestant par une diminution du pourcentage d'installation mais aussi par une plus faible taille moyenne des douves adultes (Haroun et Hillyer, 1986).

#### 2.2.2.1. l'immunité non spécifique

Chez les bovins, elle explique en partie la résistance à la réinfestation ; elle est constituée d'une part par le développement d'une fibrose périlobulaire post primo-infestation (elle gênerait la migration des douves immatures), d'autre part par la calcification des canaux biliaires gênant l'alimentation des douves adultes (Dow et al., 1967 ; Euzéby, 1971).

#### 2.2.2.2.1'immunité spécifique à médiation humorale et cellulaire.

L'immunité à médiation humorale a pour support antigénique les antigènes de surface, d'origine tégumentaire exclusivement, et les antigènes d'excrétion – sécrétion ou antigènes E–S. L'intérêt de ces données est d'ordre diagnostique : la recherche dans le sang des anticorps correspondants peut permettre en pratique de diagnostiquer une fasciolose ou de suivre l'évolution de la parasitose.

L'immunité à médiation cellulaire peut être générale – elle est dans ce cas transitoire et présente de la 2<sup>ème</sup> à la 5<sup>ème</sup> semaine post-infestation – ou locale en rapport avec les différents lieux de présence des douves évoluant dans l'organisme du bovin-hôte (Moreau et al., 1997). Localement, et d'une façon chronologique, les douves subissent une réponse immunitaire cellulaire dans la paroi intestinale ; d'après Wicky et al. (1991), chez le bovin, la paroi intestinale parasitée se retrouve infiltrée fortement par des mastocytes muqueux et par des granulocytes éosinophiles. Ces derniers joueraient un rôle, d'après ces mêmes auteurs, dans la lutte contre une réinfestation.

Dans la cavité péritonéale, les cellules intervenant contre les douves seraient majoritairement des granulocytes éosinophiles (Davies et Goose, 1991)

Dans le parenchyme hépatique, les cellules impliquées sont principalement des macrophages, des lymphocytes et des granulocytes, là aussi principalement éosinophiles.

#### 2.2.2.3.Echappement du parasite à la réaction immunitaire

Les mécanismes effecteurs de l'immunité anti-*Fasciola hepatica* ont été identifiés comme proches de ceux intervenant contre *Schistosoma mansoni* dans la schistosomose murine (d'après Moreau et al, 1997). Ils sont de deux ordres :

- L'activation des macrophages par l'interféron gamma provenant des lymphocytes T ; seule la réponse cellulaire intervient ici ; il y a production de NO, toxique pour le parasite, par le macrophage activé par l'interféron
- une cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante (ou A.D.C.C.).

C'est ce deuxième aspect qui semble le plus impliqué dans le phénomène d'échappement de la douve à la réaction immunitaire. Dans ce cas, les mécanismes décrits sur le modèle « schistosome » ont été, pour la plupart, retrouvés pour *Fasciola hepatica*. Il s'agit d'un renouvellement permanent des antigènes de surfaces, le clivage des immunoglobulines (Ig) par les produits

d'excrétion-sécrétion (contenant entre autres produits des protéases) des anticorps bloquants, i. e., pour *Fasciola hepatica*, des Ig M recouvrant le corps des douves en migration dans le parenchyme hépatique (ceci empêche les éosinophiles de se fixer sur les douves), une activation polyclonale des Ig ayant pour conséquence un épuisement du système immunitaire et un désordre dans la réponse immunitaire spécifique.

## 2.3. Symptômes et lésions de la fasciolose clinique et subclinique ; répercussions économiques

Les conséquences de l'infestation sont liées principalement aux conséquences de la migration des adoloscarias dans le parenchyme hépatique et à la présence des douves adultes dans les canaux biliaires. La migration intrapéritonéale ne s'exprime pas cliniquement.

### 2.3.1. L'anémie

Liée au régime hématophage des douves adultes, elle s'installe d'autant mieux que la quantité de sang prélevé est toujours faible du fait que l'on n'a pas, chez les bovins, une accumulation des douves comme on peut en avoir par exemple chez les ovins au fur et à mesure des infestations. (cf. ci-dessus).

Cette anémie est d'apparition progressive, peu régénérative et hypochrome ; on note aussi une hyposidérémie (Alzieu et Mage, 1991).

### 2.3.2. Evolution de la protéinémie

Avant l'apparition des douves adultes, c'est la réaction immunitaire qui prédomine. On observe une hypergammaglobulinémie.

Avec les douves adultes, la consommation de sang entraîne une fuite proportionnelle de protéines sanguines. S'y ajoute une fuite protéique avec l'inflammation de l'épithélium des canaux biliaires, une perturbation des synthèses protéiques par les hépatocytes et une augmentation du catabolisme de l'albumine (catabolisme de gâchis) ; ceci aboutit à une hypoalbuminémie ; les répercussions sur l'animal sont cependant peu importantes ; on n'a que rarement chez les bovins un œdème du tissu conjonctif sous cutané (contrairement aux ovins où l'œdème de l'auge s'observe souvent). En revanche, un douvicide se fixant sur l'albumine, voit son métabolisme modifié en cas d'hypoalbuminémie marquée ; ceci peut se ressentir sur l'efficacité de l'antiparasitaire.

### 2.3.3. Répercussions hépatiques

Les foies douvés saisis en abattoirs présentent classiquement un aspect hypertrophié (cirrhose) avec des trajets fibrosés. (Dawes, 1970). Ces lésions macroscopiques ont trois origines possibles :

#### La fibrose post-nécrotique

C'est la cicatrice laissée par les adoloscaria durant leur migration ; le tissu noble du foie est remplacé par du tissu fibreux.

Le bovin a une réaction fibreuse particulièrement développée ; cela peut constituer un obstacle à la migration lors d'infestations ultérieures.

#### La nécrose et la fibrose post-ischémique

Elles sont localisées dans les zones périphériques aux trajets des douves dans le parenchyme hépatique. L'ischémie est due à une invasion cellulaire des vaisseaux ainsi qu'à des localisations accidentelles de douves dans les vaisseaux.

#### La fibrose péricanaliculaire

Elle correspond à la cholangite ou épaissement des canaux biliaires sans cesse agressés par les douves pour leur alimentation. Cette calcification est très marquée chez les bovins et peut même atteindre le tissu noble voisin.

Ceci a pour conséquence de rendre difficile l'alimentation de la douve ; elle est amenée à se déplacer ou à mourir ; ce processus est réversible une fois la douve éliminée mais prend plusieurs mois.

Les répercussions sur le foie de la présence de douves sont donc principalement une fibrose de l'organe ; ceci entraîne une gêne à la circulation sanguine dans les micro-vaisseaux ; on observe une hypertension artérielle ainsi que la genèse d'anévrismes.

### 2.3.4. Conséquences zootechniques de la fasciolose

Les effets de la douve se comprennent en envisageant les dommages engendrés sur le foie et les fonctions occupées dans l'organisme par celui-ci. En effet, d'après Doy et Hughes (1984), on constate que c'est la dégradation du tissu hépatique pendant les 8 à 10 semaines de migration et la présence des douves dans les canaux biliaires qui pose problème et engendre des baisses de production.



#### 2.3.4.1. La fasciolose chez les bovins à viande

Le foie intervient dans les processus d'élimination des déchets de l'organisme : une perturbation de cette fonction ne peut que nuire au bon état et à la production de l'animal atteint.

Il intervient dans la digestion par la sécrétion de la bile : une baisse de production (par diminution du nombre des hépatocytes et obstruction des canaux biliaires) engendre une mauvaise digestion entraînant une baisse de l'assimilation digestive. (Dorchies et al., 1981).

Le foie est aussi le carrefour des métabolismes glucidiques, lipidiques et protéiques. Son atteinte affecte directement les productions et notamment la croissance des animaux atteints. Hope-Cawdery et al. (1977) ont montré que des animaux infestés peuvent avoir une réduction du gain de poids de 8 % après une infestation expérimentale de 600 métacercaires aboutissant à 54 douves adultes environ dans le foie.

De plus, à l'abattoir, une dépréciation de l'animal peut survenir avec une saisie du foie pour distomatose.

#### 2.3.4.2. La fasciolose chez les bovins laitiers

Tous les effets délétères envisagés précédemment sur les bovins à viande peuvent être repris pour les bovins laitiers parasités par *Fasciola hepatica* ; s'y ajoutent une qualité de lait inférieure et des problèmes de reproduction perçus avec une plus grande acuité que dans les structures allaitantes.

Le foie intervenant dans la synthèse des protéines et des lipides, on peut s'attendre à une baisse des taux protéiques et butyreux (matières grasses) chez des animaux ayant un foie douvé. Une étude menée par Mage et Legarto (1986) montre qu'une faible infestation par la douve ne semble pas avoir d'effet significatif sur la production de lait des vaches laitières. L'hypothèse d'une plus forte infestation nécessaire pour cela est émise par les auteurs de cet essai. En 1970, Ross évoquait l'effet de l'infestation par la douve sur la qualité et la quantité du lait produit. Selon cet auteur, des vaches infestées produiraient 8% de lait en moins que des vaches non infestées.

Bien que régie par des facteurs très divers, la reproduction et plus précisément la fécondité des vaches laitières parasitées par *Fasciola hepatica* est affectée comme l'ont montré Mage et al. (1989) dans une étude de ce paramètre après un traitement des animaux puis des parcelles contre *Fasciola hepatica* ou son hôte intermédiaire (tableau 1).

Alors qu'initialement le taux de réussite en première insémination n'était que de 38%, après une année de traitement douvicide, ce taux est considérablement

amélioré. Il l'est encore un peu plus après assainissement des pâtures. Parallèlement, le pourcentage de vaches à 3 inséminations décroît de 48% à 11% une fois tous les traitements en place. Par ailleurs, on obtient une annulation du nombre de métrites dès la mise en place du traitement douvicide.

	Taux de réussite à la 1 <sup>ère</sup> insémination	% de vaches à 3 inséminations	Nombre de métrites
initialement	38 %	48%	>15%
Après traitement douvicide dans l'année	61%	18%	0
Après assainissement des pâtures	78%	11%	0

Tableau 1 : Infestation par *Fasciola hepatica* et fécondité en élevage laitier  
D'après Mage et al., 1989.

## 3. Lutte contre le parasite

### 3.1. Les différentes méthodes de diagnostic

Le diagnostic de la fasciolose bovine peut dans quelques rares cas être un diagnostic clinique ; le plus souvent, on a une fasciolose sub-clinique.

- A l'abattoir, des lésions de cholangite chronique doivent faire penser à une infestation du troupeau (d'après Chauvin et Boulard, 1992). C'est un diagnostic tardif de l'infestation.
- La coproscopie : l'analyse de fécès a pour but d'y rechercher les œufs des parasites. Dans le cas de la grande douve du foie, elle est possible à partir de la douzième semaine post-infestation (durée de la période prépatente). La méthode préconisée par Raynaud (1970) est la plus couramment utilisée. Elle consiste en la mise en suspension des œufs de douve après dissolution de quelques grammes de fécès dans un liquide de flottaison (de l'iodo-mercurate en l'occurrence). La lecture s'effectue ensuite selon deux modalités : sur une lame de Mac-Master et par lecture directe (cf. infra). C'est une méthode très spécifique mais peu sensible du fait d'une ponte limitée des douves adultes.
- Le diagnostic immunologique : plusieurs techniques ont été décrites : l'intra-dermo-réaction, le dosage des anticorps spécifiques dans le sang par fixation du complément, immunofluorescence indirecte, hémagglutination passive (H.A.P.), ELISA (Chauvin, 2000). La recherche des anticorps est aussi possible dans le lait par la méthode ELISA (Pourquier et al., 1995). Ces méthodes sont spécifiques et sensibles. Elles permettent de diagnostiquer l'infestation 2 à 6 semaines après qu'elle ait eut lieu. Le taux d'anticorps augmente jusqu'à 6 à 12 semaines post-infestation puis décroît légèrement. Il peut être détectable deux à six mois sur un animal traité et en l'absence de toute réinfestation. Le taux d'anticorps n'a pas de valeur pour apprécier l'intensité parasitaire.
- Les antigènes : ils peuvent être retrouvés dans le sang des individus parasités (antigénémie). Les antigènes que l'on peut rechercher sont les antigènes bruts somatiques, les antigènes d'excrétion-sécrétion (ou antigènes E.- S.) bruts ou purifiés ou bien l'antigène f<sub>2</sub>. C'est une méthode de diagnostic très précoce puisque les antigènes peuvent être détectables dès le sixième jour post-infestation (Leclipteux et al., 1998) selon la méthode employée. L'antigénémie est indépendante des infestations précédentes (contrairement aux méthodes de diagnostic immunologique). Les antigènes sont présents

dans le sang une dizaine de semaines post-infestation (et après une seule infestation) ( contre 2 à 6 mois pour les anticorps).

Les antigènes E-S sont aussi détectables dans les fèces mais seulement 4 semaines post-infestation (Duménigo et al., 1999 ; Almazan et al., 2001)

- Les marqueurs de l'activité hépatique sanguins que sont les enzymes peuvent servir de marqueur de l'infestation du foie par la douve : la  $\gamma$ -Glutamyl Transferase ou  $\gamma$ GT est quelquefois utilisée mais semble avoir peu de liens avec le niveau d'infestation ; en revanche, avec la Glutamate Deshydrogénase (ou GLDH) et l'Aspartate Amino-Transferase (ou ASAT), on aurait une bonne corrélation entre leur niveau de concentration sanguine et le nombre de douves immatures présentes dans le foie (d'après Leclipteux et al., 1998 et Ferre et al., 1997). Avec la sorbitol deshydrogénase, la GLDH est le signe d'une destruction du parenchyme due à une digestion enzymatique par le parasite.
- D'autres techniques existent comme celle utilisant la recherche des anticorps dans la bile citée par Ferre et al., (1997).

## 3.2. Les molécules utilisées dans la lutte contre la fasciolose

Il existe un certain nombre de substances fasciolicides à mode d'action et à cible (douve adultes ou immatures) différents. Nous passerons en revue les modes d'action et les cibles des principes actifs disponibles pour traiter les animaux contre une infestation à *Fasciola hepatica* puis nous verrons le mode d'action des salicylanilides, famille à laquelle appartient le closantel et l'oxyclozanide (Fairwaether et Boray, 1999).

### 3.2.1. Les familles de fasciolicides et leur mode d'action

Hormis les salicylanilides, il existe la famille des phénols halogénés (bithionol – nitroxinil), les benzimidazoles (albendazole – triclabendazole) et les sulfonamides (le clorsulon).

Les phénols halogénés ont une bonne action adulticide. Ils ont en général une action médiocre sur les formes jeunes. Seul le nitroxinil agit bien sur les immatures de 6 semaines.

Ils induisent une paralysie spastique, un découplage de la phosphorylation oxydative et ont aussi une action sur les organes reproducteurs, surtout l'appareil reproducteur mâle.

Les douves adultes dans les canaux biliaires sont entraînées par le flux de bile et subissent une digestion avant d'être évacuées avec les matières fécales.

Les benzimidazoles ; l'albendazole a une action sur les formes adultes à condition d'être utilisé à des doses élevées.

Le triclabendazole est actif contre les jeunes douves et les douves adultes.

Les benzimidazoles agissent comme inhibiteur de la polymérisation des tubulines, protéines intracellulaires, indispensables à la réalisation des mitoses.

L'oxyclozanide appartient à cette famille de molécules.

La famille des sulfonamides dont le seul représentant est le clorsulon, agissent par inhibition de la glycolyse, privant les douves de l'énergie nécessaire à leur métabolisme.

Les salicylanilides : ces molécules agissent sur les adultes et les douves immatures âgées de plus de 6 à 8 semaines. Elles agissent sur le métabolisme énergétique en découplant la phosphorylation oxydative sauf le closantel qui agit sur la glycolyse. Elles entraînent une paralysie spastique rapide des douves par augmentation de la concentration en ion calcium dans les cellules musculaires ; c'est l'effet le plus significatif car il est rapide : effet « Knock Down ».

### 3.2.2. Résistance de *Fasciola hepatica* aux substances fasciolicides

Contrairement à d'autres vers parasites, la résistance de *Fasciola hepatica* aux substances fasciolicides ne posait pas encore réellement de problèmes. Mais des résistances ont été repérées sur le terrain et en laboratoire après un usage répété sur de longues périodes des salicylanilides (notamment le closantel). (Boray et De Bono, 1989 et Boray, 1997).

En Australie, une résistance croisée avec le nitroxinil a été repérée (Boray, 1997). La prévention de l'apparition des résistances peut être envisagée :

- \* en limitant le nombre de traitements aux périodes clés durant l'année (d'où l'importance d'une bonne connaissance de l'épidémiologie de la parasitose)
- \* en respectant les doses préconisées
- \* en changeant régulièrement de famille de produits.

La meilleure méthode de prévention de l'apparition des résistances semble être la combinaison de matières actives. Elle permet en plus de diminuer les

posologies de chaque produit et éventuellement élargit le spectre d'activité du traitement (Boray, 1993 et 1997).

### 3.2.3. Méthode d'évaluation de l'efficacité des fasciolicides

Deux indices peuvent être calculés pour évaluer l'efficacité d'un antiparasitaire. (Alzieu et Mage, 1991) :

- l'intensity effect (I. E.) calculé d'après le nombre de parasites présents chez l'animal avant et après le traitement antiparasitaire ;
- l'extensity effect (E. E.) calculé d'après le nombre d'animaux parasités du troupeau avant et après le traitement antiparasitaire.

L'intensity effect est une donnée pour chaque animal ; l'extensity effect est une donnée concernant le troupeau.

Le calcul de ces indices peut se faire après autopsie des animaux ou bien par évaluation de la charge parasitaire après examen coproscopique ; dans le cas de la douve, du fait de la grande irrégularité de la ponte, cette dernière méthode paraît peu satisfaisante.

## **DEUXIEME PARTIE**

# **1. Justificatif ; question posée**

L'assainissement des endroits humides a pour conséquence de supprimer l'infestation des bovins par *Fasciola hepatica*. Cette pratique n'est pas toujours réalisable dans tous les élevages et cela oblige à avoir recours aux interventions thérapeutiques pour interrompre l'infestation des animaux. Les produits utilisables en troupeau laitier ne doivent pas présenter de résidus dans le lait, ce qui amène à utiliser la molécule d'oxyclozanide. Ce douvicide principalement adulticide ne permet pas un contrôle total de l'infestation. Par contre, les traitements pratiqués avec des douvicides adulticides et larvicides amènent l'élimination des parasites et des anticorps anti-*Fasciola hepatica* en 60 à 100 jours. Pour obtenir ces résultats en troupeau laitier, les traitements sont intégrés aux données épidémiologiques de la fasciolose et au stade physiologique de la vache pour assurer l'absence des résidus dans le lait. Le but de cette étude est de valider une démarche de prévention thérapeutique de l'infestation par la grande douve du foie dans les élevages de vaches laitières en associant un traitement à l'oxyclozanide en lactation à un traitement au closantel au tarissement.

## **2. Matériel et méthodes**

### **2.1. Elevages expérimentaux**

Les élevages expérimentaux sont deux troupeaux de 40 vaches laitières environ, infestés par *Fasciola hepatica*. La présence de douve a été diagnostiquée par examen sérologique avec la technique ELISA Pourquier. Chaque troupeau de vaches est conduit au pâturage d'avril à octobre sur des prairies temporaires et permanentes. Les vaches tarées sont retirées du lot de vaches en production de lait et maintenues au pâturage sur des prairies permanentes. Aucun autre traitement antiparasitaire n'est réalisé sur les animaux avec des molécules ayant une activité sur *Fasciola hepatica*, excepté ceux prévus dans le protocole.

### **2.2. Allotement – Traitement**

L'allotement est réalisé par tirage au sort :

- un élevage est conservé comme référence - les vaches du troupeau sont traitées à l'entrée en stabulation avec l'oxyclozanide à la posologie de 10 mg/kg.



➤ un élevage expérimental - un premier traitement est effectué sur les vaches au tarissement avec du closantel par injection sous cutanée à la posologie de 2,5 mg/kg, et un second traitement, à l'entrée en stabulation, avec de l'oxyclozanide par voie orale à la posologie de 10 mg/kg.

### 2.3. Conduite d'élevage

Aucune modification particulière n'est faite dans la conduite de pâturage des vaches par rapport à la conduite habituelle tout au long de l'étude. Les points d'abreuvement restent les mêmes.

### 2.4. Contrôles

Les différents contrôles effectués et le moment de leur réalisation sont les suivants (figure 2):

Des examens sérologiques selon la technique d'hémagglutination passive (H.A.P.), aux dilutions de 1/40, 1/80, 1/160, 1/320 et 1/640, sont réalisés au laboratoire vétérinaire départemental de la Corrèze .

Les examens sont réalisés à partir de prises de sang pratiquées :

- ◆ à la mise à l'herbe au printemps 1998,
- ◆ au tarissement des vaches, en même temps que le traitement au closantel, pendant le pâturage 1998,
- ◆ avant le vêlage de la majorité des vaches (à l'entrée en stabulation) à l'automne 1998,
- ◆ à la mise à l'herbe au printemps 1999.

De plus, dans l'élevage expérimental, un examen sérologique est réalisé en novembre 1999.

Un diagnostic immunologique sur le lait de tank est pratiqué par la recherche des anticorps de *Fasciola hepatica* par la technique ELISA Pourquier. Le lait de tank est prélevé à l'occasion des divers passages dans les élevages (prélèvements de sang sur les vaches tarées) pendant la période de pâturage. Au printemps suivant, en mars 1999, un échantillon du lait de tank est prélevé dans chacun des deux élevages.

Les analyses sont effectuées par l'Institut POURQUIER à Montpellier.

Un examen coproscopique (méthode de Raynaud, 1970) est effectué sur tous les bovins de chaque élevage à la mise à l'herbe en 1998 et en 1999 (Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - Parasitologie).

## 2.5. Analyses

### 2.5.1. Recherche des anticorps

#### 2.5.1.1. La méthode de recherche d'anticorps dans le sérum par hémagglutination passive ou H.A.P.

La technique d'analyse est celle mise au point et décrite par Levieux et al. (1992).

Les sérums de bovins à doser sont pré-dilués au 1/20<sup>ème</sup> avec le tampon Mayer – HSA (obtenu en ajoutant de l'H.S.A. (Human Serum Albumine) à 1 g/l et de l'azide de sodium à 1 g/l au tampon de Mayer (lui même composé de 5 mmol de sodium barbital, 150 mmol de NaCl, 0,5 mmol de MgCl<sub>2</sub> et 0,15 mmol de CaCl<sub>2</sub>, - le pH est de 7,3).

Le titrage s'effectue dans les plaques en polystyrène creusées de puits en V avec un appareil à micro-titrage. 25 µl d'une solution contenant des globules rouges de moutons ( $1,2 \cdot 10^8$  cellule / ml) recouverts par l'antigène spécifique f<sub>2</sub> sont ajoutés dans les puits.

Chaque échantillon de sérum est porté à la dilution de 1/20 avec une solution contenant des érythrocytes sans antigène pour détecter d'éventuels anticorps hétérologues (i.e. anti-globules rouges de mouton).

Un témoin positif constitué par de l'antisérum anti-f<sub>2</sub> est testé sur chaque plaque.

Après agitation, la plaque à microtitrer est laissée à reposer pendant une heure à température ambiante.

La lecture du résultat se fait par estimation à l'œil du degré d'hémagglutination :

– : 0 % ; + : 25 % ; ++ : 50 % ; +++ : 75 % ; ++++ : 100 % d'hémagglutination.

Le titre du sérum est défini par la valeur de la plus haute dilution montrant une hémagglutination à laquelle on ajoute le produit de cette valeur par le pourcentage estimé d'hémagglutination à cette dilution.

Ainsi, si l'on a, au 1/120, une hémagglutination estimée à 75 %, le titre sera :  $120 + 120 \times 75 \% = 210$ .

Ce mode de calcul du titre permet une quantification plus précise que la méthode usuelle d'enregistrement de la plus grande dilution donnant une hémagglutination complète.

Dans le cas où l'on a une réaction positive avec cellules témoins, les anticorps hétérologues sont absorbés par incubation pendant 30 minutes à 37° du sérum dilué avec des globules rouges de mouton traités avec une solution de glutaraldéhyde à 25 %.

Il s'agit là d'une méthode d'analyse quantitative, bien que fondée sur une évaluation subjective d'un niveau de réaction.

Les valeurs que nous prendrons en compte dans cette étude seront les moyennes géométriques des résultats des sérologies.

#### 2.5.1.2. Méthode ELISA de recherche d'anticorps dans le lait (ELISA Pourquier) :

Cette méthode est fondée sur la recherche d'anticorps dirigés contre l'antigène f<sub>2</sub> spécifique de la douve (d'après document Institut Pourquier).

C'est une technique utilisable sur le lait de mélange, c'est là qu'elle est la plus performante d'après l'Institut POURQUIER, producteur du kit ; cette technique est aussi utilisable sur le lait individuel.

#### Description de la technique

Elle utilise des micro-plaques en polystyrène percées de puits.

L'antigène f<sub>2</sub> est fixé sur les parois des puits par l'intermédiaire d'un anticorps monoclonal anti-f<sub>2</sub>.

Les puits ou cupules de rang impair sont sensibilisés avec l'anticorps monoclonal seul.

Les cupules de rang pair portent l'antigène f<sub>2</sub> fixé par l'anticorps monoclonal.

Le lait à tester est dilué et mis à incuber dans les puits ; s'il contient des anticorps anti-f<sub>2</sub>, il se forme des complexes antigène-anticorps bovin fixés sur la paroi.

Après le rinçage des cupules, une immunoglobuline anti-anticorps bovin couplée à l'enzyme est mise à incuber ; le conjugué immunoglobuline-enzyme se fixe sur le complexe immunologique.

Après un nouveau rinçage, le substrat de l'enzyme est déposé dans les puits ; en présence de l'enzyme, ce substrat se transforme en un composé coloré bleu devenant jaune après blocage de la réaction.

L'intensité de la coloration est proportionnelle au taux d'anticorps présents dans le lait testé.

Cette méthode donne des résultats semi-quantitatifs par classe : 0 à + ; ++ et +++ , fonction de la densité optique.

Le seuil de détection est élevé et se situe à 150 UI, et ceci d'autant plus que l'on se trouve sur un lait de mélange : ainsi, sur un élevage à faible infestation, celle-ci ne sera pas détectée.

### 2.5.2. Les coproscopies

La recherche des œufs de douves dans les matières fécales a été effectuée selon la technique de Raynaud (1970), alliant un examen de l'échantillon (mêlé à un liquide de flottaison) sur lame de Mac Master et un examen direct sur lame .

#### Description de la technique (Raynaud 1970)

3 g de fèces\* sont pesés et mélangés à 42 ml d'iodo-mercurate\*\*. Le tout est homogénéisé puis filtré pour éliminer un maximum de fibres pouvant gêner la lecture. La suspension est prélevée à l'aide d'une pipette, tout en continuant à agiter . Les 2 cellules de la lame de Mac-Master sont remplies, ce qui équivaut à un volume total de 1 ml.

#### Lecture de la lame de Mac Master :

Le décompte des œufs, sous le microscope, s'effectue comme suit :

- nombre total d'œufs comptés dans le maillage des cellules multiplié par 50 pour avoir la valeur du nombre d'œufs par gramme de fèces (ou o.p.g.) (comptage sur les 0.3 ml de liquide contenus dans le maillage).

Si aucun œuf n'est observé , on regarde les cellules dans leur ensemble ;

- nombre total d'œufs comptés dans les cellules multiplié par 15 pour avoir la valeur du nombre d' o.p.g. (comptage sur 1 ml)

Ce type d'analyse est quantitative ; la limite de sensibilité est de 15 o.p.g..

\* La technique décrite par Raynaud préconise de prendre 5 g de fèces à mélanger avec 70 ml d'iodo-mercurate (rapport poids/volume de 14). Le rapport poids volume de 14 est bien le même ici avec 3 g pour 42 ml.

\*\*Le liquide de flottaison choisi est l'iodo-mercurate, comme le préconise Raynaud, du fait de sa densité élevée adéquate pour la mise en évidence des œufs de grande douve.

### Lecture directe sur flottaison totale des 3 g de l'échantillon.

Le reste de la suspension est placé dans un tube à essai tel qu'il soit rempli à ras bord ; une lamelle de microscope est déposée sur le ménisque formé par le liquide sur le haut du tube à essai.

On observe au microscope après avoir laissé la lamelle en place sur le tube pendant 10 minutes minimum. Le résultat obtenu est seulement qualitatif – si un ou plusieurs œufs sont trouvés, on considérera en final un o.p.g. de 7 quoi qu'il en soit.

Cette technique permet de voir les œufs même s'ils sont en faible nombre et, a priori, de pouvoir faire un inventaire de toutes les espèces de parasites détectables par cette méthode. Son seuil de sensibilité est de 7 o.p.g..

## 2.6. Enregistrements des paramètres agronomiques et zootechniques.

Avec les documents du contrôle laitier auquel adhèrent les deux élevages et les documents propres aux éleveurs, les données concernant la reproduction (nombre d' I. A. (Insémination Artificielle) / vache, intervalles vêlage – vêlage (I.V.V.), intervalle vêlage – 1<sup>ère</sup> I. A.(I.V.1<sup>ère</sup> I.A.) sont prises en compte de même que des données concernant la qualité du lait (taux protéique (T.P.) – taux butyreux ( T.B.)) et les quantités de lait produit.

Les parcelles des exploitations ont été visitées dans le but de relever les zones humides pouvant héberger des limnées ; leur surface a été estimée de même que la surface totale de chaque exploitation.

## 2.7. Evaluation de l'efficacité des traitements.

La prévalence de la parasitose et l'intensité parasitaire (estimées par la sérologie) servent à évaluer l'efficacité des traitements.

Les deux indices Intensity Effect (I.E.) et Extensity Effect (E.E.) sont aussi utilisés.

L'Intensity Effect traduit la réduction du degré d'infestation des animaux : il se calcule ainsi :

$$I.E. = 1 - \frac{\text{Moyenne du taux d'anticorps après traitement}}{\text{Moyenne du taux d'anticorps avant traitement}}$$

L'Extensity Effect traduit la réduction du taux d'infestation du troupeau : il se calcule de la manière suivante :

$$E.E. = 1 - \frac{\text{Nombre d'animaux parasités après traitement}}{\text{Nombre d'animaux parasités avant traitement}}$$

## **3. Résultats**

### **3.1. Diagnostic immunologique de *Fasciola hepatica*.**

#### **3.1.1. Examen par hémaagglutination passive (H.A.P.).**

A la mise à l'herbe au printemps 1998 (J<sub>0</sub>), 97 % des bovins sont positifs à l'infestation de *Fasciola hepatica* dans l'élevage témoin et 31 % dans l'élevage expérimental. Les taux d'anticorps anti-*Fasciola hepatica* sont respectivement dans l'élevage témoin et l'élevage expérimental de 741 unités et 5,8 unités. Le diagnostic sérologique effectué pendant le pâturage, au tarissement des vaches, dans l'élevage témoin, indique une positivité de tous les examens. Les valeurs de taux d'anticorps se situent entre 937 et 1250 unités. Dans l'élevage expérimental, on note 6 vaches positives sur 22 animaux contrôlés au tarissement avec des taux d'anticorps variant de 60 à 751 unités.

En fin de pâturage à l'automne 1998, 97 % des vaches de l'élevage témoin sont positives et 12,5 % dans l'élevage expérimental avec respectivement des taux d'anticorps compris entre 200 et 1250 unités et entre 781 et 1250 unités.

Au printemps 1999, 97% des bovins prélevés sont positifs dans l'élevage témoin contre 9% dans l'élevage expérimental (tableau 2 et figures 3 et 4).

Lors du prélèvement supplémentaire réalisé dans l'élevage expérimental à l'automne 1999, le pourcentage de bovins positifs est de 44 % des animaux prélevés. Le taux d'anticorps varie entre 781 et 1250 unités.

Ainsi, le pourcentage d'animaux séropositifs reste constant et voisin de 100 % dans l'élevage témoin. Dans l'élevage expérimental, ce pourcentage diminue (de 30 % à 9 %) avant de remonter à l'automne 1999 à 44 %.

#### **3.1.2. Examen avec le test ELI SA Pourquoier**

Le taux d'anticorps relevé dans l'élevage témoin est, dès la première analyse, plus élevé que dans l'élevage expérimental (figure 5). Il le reste tout au long de la période de réalisation des analyses i.e. d'avril 1998 à novembre 1998, soit durant 8 mois.

Dans l'élevage témoin, le taux d'anticorps anti-*Fasciola hepatica* dans le lait augmente de mi-avril à mi-juin, diminue jusqu'à son niveau d'avril à la mi-juillet et reste à ce niveau un mois environ. Il augmente ensuite durant un mois pour atteindre son maximum mi-septembre, niveau identique à celui du mois de juin, puis il décroît jusqu'à fin octobre où il atteint un plateau qu'il maintient jusqu'à fin novembre.

Dans l'élevage expérimental, le taux d'anticorps n'est détectable qu'à partir de l'analyse pratiquée le 16 juin. Il augmente lentement tout au long de l'été, atteint un maximum début septembre puis décroît jusqu'à ne plus être détectable fin octobre.

On peut remarquer que les anticorps dans le lait n'ont pas une même évolution dans l'élevage expérimental que dans l'élevage témoin. Les taux d'anticorps de l'élevage expérimental n'atteignent pas le taux minimum observé dans l'élevage témoin.

Lors du contrôle effectué en mars 1999 dans les deux élevages, le témoin n'est que peu positif, l'élevage expérimental est encore négatif. Au contrôle de novembre 1999, l'élevage expérimental redevient légèrement positif.

### 3.2. Efficacité des modalités du traitement douvicide.

L'analyse des données montre que la pratique d'un traitement douvicide réalisé à la rentrée à l'étable ( élevage témoin ; traitement à l'oxyclozanide) a peu diminué le degré d'infestation des bovins. On note une réduction de 11,7 % du nombre de bovins positifs (Extensity Effect). Le taux d'anticorps anti-*Fasciola hepatica* est maintenu à un même niveau.

Le traitement douvicide effectué dans l'élevage expérimental ( closantel au tarissement et oxyclozanide à l'entrée en stabulation) a entraîné une forte réduction du nombre de bovins positifs (tableau 2). L'efficacité des deux traitements est de 84,6 % (Extensity Effect) et de 64 % sur la réduction du taux d'anticorps (Intensity Effect) (tableaux 2 et 3).

	Pourcentages		
	Nbre de vaches positives à <i>F. hepatica</i> avant traitement	Nbre de vaches positives à <i>F. hepatica</i> après traitement	Efficacité du programme de traitement
Elevage témoin	<b>97</b> 34 positifs sur 35 prélevés	<b>97</b> 30 positifs sur 31 prélevés*	<b>11,7%</b> (1 – 30/34)
Elevage expérimental	<b>31</b> 13 positifs sur 41 prélevés	<b>9</b> 2 positifs sur 22 prélevés*	<b>84,6%</b> (1 – 2/13)

Tableau 2 : Efficacité du traitement sur la réduction du nombre de bovins positifs :  
« Extensity Effect »

\*Les animaux prélevés sont tous ceux qui sont encore présents parmi ceux prélevés avant le début de l'essai.

	Taux d'anticorps (moyenne géométrique)		
	Avant traitement	Après traitement	Efficacité du programme de traitement
Elevage témoin	<b>741</b>	<b>767</b>	<b>0%</b> (1 - 741 / 767)
Elevage expérimental	<b>5</b>	<b>1,8</b>	<b>64%</b> (1 - 1,8 / 5)

Tableau 3 : Efficacité du traitement sur la réduction du taux d'anticorps anti-*F. hepatica*: « Intensity Effect »

Dans l'élevage expérimental, le niveau d'infestation est faible. Le pourcentage de réduction de l'intensité parasitaire est moins significatif que celui obtenu dans l'élevage témoin où le niveau d'infestation est plus élevé.

### 3.3. Diagnostic coproscopique de *Fasciola hepatica*

<u>Période</u>	<u>Nombre de bovins positifs</u>	
	<u>Printemps 98</u>	Printemps 99
<b>Lot témoin</b>	2 (35 animaux examinés)	4 (31 animaux examinés)
<b>Lot expérimental</b>	1 (41 animaux examinés)	4 (22 animaux examinés)

Tableau 4 : Présentation des résultats des coproscopies au début et à la fin de l'essai.

A chaque série d'analyses (tableau 4), on constate un faible nombre d'animaux présentant des œufs de grande douve dans leurs fèces ; à la fin de l'expérimentation, le lot expérimental présente le même nombre de bovins excréteurs que le lot témoin.



### 3.4. Evolution de la production de lait

La production de lait est évaluée à partir des taux protéique et butyreux (matières grasses) et des quantités mesurés par le contrôle laitier (Optilait) sur des relevés mensuels.

Les courbes des quantités de lait produit par vache et par jour (figure 6) évoluent de façons similaires dans les deux élevages avec une tendance à produire plus de lait durant la saison hivernale que durant la belle saison. La production de l'élevage témoin se situe toujours en dessous de celle de l'élevage expérimental.

Les courbes d'évolution des taux butyreux et protéique (figures 7 et 8) suivent une évolution analogue. Alors que dès janvier 1998, le niveau des taux est supérieur dans l'élevage traité et s'y maintient, les courbes se croisent en novembre 1998, en même temps pour les deux paramètres. Le troupeau traité se trouve dès lors avec des taux protéiques et de matières grasses inférieurs au troupeau témoin.

### 3.5. Données de reproduction

	<i>Intervalle Vêlage-Vêlage moyen</i>	<i>Intervalle Vêlage-1<sup>ère</sup> I.A. moyen</i>	<i>Nbre d'I.A./I.A.F</i>
<b>Elevage témoin</b>	420 jours (27 I.V.V. connus)	100 jours (34 connus)	2,05 (19 connues)
<b>Elevage traité</b>	408 jours (27 I.V.V. connus)	91 jours (36 connus)	1,64 (14 connus)

Tableau 5 : Intervalles Vêlage-Vêlage (I.V.V.) moyens, Intervalles Vêlage-1<sup>ère</sup> Insémination Artificielle (I.V.-1<sup>ère</sup> I.A.) moyens et nombre d' Inséminations Artificielles pour une Insémination Artificielle Fécondante (I.A./I.A.F).

Le nombre moyen de jours séparant 2 vêlages, le temps moyen séparant un vêlage de la première insémination artificielle et le nombre d'inséminations nécessaires pour avoir une insémination fécondante sont donnés pour les deux élevages dans le tableau 5.

La répartition des intervalles vêlage-vêlage connus de septembre 1997 à décembre 1999 se fait comme présenté dans la figure 9.

La figure 10 donne le planning mensuel de répartition des vêlages. Avec ce planning, on constate dans les deux élevages que la majorité des vêlages a

lieu vers la fin de l'été et le début de l'automne, tendance surtout marquée dans l'élevage expérimental.

Dans l'élevage expérimental, l'évolution des I.V.V. de juillet 1997 à décembre 1999 est présentée sur la courbe de la figure 11. Après une tendance à la baisse qui semblait déjà amorcée pendant l'été 1997, une remontée de la durée moyenne entre vêlages s'effectue à partir de janvier 1999 et se poursuit jusqu'à la fin des relevés.

Dans ce même élevage, nous avons fait la distinction entre les moyennes des intervalles vêlage-1<sup>ère</sup> insémination artificielle (I.V. 1<sup>ère</sup> I.A.) avant et après le début du traitement au closantel des vaches au tarissement. Nous avons procédé de même pour le nombre moyen d'insémination artificielle pour une insémination fécondante ( Nbre I.A. / I.A.F.). Les résultats sont donnés dans le tableau 6.

	<b>Avant début du traitement</b>	<b>Après début du traitement</b>
<b>Moyenne I.V. 1<sup>ère</sup> I.A.</b>	82 jours	105 jours
<b>Moyenne Nbre I.A./I.A.F.</b>	1,9	2,14

Tableau 6 : Moyenne des Intervalles Vêlage-1<sup>ère</sup> Insémination Artificielle (I.V.- 1<sup>ère</sup> I.A.) et moyenne du nombre d'Inséminations Artificielles pour une Insémination Artificielle Fécondante (I.A./I.A.F) avant et après début du traitement (élevage expérimental).

Avec les données présentées dans ce tableau, nous pouvons constater une tendance à la dégradation de ces résultats techniques de l'élevage expérimental ; la moyenne de l'intervalle vêlage- 1<sup>ère</sup> I.A. croît de 82 jours à 105 jours et le nombre moyen d'insémination pour une insémination fécondante croît lui aussi de 1,9 à 2,14.

### 3.6. Zones de pâturage à risque dans les deux exploitations.

	Zones sèches	Zones humides	TOTAL
Parcelle Elevage Témoin	<b>40 ha</b>	<b>10 ha</b>	<b>50 ha</b>
Parcelle Elevage Expérimental	<b>32.2 ha</b>	<b>0.13 ha</b>	<b>32.3 ha</b>

Tableau 7 : Présentation des surfaces sèches et humides de chaque exploitation

Dans l'exploitation témoin, 20 % des surfaces pâturables sont susceptibles d'abriter plus ou moins constamment des limnées contre 4 % seulement dans l'exploitation expérimentale d'après les chiffres donnés dans le tableau 7.

## **4. Discussion.**

Les résultats obtenus à partir des premiers relevés (sérologies, anticorps du lait, répartition des parcelles à risque) montrent un déséquilibre entre les deux élevages; par exemple pour les parcelles, 20% des surfaces sont considérées à risque dans l'élevage témoin contre seulement 4% dans l'élevage expérimental (tableau 7). Par ailleurs, pour l'infestation détectée dans le lait et dans le sérum, on observe dès le départ une différence de prévalence : moyenne géométrique des sérologies de 741 UI avec 97% d'animaux positifs dans l'élevage témoin contre une moyenne géométrique de 5,3 UI avec 30% seulement d'animaux positifs dans l'élevage expérimental (figures 3 et 4). Ce dernier semble le moins touché par la fasciolose. La disparité est telle que la comparaison entre les deux élevages, envisagée au départ, semble peu judicieuse.

En revanche, une étude intra-élevages reste envisageable sur une période d'une année.

Aussi, nous envisagerons l'effet du traitement au closantel sur l'infestation des animaux de l'élevage expérimental (taux d'anticorps présents dans le lait et dans le sang), sur l'évolution de la production de lait et sur les résultats de reproduction.

Par ailleurs, la collecte des données qui ont pu apparaître nécessaires pour la bonne réalisation de l'étude s'est trouvée confrontée aux problèmes conjoncturels de l'élevage (deuxième crise de la vache folle à l'automne 2000 ). Ceci a rendu l'intérêt des éleveurs très faible pour notre étude et la collecte des renseignements complémentaires auprès d'eux parfois très difficile.

### **4.1. choix du douvicide.**

Dans le cadre de l'élevage laitier, les traitements fasciolicides réalisables doivent être compatibles avec la livraison quotidienne du lait. Pour un minimum de perte, les éleveurs utilisent traditionnellement des antiparasitaires à délai d'attente nul pour le lait pour contrôler l'infestation parasitaire de leur troupeau. Utiliser un antiparasitaire sans souci du délai d'attente pour le lait ne peut s'envisager qu' au moment du tarissement des animaux, le jour même du tarissement, sans prise en compte rigoureuse de l'épidémiologie du parasite, puisque une fois tarées, les vaches sont envoyées au pâturage en attendant le vêlage. Faire un traitement parfaitement en phase avec l'épidémiologie des parasites obligerait les éleveurs à manipuler les animaux une fois de plus. Ceci peut expliquer les distorsions entre l'opportunité du traitement antiparasitaire et sa réalisation.

L'intérêt du closantel pour le traitement au tarissement avant la mise au pré réside dans son action sur les douves immatures. Cette action sur les stades précoces ne se rencontre qu' avec le triclabendazole (Alzieu et Mage, 1991).

L'activité et la rémanence du closantel ont été étudiés chez les ovins (Maes et al., 1990b). Malgré une efficacité moindre sur les stades très précoces de *Fasciola hepatica* (Maes et al., 1990a), le closantel présente un potentiel d'efficacité comparable à celui du triclabendazole.

Utiliser le closantel au tarissement alors que l'on utilise de l'oxyclozanide à l'entrée en stabulation offre l'avantage de changer de principe actif (contrairement à un protocole utilisant le triclabendazole au tarissement (Martignoni et al., 1995)).

## 4.2. choix des techniques de diagnostic.

Dans le cadre de cet essai-terrain, la détection du niveau d'infestation des animaux par la douve a été faite selon plusieurs techniques d'analyse : l'hémagglutination passive sur sérum individuel, analyse ELISA sur le lait de mélange et la coproscopie individuelle .

**Les prélèvements systématiques** se sont déroulés en automne (sérologies) et aux printemps (sérologies et coproscopies). Ces périodes sont les plus propices respectivement à l'évaluation du statut de l'élevage (infesté ou non) (d'après Chauvin, 2000) du fait de l'épidémiologie de la douve et à la réalisation des coproscopies et des sérologies (Boulard et al, 1985) dans l'hémisphère nord pour les prélèvements de printemps.

**Les prélèvements intermédiaires** réalisés dans la période de pâturage au moment du traitement de tarissement, nous ont permis de posséder une donnée supplémentaire et d'établir des cinétiques d'anticorps. Cette donnée nous a paru opportune surtout du point de vue des sérologies du fait de la rémanence des anticorps anti-*F.hepatica* (jusqu'à 6 mois post-infestation) (Chauvin, 2000).

Pour l'**hémagglutination**, commencer les dilutions au 1/40<sup>ème</sup> a été décidé pour détecter les animaux ayant un taux d'anticorps relativement faible.

L'**analyse ELISA** sur le lait de mélange, d'après Vaast et Blain, (1988), a un seuil de positivité situé entre 15 et 20% de bovins positifs dans le troupeau prélevé. La facilité de mise en œuvre de cette technique se heurte donc à un défaut de sensibilité , point fort de la sérologie individuelle (réalisée individuellement, cette technique ELISA lait peut être intéressante du fait de la bonne corrélation entre le taux d'anticorps sanguin et celui présent dans le lait (Pourquier et al., 1995)). Le prélèvement régulier de lait de tank durant la saison de pâture donne une idée du niveau d'infestation du troupeau car c'est le lait de tous les animaux qui est analysé. Au contraire, avec la sérologie (sauf dans le cas des prélèvements systématiques) seuls quelques unités ont été prélevées (animaux au tarissement). Ceci n'a pas permis, comme dans le cas de l'analyse

du lait de tank, de réaliser une courbe d'évolution mais seulement un histogramme regroupant toutes les valeurs obtenues sur les prélèvements effectués sur la période.

**La coproscopie individuelle** sur un seul échantillon, d'après Lafay et Mage (1976), ne permettrait la détection d'une infestation par *Fasciola hepatica* que dans un cas sur deux (faible sensibilité de la technique). Le nombre d'o.p.g. (œufs par gramme de fécès) ne serait de plus pas significatif du degré d'infestation parasitaire (Mage, 1988). C'est là une limite importante de la technique en plus de sa lourde mise en œuvre. Elle a cependant l'avantage d'être une des méthodes de diagnostic des plus spécifiques.

### 4.3. données zootechniques.

L'évolution des résultats technico-économiques de l'élevage (en particulier les résultats de reproduction et de production laitière) nous a paru intéressante à prendre en compte du fait de la relation déjà établie entre la fécondité et l'infestation par *F. hepatica* (Mage et al., 1989). Il en a été de même pour la production laitière (Black et Froyd., 1972, Orallana et al. 1999). Ces deux aspects zootechniques ont cependant des facteurs de variation multiples (alimentation, hygiène de la traite, gestion des carences...). Le seul aspect parasitaire ne saurait expliquer à lui seul les variations observées quand bien même le traitement antiparasitaire serait aussi judicieux que possible.

### 4.4. discussion sur les résultats obtenus.

Lorsque l'on suit l'évolution de la contamination des troupeaux (Extensity Effect et Intensity Effect) (tableaux 2 et 3), on observe des valeurs allant vers la réduction des taux d'anticorps et du nombre de bovins positifs dans l'élevage expérimental alors que ce n'est pas le cas dans l'élevage témoin.

Le chiffre de 64% obtenu dans le calcul de l'Intensity Effect de l'élevage expérimental est à modérer du fait de la faible intensité parasitaire de départ.

Avec les courbes d'évolution des ELISA lait (figure 5), dans l'élevage témoin, on observe deux périodes d'infestation importantes : la période de début d'été puis en automne ; ceci est bien conforme aux observations épidémiologiques.

Dans l'élevage expérimental, les anticorps redeviennent détectables dès le milieu de l'été et jusqu'à l'automne. Une contamination identique à l'élevage témoin peut être à l'origine modérée par le faible nombre de pâtures à risque et par le traitement au tarissement réalisé sur les premiers animaux qui se trouvent à nouveau donneurs de lait en fin d'été ou en début d'automne (environ deux mois après leur tarissement).

Les coproscopies indiquent seulement la présence de douve dans l'élevage. En effet, selon les auteurs, un seul animal positif en coproscopie entraîne une suspicion de positivité sur l'ensemble du troupeau du fait du faible nombre d'œufs pondus et de l'aspect sporadique de la ponte. Ainsi, tant au printemps 1998 qu'au printemps 1999, nous sommes en présence de deux troupeaux parasités (tableau 4). L'intérêt de la coproscopie individuelle telle qu'elle a été réalisée ici, réside dans la comparaison avec les résultats obtenus avec les autres méthodes d'analyses, en particulier la sérologie individuelle.

Sur ces critères, les résultats obtenus dans l'élevage témoin où seul un traitement à l'oxyclozanide a été réalisé ne montrent aucune réduction de l'infestation parasitaire par la grande douve (tableau 3). Ceci semble confirmer l'hypothèse de départ selon laquelle ce seul traitement à la rentrée à l'étable est insuffisant pour contrôler le parasitisme à *F. hepatica* dans une exploitation où la parasitose est autant implantée.

La série de prises de sang réalisée dans l'élevage expérimental en novembre 1999 (figures 3 et 4), au delà de la période prévue pour l'essai, montre une remontée du niveau moyen et de la prévalence de l'infestation. On se trouve alors avant le traitement de rentrée à l'étable à l'oxyclozanide mais après le traitement au closantel lors du tarissement réalisé pour la plupart des vaches deux mois avant puisque la majorité des vêlages se situe en fin d'été, début d'automne (figure 9). Ceci montre que le traitement à l'oxyclozanide est tout de même nécessaire.

L'année d'avant, le niveau d'infestation évalué par sérologie était à la même époque de 2,3 U.I. pour une prévalence de 12,5%. Au printemps suivant la prévalence était de 9%. On n'observe donc pas d'évolution notable (figures 3 et 4).

Du début des relevés pris en compte (janvier 1998) jusqu'en juillet 1999, les courbes d'évolution des T.P. évoluent peu (figure 7). Elles sont sensiblement parallèles et oscillent respectivement autour de 33 g/l pour l'élevage expérimental et 30 g/l pour l'élevage témoin. Il est à noter que ce dernier voit son T.P. décroître à partir de mi-avril 1998. Sur ces périodes, la différence de valeur de T.P. pourrait être expliquée par une différence de niveau de parasitisme, de façon plus significative qu'après juillet 1998, date à partir de laquelle les éleveurs donnent une ration enrichie à base d'ensilage de maïs pour obtenir une plus grande quantité de lait. Les deux courbes amorcent une remontée jusqu'à se rejoindre en novembre 1998 et rester quasiment superposées tout l'hiver alors que l'hiver passé, nous avons observé une différence.

Les évolutions des taux protéiques et butyreux sont comparables dans les deux élevages. D'autres facteurs que l'infestation par *Fasciola hepatica* sont certainement prépondérants.

Concernant les résultats de reproduction, nous nous bornerons à commenter les données récoltées sur les deux années dans l'élevage expérimental.

On y voit une tendance à la détérioration des valeurs des intervalles vêlage-vêlage (I.V.V.) (figure 11). A partir de l'automne 1998, alors que ceux-ci semblaient se stabiliser autour de 390 jours sur l'année 1998 et que le traitement au closantel a été poursuivi sur la campagne 1999 à l'initiative de l'éleveur, les valeurs des I.V.V. augmentent. La distinction dans cet élevage des résultats de reproduction avant et après le début du traitement (tableau 6) montre une tendance à l'augmentation des intervalles. Alors qu'en moyenne sur les deux années, l'élevage expérimental semblait bien en dessous des valeurs de l'élevage témoin, lorsque les données sont séparées, (avant et après le début du traitement), on se trouve avec des valeurs des I.V.V. supérieures dans l'élevage expérimental par rapport à l'élevage témoin après le début du traitement. Ceci montre que l'aspect parasitaire est insuffisant pour expliquer les problèmes (Mage et al., 1989) et rend les résultats du traitement décevants a priori.

Sur les vaches laitières, l'emploi d'un antiparasitaire rémanent et actif contre les formes immatures prévient la contamination du pâturage en évitant l'excrétion d'œufs pendant le temps où les vaches sont au pâturage après le tarissement (comme le confirme Mage, 1991).

Dans une étude menée sur des bovins limousins par Martignoni et al. (1995), l'objectif était entre autre d'essayer de diminuer la contamination des pâtures avec deux traitements annuels au triclabendazole en limitant le réensemencement des pâtures par les animaux. D'après les résultats fournis par les auteurs, cet objectif semble avoir été partiellement atteint.

Dans notre étude, l'intérêt du traitement au closantel, associé à un traitement à l'oxyclozanide pourrait éventuellement avoir les mêmes effets, procurant en plus l'avantage d'utiliser deux molécules différentes au lieu d'une seule (dans le cas de l'étude citée ci-dessus) et de prévenir l'apparition de résistance des douves aux fasciolicides. Cette notion ne semblait pas poser de problème jusque là (Fairweather et Boray, 1999). Mais certains auteurs en auraient encore repéré l'existence chez les moutons aux Pays-Bas (Gaasenbeek et al., 2001), ceci s'ajoutant donc à celles jugées peu importantes détectées à l'Ouest de l'Angleterre, au Pays de Galles, et en Australie (Fairweather et Boray, 1999).



## **5. Perspectives pour les élevages laitiers.**

Le schéma d'élevage que l'on trouve ici est typique des élevages laitiers où la conduite des pâturages est pour une bonne part responsable du parasitisme par la grande douve (Mage, 1991). En effet, de juin à septembre, les vaches taries vont sur des parcelles de moindre qualité (prairies permanentes, fond de vallées) qui sont autant de zones possibles d'infestation.

Ainsi, la lutte contre le parasite à l'aide d'antiparasitaires comme celle pratiquée ici n'est pas toujours suffisante. Claxton et al (1998) rapportent une étude réalisée au Pérou où un double traitement au triclabendazole ne donnait pas de résultat satisfaisant. Une tentative de lutte contre la limnée tronquée a été entreprise à l'aide de niclosamide épandu sur les gîtes à limnées tronquées. Le résultat fut décevant d'un point de vue charge parasitaire des animaux mais efficace quant à la réduction du nombre de limnées. Plus élaboré est le schéma de prévention de la fasciolose proposé par Mage et al. (1983), repris par Ximenes et al. (1993) et se déclinant en 4 points : emploi d'un antiparasitaire sur les bovins, assainissement des biotopes à limnées et contrôle chimique et biologique de ces dernières par l'introduction de mollusques concurrents et prédateurs : *Zonitoides nitidus*. Ce mollusque offre l'avantage de consommer des limnées surtout dans la phase d'assèchement estivale (Rondelaud, 1979), phase la plus propice à la contamination des bovins. La lourdeur de cette pratique l'a fait abandonner.

Clôturer les zones à risque pour la contamination peut être une alternative moins coûteuse à un assainissement véritable des parcelles car celui-ci passe le plus souvent par un assèchement par drainage et captage des sources des zones humides et reste onéreux.

Dans notre étude, ces solutions agronomiques pourraient être une solution intéressante dans l'élevage expérimental pour en éradiquer la parasitose. Dans l'élevage témoin, le traitement antiparasitaire n'a eut que très peu d'effet. L'adjonction de mesures agronomiques permettrait probablement de limiter l'infestation.

Dans un cas comme dans l'autre, le suivi du niveau d'infestation doit être fait pour savoir d'où en est l'élevage et apporter la solution la plus adaptée au fur et à mesure. Selon Chauvin (2000), la sérologie est la technique analytique la plus appropriée pour cela.

Par ailleurs, le protocole proposé offre l'avantage d'utiliser deux molécules différentes et donc de prévenir l'apparition de résistances. Une autre possibilité a été évoquée par Fairweather et Boray (1999). Elle consiste à utiliser lors d'un traitement une combinaison de molécules appartenant à des familles différentes. Une certaine synergie peut s'opérer entre les molécules et la posologie de chacune d'entre elles peut alors être diminuée. Ceci est intéressant

économiquement, limite les risques d'apparition des résistances et élargi le spectre d'activité du traitement.

La pratique de la vaccination anti-*F.hepatica* a été essayée chez le lapin expérimentalement (Muro et al., 1997) et chez la souris (Spithill et Dalton, 1999). Essayée récemment chez les ovins (Ramajo et al., 2001), elle semble donner des résultats puisque, si le nombre de douves présentes est le même chez les animaux vaccinés et ceux qui ne le sont pas, la taille des parasites et leur fécondité sont diminués. Mise au point, la vaccination pourrait être une alternative intéressante à la chimiothérapie.

## CONCLUSION

Les résultats obtenus avec un traitement au tarissement des vaches avec du closantel, et à l'entrée en stabulation avec de l'oxyclozanide montrent la possibilité de diminuer la population de bovins infestés dans le troupeau. A travers cette étude nous avons pu voir que l'aspect parasitaire était parfois largement insuffisant pour expliquer les résultats technico-économiques insuffisants d'une exploitation. Le protocole de traitement utilisé est un moyen pour prévenir le développement de résistances de parasite.

De plus, les moyens de lutte contre cette parasitose sont pharmaceutiques et agronomiques et doivent s'appuyer sur des données d'épidémiologie.

La perspective de l'utilisation d'un vaccin contre la grande douve du foie même, si elle n'est pas encore d'actualité dans les élevages, semble prendre forme dans les différents essais relatés. Elle pourrait présenter une alternative intéressante à la chimiothérapie en sollicitant plus les réactions de l'organisme et en préservant les produits fasciolicides du développement de résistances.

Un point important non abordé encore ici mérite d'être rappelé comme le fait Chauvin dans un article écrit en 1994 où il nous rappelle que la fasciolose est aussi une zoonose qui encore à notre époque serait « à risque potentiel important ». Ramajo et al. (2001) rapportent aussi l'existence de cas de fasciolose humaine en Amérique du Sud ainsi que dans de nombreux pays d'Europe. Ceci ajoute une dimension supplémentaire à l'intérêt de la lutte contre cette parasitose.

## Bibliographie

- ALZIEU J.P. et MAGE C. – 1991 – La fasciolose bovine ; pathogénie, épidémiologie, thérapeutique. - Bull. G.T.V. – **6-B-395**, 59-74.
- ALMAZAN C., AVILA G., QUIROZ H., IBARRA F. et OCHOA P. – 2001 – Effect of parasite burden on the detection of *Fasciola hepatica* antigens in sera and feces of experimentally infected sheep. – Vet. Parasitol. – **97**,101-112.
- BLACK N.M. et FROYD G. – 1972 - The possible influence of liver fluke infestation on milk quality. – The Veterinary Record, January 15<sup>th</sup>, 71-72.
- BORAY J.C.– 1993 – Synergistic activity of anthelmintics for the control of susceptible and resistant strains of *Fasciola hepatica* for the prevention or management of anthelmintic resistance. – In: Proceedings of the 14<sup>TH</sup> International Conference of the WAAVP. – p. 370 Cambridge.
- BORAY J.C. – 1997 – Chemotherapy of infections with Fasciolidae. – In : Immunology, Pathology and control of Fasciolosis. Ed. J.C. Boray. Rahway, New Jersey MSD Agvet. – 83-97.
- BORAY J.C. et DE BONO D. – 1989 – Drug resistance in *Fasciola hepatica*. – In : Advances in Veterinary Science.Ed. P.M. Outeridge and R.B. Richards – pp. 166-169. – Artamon, Australia: The Australian Veterinary Association.
- BORAY J.C. et ENIGK K. – 1964 – Laboratory studies on the survival and infectivity of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* metacercariae – Z. Tropenmed. Parasitol. – **15**, 324-331.
- BOULARD C., BOUVRY M. et ARGENTE G. – 1985 – Comparaison de la détection des foyers de fasciolose par test ELISA sur lactosérum et sérum et par coproscopie. – Ann. Rech. Vét. **16** (4), 363-368.
- BOYCE W.M., COURTNEY C.H., LOGGINS P.E. – 1987 – Resistance to experimental infection with *Fasciola hepatica* in exotic and domestic breeds and sheep – Int. J. Parasit. – **17**, 1233-1237.
- CHAUVIN A. – 1994 – La fasciolose: une zoonose à risque potentiel important – Point Vét. – **26** (numéro spécial), 865-867.
- CHAUVIN A. – 2000 – Sérologie de la fasciolose : intérêt, utilisation pratique. – Société Française de Buiatrie, 15,16,17 Nov., 190-197.
- CHAUVIN A. et BOULARD C. – 1992 – Le diagnostic de la fasciolose des ruminants : interprétation et utilisation pratique. – Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires. – **1-B-418**, 69-73.
- CLAXTON J.R., ZAMBRANO H., ORTIZ P., DELGADO E., ESCURRA E. et CLARKSON M.J. – 1998 – Strategic control of fasciolosis in the inter-Andean valley of Cajamarca, Peru. – The Veterinary Record – **143**, 42-45.
- DAVIES C. et GOOSE J. – 1991 – Killing of newly excysted juvenile of *Fasciola hepatica* in sensitized rats – Parasite Immunol. – **3**, 81-96.
- DAWES B. – 1970 – Fasciolosis : the invasive stages in animals – Adv. Parasitol. – **8**, 259-274.
- DORCHIES P., FRANC M. et LUFFAU G.– 1981 – Physiopathologie des strongyloses et de la fasciolose In « Parasitisme digestif et respiratoire des bovins » Société Française de Buiatrie Ed. Deauville – 141-162.
- DORCHIES Ph. et PANGUI L.-J. – 1985 – Epidémiologie de la fasciolose. – L'Action Vétérinaire n° 907 du 25.02.85, pages I à III.
- DOW C., ROSS J.G. et TODD J.R. – 1967 – The pathology of experimental fasciolosis in calves – J. Comp. Pathol – **77**, 377-385.

- DOY T.G. et HUGUES D.L. – 1984 – Early migration of immature *Fasciola hepatica* and associated liver pathology in cattle – Res. Vet. Sci. – **37**, 219-222.
- DOYLE J.J. – 1971 – Acquired immunity to experimental infection with *Fasciola hepatica* in cattle – Res. Vet. Sci. – **12**, 526-534.
- DOYLE J.J. – 1972 – Evidence of an acquired resistance in calves to a single experimental infection with *Fasciola hepatica* – Res. Vet. Sci. – **13**, 456-459.
- DUMENIGO B.E., ESPINO A.M., FINLAY C.M. et MEZO M. – 1999 – Kinetics of antibody-based antigen detection in serum and faeces of sheep experimentally infected with *Fasciola hepatica*. - Vet. Parasitol. – **86**, 23-31.
- EUZEBY J. – 1971 – Distomatoses hépato-biliaires in : Les maladies vermineuses dans les animaux domestiques et leur incidence sur la santé humaine. Tome II, Livre 1, Paris ; Vigot Frères Editeurs, 299-618.
- FAIRWAETHER I. et BORAY J.C. – 1999 – Fasciolicides : efficacy, actions, resistances and its management – The Veterinary Journal – **158**, 81-112.
- FERRE I., ORTEGA-MORA L.M. et ROJO-VASQUEZ F.A. – 1997 – Serum and bile antibody responses (IgG and IgA) during subclinical *Fasciola hepatica* infection in sheep. – Vet. Parasitol. – **68**, 261-267.
- GAASENBEEK C.P.H., MOLL L., CORNELISSEN J.B.W.J., VELLEMA P. et BORGSTEEDE F.H.M. – 2001 - An experimental study on triclabendazole resistance of *Fasciola hepatica* in sheep. - Vet. Parasitol. – **95**, 37-43.
- GERMAIN L. – 1930-1931 – Mollusques terrestres et fluviatiles.(Faune de France, n°21 et n°22). – Lechevallier éd., Paris, 893 pages.
- HAROUN E. T. M. et HILLYER G.V. – 1986 – Resistance to fascioliasis : a review. – Vet. Parasitol. – **20**, 63-93.
- HOPE-CAWDERY M.J., STRICKLAND K.L., CONWAY A. et CROWE P.J. – 1977 – Production effects of liver fluke in cattle; the effect of infection on liveweight gain, feed intake and food conversion efficiency in beef cattle – Br. Vet. J. – **133**, 145-159.
- Institut POURQUIER, Montpellier - Document de présentation du kit ELISA lait. - Diagnostic immunologique de la fasciolose bovine par la méthode ELISA dans le lait.
- LAFAY E. et MAGE C. – 1976 - Valeur de la coproscopie parasitaire dans le dépistage de la fasciolose bovine. –Rapports et Résumés IX<sup>ème</sup> Congrès International sur les Maladies du Bétail, Société Mondiale de Buiatrie, éd. Paris – **2**, 1105-1112.
- LECLIPTEUX Th., TOGERSON P.R., DOHERTY M.L., McCOLE D., PROTZ M., FARNIR F. et LOSSON B. – 1998 - Use of excretory/secretory antigens in a competition test to follow the kinetics of infection by *Fasciola hepatica* in cattle. – Vet. Parasitol. – **77**, 103-114.
- LEUCKART R. – 1883 – Zur Entwicklungsgeschichte des Leberegels (*Distomum hepaticum*). – Wieg. Arch. Naturgesch., **48**, 80-119.
- LEVIEUX D., LEVIEUX A., MAGE C. et GAREL J.P. – 1992 – Immunological detection of chemotherapeutic success in bovine fasciolosis using the specific antigen f<sub>2</sub>. - Veterinary Parasitology, **45**, 81-88.
- MAES L., VANPARIJS O., LAUWERS H. et DECKERS W. – 1990a - Comparative efficacy of closantel and triclabendazole against *Fasciola hepatica* in experimentally infected sheep. – The Veterinary Record. November 3. 450-452.
- MAES L., VANPARIJS O. et LAUWERS H. – 1990b – Activité douvicide du closantel contre *Fasciola hepatica* approche pharmacodynamique. – Revue Méd. Vét. – **141** 12, 991-995.
- MAGE C. – 1988 – Contribution à l'étude de la fasciolose à *Fasciola hepatica* des bovins allaitants dans le Limousin et la Cerdagne (France) ; conséquences zootechniques et essais thérapeutiques – Thèse Université de Limoges 1988, n° 3, 136 pages.

- MAGE C. – 1989 – Epidémiologie de l'infestation par *Fasciola hepatica* chez les bovins en Limousin – Rev. Méd. Vét. – **140** 5, 407-411.
- MAGE C. – 1990 – Conséquences zootechniques de l'infestation naturelle par *Fasciola hepatica* chez les taurillons limousins. – Rev. Med. Vét. **141**-(3), 205-208.
- MAGE C. – 1991 – Epidémiologie, conséquences économiques et traitement de la grande douve. – Conférence du symposium de parasitologie Arkovet Ciba-Geigy Paris 2 et 3 octobre 1990 – Groupements Techniques Vétérinaires **5-B** 389 65-68.
- MAGE et LEGARTO – 1986 – Etude de l'incidence d'un traitement contre la grande douve sur la production laitière. – Institut Technique de l'Elevage Bovin, n°86112. 13 pages.
- MAGE C., LOISEL J. et BONNAND P. – 1989 – Infestation par *Fasciola hepatica* et fécondité en élevage laitier – Rev. Med. Vét. – **140**, 10, 929-931.
- MAGE C., RAYNAL P., RONDELAUD D. et CHASTELOUX C. – 1989 – Mise en pratique du contrôle de l'infestation par *Fasciola hepatica* chez des bovins limousins. – Bull. GTV – **89-6-B-347** – 5-10.
- MAGE C. et RONDELAUD D. – 1983 – Réflexions sur la prévention de la fasciolose en France. – Les dossiers de l'élevage, volume 5, n°2.
- MARTIGNONI L., MAGE C. et REYNAL P.H. - 1995 – Prévention de l'infestation des bovins par *Fasciola hepatica* avec le triclabendazole – Rev. Med. Vét. **146**, 6, 413-420.
- MEEK A.H. et MORRIS R.S. – 1979 – The longevity of *Fasciola hepatica* metacercariae encysted on herbage. – Aust. Vet. J. – **55**, 58-60.
- MOREAU E. , CHAUVIN A. et BOULARD C. – 1997 – Interaction hôte-parasite au cours de la fasciolose à *Fasciola hepatica* chez les ruminants – Le Point Vétérinaire, vol. 28 n° spécial « Parasitologie des ruminants ».
- MURO A., RAMAJO V., LOPEZ J., SIMON F. et HILLYER G.V. – 1997 – *Fasciola hepatica* : Vaccination of rabbits with native recombinant antigens related to fatty acid binding proteins. – Vet. Parasit. – **69**, 219-229.
- ORELLANA P., RECABARREN S., LOBOS A., ISLAS A., BRIONES M. et RUBILAR L. – 1999 – Effect of winter supplementation and antiparasite treatment on the productive performance of milk herd in the central-south region of Chile. – Preventive Veterinary Medicine **38**, 207-215.
- POURQUIER Ph., CAQUINEAU L., GALAUP M., LE MOAL Y., MARTAIN L., SALINGARDES F. et TURMEL R. – 1995 – Evaluation de l'infestation naturelle de cheptels bovins par *Fasciola hepatica* d'après le titrage d'anticorps du sang ou du lait avec un réactif ELISA utilisant l'antigène spécifique f<sub>2</sub>. – Bull. Soc. Vét. Prat. de France, juin-juillet, **T. 79**, n° 6-7, 285-307.
- RAMAJO V., OLEAGA A., CASANUEVA P., HILLYER G.V. et MURO A. – 2001 – Vaccination of sheep against *Fasciola hepatica* with homologous fatty acid binding proteins. – Vet. Parasitol. **97**,35-46.
- RAYNAUD J.P. – 1970 – Etude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour la diagnostic de routine et le contrôle des infestations parasitaires des bovins, ovins, équins et porcins. – Ann. Parasitol. Hum. Comp. – **45**, 321-343.
- RAYNAUD J.P. et KERBOEUF D. – 1981 – Biologie, cycles et épidémiologie des Helminthes parasites majeurs en France. In : Parasitisme digestif et respiratoire des bovins. – Société Française de Buiatrie Ed., Deauville 1981, 141-162.
- RICO A.G., BRAUN J.P., BÉNARD P. et THOUVENOT J.P. – 1977 – Blood and tissue distribution of  $\gamma$ GT in the cow – J. Dairy Sci GO – 1283-1287.
- RONDELAUD D. – 1979 – Le contrôle biologique de *Lymnea (Galba) truncatula* Muller par les mollusques *Zonitidae*. Possibilités et limites. – Rev. Méd. Vét. – **130**, 1, 101-110.

- RONDELAUD D. et VINCENT M. – 1974 – Etude de la migration quotidienne des Limnées tronquées (*Galba truncatula* Müller) saines et parasitées par *Fasciola hepatica* L. – Annales de parasitologie (Paris) , t.49, n°4, 411-416.
- ROSS J.G. – 1970 – The economic of the *Fasciola hepatica* of the liver fluke infestation on milk quality. – Vet. Rec. – **90**,71-72.
- SPITHILL et DALTON – 1998 – Progress in Development of Liver Fluke Vaccines. – Parasitology Today – Vol. 14, n°6 – 224-228.
- THOMAS A.P. – 1883 – The life history of the liver fluke (*Fasciola hepatica*) –Quart. J. Micr. – **23**, 99-133.
- VAAST J. et BLAIN J.J. – 1988 – Diagnostic de la fasciolose bovine ; intérêt du dépistage sur laits de mélange. – Recueil de Médecine Vétérinaire – Décembre.
- WICKI P., SCHWALBACH B., CHARBON J.L., STEINER A., LANG M., LOUP F., et PFISTER K. – 1991 – Réactions cellulaires intestinales du bovin après infection par *Fasciola hepatica*. – Schweiz. Arch. Tierheilk. – **133**,429-437.
- XIMENES T., RONDELAUD D., MAGE C. et CHERMETTE R. – 1993 – L'élimination de la Limnée tronquée dans les pâturages : contrôle biologique et lutte intégrée contre la fasciolose. – Point Vétérinaire - **24** (149) 615-621.

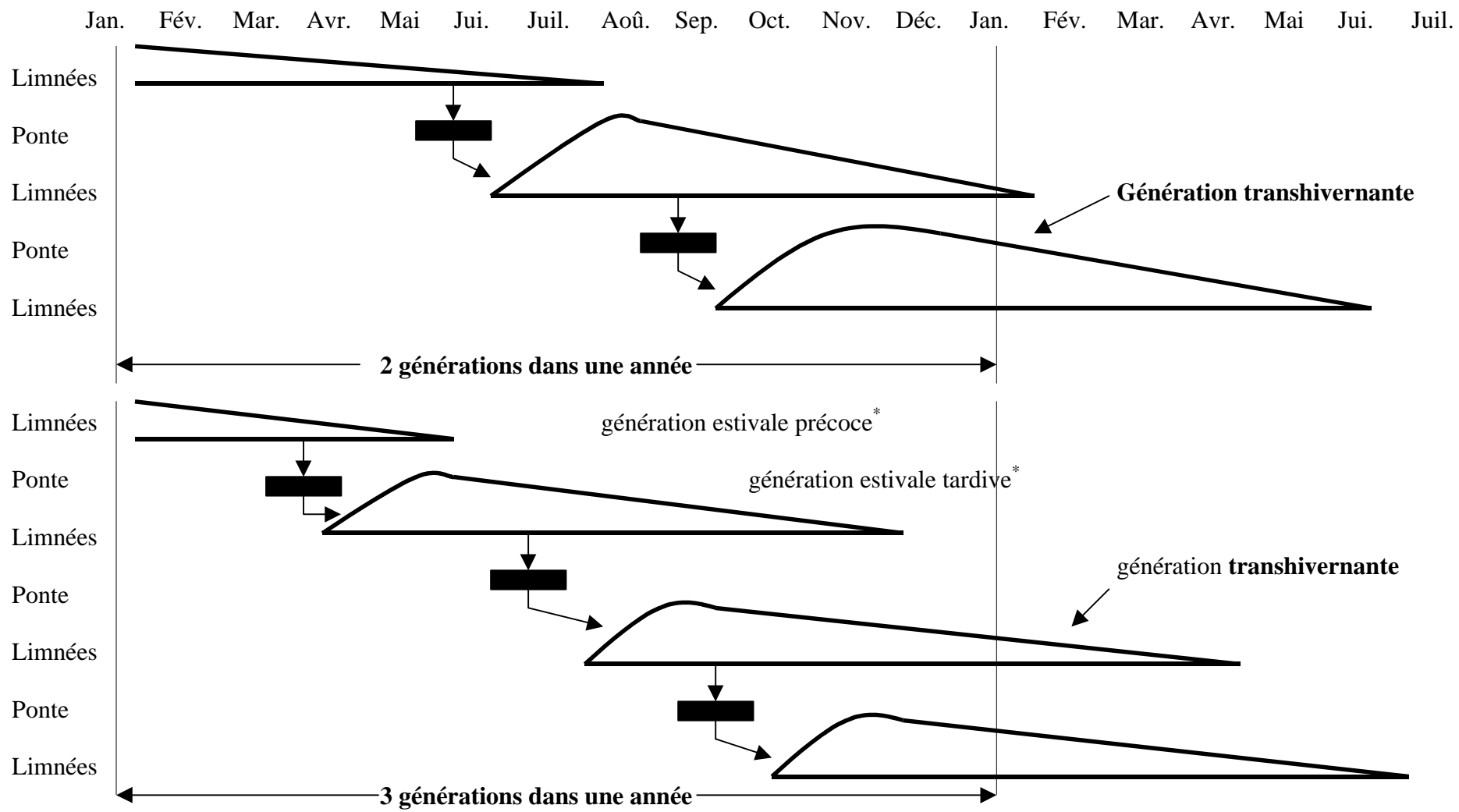
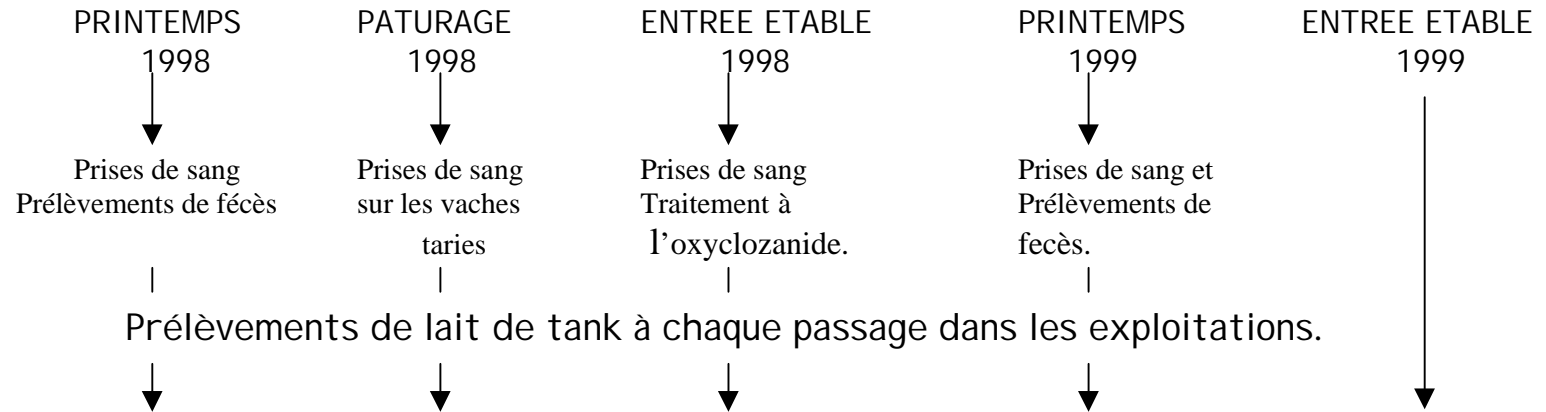


Figure 1bis : Les successions de générations de limnées.

\*d'après Dorchies et Pangui, 1985.



**Figure 2 : Planning des prélèvements et des traitements.**



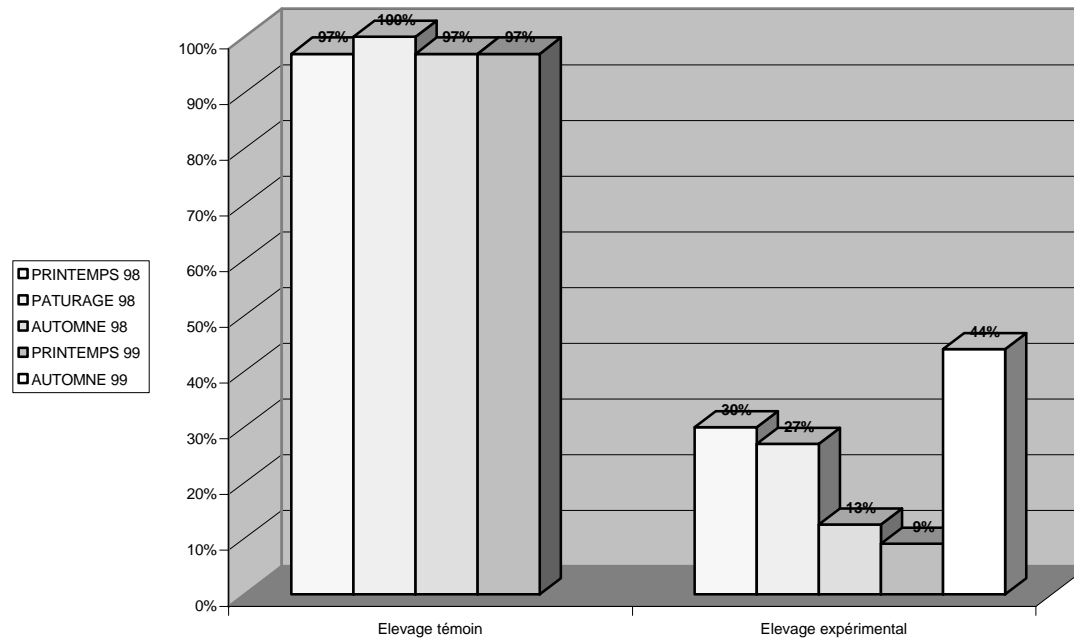
**Troupeau TEMOIN**

**Troupeau EXPERIMENTAL**

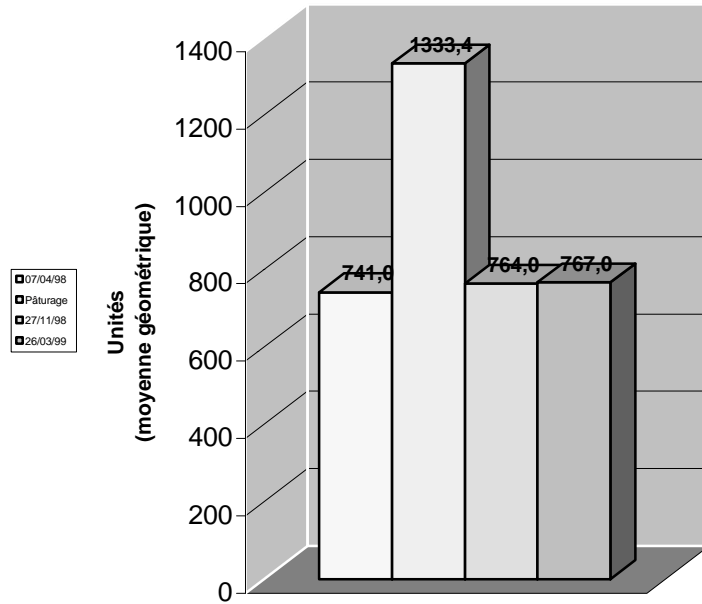
Traitement des vaches taries au closantel.

Prises de sang supplémentaire sur le

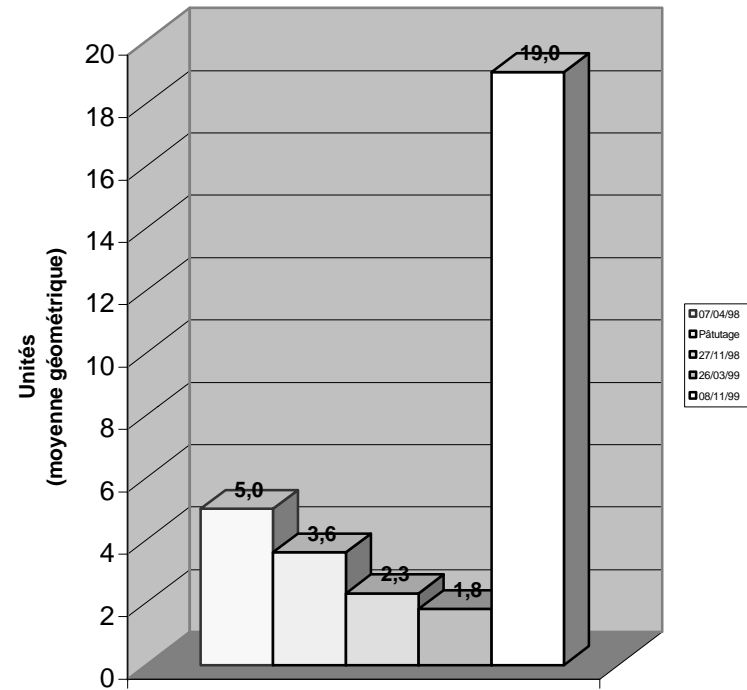
**Figure 3: Pourcentage de bovins séropositifs aux différentes périodes de prélèvements.**



**Figure 4a : Elevage témoin**

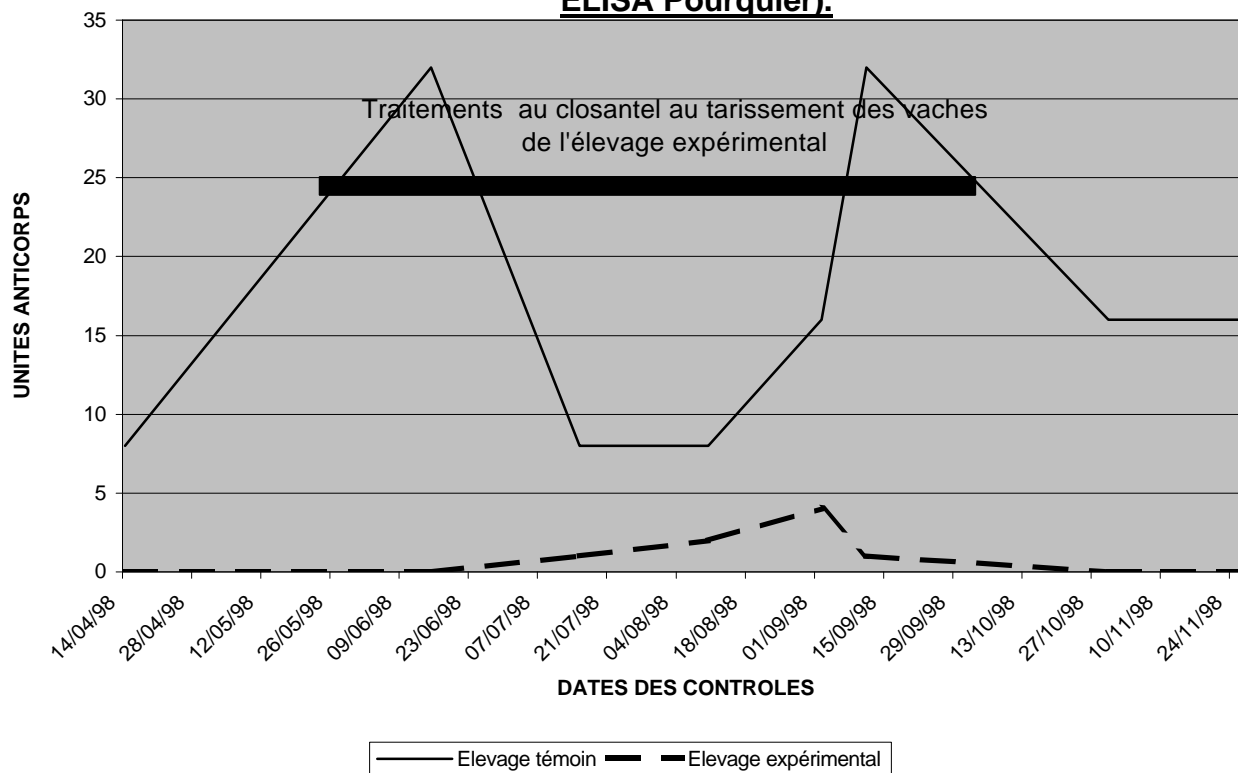


**Figure 4b : Elevage expérimental**

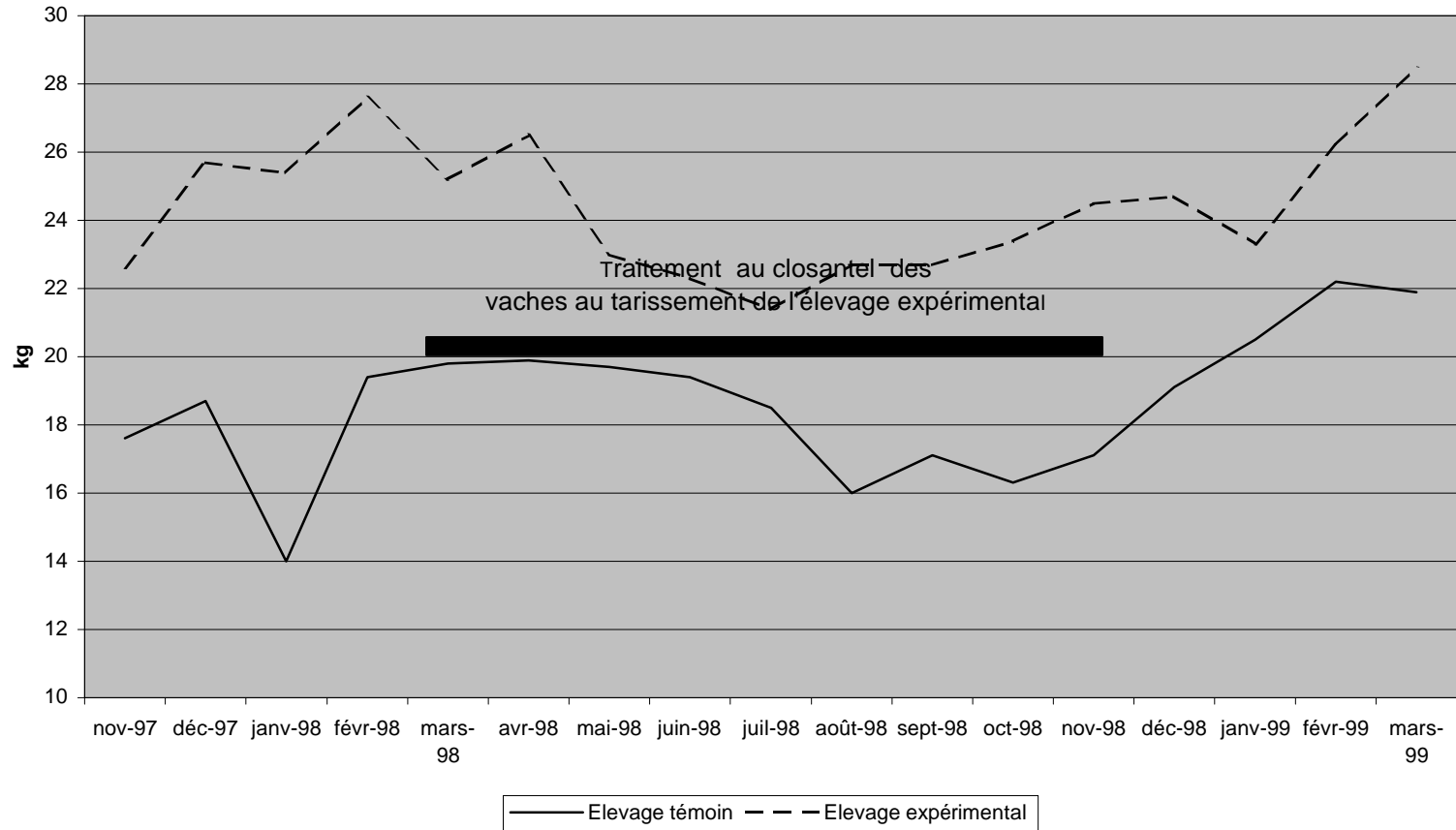


**Figure 4 : Intensité de la réponse anticorps anti-*F.hepatica* (moyenne géométrique) (méthode H.A.P.) dans les deux élevages de vaches laitières.**

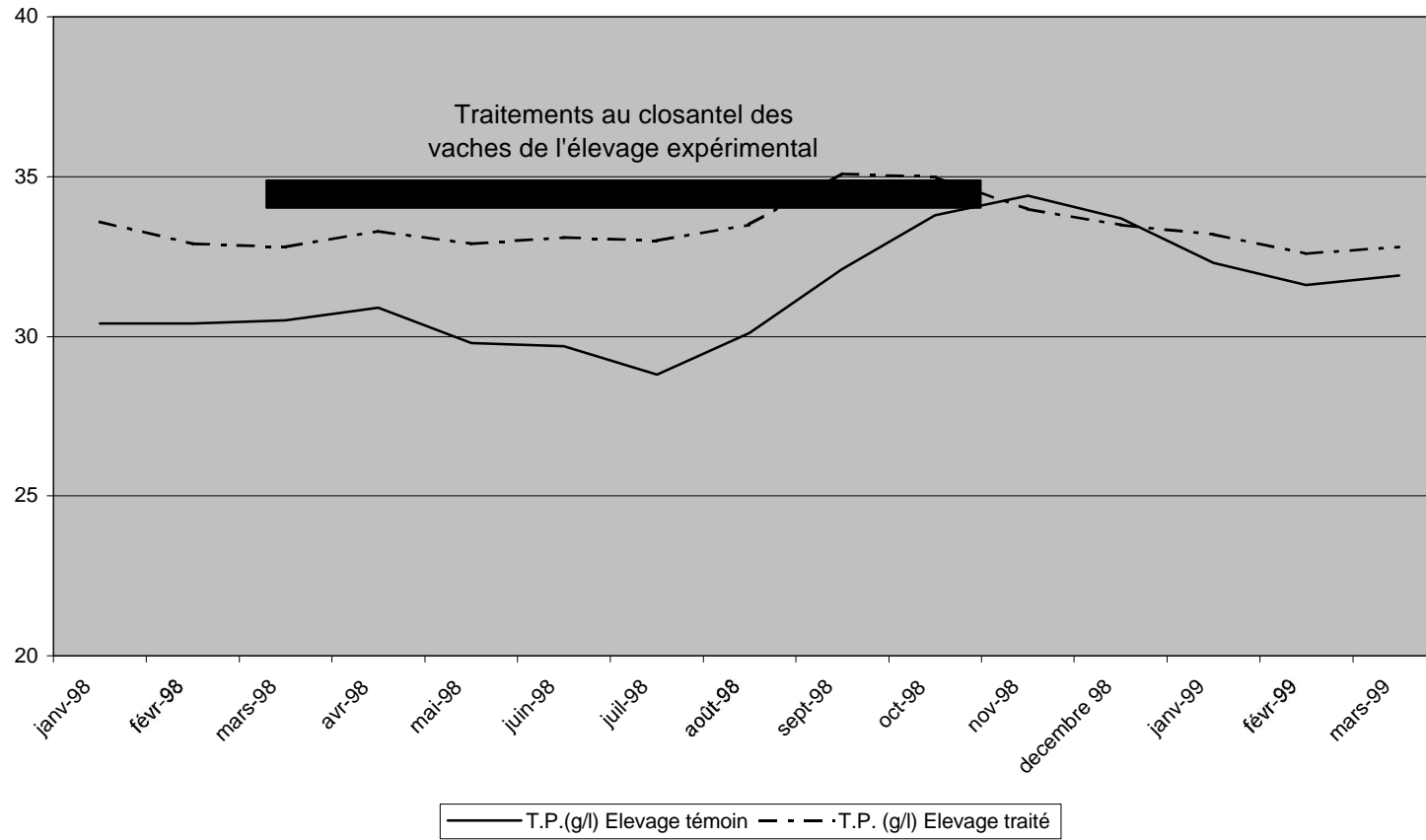
**Figure 5 : Evolution des anticorps anti-*Fasciola hepatica* dans le lait de tank (ELISA Pourquoier).**



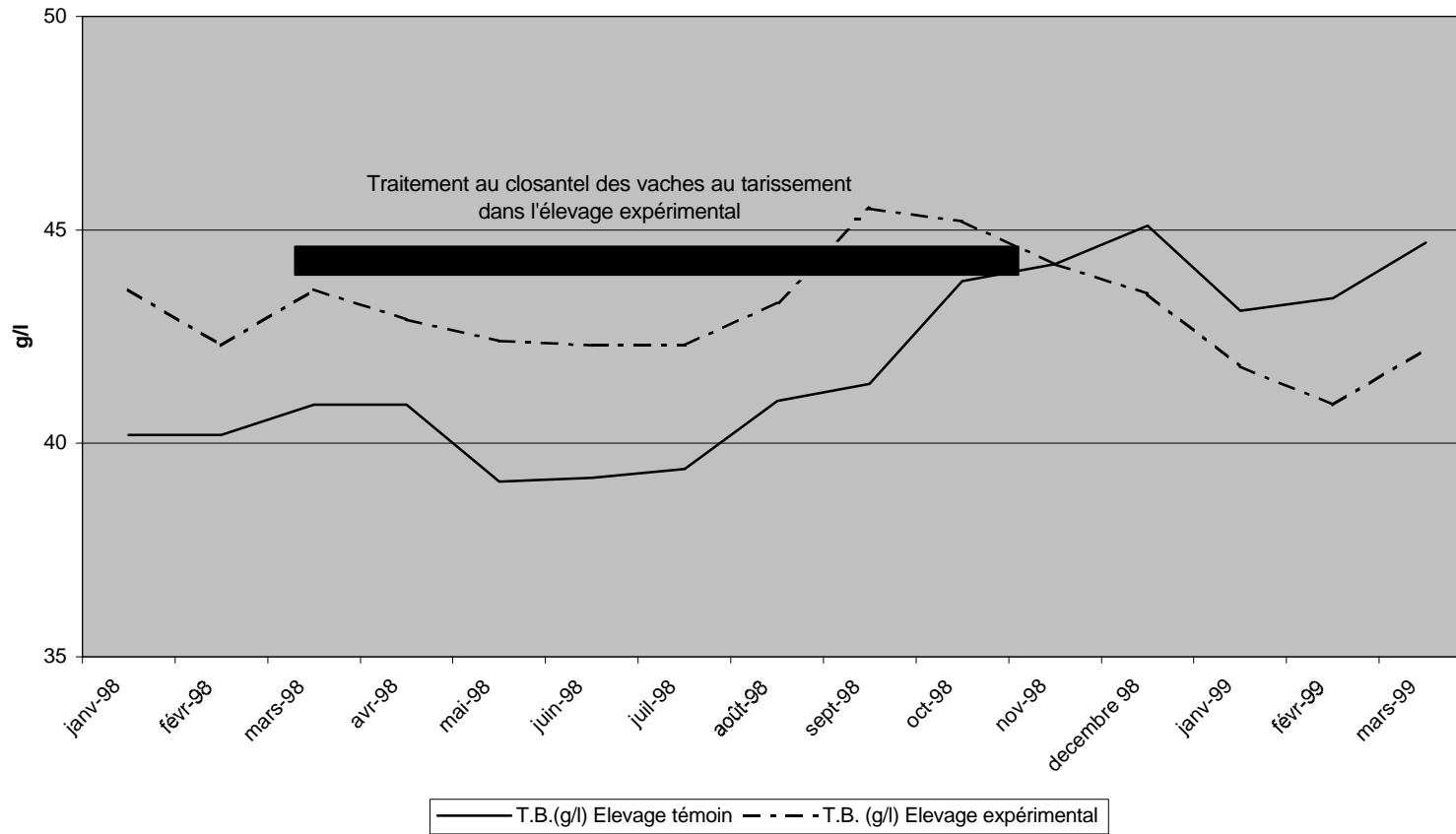
**Figure 6 : Quantité de lait produit par vache traite et par jour.**



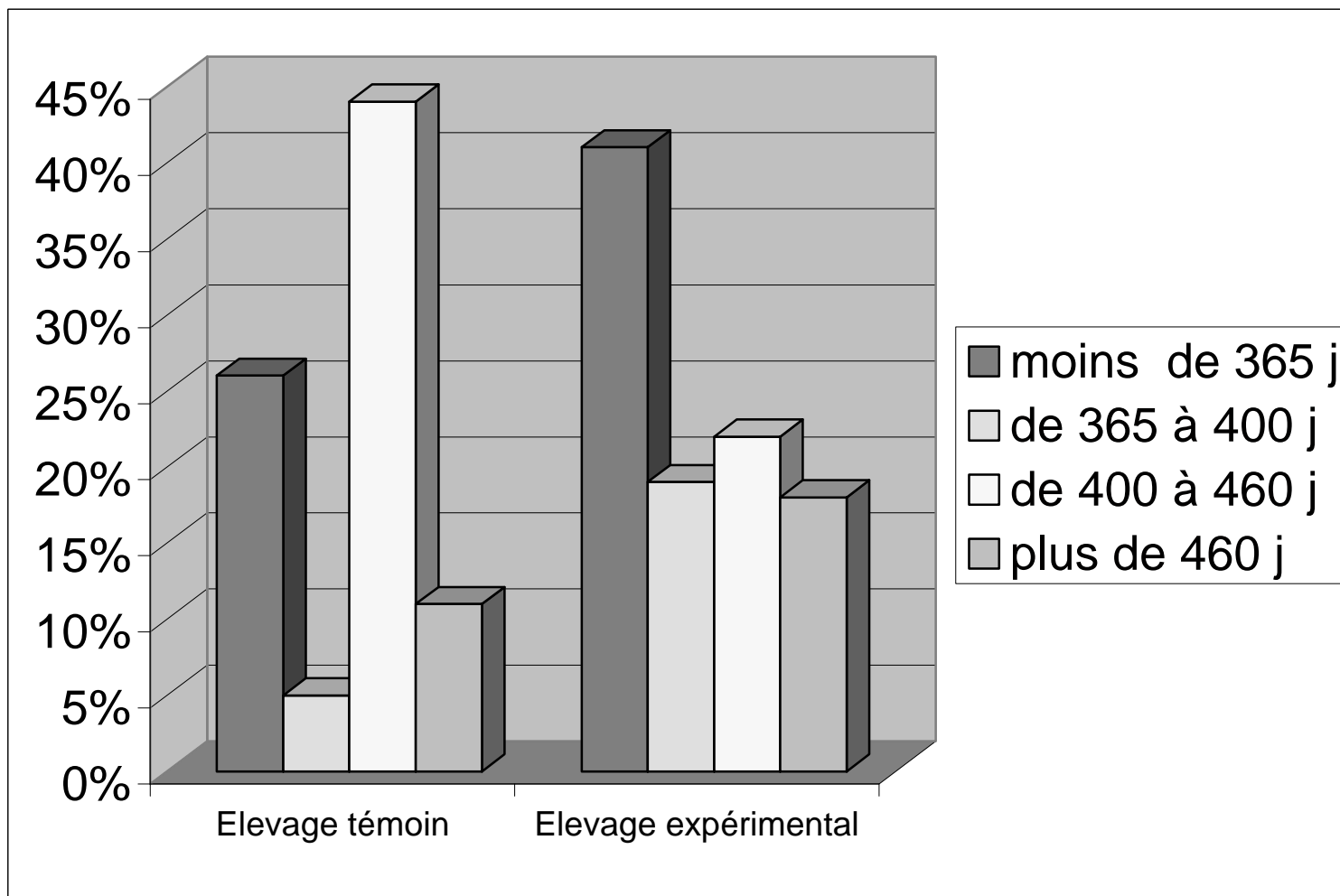
**Figure 7 : Evolution des taux protéiques (g/l)**



**Figure 8 : Evolution des taux butyreux (g/l)**

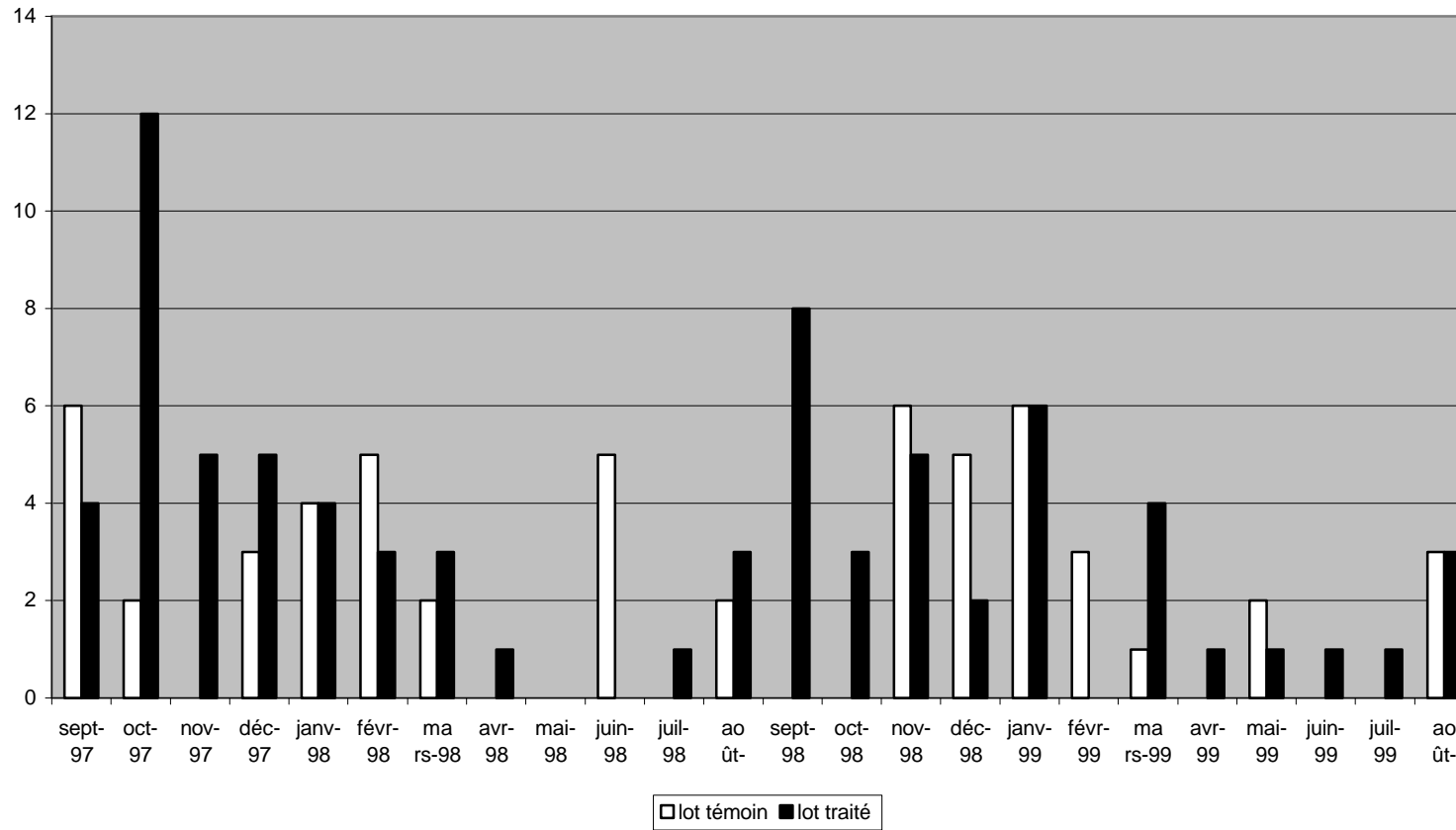


**Figure 9 :**  
**Histogramme de répartition des Intervall es Vêlage-Vêlage.**

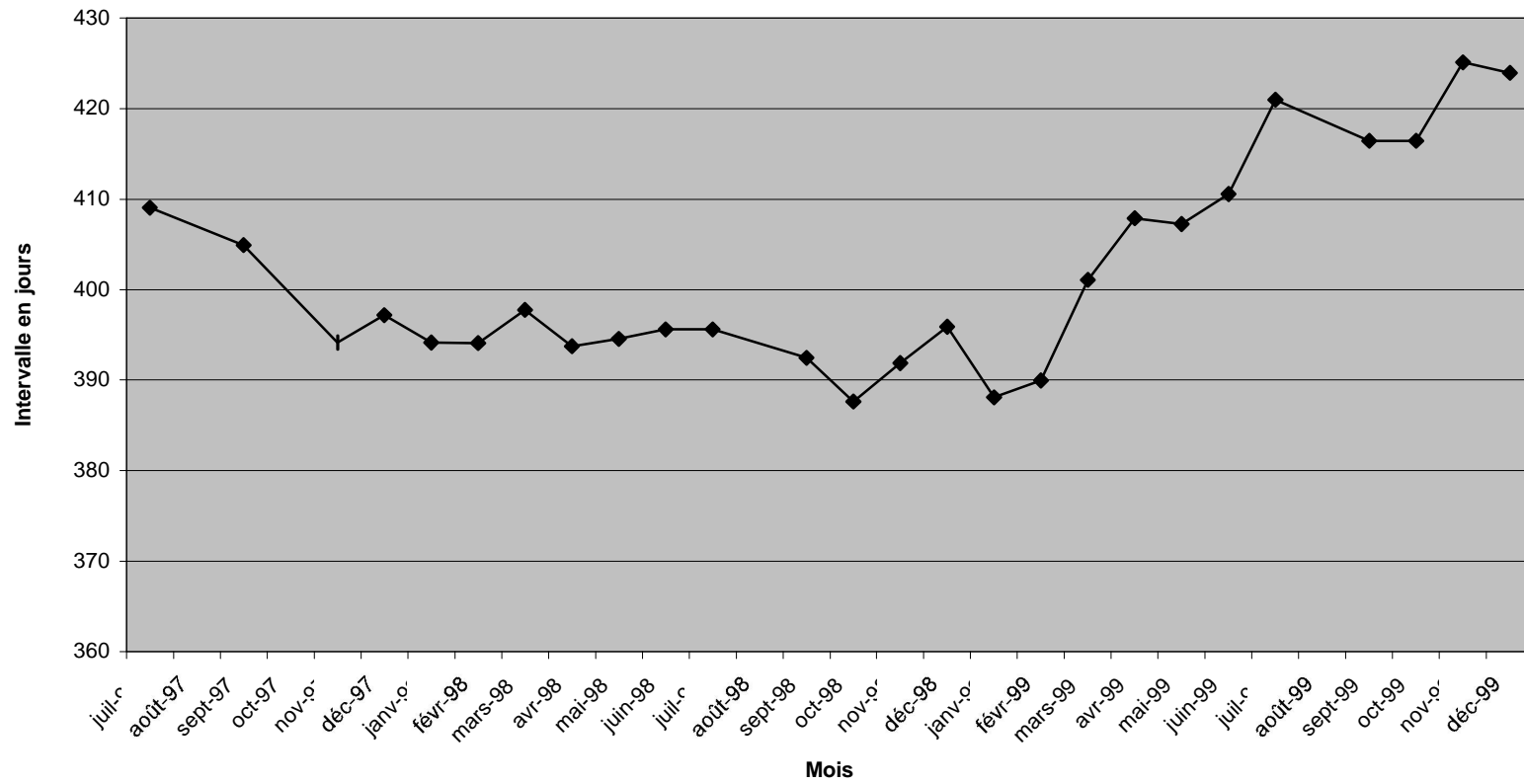




**Figure 10 : Nombre de vêlages mensuels**



**Figure 11 : Evolution de l'intervalle vêlage-vêlage dans le troupeau de bovins expérimental.**



Toulouse, 2001

Nom : DONNADIEU

Prénom : Dominique

Titre : traitement et prévention de la Fasciolose à *Fasciola hepatica* en élevage bovin laitier : essai d'un protocole utilisant le closantel et l'oxyclozanide.

Résumé :

La fasciolose à *Fasciola hepatica* est une parasitose très répandue dans les élevages en France et est cause de sous-productivité en élevages ovins et bovins. Ceci est d'autant plus marqué dans les zones où les animaux sont amenés à pâturer des prairies naturelles comme dans la région Limousin. Cela oblige les éleveurs à traiter animaux et pâtures pour contrôler cette parasitose.

L'élevage de bovins laitiers se trouve en plus confronté au problème des résidus médicamenteux dans le lait, générateurs de délais d'attente incompatibles avec la livraison quotidienne du lait. L'emploi d'un antiparasitaire sans délai d'attente est la solution employée le plus souvent par les éleveurs mais peut s'avérer insuffisante : l'idée de faire un traitement au tarissement offre l'avantage de s'affranchir de cette contrainte. Aussi, dans le cadre de deux élevages choisis dans le sud du Limousin et ayant des problèmes de fasciolose, un traitement au closantel a été effectué au tarissement en plus du traitement à l'oxyclozanide employé jusque là seul par les éleveurs. Un seul des deux élevages a subi le traitement au closantel alors que l'autre conservait le protocole antiparasitaire avec l'oxyclozanide.

Le suivi sur une année de l'infestation des bovins a été réalisé de même que l'évolution des données technico-économiques (production laitière, résultats de reproduction). S'il en ressort une certaine efficacité du traitement au closantel, on perçoit nettement par le suivi de l'élevage traité que le seul aspect parasitaire ne peut suffir à expliquer des baisses de performances ou une sous-productivité.

Mots-clés : fasciolose, *Fasciola hepatica*, bovins laitiers, traitement, prévention, closantel, oxyclozanide.

---

English title : fascioliosis due to *Fasciola hepatica* in dairy cattle: trial with closantel and oxyclozanide.

Abstract :

Fascioliosis, due to *Fasciola hepatica*, is a widely parasitosis in French breedings and caused often low productivity in cattle and sheep breedings. This phenomenon is more acute in areas where animals have to go on natural pastures like in Limousin. Breeders have to treat animals and pastures to limit this parasitosis. In addition, dairy cattle breedings have to take into account residues in milk which means withholding time. The use of antiparasitic without withholding time is commonly adopted by breeders but it can be unsatisfactory. The idea to treat at the end of lactation let the possibility of using a drug without taking into account withholding time. Also, two *F. hepatica* infected dairy cattle herds were chosen in south Limousin. A treatment with closantel at the end of lactation was added to the oxyclozanide treatment in one of the two cattle herds ; the other one continuing the treatment with oxyclozanide alone.

Levels of cows' infestation and evolution of technico-economic results (dairy production, reproduction) have been followed for one year. If some efficiency of the treatment was noticed, it is obvious that, in the treated group parasitic aspects cannot explain alone productivity and performances losses.

Keywords : fascioliosis, *Fasciola hepatica*, dairy cattle, treatment, prevention, closantel, oxyclozanide.