

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

ANNEE 2015

**ANALYSE DES RISQUES DE PARAMPHISTOMOSE  
BOVINE DANS LES ELEVAGES BIOLOGIQUES DE  
LOIRE-ATLANTIQUE ET EVALUATION DE  
L'EFFICACITE DE TRAITEMENTS  
D'AROMATHERAPIE**

THESE  
pour le  
diplôme d'Etat  
de

DOCTEUR VETERINAIRE

présentée et soutenue publiquement  
le vendredi 6 novembre 2015  
devant  
la Faculté de Médecine de Nantes  
par

**Jeanne-Alice, Marie Rault**

Née le 12 février 1990 à REDON (35)

JURY

- Président :** Monsieur Michel MARJOLET  
Professeur à la Faculté de Médecine de Nantes
- Rapporteur :** Monsieur Alain CHAUVIN  
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de  
l'Alimentation Nantes Atlantique - Oniris
- Assesseur :** Monsieur Christophe CHARTIER  
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de  
l'Alimentation Nantes Atlantique - Oniris



## ENSEIGNANTS-CHERCHEURS DE ONIRIS

Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire  
et de l'Alimentation Nantes Atlantique

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE, PATHOLOGIE ET SCIENCE DE L'ALIMENT		
<b>NUTRITION et ENDOCRINOLOGIE</b>	Patrick NGUYEN (Pr) Henri DUMON (Pr)	Brigitte SILIART (Pr) Lucile MARTIN (Pr)
<b>PHARMACOLOGIE et TOXICOLOGIE</b>	Yassine MALLEM (MCC) Martine KAMMERER (Pr)	Hervé POULIQUEN (Pr) Jean-Claude DESFONTIS (Pr)
<b>PHYSIOLOGIE FONCTIONNELLE CELLULAIRE et MOLECULAIRE</b>	Lionel MARTIGNAT (Pr) Jean-Marie BACH (Pr)	Grégoire MIGNOT (MC) Julie HERVE (MC)
<b>HISTOLOGIE ET ANATOMIE PATHOLOGIQUE</b>	Jérôme ABADIE (MC)	Frédérique NGUYEN (MC) Marie-Anne COLLE (Pr)
<b>PATHOLOGIE GENERALE, MICROBIOLOGIE et IMMUNOLOGIE</b>	François MEURENS (Pr) Jean-Louis PELLERIN (Pr)	Hervé SEBBAG (MC) Emmanuelle MOREAU (MC)
<b>BIOCHIMIE ALIMENTAIRE INDUSTRIELLE</b>	Laurent LE THUAUT (MC) Thierry SEROT (Pr) Joëlle GRUA (MC)	Carole PROST (Pr) Florence TEXIER (MC) Mathilde MOSSER (MCC) Clément CATANEO (MC)
<b>MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE INDUSTRIELLE</b>	Xavier DOUSSET (Pr) Bénédicte SORIN (Chef de travaux) Bernard ONNO (MC)	Hervé PREVOST (Pr) Emmanuel JAFFRES (MC) Nabila BERREHRAH-HADDAD (MC)
DEPARTEMENT DE SANTE DES ANIMAUX D'ELEVAGE ET SANTE PUBLIQUE		
<b>HYGIENE ET QUALITE DES ALIMENTS</b>	Michel FEDERIGHI (Pr) Bruno LEBIZEC (Pr) Catherine MAGRAS-RESCH (Pr)	Eric DROMIGNY (MC) Marie-France PILET (MC) Jean-Michel CAPPELLIER (Pr)
<b>MEDECINE DES ANIMAUX D'ELEVAGE</b>	Arlette LAVAL (Pr émérite) Catherine BELLOC (MC) Isabelle BREYTON (MC) Christophe CHARTIER (Pr)	Alain DOUART (MC) Sébastien ASSIE (MC) Raphaël GUATTEO (Pr) Mily LEBLANC-MARIDOR (MCC)
<b>PARASITOLOGIE GENERALES, PARASITOLOGIE DES ANIMAUX DE RENTE, FAUNE SAUVAGE et PATHOLOGIE AQUACOLE</b>	Monique L'HOSTIS (Pr) Alain CHAUVIN (Pr) Albert AGOULON (MC)	Guillaume LEBLANC (MC) Ségolène CALVEZ (MC) Suzanne BASTIAN-ORANGE (MC)
<b>MALADIE REGLEMENTEE, REGLEMENTATION SANITAIRE, ZONNOSES</b>	Jean-Pierre GANIERE (Pr émérite) Carole PERROZ (MC)	Nathalie RUOVEN-CLOUET (MC)
<b>ZOOTECHE</b>	Aurélien MADOUASSE (MCC) Xavier MALHER (Pr) François BEAUDEAU (Pr)	Christine FOURICHON (MC) Nathalie BAREILLE (Pr)
DEPARTEMENT DE SCIENCES CLINIQUES		
<b>ANATOMIE COMPAREE</b>	Eric BETTI (MC)	Claire DOUART (MC) Claude GUINTARD (MC)
<b>PATHOLOGIE CHIRURGICALE, ANESTHESIOLOGIE</b>	Olivier GAUTHIER (Pr) Béatrice LIJOUR (MC) Eric AGUADO (MC) Caroline TESSIER (MC)	Gwenola TOUZOT-JOURDE (MCC) Olivier GEFFROY (Pr) Eric GOYENVALLE (MC) Pr Pierre BARREAU (Pr A)
<b>PARASITOLOGIE, AQUACULTURE, FAUNE SAUVAGE</b>	Patrick BOURDEAU (Pr)	Vincent BRUET (MC)
<b>MEDECINE INTERNE, IMAGERIE MEDICALE et LEGISLATION PROFESSIONNELLE</b>	Yves LEGEAY (Pr) Dominique FANUEL (Pr) Anne COUROUCE-MALBLANC (MC) Catherine IBISH (Pr) Nicolas CHOUIN (MC)	Marion FUSELLIER-TESSON (MC) Jack-Yves DESCHAMPS (Pr) Odile SENECA (MC) Françoise ROUX (MC)
<b>BIOTECHNOLOGIES et PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION</b>	Daniel TAINURIER (Pr) Francis FIENI (Pr) Jean-François BRUYAS (Pr)	Lamia BRIAND-AMIRAT (MC) Djemil BENCHARIF (MC)

DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCÉDES ALIMENTAIRES		
Lionel BOILLEREAUX (Pr) Dominique COLIN (MC) Sébastien CURET PLOQUIN (MC) Marie DE LAMBALLERIE (Pr) Dominique DELLA VALLE (MC) Francine FAYOLLE (Pr) Michel HAVET (Pr) Dr TOUBLANC Cyril (MC)	Vanessa JURY (MC) Alain LEBAIL (Pr) Catherine LOISEL (MC) Jean-Yves MONTEAU (MC) Denis PONCELET (Pr) Olivier ROUAUD (MC) Laurence POTTIER (MC)	
DEPARTEMENT DE MANAGEMENT, STATISTIQUE ET COMMUNICATION		
<b>MATHEMATIQUES, STATISTIQUES, INFORMATIQUE</b>	Véronique CARIOU (MC) Philippe COURCOUX (MC) El Mostafa QANNARI (Pr)	Michel SEMENOU (MC) Chantal THORIN (PCEA) Evelyne VIGNEAU (Pr)
<b>ECONOMIE, GESTION, LEGISLATION</b>	Pascal BARILLOT (MC) Yvan DUFEU (MC) Florence BEAUGRAND (MC)	Jean-Marc FERRANDI (Pr) Sonia EL MAHJOUB (MC) Sybille DUCHAINE (MC)
<b>COMMUNICATION, LANGUES</b>	Franck INSIGNARES (PCEA) Linda MORRIS (PCEA) David GUYLER (PCEA)	Marc BRIDOU (PCEA) Shaun MEEHAN (PCEA) Fabiola ASENCIO (PCEA)

**Pr** : Professeur,

**Pr A** : Professeur Associé,

**Pr I** : Professeur Invité,

**MC** : Maître de Conférences,

**MCC** : Maître de Conférences Contractuel,

**AERC** : Assistant d'enseignement et de recherches,

**PLEA** : Professeur Lycée Enseignement Agricole,

**PCEA** : Professeur certifié enseignement agricole

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

RAULT J-A., (2015). Analyse des risques de paramphistomose bovine dans les élevages biologiques de Loire-Atlantique et évaluation de l'efficacité de traitements d'aromathérapie. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Nantes. Oniris : Ecole Nationale Vétérinaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, 124 p.

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



## Remerciements

**A Monsieur Michel Marjolet,**

Professeur à la Faculté de Médecine de Nantes,  
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury,  
*Hommage respectueux.*

**A Monsieur Alain Chauvin,**

Professeur à Oniris,  
Pour m'avoir proposé ce sujet et avoir encadré cette thèse.  
*Sincères remerciements.*

**A Monsieur Christophe Chartier,**

Professeur à Oniris,  
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de participer à ce jury de thèse.  
*Sincères remerciements.*

**A Olivier Linclau et à Laurence Jouet et Catherine Roffet,**

Du Groupement des Agriculteurs Biologiques de Loire-Atlantique,  
Pour leur disponibilité et pour m'avoir fait découvrir une autre facette de l'élevage et de la médecine vétérinaire.  
*Un grand merci.*

**A Marie-Astrid et Marie-Océane,**

Pour ces (longues) heures agréables de coproscopies en votre compagnie (Gradur représente !)  
*Un grand merci.*

**A Nadine et Anne,**

Pour leur gentillesse et leur aide plus que précieuse en statistique.  
*Un grand merci.*

**A Nadine Ravinet,**

Pour sa gentillesse, et le temps consacré à la préparation de l'oral. Une très bonne professeure.  
*Un grand merci.*

**Aux éleveurs** ayant accepté mes visites régulières en élevage.

Pour leur disponibilité, leur gentillesse, leur patience, leur ouverture d'esprit et leur partage de connaissances.  
*Un grand merci.*

**A tous mes maîtres de stages,**

Pour le temps consacré à ma formation.  
*Un grand merci.*

Des remerciements particuliers aux **vétérinaires et ASV de la clinique vétérinaire de Redon** pour leur accueil toujours chaleureux à une stagiaire/ASV/vétérinaire assistante.  
*Un grand merci.*

*A ma famille*, parce que si « on ne choisit pas sa famille », moi c'est vous que j'aurais choisi de toute façon.

**A mes parents**, pour m'avoir donné une enfance plus qu'heureuse et pour m'avoir toujours soutenu et accompagné.

**A mes frères**, dont je suis très fière d'être la grande sœur.

**Yves-Marie**, merci pour ta relecture attentive d'un sujet pas forcément passionnant pour toi et pour ton expertise en anglais !

**Pierre-Alban**, j'en profite pour te glisser un message d'encouragement pour la prépa. Tu es capable de faire tout ce que tu veux.

Je vous aime.

**A mes grands-parents**,

**Mamie** pour ces réunions de famille à Paimpont dissipées, colorées, bruyantes, joyeuses, riches en victuailles et surtout en amour.

**Mémé**, toi et pépé avez été toujours présents pour moi. Tu es quelqu'un d'admirable.

**A mes nombreux oncles et tantes**, que je suis heureuse de retrouver les dimanches et lors de nos diverses fêtes de famille.

Et enfin, **à tous mes cousins**, en particulier ceux du côté Rault, pour ces foot-rugby, parties de cartes et de monopoly... Et parce que même si on se voit moins, quand on se retrouve on est toujours aussi bien ensemble.

*A mes colocos*, parce que vous êtes comme une deuxième famille. Parce que j'ai eu une chance folle de vous connaître dès la prépa et parce que je ne vous lâcherais plus maintenant !

**Meg-Anne**, ma petite Meg-Anne, je vais passer outre tes raisons de me parler la première fois, mais tu as très bien fait ! De nos vendredi de révisions en prépa à nos soirées endiablées ou encore à nos sorties ciné dessin animé, on n'a pas fini de faire des choses ensemble et c'est tant mieux.

**Flo**, être en concubinage ce n'est pas une décision que l'on prend à la légère, mais tu as été un compagnon parfait ☺ Merci d'avoir toujours été là quand j'en ai eu besoin, j'espère pouvoir être à la hauteur de ton amitié.

**Clément**, mon binôme de « disputes ». Merci de me pousser à être toujours meilleure (et par meilleure j'entends diminuer d'un quintal le poids de mes fesses bien sûr).

**Virginie**, ça a été un plaisir de t'accueillir parmi nous. Merci de prendre le relais chez vous pour les retrouvailles entre bio. Et parce que je suis très honoré d'être la marraine du plus beau : **Jethro** !

**Yannou**, cette année en colocation avec toi fut trop courte mais ça a été un plaisir.



*Aux Bios*, parce que avec vous la prépa ce n'est que de bons souvenirs. Et parce que depuis on a pu se créer d'autres souvenirs encore meilleurs ensemble (de villas de vacances en villas de vacances... !)

**Elsa, Julie et Meg-Anne**, on forme un beau quatuor, même si pour ça on doit aller se les cailler sur une plage dans les landes... ☺

**Antoine, Audrey, Boris, Camille, Clément, Félix, Flo, Mathieu, Marie, Maxime, Perrine, Quentin, Sébastien, Solenn, Virginie** .

*Aux Friends*, on se suit depuis la maternelle pour certains, et les années collèges, lycées et suivantes nous ont permis de nous rapprocher encore plus. Parce que on se connaît bien et on s'aime quand même ! Parce qu'à chaque moment de retrouvailles c'est que du bonheur.

**Alex, Anne, Coco, Constance, Edouard, Elise, Guigui, Julie, Lyse, Marco, Marine, Morgan, Nico, Pierrot, Quentin, Vaucelle**.

*Aux Black n'Tizz et Black Ratés*, pour ces 5 poulottages de folie (avec un finish en beauté ; petits foies les 6A !)

**Anaïs, Anne-Laura, Arnaud, Aurélie, Borias, Camille, Caro, Charrette, Céline, Célia, Clément, Cloé, Cunu, Cyrielle, Franco, Gwé, Flo, Fifi, JB, Julien, Jwinnie, Katell, Louis, Léa, Lucie, Lucky, Marie Hascoet et Collard, Meg-Anne, Morue, Nastou, Perrine, Portos, Rapha, Ronan, Rozenn Seb, Sego, Sexy, Foufi, Vinci, Violaine, Xavier...**

*A ces colocs véto*s, où on a passé de bons moments goûters/apéro/repas/jeux de société/soirées/parties de tennis... et surtout où on a pu partager de bons fous rires.

*A l'Impasse*, **Cyrielle, Gros Louis, Julien et Marie**. Ça tombe bien que vous restiez tous à Nantes, vous allez me manquer sinon!

*A la Fat Coloc*, **Lucky et Caro**. Et à mon nouveau coloc **Quentin**, ce fut très bref mais intense (et je me sens beaucoup plus gainé maintenant !).

*A la Mare aux Canards*, **Anaïs, Camille et Vinci**. Et si on ajoute **Meg-Anne, Jwinnie, et Sébichou** cela nous donne un très bon groupe de clinique. Merci les amis.

*Au Piccot et au Linot*, **Caro, Franco, Jwinnie, Rapha, Ronan ...** Merci pour ces nombreuses soirées, celles posées comme les plus mouvementées.

*A l'Arbre à Chatte*, à nos séances Game of Thrones, et pour m'avoir fait découvrir un monument de la culture française avec les Tuches. **Anaïs, Marie, Lucie, Perrine...**

*Au St Macairien*, **Cunu et Alex**.

**A Charrette et Mathilde, Porthos et Vaness, Rozenn et Aurélie**.

*Aux Bagdhadis*, qui m'ont toujours bien accueilli.

*Aux nouveaux habitants de la Fizztinière* qui ont repris avec brio notre chère maison.

*A mes parrains Kro Boys*, avec un aussi bon début à l'école, je ne pouvais y passer que des bonnes années ensuite.

**Agathe, Blanche, Dim, El Louv, El Gaz, Eva, Florence, Fritz, JB, Juliette, Kazouz, Lafond, Lena, Magguy, Maxime, Olivier, Seb, Tim...**

*A mes poulots BNT et BR*, qui sont là pour perpétuer la tradition et qu'on retrouvera avec plaisir à la prochaine Nuit Vêto !

**Violette, Gael, Julien, Caro, Alizée, Cyril, Dino, Marion, Margaux, Giclette, Zlatan, Léopold, Cécile, Réjane, Lancelot, Nico, Philippine...**

*Aux coéquipières du foot*, les « anciennes » et les « jeunes », même si on n'a pas gagné très souvent on aura toujours bien rigolé. Tous en tas !

**Sandy, Lulu, Nanou, Marie, Raphou, Kazouz, Léna, Magguy, Célia, Cyrielle, Ségo, Hélène, Marion, Vinciane, Adèle, Charlotte, Héloïse, Mylène, Sarah, Cécile...**

**Et Porthos**, notre coach favori (et unique), qui a eu la patience de nous gérer pendant les entraînements (« j'ai pas compris/entendu/écouté l'exerciiiiice »)

*A ma coéquipière de thèse, Flavie* (Combrisson, 2015). J'en ai appris des gros mots grâce à toi ☺. Mais tu as vu on en est venu au bout de cette p\*\*\*\*\* de thèse. Et finalement toutes les 2 on n'était pas si mal dans notre bureau non ? On se regrettera dans nos campagnes respectives.

Et parce que les remerciements d'une thèse vête ne peuvent être complets sans citer des animaux, je me vois dans l'obligation de faire un bisou à *Hola*, la dernière de la famille, et *Fizzou* le chef de gang des chats à Redon....

## Table des matières

Liste des figures .....	15
Liste des tableaux .....	17
Liste des annexes.....	18
Liste des abréviations et sigles .....	19
Introduction .....	21
I) PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....	23
A) La Paramphistomose bovine en France.....	23
1) Place du Paramphistome dans la classification .....	23
2) Description du Paramphistome adulte.....	24
3) Description des œufs de paramphistome.....	24
4) Biologie et cycle évolutif du Paramphistome.....	25
4-1) Les étapes du cycle [Figure 5] .....	25
4-1-1) Phase externe.....	25
4-1-2) Phase interne.....	26
4-2) Les hôtes du parasite.....	27
4-2-1) Les hôtes définitifs .....	27
4-2-2) Hôtes intermédiaires.....	27
4-2-2-1) Description des hôtes intermédiaires.....	27
4-2-2-2) Milieu de vie et cycle de l'hôte intermédiaire.....	29
5) Facteurs de risque de la paramphistomose .....	29
5-1) Saisons favorables à l'infestation .....	29
5-2) Risques liés au type de production et à la race .....	30
5-3) Risques liés à l'âge .....	30
5-4) Risques liés au sexe .....	30
5-5) Association avec un risque de parasitisme par la douve.....	30
6) Une augmentation importante de la prévalence de la paramphistomose en France .....	31
6-1) Prévalence des paramphistomes dans la limnée tronquée .....	31
6-2) Prévalence des paramphistomes en France chez le bovin .....	31
7) Les manifestations de la paramphistomose bovine .....	34
7-1) La forme chronique liée aux parasites adultes.....	34
7-1-1) Pathogénie et lésions causées par les adultes .....	34
7-1-2) Tableau clinique de la forme chronique .....	34
7-2) La forme aigüe liée aux parasites immatures.....	35
7-2-1) Pathogénie et lésions causées par les adolescaria.....	35
7-2-2) Tableau clinique de la forme aigüe .....	36
8) Les différentes techniques de laboratoire .....	36
8-1) Diagnostic coproscopique.....	36

8-1-1) Prélèvement de matières fécales.....	36
8-1-2) Description des techniques utilisées.....	37
8-1-2-1) Technique de flottation.....	37
8-1-2-2) Technique de sédimentation.....	38
8-1-3) Interprétation des résultats coproscopiques.....	38
8-2) Diagnostic immunologique.....	38
9) Méthodes de lutte contre la paramphistomose.....	39
9-1) Mesures agronomiques.....	39
9-1-1) Surface à risque de taille réduite : éradication possible.....	39
9-1-2) Surface à risque de taille moyenne : gestion de l'infestation.....	40
9-1-3) Surface à risque très importante : lutte thérapeutique.....	40
9-2) Traitements allopathiques.....	40
9-2-1) Molécules sans efficacité prouvée ou non disponible en France.....	40
9-2-2) L'oxyclozanide : seule molécule utilisable dans le traitement de la paramphistomose.....	41
B) Traitement de la paramphistomose en élevage bovin laitier biologique.....	42
1) L'élevage bovin laitier biologique.....	42
1-1) Historique de l'agriculture biologique.....	42
1-2) Un développement régulier de l'agriculture biologique en France et en Pays de la Loire.....	42
1-3) Cadre de l'agriculture biologique.....	43
1-4) Un organisme d'accompagnement : le GAB 44.....	43
2) Informations sur les paramphistomes à destination des éleveurs biologiques.....	43
3) L'aromathérapie contre la paramphistomose bovine.....	45
3-1) Qu'est-ce que l'aromathérapie ?.....	45
3-1-1) Procédés de fabrication.....	46
3-1-2) Composition chimique.....	46
3-1-3) Usage courant des huiles essentielles.....	48
3-1-4) Législation.....	48
3-2) Efficacité des huiles essentielles en tant qu'antiparasitaire ?.....	49
3-2-1) Activité anti-protozoaire des huiles essentielles.....	49
3-2-2) Activité anti-helminthique des huiles essentielles.....	50
3-2-2-1) Action contre les strongles gastro-intestinaux.....	50
3-2-2-2) Action contre les Trématodes.....	51
II) ETUDE PERSONNELLE.....	53
A) Objectifs.....	53
B) Etat des lieux de la gestion du parasitisme par les éleveurs bios de Loire Atlantique.....	54
1) Matériels et méthodes.....	54
1-1) Questionnaire aux éleveurs [Annexe 1].....	54
1-2) Analyse des données recueillies [Annexe 4 et 5].....	54
1-2-1) Données sur les strongles gastro-intestinaux [Annexe 4].....	54

1-2-2) Données sur les trématodes [Annexe 5] .....	56
1-3) Tests statistiques utilisés .....	56
2) Résultats .....	57
2-1) Gestion du risque vis-à-vis des strongles gastro-intestinaux .....	57
2-1-1) Pratiques de pâturage pour les génisses .....	57
2-1-2) Pratiques de traitement .....	57
2-2) Gestion du risque vis-à-vis des trématodoses .....	58
2-2-1) Gestion du risque fasciolose .....	59
2-2-1-1) Pratique de diagnostic .....	59
2-2-2-2) Pratiques de traitements .....	59
2-2-2) Gestion du risque paramphistomose .....	60
2-2-2-1) Pratiques de diagnostic .....	60
2-2-2-2) Pratiques de traitements .....	60
C) Essai clinique de traitements d'aromathérapie sur la paramphistomose bovine .....	61
1) Matériels et méthodes .....	61
1-1) Sélection des élevages participant à l'étude .....	61
1-2) Visites des pâtures des élevages sélectionnés .....	62
1-3) Essai de traitements d'aromathérapie .....	62
1-3-1) Le choix des traitements .....	62
1-3-2) Déroulement de la phase expérimental [Figure 17] .....	63
1-3-3) Description de la méthode coproscopique employée [Figure 16] .....	64
1-3-3-1) Préparation des matières fécales .....	64
1-3-3-2) Lecture qualitative .....	66
1-3-3-3) Lecture quantitative .....	66
1-1) Analyses statistiques des résultats .....	66
1-4-1) Analyses des données descriptives sur l'infestation des vaches [Annexe 3] .....	66
1-4-2) Analyse des effets des traitements [Annexe 3] .....	67
2) Résultats des visites d'élevage .....	67
2-1) Description générale des élevages .....	67
2-2) État des lieux vis à vis du risque trématode après visite des pâtures .....	68
3) Résultats sur l'efficacité des traitements .....	69
3-1) Situation épidémiologique globale des élevages avant traitement .....	69
3-1-1) Prévalence et intensité d'infestation pour les 6 élevages .....	69
3-1-2) Influence de la parité sur l'excrétion .....	70
3-1-3) Influence de l'excrétion sur la NEC .....	70
3-1-4) Influence de l'excrétion sur la consistance des matières fécale [Figure 19] .....	71
3-1-5) Relation entre la paramphistomose et la fasciolose .....	72
3-2) Situation épidémiologique élevage par élevage avant traitement .....	72
3-2-1) Prévalence et intensité d'excrétion intra-troupeau .....	72

3-2-2) Influence de la parité sur l'excrétion .....	73
3-2-3) Influence de l'excrétion sur la NEC ou la consistance des matières fécales .....	74
3-2-4) Relation entre le parasitisme paramphistome et le parasitisme grande douve .....	74
3-3) Analyse des effets des traitements .....	74
3-3-1) Effets sur la diminution de l'excrétion .....	74
3-3-2) Résultats sur la NEC et la NoteMF .....	77
D) Etude coproscopique sur la variabilité de l'excrétion et la répétabilité de la méthode .....	78
1) Matériels et méthodes.....	78
1-1) Analyse des données sur la variabilité d'excrétion journalière .....	78
1-2) Analyse des données sur la répétabilité de la méthode coproscopique .....	79
2) Résultats statistiques sur la variabilité d'excrétion d'un jour à l'autre.....	79
2-1) Concordance de la positivité sur J1, J2 et J3 .....	79
2-2) Corrélation du nombre d'œufs excrétés sur J1, J2, J3 .....	80
2-3) Concordance du nombre d'œufs excrétés entre J1, J2, J3 .....	81
3) Résultats statistiques sur la répétabilité de la méthode .....	82
3-1) Concordance de la positivité.....	82
3-1) Répétabilité du nombre d'œufs excrété .....	82
3-2-1) Corrélation de la variable « nombre d'œufs » .....	83
3-2-2) Concordance de la variable « nombre d'œufs .....	83
4) Comparaison des deux méthodes : répétition sur un même échantillon ou répétition sur 3 jours de suite.....	84
III) Discussion .....	85
A) Un diagnostic coproscopique améliorable.....	85
1) Une détection satisfaisante des vaches positives.....	85
2) Une variabilité de l'intensité d'excrétion pouvant s'expliquer par divers facteurs .....	86
B) Des signes cliniques non décelables liés à une faible intensité d'infestation .....	86
C) Des mesures de lutte à adapter après une analyse des risques de trématodoses.....	88
1) Le tarissement : un moment clé dans la contamination des vaches laitières .....	88
2) Des mesures agronomiques à mettre en place plutôt que des traitements.....	89
D) Recommandations et perspectives.....	90
Conclusion.....	91
Bibliographie.....	93
Annexes.....	101

## Liste des figures

Figure 1: Position taxonomique des Paramphistomidés.....	23
Figure 2 : Paramphistome adulte, vue ventrale. Photo : Bailly S., 2012.....	24
Figure 3 : Œuf de paramphistome, observé au microscope au grossissement 40, après coproscopie selon la technique de Stoll modifiée. Photo : Rault J-A., 2015.....	24
Figure 4 : Adultes de <i>C. daubneyi</i> fixés sur la muqueuse réticulaire d'un bovin. Photo : Ferreras et al., 2014.....	25
Figure 5 : Cycle évolutif du Paramphistome.....	27
Figure 6 : Coquilles de <i>Galba truncatula</i> . D'après Chauvin, 2012.....	28
Figure 7 : Prévalence de l'infestation des bovins par le paramphistome en France, en 2010 et 2011. D'après Doré et al., 2012.....	33
Figure 8 : Evolution de la surface et du nombre d'exploitations biologiques en France entre 1995 et 2013. D'après l'Agence bio.....	42
Figure 9: Schéma de la technique de distillation des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau.....	46
Figure 10 : Calcul du TCE à partir des données du questionnaire (en vert).....	55
Figure 11 : Temps de Contact Effectif moyen des génisses de 62 élevages.....	57
Figure 12 : Durée de rémanence des traitements utilisés régulièrement par les éleveurs bio du 44. ....	58
Figure 13 : Types de traitements contre la fasciolose utilisés par les éleveurs bios du 44 pour les génisses et les vaches en fonction du risque Trématode.....	59
Figure 14 : Types de traitement contre la paramphistomose utilisés par les éleveurs bio du 44 pour les génisses et les vaches en fonction du risque Trématode.....	60
Figure 15 : Déroulement de la phase expérimentale.....	64
Figure 16 : Technique de Stoll modifiée utilisée pour l'expérimentation.....	65
Figure 17 : Proportions des surfaces de pâture et de zones à risque selon les lots de vaches pour les six élevages de l'étude.....	68
Figure 18 : Niveaux d'excrétion des vaches (n = 185) des 6 troupeaux.....	70
Figure 19 : Consistance des matières fécales en fonction du niveau d'excrétion pour chaque vache (n = 166).....	71
Figure 20 : Intensité d'infestation et prévalence intra-troupeau estimée dans les 6 élevages.....	72
Figure 21 : Statut parasitaire et nombre d'opg excrétés des vaches pour les élevages A, D, E et F.....	73
Figure 22 : Maximum d'intensité d'excrétion à J21, J22 et J23 en fonction du maximum d'intensité d'excrétion à J1, J2 et J3 pour le groupe témoin.....	75
Figure 23 : Maximum d'intensité d'excrétion à J100 en fonction du maximum d'intensité d'excrétion à J1, J2 et J3 pour le groupe témoin.....	75

Figure 24 : Maximum d'intensité d'excrétion à J100 en fonction du maximum d'intensité d'excrétion à J1, J2 et J3 pour le groupe traitement 1.....	75
Figure 25 : Maximum d'intensité d'excrétion à J21, J22 et J23 en fonction du maximum d'intensité d'excrétion à J1, J2 et J3 pour le groupe traitement 1.....	75
Figure 26 : Maximum d'intensité d'excrétion à J100 en fonction du maximum d'intensité d'excrétion à J1-2-3 pour le groupe traitement 2.....	76
Figure 27 : Maximum d'intensité d'excrétion à J21-22-23 en fonction du maximum d'intensité d'excrétion à J1-2-3 pour le groupe traitement 2.....	76
Figure 28 : Nombre d'œufs trouvés à J1 en fonction du nombre d'œufs trouvés à J2 pour une même vache.....	80
Figure 29 : Nombre d'œufs trouvés sur le Témoin 1 en fonction du nombre d'œufs trouvés sur le Témoin 2 pour le même échantillon.....	83



## Liste des tableaux

Tableau I : Critères de distinction des œufs de paramphistome et des œufs de grande douve.....	24
Tableau II : Critères de diagnose de <i>Galba truncatula</i> .....	28
Tableau III : Prévalence de l'infestation dans différentes régions ou départements français.....	32
Tableau IV : Corrélation positive entre le nombre d'œufs par gramme de matières fécales et le nombre de parasites dans le rumen.....	38
Tableau V : Propriétés thérapeutiques de différentes huiles essentielles et de leurs constituants.....	47
Tableau VI : Nombre de vaches laitières (VL) prélevées par élevage à J1 et J2.....	63
Tableau VII : Nombre de vaches prélevées par élevage et répartition des vaches dans les deux groupes de traitement et le groupe témoin.....	64
Tableau VIII : Descriptif général des exploitations de l'essai.....	67
Tableau IX : Intensité de l'excrétion en fonction du numéro de lactation pour chaque vache.....	70
Tableau X : Note d'Etat Corporel en fonction de l'intensité d'excrétion pour chaque vache.....	71
Tableau XI : Valeurs des FECR ET CPCr dans les différents groupes de traitements.....	76
Tableau XII : Effet des traitements sur l'excrétion entre J1-2-3 et J21-22-23.....	77
Tableau XIII : Signification des classes en opg.....	78
Tableau XIV : Grille d'interprétation du coefficient de $\kappa$ .....	79
Tableau XV et XVI : Répartition des répétitions de coproscopies par échantillon entre les élevages et les jours de prélèvements.....	79
Tableau XVII : $\kappa$ global amélioré en fonction du statut parasitaire de la vache pour l'étude de variabilité.....	79
Tableau XVIII : Comparaison des résultats coproscopiques entre J1 et J2 (en vert, les résultats concordants).....	81
Tableau XIX : $\kappa$ global en fonction de l'intensité d'excrétion.....	81
Tableau XX : Comparaison de la positivité du Culot 1 et du Culot 2 sur les échantillons témoins (en vert les résultats concordants).....	82
Tableau XXI : $\kappa$ global amélioré en fonction du statut parasitaire de la vache pour l'étude de répétabilité.....	82
Tableau XXII : Comparaison des résultats coproscopiques pour un même échantillon (en vert, les résultats concordants).....	83

## Liste des annexes

Annexe 1 : Questionnaire 2013 : Mise en place d'une expérimentation sur la gestion des parasites sur les bovins en Bio.....	95
Annexe 2 : ETUDE DE TERRAIN : recherche des zones à risque de Trématodoses (Combrisson, 2015).....	101
Annexe 3 : Tableau de données « évaluation de l'efficacité des traitements d'aromathérapie ».....	107
Annexe 4 : Tableau de données : Analyse des risques SGI avec le questionnaire 2013.....	113
Annexe 5 : Tableau de données : Analyse des risques SGI avec le questionnaire 2013.....	116
Annexe 6 : Bulletin d'analyse de la chromatographie de l'huile essentielle de cannelle utilisée pour le traitement 2.....	120

## Liste des abréviations et sigles

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANMV : Agence Nationale du Médicament Vétérinaire

CE50 : Concentration Efficace 50

CL50 : Concentration Létale 50

EDQM : European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ES : Excrétat/Sécrétat

FNAB : Fédération Nationale d'Agriculture Biologique

GAB : Groupement des Agriculteurs Biologiques

GDS : Groupement de Défense Sanitaire

GIE : Groupement d'Intérêt Economique

HE : Huiles Essentielles

IC : Intervalle de Confiance

NoteMF : Note de consistance des matières fécales

NEC : Note d'Etat Corporel

OGM : Organisme Génétiquement Modifié

Opg : Œufs par gramme

PH : Prim Holstein

SAU : Surface Agricole Utile

SGI : Strongles Gastro-Intestinaux

T0 : Groupe témoin

T1 : Groupe traité par le SOLUPHYT-P

T2 : Groupe traité par la préparation à base d'huile de cannelle

TCE : Temps de Contact Effectif

VICH : International Co-operation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products

VL : Vache Laitière



## Introduction

La Loire Atlantique est le département français avec la plus grande surface agricole occupée par des exploitations biologiques, avec au premier rang, les exploitations bovines laitières (Agence Bio, 2014). Le GAB 44, Groupement d'Agriculture Biologique de Loire Atlantique, est un organisme d'accompagnement de ces structures et vise à développer et promouvoir l'agriculture biologique sur le territoire.

Le présent travail est issu de la volonté du GAB 44 d'aider les éleveurs sur un point sensible en élevage et particulièrement en élevage bovin biologique, le parasitisme. Une des premières approches a été la réalisation d'un état des lieux sur la gestion du pâturage et les pratiques de traitements par les éleveurs adhérents avec un accent porté sur la sensibilisation aux médecines alternatives. Les médecines alternatives comme l'homéopathie, la phytothérapie ou l'aromathérapie commencent progressivement à se faire une place entre les traitements allopathiques chez les éleveurs comme les vétérinaires. Malgré l'existence de formation en humaine, mais aussi spécialement pour les vétérinaires, l'utilisation de ces pratiques reste empirique et fondée sur la satisfaction des utilisateurs. Le domaine de recherche sur les plantes en tant qu'antiparasitaires est très vaste et beaucoup de scientifiques publient à ce sujet en particulier en ce qui concerne la phytothérapie. Les recherches les plus nombreuses pour les animaux concernent les petits ruminants et la lutte contre les strongles gastro-intestinaux (Hoste, 2015). Il manque cependant encore d'applications pratiques et de recherches in-vivo sur les effets des plantes et de leurs produits. Il existe donc encore très peu de preuves d'efficacité de traitement aux huiles essentielles contre les helminthes des bovins.

Pourtant il est ressorti de l'enquête menée par le GAB 44, que les traitements alternatifs sont privilégiés par les éleveurs biologiques lorsqu'il s'agit de lutter contre un parasite particulier : le Paramphistome. L'attention portée à ce parasite en France et en Europe se développe depuis quelques années avec une augmentation du nombre de cas rapportés par les vétérinaires praticiens et l'augmentation du nombre de publication à son sujet. Il est aussi observé une expansion géographique du parasite en France (Doré, 2012, Jozan, 2015). Les signes cliniques décrits dérivent le plus souvent des paramphistomes immatures qui envahissent la muqueuse intestinale et provoquent des entérites hémorragiques (Millar, 2012, Fuertes, 2015). *Calicophoron daubneyi* est le seul paramphistome retrouvée ces dernières années en Europe de l'Ouest (Bailly, 2012, Ferreras, 2014, Zintl, 2014). De plus les effets de l'infestation à *C. daubneyi*, sous sa forme chronique, sont peu mesurables et ne sont pas la première préoccupation des éleveurs. Mais alors que la prévalence augmente en France, des questions se posent sur l'intérêt de lutter contre ce parasite et sur les moyens à utiliser.

L'objectif principal de ce travail était de mesurer l'efficacité de deux traitements aux huiles essentielles par des examens coproscopiques réalisés 3 jours de suite à 21 jours d'intervalle. De plus, nous avons aussi vérifiée la répétabilité de la méthode coproscopique employée ainsi que la variabilité de l'excrétion des œufs de paramphistome sur 3 jours de suite.

Enfin une analyse de questionnaires complétés par 62 éleveurs laitiers biologiques de Loire Atlantique sur les risques parasitaires ainsi qu'une analyse des risques trématodes réalisés dans 6 élevages grâce à une visite des pâtures, ont permis de mettre en évidence certaines pratiques courantes à risque d'infestation parasitaire dans les conduites d'élevage et de pâturage. Des recommandations générales ont été émises suites à ces enquêtes de terrain.



# I) PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

## A) La Paramphistomose bovine en France

### 1) Place du Paramphistome dans la classification

La paramphistomose est une parasitose digestive des ruminants provoquée par la migration dans le duodénum des formes immatures puis par l'accumulation dans le rumen et le réseau des formes adultes d'un ver plat de la famille des Paramphistomidés.

Le Paramphistome est un ver plat, au corps non segmenté, de la classe des Trématodes. C'est un Digène de la famille des Paramphistomidés (Euzéby, 2008). Les Paramphistomidés comptent plusieurs genres tels que *Paramphistomum*, *Cotylophoron* et *Calicophoron* [Figure 1]. Ceux-ci ont une répartition cosmopolite, mais se localisent particulièrement en Asie ou en Afrique tropicale (Lefevre, 2003).

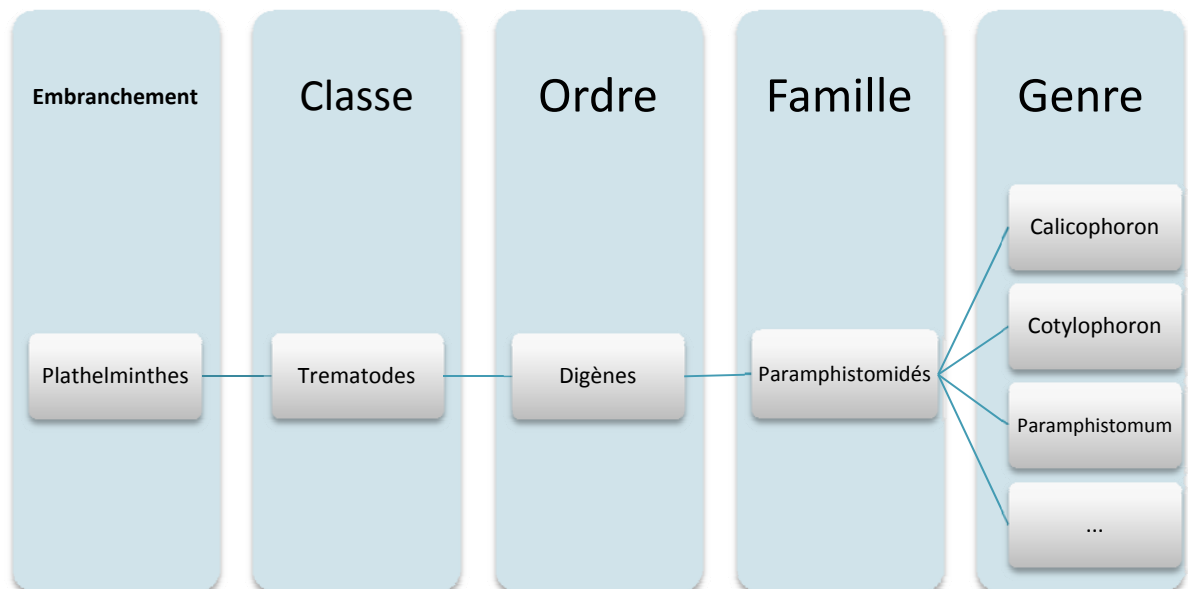


Figure 1 : Position taxonomique des Paramphistomidés.

Les quatre principales espèces que l'on retrouve sur le territoire français sont : *Calicophoron daubneyi*, *Paramphistomum ichikawai*, *Paramphistomum leydeni* (ou *P. cervi*), et *Calicophoron microbothrium* (Camuset, 2013). *C. daubneyi*, longtemps appelé *Paramphistomum daubneyi*, est actuellement l'espèce la plus commune en France et en Europe (Szmidi-Adjidé, 2000, Mage, 2002, Bailly, 2012, Gonzalez-Warleta, 2013, Gordon, 2013, Zintl, 2014).

Actuellement en France le terme Calicophorose devrait être employé pour une parfaite exactitude lorsque l'on parle d'une parasitose causée par *C. daubneyi*, mais de manière générale et conventionnelle c'est le terme paramphistomose qui est employé, englobant toutes les espèces de Paramphistomidés.

## 2) Description du Paramphistome adulte

Les paramphistomes sont des vers coniques roses clairs au corps épais et charnu, mesurant 5 à 15 mm de long et 1,5 à 3 mm de large (Euzeby, 1975), de taille similaire aux papilles ruminales et à la profondeur des réticulations du réseau (Alzieu, 2007). Le parasite adulte est incurvé ventralement avec une partie antérieure plus effilée que la partie postérieure, ce qui lui donne une forme de poire. Le parasite possède une ventouse à chaque extrémité du corps : une petite ventouse buccale à l'extrémité antérieure et à l'extrémité postérieure une ventouse ventrale large et musclée, appelée l'acétabulum, qui va enserrer un repli de muqueuse ou une villosité (Euzeby, 1975) [Figure 2]. Les paramphistomes sont hermaphrodites comme la plupart des trématodes (Lefevre, 2003).



Figure 2 : Paramphistome adulte, vue ventrale. Photo : Bailly S., 2012.

## 3) Description des œufs de paramphistome

Les œufs de paramphistomes ont une paroi épaisse et operculée entourant une masse de cellules vitellines de couleur vert pâle à transparente. Le zygote se trouve en position centrale. Les œufs mesurent de 150 à 170 µm de long et 80 à 95 µm de large (Euzeby, 1975). Ils sont de forme ovale avec un pôle plus effilé que l'autre. On peut parfois observer le syncytium embryonnaire du côté operculé [Figure 3].



Figure 3 : Œuf de paramphistome, observé au microscope au grossissement 40, après coproscopie selon la technique de Stoll modifiée. Photo : Rault J-A., 2015.

La distinction doit être faite avec les œufs de *Fasciola hepatica*, qui bien que de taille et de forme comparable aux œufs de paramphistomes, se reconnaissent par leur couleur jaune et l'existence de pôles symétriques (Dorchies, 1989) [Tableau I] :

Tableau I : Critères de distinction des œufs de paramphistome et des œufs de grande douve.

	<i>Fasciola hepatica</i>	Paramphistomatidés
Taille en µm	130 à 150 x 70 à 90	Selon les espèces : 125 à 150 x 50 à 70 150 à 180 x 75 à 100
Aspect des pôles	égaux	Inégaux : un pôle plus pointu
Couleur	jaune	Incolore ou vert pâle



#### 4) Biologie et cycle évolutif du Paramphistome

Le Paramphistome adulte est un parasite du rumen et du réseau du bovin qui se nourrit essentiellement du contenu digestif. Ils peuvent être moins d'une dizaine à une centaine d'individus à vivre regroupés en plusieurs colonies, fixés aux papilles du rumen ou à la muqueuse du réseau (Alzieu, 2007) [Figure 4].



Figure 4 : Adultes de *C. daubneyi* fixés sur la muqueuse réticulaire d'un bovin. Photo : Ferreras et al., 2014.

Le cycle du Paramphistome est très similaire au cycle de la grande douve, ces deux parasites partageant les mêmes hôtes. Alors que le bovin est l'hôte définitif du paramphistome, un mollusque hôte intermédiaire, est indispensable à la réalisation de son cycle complet [Figure 5].

##### 4-1) Les étapes du cycle [Figure 5]

###### 4-1-1) Phase externe

Les paramphistomes adultes sont très prolifiques et, après une reproduction sexuée dans le rumen du bovin, pondent des œufs en quantité importante. Les œufs suivent alors le transit digestif de la vache et sont émis dans l'environnement avec les matières fécales. Lorsque les œufs tombent dans un milieu aqueux avec des conditions climatiques propices ils vont éclore en miracidium en quelques semaines (10 à 15 jours si les températures optimales de 22 à 28°C sont atteintes) (Euzéby, 1975). Une étude récente a montré l'importance de la lumière dans le développement et l'éclosion des œufs de *C. daubneyi* ; les meilleurs développements in vitro ont été obtenus quand les œufs étaient incubés à 27°C sous la lumière pendant 28 jours et l'éclosion maximale était vue après stimulation thermique suivi de 5 à 7 jours de stimulation lumineuse (Chryssafidis, 2015).

Le miracidium issu de l'œuf a une durée de vie courte (moins de 24 heures) et doit nager pour trouver son mollusque, hôte intermédiaire. C'est son tégument cilié qui lui permet le déplacement. Il existe une attraction importante de la part de l'hôte intermédiaire pour le miracidium et de nombreux individus se retrouvent alors concentrés autour du mollusque (Euzéby, 1975). Au contact du mollusque, le miracidium va pouvoir y pénétrer activement par effraction cutanée. Le miracidium va se loger dans la cavité palléale du mollusque, perdre sa ciliature et se transformer en sporocyste. Par polyembryonie, 10 à 15 rédies vont voir le jour à partir d'un sporocyste. Ces rédies vont rejoindre l'hépatopancréas de l'hôte vers le 20<sup>ème</sup> jour, et donner des rédies filles, voire des rédies petites filles (Euzéby, 1975, Abrous, 1997). Dans des conditions d'infestation expérimentale à *C. daubneyi*, dans *Galba truncatula* élevé à 20°C, le nombre moyen total de rédies trouvées après 49 jours, était de 13,7 avec un maximum à 21 rédies (Abrous 1997).

Finally après un à deux mois de développement dans cet hôte intermédiaire, des procercaires issus de ces rédies vont rejoindre la cavité palléale et se fixer en position sous-épithéliale où elles achèveront leur développement. Elles quittent ensuite le corps du mollusque par le pneumostome (Lefevre, 2003) pour gagner le milieu aqueux. L'émission des cercaires intervient à un délai variable, de 26 à 70 jours, selon l'hôte intermédiaire et les conditions climatiques. Dans les conditions expérimentales vues précédemment les premières procercaires ont été retrouvées au bout de 35 jours, alors que la première émission de cercaire a eu lieu à partir de 42 jours (Abrous, 1997). La sortie active des cercaires serait provoquée à la faveur d'un changement de température brutal, ou sous l'action de la pluie (Camuset, 2013). Les cercaires libres vont alors rapidement se fixer à un support végétal immergé, dans un rayon de 10 cm autour du mollusque, s'y enkyster et former des métacercaires de couleur noire (Euzeby, 1975, Camuset, 2013). Les métacercaires peuvent alors survivre près d'un an en milieu aquatique si la température reste entre 0 et 25°C (Camuset, 2013). Lorsque les conditions ne sont pas favorables à la sortie des cercaires, les formes de multiplication des paramphistomes restent viables durant toute la durée de vie du mollusque.

#### 4-1-2) Phase interne

Le bovin s'infeste au moment du pâturage lors de l'ingestion de brins d'herbe contaminés par les métacercaires. Une fois présents dans la caillette du bovin, sous l'effet des sucs digestifs, les jeunes paramphistomes vont se libérer de leur kyste, migrer et se fixer dans la muqueuse ou sous-muqueuse du duodénum et de la caillette du bovin grâce à leur acétabulum (Millar, 2012). Les adolescaria vont se nourrir de sang pendant 3 à 8 semaines puis vont quitter la paroi et commencer leur migration rétrograde vers le rumen et le réseau où ils se fixeront aux replis de la muqueuse par leur ventouse ventrale (Euzeby, 1975). Le rumen est plus souvent colonisé que le réseau (Gonzales-Warleta, 2013) et les sites privilégiés de fixation du rumen sont l'atrium et l'orifice rumino-réticulaire, alors que le sac dorsal est le lieu le moins parasité (Ferrerias, 2014, Fuertes, 2015).

La ventouse buccale permet aux adultes de se nourrir du contenu des réservoirs gastriques et de débris épithéliaux (Euzeby, 1975). C'est à l'intérieur du réseau et du rumen que le Paramphistome termine son évolution et acquiert sa maturité sexuelle. (Euzeby, 1975). La période prépatente du paramphistome est de 11 semaines, et une fois adulte celui-ci pourrait vivre plusieurs années (Alzieu, 2007). La longévité réelle du parasite est assez controversée, J.A Dinnik et Coll, 1962 cités par Euzeby en 1975, l'évaluent à 7 ans pour *C. microbothrium*, même si ils ont aussi observé des durées de vie inférieures à deux ans chez ce parasite. Cependant, comme beaucoup de parasites, le vieillissement va diminuer la ponte, ainsi il a été montré que la ponte de *C. microbothrium* est maximale environ 11 mois après l'infestation, puis s'affaiblit, jusqu'à devenir nulle au 18<sup>ème</sup> mois (J.A Dinnik et Coll, 1954 dans Euzeby, 1975).

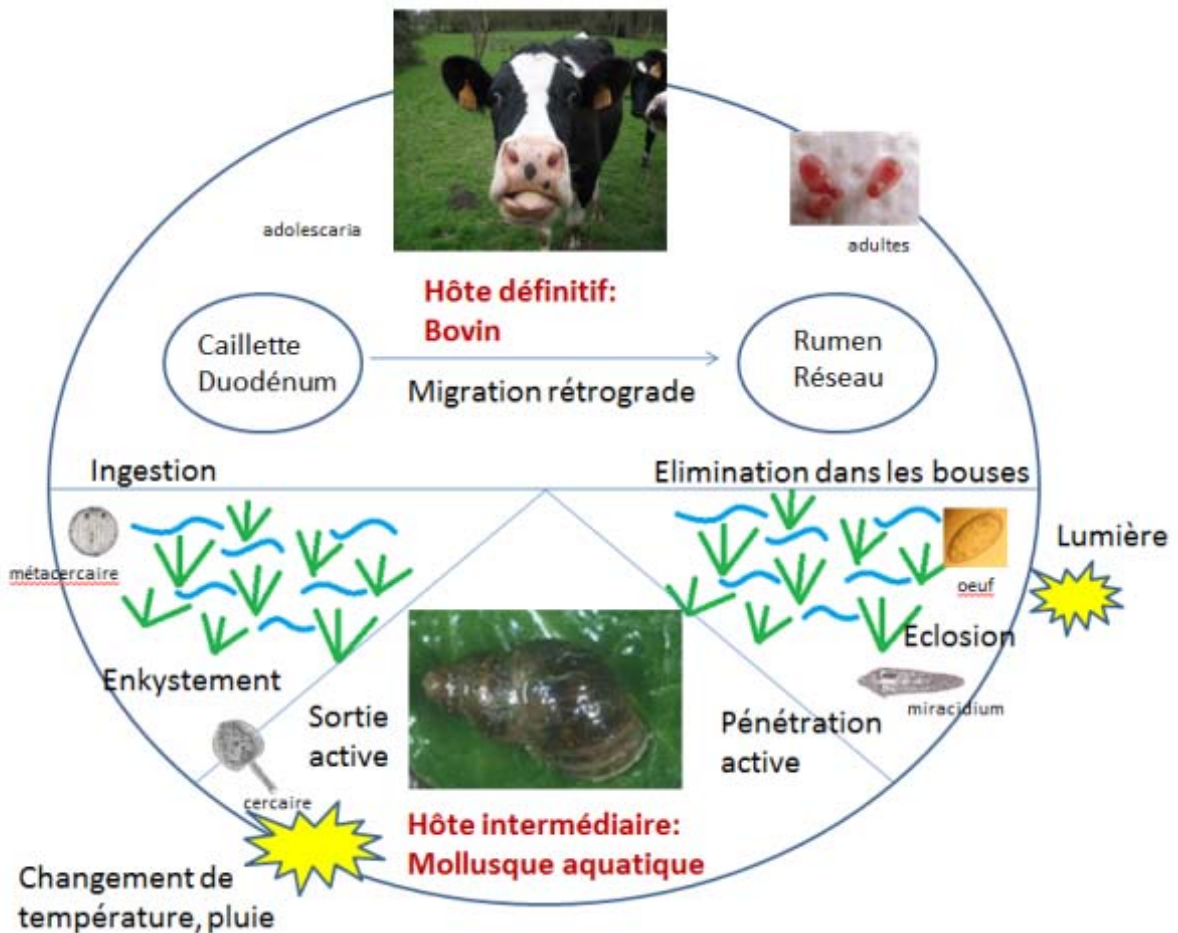


Figure 5 : Cycle évolutif du Paramphistome.

#### 4-2) Les hôtes du parasite

##### 4-2-1) Les hôtes définitifs

Tous les ruminants domestiques sont réceptifs aux paramphistomes, avec des particularités d'hôtes pour chaque espèce de parasite. On peut citer parmi les ruminants domestiques européens sensibles les bovins, ovins, caprins, buffles, etc. Certains ruminants sauvages sont aussi sensibles à l'infestation par ces parasites : antilopes, gazelles, chamois, mouflons, cerfs, chevreuils et daims. (Euzeby, 1975)

En France, *C. daubneyi* semble être un parasite exclusif des bovins, tandis que *P. leydeni* et *P. ichikawai* seraient principalement hébergés par les ovins et moins souvent par les bovins (Sey, 1980 cité par Dorchies, 1998).

##### 4-2-2) Hôtes intermédiaires

###### 4-2-2-1) Description des hôtes intermédiaires

Les hôtes intermédiaires des Paramphistomidés présents en Europe sont des mollusques de la classe des Gastéropodes. Ce sont des escargots d'eau douce, pulmonés, basommatophores avec des yeux non pédonculés situés à la base de longs tentacules aplatis et triangulaires.

Ils appartiennent aux familles des Planorbidés ou des Lymnéidés (Euzeby, 1975). En Europe il s'agit de *Bulinus* sp (bulins), de *Anisus* sp (planorbes) ou encore de différentes espèces de Lymnéidés, *Omphiscola glabra* et *Galba truncatula*.

Les bulins et les planorbes sont des mollusques aquatiques tandis que les limnées sont des mollusques amphibies. La coquille des planorbes est discoïde, spiralée dans un plan et à enroulement senestre. Elle mesure moins de 20 mm. Les bulins ont eux aussi une coquille à enroulement senestre, mais elle est de forme ovale avec une hauteur comprise entre 4 et 25 mm (Euzeby, 1975). Ces Planorbidés seraient les hôtes intermédiaires préférentiels de *P. cervi*, *C. microbothrium* et *P. ichikawai* (Euzeby, 1975), alors que en France *C. daubneyi* aurait une grande spécificité pour les limnées (Camuset, 2013). Les limnées ont une coquille allongée, spiralée à enroulement dextre et mesurent 12 cm de hauteur maximum. Depuis plusieurs années, *C. daubneyi* semble s'être adapté plus particulièrement à la limnée tronquée, *G. truncatula*, qui peut être infestée quasiment à tout âge (jusqu'à 12 mm de hauteur), alors que *O. glabra* ne peut être infestée par un miracidium que lorsque elle mesure moins de 6 mm (Camuset, 2013). Ainsi, lorsque les deux espèces de limnées coexistent dans un même habitat, *C. daubneyi* se développera préférentiellement dans *Galba truncatula* (Abrous, 1999b).

Plusieurs autres espèces de mollusques ont été testées par une infestation expérimentale à *C. daubneyi*, afin de déterminer si elles interviennent comme hôtes intermédiaires dans le cycle du Paramphistome. Seul le développement larvaire a été possible pour 4 sur 8 des juvéniles et des préadultes des espèces testés : *Stagnicola palustris*, avec la prévalence la plus élevée, *Stagnicola fuscus*, *Stagnicola palustris*, *Lymnaea stagnalis* et une physe, avec une prévalence très basse, *Aplexa hypnorum*. Mais c'est seulement en cas de coinfestation avec *Fasciola hepatica* que le développement complet du paramphistome dans *Stagnicola fuscus* et *Stagnicola palustris* a été possible (Abrous, 1999a).

La diagnose d'espèce pour *G. truncatula* se fait en observant la coquille [Figure 6] et en répondant à des critères d'exclusion et d'appartenance [Tableau II].

Tableau II : Critères de diagnose de *Galba truncatula*.

<b>Enroulement dextre</b>	Oui
<b>Présence d'un opercule</b>	Non
<b>Le pied rentre complètement dans la coquille</b>	Oui
<b>Hauteur de l'ouverture supérieure ou égale à ¼ de la hauteur de la coquille mais inférieure ou égale à la moitié de la hauteur de la coquille</b>	Oui
<b>Ouverture de forme ovalaire</b>	Oui
<b>Tours de spires marqués</b>	
<b>Taille adulte inférieure ou égale à 12 mm</b>	



Figure 6 : Coquilles de *Galba truncatula*. D'après Chauvin, 2012.

#### 4-2-2-2) Milieu de vie et cycle de l'hôte intermédiaire

Les limnées tronquées vivent dans des milieux humides tels que des marais, des jonçais, des bords de ruisseaux, sur les berges des mares d'abreuvement, des zones de piétinement, etc. Elles sont généralement regroupées en colonies d'une à plusieurs centaines d'individus dans des gîtes primaires et des gîtes secondaires. Les gîtes primaires sont des habitats permanents où les limnées peuvent survivre toute l'année. Ce sont des gîtes bien éclairés, la lumière étant indispensable au développement des algues microscopiques dont se nourrissent les limnées, et toujours inondés. L'eau est stagnante et de faible profondeur (moins de 10 cm). Cela correspond à des marais, des prairies marécageuses où poussent des joncs, des berges de ruisseaux et de mares, des abords de source, etc.

Les gîtes secondaires ne sont colonisés qu'à certaines périodes de l'année, lorsque les conditions climatiques sont favorables et que l'eau atteint ces gîtes, à la faveur d'une inondation par exemple. Ce sont des zones qui restent humides pendant une grande partie de l'année, et qui se trouvent à proximité de gîtes primaires. Cela peut être des zones de piétinement dans les empreintes de sabot par exemple, ou des zones à proximité d'un abreuvoir qui fuit (Chauvin, 2013).

En hiver, les limnées entrent en vie ralentie dans une zone immergée. Elles commencent à se multiplier et à se déplacer au printemps. On les retrouve alors sur le sol, à une dizaine de centimètre du bord de l'eau, ou sous une faible épaisseur d'eau, dans une zone ensoleillée. En été, alors que les conditions climatiques ne leur sont plus favorables (sécheresse), elles vont résister sous un couvert végétal ou légèrement enfoncés dans le sol. L'automne est également une période propice au développement et à la dispersion des limnées, bien que la ponte soit légèrement plus réduite qu'au printemps (Ximenes, 1993). En général, deux générations de limnées se succèdent chaque année avec une ponte en mai-juin et une autre ponte en octobre-novembre. Lorsque l'année est très humide et douce, 3 générations de limnée tronquée peuvent se développer. Chaque limnée peut vivre 9 à 12 mois et produire jusqu'à 60 descendants (Camuset, 2013).

### 5) Facteurs de risque de la paramphistomose

#### 5-1) Saisons favorables à l'infestation

Il y a deux périodes dans l'année où le risque d'infestation par le Paramphistome est le plus élevé, elles correspondent aux périodes de développement des limnées : le printemps et l'automne. L'infestation des bovins en mai est possible grâce aux pluies de janvier-février ayant permis la reprise du développement des limnées tronquées transhivernantes. De même, le temps plus humide du début d'automne, permet l'émission des cercaires par les limnées de printemps ayant survécus pendant l'été. La période à risque est plus longue pour les paramphistomes que pour la grande douve, car l'émission des métacercaires par les mollusques se fait à des températures un peu plus basses que pour les métacercaires de *Fasciola sp.* Paradoxalement les périodes de sécheresse prolongée peuvent favoriser l'infestation des bovins, car ceux-ci se concentrent alors dans des zones humides où ils peuvent consommer plus d'herbe contaminée (Alzieu, 2007).

Cependant, diverses études convergent à montrer que l'essentiel de la contamination des bovins a lieu en automne. Le nombre de bovins excréant des œufs de paramphistomes augmente régulièrement à partir de septembre (Mage, 2002) ou octobre (Mage 1998). Dorchies (1998), quant à lui, note l'apparition de l'excrétion des œufs par les bovins au cours de l'hiver. Dans tous les cas la prévalence la plus basse est retrouvée sur les deux mois d'été (Szmidt-Adijé, 2000, Mage, 2002).

En Irlande, une prévalence maximum ainsi qu'un pic d'excrétion sont notés en juillet, avec une diminution à la fin de l'automne. Cela est lié aux pluies régulières au printemps qui permettent l'accumulation graduelle des métacercaires (Zintl, 2014).

### ***5-2) Risques liés au type de production et à la race***

Alors que plusieurs auteurs n'ont pas trouvé de lien entre le type de production et la prévalence (Szmidt-Adijée, 2000, Rieu, 2004, Ferreras, 2014), les études tendent à prouver que les bovins allaitants sont plus touchés que les bovins laitiers. Deux thèses vétérinaires, celle de Loock en 2001, dans l'Est de la France, et celle de Bailly en 2012, dans le centre de la France, établissent une corrélation entre la prévalence et le type de production (39,4 % et 88,2 % de vaches allaitantes parasitées contre 13,9 % et 55,8 % chez les vaches laitières). De même ces résultats sont retrouvés en Espagne (Gonzales-Warleta, 2013). Ces prévalences sont néanmoins à considérer avec précaution, parce que comme démontré par Ferreras et al. (2014), le nombre d'animaux parasités et la charge parasitaire sont plus élevés dans des élevages semi-intensif qu'intensif. Or l'élevage allaitant est souvent beaucoup plus extensif que l'élevage laitier, avec des temps de pâturage et des durées de vie plus longs pour les animaux. Compte tenu du mode de contamination par les paramphistomes les bovins avec les temps de pâture les plus longs ont un risque plus élevé d'être infestés. De même, les études de prédispositions raciales doivent être prises avec précaution, car il y a une forte interaction de la prévalence avec le type de production et la région d'étude.

### ***5-3) Risques liés à l'âge***

Les résultats sur une corrélation entre l'âge et la prévalence de la paramphistomose sont très contrastés. Alors que plusieurs études : Dorchies et al. (1998), Loock (2003), Rieu (2004), Ferreras et al. (2014), montrent une association positive entre la vieillesse des animaux et la prévalence, Szmidt-Adijé et al. (2000) et Bailly (2012) ne trouvent pas de relation entre ces deux paramètres. De plus en Espagne, une publication fait état d'une prévalence plus élevée pour les animaux les plus jeunes (0 à 2 ans), tandis que les bovins les plus vieux (3 à 5 ans) étaient les moins parasités et ceux qui excrétaient le moins d'œufs par gramme de fèces (Diaz, 2006). De même, Sanchis et al. en 2013, trouvent par coproscopie, une prévalence plus grande chez des animaux ayant entre 2,5 et 7 ans, alors que ceux de plus de 7 ans sont les animaux les moins parasités. Là encore ces résultats peuvent dépendre des contextes d'élevages et des conditions environnementales dans lesquelles sont élevés les bovins.

### ***5-4) Risques liés au sexe***

Il n'est pas possible de faire de lien entre le sexe et la prévalence chez les bovins. Ferreras et al. (2014), ont trouvé que les femelles de leur étude étaient significativement plus infestées que les mâles, mais ce résultat peut être biaisé par le fait que les femelles étaient abattues plus tard et que la recherche de paramphistome ne se faisait qu'au moment de l'abattage. De même alors que la détermination de la prévalence était effectuée à l'abattoir par Szmidt-Adjidé et al. (2000), les femelles semblaient plus fréquemment parasitées que les mâles. Ceci peut s'expliquer par le fait que les femelles envoyées à l'abattoir étaient sélectionnées sur des diminution de production ou des problèmes sanitaires, et que celles-ci avaient pu passer plus de temps en pâturage que les mâles conservés à l'engraissement en bâtiment. Loock (2003), pour sa part, ne décèle pas de différence significative liée au sexe

### ***5-5) Association avec un risque de parasitisme par la douve***

Il semble que l'infestation par la grande douve et les paramphistomes ne soit pas corrélée, bien que les cycles de ces parasites soient similaires. Seule l'étude de Szmidt-Adjidé et al. (2000), montre que la présence de paramphistome chez un bovin entraîne un risque plus élevé de trouver de la grande douve par coproscopie chez ce même bovin. Par contre, une étude réalisée sur 15 troupeaux de vaches Prim Holstein ou Montbéliardes, montre une prévalence de 100 % pour le Paramphistome alors que les prévalences en douve (détection par ELISA sur le copro-antigène, sérologie ou coproscopie)

varient de 0 à 100 % au sein de chaque troupeau. A l'échelle du troupeau on ne peut pas prédire la présence de *Fasciola* sp au sein d'une exploitation, même si celle-ci est contaminée par le paramphistome (Devos, 2010). La même discordance est observé lors de prélèvements en abattoir (Rieu, 2004), ou avec des coproscopies entre 1990 et 1999 dans le Limousin (Mage, 2002). A Epinac, en Saône et Loire entre 1999 et 2007, les analyses coproscopiques montraient une prévalence en paramphistomes intra et inter troupeaux élevée (62 % et 100 %) alors que seulement 5 % des bovins présentaient une coproscopie positive en fasciolose et que la prévalence des troupeaux positifs était de 25 % (Courouble, 2015). Il faut cependant souligner, que vu la faible sensibilité des coproscopies pour la recherche de *F. hepatica*, le fait de ne pas trouver d'œufs ne signe pas l'absence d'infestation, mais un niveau d'infestation faible. Il est plus facile de diagnostiquer de la paramphistomose que de la fasciolose par coproscopie, ce qui peut fausser les résultats présentés précédemment. Il n'y a pas de relation claire entre l'infestation par les paramphistomes et par la grande douve.

## **6) Une augmentation importante de la prévalence de la paramphistomose en France**

### **6-1) Prévalence des paramphistomes dans la limnée tronquée**

En France, l'hôte principal des paramphistomes est la limnée tronquée: *Galba truncatula*. La prévalence de *C. daubneyi* dans ce mollusque est en augmentation ces dernières années. En Corrèze, alors que l'on ne trouvait pas de parasites dans les limnées en 1989, 5,3 % des mollusques étaient parasités en 2000 (Camuset, 2013). Des pourcentages encore plus élevés sont relevés en 1996, dans 6 départements du centre de la France, où la prévalence d'escargots infectés par *C. daubneyi* allait de 0 à 20,6 %, avec une moyenne de 11 % (Abrous, 1999). On retrouve des chiffres plus faibles entre 2005 et 2008, en Haute Vienne, avec une moyenne de la prévalence de l'infection de *G.truncatula* à 2,6 % (Dreyfuss, 2014). Il est important de noter que l'augmentation du nombre d'escargots parasités va de pair avec une augmentation du nombre de rédies portées par chaque limnée infestée (de 6,5 à 13,8 entre 1990 et 1999) (Camuset, 2013). Cette prévalence de l'infestation naturelle de la limnée tronquée en constante augmentation peut donc être due à une adaptation du parasite à son hôte, ou encore à une augmentation du nombre d'œufs émis par les bovins, sur de plus grandes période de contact avec les limnées.

### **6-2) Prévalence des paramphistomes en France chez le bovin**

Depuis plus d'une trentaine d'années, des publications commencent à faire état de la présence plus régulière du Paramphistome en France. Dès 1979, des parasites du rumen trouvés dans des abattoirs en Vendée sont identifiés comme *P. leydeni*, mais sans certitude quant à l'espèce exacte, les cycles évolutifs n'ayant pu être observés (Fonteneau, 1979). Les premières notifications de la présence de *C. daubneyi* en France remontent à 1980, avec la diagnose d'espèce de ces parasites individualisés dans un bovin du Maine et Loire et un bovin de la Loire (Graber, 1980). En 1984, *C. daubneyi* a été identifié après récolte dans le rumen de bovins vendéens (Postal, 1984).

Entre 1986 et 1988, des examens coproscopiques réalisés à l'école vétérinaire de Toulouse, ont montré une prévalence de 3,1 % sur plus de 5000 bovins testés, avec une provenance variée des animaux positifs (11 départements différents) (Dorchies, 1989). En 1989, des milliers de bovins charolais abattus dans l'Allier, ont été examinés pour détecter la présence de paramphistomes adultes dans leurs estomacs : 5,5 % des bovins étaient porteurs avec des charges parasitaires allant de quelques individus à des milliers de parasites (Casset, 1989).

Alors que les résultats précédents sont cohérents entre eux, une étude menée en Haute-Vienne entre 1994 et 1996, sur 1741 bovins à l'abattoir, nous annonce une forte augmentation du nombre de cas avec une prévalence moyenne de l'infection à *C. daubneyi* de 20 % (Szmidt-Adijé, 2000). Des examens coproscopiques menés entre novembre 1997 et mars 1998, montrent là encore une prévalence

élevée de l'infestation au Paramphistome, avec 18,1 % des matières fécales examinées positives. Les départements concernés sont : la Manche, la Meuse, les Pyrénées-Atlantiques, le Rhône, la Haute Saône et la Seine-Maritime (Dorchies, 1998).

Finalement, une étude rétrospective, menée dans le centre de la France pendant 9 ans, de 1990 à 1999, sur des dizaines de milliers d'échantillons de matière fécale, confirme cette augmentation de la prévalence de la paramphistomose bovine avec des chiffres de prévalence encore plus élevés pour la fin des années 90. Le pourcentage d'animaux infestés passe de 5,2 % en 1990 à 44,7 % en 1999, avec un pic dans l'augmentation de la prévalence en 1995 (24,1 % de coproscopies positives) (Mage, 2002). Ces dernières années plusieurs thèses vétérinaires rapportent des prévalences élevées dans différentes régions, après examen des bovins à l'abattoir : 29,3 % en Lorraine (Loock, 2003), 51 % dans l'Aisne, les Ardennes et le Nord (Rieu, 2011) et 69,8 % en Bourgogne, Franche-Comté et Rhône-Alpes (Bailly, 2012) [Tableau III].

**Tableau III : Prévalence de l'infestation dans différentes régions ou départements français.**

Référence	Années d'étude	Localisation	Prévalence (en %)	Nombre de bovins	Méthode de détection
<b>Dorchies, 1989</b>	1986-1988	Aude, Ariège, Aveyron, Cantal, Corrèze, Haute Garonne, Mayenne, Haute-Saône, Tarn, Territoire du Belfort, Vosges	1,0 à 5,1	5714	Coproscopie
<b>Casset, 1989</b>	1989	Allier	5,5	1244	Nécropsie
<b>Szmidt-Adijé, 2000</b>	1994-1996	Haute-Vienne	20,0	1741	Nécropsie
<b>Dorchies, 1998</b>	1997-1998	Manche, Meuse, Pyrénées-Atlantiques, Rhône, Haute Saône, Seine Maritime	18,1	465	Coproscopie
<b>Mage, 2002</b>	1990-1999	Corrèze	5,2 à 44,7	12389	Coproscopie
<b>Loock, 2003</b>	2001	Meurthe-et-Moselle, Meuse, Moselle, Vosges	29,3	2440	Nécropsie
<b>Rieu, 2004</b>	2002	Aisne, Ardennes, Nord	51,0	1289	Nécropsie
<b>Bailly, 2012</b>	2011	Bourgogne, Franche-Comté, Rhône-Alpes	69,8	215	Nécropsie

Finalement, à l'aide des données recueillis auprès de tous les abattoirs de France, et de laboratoires publics ou privés d'analyse entre 2002 et 2015, des pourcentages d'analyses positives ont pu être établis ce qui permet de donner une idée de la prévalence en France. On observe une présence importante du Paramphistome au sud de la ligne Valenciennes-Bordeaux, avec une tendance à l'extension de son territoire dans le Nord et l'Ouest de la France (Jozan, 2015). Les cartes de Doré et al. en 2010 et 2011, montrant la prévalence en terme de résultats positifs vont dans le même sens (Courouble, 2015) [Figure 7].



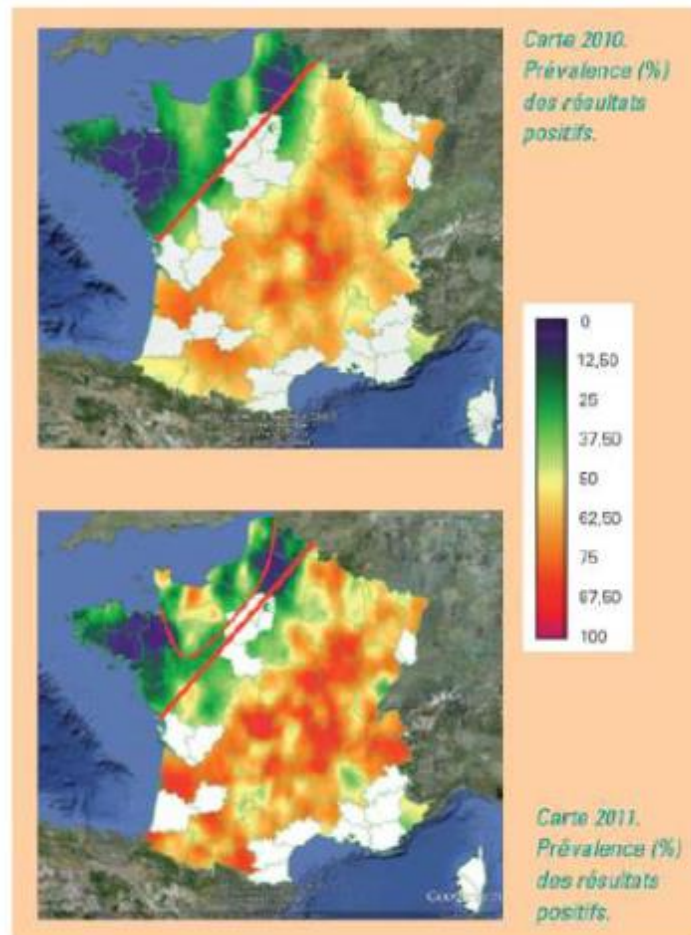


Figure 7 : Prévalence de l'infestation des bovins par le paramphistome en France, en 2010 et 2011. D'après Doré et al., 2012.

La place de *C. daubneyi* semble aussi s'étendre dans d'autres pays européens ces dernières années. Des prévalences élevées allant de 6,2 % à 18,8 % ont été trouvées en Espagne, par des recherches d'abattoir (Gonzalez-Warleta, 2013, Ferreras, 2014). En Galice, 26 % des bovins d'une étude étaient positifs en coproscopie (Sanchis, 2012). De même en Irlande, sur la foi des coproscopies effectuées à l'Université de Dublin, entre 2004 et 2013, il a été noté une nette augmentation de la prévalence d'animaux positifs depuis 2009, où 5 % seulement des animaux excrétaient des œufs de paramphistomes contre 28 % des animaux en 2013 (Zintl, 2014).

Le Paramphistome devient donc un parasite prépondérant dans les troupeaux bovins européens et une attention particulière lui est portée depuis quelques années.

## 7) Les manifestations de la paramphistomose bovine

### 7-1) La forme chronique liée aux parasites adultes

#### 7-1-1) Pathogénie et lésions causées par les adultes

De nombreuses informations contradictoires circulent sur la pathogénie réelle de la forme adulte du Paramphistome. Il semble que son importance soit régulièrement exagérée et que son action sur la santé du bovin ne soit dommageable seulement lorsqu'il s'accumule en grande quantité dans le réseau et le rumen. En effet l'adulte n'est pas hématophage, et son activité spoliatrice n'opère que sur les contenus digestifs en quantité négligeable. Le rôle pathogène des paramphistomes est une activité mécanique, par une colonisation importante des papilles ruminales et une abrasion de celles-ci, ainsi que d'une perturbation de la motricité du rumen, pouvant provoquer des météorisations excessives (Euzeby, 1975).

Les lésions mécaniques et inflammatoires dues aux paramphistomes sont restreintes aux papilles où le parasite est retrouvé attaché. Plus le nombre de parasites trouvés dans les estomacs est important, plus les lésions associées sont sévères (Fuertes, 2015). On observe alors un rétrécissement de la base de la papille et un élargissement de l'apex associés à des lésions d'acanthose et d'hyperkératose, (Fuertes, 2015). Lorsque l'on retire le parasite, une partie de la muqueuse peut se détacher, laissant apparaître des formations bourgeonnantes blanches que l'on appelle « des boutons de paramphistomose » (Euzeby, 1975) ou alors parfois des ulcérations et des nécroses (Fuertes, 2015). Quand la charge parasitaire est très élevée, quelques papilles sont manquantes. Des infiltrations de cellules inflammatoires : lymphocytes, macrophages, éosinophiles, plasmocytes, mastocytes, sont aussi observés localement, aux points d'attache des parasites (Fuertes, 2015). Un autre fait notable est l'augmentation de la population de protozoaires ciliés, sans doute liée aux troubles causés par les paramphistomes dans le rumen (Fuertes, 2015).

Au bilan, les lésions causées par les paramphistomes adultes restent marginales et la principale conséquence de la fixation d'un grand nombre d'adultes dans le rumen va être une perturbation de la motricité ruminale par action mécanique.

#### 7-1-2) Tableau clinique de la forme chronique

Bien que l'atteinte de l'état général du bovin soit assez inconstante, le tableau clinique le plus souvent rapporté de la paramphistomose chronique est une atonie du rumen accompagnée de météorisation et d'un ramollissement des matières fécales (Dorchies, 2002a). Certains aspects de cette parasitose peuvent donc amener à une confusion avec la réticulite par corps étranger (Euzeby, 1975, Dorchies, 1998). Des signes cliniques plus sévères ont été rapportés par divers auteurs. Les cas décrits concernent des animaux avec diarrhée, pertes d'état et diminution de production, concomitamment à la présence de paramphistomes, mais sans association causale prouvée (Foster, 2008). Dans un troupeau de vache montbéliarde, massivement infectée, il a été observé une diminution de la consistance des matières fécales, une production laitière insuffisante et une baisse d'ingestion. Un traitement adapté a permis une reprise de l'appétit et une augmentation de la production laitière (Devos, 2011). La diminution de consistance des matières fécales a été retrouvée dans un abattoir en Belgique chez des animaux hautement parasités par *C. daubneyi*. En effet les animaux avec une charge parasitaire élevée (de 51 à 1000 paramphistomes) avaient plus de chance d'avoir des matières fécales molles ou liquides (Malrait, 2015). En revanche, la recherche d'une corrélation à plus grande échelle, c'est-à-dire sur des troupeaux avec des problèmes de diarrhées, ne montrait pas d'association avec la présence de paramphistomes (Malrait, 2015).

Il est aussi difficile de généraliser l'impact de la paramphistomose sur la production laitière, et des études australiennes, même si elles concernent des paramphistomes plus rares en France

*Calicophoron calicophorum* et *Paramphistomum ichikawai*, ne penchent pas en faveur d'une baisse de production en cas d'infestation par les paramphistomes. Une première étude a montré une augmentation de la production laitière dans 8 élevages après des traitements contre les strongles gastro-intestinaux, la fasciolose et la paramphistomose, effectivement associés à une diminution de l'excrétion d'œufs par ces parasites, sans qu'il soit possible d'attribuer cette augmentation de production à la disparition d'un parasite en particulier (Spence, 1992). Afin de préciser l'effet d'un traitement spécifique contre la paramphistomose, des vaches saines vis à vis de la douve, mais infestées par les paramphistomes ont reçu un traitement curatif contre le parasite. Et bien que le nombre d'œufs excrétés par les vaches traitées soit nettement diminué, il n'y a aucune différence en terme de production laitière avec les vaches non traitées (Spence, 1996).

Une étude menée au Cambodge, a essayé de relier différents aspects pathologique à la présence de paramphistomes (Dorny, 2011), et même si les espèces trouvées dans des pays tropicaux soient généralement plus pathogènes que les espèces européennes, les résultats peuvent être informatifs.

Par exemple au niveau hématologique, un lien a pu être établi entre la présence d'une anémie, mesurée par l'hématocrite, et l'infestation par les paramphistomes des bovins. Cette perte sanguine pourrait être due à la forme immature hématophage du parasite (Dorny, 2011). Une autre étude espagnole semble aller dans ce sens en montrant qu'après un traitement contre la paramphistomose, des valeurs d'hématocrites plus élevées sont retrouvées chez les vaches traitées jusque à 5 semaines post traitement (Diaz, 2006).

De la même façon, toujours au Cambodge, diarrhée et matières fécales molles ont pu être reliées à la présence de paramphistomes chez les bovins (Dorny, 2011).

Par contre, aucune corrélation n'a été trouvée entre la présence de ce parasite et la note d'état corporel des bovins (Dorny, 2011).

Les signes cliniques et biologiques associés aux paramphistomes et leur impact sur la santé des bovins ne sont pas encore réellement mesurables. On peut soupçonner une paramphistomose dans des troupeaux où plusieurs animaux ont des troubles digestifs ne répondant pas aux traitements habituels, ou subissent des épisodes de météorisations inexpliqués.

## **7-2) La forme aigüe liée aux parasites immatures**

### **7-2-1) Pathogénie et lésions causées par les adolescaria**

L'action pathogénique la plus importante du Paramphistome est causée par sa forme immature hématophage, lorsque celle-ci migre et se fixe dans la muqueuse duodénale ou abomasale. Cette action est essentiellement traumatique avec premièrement la destruction de la sous muqueuse ou des glandes digestives lors du passage des vers et deuxièmement par la strangulation d'un bout de muqueuse par leurs acétabulums. Cet encerclement de la muqueuse aux points de fixations diminue l'irrigation sanguine et peut provoquer des pertes de substance ainsi que de petites hémorragies. Ceci en plus de l'action hématophage du ver immature pourrait causer une anémie chez le bovin (Euzeby, 1975).

Il est aussi parfois évoqué la réaction antigénique que peuvent provoquer les formes immatures (Euzeby, 1975). Les cellules inflammatoires, plasmocytes, éosinophiles, lymphocytes et quelques macrophages et mastocytes, infiltrent la lamina propria et la sous muqueuse des glandes de Brunner (Fuertes, 2015). Les glandes deviennent hyperplasique conséquemment à leur colonisation par les parasites et les cellules inflammatoires (Millar, 2012, Fuertes, 2015).

Ainsi la conjonction de la perméabilisation des membranes causée par la disparition des jonctions membranaires intercellulaires lors du passage des vers et de la réaction inflammatoire locale perturbant les échanges électrolytiques et osmotiques explique la forte diarrhée provoquée par les formes immatures (Lefevre, 2003).

A l'autopsie il est retrouvé des lésions d'entérite et de gastrite catarrhale. Les parois du duodénum et de la caillette sont œdématisées et congestionnées. On observe un piqueté hémorragiques et de nombreux vers immatures de moins d'1 mm de long, brun-rouge peuvent être mis en évidence par raclage de la muqueuse intestinale ou même être visibles à l'œil nu (Lefevre, 2003, Dorchies, 2002a, Millar, 2012). Les nœuds lymphatiques mésentériques sont aussi hypertrophiés (Millar, 2012, Fuertes, 2015).

## 7-2-2) Tableau clinique de la forme aigüe

Les effets sur les bovins se font ressentir au printemps, mais surtout en automne lorsque l'émission de cercaires reprend. En cas de forte infestation les signes cliniques sont alors notables : une diarrhée liquide, noirâtre, parfois colorée par les vers de moins d'un millimètre et rouges vifs, avec un amaigrissement très important pouvant entraîner la mort des animaux atteints. Ces symptômes apparaissent brutalement sur des jeunes animaux en première saison de pâture alors la période prépatente n'est pas encore atteinte et que les coproscopies sont négatives (Dorchies, 1998). Plusieurs cas cliniques ont été rapportés ces dernières années. En France, des cas de paramphistomose larvaires ont été mis en évidence sur des brouards par Dorchies et al., (2002), ou sur des génisses montbéliardes par Devos et Zenner (2011). Les diarrhées décrites sont des diarrhées abondantes et très liquides, noirâtres, nauséabondes et incoercibles, d'apparition plus ou moins brutale. Les animaux présentaient d'autres signes encore moins spécifiques tels qu'une baisse d'état marquée, un poil piqué et un tympanisme ruminal (Dorchies, 2000b, Devos, 2011). L'extrême déshydratation et l'anorexie peuvent conduire à la mort des jeunes animaux parasités (Dorchies, 2000b, Devos, 2011, Millar, 2012).

Les cas de paramphistomose larvaire, de clinique grave, sont d'apparition assez typique. Ils concernent des jeunes animaux en première saison de pâture, plutôt à l'automne, qui présentent des symptômes de diarrhée incoercible ne rétrocedant pas aux traitements classiques d'autres parasitoses et ne pouvant être reliés à l'alimentation. L'état général des animaux touchés est très diminué, et certains peuvent même en mourir.

## 8) Les différentes techniques de laboratoire

### 8-1) Diagnostic coproscopique

La coproscopie est l'examen des matières fécales au microscope optique. Dans le cadre d'un diagnostic de paramphistomose imaginaire ce sont les œufs qui vont être recherchés.

#### 8-1-1) Prélèvement de matières fécales

La coproscopie permettant de mettre en évidence les œufs de paramphistomes, le prélèvement est réalisé lorsque la période prépatente du parasite est dépassée et que tous les adultes ont commencé à pondre. Il est préférable de faire les analyses 11 semaines après la fin des contaminations possibles, c'est-à-dire à partir de la rentrée à l'étable ou à partir du moment où les conditions climatiques et environnementales ne permettent plus l'excrétion des cercaires par les mollusques.

Il est décrit une grande variabilité d'excrétion d'un animal à l'autre (de moins d'une dizaine d'œufs à un millier) (Alzieu, 2007), d'un troupeau à l'autre, mais aussi d'une journée à l'autre pour le même bovin (Devos, 2010). Ainsi, alors que des prélèvements ont été effectués à 14 jours d'intervalle sur les mêmes animaux de 15 troupeaux, le nombre d'œufs par gramme varie beaucoup entre la première analyse et celle effectuée deux semaines après. La concordance entre les deux séries de

résultats est faible, et la moyenne d'excrétion d'œuf au sein d'un troupeau peut varier du simple au double (Devos, 2010).

Il est alors compréhensible que les coproscopies individuelles apportent de meilleures informations sur l'intensité d'infestation de chaque vache, mais que lorsqu'un troupeau est fortement parasité, la coproscopie de mélange permet de poser un diagnostic d'élevage. Cependant des faux négatifs sont possibles si l'excrétion est faible dans le troupeau (Alzieu, 2007).

Le nombre d'animaux à prélever pour obtenir un état des lieux de la contamination d'un troupeau reste à la discrétion du vétérinaire selon la suspicion clinique, la taille du troupeau et les lots de pâturage.

## 8-1-2) Description des techniques utilisées

Les techniques de coproscopie utilisées doivent permettre de concentrer les œufs présents dans les matières fécales afin d'augmenter la sensibilité et la chance de détecter les œufs présents. Il existe deux types de techniques d'enrichissement : une par flottation et une par sédimentation.

### 8-1-2-1) Technique de flottation

La flottation nécessite l'utilisation d'un liquide plus dense que les œufs recherchés, afin que ceux-ci puissent remonter à la surface du mélange et être visibles au microscope. Les œufs de paramphistomes sont très denses et ne flottent qu'à des densités supérieures à 1,4 (Camuset, 2011).

En France, la solution de référence est le iodomercurate de potassium à la densité de 1,44. Après préparation, au microscope, les œufs ont un aspect légèrement modifié : la paroi est déformée et les œufs de paramphistomes apparaissent gris clair. La distinction avec les œufs de douve est aisée, comme ceux-ci sont de couleur jaune-brunâtre (Dorchies, 1989). L'inconvénient majeur de cette solution est son caractère toxique et polluant.

La technique qui est la plus fréquemment utilisée est une technique de Mac Master modifiée par Raynaud (Raynaud, 1979). Après mélange de l'échantillon de bouse et de la solution de iodomercurate de potassium, la solution est tout d'abord examinée dans une cellule de Mac Master pour le comptage (sensibilité de 50 opg) et si aucun œuf n'est trouvé, une flottation totale est réalisée, et une lame supplémentaire est lue. Cela permet de faire descendre la sensibilité de la technique à 7 opg. Les valeurs de spécificité et de sensibilité sont très bonnes et avoisinent les 1, respectivement 0,98 et 0,94 (Rieu, 2007).

Une deuxième technique, disponible pour les vétérinaires praticiens, emploie du sulfate de zinc à la densité de 1,44. La manipulation nécessite de réaliser deux sédimentation avec de l'eau et une flottation au sulfate de zinc. Les œufs sont comptés grâce à une cellule de Mac Master et la technique permet la détection de 1 opg. La comparaison avec la technique au iodo mercurate est bonne ; la sensibilité est conservée, et le nombre d'œufs trouvés est similaire dans les deux méthodes (Courouble, 2003). La spécificité et la sensibilité étaient de 0,92 et de 0,91 dans la thèse de Bailly (2012) avec l'utilisation de cette méthode.

Enfin une nouvelle méthode simple existe, mais elle n'est pas encore commercialisée. C'est le mini-FLOTAC qui nécessite un matériel spécial et du chlorure de zinc, d'une densité de 1,53. Cette méthode est fiable et les valeurs de spécificité (0,98) et sensibilité (0,94) trouvées, proches de 1, sont similaires à la technique de Mac Master modifiée (Malrait, 2015).

### 8-1-2-2) Technique de sédimentation

La technique d'enrichissement par sédimentation ou technique de Stoll, permet de concentrer les éléments parasitaires au fond du mélange. Les matières fécales sont diluées dans une solution peu dense, et le mélange est laissé au repos ou passé à la centrifugeuse. On se débarrasse alors du surnageant pour ne récupérer que le culot de sédimentation qui contient les éléments parasitaires et quelques débris végétaux. C'est ce culot où se seront concentrés les éléments d'intérêt qui sera observé au microscope. La soude décinormale, ou l'eau (Gonzales-Warleta, 2012), peuvent être utilisées pour cette technique.

### 8-1-3) Interprétation des résultats coproscopiques

Les techniques coproscopiques disponibles pour le comptage des œufs de paramphistomes sont fiables pour la détection des animaux positifs. Cependant, alors que l'on sait que de faibles infestations ne procurent pas d'effet pathogène notable, il est intéressant de savoir si les nombres opg reflètent bien la charge parasitaire du rumen.

Premièrement, toutes les études s'accordent à montrer une corrélation positive entre le nombre d'œufs trouvés par gramme de fèces et le nombre de parasites effectivement trouvés dans le rumen (Mage, 1998, Rieu, 2007, Bailly, 2012, Gonzales-Warleta, 2012, Malrait, 2015).

Deuxièmement, il reste à savoir quantifier le nombre de parasites présents dans le rumen à partir du nombre d'œufs par gramme de bouse. Plusieurs publications existent à ce sujet, et même si elles ne donnent pas toutes les mêmes tables d'interprétation, nous pouvons dire grossièrement que chaque parasite du rumen participe pour au moins 1 opg dans le nombre d'œufs excrétés [Tableau IV].

**Tableau IV : Corrélation positive entre le nombre d'œufs par gramme de matières fécales et le nombre de parasites dans le rumen.**

Nombre d'opg	Nombre de parasites	Nombre de bovins étudiés	Etude
7 à 15 opg	1 à 12 parasites	47	Mage, 1998
Plus de 100 opg	Plus de 100 parasites	148	Rieu, 2007
Relation linéaire	$(1,27 \times \text{opg}) + 237$	219	Bailly, 2012
Plus de 200 opg	Plus de 200 parasites	125	Malrait, 2015

Les valeurs d'opg peuvent donc nous donner directement accès aux valeurs d'infestation du Paramphistome dans le rumen-réseau, soit par une relation linéaire, soit en discriminant les animaux faiblement infestés des animaux moyennement à fortement infestés par des valeurs seuils.

### 8-2) Diagnostic immunologique

Au contraire de la fasciolose, il n'existe pas encore de méthode de diagnostic immunologique validée pour la paramphistomose. Les principaux points d'achoppement viennent du fait que les mécanismes immunitaires vis-à-vis du Paramphistome sont très limités et ne permettent pas la détection d'anticorps ou encore le risque que la similitude du parasite avec la douve ne faussent les tests. Néanmoins plusieurs essais visent à déterminer un nouveau test diagnostique pour détecter les animaux infestés.

Un test ELISA pour la détection de coproantigène a été testé en 2004, lors d'une thèse vétérinaire et n'a pas donné de résultats concluants (Rieu, 2004).

Des tests sérologiques ont aussi été mis au point. L'INRA de Tours a essayé de reconnaître des sérums de bovins infestés expérimentalement par le paramphistome avec des ES (produits d'excrétion sécrétion) du parasite sans succès (Dorchies, 2000). Plus récemment un antigène de *P. cervi* (Anuracpreeda, 2008) et des antigènes d'excrétion sécrétion (ES) (Anuracpreeda, 2013) ont pu être isolés et sont toujours reconnus par les anticorps des sérums d'animaux infectés, sans confusion avec

les anticorps contre la grande douve. Les résultats les plus concluants sont obtenus par Diaz et al., avec l'utilisation d'une méthode ELISA détectant les anticorps produits par le bovin contre les antigènes ES de *C. daubneyi*. Ils trouvent une spécificité de 89,4 % et une sensibilité de 87,2 % pour leur test. Mais il semble difficile d'interpréter leurs résultats, car la comparaison a été faite avec l'examen coproscopique, qui bien que fiable, n'est pas un gold standard comme la nécropsie. Lorsque la nécropsie est utilisée comme moyen de contrôle de l'infestation dans le tube digestif pour 83 bovins, la sensibilité et la spécificité pour le même test sont plus basses (82 % et 79 %) (Sanchis, 2013). De plus on remarque bien ici la difficulté des réactions croisées avec les anticorps de douve ; 16 % des animaux sont sortis positifs alors qu'ils n'étaient infestés que par *Fasciola* sp dans l'étude de Diaz et al. en 2006, et 14 % des animaux ont eu une réaction croisée dans l'étude de Sanchis et al. en 2013.

Ainsi, pour l'instant, il n'existe pas de méthodes immunologiques fiables, utilisables en routine pour la détection de la paramphistomose.

## 9) Méthodes de lutte contre la paramphistomose

La paramphistomose, parasitose en extension depuis quelques années en France peut provoquer des pertes en élevage. Ces pertes économiques peuvent être limitées en luttant contre le parasite, soit en amont, en maîtrisant la population ou l'intensité de l'infestation de l'hôte intermédiaire, soit en aval, en traitant les bovins contaminés contre le parasite adulte dans le rumen.

### 9-1) Mesures agronomiques

La contamination des vaches par le parasite a lieu dans des zones à risque qui constituent les zones humides, habitat des limnées tronquées. Il est alors possible de maîtriser l'infestation des animaux en contrôlant les zones à risque.

Cela passe tout d'abord par une visite d'élevage accompagnée de questions sur la conduite de pâturage. Il faut identifier les lots de pâture et connaître leurs parcours selon les saisons. La visite de pâture permet de reconnaître des zones humides où pourraient se développer des limnées et de confirmer leur potentiel à risque avec la recherche de ces mollusques et leur identification. Ainsi, muni de ces informations il est possible de savoir quels animaux se contaminent et à quel moment de la saison de pâture. Ces données sont utiles pour la décision de la méthode de lutte appropriée, selon qu'il soit possible de viser l'éradication ou seulement la diminution de l'intensité de l'infestation.

#### 9-1-1) Surface à risque de taille réduite : éradication possible

La méthode idéale pour l'éradication du Paramphistome serait de condamner toutes les parcelles à risque ou de les assainir. Les points d'abreuvement à risques (mares, ruisseaux) doivent être proscrits et remplacés par des systèmes d'abreuvement contrôlés, sans fuite d'eau autour. La mise en place de clôture empêchant l'accès aux mares ou aux ruisseaux est indispensable. Si cela est possible, les zones de bas-fonds humides doivent être interdites par une clôture. Enfin, l'assèchement des pâtures par drainage, ou le captage des sources sont des bons moyens d'élimination de gîtes à limnées (Dorchies, 2010, Chauvin, 2012).

L'emploi de molluscicides comme le sulfate de cuivre a été tenté, mais dans un contexte de préservation de l'environnement, cette méthode n'est pas acceptable de par sa toxicité pour la faune environnante. Certains mollusques, prédateurs naturels de la limnée, ont aussi été testés, en matière de lutte biologique. Il apparaît que cette méthode est plus efficace quand la fauche des pâtures est réalisée en été afin d'assécher plus rapidement les gîtes à limnées. La conjugaison de ces 2 méthodes est la plus efficace, mais la mise en place est compliquée et ce n'est pas employé en pratique (Ximenes, 1993).

### 9-1-2) Surface à risque de taille moyenne : gestion de l'infestation

Lorsque les pâtures à risque sont identifiées et que la population de limnée ne peut être réduite ou placée hors de portée, la conduite de pâturage doit être raisonnée suivant les lots d'animaux et les périodes les plus à risques. Les zones humides seront réservées aux bœufs ou animaux d'engraissement, en évitant au maximum le passage sur ces parcelles des vaches en lactation ou des génisses en première saison de pâture (Camuset, 2015). Quand ce n'est pas possible, il faut alors effectuer des traitements réguliers ; un traitement au cours de l'hiver, 11 semaines après la fin de la période d'infestation permet de réduire les contaminations des pâtures par les œufs de paramphistome à la mise à l'herbe, et un deuxième traitement peut être effectué en cours d'été lorsque la contamination est la plus importante (Chauvin, 2012, Camuset, 2015).

### 9-1-3) Surface à risque très importante : lutte thérapeutique

Dans les élevages où la majorité de la SAU est à risque, dans des zones de marais par exemple, la gestion de l'impact économique et sanitaire de la paramphistomose se fait avec des traitements allopathiques. Un ou plusieurs traitements individuels seront mis en place selon les résultats des coproscopies et le niveau d'infestation. Le traitement à systématiser est celui hivernal, qui tue tous les adultes issus des dernières métacercaires contaminantes (Chauvin, 2012). Les molécules utilisables pour le traitement de la paramphistomose sont présentées dans le point précédent.

## 9-2) Traitements allopathiques

La problématique du traitement chimique est très importante, particulièrement en élevage laitier, car peu de molécules efficaces contre le Paramphistome sont disponibles, et aucune spécialité vétérinaire ne permet le traitement d'une vache sans temps d'attente lait.

### 9-2-1) Molécules sans efficacité prouvée ou non disponible en France

La première molécule à l'efficacité prouvée contre le Paramphistome était le bithionoloxyle, efficace sur les adultes et les immatures, ou le bithionol sulfoxyde, efficace seulement sur les adultes (Mage, 1990, Mage, 1997). Cette molécule n'est plus commercialisée en France depuis 2002 (Courouble, 2015b).

Le niclosamide serait efficace sur les formes immatures mais n'est de toute façon pas disponible en France (Rolfe et Boray, 1987 dans Dorchies, 1989).

Mage et al. (1990) ont testé le nitroxynil sans trouver une diminution du nombre d'œufs excrétés après traitement.

L'albendazole n'a jamais fait preuve de son efficacité, tout comme le netobimim (Mage, 1990, Arias, 2013).

Il existe un doute sur l'efficacité du closantel. Employé à la posologie douvicide 2,5 mg/kg (Mage, 1990) ou à 7,5 mg/kg, la molécule est inefficace sur les paramphistomes adultes (Rolfe et Boray, 1987 dans Dorchies, 1989). Cependant une publication récente fait état de bons résultats concernant la diminution du nombre d'œufs excrétés (moins 97 %) et du nombre d'animaux positifs (moins 85 %), après un traitement au closantel à la dose de 10 mg/kg (Arias, 2013). Ces résultats sont à prendre avec précaution alors qu'une étude récente ne parvient pas à répéter ces bons résultats : aucune diminution d'excrétion n'est constatée (Malrait, 2015). La différence entre les deux études, qui pourrait expliquer ces résultats contrastés est la voie d'administration ; le premier essai a été fait par voie orale tandis que dans le deuxième, le closantel, plus classiquement, a été administré par voie sous cutanée. De plus ces essais ne comprenaient pas des vérifications de la disparition effective du parasite dans le rumen en abattoir, et le traitement ne pourrait avoir qu'un effet transitoire sur la fertilité du parasite et non sur sa survie.



## 9-2-2) L'oxyclozanide : seule molécule utilisable dans le traitement de la paramphistomose

En France, actuellement, il n'existe aucune spécialité vétérinaire avec une AMM bovin contre les paramphistomes. La plupart des douvicides existants n'ont aucune efficacité contre ces parasites. L'oxyclozanide est la seule molécule dont on possède des preuves de l'efficacité (Rolfe et Boray, 1987 dans Dorchies, 1989, Alzieu, 1999). Cette molécule est active contre les adultes essentiellement, même si deux traitements à trois jours d'intervalle à 18,7 mg/kg permettent la disparition des formes immatures également (Rolfe, Boray, 1987). Les travaux d'Alzieu en 1999 visant à déterminer une posologie utilisable en pratique ont conclu à une recommandation d'utilisation d'oxyclozanide à 10,2 mg/kg sans stop dose. A cette posologie l'efficacité atteint 94 %, en revanche lorsque l'on utilise ce produit dans le cadre de son AMM contre la douve, c'est-à-dire avec une stop dose à 350 kg, l'efficacité descend à 77,5 % (Alzieu, 1999). Afin d'avoir une élimination quasi-totale des parasites, la répétition du traitement à l'oxyclozanide à 10,2 mg/kg à 3 jours d'intervalle est recommandé (Devos, 2012). La dose de 15,5 mg/kg est aussi très efficace (Devos, 2012, Arias, 2013), mais les effets secondaires sont importants : diarrhée profuse, anorexie juste après le traitement, déclenchement du vêlage pour les animaux proches du terme (Courouble, 2015b).

Les posologies et les moments du traitement sont à adapter à la situation de l'élevage. Dans un élevage où la prévalence est très élevée et les moyennes d'excrétion fécale très importantes, il peut être bon de traiter à la dose de 10,2 mg/kg sans stop dose, dès la rentrée à l'étable pour éviter les effets délétères de l'accumulation du parasite, puis de renouveler le traitement 3 mois plus tard, pour éliminer tous les adultes et diminuer la contamination à la sortie des animaux (Courouble, 2015b). Si la prévalence et l'excrétion fécale sont moyennes, un seul traitement 3 mois après la période de contamination peut être suffisant, à 15,3 mg/kg (Courouble, 2015b) ou 10,2 mg/kg pour prendre des précautions vis-à-vis des effets secondaires (Camuset, 2015). Lorsque l'on soupçonne un épisode clinique de paramphistomose, l'animal est traité individuellement à 10,2 mg/kg sans stop dose (Courouble, 2015b).

Ces protocoles avec des dates de traitement systématiques pour le troupeau entier ne paraissent pourtant pas réalisables en pratique en élevage laitier. Il faut alors raisonner le moment du traitement en fonction des dates de vêlage ou lors de traitements concomitants. Afin d'éviter que le temps d'attente ne soit trop dommageable à la production il est préférable d'effectuer le traitement à un moment de non production de la vache (au tarissement), ou à un moment où son lait ne peut être utilisé (post vêlage, autre traitement avec délai lait).

Bien qu'il n'y ait pas de possibilité de choix pour le traitement de la paramphistomose, celui existant est efficace. Le seul frein à l'utilisation de l'oxyclozanide est le délai d'attente lait qui ne permet pas de traitement collectif du troupeau laitier. Le traitement individuel est effectué de façon à maximiser l'efficacité du produit, à un moment où le lait n'est de toute façon pas utilisé ou pas produit.

Ces contraintes de traitement déjà présentes en élevage laitier traditionnel, sont multipliées dans le cas de l'élevage biologique où les traitements doivent être justifiés et surtout où le temps d'attente des spécialités contenant l'oxyclozanide va être doublé. Le temps d'attente est donc de 4,5 jours fois 2, soit 9 jours à la posologie AMM, et même de 14 jours en doublant le temps d'attente forfaitaire pour une action contre le paramphistome. Ces délais sont difficilement acceptables pour les éleveurs qui se tournent alors vers d'autres alternatives, comme des traitements à base de plantes par exemple.

## B) Traitement de la paramphistomose en élevage bovin laitier biologique

### 1) L'élevage bovin laitier biologique

L'agriculture biologique est régie par un ensemble de pratiques agricoles respectueuses de l'environnement et du bien-être animal. Elle se veut non utilisatrice de produits chimiques de synthèse et d'Organisme Génétiquement Modifiés (OGM), tout en raisonnant l'utilisation de produits allopathiques.

#### 1-1) Historique de l'agriculture biologique

Bien que des cahiers des charges biologiques créés par des organismes privés existaient depuis les années 70 en France, les premières bases réglementaires communes de l'élevage biologique ont été posés en 1981 avec une loi d'orientation agricole établissant un cahier des charges français pour chaque type de production. L'Europe s'est emparée du sujet en 1991 avec l'écriture d'un règlement européen sur les productions végétales. Il a fallu attendre les années 2000 pour la parution d'un règlement européen (CEE 2092/91) sur les productions animales biologiques. Le cahier des charges français étant plus contraignant et les Etats membres ayant obtenu le droit d'ajouter des compléments ou des mesures plus strictes à ce règlement, la France a repris une bonne partie du premier cahier des charges en vigueur (CC REPAB F). Depuis 2009, un nouveau dispositif réglementaire européen harmonisé (CE 889/2008) est mis en place et laisse moins de latitude aux exceptions nationales. Ainsi les exigences pour respecter le cadre de l'agriculture biologique ont été assouplies ce qui a permis une hausse des conversions à cette date.

#### 1-2) Un développement régulier de l'agriculture biologique en France et en Pays de la Loire

Depuis plusieurs années l'agriculture biologique est en expansion en France. Si l'on considère la seule période entre 2007 et 2013, le nombre d'exploitations biologiques a plus que doublé, et elles comptent maintenant pour 5,4 % des exploitations françaises [Figure 8]. Les productions végétales sont majoritaires, mais on dénombre tout de même un exploitant bio sur 3 qui est éleveur.

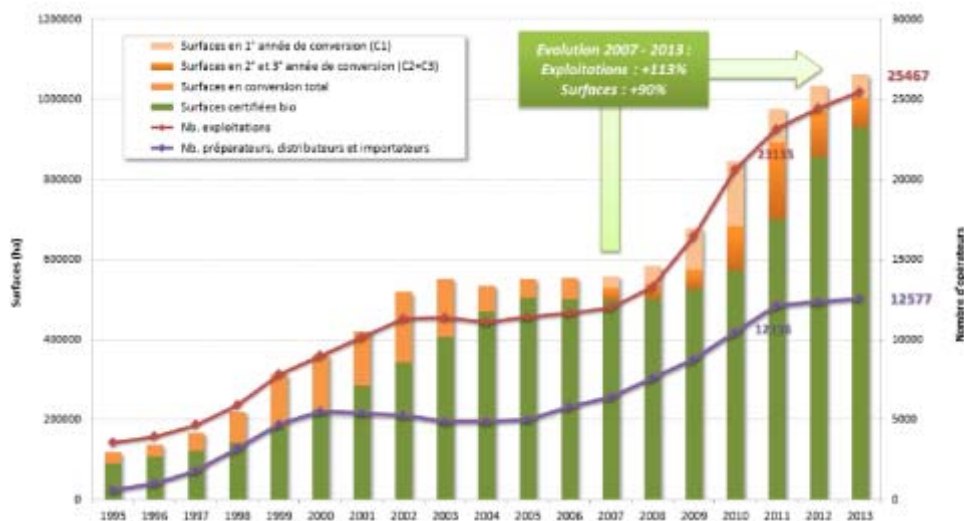


Figure 8 : Evolution de la surface et du nombre d'exploitations biologiques en France entre 1995 et 2013. D'après l'Agence bio.

La région des Pays de la Loire est une région très dynamique pour l'agriculture biologique avec une accélération des installations en bio depuis 2009. Ainsi la région est en deuxième position derrière les Midi-Pyrénées en terme de superficie des exploitations biologiques ; 10,5 % de la SAU nationale biologique est ligérienne.

Au sein de la région, le département de la Loire-Atlantique participe pour beaucoup à cette spécificité et se place au premier rang des départements français en termes de surface occupée par des exploitations biologiques. La production bovine laitière y est la plus représentée, avec 1/8 des livraisons françaises de lait bio provenant de Loire-Atlantique.

### **1-3) Cadre de l'agriculture biologique**

Les fermes biologiques doivent respecter plusieurs critères qui concernent à la fois leurs conditions d'élevage (alimentation, logement et santé des animaux), et leurs productions végétales. Pour ce qui concerne les vaches laitières, elles pâturent au moins entre 6 et 9 mois dans l'année et au moins la moitié de leur consommation de matière sèche annuelle doit être produite sur l'exploitation. Les traitements allopathiques, sans tenir compte des antiparasitaires, sont limités à 3 par an et par animal. Le temps d'attente des spécialités utilisées est alors doublé ou passe à 48 heures pour les spécialités avec un temps d'attente nul. Les traitements ne doivent en aucun cas être effectué en préventif. L'usage de médecines complémentaires (phytothérapie, aromathérapie, homéopathie) doit être privilégié et n'est pas limité en nombre.

### **1-4) Un organisme d'accompagnement : le GAB 44**

Les Groupements d'Agriculture Biologique (GAB) sont des structures départementales rassemblées dans le réseau de la FNAB, Fédération Nationale d'Agriculture Biologique. Ils ont vocation à promouvoir et développer l'agriculture biologique par différents moyens : soutien de la filière, appui technique aux adhérents, communication avec le public etc. Le GAB 44, créé en 1992, regroupe 60 % des agriculteurs biologiques de Loire Atlantique.

## **2) Informations sur les paramphistomes à destination des éleveurs biologiques**

Le Paramphistome, à l'origine peu connu du monde agricole, semble être maintenant sujet à de nombreuses interrogations. Bien que nous ayons vu précédemment que l'impact du parasite adulte sur la santé du bovin est controversé et certainement très limité, plusieurs éleveurs cherchent à traiter contre les paramphistomes. Et les éleveurs bios se tournent vers des approches de traitements différentes.

Les informations accessibles sur internet sont généralement complètes, mais peu diversifiées et parfois erronées.

Lorsque l'on écrit « paramphistome » sur le moteur de recherche Google, le premier document qui apparaît est une thèse d'Alfort de Loock, écrite en 2003, le deuxième est une fiche pratique très succincte de MSD, et le troisième document a été publié par un vétérinaire du GIE Zone Verte, le Dr Denis Fric. Le GIE Zone Verte est un groupement de vétérinaires avec une vocation pour les médecines alternatives et l'élevage biologique. On trouve ensuite essentiellement des fiches informatives publiées par différents GDS (Creuse, Manche, Allier...).

Avec une recherche orientée sur les traitements alternatifs, « paramphistome huiles essentielles » ou « paramphistome aromathérapie » on découvre en premier la lettre d'information du GIE Zone Verte « La panse libérée » n°12, de 2010 reprenant en grande partie le texte du Dr Denis Fric. Plusieurs autres sites reprennent les données fournies par ce vétérinaire et on les retrouve dans une fiche technique des GAB de Bretagne et dans l'«Auxiliaire Bio », bulletin technique du réseau bio de Poitou Charentes. L'article disponible, comme document technique, sur le site du Dr Denis Fric

« Suivi d'élevage et homéopathie vétérinaire », est très complet sur le cycle du parasite, les symptômes de la forme adulte et immature, le diagnostic et les traitements possibles, avec comme bibliographie la thèse de Nicolas Loock, des articles de P. Dorchies, et le livre de parasitologie d'Euzeby. Quelques informations ne s'appuient pourtant sur aucunes publications ou ne sont pas vérifiables: « Document non publié de Philippe PASSARD formateur indépendant et Pierre Dubourq (symbiopôle) ».

Ainsi à l'intérieur de cet article très bien écrit et bien documenté quelques données ne sont pas vérifiées et sont sujettes à caution :

- Participation des oiseaux (notamment les corvidées), dans le cycle du paramphistome.

La Panse Libéré nous indique que « des recherches ont mis en évidence la présence de larves dans les fèces de certains oiseaux (...). Ce qui permettrait de comprendre l'apparition du paramphistome en zone sèche ».

- Les larves pourraient être responsables de troubles pulmonaires, par leur migration le long de la trachée. Le signe clinique associé serait une toux « sèche, discrète mais régulière, qui a lieu à tout moment », aussi bien lorsque l'animal « est debout que couché ». L'article de « La Panse libérée », explique ceci par la découverte d'un nouveau mode migratoire : « quittant le duodénum, les larves migrent par voie lymphatique vers le poumon où leur passage dans les alvéoles pulmonaires déclenchent des symptômes de broncho-pneumonie de type « bronchite vermineuse », avant d'être remontées par la toux dans la gorge et d'être dégluties pour gagner le rumen et y devenir adulte ».

- Existence d'un nouveau test diagnostique : l'histologie du lait. Ce test indiquerait une probable présence du paramphistome par la mesure du taux de polynucléaires éosinophiles, et la détection de cellules pulmonaires.

- Existence d'un symptôme pathognomonique de la présence du paramphistome : le signe de la selle de cheval. « Il se caractérise par une zone de poils organisés différemment du reste de la robe, en arrière des épaules sur environ 50 à 80 cm de longueur et 30 à 50 cm de hauteur, à cheval sur le dos. Il indique que le parasite adulte est actif dans la panse sans vouloir dire ni que l'animal souffre, ni qu'un traitement soit nécessaire ». Il serait plus visible sur les Charolaises ou les Limousines par rapport aux Prim Holstein.

Ces données ne s'appuient sur aucune publication et par exemple si le signe clinique dit de « la selle de cheval » peut en effet être observé dans des élevages selon les vétérinaires, aucune étude ne permet de le rapprocher de la présence du parasite.

De même les signes pulmonaires et la toux décrite, n'ont jamais été rapportés par aucun auteur, et la migration lymphatique semble exclue. Quant à l'histologie du lait, même en acceptant la théorie précédente, il paraît difficile d'y retrouver des cellules pulmonaires. Au niveau épidémiologique, les oiseaux ne sont pas considérés comme des hôtes définitifs possibles, et rien n'indique que les bovins puissent se contaminer en avalant des larves.

Finalement, en plus de l'oxyclozanide, traitement classique, l'auteur rapporte la possibilité de deux traitements alternatifs qui seraient efficaces à dire d'éleveur : la PHYSTOLINE N.D. du laboratoire Biomat ou le SOLUPHYT-P N.D. du laboratoire Symbiopôle, en sachant que le dernier laboratoire cité est celui qui propose l'histologie du lait.

Il est possible que ces articles incitent à la consommation de produits de traitement contre le paramphistome, en provoquant un sur-diagnostic et en alarmant les éleveurs. De plus, le fait qu'un laboratoire vendeur d'huiles essentielles, propose un test sur le lait, facile à réaliser, mais ininterprétable, conduit probablement à la vente de traitements inutiles. Selon le Dr Denis Fric, « la proportion de de profils histologiques de laits en faveur du paramphistome est passée, entre 2000 et l'hiver 2008/2009, de 1 % des troupeaux à 95 % des troupeaux ». Ces résultats sont difficiles à commenter, alors que l'on ne connaît pas la région des élevages demandant ces tests et leur nombre, mais la prévalence semble exceptionnellement élevée en comparaison des données exposées précédemment.

### 3) L'aromathérapie contre la paramphistomose bovine

Plusieurs types de traitements alternatifs sont utilisés généralement en élevage biologique comme la phytothérapie (thérapie à base de plantes et d'extraits de plantes), l'aromathérapie ou l'homéopathie. Les données les plus prometteuses dans le cadre de la lutte contre le parasitisme viennent de la phytothérapie. Depuis longtemps les plantes ont été utilisées comme produits médicinaux, avec une connaissance sur leurs indications basée sur l'empirisme et une transmission le plus souvent orale. Ainsi, plusieurs végétaux ou extraits de plantes sont connus pour leurs actions anti-infectieuses, antiparasitaires, ou répulsives contre les insectes et plusieurs produits commerciaux sont dérivés des plantes. Des bons résultats *in vitro* sont même obtenus avec des plantes à tanins sur des larves de strongles gastro intestinaux de chèvres (Athanasiadou, 2001). La distribution de plantes à tanins comme le sainfoin ou le quebracho à des chèvres, montrent ainsi de bons résultats contre les strongles gastro-intestinaux et en particulier *Haemonchus contortus* (Paolini, 2003, 2005). La complémentation en sainfoin a permis une diminution de l'excrétion d'œufs de strongles par la diminution de la fertilité des adultes. La santé des chèvres s'en trouvait aussi nettement amélioré par rapport au groupe contrôle (Paolini, 2005).

Pourtant pour l'instant, sur le terrain, l'alternative proposée aux traitements allopathiques contre le paramphistome semble passer par des traitements aux huiles essentielles.

#### 3-1) Qu'est-ce que l'aromathérapie ?

L'aromathérapie, est un domaine particulier de la phytothérapie qui consiste en une utilisation thérapeutique des huiles essentielles (Labre, 2007).

Les huiles essentielles sont des composants complexes naturels et odorants extraits de plantes aromatiques, c'est-à-dire des plantes produisant des essences. Elles sont liquides, volatiles, limpides (le plus souvent incolores), lipophiles et solubles dans des solvants organiques ou de l'alcool, avec une densité généralement plus faible que l'eau. Elles peuvent être extraites à partir de toutes les parties de la plante : bourgeons, fleurs (oranger, rose, lavande), feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier noble), tiges, graines (muscade), fruits, racines (vétiver), rhizomes (curcuma, gingembre) bois (bois de rose, camphrier, santal) ou écorce (cannelier) (Bakkali, 2008). Selon sa localisation dans la plante, la composition de l'huile essentielle produite à partir de la même plante peut varier quantitativement et qualitativement.

Les familles principales de plantes aromatiques sont les : Lamiacées, Myrtacées, Lauracées, Abietacées, Rutacées, Astéracées, Apiacées, Poacées, et Cupressacées (Labre, 2007).

### 3-1-1) Procédés de fabrication

Il existe deux méthodes pour l'extraction des huiles essentielles : la distillation basse pression avec entrainement à la vapeur d'eau pour la plupart des plantes et l'expression à froid des essences d'agrumes.

L'expression à froid des essences d'agrumes est un procédé mécanique qui permet par centrifugation de récupérer les huiles essentielles contenues dans la peau du fruit.

Pour la distillation les organes végétaux sont placés dans un alambic où ils vont être traversés par la vapeur d'eau afin de libérer les molécules aromatiques contenues dans les cellules du végétal. Les huiles essentielles se condensent ensuite dans un réfrigérant [Figure 9]. Deux phases sont alors recueillies :

- Une phase aqueuse ou hydrolat qui contient une très légère quantité de molécules aromatiques ainsi que des composés hydrosolubles.
- Une phase contenant les huiles essentielles, non miscible à l'eau et qui surnage. C'est l'activité thérapeutique de cette phase qui est recherchée.

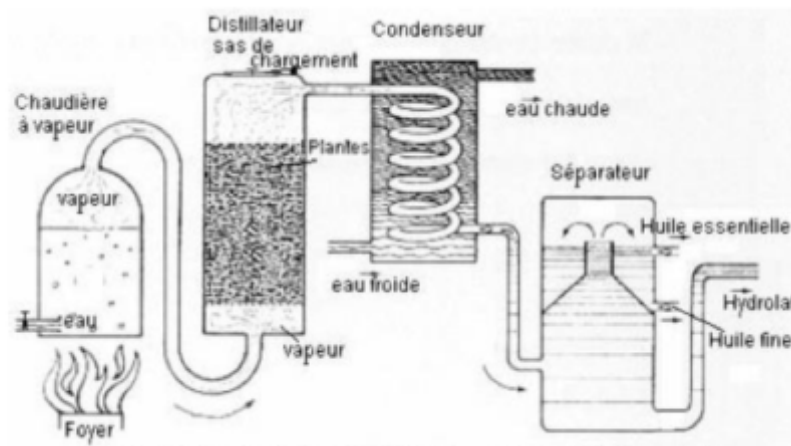


Figure 9 : Schéma de la technique de distillation des huiles essentielles par entrainement à la vapeur d'eau.

La distillation des plantes aromatiques nécessite une technique pointue, qui diffère suivant la plante utilisée et ses molécules d'intérêt. Les durées de distillation sont variables suivant le produit final recherché. Le rendement de distillation est faible, de l'ordre de 0,5 à 4 % à partir de la plante aromatique originale (Labre, 2007). A titre d'exemple, la distillation de 2 kg d'armoise (*Artemisia lancea*) donne 12,6 mL d'huile essentielle (rendement = 0,63 %). dans une étude de Zhu et al., que nous détaillerons par la suite.

### 3-1-2) Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes pouvant contenir jusqu'à 60 composants à plusieurs concentrations différentes. Elles sont caractérisées par 2 ou 3 composants majeurs à assez haute concentration (20 - 70 %) en comparaison d'autres composants à l'état de traces. Généralement ces composants majeurs déterminent les propriétés biologiques des huiles essentielles (Bakkali, 2008, Labre, 2007) [Tableau V].

Tableau V : Propriétés thérapeutiques de différentes huiles essentielles et de leurs constituants.

Classe de molécule	Exemples de molécule	Exemples d'huiles essentielles	Propriétés
<b>Phénols</b>	Thymol, Carvacrol, Eugénol	Origan, Girofle, Thym	Anti-infectieux, toniques, immunostimulants. Irritants pour les muqueuses ou la peau, hépatotoxique si utilisation prolongée
<b>Alcools monoterpéniques</b>	Linalol, Geraniol, Menthol	Palmarosa, Tea-tree	Anti-infectieux, immunostimulants (moins puissants que phénols)
<b>Alcools diterpéniques</b>	Scaréol, Saviol	Sauge	Action hormonal
<b>Cétones</b>	Verbénone, Bornéone, Thuyone	Menthe	Mucolytiques, lipolytiques, anticoagulants, activateur de la cicatrisation.
<b>Oxydes</b>	Eucalyptol	Eucalyptus, Laurier, Romarin	Décongestionnant pulmonaire, expectorant
<b>Aldéhydes</b>	Citronnellal	Eucalyptus citronné, Citronnelle	Anti-inflammatoire
<b>Acides</b>	Acide citronnellique, salicylique	Gaulthérie	Anti-inflammatoire, hypothermisant
<b>Esters</b>	Acétate de linalyle, de géranyl	Lavande	Antispasmodique, rééquilibrant nerveux
<b>Ethers</b>	Méthyl-chavicol, Anéthol	Anis, Fenouil	Spasmolytique, antidépresseur, sédatif
<b>Terpènes</b>			Antiseptiques, anti inflammatoires. Peuvent être irritants pour la peau et les muqueuses.

Il faut cependant tenir compte du fait que même si l'activité thérapeutique est essentiellement due aux molécules majoritaires, elle provient aussi d'une synergie globale des composants. D'une part en terme d'activité propre mais aussi par rapport à la pénétration dans les cellules (Bakkali, 2008, Labre, 2007). Par exemple, une étude *in vitro* montre une efficacité supérieure de l'huile essentielle d'*Artemisia lancea* contre les œufs et les larves d'*Haemonchus contortus*, par rapport à l'efficacité de ses deux principaux constituants, le 1-8 cinéole et le camphre, étudiés séparément. L'action anti-helminthique de cette huile essentielle résulte probablement de la combinaison des actions de ces deux constituants, ainsi que des autres composants mineurs (Zhu, 2013b).

Cependant, le profil chimique des huiles essentielles ne diffère pas seulement par le nombre de molécules mais aussi par le type stéréochimique des molécules extraites. Le produit d'extraction peut varier en quantité, qualité et composition selon le climat, la composition du sol, la partie de la plante choisie, son âge et son stade végétatif. Ce qui veut dire que pour obtenir des huiles essentielles de même composition, elles doivent être extraites sous les mêmes conditions. C'est-à-dire à partir du même organe de la plante qui a grandi sur le même sol, dans les mêmes conditions climatiques avec une récolte à la même saison (Bakkali, 2008).

La plupart des huiles essentielles commercialisées sont analysées par chromatographie en phase gazeuse ou par spectrométrie de masse. On a alors accès au chémotype de l'huile essentielle, la liste des constituants chimiques de l'huile essentielle avec leurs proportions (Bakkali, 2008). C'est en quelque sorte la carte d'identité de l'huile analysée. Par exemple alors que le « Thym vulgaire » présente des variations de composition importante selon son lieu de récolte, on parlera de *Thymus vulgaris* à thymol (ou *Thymus vulgaris* CT thymol, avec CT pour chémotype), à carvacrol ou à linalol selon qu'il ait poussé dans le Var en bord de mer ou dans l'arrière-pays, ou encore en Haute-Provence et selon son constituant majoritaire (Labre, 2007)

Des monographies analytiques ont été publiées par l'EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare) (Bakkali, 2008).

### 3-1-3) Usage courant des huiles essentielles

Les effets biologiques des huiles essentielles, ne sont pas encore parfaitement connus, du fait de la grande diversité des plantes aromatiques et de leurs composants ainsi que de l'étendue de leurs domaines d'action.

Les indications thérapeutiques sont souvent empiriques mais très vastes et recouvrent beaucoup d'affections [Tableau V]. Les huiles essentielles peuvent être : anti-infectieuses, antiparasitaires, anti-inflammatoires, immunostimulantes, antispasmodiques, cicatrisante, répulsive sur les insectes, etc (Labre, 2007).

Ces traitements ne sont cependant pas anodins et doivent être employés avec précaution (pas de contact avec les yeux par exemple) ; les huiles essentielles, à la différence des produits de phytothérapie, sont très concentrées en principes actifs et seules quelques gouttes suffisent en général. La dilution recommandée est de 5 à 10 %. Les excipients de choix sont les matières grasses qui vont permettre d'augmenter l'assimilation digestive, mais aussi de diminuer ou supprimer l'agressivité des huiles essentielles irritantes. Il est aussi possible d'utiliser des émulsifiants, afin d'augmenter la stabilité du mélange.

Les huiles essentielles peuvent être administrées par voie orale et très souvent diluées dans ce cas pour cause d'inappétence. On peut utiliser des huiles végétales comme l'huile de colza, de tournesol, d'olive, de l'huile de foie de morue ou encore de l'huile de paraffine. Le miel liquide est aussi une bonne solution lorsque l'on veut atténuer le goût et la causticité des huiles essentielles.

La voie cutanée peut aussi être utilisée, en particulier pour les antiparasitaires. Les huiles de tournesol, d'amande douce, ou de chanvre sont de bons excipients dans ce cas-là.

Plusieurs autres voies d'administration sont encore possibles : la voie rectale, génitale, intramammaire et respiratoire (Labre, 2007).

Il est important de bien connaître les propriétés des HE et leurs pouvoirs toxiques. En effet certaines ne peuvent absolument pas être utilisées pures ou pendant la gestation. Il existe aussi des HE avec une toxicité plus importante qui peut être de nature chimique (neurotoxicité, caractère abortif, toxicité hépatique ou rénale, photosensibilisation, allergies...) ou physique (pouvoir irritant pour les muqueuses et la peau, brûlures, causticité) (Labre, 2007).

### 3-1-4) Législation

Il n'existe pas encore de législation spécifique pour les produits d'aromathérapie vétérinaire. Pour l'instant sont reconnus trois cas :

- Les médicaments vétérinaires qui doivent faire l'objet d'une AMM, être délivrés sur une ordonnance par des pharmaciens ou des vétérinaires et être détenus par les ayants-droit.
- Les aliments médicamenteux ou des aliments complémentaires qui ne nécessitent pas d'AMM même s'ils sont contrôlés par l'Etat.
- Les additifs alimentaires à visées nutritionnelles, sensorielles, zootechniques, etc. Ils ne nécessitent pas d'autorisation à condition qu'aucune indication thérapeutique ne soit mentionnée sur l'étiquette qui les accompagne

C'est pour cela que beaucoup de producteurs commercialisent des huiles essentielles sous des appellations « additifs alimentaires », « additifs aromatiques », « suppléments alimentaires », aliments à objectifs particuliers ou diététiques », « aliments complémentaires », « compléments alimentaires ». Ils évitent donc absolument de revendiquer un effet thérapeutique afin ne pas avoir besoin d'Autorisation de Mise sur le Marché.



Néanmoins, une note de l'Anses de 2013, affirme que «L'usage de produits à base de plantes (huiles essentielles, additifs alimentaires...) dans le cadre de médecines alternatives (...) entraîne de facto la classification de statut de médicament vétérinaire pour ces produits ». Ainsi le recours à des thérapeutiques alternatives doit être fait sous couvert d'une AMM, ou dans le cadre d'une préparation magistrale sur prescription vétérinaire.

Règlementairement, les huiles essentielles devraient se voir appliquées un temps d'attente forfaitaire de 7 jours pour le lait et 28 jours pour la viande. En pratique, l'approvisionnement en huile essentielle est libre tant en médecine humaine que vétérinaire. Les éleveurs peuvent ainsi commander des produits d'aromathérapie sans ordonnance particulière, et les temps d'attente ne sont généralement pas appliqués.

La réglementation pourrait être amenée à évoluer, alors que les traitements alternatifs sont de plus en plus attractifs et que les impératifs réglementaires sont vus comme exagérés par les éleveurs et les demandes d'AMM coûteuses ne sont pas réalisables par les entreprises pour une part de marché si faible.

### **3-2) Efficacité des huiles essentielles en tant qu'antiparasitaire ?**

Alors que la plupart des connaissances sur les huiles essentielles sont issues de savoirs ancestraux et de remontées du terrain, le pouvoir antiparasitaire des huiles est cité régulièrement (Anthony, 2005, Bakkali, 2008, Monzote, 2012). Pourtant les expérimentations sur les huiles essentielles sont encore rares par rapport à la diversité des huiles existantes, et sont principalement conduites in-vitro.

#### **3-2-1) Activité anti-protozoaire des huiles essentielles**

On peut remarquer une augmentation importante du nombre de publications relatives aux huiles essentielles anti-protozoaires, entre 1988 et 2011, indiquant un intérêt nouveau pour ces traitements potentiels (Monzote, 2012). Les protozoaires ciblés étant logiquement ceux causant les maladies les plus fréquentes et dangereuses pour la santé humaine : Monzote et al., rapportent 22 études concernant *Plasmodium*, 14 pour *Trypanosoma*, 26 pour *Leishmania* et 4 pour des protozoaires intestinaux. *Cymbopogon citratus* (citronnelle), et *Ocimum gratissimum*, sont les plantes les plus souvent utilisées, suivies par *Ocimum basilicum* (basilic), *Origanum vulgare* (origan), et *Thymus vulgaris* (thym) (Monzote, 2012). En ce qui concerne les animaux, des essais de traitements contre la cryptosporidiose ont été tentés, avec peu de succès pour un produit un base d'allicine (constituant de l'ail), pour la diarrhée du veau (Olson et al., 1998 dans Karreman, 2007).

### 3-2-2) Activité anti-helminthique des huiles essentielles

#### 3-2-2-1) Action contre les strongles gastro-intestinaux

La plupart des études existantes concernent les strongles gastro-intestinaux des petits ruminants, alors que les problématiques de résistance aux anti-helminthiques sont prédominantes dans ces espèces. Les études *in vitro* dominent pour l'instant sur ce sujet.

##### ✓ Etudes *in vitro*

Les expérimentations *in vitro* pour déterminer les effets des huiles essentielles mesurent le taux d'éclosion des œufs de parasites, le taux de développement larvaire (passage de L1 à L3), et l'inhibition de la migration larvaire des L3 selon la concentration d'huile essentielle à laquelle les éléments parasitaires sont exposés. Il est aussi possible d'effectuer des essais de toxicité sur des animaux de laboratoire afin de calculer la dose létale.

En ce qui concerne *Haemonchus contortus* plusieurs plantes chinoises ont été testées : *Arisaema franchetianum*, *Arisaema lobatum*, et *Artemisia lancea* (Zhu, 2013a, 2013b). L'huile essentielle d'*A. lobatum*, dont le carvacrol était le constituant principal, était la plus efficace pour l'inhibition de l'éclosion des œufs (CE50 = 0,73 mg/mL) et l'inhibition du développement larvaire (CE50 = 0,48 mg/mL). Les résultats étaient même similaires à ceux de l'albendazole à la dose de 5 mg/mL. Finalement la migration larvaire était inhibée à 95,6 % à la concentration de 10 mg/mL (Zhu, 2013a). L'huile essentielle d'eucalyptus, *Eucalyptus staigeriana*, ayant pour constituant principal le limonène citral, possède aussi une activité *in vitro* contre les strongles gastro-intestinaux des chèvres. Elle inhibe respectivement 99,3 % et 99,2 % de l'éclosion des œufs de strongles et de leur développement larvaire aux concentrations de 1,3 mg/mL et de 5,4 mg/mL (CE50 = 0,3 mg/mL et 1,7 mg/mL) (Macedo, 2010).

##### ✓ Etude *in vivo*

De plus l'huile essentielle d'eucalyptus a aussi été testée *in vivo* sur 30 chèvres infestées naturellement, où expérimentalement si la charge parasitaire était trop faible après vérification par coproscopie. Trois groupes de chèvres ont été formés : un groupe témoin, un groupe de chèvres traitées avec 0,2 mg/kg d'ivermectine, et un groupe traité avec 500 mg/kg d'huile essentielle d'eucalyptus. L'efficacité, mesurée par la diminution de l'excrétion fécale, était alors de 76,6 %, quinze jours post traitement (Macedo, 2010). Même si l'efficacité n'atteint pas le seuil requis pour les traitements allopathiques ce résultat reste intéressant pour une thérapeutique alternative. Par contre la dose d'huile essentielle utilisée pour le traitement semble énorme et les difficultés d'administration, même si elles ne sont pas évoquées, doivent être difficilement surmontables.

Les huiles essentielles ou leurs constituants testés peuvent être des pistes à explorer pour la recherche de traitements anti-parasitaires alternatifs, mais des doses acceptables restent à être trouvées. Les études *in vitro* doivent être accompagnées d'études *in vivo* pour valider les propriétés antihelminthiques.

### 3-2-2-2) Action contre les Trématodes

Alors que les recherches sur l'activité anti-parasitaire des huiles essentielles sont peu nombreuses, les informations de leurs effets sur les trématodes sont encore plus rares. La majeure partie des publications ne concernent pas un produit d'aromathérapie, mais une oléorésine de myrrhe (*Commiphora molmol*), contenu dans un produit commercial : le Mirazid®. Haridy et al. en 2003 (cités dans Karreman, 2007), ont montré que des capsules avec des doses de 600 mg et 1200 mg guérissaient 83 et 100 % des moutons atteints de fasciolose. La guérison était objectivée par l'examen des matières fécales ou des nécropsies. De même une efficacité contre *Dicrocoelium dendriticum* a été prouvé par Massaud et al., en 2003. Une étude de Massoud et al. en 2012, a comparé l'action de l'oléorésine contenue dans le Mirazid® avec celle de l'huile essentielle de myrrhe *in vitro*, par l'observation des changements morphologiques de la surface de *Fasciola gigantica*. L'huile essentielle de myrrhe était alors plus efficace que l'oléorésine et semblait être responsable de l'activité anti-helminthique du Mirazid® (Massoud, 2012).

Plusieurs extraits de plantes indiennes ont aussi prouvé une efficacité *in vitro* contre le trématode *Paramphistomum cervi*. Le solvant d'extraction avec lequel les plantes avaient la plus grande activité était le méthanol. Les extraits de plante n'étaient pas utilisés sous forme d'huile essentielle et l'extraction se déroulait comme suit : broyage en poudre des feuilles puis extraction par le méthanol à 60 - 80°C pendant 8h. Les plantes provoquant la plus forte mortalité chez les paramphistome étaient *Centella asiatica*, *Gloriosa superba*, *Pergularia daemia* et *Phyllanthus emblica* (CL50 = 77,6, 60,2, 59,6 et 60,6 ppm) (Bagavan, 2009). D'autres études citées par Bagavan et al., parlent d'efficacité d'extrait de plantes contre le paramphistome dans différents solvants : Chopra, 1991, Tandon, 1997, et Zahir, 2009.

Les données sur les plantes dans le domaine de la lutte contre les trématodes sont très peu nombreuses, et à plus forte raison celles concernant les huiles essentielles. L'activité de ces huiles comme anti-infectieux et contre de nombreux parasites, en particulier des protozoaires, est cependant démontré. Les pistes d'explorations restent donc nombreuses et intéressantes.

Les quelques avancées réalisées dans le domaine de la phytothérapie et l'aromathérapie intéressent plus particulièrement dans le milieu de l'agriculture biologique où existe une volonté claire de limiter les nombres de traitements allopathiques et de privilégier les médecines alternatives. C'est le rôle du GAB que de fournir des informations sur ces nouvelles méthodes et de conseiller les éleveurs dans le domaine de la gestion du parasitisme par exemple. Le travail présenté en deuxième partie témoigne d'une volonté de connaître les pratiques des éleveurs afin de mieux les orienter ensuite.



## II) ETUDE PERSONNELLE

### A) Objectifs

Le travail présenté ici a été financé par le GAB 44 et a fait partie d'un projet sur 3 ans qui se décomposait en plusieurs étapes répondant à plusieurs objectifs.

- Début 2013 : Réalisation d'un questionnaire à destination des éleveurs adhérents au GAB44.

L'objectif primaire était de connaître les pratiques des éleveurs biologiques du département vis-à-vis des parasites présents en Loire-Atlantique, les strongles gastro-intestinaux et respiratoires, la grande douve et le paramphistome. Les interrogations portaient particulièrement sur la sensibilisation aux médecines alternatives et sur leurs utilisations. De plus, le questionnaire réalisé permettait d'avoir accès aux pratiques de pâturages pour les différents lots d'animaux.

En ayant accès aux risques encourus par les animaux et aux pratiques de traitements habituels des éleveurs, un objectif secondaire était de pouvoir fournir des clés dans la lutte contre le parasitisme dans ces élevages. Les parasites retenus pour l'analyse étaient les strongles gastro-intestinaux, la grande douve et le paramphistome.

- Fin 2013, début 2014 : Sélection des élevages avec une forte présence de paramphistome.

Suite à la première partie de l'étude, il s'est avéré que beaucoup d'éleveurs prenaient en compte le paramphistome dans leurs plans de traitements et qu'une majorité utilisait des traitements alternatifs contre ce parasite. La première question a porté sur la réalité de l'infestation des troupeaux par le paramphistome en Loire-Atlantique. Est-ce que les élevages de l'étude qui traitaient ou avaient déjà traités leurs animaux étaient réellement contaminés par ce parasite ?

- Début 2015 : Essai de traitement d'aromathérapie.

La fin de ce projet réalisé par l'étudiante en thèse avait pour but de juger de l'efficacité réelle des produits aux huiles essentielles, et en particulier du produit le plus souvent cité par les éleveurs.

Nous nous sommes demandé tout d'abord si les zones à risque dans les pâtures et la façon de gérer le pâturage avaient un lien avec l'infestation et les animaux touchés.

Puis nous avons essayé de déterminer les caractéristiques des animaux infestés tant au niveau épidémiologique que clinique.

Ensuite l'efficacité du traitement a été jugée sur son impact dans une diminution de l'excrétion mais aussi en regardant s'il avait un rôle dans une amélioration global de la santé des animaux.

Enfin, de façon secondaire, la répétabilité de la méthode coproscopique utilisée a été jugée ainsi que la stratégie de prélèvements employée pendant cette étude.

## **B) Etat des lieux de la gestion du parasitisme par les éleveurs bios de Loire Atlantique**

### **1) Matériels et méthodes**

#### ***1-1) Questionnaire aux éleveurs [Annexe 1]***

La première partie de l'étude a été basée sur un questionnaire élaboré par un étudiant de DUT, stagiaire au GAB44 qui a rencontré 62 éleveurs volontaires, adhérents au GAB44, afin de collecter diverses informations.

La première partie du questionnaire permettait d'obtenir un descriptif rapide de l'exploitation et de l'exploitant.

La seconde partie donnait accès aux informations suivantes pour chaque type de parasite :

- Mise en œuvre d'un diagnostic avec identification du type de diagnostic,
- Mise en œuvre de traitement, avec l'identification du type de traitement, du moment d'utilisation, et des lots d'animaux traités.

Finalement la dernière partie recensait les systèmes de pâturage, les descriptifs des parcelles vis-à-vis des zones humides, les dates de sortie et de rentrée à l'étable, pour chaque lot d'animaux (les génisses de première, deuxième et troisième saison de pâture, les vaches laitières et les vaches tarées).

#### ***1-2) Analyse des données recueillies [Annexe 4 et 5]***

##### **1-2-1) Données sur les strongles gastro-intestinaux [Annexe 4]**

Les strongles gastro-intestinaux contaminent les animaux au moment du pâturage. Leurs effets sont variables selon l'immunité des animaux contaminés. Chez les jeunes non immuns, ils peuvent provoquer des retards de croissance, et en cas de forte infestation, une atteinte de l'état général accompagnée de diarrhée et de déshydratation. On considère que les animaux sont protégés lorsque les vaches ont été suffisamment en contact avec le parasite pour développer une immunité concomitante. Cette immunité ne prévient pas totalement de l'infestation par les strongles mais elle permet une diminution de la charge parasitaire ; les signes cliniques sont alors rarissimes.

L'évaluation de l'installation de l'immunité peut se faire à partir du calcul d'un TCE, temps de contact effectif, qui a été calculé ici à partir des informations du questionnaire (en vert) énoncées dans la Figure 10.

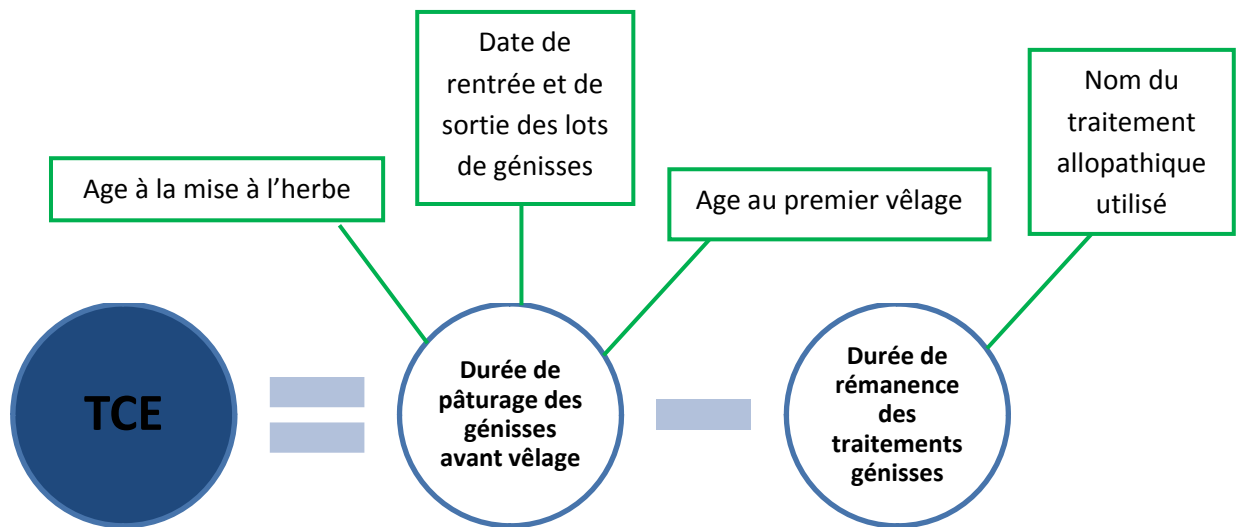


Figure 10 : Calcul du TCE à partir des données du questionnaire (en vert).

Ainsi le TCE prenait en compte le temps total où les génisses avaient été en contact avec les parasites. Pour que l'approche du TCE soit complète, il aurait fallu prendre en compte les périodes de sécheresse où les bovins ne consommaient pas d'herbe et n'ingéraient donc pas de larves de SGI. Cette donnée n'étant pas accessible, nous avons calculé ce TCE approximatif pour chaque élevage. Le TCE étant considéré comme suffisant pour l'installation de l'immunité lorsqu'il était supérieur à 8 mois.

Les autres données utilisées comprenaient les types de diagnostic utilisés par les éleveurs :

- Coproscopique,
- Dosage de pepsinogène sérique,
- Dosage des anticorps dans le lait,
- Recherche de larves (L3) dans l'herbe,
- Absence de diagnostic.

Le questionnaire ne faisait cependant pas la distinction dans les pratiques de diagnostics entre les lots d'animaux.

Finalement les pratiques de traitement ont aussi été analysées :

- traitement allopathique par lot,
- traitement allopathique au cas par cas,
- traitement d'aromathérapie,
- traitement mixte, aromathérapie et allopathie.

Les lots de traitement ont été regroupés dans un groupe génisses pour les génisses de première, deuxième et troisième saison de pâture, et dans un groupe vaches laitières pour les vaches en lactation et les vaches tarées.

### 1-2-2) Données sur les trématodes [Annexe 5]

*Fasciola hepatica* et *Calicophoron daubneyi* ont des cycles épidémiologiques très proches qui nécessitent la présence d'un mollusque et de zones humides. Les zones à risque pour cette parasitose sont nécessairement des lieux permettant le développement de cet hôte intermédiaire et correspondent aux descriptions faites précédemment dans la partie bibliographique.

Le questionnaire nous renseignait précisément sur les zones à risques rencontrées pour chaque lot (mare, cours d'eau, prairies inondables, marais, prairies humides), ainsi que sur leur accessibilité. Dans un souci de simplification, un classement en 3 types de zone à risque a été créé :

- Zone à risque élevé : Prairie inondable ou humide, marais, prairie avec une mare accessible.
- Zone à risque modéré : Prairie avec une mare non accessible ou prairie avec présence d'un cours d'eau accessible.
- Zone à risque faible à nul : Prairie avec une rivière non accessible, prairie sans zone humide.

Pour caractériser le risque encouru par chaque lot d'animaux, nous avons considéré les pâtures avec le risque le plus élevé à chaque fois. Par exemple un lot de génisse qui pâture à la fois des parcelles à risque faible et des parcelles à risque élevé a été considéré comme un lot à risque élevé de trématodose.

Les lots d'animaux étant les mêmes que ceux énoncés précédemment pour les SGI.

En ce qui concerne les pratiques de diagnostic et de traitement nous avons séparé ce qui concernait les paramphistomes et les grandes douves. Les types de diagnostic fiables pour la grande douve étant :

- les retours d'abattoir,
- les coproscopies,
- les sérologies,
- les dosages d'anticorps dans le lait.

Par la suite les retours d'abattoir ont été écartés comme méthode diagnostic étant donné que les retours ne sont pas toujours faits aux éleveurs.

Pour le paramphistome, seul la coproscopie a été considéré comme diagnostic. Les pratiques de traitements ont été séparées dans les mêmes catégories que pour les SGI.

### 1-3) Tests statistiques utilisés

Les tests statistiques utilisés dans cette partie visaient à mettre en évidence des différences significatives pour les pratiques des éleveurs. C'est le logiciel « R » qui a été utilisé ici. Le test de Khi-Deux a été employé dans les cas où les effectifs étaient suffisants pour chaque catégorie, tandis que c'est le test de Fisher qui a été utilisé quand les effectifs étaient trop faibles. Les résultats sont significatifs quand la p-value est inférieure à 0,05. Cela correspond à une probabilité de 5 % de se tromper lorsque l'on affirme l'indépendance de deux résultats.



## 2) Résultats

### 2-1) Gestion du risque vis-à-vis des strongles gastro-intestinaux

#### 2-1-1) Pratiques de pâturage pour les génisses

De prime abord, pour ce qui concerne les vaches laitières, les élevages biologiques ne semblent pas les élevages les plus à risque vis-à-vis des strongles gastro-intestinaux. En effet la mise à la reproduction des génisses était souvent tardive, alors que la première mise à l'herbe était souvent précoce. Dans notre échantillon, l'âge moyen au premier vêlage était de 32 mois, et les génisses étaient mises à l'herbe en moyenne à l'âge de 8 mois.

En utilisant le calcul cité précédemment le TCE approché était très élevé avec une moyenne de 17,6 mois.

Il n'y avait qu'un seul élevage où les génisses n'étaient pas immunisées au vêlage. Le TCE était inférieur à 8 mois car, bien que les génisses soient traitées tous les ans par un traitement rémanent, elles ne sortaient pas avant le vêlage. Cet élevage différait totalement des autres élevages interrogés qui avaient en moyenne de longues durées de pâturage (18,1 mois) avant vêlage et une moyenne de rémanence de traitement faible (moins de 2 semaine) [Figure 11].

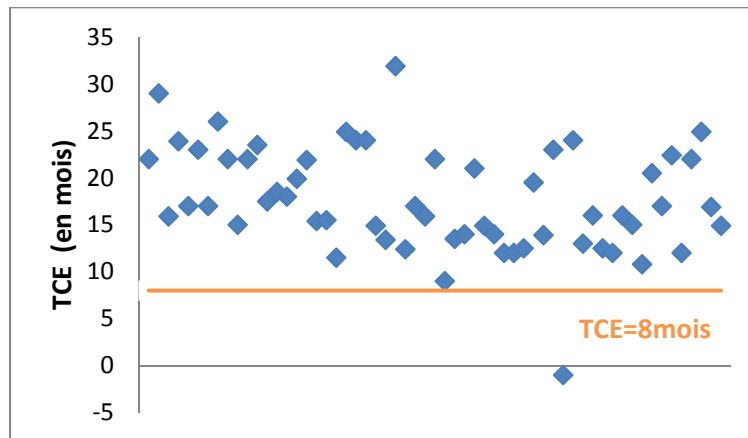


Figure 11 : Temps de Contact Effectif moyen des génisses de 62 élevages.

Les vaches laitières ne présentaient donc pas de risques particuliers dans ces élevages et les traitements pourraient être largement limités.

#### 2-1-2) Pratiques de traitement

Plusieurs types de traitements étaient effectués régulièrement par les éleveurs mais de façons différenciées entre les vaches laitières et les génisses. Les génisses étaient significativement ( $p\text{-value} = 8,7 \times 10^{-6}$ ) plus souvent traitées que les vaches. En effet dans 85 % des élevages les génisses avaient un traitement anti-strongles contre seulement 46 % des élevages pour les vaches laitières. De plus les génisses étaient aussi plus souvent traitées par lot (82 % des traitements) que les vaches qui étaient sélectionnées au cas par cas pour 56 % des traitements.

En ce qui concerne les types de traitements, ceux utilisés par les éleveurs biologiques contre les strongles gastro-intestinaux étaient principalement des traitements allopathiques, 58 % des élevages pour les génisses et 30 % pour les vaches. Ces traitements allopathiques étaient majoritairement rémanents pour les génisses alors que la durée de rémanence des traitements vaches utilisés était généralement plus faible [Figure 12].

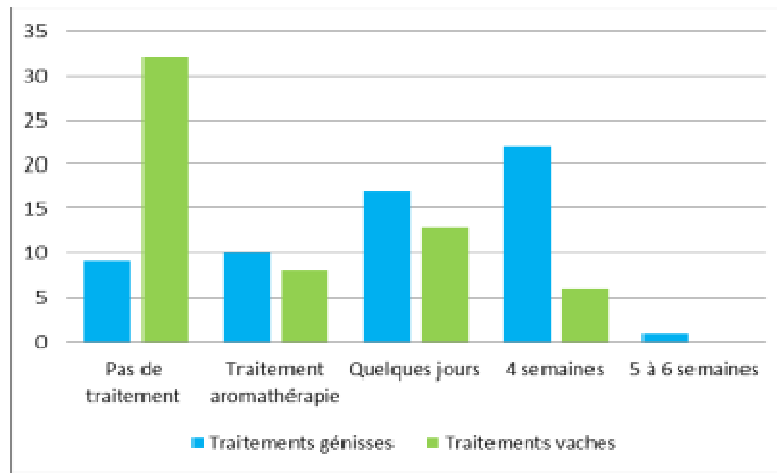


Figure 12 : Durée de rémanence des traitements utilisés régulièrement par les éleveurs bio du 44.

De façon plus anecdotique (pour 17 % des génisses et 14 % des vaches), quelques traitements alternatifs étaient aussi employés, la plupart à base d'huiles essentielles, avec une grande diversité dans chaque élevage : Actigreen de Therabio, AND 500 et T21 de Bionature, Kefiplant n°27, Soluphyt de Symbiopôle et de l'ail.

La décision de traitement était peu argumentée, seuls 38 % des éleveurs s'appuyaient sur au moins un type de diagnostic. Le diagnostic le plus courant étant la coproscopie dans 27 % des élevages, suivi par le dosage des anticorps dans le lait (18 %), le dosage du pepsinogène sérique (15 %) et la recherche de L3 dans les pâtures (3 %).

En outre le fait de réaliser un diagnostic ou non n'impactait pas la décision de réaliser un traitement chez les génisses ( $p$ -value = 0,75). Pour les vaches, même si le résultat n'était pas significatif, il semblait que la réalisation d'un diagnostic parasitaire était plus souvent suivie de la décision de réaliser un traitement ( $p$ -value = 0,22).

Ainsi, souvent sans diagnostic, les éleveurs traitaient régulièrement leurs génisses par lots avec des traitements parfois rémanents jusqu'à 4 semaines. Plusieurs élevages traitaient aussi les vaches laitières et parfois même avec des traitements rémanents. Cela semble aller à l'encontre de l'analyse des données de pâturage qui nous montrait une grande majorité des élevages ayant des génisses immunes aux premiers vêlages et donc ne nécessitant sans doute pas de traitement durant leur carrière de vaches laitières.

## 2-2) Gestion du risque vis-à-vis des trématodoses

Cette partie est consacrée à l'analyse des zones humides présentes dans chaque élevage. L'enquête réalisée montrait que les éleveurs biologiques du 44 avaient des pratiques de pâturage à risque pour la plupart. Il n'y avait que 6 % des élevages où les animaux pâturaient sur des parcelles saines toute leur vie. Les zones à risque rencontrées couramment étaient des marais, des prairies humides et des ruisseaux ainsi que des mares pour la plupart non clôturées.

Il semble cependant que les vaches soient plus préservées des zones à risque que les génisses ; 73 % des éleveurs faisaient pâturer leurs génisses dans au moins une parcelle avec une zone à risque élevé, contre 61 % pour les vaches. De même au sein des vaches laitières c'était plus souvent les vaches taries qui pâturaient dans les parcelles à risques (53 % des vaches taries contre 39 % pour les vaches en lactation). Ces différences n'étaient cependant pas significatives avec un test de Khi-2.

## 2-2-1) Gestion du risque fasciolose

### 2-2-1-1) Pratique de diagnostic

Les méthodes de diagnostic déclarées par les éleveurs étaient diversifiées mais peu souvent employées. De plus 23 % des éleveurs se fiaient aux retours d'abattoirs sur les foies parasités par la grande douve alors que ce n'est plus fait systématiquement si les bovins ne sont pas abattus pour la vente directe. Sinon 21 % des éleveurs déclaraient faire des coproscopies, 19 % avaient déjà fait des sérologies douves tandis qu'ils étaient 18 % à avoir utilisé la détection d'anticorps dans le lait de tank. Ainsi seuls 40 % des éleveurs effectuaient au moins un type de diagnostic, avec une légère augmentation de la proportion d'éleveurs sensibilisés à cette problématique quand leurs animaux pâturaient dans des zones à risque élevé (60 % des éleveurs faisaient alors au moins un type de diagnostic). A l'inverse quand le risque était faible ou nul, quasiment aucun éleveur n'effectuait un diagnostic parasitaire pour la douve ; seul un diagnostic sérologique était fait sur les génisses pour un élevage.

Alors que les éleveurs déjà sensibilisés à la pratique d'un diagnostic douve étaient les éleveurs dont les animaux paissaient dans des zones à risque, la réalisation de ce diagnostic les incitait fortement à réaliser un traitement par la suite et de façon significative pour les vaches ( $p$ -value = 0,003 pour les vaches,  $p$ -value = 0,09 pour les génisses). Le diagnostic influait aussi sur le type de traitement utilisé (par exemple 32 % des génisses étaient traitées avec un traitement allopathique après un diagnostic contre 3 % des génisses traitées allopathiquement sans diagnostic).

### 2-2-2-2) Pratiques de traitements

Les éleveurs étaient peu enclins à traiter contre la douve et même lorsque le risque était élevé, la majorité des éleveurs n'effectuait pas de traitement que ce soit sur les génisses ou sur les vaches (62 et 61 %). Quand un traitement était réalisé c'était le traitement allopathique qui était privilégié (22 % des génisses et 29 % des vaches), même si plusieurs éleveurs ne faisaient aussi que des traitements d'aromathérapie (15 % pour les génisses, 11 % pour les vaches).

Par contre le traitement d'aromathérapie était le traitement privilégié lorsque le risque de parasitisme douve était modéré ou nul ; dans ce cas aucun éleveur ne traitait ses animaux par lot avec un traitement allopathique [Figure 13].

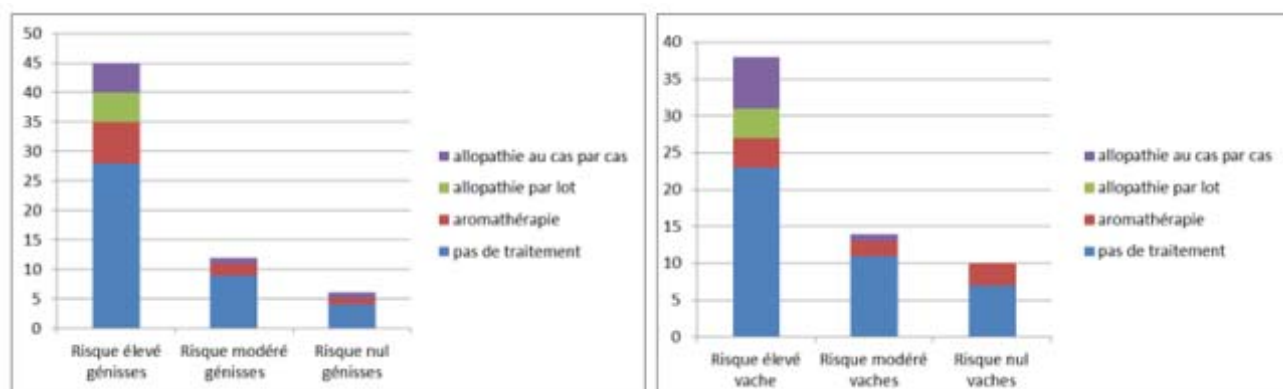


Figure 13 : Types de traitements contre la fasciolose utilisés par les éleveurs bios du 44 pour les génisses et les vaches en fonction du risque Trématode

De plus les traitements aux huiles essentielles étaient faits plus volontiers et de manière significative ( $p$ -value = 0,00012) lorsqu'aucun diagnostic n'était réalisé.

## 2-2-2) Gestion du risque paramphistomose

### 2-2-2-1) Pratiques de diagnostic

Seulement 16 éleveurs sur les 62 interrogés recherchaient les paramphistomes par coproscopie. De la même façon que pour la grande douve, nous avons observé que les éleveurs dont les animaux pâturaient dans des zones à risque élevé faisaient significativement plus souvent de diagnostic que la moyenne (p-value = 0,004). A l'inverse lorsque le risque était faible à nul, quasiment aucun éleveur ne faisait de diagnostic paramphistome.

Et au contraire de ce qui se passait pour la fasciolose, les éleveurs ne traitaient pas plus après la réalisation d'un diagnostic (p-value = 0,16).

### 2-2-2-2) Pratiques de traitements

Le résultat le plus surprenant de cette enquête montrait que c'était les traitements alternatifs les plus couramment employés contre le paramphistome : 26 % des éleveurs traitaient avec ces produits contre 10 % avec des traitements allopathiques. Les traitements alternatifs cités étaient tous des produits à base d'huile d'essentielle, le plus utilisé étant le SOLUPHYT-P. Les autres produits étaient des préparations de Bionature à visée antiparasitaire et stimulateur des défenses naturelles : AND 500 et T21. Marginalement, un mélange d'ail, girofle et cannelle était utilisé, ainsi que du « Kéfi plant » n°27.

De façon encore plus frappante, lorsque le risque était faible à modéré, aucun éleveur n'utilisait de traitement allopathique, quand 27 % utilisaient des huiles essentielles [Figure 14].

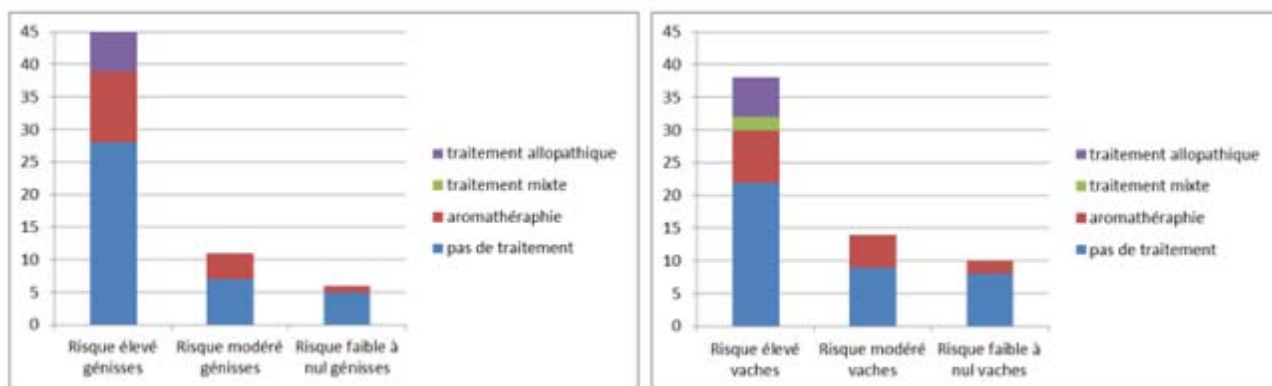


Figure 14 : Types de traitement contre la paramphistomose utilisés par les éleveurs bio du 44 pour les génisses et les vaches en fonction du risque Trématode.

Cependant, après la recherche du paramphistome par coproscopie, la tendance s'inversait au niveau du type de traitement : il y avait plus de traitement allopathique que d'aromathérapie, surtout pour les génisses (p-value=0,07).

De manière générale pour ce qui concernait les trématodes, les éleveurs étaient peu nombreux à traiter et à effectuer des diagnostics parasitaires. Par contre quand les animaux étaient dans des zones à risque le pourcentage d'élevage augmentait tant pour les traitements que les diagnostics. Les traitements utilisés étaient alors majoritairement des traitements allopathiques contre la grande douve et d'aromathérapie contre le paramphistome. Par contre pour les deux parasites, lorsque les animaux couraient moins de risque les éleveurs préféraient utiliser des traitements alternatifs.

## C) Essai clinique de traitements d'aromathérapie sur la paramphistomose bovine

Les résultats de la première enquête menée sur l'ensemble des adhérents du Groupement des Agriculteurs Biologiques de la Loire Atlantique ayant montré une forte utilisation de produits aux huiles essentielles dans la lutte contre le paramphistome, il a été décidé de vérifier l'efficacité réelle des produits alternatifs utilisés.

### 1) Matériels et méthodes

#### 1-1) Sélection des élevages participant à l'étude

En premier lieu avant d'effectuer une expérimentation sur l'efficacité de traitements alternatifs, il fallait d'abord vérifier que le paramphistome était réellement présent dans les élevages biologiques de Loire-Atlantique.

Les élevages ont été sélectionnés d'après le premier questionnaire, et les 34 exploitations où des traitements (allopathiques et/ou alternatifs) contre les paramphistomes avaient déjà été effectués par le passé ont été retenues. Finalement 16 élevages ont participé à la deuxième phase du protocole qui se déroulait comme suit :

- Réalisation de coproscopies sur 7 prélèvements de matières fécales de vaches laitières choisies par l'éleveur entre novembre 2013 et janvier 2014, avant la réalisation de tout traitement.
- Répétition des coproscopies sur ces mêmes vaches, 3 semaines après la fin des traitements.

Les coproscopies ont été réalisées au service de parasitologie d'Oniris, avec la méthode qui sera détaillée dans la partie B-1-3-3).

La prévalence de vaches positives pour ces 16 élevages était de 35 % et les élevages ont alors été classés en 3 groupes selon le résultat coproscopique des vaches.

<i>Elevages indemnes de paramphistomes</i>	Aucune vache positive avant et après traitement	5 élevages
<i>Elevages avec une faible présence de paramphistomes</i>	Quelques vaches positives, excrétion faible (moins de 50 œufs par gramme)	6 élevages
<i>Elevages avec une présence significative de paramphistomes</i>	Majorité des vaches laitières (VL) avec des coproscopies positives à plus de 50 œufs par gramme (opg)	5 élevages

Ce sont conséquemment les 5 élevages avec la plus forte présence en paramphistomes, ainsi qu'un élevage supplémentaire ajouté sur les conseils du Docteur Laurence JOUET, vétérinaire à Redon, après un diagnostic de paramphistomose dans l'hiver, qui ont fait partie de la suite de l'étude menée en 2015.

## 1-2) Visites des pâtures des élevages sélectionnés

Les élevages sélectionnés et qui ont participé à l'essai ont été visités par l'étudiante en thèse pour faire un état de lieux sur les zones humides présentes dans l'élevage et la nature du risque pour les différents lots d'animaux. La visite comprenait une partie questionnaire et une partie visite de pâtures.

Les informations générales recueillies sur l'exploitation en 2013 étaient complétées et actualisées avec une attention particulière portée au parcellaire de l'exploitation. Cela permettait de connaître de façon assez précise la surface disponible aux différents lots de génisses, aux vaches taries et aux vaches en lactation.

Les zones humides, favorables au développement des limnées, ont été décrites aux éleveurs afin qu'ils puissent nous désigner celles présentes sur l'exploitation. La surface de chaque zone humide a été reportée ainsi que la surface des pâtures dans lesquelles elles se trouvaient. Les lots d'animaux ayant accès à ces zones humides étaient précisés.

Finalement l'enquête se concluait par le tour des pâtures et des zones humides à la recherche de limnées ; 3 à 4 parcelles ont été examinées, au maximum pendant 10 minutes si aucune limnée n'était trouvée.

## 1-3) Essai de traitements d'aromathérapie

### 1-3-1) Le choix des traitements

La nécessité d'avoir un groupe témoin et un nombre suffisant d'animaux pour l'analyse nous a fait choisir seulement deux traitements, vu la taille des cheptels étudiés.

Le premier traitement, le SOLUPHYT-P, du laboratoire Symbiopôle, a été choisi d'emblée, car d'après les questionnaires, c'était le produit alternatif le plus répandu dans les élevages pour la lutte contre le paramphistome. L'enjeu était ainsi de vérifier les allégations d'efficacité de ce produit. La notice d'utilisation nous a été expliquée par le commercial de Symbiopôle.

Il devait être appliqué 15 mL de ce produit sur la ligne du dos 3 jours de suite, à la nuit tombée, car c'est un produit photosensibilisant. Il a été rapporté par des utilisateurs que les vaches pouvaient réagir fortement par une émission de bouse importante peu après l'application. Ce produit serait aussi plus efficace au moment de la pleine lune.

Le deuxième produit a été formulé avec l'aide de Mr. Michel DERVAL, aromathérapeute, ainsi qu'avec le Dr Catherine Roffet et le Dr Laurence Jouet, vétérinaires du GAB44. Il ne contenait qu'une seule huile essentielle, extraite de la cannelle de Chine (*Cinnamomum cassia*). Cette huile a été choisie en raison de ses supposées propriétés anti-parasitaires et de son pouvoir de stimulation du système immunitaire.

Les six flacons de 300 mL d'huiles essentielles ont été confectionnés à la Clinique Vétérinaire des Rivières de Redon, par un mélange de 30 mL d'huile de cannelle dans 270 mL d'huile de pépin de raisin. Le constituant principal de l'huile de cannelle testée était, d'après la chromatographie l'e-cinnamaldéhyde [Annexe 6].

La préparation devait être administrée par voie orale à raison de 10 mL par vache pendant 3 jours, soit 3 mL d'huile de cannelle par vache au final. Elle a été distribuée au même moment que le SOLUPHYT-P, c'est-à-dire après la traite du soir, dans les 6 élevages.

### 1-3-2) Déroulement de la phase expérimental [Figure 17]

L'étude a débuté en janvier 2015 afin que la période prépatente du paramphistome soit achevée pour tous les troupeaux et que la ponte soit maximale. Les dates de début d'étude (J1) pour les différents troupeaux étaient les suivantes :

- Elevage A : 12/01/15
- Elevage B : 14/01/15
- Elevage C : 19/01/15
- Elevage D : 21/01/15
- Elevage E : 26/01/15
- Elevage F : 02/02/15

21 jours séparaient le début de l'expérimentation pour le premier élevage et du début de l'expérimentation pour le dernier élevage.

La méthode choisie pour la vérification de l'efficacité des traitements était la coproscopie (la méthode sera décrite dans la partie 1-3-3). Cependant comme nous l'avons vu précédemment (Devos, 2010), la variation d'excrétion d'un jour à l'autre paraît très forte. Il pouvait alors être intéressant de répéter les prélèvements sur plusieurs jours afin d'avoir accès au maximum d'excrétion ou à une moyenne de la quantité d'œufs émis. De plus l'infestation étant assez faible dans la région, la répétition des coproscopies nous permettait une meilleure détection de toutes les vaches positives du troupeau.

Ainsi, il a été décidé de répéter les coproscopies 3 jours de suites. Les deux premières séries de coproscopies ont été effectuées de façon à repérer les vaches positives qui allaient entrer dans l'essai traitement. Et les résultats coproscopiques des 3 jours ont permis la constitution des lots de vaches au sein de chaque exploitation et la mesure de l'excrétion individuelle pré-traitement.

✓ A J1 et J2, une trentaine d'échantillons de bouse des vaches de l'exploitation ont été prélevés après la traite du matin par voie transrectale et conservés dans des pots à prélèvements identifiés par le numéro de la vache. Les prélèvements ont été acheminés le matin même au laboratoire de parasitologie d'Oniris pour y être analysés dans la journée suivant la méthode décrite dans la partie 3-1-1). Les vaches ont été sélectionnées de façon à représenter tous les rangs et stades de lactation présents, ainsi que pour avoir au moins vingt vaches positives ensuite [Tableau VI].

**Tableau VI : Nombre de vaches laitières (VL) prélevées par élevage à J1 et J2.**

Numéro d'élevage	A	B	C	D	E	F
Nombre de VL prélevées à J1 et J2	33	30	32	28	32	30

Durant la visite, la note d'état corporel (NEC) a été évaluée pour chacune des vaches prélevées, en se basant sur l'épaisseur des dépôts graisseux sur la pointe de la fesse, sur la visibilité de l'épine dorsale et des apophyses transverse. La grille de notation s'étend de 1 pour une vache en très mauvais état, à 5 pour une vache trop grasse.

De plus, la consistance des matières fécales (NoteMF) a été évaluée lors du prélèvement et notée de 1 à 5. La consistance normale d'une bouse de vache laitière en lactation a été notée 3 tandis qu'une bouse de consistance plus molle a été notée 2 et que la note 1 correspondait à une vache en diarrhée. Les matières fécales à J100 n'ont pas été notées car, le prélèvement étant effectué après la mise à l'herbe, les bouses étaient de consistance plus liquide pour chaque vache.

Finalement, les vaches ont aussi été observées de face et de profil afin de juger de l'état du poil ainsi que de la présence ou non de « la selle de cheval ».

A l'issue du deuxième jour d'analyse (J2), 21 vaches ayant eu au moins une analyse coproscopique positive lors de J1 ou de J2, et préférentiellement les vaches ayant eu deux analyses positives, ont été retenues pour la suite de l'étude. Dans l'élevage A et B, seules 20 vaches ont pu être sélectionnées.

✓ A J3, 20 vaches pour les élevages A et B, 21 vaches pour les autres élevages ont été prélevées. Après l'obtention des derniers comptages parasitaires, l'allotement dans les groupes de traitement a été effectué en fonction de la quantité d'œufs excrétés.

Les vaches ont été classées en 3 groupes : le premier groupe contenait les vaches ayant eu 3 résultats positifs en 3 jours, le deuxième groupe contenait les vaches ayant eu 2 résultats positifs et le troisième groupe regroupait les vaches positives une journée sur trois. Les vaches de ces 3 groupes ont été réparties de manière équitable entre les 3 lots de traitement [Tableau VII].

Tableau VII : Nombre de vaches prélevées par élevage et répartition des vaches dans les deux groupes de traitement et le groupe témoin.

	Lot témoin : T0	Lot 1 : SOLUPHYT-P (T1)	Lot 2 : huile de cannelle (T2)
Nombre de vaches laitières (VL) par élevage	7 (6 VL pour les élevages A et B)	7	7
Moyenne d'excrétion des 3 jours (en opg) pour les 6 élevages	77	75	74

✓ Les traitements ont eu lieu les soirs de J3, J4 et J5.

✓ Ensuite, à J21, 3 semaines après le début de l'essai, les 21 vaches ont été prélevées de nouveau pendant 3 jours. Les prélèvements et les coproscopies ont été effectués de la même manière que lors de la première série d'analyse, et les NEC, les notes de consistance des matières fécales (NoteMF), ainsi que l'état du poil ont été relevés à J21.

✓ Finalement, une nouvelle visite a été effectuée une centaine de jour (J100) post traitement dans chaque élevage, afin de réaliser de nouvelles coproscopies sur les vaches incluses dans l'essai. Ces visites ont donc eu lieu en avril 2015, alors que les vaches étaient déjà sorties au pré depuis au moins un mois pour tous les élevages. Un seul élevage a été exclu de cette dernière étape, après avoir traité l'ensemble de son troupeau au DOUVISTOME NDV, à la dose de 8,5 mg/kg. C'est à l'occasion de ces prélèvements que la visite des pâtures a été réalisée.

Le protocole expérimental est repris dans la Figure 15.



Figure 15 : Déroulement de la phase expérimentale.

### 1-3-3) Description de la méthode coproscopique employée [Figure 16]

#### 1-3-3-1) Préparation des matières fécales

Lors de cette étude, toutes les coproscopies ont été effectuées au laboratoire de parasitologie d'Oniris par une ingénieure d'étude, une technicienne de laboratoire et l'étudiante en thèse. La technique d'enrichissement par sédimentation employée ici est une méthode de Stoll simplifiée.



La plupart du temps, les échantillons de bouse récoltés le matin étaient analysés dans la journée. Lorsque cela n'était pas possible, les échantillons étaient conservés au réfrigérateur à 4°C, sauf pour les coproscopies de contrôle de l'élevage E, où les échantillons de contrôle ont été conservés à température ambiante ( $T^{\circ}$  mini= -2°C,  $T^{\circ}$  maxi = 10°C) entre 1 à 3 jours avant analyse. Les échantillons de bouse ont été récoltés individuellement par palpation transrectale puis placés dans des pots hermétiques et identifiés par le numéro de travail de la vache.

Après homogénéisation, par un mélange énergique du prélèvement de bouse, 5 g de fèces ont été pesés sur une balance électronique. Cette portion du prélèvement a été extraite à l'aide du pilon pour libérer les éléments parasitaires dans une solution de soude décinormale (NaOH à 4 g par litre d'eau déminéralisée) et filtrée à travers une passoire recouverte d'une compresse de gaze 17 fils pliée en 2. La compresse a été essorée complètement à l'aide du pilon. La solution ainsi obtenue a été complétée avec la solution de soude pour obtenir un volume équivalent à 50 ml, puis transvasée dans un tube à centrifugation de 50 ml, tandis qu'une petite partie (500 µL) de cette solution a été réservée dans un eppendorf de 1,5 mL, identifié par le numéro de travail de la vache.

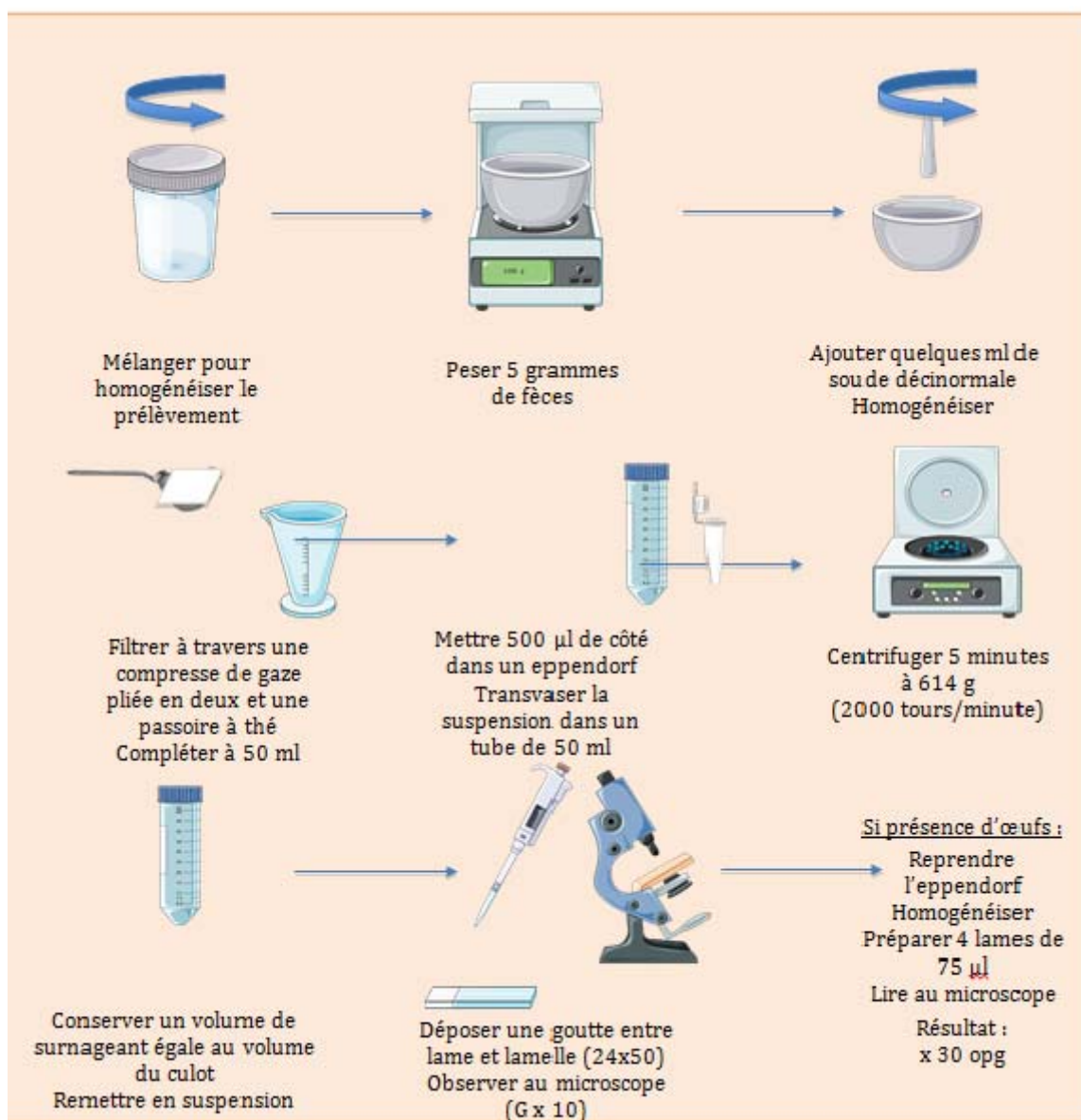


Figure 16 : Technique de Stoll modifiée utilisée pour l'expérimentation

### 1-3-3-2) Lecture qualitative

Le tube de 50 mL était centrifugé pendant 5 minutes à 2000 tours par minute. La centrifugation permettait de concentrer les éléments parasitaires et de mettre en évidence les œufs de paramphistome même s'ils étaient peu abondants dans l'échantillon. Après centrifugation, le surnageant était éliminé de façon à n'en conserver qu'un volume équivalent au volume du culot. Le culot était remis en suspension dans le restant du surnageant et deux gouttes du mélange, prélevées à la pipette de transfert, étaient alors déposées entre lame et lamelle (lame : 72 x 26 mm, lamelle 24 x 60 mm). La lame était observée au microscope au grossissement 40.

Il y avait ensuite 2 cas de figure possibles :

- aucun œuf de paramphistome n'était observé sur la lame, le prélèvement était considéré comme négatif ce qui veut dire qu'aucun œuf n'était excrété par la vache prélevée ce jour,
- un œuf était vu sur la lame, le prélèvement était considéré positif, la lecture de la lame s'arrêtait là et de nouvelles lames étaient préparées afin de procéder à un comptage.

### 1-3-3-3) Lecture quantitative

Lorsque le prélèvement était positif, quatre nouvelles lames étaient préparées à partir de la dilution initiale réservée dans l'eppendorf, afin de procéder à un comptage. Une goutte de 75 µL était déposée sur chaque lame et recouverte par une lamelle de 22 x 32 mm. Chaque lame était lue entièrement et chaque œuf de paramphistome vu était compté. Afin de quantifier le nombre d'éléments parasitaires, il était nécessaire de multiplier le nombre d'œufs comptés par le coefficient suivant :

$$\text{Coefficient multiplicateur} = \frac{\text{Volume de dilution}}{\text{Volume lu} \times \text{Poids des matières fécales}}$$

Dans notre cas, avec un volume de dilution de 50 mL, un volume lu de 300 µL, et un poids de matières fécales de 5 g, nous avons un coefficient multiplicateur de 33,3. Nous avons décidé d'arrondir à 30 et de multiplier le nombre d'œufs lus par 30 pour obtenir le nombre d'œufs par gramme (opg) de bouse dans le prélèvement.

La présence d'œufs de douve quant à elle, a été simplement relevée.

## 1-1) Analyses statistiques des résultats

Un tableau récapitulatif contenant l'ensemble des résultats coproscopiques, des rangs de lactation, et les notes d'état corporel et de consistance des matières fécales pour chaque vache a été établi [Annexe 4].

Le logiciel statistique qui a été utilisé pour le traitement des données est le logiciel SAS® Version 9.2. C'est un ensemble de modules logiciels adaptés pour la gestion et l'analyse statistique de gros volumes de données.

### 1-4-1) Analyses des données descriptives sur l'infestation des vaches [Annexe 3]

Les données utilisées dans cette partie concernaient les trente vaches prélevées par élevage au début de l'expérimentation :

- Les résultats coproscopiques à J1 et J2.
- Le numéro de lactation.
- La NEC à J2.
- La consistance des matières fécales à J2.
- La présence d'œufs de douve dans les matières fécales à J1, J2 ou J3.

Bien que l'état du poil ait été relevé, il n'a pas été retenu comme variable à analyser car la « selle de cheval » n'a pu être mise en évidence sur les animaux de l'étude.

Les tests statistiques utilisés étaient le test de Khi-Deux et le test exact de Fisher avec un risque maximal d'erreur de 0,05.

#### 1-4-2) Analyse des effets des traitements [Annexe 3]

Les effets des traitements ont été jugés sur les résultats d'analyse coproscopique des 21 vaches des élevages C, D, E et F, et des 20 vaches des élevages A et B. Nous avons aussi utilisé les notes d'état corporel et de consistance des matières fécales à J2, J21 et J100.

Le groupe de vache témoin a été appelé T0, le groupe de vache traité avec le SOLUPHYT-P a été appelé T1, et le groupe de vache traité avec l'huile de cannelle était nommé T2.

Une vache était considérée comme positive si elle avait été vue positive au moins une fois sur les 3 coproscopies successives, que ce soit avant ou après traitement; elle était considérée comme négative lorsqu'aucun œuf n'avait été vu les 3 fois.

Pour discriminer les vaches positives entre elles, et pour comparer l'excrétion avant et après traitement nous avons besoin du nombre d'œufs excrété par vache. Nous avons choisi de conserver le maximum d'opg trouvé sur les 3 jours. Ainsi par la suite, la notion de nombre d'opg excrétés a été confondue avec le maximum d'excrétion sur les 3 jours consécutifs.

Le caractère significatif des résultats a été jugé par le test de Khi-Deux et le test exact de Fisher avec un risque maximal d'erreur de 0,05.

## 2) Résultats des visites d'élevage

### 2-1) Description générale des élevages

Les élevages de l'essai étaient des élevages biologiques de Loire Atlantique avec des années de conversion variées, allant de 1997 à 2012. Le nombre de vaches par troupeau s'étalait de 34 bêtes à 75, avec une moyenne de 48,5 vaches. La race majoritaire était la race Prim Holstein (5 élevages sur 6), alors que le plus gros troupeau était composé de Normandes uniquement. Le niveau de production était similaire entre les élevages et était compris entre 5000 et 6000 kg de lait produit par vache et par an [Tableau VIII].

Tableau VIII : Descriptif général des exploitations de l'essai.

Elevage	Nombre de VL	Race	Niveau de production (kg/vache/an)	Année de conversion en bio
A	40	PH	6000	2012
B	45	PH	5000	2009
C	75	Normande	5800	2009
D	34	PH	5500	2001
E	50	¾ PH, ¼ Normande	6000	1997
F	42	PH	6000	2008

PH : Prim Holstein

VL : Vaches laitières

## 2-2) État des lieux vis à vis du risque trématode après visite des pâtures

Les six élevages de l'étude ont été sélectionnés par coproscopie, comme étant des élevages avec une présence significative de paramphistome. C'était aussi tous des élevages avec une présence récurrente de grande douve, souvent soulignée par les abattoirs lors d'abattage pour la vente directe. Les élevages A, B et C avaient aussi eu des confirmations par sérologie, et l'élevage D par le dosage des anticorps dans le lait.

Les élevages A, C, D et F, avaient traité contre le paramphistome au cours de l'hiver 2013-2014, suite à une suspicion clinique de paramphistomose pour les élevages C et F. Les élevages B et E n'avaient pas utilisé de traitement allopathique paramphistomicide depuis une dizaine d'année.

Lors de la visite d'élevage, les pâtures ont été considérées comme à risque lorsqu'au moins une zone humide s'y trouvait. Il a alors été calculé en distinguant les surfaces à risque accessibles aux vaches, aux vaches tarées et aux génisses :

- La proportion de la surface de pâtures à risque, soit le rapport entre la surface de la pâture à risque et la surface totale des pâtures.
- La proportion de la surface des zones à risque, soit le rapport entre la surface de la zone à risque seulement et la surface totale des pâtures.

Les données calculées sont visibles dans la Figure 17.

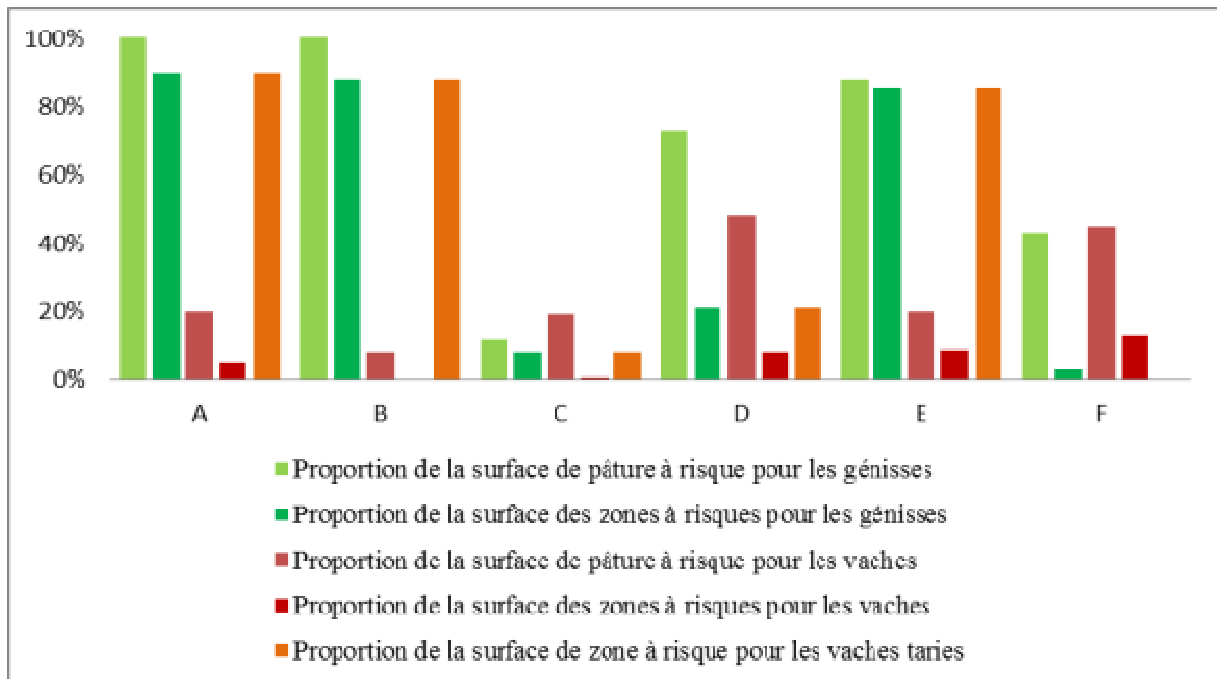


Figure 17 : Proportions des surfaces de pâture et de zones à risque selon les lots de vaches pour les six élevages de l'étude.

C'était toujours les génisses qui pâturaient dans les parcelles les plus à risque. Les élevages A, B et E étaient situés dans des zones de marais, et y faisaient pâture leurs génisses, vaches de réforme ou bœufs et leurs vaches tarées. Les autres zones à risque les plus courantes étaient des prairies, ou des fonds de prairies qui restaient humides longtemps dans l'année, et étaient couvertes de joncs. Les mares présentes n'étaient quasiment jamais clôturées et servaient à l'abreuvement des animaux.

Des limnées ont été trouvées dans 4 élevages sur 6 [Figure 19]:

- Dans les marais et dans une prairie humide pour l'élevage A.
- Dans les marais et près de deux mares dans l'élevage B.
- Près d'une mare et dans une prairie humide pour l'élevage D.
- Dans une prairie humide pour l'élevage F.

Les élevages avec la plus grande surface de zones à risque pour les génisses étaient les élevages A, B et E qui possédaient des zones de marais. Après le premier vêlage, les vaches étaient plus préservées et pâturaient moins souvent dans des parcelles à risque, sans toutefois être exemptées d'aucun risque pour tous les élevages. Les vaches n'étaient jamais uniquement sur des parcelles saines. De plus, hormis pour l'élevage F, les vaches pouvaient se contaminer à chaque tarissement, car elles se retrouvaient alors avec les génisses dans des zones à risque. Ainsi si des limnées contaminées étaient présentes dans les pâtures à risque des élevages, les vaches n'avaient alors pas de possibilité de s'assainir.

Au bilan, les génisses étaient les lots les plus à risque de contamination dans la majorité des élevages sauf dans les élevages C et F. Les vaches en lactation étaient généralement plus préservées même si elles n'étaient jamais à l'abri du parasite, et surtout elles avaient une forte chance d'infestation au moment du tarissement pour les élevages A, B et E.

### 3) Résultats sur l'efficacité des traitements

#### 3-1) Situation épidémiologique globale des élevages avant traitement

##### 3-1-1) Prévalence et intensité d'infestation pour les 6 élevages

Les 185 vaches prélevées dans les 6 élevages l'ont été de manière aléatoire et leur répartition selon la parité était la suivante :

- une génisse pour l'élevage A (afin d'avoir nos 20 animaux positifs dans cet élevage),
- 57 primipares,
- 41 vaches en deuxième lactation,
- 29 en troisième lactation,
- 23 en quatrième lactation,
- 18 en cinquième lactation,
- 11 en sixième lactation,
- 4 en septième lactation,
- 1 en huitième lactation.

La génisse et les premières lactations ont été regroupées sous le terme de primipares, et les deuxièmes lactations et suivantes sous le terme multipares. La majorité, soit 69 % des vaches prélevées, étaient des multipares.

Il a été possible de trouver au moins vingt vaches positives dans ces élevages sélectionnés pour leur présence significative en paramphistome, sauf pour l'élevage A où seules 19 vaches étaient positives sur les 32 vaches de l'exploitation. Au final 77 % des vaches prélevées étaient positives.

L'intensité de l'infestation était cependant assez faible avec une moyenne d'excrétion sur J1 et J2 à 81 opg (IC = [66-96] opg) pour les vaches positives. Le graphique ci-dessous [Figure 18] représente la répartition des vaches selon leur niveau d'excrétion (défini à partir du maximum d'excrétion entre J1 et J2):

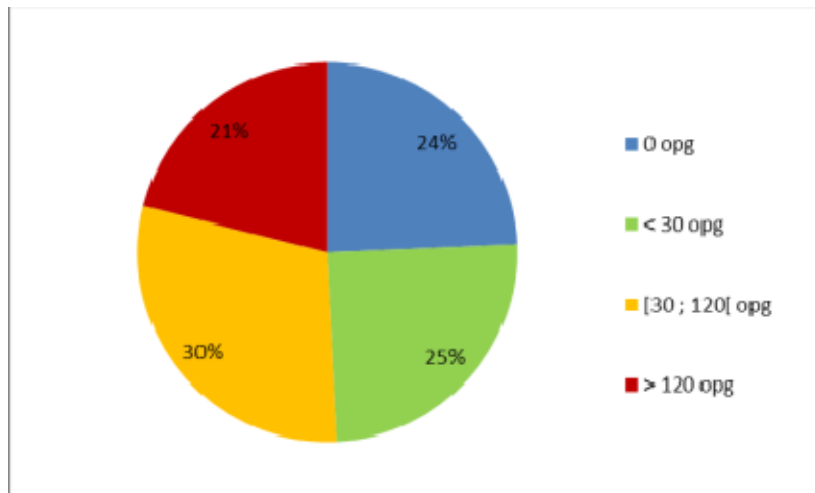


Figure 18 : Niveaux d'excrétion des vaches (n = 185) des 6 troupeaux.

La répartition de l'intensité de l'excrétion entre les vaches était plutôt homogène entre les classes choisies. Mais en considérant que les fortes excrétrices étaient les vaches avec plus de 120 opg dans les matières fécales, alors c'étaient les moyennes à faibles excrétrices qui étaient majoritaires.

### 3-1-2) Influence de la parité sur l'excrétion

Nous avons regardé à l'échelle de l'échantillon global si la parité de la vache influençait l'intensité de l'excrétion [Tableau IX].

Tableau IX : Intensité de l'excrétion en fonction du numéro de lactation pour chaque vache.

Numéro de lactation	Maximum d'opg sur J1 et J2				Total (VL)
	0	< 30	[30 ; 120[	> 120	
1	14	16	14	14	58
2	14	10	10	7	41
3	8	6	8	7	29
4	2	5	8	8	23
5 et plus	7	9	15	3	34
<b>Total (VL)</b>	<b>45</b>	<b>46</b>	<b>55</b>	<b>39</b>	<b>185</b>

VL : Vaches laitières

Ainsi, en considérant l'ensemble des bovins, aucune différence significative n'existait pour l'intensité d'excrétion selon les différentes classes d'âge (p-value = 0,33).

Les mêmes résultats ont été obtenus en séparant les vaches entre multipares et primipares et les vaches négatives des vaches positives; le pourcentage de primipares positives était le même que le pourcentage de multipares positives dans les six élevages. L'infestation par les paramphistomes est indépendante du rang de lactation des bovins.

### 3-1-3) Influence de l'excrétion sur la NEC

L'état d'embonpoint des vaches était variable entre les élevages, il était proche d'une moyenne de 2,5 pour 5 élevages, alors que l'élevage C, élevage de Normandes, avait des vaches plus grasses avec une NEC moyenne de 3,7.

Nous nous sommes demandé si l'intensité du parasitisme, liée à l'intensité d'excrétion, pour une vache influait sur son état d'embonpoint [Tableau X].

Tableau X : Note d'Etat Corporel en fonction de l'intensité d'excrétion pour chaque vache.

NEC	Maximum d'opg sur J1 et J2				Total (VL)
	0	< 30	[30 ; 120[	> 120	
2	14	22	29	24	89
3	16	16	19	7	58
4	6	3	4	6	19
<b>Total (VL)</b>	<b>36</b>	<b>41</b>	<b>52</b>	<b>37</b>	<b>166</b>

VL : Vaches laitières

Le test exact de Fisher nous donnant une p-value de 0,14, cela a montré l'indépendance entre l'état corporel des vaches et le nombre d'œufs excrétés par celles-ci.

Afin d'augmenter la puissance du test statistique, nous avons regardé si l'état d'engraissement d'une vache parasitée était différent de celui d'une vache non parasitée (vache positive vs vache négative). La p-value de 0,13 ne nous indiquait pas de lien entre le fait qu'une vache soit parasitée et une note d'état corporel plus faible mais la tendance semblait montrer une diminution de l'état d'engraissement lorsque les vaches étaient positives. En effet 84 % des vaches avec une note de 2 étaient positives, pour seulement 72 % des vaches avec une note de 3, et 68 % avec une note de 4.

### 3-1-4) Influence de l'excrétion sur la consistance des matières fécale [Figure 19]

De la même façon nous nous sommes intéressés à la consistance des matières fécales ; est ce que le fait pour une vache d'être parasitée induisait un ramollissement des matières fécales ?

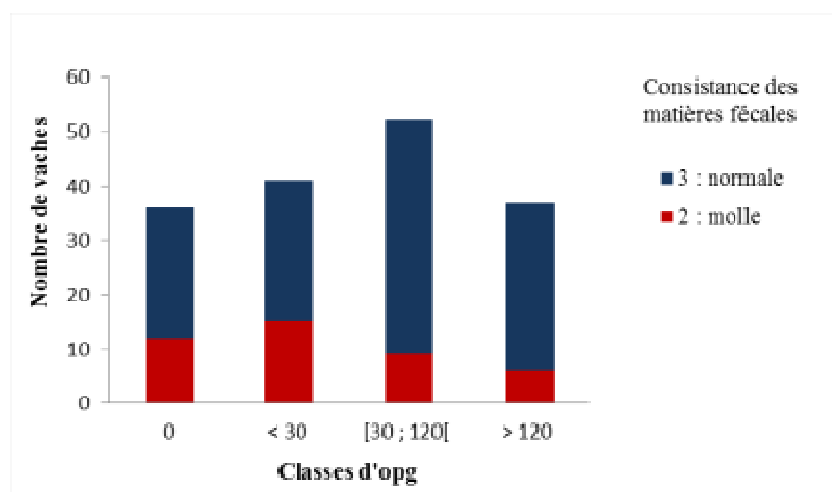


Figure 19 : Consistance des matières fécales en fonction du niveau d'excrétion pour chaque vache (n = 166).

Alors que la majorité des vaches (124 sur 166) avaient des bouses de consistance normale, à première vue, les vaches avec les comptages parasitaires les plus faibles étaient les plus nombreuses à avoir des matières fécales molles. La p-value du test de Khi-2 était alors de 0,06, ce qui tendait vers la significativité.

De plus lorsque l'on regardait juste la variable positivité versus négativité, on trouvait plus de vaches négatives (33 %) avec une note 2 que de vaches positives (23 %). Par contre la p-value du test de Khi-2 n'était pas significative (p-value = 0,09).

Ainsi, il n'y avait pas de lien statistique entre la consistance des bouses et l'infestation par les paramphistomes.

### 3-1-5) Relation entre la paramphistomose et la fasciolose

Même si la méthode coproscopique utilisée n'était pas très sensible pour la détection des œufs de *Fasciola hepatica*, il nous est arrivé d'en voir sur les lames. Cela signe en général une forte infestation par la grande douve. Ici nous avons pu noter que 22 vaches *a minima* étaient parasitées par *F. hepatica*. Ainsi, 12 % des vaches de l'échantillon ont été détectées positives et seule une de ces vaches n'était pas en plus positive pour le paramphistome.

### 3-2) Situation épidémiologique élevage par élevage avant traitement

#### 3-2-1) Prévalence et intensité d'excrétion intra-troupeau

L'analyse des résultats coproscopiques a aussi été réalisée en différenciant les vaches selon leurs élevages d'appartenance. Les situations étaient alors très contrastées entre les élevages tant au niveau de la prévalence intra-troupeau que de l'intensité d'excrétion [Figure 20].

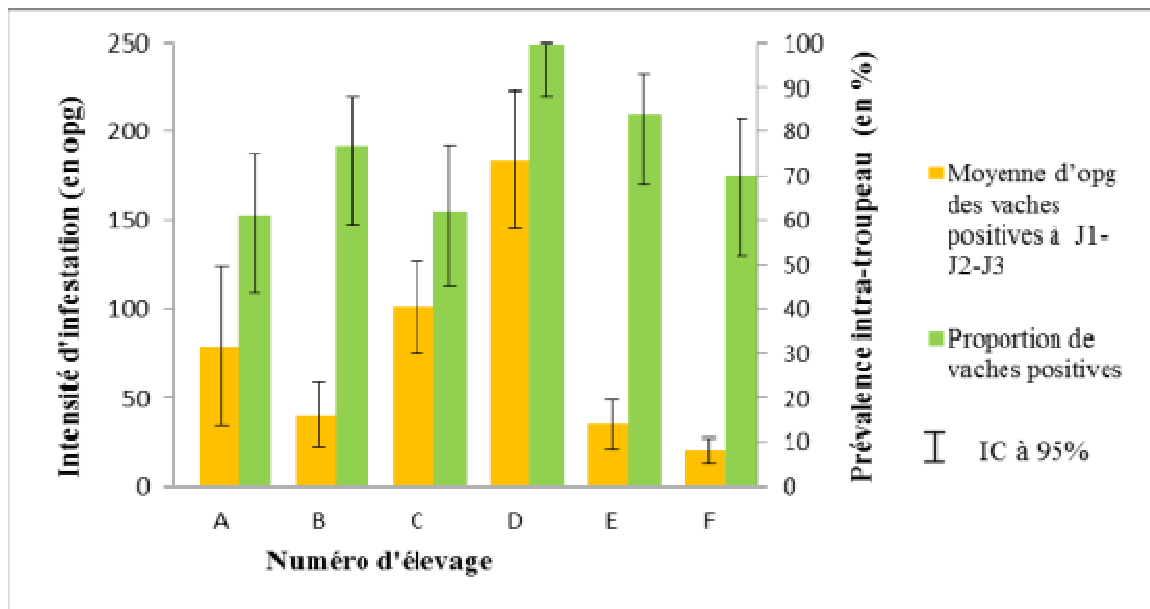


Figure 20 : Intensité d'infestation et prévalence intra-troupeau estimée dans les 6 élevages (Élevages A : n = 33, B : n = 30, C : n = 32, D : n = 28, E : n = 32, F : n = 30).

L'élevage D apparaissait d'emblée comme l'élevage le plus parasité, avec toutes les vaches contrôlées positives et avec une moyenne d'excrétion à 184 opg (IC = [145-223 opg]). Le maximum d'excrétion était aussi atteint dans cet élevage avec une vache à 840 opg.

Pour les autres élevages, les résultats étaient plus mitigés. Il était difficile de rapprocher une plus forte prévalence à une plus forte intensité d'excrétion.

L'élevage E comptait 84 % (IC = [68 – 93 %]) de vaches positives et avait une moyenne d'excrétion très faible à 35 opg (IC = [21 – 49 opg]) avec un maximum d'excrétion trouvée à 90 opg.

L'élevage C lui, avait seulement 62 % (IC = [45 – 77 %]) de vaches positives mais avait des vaches plus fortes excrétrices avec une moyenne de 101 opg (IC = [85 – 127 opg]) et une excrétion maximum à 720 opg.

Les vaches de l'élevage F quant à elles, étaient de très faibles excrétrices avec une moyenne coproscopique de 20 opg (IC = [52 - 83] opg) et un maximum d'excrétion à 90 opg.

Malgré une prévalence intra-troupeau globalement élevée, les intensités d'infestation étaient variables selon les élevages. Cependant la majorité des élevages possédaient des vaches faiblement excrétrices.



Pour pouvoir décrire plus précisément chaque élevage nous avons repris le même schéma que précédemment en s'intéressant d'abord à l'influence de la parité, puis de la NEC et de la consistance des matières fécales.

### 3-2-2) Influence de la parité sur l'excrétion

Pour chaque élevage nous nous sommes d'abord attachés à regarder si le numéro de lactation avait une influence sur l'intensité d'excrétion des vaches. Pour ce faire un test exact de Fischer a été effectué pour les 6 élevages. Seule la p-value de l'élevage D tendait vers la significativité avec une valeur de 0,086. Il semble que dans cet élevage ce soient les premières lactations qui aient les comptages parasitaires les plus élevés ; 100 % des premières et deuxièmes lactations avaient des comptages supérieurs à 120 opg [Figure 21].

Ensuite, nous avons séparé les vaches de chaque élevage en primipares et multipares et nous avons regardé le lien entre cette classification et la variable vache positive ou négative. Le test exact de Fisher a montré deux résultats significatifs dans les élevages A et F (p-values respectives : 0,03, 0,05), et un résultat proche de la significativité dans l'élevage E (p-value de 0,08). Le test n'a pu être effectué pour l'élevage D où toutes les vaches étaient positives.

Ainsi de façon significative dans l'élevage A, nous avons mis en évidence les primipares comme les vaches du troupeau les plus concernées par l'infestation au paramphistome. Soixante-sept pour cent des vaches positives étaient des primipares, alors que 75 % des vaches négatives étaient des multipares [Figure 21].

A l'inverse dans l'élevage F de façon significative, c'étaient les multipares les plus parasitées ; elles étaient positives à 90 %. La tendance était la même pour l'élevage E, où 81 % des positives étaient des multipares, et 60 % des négatives étaient des primipares [Figure 21].

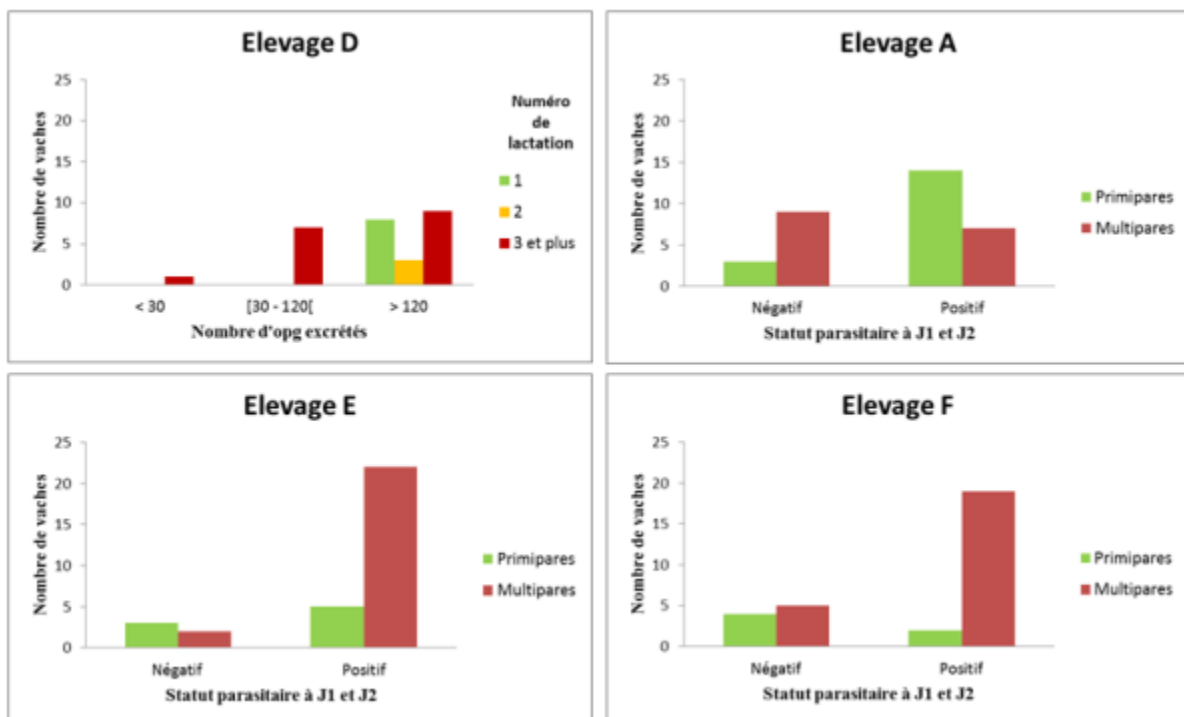


Figure 21 : Statut parasitaire et nombre d'opg excrétés des vaches pour les élevages A, D, E et F.

Ainsi il est apparu que le numéro de lactation pouvait avoir une influence sur la positivité des vaches ou sur l'intensité de l'excrétion d'œufs de paramphistomes, mais au niveau de l'élevage seulement. En effet le lien existait avec la parité mais dans un sens ou dans un autre selon les élevages.

Les animaux les plus à risques pour les élevages A et D étaient les primipares ou les premières lactations, tandis que pour les élevages E et F c'étaient les multipares.

### 3-2-3) Influence de l'excrétion sur la NEC ou la consistance des matières fécales

A l'échelle de l'élevage, nous n'avons pas fait de lien entre l'intensité d'excrétion ou la positivité des vaches avec la NEC et la consistance des matières fécales.

### 3-2-4) Relation entre le parasitisme paramphistome et le parasitisme grande douve

Il faut noter qu'il a été diagnostiqué au moins une vache positive pour la grande douve par élevage, même si c'était dans l'élevage B que la plus forte proportion de vaches parasitées par *Fasciola* sp a été retrouvée. Il y avait 11 vaches positives sur les 30 sélectionnées dans l'exploitation. L'élevage A et E comptaient respectivement 3 et 5 vaches positives tandis que les élevages restants ne comptaient qu'une vache positive à la grande douve.

Les élevages de l'étude possédaient une forte proportion de vaches contrôlées positives associée à une intensité faible d'infestation. L'élevage qui se démarquait à la fois en termes de nombre de vaches positives et de taux d'infestation était l'élevage D. Les élevages B, E et F étaient eux très faiblement parasités.

A l'échelle des 6 troupeaux, aucun lien n'a été mis en évidence entre la parité de vaches et la positivité ou l'intensité d'excrétion des vaches. Par contre en regardant les élevages individuellement des relations se dégagent : les primipares des élevages A et D étaient les plus contaminées tandis que c'étaient les multipares pour les élevages E et F.

Dans notre étude il n'a pas été possible de mettre en relation l'infestation des vaches et les taux d'excrétion avec la NEC et la consistance des matières fécales.

## 3-3) Analyse des effets des traitements

### 3-3-1) Effets sur la diminution de l'excrétion

Un des effets mesurables attendus des traitements aux huiles essentielles était, sinon un passage des vaches positives à la négativité, au moins une diminution de l'excrétion. Des effets secondaires possibles auraient pu être une amélioration de la note d'état corporel, ou une action sur la consistance des matières fécales.

Afin de comparer des changements éventuels dans l'excrétion, nous avons toujours pris le maximum d'opg excrétés par la vache sur les 3 jours successifs à J1-2-3 et J21-22-23.

De cette manière il a été possible de visualiser l'excrétion avant traitement et après traitement pour chaque vache selon le groupe traitement auquel elle appartenait. Le maximum d'excrétion avant traitement est représenté en abscisse et le maximum d'excrétion post-traitement en ordonnée.

Nous avons commencé par regarder ce qu'il se passait au niveau de l'excrétion dans le groupe témoin à 21 jours d'intervalle. Les vaches n'ayant pas reçus de traitement, nous nous attendions à un nombre d'opg semblable entre les premiers prélèvements et ceux effectués 21 jours plus tard. Dans ce cas le nuage de point aurait dû suivre la droite d'équation  $y = x$  [Figure 22].

Nous avons cependant observé une légère diminution de l'excrétion à J21, 22, 23, et encore plus marquée 100 jours après les premiers prélèvements. En effet, 100 jours après les premiers prélèvements, il n'y avait quasiment plus de fortes excrétrices chez les vaches témoins, une seule vache était à plus de 120 opg et la moyenne d'excrétion était de 16 opg [Figure 23].

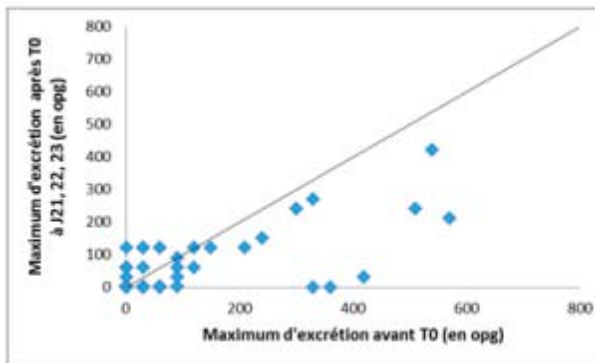


Figure 23 : Maximum d'intensité d'excrétion à J21, J22 et J23 en fonction du maximum d'intensité d'excrétion à J1, J2 et J3 pour le groupe témoin.

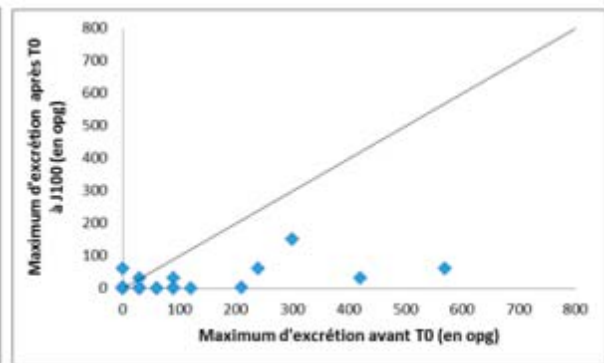


Figure 22 : Maximum d'intensité d'excrétion à J100 en fonction du maximum d'intensité d'excrétion à J1, J2 et J3 pour le groupe témoin.

La tendance était la même pour les lots de vaches T1 et T2 [Figure 24, 25, 26 et 27].

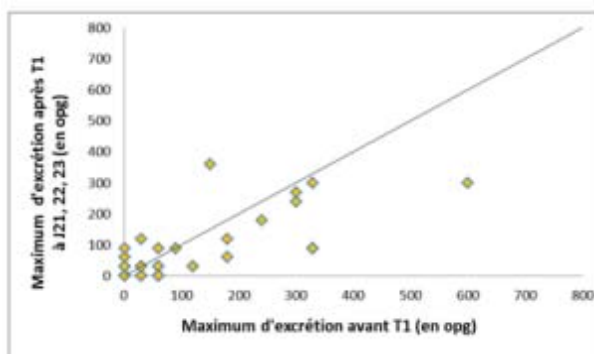


Figure 24 : Maximum d'intensité d'excrétion à J21, J22 et J23 en fonction du maximum d'intensité d'excrétion à J1, J2 et J3 pour le groupe traitement 1.

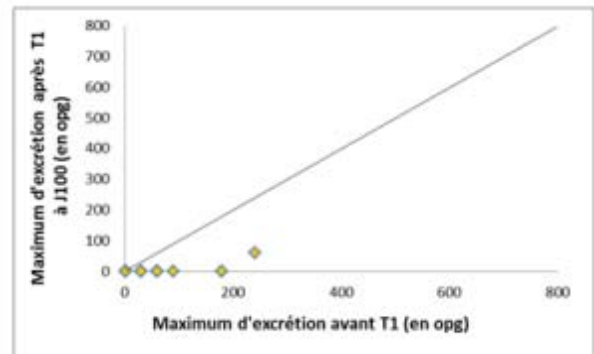


Figure 25 : Maximum d'intensité d'excrétion à J100 en fonction du maximum d'intensité d'excrétion à J1, J2 et J3 pour le groupe traitement 1.

Pour le traitement 1, l'excrétion était légèrement diminuée dès J21, 22, 23 et à J100 la diminution de l'excrétion était flagrante ; les vaches restées positives excrétaient moins de 60 opg. La moyenne des maximums d'excrétion est passé de 125 opg pour J1, 2, 3 à 71 opg pour J21, 22, 23 et de 3 opg à J100.

Pour les vaches ayant eu le traitement 2 la même tendance que pour le traitement 1 a été retrouvée, même si ici, l'ensemble de points semblait s'aplatir encore davantage, avec des maximums du nombre d'opg qui diminuaient beaucoup après traitement. Et là encore à J100, l'excrétion était très faible pour toutes les vaches. Elle était en moyenne de 10 opg alors qu'elle était de 68 opg sur la moyenne des maximums à J21, 22, 23 et de 136 opg au début de l'expérimentation.

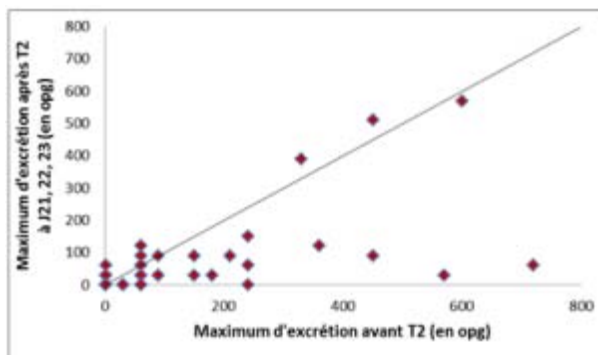


Figure 27 : Maximum d'intensité d'excrétion à J21-22-23 en fonction du maximum d'intensité d'excrétion à J1-2-3 pour le groupe traitement 2.

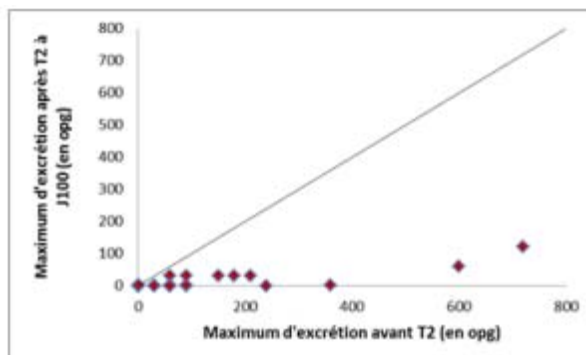


Figure 26 : Maximum d'intensité d'excrétion à J100 en fonction du maximum d'intensité d'excrétion à J1-2-3 pour le groupe traitement 2.

Il apparaît donc une diminution graduelle du nombre d'œufs excrétés au cours du temps depuis les premiers prélèvements, avec une chute drastique du nombre d'œufs et de vaches positives à J100 que ce soit pour les groupes traités ou le groupe témoin.

Afin de quantifier la diminution de l'infestation et de comparer les groupes de traitements, nous avons commencé par calculer le pourcentage de diminution du nombre de vaches positives avec le % CPR (Coprology Positive Cattle Reduction). De plus nous avons aussi utilisé un critère moins sévère qui est le pourcentage de réduction du nombre d'œufs après traitement, le % FECR (Faecal Egg Count Reduction). Ils se calculent de cette façon pour les deux groupes de traitement et le groupe témoin :

$$\% \text{ FECR} = \left( 1 - \frac{\text{moyenne d'excrétion post-traitement}}{\text{moyenne d'excrétion pré-traitement}} \right) \times 100$$

$$\% \text{ CPR} = \left( 1 - \frac{\text{vaches positives post-traitement}}{\text{vaches positives pré-traitement}} \right) \times 100$$

La diminution de l'excrétion et du nombre de vaches positives apparaît pour chaque groupe, mais sans différences notables entre les lots traités et le lot témoin [Tableau XI].

Tableau XI : Valeurs des FECR ET CPR dans les différents groupes de traitements.

	% FECR	% CPR
T0	50,6	15,4
T1	45,3	9,5
T2	55,4	7

Nous avons vérifié statistiquement si les résultats étaient bien similaires dans les 3 lots. Nous avons réalisé un test de Khi-2 pour tester l'indépendance entre l'appartenance à un des 3 lots et un changement ou non dans l'excrétion entre la première et la deuxième série de prélèvements 15 jours plus tard. L'effet traitement était obtenu en soustrayant le maximum d'opg de J21, 22, 23 au maximum d'excrétion de J1, 2, 3. Si il était négatif, il était noté -1 et correspondait à une diminution l'excrétion. C'était l'inverse si le résultat était positif [tableau XII] :

Tableau VIII : Effet des traitements sur l'excrétion entre J1-2-3 et J21-22-23.

Effet traitement	Groupe de traitement			
	T0	T1	T2	Total
-1 (diminution de l'excrétion)	24	27	25	76
0 (pas de changement)	6	8	8	22
1 (augmentation de l'excrétion)	10	7	9	26
Moyenne de la différence d'opg	-47	-53	-67	

Il n'y avait pas de lien entre le fait de se retrouver dans un des trois groupes de traitement et un changement dans l'excrétion (p-value = 0,79).

De plus il n'y avait aucun effet des traitements sur le passage de la positivité à la négativité pour les vaches. Il y avait autant de vaches à s'assainir au niveau de l'excrétion, quinze jours après les premiers prélèvements, dans tous les lots.

Les résultats étaient similaires en regardant un effet du traitement élevage par élevage. Ils n'ont donc pas été repris ici.

Cependant, à première vue, le traitement T2 aurait un effet plus important sur les vaches fortes excrétrices (plus de 120 opg) après traitement. En effet 64 % des vaches du groupe T2 passaient de fortes excrétrices à moyennes ou faibles excrétrices, voir négatives alors qu'elles n'étaient que 43 % dans le groupe T1 et 31 % dans le groupe T0. Ce résultat n'était cependant pas significatif (p-value = 0,21).

En résumé, nous avons pu noter une diminution progressive de l'excrétion chez toutes les vaches de l'essai sans observer un quelconque effet de l'un ou l'autre des traitements ni sur la diminution du nombre de vaches positives ni sur la diminution du nombre d'œufs émis. Une tendance à une diminution de l'excrétion des vaches fortement excrétrices semblait se dégager 18 jours après le traitement 2.

### 3-3-2) Résultats sur la NEC et la NoteMF

Finalement, nous avons regardé si les traitements utilisés, même si ils ne diminuaient pas l'excrétion du parasite, pouvaient avoir un effet sur la note d'état corporel et la consistance des matières fécales. Pour cela nous avons regardé la différence entre les notes pour chaque vache à J3 et J21. Par exemple, 14 % des vaches ont gagné un point de note d'état quinze jours après le traitement 1, et 10 % après le traitement 1. Aucune vache n'améliorait sa note d'état corporel dans le groupe témoin. En faisant un test exact de Fisher nous avons vu que ces résultats ne sont pas significatifs (p-value = 0,20).

De même il n'y avait pas d'amélioration significative de la consistance des matières fécales quinze jours après traitement dans les groupes de traitement ou le groupe témoin (p-value = 0,94).

Les traitements n'ont pas eu d'impact sur la note d'état corporel ou la consistance des matières fécales.

## D) Etude coproscopique sur la variabilité de l'excrétion et la répétabilité de la méthode

Cette étude avait pour but de vérifier la variabilité de l'excrétion pour une vache d'un jour à l'autre. De plus la répétabilité de la méthode pour un même échantillon a aussi été évaluée. L'objectif était de trouver la meilleure stratégie pour la réalisation de coproscopies diagnostics.

### 1) Matériels et méthodes

#### 1-1) Analyse des données sur la variabilité d'excrétion journalière

Cette étude s'est basée sur les résultats coproscopiques des vaches ayant eu des prélèvements pendant 3 jours (J1, J2 et J3), soient 122 vaches.

Nous nous sommes servis du résultat qualitatif positif/négatif pour chacun des 3 jours de prélèvement. La variable culot égale à 1 signifiait que le prélèvement était positif tandis que lorsque la variable culot était égale à 0, le prélèvement était négatif.

Le nombre d'œufs excrétés à J1, J2 et J3 par chaque vache a aussi été analysé. Nous avons séparé les intensités d'excrétion dans les mêmes classes que dans la partie précédente [Tableau XIII].

Tableau XIII : Signification des classes en opg.

Classes	Nombre d'opg
1	0 opg
2	< 30 opg
3	[30 - 120[ opg
4	>= 120 opg

Le coefficient de corrélation de Spearman visant à démontrer une relation entre l'intensité d'excrétion journalière a été obtenu par la comparaison deux à deux des nombres d'œufs trouvés pour une même vache à J1, J2 et J3.

De plus nous avons calculé la concordance de nos résultats positif ou négatif pour une même vache à J1, J2 et J3 ainsi que la concordance des nombres d'œufs trouvés. Le coefficient simple de kappa a tout d'abord été utilisé. Il nous a permis de mesurer un degré d'accord entre les résultats en les comparant deux à deux (nombre d'opg à J1 et nombre d'opg à J2, nombre d'opg à J1 et J3, nombre d'opg à J2 et J3). La grille d'interprétation du coefficient est celle du Tableau XIV.

Tableau XIV : Grille d'interprétation du coefficient de kappa.

< 0	Grand désaccord
0,00 - 0,20	Accord très faible
0,21 - 0,40	Accord faible
0,41 - 0,60	Accord moyen
0,61 - 0,80	Accord satisfaisant
0,81 - 1,00	Accord excellent

Ensuite nous avons calculé le kappa global qui prenait en compte les 3 jours de l'étude en même temps. Et finalement alors que la répartition des effectifs dans les classes n'était pas homogène, nous avons utilisé le coefficient de kappa global amélioré qui tenait compte des marges.

C'est le logiciel SAS® Version 9.2 qui a été utilisé pour tous ces tests statistiques.

## 1-2) Analyse des données sur la répétabilité de la méthode coproscopique

Cette dernière étude a été faite en parallèle des coproscopies visant à évaluer l'efficacité des traitements d'aromathérapie ; des coproscopies supplémentaires ont été réalisées afin de vérifier la répétabilité de la méthode. Pour ce faire, les pots de prélèvements contenant les matières fécales des vaches témoins des différents élevages ont été conservés au frigo, au maximum 4 jours. La méthode de coproscopie dans son intégralité a été répétée 3 fois sur ces échantillons par le même opérateur. De cette façon, il a été obtenu des résultats quantitatifs en 4 exemplaires, en incluant le résultat obtenu pour l'essai traitement, pour un même échantillon.

Nous avons ainsi répété les coproscopies sur 57 échantillons [Tableau XV et XVI], soient 171 coproscopies supplémentaires. Les 4 résultats coproscopiques (nombre d'œufs trouvés) pour chaque échantillon ont été nommés Témoin 1, 2, 3 ou 4.

Tableau XV et XVI : Répartition des répétitions de coproscopies par échantillon entre les élevages et les jours de prélèvements.

Elevage	Nombre de prélèvements analysés 3 fois supplémentaires	Jours de prélèvement	Nombre de prélèvements analysés 3 fois supplémentaires
A	5	J3	12
B	11	J22	14
C	13	J23	6
D	11	J100	25
E	12	Total	57
F	5		
Total	57		

Les tests statistiques utilisés sont identiques à ceux de la partie précédente.

## 2) Résultats statistiques sur la variabilité d'excrétion d'un jour à l'autre

Nous nous sommes demandé ici si la répétition des coproscopies 3 jours de suite était effectivement utile pour détecter toutes les vaches positives et pour connaître la capacité d'excrétion réelle des vaches parasitées.

### 2-1) Concordance de la positivité sur J1, J2 et J3

Pour commencer nous avons comparé les résultats vis-à-vis du statut parasitaire d'une même vache d'un jour à l'autre. Ainsi, nous avons utilisé le coefficient de kappa global amélioré avec un coefficient d'agrément qui tenait compte des marges [Tableau XVII].

Tableau XVII :  $\kappa$  global amélioré en fonction du statut parasitaire de la vache pour l'étude variabilité.

Statut parasitaire	Kappa global amélioré
Négatif	-0,017
Positif	0,72
Ensemble	0,56

Le coefficient de kappa global amélioré pour les culots négatifs signait un accord très faible. Le fait de trouver qu'une vache était négative un jour, n'était pas du tout prédictif pour le jour suivant.

Cependant le coefficient est meilleur pour les culots positifs avec un accord satisfaisant. Une vache trouvée positive un jour avait une plus forte probabilité d'être positive les jours suivants. De plus les vaches étaient positives plusieurs jours dans 93 % des cas lorsque elle avait excrété au moins une fois 120 opg. Dans ce cas elles restaient même fortes excrétrices sur les 3 jours dans 27 % des cas. Ainsi cette technique permettait une bonne détection des vaches les plus fortes excrétrices.

## 2-2) Corrélation du nombre d'œufs excrétés sur J1, J2, J3

Nous avons ensuite regardé la répétabilité du comptage parasitaire en commençant par calculer le coefficient de corrélation. Les graphiques obtenus de cette manière (comparaison du nombre d'opg à J1 et J2, à J1 et J3 et à J2 et J3), montraient une hétérogénéité entre les résultats d'une répétition à l'autre [Figure 28].

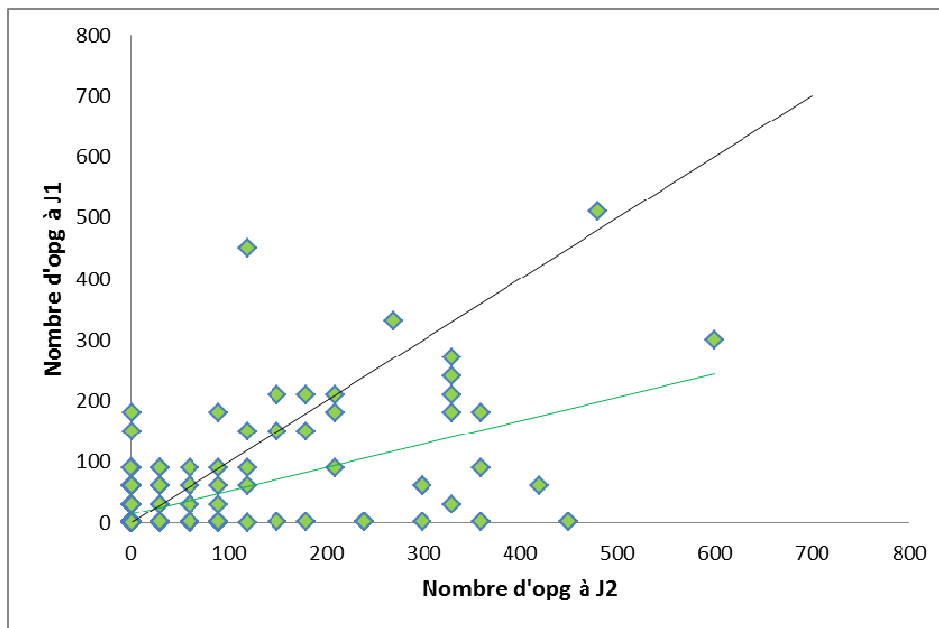


Figure 28 : Nombre d'œufs trouvés à J1 en fonction du nombre d'œufs trouvés à J2 pour une même vache.

Le coefficient de corrélation de Spearman calculé était faible (0,42) et confirmait cette mauvaise corrélation. Il y avait peu de lien entre les résultats coproscopiques trouvés sur une même vache pendant 3 jours.



### 2-3) Concordance du nombre d'œufs excrétés entre J1, J2, J3

Même si la corrélation était faible, nous avons essayé de voir si les valeurs de nombre d'œufs pour chaque jour de prélèvement étaient similaires [Tableau XVIII].

Tableau XVIII : Comparaison des résultats coproscopiques entre J1 et J2 (en vert, les résultats concordants).

Nombre d'opg à J1	Nombre d'opg à J2				Total
	0	< 30	[30-120]	>= 120	
0	4	19	7	1	31
< 30	10	9	7	9	35
[30 - 120]	8	9	12	8	37
>= 120	0	2	1	16	19
Total	22	39	27	34	122

Le calcul du coefficient simple de  $\kappa$  nous donnait un résultat de 0,11 ; l'accord était très faible. De même le kappa global amélioré restait faible ( $\kappa = 0,3$ ).

Nous avons aussi calculé le coefficient pondéré de kappa qui donnait à chacune des cases du tableau un coefficient correspondant à l'importance du désaccord. Cela permettait de tenir compte du fait que même si le nombre d'opg trouvé était différent entre deux jours, il était mieux d'être à seulement une classe d'écart qu'à deux classes d'écart. Le coefficient restait malgré tout faible ( $\kappa = 0,25$ ).

De même les résultats étaient similaires lorsque l'on comparait les résultats de J1 avec J3 (coefficient pondéré de  $\kappa$  de 0,37) et de J2 avec J3 (coefficient pondéré de  $\kappa$  de 0,26). L'accord était faible dans tous les cas.

Les coproscopies répétées trois jours de suite sur une même vache n'étaient pas concordants.

Cependant la classe 4 était la catégorie avec la meilleure concordance tandis que la classe 2 est la classe où on trouvait la plus grande variabilité de résultats [Tableau XIX].

Par exemple à J1, 84 % des comptages supérieurs à 120 opg l'étaient aussi à J2 alors que seulement 26 % des comptages inférieurs à 30 opg étaient identiques à J2 [Tableau XVIII].

Tableau XIX :  $\kappa$  global en fonction de l'intensité d'excrétion.

Classes	Nombre d'opg	$\kappa$
1	0	0,13
2	< 30	0,06
3	[30 - 120]	0,10
4	>= 120	0,52

Ainsi, les variations d'excrétions étaient assez importantes d'un jour à l'autre pour une même vache. De même la détection de l'infestation d'une vache pouvait varier d'un jour à l'autre en particulier si celle-ci était une faible excrétrice. Par contre quand une vache était fortement excrétrice un jour, l'excrétion était quasiment toujours détectable et même souvent supérieure à 120 opg.

Cette variation pourrait s'expliquer par une variation de la ponte du parasite entre plusieurs jours mais aussi par une variation inhérente à la méthode et à sa sensibilité. Nous nous sommes demandé dans quelle mesure la technique coproscopique utilisée était répétable.

### 3) Résultats statistiques sur la répétabilité de la méthode

L'étude de la répétabilité consistait à s'assurer que des manipulations identiques effectuées dans les mêmes conditions donnaient des résultats similaires. Les calculs du coefficient de concordance et de corrélation étaient les moyens de vérifier la répétabilité de la mesure.

Nous avons commencé par regarder la répétabilité de la mesure positif (Culot = 1) et négatif (Culot = 0) puis ensuite la répétabilité de la mesure « nombre d'œufs ».

#### 3-1) Concordance de la positivité

Nous avons comparé les résultats pour chaque échantillon deux à deux en regardant combien de fois notre échantillon était positif deux fois [Tableau XX].

Tableau XX : Comparaison de la positivité du Culot 1 et du Culot 2 sur les échantillons témoins (en vert les résultats concordants).

Culot 1	Culot 2		Total
	0	1	
0	13	7	20
1	8	29	37
Total	21	36	57

Le calcul du coefficient simple de  $\kappa$  donnait alors 0,43, ce qui signait un accord moyen. Les accords étaient même faibles entre les culots 1 et 3, 1 et 4 et 2 et 3 ( $\kappa = 0,26, 0,31$  et  $0,32$ ).

Le tableau XX nous permettant de remarquer que la répartition dans chaque catégorie n'était pas homogène, nous avons amélioré le coefficient simple de kappa en utilisant le coefficient de kappa global amélioré [Tableau XXI].

Tableau XXI :  $\kappa$  global amélioré en fonction du statut parasitaire de la vache pour l'étude répétabilité.

Culot	$\kappa$ global amélioré
0	0,23
1	0,57
Ensemble	0,45

Dans ce cas, nous avons un accord moyen pour la variable culot, avec encore moins de variabilité quand le culot était positif une fois. Par exemple lorsque le culot était positif une fois il avait 78% de chance d'être positif lorsque l'on répétait la manipulation.

Lorsque le kappa était calculé sans les échantillons de J100 qui comptaient moins de culots positifs, le  $\kappa$  devenait satisfaisant ( $\kappa = 0,63$ ). La méthode utilisée était plutôt fiable pour trouver la positivité d'un échantillon donné.

#### 3-1) Répétabilité du nombre d'œufs excrété

Afin de savoir si le résultat concernant le nombre d'œufs excrété était répétable d'une fois sur l'autre pour un même échantillon, nous avons abordé cela par le calcul de coefficients de corrélation puis de concordance.

### 3-2-1) Corrélation de la variable « nombre d'œufs »

Nous avons tout d'abord regardé s'il existait une corrélation entre les résultats des manipulations sur le même échantillon en comparant les variables témoins deux à deux [Figure 29].

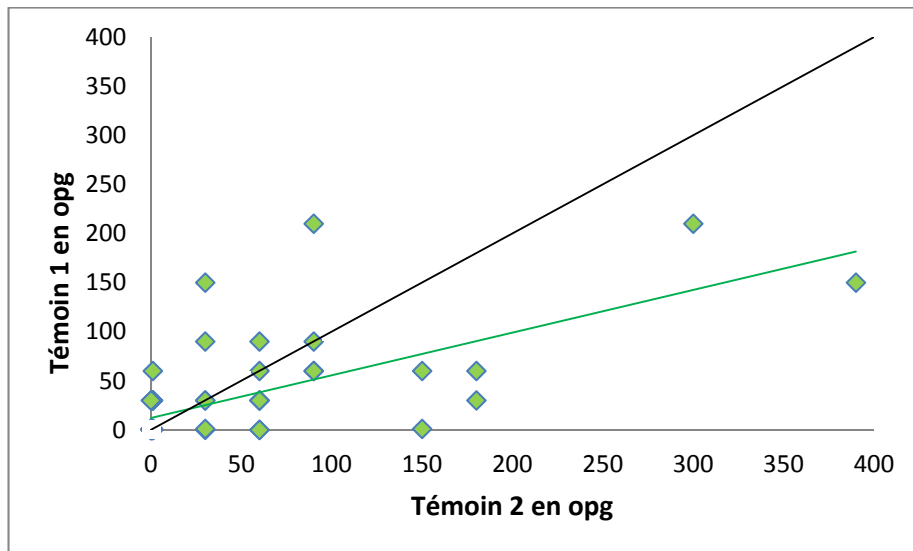


Figure 29 : Nombre d'œufs trouvés sur le Témoin 1 en fonction du nombre d'œufs trouvés sur le Témoin 2 pour le même échantillon.

Le graphique obtenu, montrait une répartition très hétérogène des points et le coefficient de corrélation de Spearman obtenu était de 0,61 ce qui était moyen. De même, les coefficients de corrélation de Spearman calculés entre les témoins 1 et 2, 1 et 3, 1 et 4, 2 et 3, 2 et 4, étaient toujours moyens et compris entre 0,6 et 0,7. Ainsi, la corrélation entre le nombre d'œufs pour un même échantillon était moyenne.

### 3-2-2) Concordance de la variable « nombre d'œufs »

Nous avons ensuite regardé si les valeurs de nombre d'œufs pour chaque échantillon restaient proches en calculant un coefficient de concordance [Tableau XXII].

Tableau XXII : Comparaison des résultats coproscopiques pour un même échantillon (en vert, les résultats concordants).

Classe Témoin1 (en opg)	Classe Témoin2 (en opg)				Total
	0	< 30	[30 - 120]	>= 120	
0	10	6	3	0	19
< 30	8	4	1	1	14
[30 - 120]	2	4	11	3	20
>= 120	0	0	2	2	4
<b>Total</b>	20	14	17	6	57

Le résultat du coefficient simple de  $\kappa$  était de 0,26; l'accord était faible. L'accord devenait moyen ( $\kappa = 0,42$ ) seulement avec le calcul du coefficient pondéré de  $\kappa$ . Ainsi les coproscopies répétées sur le même échantillon ne nous donnaient pas des résultats similaires en termes de nombre d'œuf. Cependant de la même façon que pour la répétabilité sur 3 jours de suite nous trouvions des  $\kappa$  globaux différents selon les classes d'opg. Les meilleurs  $\kappa$  globaux étaient ceux de la troisième et quatrième catégorie ; nous avions plus de chance de trouver des résultats similaires pour un même échantillon

quand le nombre d'opg était supérieur à 30 ( $\kappa = 0,46$ ) ou 120 ( $\kappa = 0,34$ ). A l'inverse quand le nombre d'opg était inférieur à 30 pour une coproscopie, le résultat des 3 suivantes était très variable ( $\kappa = 0,08$ ).

En résumé, nous avons vu que la méthode utilisée était plutôt fiable quand il s'agissait de déterminer si un échantillon était positif ou non.

La variabilité de la méthode résidait dans le nombre d'œufs trouvés. Lorsque le prélèvement était peu riche en éléments parasitaires, les résultats étaient les plus aléatoires. La probabilité de trouver un œuf lors du comptage était alors similaire à la probabilité de trouver deux, trois ou aucun œuf, et donc faisait varier les résultats entre 0, 30, 60 ou 90 opg par exemple. A l'inverse, lorsque le prélèvement était riche en éléments parasitaires, le nombre d'œufs trouvés était souvent élevé et répétable.

#### **4) Comparaison des deux méthodes : répétition sur un même échantillon ou répétition sur 3 jours de suite**

Finalement à la suite de ces études nous nous sommes demandé dans quelle mesure la variabilité de l'excrétion observée sur trois jours de suite était due à la faible répétabilité de la méthode. Pour cela, nous avons comparé les deux séries de résultats en ne conservant que les vaches communes aux deux études, soient 30 vaches témoins. C'est l'étendue qui a été comparée c'est-à-dire l'amplitude de la variation en nombre d'opg pour une même vache entre J1 et J3, et entre les 4 répétitions de coproscopie sur le même échantillon.

Pour comparer ces étendues nous avons employé comme test statistique une ANOVA. Nous avons tout d'abord comparé les variances et trouvé que celles-ci n'étaient pas différentes ( $p$ -value = 0,15). De même il n'y avait pas de différence entre les moyennes des deux groupes étudiés ( $p$ -value = 0,57). Les étendues des deux séries de résultat étaient donc homogènes entre elles.

Ainsi la variabilité liée à la méthode coproscopique était aussi grande que celle liée à l'excrétion. La répétition de la manipulation quatre fois sur le même échantillon donnait les mêmes résultats que les coproscopies réalisés 3 jours de suite. La variabilité de la méthode masque de toute façon la variabilité de l'excrétion.

Ainsi la non répétabilité de la méthode masquant la variabilité possible de l'excrétion, il était similaire de réaliser quatre manipulations sur un même échantillon pour une vache plutôt que de réaliser trois prélèvements.

### III) Discussion

Une seule molécule efficace est actuellement disponible en France pour le traitement de la paramphistomose : l'oxyclozanide. Mais il n'existe pas de spécialités vétérinaires ayant une AMM pour cette indication : les spécialités utilisées sont celles indiquées contre la grande douve avec un temps d'attente forfaitaire de 7 jours pour le lait. L'emploi de ces traitements est de ce fait très contraignant pour les éleveurs laitiers et à plus forte raison pour les éleveurs biologiques car ils nécessitent d'écarter le lait pendant 14 jours avec le temps d'attente forfaitaire doublé. Ceci, en plus de la volonté de limiter les produits allopathiques, conduit les éleveurs biologiques à se tourner vers des traitements alternatifs comme l'aromathérapie.

Nous avons évalué l'efficacité d'un produit aux huiles essentielles employé fréquemment par les éleveurs (le SOLUPHYT-P) ainsi que d'une deuxième préparation à base d'huile essentielle de cannelle. Les résultats obtenus sur la diminution de l'excrétion d'œufs de paramphistomes, ainsi que sur la diminution de la prévalence ne sont cependant pas concluants. La diminution du nombre d'œufs excrétés sur 15 jours ne peut être imputable à un des traitements d'aromathérapie étant semblable dans les 2 groupes de traitement et le groupe témoin. De même le nombre d'animaux devenant négatifs est similaire dans les 3 groupes de l'expérimentation. Aucun effet n'a été mis en évidence non plus sur des signes cliniques éventuels ou sur l'état d'embonpoint des animaux traités.

L'analyse des pâturages et des conduites de troupeau a mis en évidence les facteurs de risque attendus pour le Paramphistome : présence de zones humides, gîtes à limnées. Après ce travail il est possible de dégager quelques recommandations en passant d'une meilleure utilisation des diagnostics parasitaires à une réflexion sur les méthodes de lutte.

#### A) Un diagnostic coproscopique améliorable

##### 1) Une détection satisfaisante des vaches positives

La méthode de Stoll employée dans l'étude est une méthode coproscopique classique. Les œufs observés au microscope ne sont pas déformés et leur identification est aisée par des personnes expérimentées. La spécificité de la méthode a donc été bonne dans cette étude.

La coproscopie apporte plusieurs informations selon les demandes de l'utilisateur. Elle renseigne tout d'abord sur la prévalence intra-troupeau par la seule lecture qualitative des lames. Nous avons alors vu que la détection des vaches positives était fiable et encore plus particulièrement lorsque les animaux étaient fortement infestés. Les bovins excréant plus de 120 opg étaient très régulièrement détectés.

Afin de détecter encore plus sûrement tous les animaux positifs, une amélioration peu chronophage de la méthode serait possible. La lecture d'une deuxième lame qualitative permettrait en effet d'augmenter les chances de détecter au moins un œuf sur les animaux faiblement infestés et améliorer la détection de toutes les vaches positives.

Enfin la lecture des lames quantitatives renseigne sur le niveau d'infestation des bovins. Cependant nous avons montré que la répétabilité de la méthode n'était pas bonne pour le comptage du nombre d'œufs en particulier chez les animaux faiblement infestés. Cette variabilité du nombre d'œufs obtenu peut s'expliquer par différents facteurs présents tout au long de la manipulation. La taille de la prise d'essai (5g) étant petite, une bonne homogénéisation du prélèvement par broyage est indispensable pour une meilleure représentativité de l'échantillon analysé. De la même façon le mélange de la suspension doit être fait rigoureusement avant le dépôt des gouttes pour la lecture de la lame qualitative ou pour les lames quantitatives. Finalement il y a toujours un risque d'erreur lié au

comptage ; 30 opg de différence dans l'interprétation équivalent seulement à un œuf non lu sur une lame.

Il serait possible de répéter 3 fois la méthode afin d'augmenter la précision du comptage. De cette façon la sensibilité théorique de la méthode serait de 10 opg (un œuf lu = 10 opg) et permettrait des distinctions plus fines entre les animaux ou entre deux périodes de prélèvements après un traitement par exemple.

Néanmoins la méthode coproscopique employée reste intéressante pour des prises de décision thérapeutique. En effet même avec une seule coproscopie, le comptage est plus fiable pour les animaux excréant plus de 120 opg, et cela nous permet de cibler les animaux les plus fortement infestés et prioritaires pour des traitements.

## **2) Une variabilité de l'intensité d'excrétion pouvant s'expliquer par divers facteurs**

Les résultats coproscopiques obtenus d'un jour à l'autre pour un même bovin étaient variables en particulier quand ceux-ci étaient peu infestés. Ces résultats sont en accord avec les émissions variables d'œufs par les paramphistomes décrits dans la littérature (Alzieu, 2007, Devos, 2010). Cependant comme nous avons trouvé une mauvaise répétabilité de la méthode coproscopique pour le comptage du nombre d'œufs nous ne pouvons imputer les résultats différents d'un jour à l'autre à une excrétion d'œufs discontinue des parasites.

Une diminution de l'excrétion dans le temps a toutefois été mise en évidence chez les vaches de notre étude. En janvier et au tout début du mois de février l'excrétion était la plus forte, mais dès la deuxième série de prélèvements à partir de mi-février, l'excrétion avait commencé à diminuer. La diminution de la ponte était encore plus remarquable au mois d'avril.

Même s'il n'existe pas de données sur ce sujet, nous pouvons supposer que comme pour d'autres parasites, le vieillissement des paramphistomes entraîne une diminution de la fertilité. La diminution de la fertilité au printemps est cependant en contradiction avec les résultats de Szmidt-Adjidé et al., où en 1996, le mois de mai est significativement le mois où l'intensité d'infestation est la plus forte entre les mois de janvier, février, mars, avril, mai et juin (Szmidt-Adjidé, 2000). Mage et al., quant à eux, n'ont pas trouvé de différences significatives au niveau du nombre d'œufs émis selon les mois de l'année dans une étude conduite pendant 9 ans (Mage, 2002).

La diminution de la ponte est sans doute multifactorielle et pourrait aussi dépendre de divers facteurs comme la période d'infestation, l'alimentation des vaches, la température extérieure, etc.

## **B) Des signes cliniques non décelables liés à une faible intensité d'infestation**

La prévalence approchée en Loire-Atlantique par les coproscopies de vaches de 16 élevages biologiques en 2014 est de 35 %. Ce chiffre est inférieur aux prévalences obtenues les plus récemment dans le Nord de la France (51 %) ou à l'est de la Loire (70 %) par Rieu en 2004 ou Bailly en 2012, sur de plus grands échantillons d'animaux. Il est de plus sans doute surévalué dans notre étude dans la mesure où les élevages avaient été sélectionnés parce qu'ils traitaient contre le paramphistome et donc estimaient connaître un risque de paramphistomose.

Pour les besoins de notre étude, bien que la Loire Atlantique ne soit pas un des départements français où les élevages sont les plus contaminés (Doré, 2012, Courouble, 2015, Jozan, 2015), nous avons sélectionnés les élevages les plus à risque et parmi ceux-ci, en 2015, les élevages avec une forte prévalence intra-troupeau. En effet, la moyenne des vaches positives par troupeau était de 76 %, avec un troupeau dont la prévalence estimée était de 100 %.

Les taux d'infestation par vaches de l'étude sont cependant plus faibles que les valeurs les plus récentes trouvées en France. La moyenne du nombre d'œufs trouvés dans les 6 élevages était de 81 opg, en passant par 20 opg pour l'élevage le moins infesté et par 184 opg pour le plus contaminé. Entre 1990 et 1999, Mage et al., avec des coproscopies sur plus de 1200 bovins en Corrèze ont trouvé des comptages parasitaires variant de 100 à 250 opg selon les mois de l'année. En janvier-février, notre période d'étude, les nombres d'opg étaient compris entre 150 et 200. De façon similaire, Bailly trouve une moyenne de 147 opg sur 219 bovins en janvier 2012 dans en Bourgogne, Franche-Comté et Rhône-Alpes.

Les valeurs faibles de l'infestation peuvent expliquer aisément le fait que nous n'ayons pas mis en évidence de signes cliniques spécifiques de la paramphistomose dans nos élevages. De plus l'effet du paramphistome adulte sur les matières fécales est très faible ou inexistant et il ne faut pas oublier que les troubles digestifs apparaissent essentiellement lors de paramphistomose larvaire (Dorchies, 2002, Devos, 2011, Millar, 2012).

Dans notre étude les signes digestifs ont été évalués par la notation de la consistance des matières fécales. Ce critère est certes subjectif mais le fait qu'il ait été évalué par la même personne réduit les fluctuations. Ainsi la tendance observée allait vers une consistance normale des matières fécales lorsque l'animal avait une charge parasitaire plus élevée. Ce résultat est en contradiction avec les études de Dorny et al. en 2011, et de Malrait et al. en 2015 qui montraient plutôt une tendance à la diminution de la consistance des matières fécales. Cependant l'étude de Dorny et al. (2011) a eu lieu au Cambodge où les espèces de paramphistomes présentes dans ce pays sont généralement plus pathogènes que les espèces européennes (Dorny, 2011). De plus, même si l'étude de Malrait et al. (2015) concerne bien l'infestation par *C. daubney*, les auteurs hésitent sur l'attribution des matières fécales molles aux formes immatures ou aux adultes. A l'automne, la coproscopie pourrait détecter des adultes présents depuis l'année précédente, mais les formes immatures pourraient être présentes dans les intestins qui n'ont pas été observés à l'abattoir et être responsables du ramollissement des matières fécales. Le fait de n'avoir pas retrouvé cette association lorsqu'ils ont mené l'enquête de terrain en Flandre est expliqué par le niveau d'infestation plus faible dans cette région que dans la région de l'abattoir et la non prise en compte de l'âge des animaux par exemple. En effet l'enquête concernait surtout des bovins de plus de 24 mois qui seraient moins touchés par la diarrhée que des jeunes bovins (Malrait, 2015).

Une perte d'état liée au paramphistome n'a pas non plus été objectivée dans l'étude. Ce fait est peu étonnant alors que la seule étude où cette relation a été étudiée a eu lieu au Cambodge sur des animaux infestés par des espèces de paramphistomes probablement plus pathogènes, et que aucun impact sur la NEC n'avait été observé (Dorny, 2011). La NEC semblait, dans notre étude, plus dépendante de la race (Normande vs Prim Holstein) ou de l'alimentation (NEC les plus basses chez les animaux nourris au foin l'hiver dans l'élevage B). Ainsi par exemple, nous avons pu remarquer une amélioration de la note de 0,2 point en moyenne pour tous les élevages à J100 alors que les vaches étaient déjà toutes à l'herbe depuis un mois

Finalement malgré une observation rapprochée de chaque vache au cornadis le signe de la « selle de cheval » n'a été observée sur aucune d'entre elles. Ceci pouvant être lié au caractère subjectif et peu certain de ce signe clinique.

## C) Des mesures de lutte à adapter après une analyse des risques de trématodoses

### 1) Le tarissement : un moment clé dans la contamination des vaches laitières

Une première analyse globale des résultats coproscopiques de l'étude montre qu'il n'y a pas de relation entre l'âge des animaux et l'intensité de l'infestation. Ceci correspond aux études de Szmidt-Adijé et al. en 2000 et de Bailly en 2012. Pourtant lorsque l'on regarde les résultats élevage par élevage, certaines catégories d'âge sont plus contaminées que d'autres. Les primipares sont les plus contaminées pour les élevages A et D tandis que ce sont les multipares pour les élevages E et F. Ces résultats contrastés rejoignent différentes publications faisant un lien entre l'âge des animaux et la prévalence du paramphistome. Pour certaines études (Dorchies, 1998, Looock, 2003, Ferreras, 2014) c'était les bovins les plus âgés qui étaient les plus touchés, ou les vaches par rapport aux génisses (Rieu, 2004) tandis que pour d'autres (Diaz, 2006, Sanchis, 2013) les classes de bovins les plus jeunes étaient les plus parasités.

Cela souligne l'importance de réaliser à la fois des coproscopies et des visites d'élevage. Le diagnostic coproscopique permet de diagnostiquer la présence de paramphistome et les lots de vaches infestées tandis que l'analyse des pâtures renseigne sur les modalités d'infestation en expliquant les résultats coproscopiques comme nous avons pu le faire avec nos visites d'élevages ensuite.

Ainsi nous avons pu observer que les vaches en lactation et les génisses étaient souvent sur des pâturages bien différenciés et l'analyse des risques permettait facilement de pointer les lots les plus à risques dans ces cas-là. Le tarissement semble être un point clé dans la contamination des animaux alors que les vaches tarées sont souvent négligées et placées dans des pâtures à risque. Pour plusieurs élevages (A, B D et E), les vaches sont plutôt à l'abri du risque paramphistome sauf au moment de leur tarissement où elles y sont fortement exposées. Cela rejoint les informations apportées par les questionnaires des 62 éleveurs ; les génisses étaient plus nombreuses à être exposées à des parcelles à risques que les vaches et 53 % des pâtures des vaches tarées comportaient au moins une zone à risque contre 39 % pour les vaches en lactation.

Dans l'élevage F, la correspondance de l'analyse de risque et les coproscopies est présente. En effet nous avons vu que les zones à risques étaient peu nombreuses en regard des autres élevages et que ces zones étaient essentiellement dans les pâtures des vaches laitières. Les vaches de cet élevage étaient effectivement peu infestées en général, et nous avons significativement plus de vaches positives au sein des multipares que des primipares. Les génisses s'infestent donc peu ou pas, et se positivent au cours de leurs lactations successives.

De même pour l'élevage A, les visites de pâtures s'accordent aux résultats coproscopiques. Les génisses pâturent dans les zones de marais alors que les vaches en lactation rencontrent des surfaces moins importantes de zones à risque. Les vaches tarées en revanche, sont fortement exposées au risque. Les résultats statistiques indiquaient bien un pourcentage de positives plus importants chez les primipares que les multipares.

A l'inverse ce sont les multipares qui sont le plus souvent positives dans l'élevage E. Or les génisses semblaient pourtant ici les animaux les plus à risques, car leurs pâtures sont principalement dans des zones de marais. L'infestation plus importante des multipares pourraient être due à une contamination des vaches chaque année au moment du tarissement dans les marais ainsi que l'absence de traitements allopathiques laissant possiblement la place à une accumulation du parasite sur plusieurs années.

L'élevage D, où toutes les vaches prélevées étaient positives est l'élevage avec le taux d'infestation le plus fort. Les primipares sont significativement les vaches les plus fortement infestées ce qui peut être corrélé au fait que ce sont les génisses qui ont le plus de zones à risque dans les pâtures. Elles rencontrent des ruisseaux, des mares et une prairie humide pendant la saison, avec une présence certifiée de limnées pour plusieurs de ces zones humides. Les vaches pâturent elles aussi sur des parcelles contaminantes, même si la proportion est moins grande, et surtout lors de leur tarissement, où elles suivent les lots de génisses.



Le deuxième élevage où l'intensité d'infestation était la plus forte est l'élevage C. Celui-ci avait à priori, rencontré un épisode de paramphistomose clinique l'année précédente, mais d'après la visite d'élevage il n'apparaissait pourtant pas comme l'élevage le plus à risque.

Finalement dans l'élevage B, nous n'avons pas pu déterminer une classe d'âge plus touché. Le taux d'infestation est faible par vaches même si il n'y a jamais eu de traitements allopathiques et malgré le fait que les génisses pâturent dans les marais où la présence de limnées est confirmée. Les vaches laitières auraient la possibilité d'être très peu en contact avec des zones à risque, mais elles retournent dans les marais au moment du tarissement.

## 2) Des mesures agronomiques à mettre en place plutôt que des traitements

Les traitements d'aromathérapie évalués ici sont peu concluants dans le traitement de la paramphistomose. En utilisant un critère sévère : la diminution du nombre de vaches positives (extensity effect), montrée par le % CPR, est de 7 % pour le groupe traité à l'huile de cannelle, de 10 % pour celui du SOLUPHYT-P, et de 15 % pour le groupe témoin. Avec le traitement allopathique de choix, l'oxyclozanide à 15 mg/kg, la réduction du nombre de vaches positives est de 93 %, trois semaines après traitement (Arias, 2013). Avec un critère moins sévère, la diminution de l'excrétion (% FECR), nous avons obtenu une diminution de 55 % pour le groupe témoin, 45 % pour le groupe T1, et 55 % pour le groupe T2. Ce % FECR est beaucoup plus faible que celui obtenu avec l'oxyclozanide qui est de 98 % par exemple (Arias, 2013). De même le pourcentage d'efficacité de cette molécule aux mêmes doses varie entre 87,5 et 100 % selon Rolfe et Boray (1987). Devos et al. (2002), trouvent un pourcentage de réduction d'excrétion fécale de 80 % avec l'utilisation de l'oxyclozanide à 10,2 mg/kg, sans stop dose, deux fois à trois jours d'intervalle.

Ainsi la diminution d'excrétion fécale, pourtant bien présente dans l'essai, ne rejoint pas les résultats attendus. Et alors qu'une réduction du nombre d'œufs excrétés peut être observée naturellement en l'absence de tout traitement, il est primordial d'avoir un groupe témoin dans ce type d'essai. Pour prouver l'efficacité de traitements anti-helminthiques le groupe de travail, « Anthelmintic Efficacy Guidelines », a donné des recommandations spécifiques pour les bovins (VICH GL12) (Vercruyse, 2001). Outre la nécessité de faire un groupe témoin, il est aussi recommandé d'avoir au minimum 6 bovins par lots afin de déterminer une différence significative dans l'excrétion fécale (Vercruyse, 2001). Dans notre étude le nombre de bovins dans chaque groupe paraît suffisant avec 7 bovins par exploitation dans les groupes T1 et T2 et 6 ou 7 bovins dans les groupes témoins. Cependant selon Githiori et al., le nombre d'animaux employés devrait être plus important dans le cas de traitements aux plantes par rapport aux traitements allopathiques car les différences d'excrétion entre les groupes traités et témoins sont plus faibles et les variations plus importantes (Githiori, 2006). De plus, bien que nous ayons choisi les élevages avec une présence significative de paramphistome, le niveau d'infestation n'était pas très élevé. Ce point est plus critiquable alors que les traitements testés sont des traitements d'aromathérapie dont l'efficacité attendue serait moins importante que pour des traitements allopathiques. L'amplitude de la variation serait plus faible et moins facilement détectable sur des petits nombres d'œufs (Githiori, 2006). Le traitement à l'huile de cannelle par exemple montrait une tendance à réduire de façon plus importante l'excrétion chez les vaches excréant plus de 120 opg avant traitement, par rapport aux groupes témoin et de traitement au SOLUPHYT-P. Ce résultat n'était retrouvé pour toutes les vaches infestées.

Quoi qu'il en soit le choix du Paramphistome pour tester des traitements d'aromathérapie n'est pas le plus pertinent étant donné que celui au même titre que la grande douve ne provoque pas l'apparition d'une immunité concomitante limitant de fait la taille de la population parasitaire à un niveau à peu près stable et contrôlée par la réponse immunitaire. Or la plupart des traitements d'aromathérapie sont des traitements qui sont censés agir sur l'état général de l'animal et particulièrement en stimulant son système immunitaire. Par exemple l'action recherchée en utilisant l'huile de cannelle était double : une action antiparasitaire directe mais aussi une stimulation des défenses naturelles de l'hôte visant à éliminer le parasite. Le paramphistome n'est donc pas forcément le meilleur modèle d'étude pour des traitements censés renforcer l'immunité concomitante.

A l'heure actuelle, les seuls traitements efficaces contre le paramphistome sont ceux contenant de l'oxyclozanide. Ils doivent être administrés de façon raisonnée après une analyse des risques et des coproscopies diagnostiques. A la lumière des questionnaires et des visites des 6 élevages nous avons vu que les génisses étaient souvent les animaux les plus à risque tout comme les vaches tarées. Le traitement des génisses est moins contraignant pour l'éleveur en termes de temps d'attente, mais les vaches tarées restent plus complexes à traiter. La meilleure solution, quand cela est possible, est de tenir éloigné des pâtures à risque les vaches pendant le tarissement et de ne pas les mélanger avec les génisses.

## D) Recommandations et perspectives

Plus globalement, pour lutter contre les parasitoses, nous pouvons émettre quelques recommandations à partir des constats réalisés. Actuellement les éleveurs biologiques de Loire Atlantique utilisent peu de diagnostic de laboratoires ; 38 % pour les strongles gastro-intestinaux, 40 % pour la grande douve et seulement 26 % pour les paramphistomes. Pourtant les diagnostics parasitaires et les analyses de risque sont importants dans la prise de décision de traitements et cela se remarque aussi dans les réponses des éleveurs qui sont par exemple significativement plus nombreux à traiter après avoir fait un diagnostic pour la grande douve. Le diagnostic permet de désigner les animaux ou les lots d'animaux à traiter, mais pourrait aussi servir à éliminer des traitements inutiles. Ainsi par exemple, dans le cas des strongles gastro-intestinaux, les éleveurs sont trop nombreux à traiter leurs vaches alors qu'au vu des TCE calculés celles-ci sont très probablement immunisées.

Pour les paramphistomes les coproscopies servent à détecter les élevages et les vaches positives ainsi qu'à vérifier le niveau d'infestation.

Le dépistage des élevages parasités, déterminant si ceux-ci nécessitent une intervention, peut se faire par la seule lecture de deux lames qualitatives. Cet examen étant rapide il serait possible de prélever un nombre plus important de vaches dans le troupeau et d'obtenir ainsi une bonne idée de la prévalence intra-troupeau.

Cependant pour pouvoir connaître le niveau d'infestation des vaches positives, la coproscopie quantitative reste la seule solution. Cette information peut être intéressante dans un contexte de faible intensité d'infestation comme en Loire Atlantique où les signes cliniques de paramphistomose sont rares et les traitements peuvent ne pas être indispensables.

Ainsi la coproscopie permet de donner des clés aux éleveurs pour des mesures curatives mais elle doit être couplée à une analyse de risque dans l'élevage afin de pouvoir limiter les traitements et cibler les lots d'animaux à traiter. Les visites de pâtures permettent la mise en place de mesures prophylactiques comme l'éviction des zones à risque comme pâturage pour certains lots d'animaux. Les vaches tarées paraissant être les animaux à regarder en premier lieu. De cette manière les traitements pourraient par exemple être réservés aux génisses, ce qui est plus facile en termes de temps d'attente à respecter pour les éleveurs laitiers.

Les seules données objectives d'efficacité contre les paramphistomes concernant les traitements allopathiques, ceux-ci restent les traitements de choix. Et même si c'est contre ces parasites que les éleveurs privilégient les traitements alternatifs, les pistes les plus prometteuses pour l'utilisation de plantes en tant qu'anti-parasitaire chez les bovins viennent d'essais concernant les strongles gastro-intestinaux (Hoste, 2015). Les plantes à tanins sont les plus étudiées, en particulier sur les petits ruminants, avec plusieurs études *in vivo* sur des chèvres montrant des diminutions d'excrétion d'œufs de strongles et d'élimination des parasites dans la caillette ou les intestins (Paolini, 2003, 2005). Les études sur les huiles essentielles sont moins nombreuses et essentiellement conduites *in vitro* bien qu'une étude sur des chèvres ait eu quelques résultats probants (Macedo, 2010).

De nouvelles études pourraient être réalisées sur des huiles essentielles ou des produits de phytothérapie, en particulier des tanins condensés, pour la lutte contre les strongles gastro-intestinaux chez les bovins afin de trouver des applications pratiques et des formulations avec des dosages acceptables par exemple. Dans le même temps des évolutions sont attendus pour la législation afin de garantir une meilleure sécurité pour l'utilisation et la prescription.

## Conclusion

L'usage des traitements anti-parasitaires est encore très répandu chez les éleveurs biologiques laitiers de Loire Atlantique. Ils sont par exemple 85 % à traiter les génisses contre les strongles gastro-intestinaux. L'information la plus surprenante qui ressort de cette enquête est l'emploi courant de traitements alternatifs et en particulier d'huiles essentielles dans la lutte contre les paramphistomes, où, 73 % des traitements utilisés sont des traitements d'aromathérapie. Notre étude n'a cependant pas montré d'efficacité contre la paramphistomose bovine pour deux traitements d'aromathérapie : le SOLUPHY-P, produit le plus fréquemment utilisé par les éleveurs, et une préparation à base d'huile de cannelle. La diminution du nombre de vaches positives ou la réduction de l'excrétion fécale étaient similaires au groupe témoin pour les deux groupes de traitements.

La méthode coproscopique employée dans l'étude a montré une mauvaise répétabilité pour le comptage du nombre d'œufs lors de faibles intensités d'infestation comme c'était le cas en Loire Atlantique. La prévalence estimée étant de 35 % dans le département pour les éleveurs biologiques avec une intensité d'excrétion moyenne par vache de 81 opg (IC = [66 - 96] opg). Ainsi ce problème de répétabilité ne nous a pas permis de juger la variabilité de l'excrétion sur plusieurs jours de suite. Nous avons tout de même observé une diminution de l'excrétion au cours du temps pour toute les vaches de l'étude, avec un niveau d'infestation très bas en avril ainsi qu'une diminution de la prévalence intra-troupeau.

Par contre la méthode est plus fiable pour la détection des vaches positives et donc des troupeaux contaminés. Combinée avec une analyse de risque trématodes dans les élevages, la coproscopie est essentielle pour proposer des méthodes de lutte contre la paramphistomose. Ainsi dans notre étude, des moments clés pour la contamination des animaux aux contacts de zones humides, habitats des limnées, ont pu être identifiés et concernent le pâturage des génisses et des vaches taries. Des méthodes prophylactiques agronomiques, avec éviction des pâtures à risque au moins pour les vaches taries, peuvent être alors être proposés afin de limiter les contaminations.



## Bibliographie

- Abrous M., Dreyfuss G., Rondelaud D.** (1999). L'aptitude de huit espèces de mollusques aquatiques à assurer le développement larvaire de *Paramphistomum daubneyi* Dinnik lors d'une infestation monospécifique ou d'une co-infestation avec *Fasciola hepatica* Linné. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **150** (8-9), 727–732.
- Abrous M., Rondelaud D., Dreyfuss G.** (1997). *Paramphistomum daubneyi*: the development of redial generations in the snail *Limnea truncatula*. *Parasitology Research*, **83** (1), 64–69.
- Abrous M., Rondelaud D., Dreyfuss G., Cabaret J.** (1999). Infection of *Limnea truncatula* and *Limnea glabra* by *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi* in farm of central France. *Veterinary Research*, **30**, 113–118.
- Alzieu J-P., Bergeaud J-P., Dorchie P.** (1999). Essai de traitement de la paramphistomose bovine par l'oxyclozanide. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **150** (8-9), 715–718.
- Alzieu J-P., Dorchie P.** (2007). Emergence de la paramphistomose bovine en France: Synthèse des connaissances actuelles épidémiologiques, physiopathologiques et diagnostiques. *Bulletin Académique Vétérinaire de France*, **160** (2), 93–98.
- Anthony J. P., Fyfe L., Smith H.** (2005). Plant active components - A resource for antiparasitic agents? *Trends in Parasitology*, **21** (10), 462–468.
- Anuracpreeda P., Poljaroen J., Chotwiwatthanakun C., Tinikul Y., Sobhon P.** (2013). Antigenic components, isolation and partial characterization of excretion-secretion fraction of *Paramphistomum cervi*. *Experimental Parasitology*, **133** (3), 327–333.
- Anuracpreeda P., Wanichanon C., Sobhon P.** (2008). *Paramphistomum cervi*: Antigenic profile of adults as recognized by infected cattle sera. *Experimental Parasitology*, **118** (2), 203–207.
- Arias M. S., Sanchís J., Francisco I., Francisco, R., Piñeiro P., Cazapal-Monteiro C., Paz-Silva A.** (2013). The efficacy of four anthelmintics against *Calicophoron daubneyi* in naturally infected dairy cattle. *Veterinary Parasitology*, **197** (1-2), 126–129.
- Athanasiadou S., Kyriazakis I., Jackson F., Coop R. L.** (2001). Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: In vitro and in vivo studies. *Veterinary Parasitology*, **99** (3), 205–219.
- Bagavan A., Kamaraj C., Elango G., Abdus Zahir A., Abdul Rahuman L.** (2009). Adulticidal and larvicidal efficacy of some medicinal plant extracts against tick, fluke and mosquitoes. *Veterinary Parasitology*, **166** (3-4), 286–292.
- Bailly S.** (2012). La paramphistomose bovine en France: évaluation de l'existence d'une relation entre le nombre d'oeufs excrétés de *Calicophoron daubneyi* et la charge parasitaire chez l'animal et, réalisation d'une clé de diagnose adaptée aux espèces de paramphistomes décrites en France. *Thèse de Médecine Vétérinaire*. Lyon. 246 p.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M.** (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, **46** (2).
- Camuset P.** (2013). Epidémiologie de la paramphistomose bovine: données récentes sur l'hôte intermédiaire. *Bulletin Des GTV*, **69**.

- Camuset P.** (2015). Gestion contre les trématodes de zones humides en élevage laitier. Quelles stratégies adopter? *Journées Nationales GTV- Nantes*, 271–280.
- Camuset P., Doré C.** (2011). Utilisation pratique des examens complémentaires en parasitologie bovine au pâturage. *Journées Nationales GTV- Nantes*, 495–502.
- Casset I.** (1989). Enquête sur la paramphistomose bovine: recherche de parasites en abattoir. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **140** (10), 925–927.
- Chauvin A.** (2012). Trématodoses des ruminants. *Le Point Vétérinaire*, 63–67.
- Chauvin A., Agoulon A., L’Hostis M.** (2013). Trématodoses des ruminants. *Polycopié D’enseignement Oniris, UV82*, **11**, 30.
- Chopra A.K., Sharma M.K., Upadhyay V.P.** (1991). Effects of ayurvedic anthelmintics on phosphatase activity of *Paramphistomum cervi*. *Indian J Parasitol*, **431**, 65–69.
- Chryssafidis A. L., Fu Y., De Waal T., Mulcahy G.** (2015). Standardisation of egg-viability assays for *Fasciola hepatica* and *Calicophoron daubneyi*: A tool for evaluating new technologies of parasite control. *Veterinary Parasitology*, **210** (1-2), 25–31.
- Courouble F.** (2003). Résultats comparés d’une méthode de coproscopie utilisant le sulfate de zinc comme liquide de flottaison et facile à mettre en oeuvre en cabinet vétérinaire et la méthode de référence utilisant le iodomercurate de potassium. *Journées Nationales GTV- Nantes*, 737.
- Courouble F.** (2015). Paramphistomose : molécules actives/inactives et posologies. *Journées Nationales GTV- Nantes*, 253–257.
- Courouble F., Devos J.** (2015). Paramphistomose: synthèse des travaux récents. *Journées Nationales GTV- Nantes*, 103-107.
- Delorme C., Desmares C., Laurent A.** (2008). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. AFSSAPS. (Disponible sur <http://ansm.sante.fr>)
- Devos J., Dore C., Leboeuf F., Marcotty T.** (2010). Etude de la prévalence des co-infections *Paramphistomum daubneyi*/*Fasciola hepatica* dans les troupeaux infestés par *P.daubneyi*. *Journées Nationales GTV- Lille*, 913–919.
- Devos J., Dore C., Marcotty T.** (2012). Effets de différents protocoles thérapeutiques sur les paramphistomes adultes des bovins. *Journées Nationales GTV- Nantes*, 577–561.
- Devos J., Zenner L.** (2011). Paramphistomose larvaire dans un troupeau de vaches montbéliardes. *Le Point Vétérinaire*, 314, 44–48.
- Díaz P., Lomba C., Pedreira J., Arias M., Sánchez-Andrade R., Suárez J. L., Paz-Silva A.** (2006). Analysis of the IgG antibody response against Paramphistomidae trematoda in naturally infected cattle. Application to serological surveys. *Veterinary Parasitology*, **140** (3-4), 281–288.
- Dinnik J. A.** (1962). *Paramphistomum daubneyi* sp. nov. from cattle and its snail host in the Kenya Highlands. *Parasitology*, **52**, 143–151.
- Dorchies P, Lacroux C., Levasseur G., Alzieu J-P.** (2002). La paramphistomose bovine. *Bulletin Des GTV*, **13**, 87–90.

- Dorchies P., Lacroux C., Navetat H., Rizet C., Gueneau E., Bisson B., Ferte H.** (2002). Trois cas d'une nouvelle entité pathologique: la paramphistomose larvaire chez les bovins. *Bulletin Des GTV*, **13**, 91–93.
- Dorchies P.** (1989). Les Paramphistomidés: leur apparente extension en France et les difficultés pratiques d'identification en coproscopie. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **140** (7), 573–577.
- Dorchies P., Alzieu J-P., Bosquet G., Camuset P., Chauvin A.** (2010). Grande douve, paramphistome: place du plan expertise grande douve dans la maîtrise des trématodoses en zones humides. *Journées Nationales GTV- Lille*, 869–880.
- Dorchies P., Bergeareaud J-P., Duranton C., Tessier P.** (1998). Extension de la paramphistomose bovine en France: résultats d'une enquête coproscopique sur 465 bovins dans 13 départements. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **149** (11), 1029–1032.
- Dorchies P., Levasseur G., Alzieu J-P.** (2000). La paramphistomose bovine: une pathologie d'actualité. *Congrès Sur Le Parasitisme Bovin, Société Française de Buiatrie*, 132–142.
- Dorny P., Stolaroff V., Charlier J., Meas S., Sorn S., Chea B., Vercruyse J.** (2011). Infections with gastrointestinal nematodes, *Fasciola* and *Paramphistomum* in cattle in Cambodia and their association with morbidity parameters. *Veterinary Parasitology*, **175** (3-4), 293–299.
- Dreyfuss G., Vignoles P., Rondelaud D.** (2014). *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi*: decrease in prevalence of natural infection in habitats colonized by *Galba truncatula* and *Lymnaea glabra*. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **165** (5-6), 160–166.
- Euzéby J.** (1975). *Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine. Tome 2: Maladies dues aux Plathelminthes. Fascicule 3: Trématodes autres que les formes hépato-biliaires. Bilharzioses. Trématodes des poissons.* Vigot et Frères, Paris, 855 p.
- Euzéby J.** (2008). *Grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire.* Editions Tec et Doc, Paris. 815 p.
- Ferreras M. C., González-Lanza C., Pérez V., Fuertes M., Benavides, J., Mezo M., Manga-González M. Y.** (2014). *Calicophoron daubneyi* (Paramphistomidae) in slaughtered cattle in Castilla y León (Spain). *Veterinary Parasitology*, **199** (3-4), 268–271.
- Fonteneau M.** (1979). La paramphistomose bovine en expansion dans l'ouest de la France. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, **52**, 367–372.
- Foster A. P., Otter A, O'Sullivan T., Cranwell M. P., Twomey D. F., Millar M. F., Taylor M. A.** (2008). Rumens fluke (paramphistomosis) in British cattle. *Veterinary Record*, **162** (16), 528.
- Fuertes M., Pérez V., Benavides J., González-Lanza M. C., Mezo M., González-Warleta M., Ferreras M. C.** (2015). Pathological changes in cattle naturally infected by *Calicophoron daubneyi* adult flukes. *Veterinary Parasitology*, **209** (3-4), 188–196.
- Githiori J. B., Athanasiadou S., Thamsborg S. M.** (2006). Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. *Veterinary Parasitology*, **139** (4), 308–320.

- González-Warleta M., Lladosa S., Castro-Hermida J. A., Martínez-Ibeas A. M., Conesa D., Muñoz F., Mezo M.** (2013). Bovine paramphistomosis in Galicia (Spain): Prevalence, intensity, aetiology and geospatial distribution of the infection. *Veterinary Parasitology*, **191** (3-4), 252–263.
- Gordon D. K., Roberts L. C. P., Lean N., Zadoks R. N., Sargison N. D., Skuce P. J.** (2013). Identification of the rumen fluke, *Calicophoron daubneyi*, in GB livestock: Possible implications for liver fluke diagnosis. *Veterinary Parasitology*, **195** (1-2), 65–71.
- Graber M., Chauve C., Fonteneau M.** (1980). Existence en France de *Paramphistomum daubneyi* Dinnik, 1962. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, **53**, 265–271.
- Haridy F.M., El Garhy M.F., Morsy T.A.** (2003). Efficacy of Mirazid (*Commiphora molmol*) against fascioliasis in Egyptian sheep. *J Egypt Soc Parasitol*, **33**, 917–924.
- Hoste H., Torres-Acosta J.F.J., Sandoval-Castro C.A., Mueller-Harvey I., Sotiraki S., Louvandini H., Thamsborg S.M., Terrill T.H.** (2015). Tannin containing legumes as a model for nutraceutical against digestive parasites in livestock. *Veterinary Parasitology*, **212**, 5-17.
- Jozan T., Chateigner F., Lequeux G.** (2015). Cartographie 2015 des données d'infestations des ruminants par *Calicophoron daubneyi* et *Dicrocoelium lanceolatum* en France. *Journées Nationales GTV- Nantes*.
- Karreman H. J.** (2007). *Veterinary Herbal Medicine. Chapter 22: Phytotherapy for Dairy Cows*. Mosby, Elsevier, St Louis. 696p
- Labre P.** (2007). *Médecine naturelles en élevage. Tome 2: Phytothérapie et aromathérapie chez les ruminants et le cheval*. Editions Femenvet, Thônes. 352p
- Lefevre P-C., Blancou J., Chermette R.** (2003). *Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et région chaudes. Tome 1 et Tome 2*. Editions Tec et Doc, Paris. 997 p.
- Loock N.** (2003). La paramphistomose bovine: enquête épidémiologique dans l'Est de la France. *Thèse de Médecine Vétérinaire*. Alfort. 74 p.
- Macedo I. T. F., Bevilaqua C. M. L., De Oliveira L. M. B., Camurça-Vasconcelos A. L. F., Vieira L. D. S., Oliveira F. R., Nascimento N. R. F.** (2010). Anthelmintic effect of *Eucalyptus staigeriana* essential oil against goat gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*, **173** (1-2), 93–98.
- Mage C., Bourgne H., Toulilieu J-M., Rondelaud D., Dreyfuss G.** (2002). *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi*: changes in prevalence of natural infections in cattle and *Lymnea truncatula* from central France over the past 12 years. *Veterinary Research*, **33** (5), 439–447.
- Mage C., Dorchies P.** (1998). Relation coproscopies-populations parasitaires dans la paramphistomose des bovins. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **149** (10), 927–929.
- Mage C., Reynal P.** (1990). Les paramphistomidés. Essai de quelques antihelminthiques. *Bulletin Des GTV*, **356** (4B), 9–11.
- Malrait K., Verschave S., Skuce P., Van Loo H., Vercruyse J., Charlier J.** (2015). Novel insights into the pathogenic importance, diagnosis and treatment of the rumen fluke (*Calicophoron daubneyi*) in cattle. *Veterinary Parasitology*, **207** (1-2), 134–139.



- Massaud A, Morsy T.A., Haridy F.M.** (2003). Treatment of Egyptian dicrocoeliasis in man and animals with Mirazid. *J Egypt Soc Parasitol*, **33**, 437–442.
- Massoud A., Shalaby H., Khateeb R. El Mahmoud M., Kutkat M.** (2012). Effects of Mirazid® and myrrh volatile oil on adult *Fasciola gigantica* under laboratory conditions. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **2** (11), 875–884.
- Millar M., Colloff A., Scholes S.** (2012). Disease associated with immature paramphistome infection. *Veterinary Record*, **17**, 509–510.
- Monzote L., Alarcon O., Setzer W. N.** (2012). Antiprotozoal Activity of Essential Oils. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, **77** (4), 167–175.
- Paolini V., Bergeaud J. P., Grisez C., Prevot F., Dorchies P., Hoste H.** (2003). Effects of condensed tannins on goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, **113** (3-4), 253–261.
- Paolini V., De La Farge F., Prevot F., Dorchies P., Hoste H.** (2005). Effects of the repeated distribution of sainfoin hay on the resistance and the resilience of goats naturally infected with gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*, **127** (3-4), 277–283.
- Postal J-M.** (1984). Les paramphistomes gastroduodénales des ruminants. *Thèse de Médecine Vétérinaire*. Alfort. 125 p.
- Raynaud J-P., Leroy J-C., Virat M., Nicolas J-A.** (1979). Une technique de coproscopie quantitative polyvalente par dilution, et sédimentation en eau, flottaison en solution dense et numération en cellule de Mc Master. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **130** (3), 377–404.
- Rieu E.** (2004). Les paramphistomes gastroduodénales bovines: enquête épidémiologique en Champagne Ardennes et mise au point d'un test ELISA pour la détection de coproantigènes parasitaires. *Thèse de Doctorat Vétérinaire*, Alfort. 251 p.
- Rieu E., Recca A., Bénét J. J., Saana M., Dorchies P., Guillot J.** (2007). Reliability of coprological diagnosis of *Paramphistomum* sp. infection in cows. *Veterinary Parasitology*, **146** (3-4), 249–253.
- Rolfe P. F., Boray J-C.** (1987). Chemotherapy of Paramphistomosis in cattle. *Australian Veterinary Journal*, **64** (11), 328–332.
- Sanchís J., Sánchez-Andrade R., Macchi M. I., Piñeiro P., Suárez J. L., Cazapal-Monteiro C., Arias M. S.** (2013). Infection by paramphistomidae trematodes in cattle from two agricultural regions in NW Uruguay and NW Spain. *Veterinary Parasitology*, **191** (1-2), 165–171.
- Sey O.** (1980). Revision of the Amphistomes of European ruminants. *Parasitologia Hungarica*, **20**, 13–25.
- Spence S. A, Fraser G. C., Chang S.** (1996). Responses in milk production to control of gastrointestinal nematode and paramphistome parasites in dairy cattle. *Australian Veterinary Journal*, **74** (6), 456–459.
- Spence S. A, Fraser G. C., Dettmann E. B., Battese D. F.** (1992). Production responses to internal parasite control in dairy cattle. *Australian Veterinary Journal*, **69** (9), 217–220.

- Szmidt-Adjidé V., Abrous M., Adjidé C. C., Dreyfuss G., Lecompte A., Cabaret J., Rondelaud D.** (2000). Prevalence of *Paramphistomum daubneyi* infection in cattle in central France. *Veterinary Parasitology*, **87** (2-3), 133–138.
- Tandon V., Pal P., Roy B., Rao H.S., Reddy K.S.** (1997). In vitro anthelmintic activity of root-tuber extract of *Flemingia vestita*, an indigenous plant in Shillong. *India. Parasitol. Res.*, **835**, 492–498.
- Vercruyse J., Holdsworth P., Letonja T., Conder G., Hamamoto K., Okano K., Rehbein S.** (2002). International harmonisation of anthelmintic efficacy guidelines (Part 2). *Veterinary Parasitology*, **103** (4), 277–297.
- Ximenes T., Rondelaud D., Mage C., Chermette R.** (1993). L'élimination de la limnée tronquée dans les pâturages: contrôle biologique et lutte intégrée contre la fasciolose. *Le Point Vétérinaire*, **149** (24), 55–61.
- Zahir A.A., Rahuman A.A., Kamaraj C., Elango G., Sangaran A., Kumar B.S.** (2009). Laboratory determination of efficacy of indigenous plant extracts for parasites control. *Parasitology Research*, **105** (2), 453–461.
- Zhu L., Dai J. L., Yang L., Qi, J.** (2013). In vitro ovicidal and larvicidal activity of the essential oil of *Artemisia lancea* against *Haemonchus contortus* (Strongylida). *Veterinary Parasitology*, **195** (1-2), 112–117.
- Zhu L., Dai J., Yang L., Qiu J.** (2013). Anthelmintic activity of *Arisaema franchetianum* and *Arisaema lobatum* essential oils against *Haemonchus contortus*. *Journal of Ethnopharmacology*, **148** (1), 311–316.
- Zintl A., Garcia-Campos A., Trudgett A., Chryssafidis A. L., Talavera-Arce S., Fu Y., Mulcahy G.** (2014). Bovine paramphistomes in Ireland. *Veterinary Parasitology*, **204** (3-4), 199–208.

➤ Sites internet :

Académie Vétérinaire de France (2010). Rapport sur les conditions d'utilisation en France des préparations à base de plantes chez les animaux de production. (Disponible sur <http://www.academie-veterinaire-defrance.org>). Consulté le 20/05/2015.

Agence Bio (2014). La bio en France : de la production à la consommation. *L'agriculture biologique : ses acteurs, ses produits, ses territoires (Chiffres Clés). Carnet n°4*. (Disponible sur <http://www.agencebio.org/>). Consulté le 05/05/2015.

ANMV (2013). Note sur le statut juridique du médicament vétérinaire au regard des produits à base de plantes. (Disponible sur [www.anses.fr](http://www.anses.fr)). Consulté le 20/05/2015.

GIE Zone Verte (2010). Le paramphistome. Mieux le connaître pour mieux résister. *La Panse Libérée n°6*. (Disponible sur [www.giezoneverte.com](http://www.giezoneverte.com)). Consulté le 30/07/2015.

Suivi d'élevage et homéopathie vétérinaire. Fric Denis. Les paramphistomes. Disponible sur [www.fric-denis.fr](http://www.fric-denis.fr). Consulté le 30/07/2015.

Fiches techniques du réseau GAB/FRAB (fiche n°8). Gérer le parasitisme interne de bovins au pâturage. (Disponible sur <http://www.agrobio-bretagne.org>). Consulté le 30/07/2015.

L'auxiliaire bio. Bulletin technique du réseau bio de Poitou-Charentes. N°9. 2010. Denis Fric. (Disponible sur [www.penser-bio.fr](http://www.penser-bio.fr)). Consulté le 30/07/2015.

➤ Logiciels

Microsoft® Office Excel® 2007

R

SAS® Version 9.2



## Annexes

### Annexe 1 : Questionnaire 2013 : Mise en place d'une expérimentation sur la gestion des parasites sur les bovins en Bio.

#### I- Aperçu global de la situation des exploitations:

##### **a) L'exploitant :**

Nom : ..... Prénom : ..... Année de passage en bio : .....

En cas de société, y a-t-il une personne chargée du pôle génisse : OUI-NON

##### **b) Les animaux :**

Nombre de VL : ..... Production/VL : .....Litres

Race dominante :  Montbéliarde  Normande  Prim'Holstein  
 Croisées  Autres  
: .....

Âge au 1<sup>er</sup> vêlage : .....mois Âge à la première mise à l'herbe : .....mois

État d'engraissement des génisses à l'entrée au pâturage (printemps) : bon-moyen-faible

État d'engraissement des vaches à l'entrée au pâturage (printemps) : bon-moyen-faible

##### **c) Les pâtures :**

SAU : .....ha Surface en herbe:.....ha

Surface en herbe pour les génisses : .....ha Surface en herbe pour les vaches:.....ha

Compostage du fumier : OUI-NON Cahier de pâturage : OUI-  
NON Présence de marais : OUI-NON Si oui, accessible : OUI-NON

Présence de mares : OUI-NON Si oui, accessible : OUI-  
NON Ecopâturage (équidés, ovidés,...) : OUI-NON

##### **d) Formations :**

Participation à des formations de phytoaromathérapie : OUI-NON Demandeur : OUI-NON

##### **e) Gestion des parasites:**

Prise en considération du problème parasitaire dans la gestion du troupeau laitier : OUI-  
NON

Si oui, mise en œuvre de diagnostic régulièrement dans l'année ou chaque année : OUI/NON



### c)Traitements

Parasite	Traitements	Lots	Dynamique : cas par cas ou ensemble du lot	Nombre de traitements	Date/ Période	Nom des produits
<b>Paramphistome</b>	<input type="checkbox"/> Antiparasitaires allopathiques chimiques <input type="checkbox"/> Phytoaromatérapie avec fomulation* <input type="checkbox"/> Phytoaromatérapie avec seau à lécher <input type="checkbox"/> Produits chimiques et alternatifs associés <input type="checkbox"/> Aucun  <input type="checkbox"/> Autres :	<input type="checkbox"/> G1				
		<input type="checkbox"/> G2				
		<input type="checkbox"/> G3				
		<input type="checkbox"/> VL				
		<input type="checkbox"/> VL Taries				
<b>Grande douve</b>	<input type="checkbox"/> Antiparasitaires allopathiques chimiques <input type="checkbox"/> Phytoaromatérapie avec fomulation* <input type="checkbox"/> Phytoaromatérapie avec seau à lécher <input type="checkbox"/> Produits chimiques et alternatifs associés <input type="checkbox"/> Aucun  <input type="checkbox"/> Autres	<input type="checkbox"/> G1				
		<input type="checkbox"/> G2				
		<input type="checkbox"/> G3				
		<input type="checkbox"/> VL				
		<input type="checkbox"/> VL Taries				
<b>Strongles digestifs</b>	<input type="checkbox"/> Antiparasitaires allopathiques chimiques <input type="checkbox"/> Phytoaromatérapie avec fomulation* <input type="checkbox"/> Phytoaromatérapie avec seau à lécher <input type="checkbox"/> Produits chimiques et alternatifs associés <input type="checkbox"/> Aucun  <input type="checkbox"/> Autres	<input type="checkbox"/> G1				
		<input type="checkbox"/> G2				
		<input type="checkbox"/> G3				
		<input type="checkbox"/> VL				
		<input type="checkbox"/> VL Taries				
<b>Strongles pulmonaires</b>	<input type="checkbox"/> Antiparasitaires allopathiques chimiques <input type="checkbox"/> Phytoaromatérapie avec fomulation* <input type="checkbox"/> Phytoaromatérapie avec seau à lécher <input type="checkbox"/> Produits chimiques et alternatifs associés <input type="checkbox"/> Aucun  <input type="checkbox"/> Autres	<input type="checkbox"/> G1				
		<input type="checkbox"/> G2				
		<input type="checkbox"/> G3				
		<input type="checkbox"/> VL				
		<input type="checkbox"/> VL Taries				

\*sur recommandation vétérinaire (Philippe LABRE et Gilles GROMOND)







**Vaches taries**

Chargement : .....

Entrée progressive : OUI/NON

Pâturage avec les génisses : OUI/NON

PERIODE	Système de pâturage (rotation, agrandissement, parcelle unique)	Surface moyenne	Temps moyen de rotation	Fauche	Hersage et ébousage	Ecopâturage	Complémentation fourragère	Croisement avec quel lot ?	Parcelle pâturée pour la première fois/nombre d'hectares
Printemps									
Eté									
Automne									

PERIODE	Mare		Cours d'eau		Prairies marais/inondables		Prairies humides/permanentes		Autres
	Accessible	Non accessible	Accessible	Non accessible	Accessible	Non Accessible	Accessible	Non accessible	
Printemps									
Eté									
Automne									

## Annexe 2 : ETUDE DE TERRAIN : recherche des zones à risque d'infestation par les trématodes (d'après Combrisson, 2015)

Numéro de l'élevage :

### DESCRIPTION DE L'ELEVAGE

Nombre de Vaches Laitières et race : .....

Niveau de production : (kg/vache/an) : .....

Génisses de 1<sup>ère</sup> année (G1) : .....

Génisses de 2<sup>ème</sup> année (G2) : .....

Génisses de 3<sup>ème</sup> année (G3) : .....

Nombre total d'animaux du troupeau laitier : .....

Nombre de bovins totaux : .....

Autres productions : .....

Age de la 1<sup>ère</sup> mise à l'herbe : .....

Age des génisses au premier vêlage : .....

Age des génisses à la première mise à l'herbe : .....

Vêlages groupés ou étalés ? .....

SAU : .....

Surface en herbage totale (*prairies temporaires, prairies permanentes, cultures dérobées*) : .....

Surface pâturée par le troupeau laitier : .....

Surface pâturée par les VL : .....

Surface pâturée par les GL : .....

Nombre total de parcelles pâturées : .....

Pâturées par le troupeau laitier : .....

Pâturées par les VL : .....

Pâturées par les GL : .....

Nombre de sites de pâturages : .....

Drainage de certaines pâtures :    oui            non

Au cours des 3 dernières années :

- Avez-vous déjà confirmé la présence de grandes douves ou de paramphistomes sur vos bovins ? oui non
- Si oui, à partir de quelles informations ? (abattoir, analyse de bouse/lait/sang)

## CONDUITE DE PATURAGE

### **Lots d'élevage**

lots	Nombre de lots et nombre d'animaux pour chaque lot	Date de la mise à l'herbe pour chaque lot	Date de la rentrée à l'étable pour chaque lot
Vaches en Lactation			
Vaches Taries			
G1			
G2			
G3			
Autres			

**Traitement douvicide ou paramphistomicide**

lots	Nom déposé	Date du traitement pour chaque lot (date, mois, par rapport à la mise à l'herbe, à la rentrée à l'étable)	Combien de fois par an traitez-vous chaque lot ? et quelle durée d'écart entre chaque traitement ?	Tous les animaux du lot sont-ils traités ? Si non, lesquels
Vaches en Lactation				
Vaches Taries				
G1				
G2				

**Zones humides**

Parcelle humide (pâture)	Surface de la parcelle	Types de zones humides (zones à risque)	Accès des animaux (O /N)	Surface de(s) la zone(s) humide (zones à risques)	Surface zone(s) / Surface parcelle	Limnées (O / N)	Lots
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							

## Calculs

	<b>Troupeau laitier</b>	<b>VL</b>	<b>GL</b>
Surface totale de pâtures humides pour les VL (1)			
Surface totale de pâtures des VL (2)			
<b>SPRV</b> (1/2 en %)			
Surface totale de pâtures humides pour les GL (3)			
Surface totale de pâtures des GL (4)			
<b>SPRG</b> (3/4 en %)			
Surface totale de pâtures humides pour le troupeau laitier (5)			
Surface totale de pâtures du troupeau laitier (6)			
<b>SPR</b> (5/6 en %)			
Surface totale de zones à risque des VL (7)			
<b>SZRV</b> (7/2 en %)			
Surface totale de zones à risque des GL (8)			
<b>SZRG</b> (8/4 en %)			
Surface totale de zones à risque du troupeau laitier (9)			
<b>SZR</b> (9/6 en %)			
Nombre de pâtures à risque (a)			

Nombre de total de pâtures pâturées (b)			
<b>Fréquence de pâtures à risque (a/b en %)</b>			
Nombre de zones à risque			
Nombre de zones à risque confirmées par la présence de limnées			
<b>Fréquence de zones à risque confirmée par la présence de limnées</b>			

*Types de zones à risque : pour chaque type :*

	<b>Troupeau laitier</b>	<b>VL</b>	<b>GL</b>
Nombre de pâtures à risque			
Nombre du type la zone à risque rencontrée			
<b>Fréquence du type de la zone à risque</b>			

#### **Légende calculs**

**SPR** : Proportion des Surfaces de pâtures à risque (pour l'ensemble du troupeau laitier)(Surface totale des parcelles (pâtures) humides (où au moins une ZR a été identifiée) / surface totale des pâtures du troupeau laitier de l'exploitation)

**SPRV** : SPR pour les VL

**SPRG** : SPR pour les GL

**SZR** : Proportion de surface des zones à risque (surface de zones à risque totale (addition de toutes les surfaces de zones à risque) / Surface totale pâturée par le troupeau laitier)

**SZRV** : SZR pour les vaches

**SZRG** : SZR pour les génisses



### Annexe 3 : Tableau de données « évaluation de l'efficacité des traitements d'aromathérapie »

Num Elev : Nom de l'élevage

CodeLab : Code Labo

Num Trav : Numéro de travail de la vache

Num Lact : Numéro de lactation de la vache

Opg J1, J2, J3, J21, J22, J23 et J100 : Nombre d'opg trouvés à J1, J1, J2, J3, J21, J22, J23 et J100

Groupe TT : Groupe de traitement (T0 : lot témoin, T1 : lot traité avec le SOLUPHY-P, T2 : lot traité avec la préparation à base d'huile de cannelle)

NoteMF J3 et J21 : Note de consistance des matières fécales à J3 et J21

NEC J3, J21 et J100 : Note d'état corporel à J3, J21 et J100

Présence douve : Présence d'œufs de grande douve (1 si oui)

Num Elev	CodeLab	Num Trav	Num Lact	Opg J1	Opg J2	Opg J3	GroupeTT	Opg J21	Opg J22	Opg J23	Opg J100	Note MF J3	NoteMFJ21	NECJ3	NEC J21	NEC J100	Présence Douve
A	001	1382	4	0	1	0	T1	0	1	1	0	3	3	3	2,5	3	
A	002	1417	4	0	0							2		2			
A	003	1418	3	0	60	0	T2	0	0	1	0	3	3	3	3	3	
A	004	1426	3	0	30	1	T0	60	60	120	0	3	2	3	3	3,5	
A	005	1429	3	0	0							3		3			
A	006	1430	3	0								3		3			
A	007	1437	3	0	0							3		3			
A	008	1441	2	0	0							3		3			
A	009	1451	2	0	0							3		3			
A	010	1452	3	1	0		T0	60	1	30	1	2	3	2	2,5	2,5	
A	011	1462	2	0	0	0	T2	0	1	0	0	2	3	2	2,5	2	
A	012	1481	2	0	1	0						2		2			
A	013	1482	2	0	0					0		3		3			
A	014	1483	2	0	0	30	T1	0	0	0	0	2	3	2	3,5	3	1
A	015	1493	1	0	0			0									
A	016	1500	1	1	0	30	T1	30	90	120	0	2	3	2	3	3,5	
A	017	1510	1	1	1	0	T2	1	0	0	0	2	3	2	2,5	3	
A	018	1512	1	0	1	0	T2	1	0	0	0	2	3	2	2,5	3	
A	019	1516	1	0	60							2		2			
A	020	1522	1	0	90							3		3			
A	021	1528	1	1	0	0	T1	60	60	1	0	3	2	3	2,5	2,5	

A	022	1529	1	0	90	0						3		3			
A	023	1530	1	0	0	1	T0	0	0	1	1	2	2	2	2,5	2,5	
A	024	1536	1	0	1	0	T0	1	0	0		3	3	3	3,5	3,5	
A	025	1540	1	30	60	60	T2	1	30	60	30	3	2	3	3	2,5	
A	026	1542	1	60	420	270	T0	1	30	1	30	3	2	3	2,5	2,5	
A	027	1545	1	0	0												
A	028	1549	1	0	90	90	T2	1	0	30	0	3	3	3	3	2,5	1
A	029	1552	1	60	60	60	T1	0	30	1	0	3	3	3	2,5	2,5	1
A	030	1553	1	0	60	180	T1	30	60	120	0	3	3	3	2	2,5	
A	031	1578	0		330	240	T0		0	0			3		2	2,5	1
A	032	9563	3	180	360	120	T2	120	30	30	1	3	3	3	2,5	2,5	1
A	033	9973	2	0	1	0	T1	1	1	90	1	3	3	3	2,5	3	
B	034	139	6	1	60	1	T2	0	1	30	0	3	3	2,5	2	3,5	
B	035	141	4	90	210	210	T0	1	30	120	1	3	3	3	2,5	3	1
B	036	1022	4	1	240	120	T1	1	1	180	60	3	2	2,5	2	2,5	1
B	037	1026	4	60	1	1	T0	0	0	1	0		2		2,5	2	
B	038	1609	3	0	0												
B	039	1618	3	0	0												
B	040	1620	2	0	0												1
B	041	1627	4	1	1	1	T2	0	0	60	0	3	3	2	2	2,5	
B	042	1640	2	0	30	0	T0	1	0	60		3	3	2	2	2,5	1
B	043	1647	5	0	0												
B	044	1660	2	60	0	0	T1	0	30	30	0	3	3	2,5	2,5	2,5	1
B	045	1669	3	0	0												
B	046	1670	2	0	1												1
B	047	1677	5	60	1	60	T1	1	1	0	0	3	3	2,5	2,5	2	
B	048	1680	2	0	0												
B	049	1697	4	1	1	1	T2	0	0	1	0	3	3	3	3	3	1
B	050	1698	3	1	0	1	T0	0	60	1	60	3	3	2,5	2,5	1,5	
B	051	1707	4	0	120	30	T0	1	60	1	0	3	3	2	2	2,5	
B	052	1709	3	90	90	0	T1	90	1	1	0	3	3	2,5	2	2	1
B	053	1710	2	60	0	0	T2	0	0	90	1	3	3	2,5	2,5	2,5	
B	054	1720	2	1	1	0	T1	1	30	0		3	3	2,5	2		
B	055	1801	1	1	60	30	T1	1	1	0	1	1	3	3	2,5	2	1
B	056	1802	1	1	60	0	T2	1	60	30	0	3	3	2,5	2,5	3	1
B	057	1803	1	0	0												
B	058	1804	1	1	0												
B	059	1806	1	1	0	0	T0	1	60	30	0	3	3	2	2,5	2,5	1
B	060	1807	1	1	0												

B	061	1808	1	0	1	0	T1	1	0	1	0	3	3	2,5	2,5	3
B	062	1812	1	1	30	0	T2	0	1	0	0	3	3	3	2,5	2,5
B	063	1813	1	0	1	0	T2	30	0	1	0	3	3	2,5	2,5	3
C	064	1	3	210	330	240	T1	90	0	60		3	3	4	4	
C	065	1027	5	1	1	60	T2	1	1	0	1	2	3	3,5	3,5	4
C	066	1047	4	30	60	60	T0	1	1	120		3	3	3,5	3,5	
C	067	1050	3	0	0							3		3,5		
C	068	1062	4	0	0							3		3,5		
C	069	1067	4	60	30	1	T1	1				2		3		
C	070	1099	3	240	330	60	T1		90	60		3	3	3,5	4	3,5
C	071	1101	3	0	1	1	T0	0	0	30	1	3	3	4	3,5	4
C	072	1106	2	300	600	300	T2	570	150	330	60	2	3	4	4,5	4,5
C	073	1127	2	0	1	30	T1	30	0	1		2	3	4	4	
C	074	1128	2		1	1	T0	1	120	90	0		3		4	4,5
C	075	1129	2	1	240	60	T2	1	0	1	0	3	3	4	4	4,5
C	076	1131	2	0	0							3		4		
C	077	1132	2	0	0							2		3,5		
C	078	1135	1	0	1	0	T1	0	0	1	0	2	3	4	3,5	4
C	079	1138	2	60	0	30	T2	30	0	0	0	3	2	3,5	4	3,5
C	080	1140	2	1	90	60	T2	60	0	90	1	3	3	3,5	4	4,5
C	081	1142	2	0	0							2		3,5		
C	082	1143	1	90	30	300	T0	30	90	240	150	2	3	3,5	3,5	4
C	083	1147	2	0	0	0	T0	0	0	1	0	3	3	3,5	3,5	4
C	084	1148	1	0	0			0				3		4,5		
C	085	1153	2	0	0	1		0				2		4		
C	086	1159	1	0	0			0				3		3,5		
C	087	1164	1	0	0			0				3		4,5		
C	088	1169	2	0	0			0				3		4		
C	089	1171	1	30	330	90	T1	1	90	1		3	3	3,5	3,5	
C	090	1178	1	150	180	720	T2	1	30	60	120	2	3	4	4	4
C	091	1179	1	90	60	90	T0	60	1	0	30	3	3	4	4,5	4
C	092	1182	1	210	150	1	T2	90	0	60	30	3	3	4	3,5	3
C	093	1183	1	90	120	1	T1	1	30	30		3	3	4	3,5	
C	094	3987	6	0	0							2		4		
C	095	3989	6	60	300	570	T0	120	120	210	60	2	3	3,5	3,5	3
D	096	1110	1	150	150	30	T0	120	1	30		3	3	2,5	2,5	2,5
D	097	1112	1	60	120	30	T1	1	30	0		3	3	2,5	5,5	2,5
D	098	1113	1	450	120	600	T1	0	90	300		3	3	2,5	2,5	
D	099	1114	1	1	150	1	T2	30	1	1		2	2	2,5	2,5	2,5

D	100	1115	1	1	450	360	T2	30	510	30		3	3	2	2	2	1
D	101	1116	1	180													
D	102	1117	1	60	300	330	T0	270	1	30		3	3	2	2,5	2,5	
D	103	4384	3	1	30							3		2,5			
D	104	4413	2	270	330	180	T1	300	210	60		3	3	2,5	2,5	3	
D	105	7050	6	90	1	120	T0	1	0	120		3	3	2,5	3		
D	106	7065	5	1	1							3		2			
D	107	7068	5	60	30							3		2			
D	108	7069	6	150	120	90	T1	60	360	60		3	3	2	2	3	
D	109	7070	5	1	90	30	T0	90	0	1		3	3	2	3		
D	110	7071	4	1	90							3		2,5			
D	111	7072	4	180	90	240	T2	120	150	30		3	3	2	2	2,5	
D	112	7077	4	1	450	90	T2	0	90	90		3	3	2	2,5		
D	113	7078	4	30	30							3		2,5			
D	114	7480	4	1	360	300	T0					3		2			
D	115	7486	7	210	210	300	T1	210	240	150		3	2	2	2,5		
D	116	8002	3	210	180	540	T0	420	150	180		3	3	2	2,5	3	
D	117	8006	3	1	300	120	T1	180	240	270		3	3	2	2,5	3	
D	118	8008	4	90	360	570	T2	1	1	30		3	3	2	2,5	2,5	
D	119	9000	3	180	210	240	T2	60	30	30		3	3	2,5	2,5	3,5	
D	120	9005	3	90	1							3		2,5			
D	121	9006	2	510	480	150	T0	90	240	90		3	3	2	2,5	2,5	
D	122	9111	1	330	270	840	T1	30	180	180		3	3	2	2,5	2	
D	123	9113	2	180	330	60	T2	30	90	390		3	3	2	2		
E	124	2394	3	60	30	30	T1	1	0	0	1	3		3	4	4,5	
E	125	5131	2	180	1	60	T2	1	0	30	30	3		3	3,5	3,5	
E	126	5132	1	1	0							2		2,5			
E	127	9506	6	90	30							3		2,5			
E	128	9517	5	1													
E	129	9536	5	30	0							2		2,5			
E	130	9541	5	60	1	60	T1	1	0	0	1	3		4	4	4,5	
E	131	9542	4	60	1	1	T0	1	0	0	0	2		2,5	2,5	2,5	
E	132	9544	4	0	30	0	T1	1	0	0	0	3		4	4	4	
E	133	9551	5	0	30	1	T2	0	1	0	1	3		2,5	2,5	3	
E	134	9552	3	1	1	1	T2	1	0	0	0	3		2	2,5	2,5	
E	135	9553	3	1	240	1	T0	1	1	150	60	3		2	2	2,5	1
E	136	9554	3	0	1	1	T0	1	0	0	0	3		3,5	3	3	
E	137	9556	4	30	1	0	T1	1	1	0	0	3		2	2	2,5	
E	138	9559	3	30													

E	139	9560	3	30	0	60	T1	0	0	0	0	3		2,5	2	2,5	1
E	140	9563	4	150	1	30	T2	0	90	0	30	2		2,5	2,5	3	
E	141	9567	2	1	0	0	T2	0	0	0	1	3		3	2,5	2	
E	142	9574	2	60	90	30	T0	1	0	0	1	3		2,5	2,5	2	
E	143	9577	2	1	180	90	T1	0	60	30	1	2		2	2,5	2	
E	144	9578	2	30													
E	145	9579	3	0	0							2		2,5			
E	146	9582	2	1	1	0	T2	1	0	30	1	3		2,5	3,5	3	1
E	147	9587	2	30	0	0	T0	0	0	120		3		2,5		2	
E	148	9588	2	0	0							2		2,5			
E	149	9595	1	0	0							3		2			
E	150	9596	1	0	0							3		2,5			
E	151	9598	1	0	0							3		2,5			
E	152	9599	1	30	0	1	T1	0	0	1	1	3		2	2,5	3	
E	153	9602	1	1	30	0	T0	0		0	30	3		2	2	2,5	
E	154	9603	1	0	1	1	T2	0	0	0	1	3		3	3	3	
E	155	9604	1	0	1	0	T0	0	0	0	1	2		3	2,5	3	
F	156	702	5	90	0	30	T2	30	30	1	30	3		3		3,5	
F	157	703	5	1	1	1	T1	0	0	0	0	3		3		4,5	
F	158	706	5	60	60	1	T2	120	30	30	0	2		2		3	
F	159	707	5	30	90	1	T0	30	0	30	0	3		3		2,5	
F	160	709	5	0	1	0	T2	1	0	1		2		3,5			
F	161	711	5	0	0							2		3,5			
F	162	712	5	60	1	60	T1	1	90	30		3		4			
F	163	804	5	0	0							2		2,5			
F	164	902	4	1	1	1	T2	0	0	30	0	3		3		4	
F	165	1011	3	0	1	1	T1	1	0	0	0	3		3		3	
F	166	1101	2	30	1	1	T0	1	0	0	0	2		2		3	
F	167	1106	2	1	0	60	T2	0	1	1	0	2		2		3	
F	168	1107	2	30	30	1	T0	1	1	0	1	3		2,5		3	
F	169	1200	1	0	0							3		2,5			
F	170	1201	1	0	0							3		3			
F	171	1202	1	0	0							3		2,5			
F	172	1203	1	0	1	1	T1	0	0	30	1	3		2,5		3,5	
F	173	1205	1	0	1	1	T2	0	0	1	1	3		2,5		2,5	
F	174	1209	1	0	0							3		2,5			
F	175	1436	2	1	0	30	T0	0	0	0	1	3		2,5		3,5	
F	176	4001	7	0	1	30	T1	0	0	0	0	2		2,5		3	
F	177	4005	7	1	0	30	T2	1	1	1	0	2		3		3,5	

F	178	5003	6	0	0							3		2,5			
F	179	5004	6	0	1	60	T0	0	0	0		3		2,5			
F	180	5007	6	0	0							3		3,5			
F	181	5008	6	1	0	1	T1	0	1	1	1	3		3		3,5	1
F	182	5010	6	30	0	30	T2		0	0		2		2,5			
F	183	6002	8	30	1	1	T1	30	0	1	0	3		3		3,5	
F	184	6004	7	0	0							3		3,5			
F	185	6588	4	0	1	60	T0	1	0	0	0	2		2,5		3	

#### Annexe 4 : Tableau de données : Analyse des risques SGI avec le questionnaire 2013

Age Vêl 1 : Age au premier vêlage (en mois)  
 Age Mise Herbe1 : Age à la première mise à l'herbe (en mois)  
 Durée Pât AvantVêl 1 : Durée du pâturage avant le premier vêlage (en mois)  
 Rem TT : Durée de rémanence du traitement (en mois)  
 TCE : temps de contact effectif (en mois)  
 Copro : Diagnostic coproscopique (1 pour oui, 0 pour non)  
 Abattoir : Diagnostic par retour d'abattoir (1 pour oui, 0 pour non)  
 Pepsi : Diagnostic par dosage de pepsinogène sérique (1 pour oui, 0 pour non)  
 L3 : Diagnostic par recherche de L3 dans les pâtures (1 pour oui, 0 pour non)  
 AcLait : Diagnostic par recherche des anticorps dans le lait (1 pour oui, 0 pour non)  
 Clinique : Diagnostique par recherche des signes cliniques (1 pour oui, 0 pour non)  
 TTG1, G2, G3 : Traitement des génisses en première, deuxième et troisième saison de pâture  
 TTVL : Traitement des vaches en lactation  
 TTTaries : Traitement des vaches taries

0 : pas de traitement  
 1 : traitement allopathique par lot  
 2 : traitement allopathique au cas par cas  
 3 : Traitement d'aromathérapie  
 4 : Traitement d'aromathérapie et allopathique

119

Nom Elev	Age Vêl 1	Age Mise Herbe1	Durée Pât AvantVêl 1	Rem TT	TCE	Copro	Abattoir	Pepsi	L3	AcLait	Clinique	TTG1	TTG2	TTG3	TTVL	TTTaries
A	36	6	22	0	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B	36	7	29	0	29	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C	30	7	16	0,1	15,9	0	0	0	1	0	1	1	0	0	2	0
D	30	6	24	0,1	23,9	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0
E	30	6	17	0	17	1	1	1	0	0	0	3	3	3	0	2
F	30	6	24	1	23	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0
G	30	7	18	1	17	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
H	38	5,5	26	0	26	0	0	0	0	0	0	1	2	2	2	0
I	36	8	22	0	22	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
J	32	6	15	0	15	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0
K	36	6	22	0	22	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0

L	36	7	23,5	0	23,5	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0
M	36	9	17,5	0	17,5	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
N	26,5	6	18,5	0	18,5	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3	0
O	32	6	18	0	18	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	0
P	36	6	20	0,1	19,9	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
Q	28	6	22	0,1	21,9	0	0	0	0	1	0	2	2	2	2	0
R	30	6	15,5	0,1	15,4	0	0	0	0	0	1	1	2	0	0	0
S	28	6	16,5	1	15,5	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1
T	32	8	12,5	1	11,5	0	0	0	0	1	1	2	2	2	3	1
U	33	6	25	0,1	24,9	1	0	0	0	1	0	1	2	2	0	0
V	36	5	25	1	24	0	0	1	0	0	1	1	1	1	2	0
W	34	5	25	1	24	1	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2
X	32	10	15	0,1	14,9	0	0	0	0	0	0	4	4	0	0	0
Y	30	6	13,5	0,1	13,4	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Z	41	6	32	0,1	31,9	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0
AA	29	10	12,5	0,1	12,4	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0
AB	34	8,5	17	0	17	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
AC	32,5	9	16	0,1	15,9	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0
AD	36	8	23	1	22	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
AE	28	18	9	0	9	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3	0
AF	26,5	8	13,5	0	13,5	0	0	0	0	1	1	0	3	0	3	0
AG	30	9	15	1	14	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0
AH	30	8	22	1	21	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
AI	30	9	15	0,1	14,9	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AJ	36	12	15	1	14	0	0	0	0	1	0	2	4	2	3	0
AK	36	20	12	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AL	28	10	12	0	12	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3
AM	27	6	13,5	1	12,5	0	0	0	0	0	1	1	1	1	2	0
AN	36	6,5	20,5	1	19,5	0	0	1	0	0	1	0	1	0	2	0
AO	30	6	14	0,1	13,9	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
AP	42	8	24	1	23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AQ	28	28	0	1	-1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1
AR	30	6	24	0	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AS	29	6	13	0	13	0	0	0	0	0	1	3	3	3	3	0
AT	26	6	17	1	16	1	0	0	0	1	1	2	1	0	2	0
AU	32	9	13,5	1	12,5	1	0	0	0	0	1	4	4	0	0	0
AV	28	7	12	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
AW	33	10	16	0	16	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	0
AX	25	6	16	1	15	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0



AY	27	8	12	1,2	10,8	1	0	0	0	0	1	1	1	0	2	0
AZ	32	8	20,5	0	20,5	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
BA	33	9	18	1	17	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0
BB	36	7,5	22,5	0,1	22,4	0	0	0	0	0	1	4	0	0	0	0
BC	31	10	13	1	12	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0
BD	34	6	23	1	22	0	0	0	0	1	0	4	4	4	4	0
BE	36	6	25	0,1	24,9	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
BF	28	8	17	0,1	16,9	0	0	0	0	0	1	4	4	0	2	0
BG	33	9	15	0,1	14,9	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0

## Annexe 5 : Tableau de données : Analyse du risque Trématodes avec le questionnaire 2013

Mare G1 : Mare dans les pâtures des G1

Cours Eau G1 : Cours d'eau dans les pâtures des G1

ZH G1 : Zone humide (prairies/marais inondables, prairies humides/permanentes) dans les pâtures des G1

0 : absence  
1 : présence mais non accessibilité  
2 : présence et accessibilité

G1, 2 et 3 : Génisses de première, deuxième et troisième saisons de pâture

VL : Vaches en lactation

VT : Vaches tarées

CoproP : Diagnostic coproscopique de recherche paramphistome

AbattoirP : Retours d'abattoir pour le paramphistome

CliniqueP : Recherche de signes cliniques dus au paramphistome

CoproD : Diagnostic coproscopique de recherche grande douve

AbattoirD : Retours d'abattoir pour la grande douve

SeroD : Diagnostic sérologique pour la grande douve

AcLaitD : Recherche d'anticorps contre la grande douve dans le lait

CliniqueD : Recherche de signes cliniques dus à la grande douve

0 : non  
1 : oui

TTG1P : Traitement des G1 contre le paramphistome

TTG1D : Traitement des G2 contre la grande douve

0 : pas de traitement  
1 : traitement allopathique par lot  
2 : traitement allopathique au cas par cas  
3 : Traitement d'aromathérapie

✓ Diagnostics et traitements contre le paramphistome

Nom Elev	Mare G1	Cours Eau G1	ZH G1	Mare G2	Cours Eau G2	ZH G2	Mare G3	Cours Eau G3	ZH G3	Mare VL	Cours Eau VL	ZH VL	Mare VT	Cours Eau VT	ZH VT	Copr oP	Abatt oirP	Cliniq ueP	TT G1 P	TT G2 P	TT G3 P	TTV LP	TTTari esP
A	0	0	0	2	1	2	2	1	2	1	2	2	2	1	2	1	0	0	0	0	2	1	0
B	2	0	2	2	0	2	0	2	0	0	0	0	2	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0
C	0	0	0	1	2	0	1	2	0	0	1	2	1	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0
D	2	1	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	0	0	1	2	2	2	2	0
E	0	0	0	0	1	2	0	0	2	3	1	0	0	0	2	1	0	1	3	3	3	0	2
D	2	1	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	0	0	1	2	2	2	2	0
F	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1
G	0	0	0	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H	1	1	2	2	0	2	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
I	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	1	2	0	0	0	0	0	0	3	0
K	0	0	0	2	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L	2	0	0	2	0	0	2	0	0	1	0	0	2	0	0	1	0	1	2	2	2	3	0
M	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3	0
N	1	0	2	1	0	2	1	0	2	0	0	2	1	0	2	0	0	0	3	3	3	3	0
O	0	0	0	0	1	2	0	1	2	1	1	0	0	1	2	1	0	1	3	3	0	0	0
P	0	1	0	0	2	2	0	2	2	2	1	0	0	2	2	0	0	1	0	0	0	3	0
Q	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
R	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	0	1	3	3	3	3	3
S	0	0	0	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	0	1	3	3	3	3	3
T	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	2	0	2	2	1	0	1	0	3	0	0	0
U	2	1	2	2	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
V	0	0	2	0	0	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	1	0	1	0	0	0	3	0
W	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	1	2	0	1	2	0	0	1	0	3	3	0	3
X	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3	3
Y	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	0	0	1	0	1	0	0	0	4	0
Z	1	1	0	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	0	1	0	2	0	3	2
AA	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	1	0	0	3	3	3	3	3
AB	1	0	2	2	0	2	2	0	2	0	0	2	2	0	2	0	0	0	3	0	0	0	0
AC	0	1	0	2	1	2	0	0	2	0	1	2	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0
AD	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	3	3
AC	0	1	2	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	3	0	3	0

1  
2  
3

AD	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	3	0
AE	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	3	0	3	0
AF	0	0	2	1	0	2	1	0	2	1	0	2	1	0	2	1	0	0	0	0	0	1	0
AG	0	1	2	2	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AH	0	1	0	1	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0	0
AI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0
AJ	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AK	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	1	3	3	3	3	3
AL	1	1	0	0	1	2	0	1	2	0	1	0	0	1	2	0	0	1	0	0	0	0	0
AM	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AN	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AO	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AP	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AQ	0	0	2	0	1	2	0	2	2	1	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0
AR	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
AS	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AT	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
AU	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
AV										1	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
AW	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AX	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0
AY	0	0	2	0	1	2	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AZ	0	1	2	2	1	2	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
BA	0	0	0	1	0	2	1	0	2	0	0	0	1	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0
BB	1	1	2	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
BC	2	0	2	0	0	0	0	1	2	0	1	2	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
BD	0	0	0	1	0	2	1	0	2	1	0	0	1	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0
BE	0	1	2	1	1	2	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
BF	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BG	0	1	2	0	0	0	0	0	2	0	1	2	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0

✓ Diagnostics et traitements contre la grande douve

Nom Elev	CoproD	AbattoirD	SeroD	AclaitD	CliniqueD	TTG1D	TTG2D	TTG3D	TTVLD	TTTariesD
A	0	1	1	1	0	0	0	2	1	0
B	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0
C	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
D	0	0	0	1	1	2	2	2	2	0
E	1	1	1	0	1	3	3	3	0	2
D	0	0	0	1	1	2	2	2	2	0
F	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1
G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
L	1	0	1	0	1	2	2	2	3	0
M	0	0	0	0	0	3	0	0	3	0
N	0	0	0	0	0	3	3	3	3	0
O	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
P	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Q	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
R	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3
T	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
U	0	0	1	0	1	1	1	1	2	0
V	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2
W	0	0	0	1	1	0	1	1	2	0
X	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Y	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0
Z	1	1	1	1	1	0	2	0	0	2
AA	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
AB	0	1	0	0	0	3	0	0	0	0
AC	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
AD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

AC	0	0	0	0	1	0	3	0	3	0
AD	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
AE	0	0	0	0	1	0	3	0	3	0
AF	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0
AG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AI	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0
AJ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AK	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3
AL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AM	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
AN	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AP	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
AQ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AR	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AS	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
AT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AU	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AV	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AW	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AX	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AY	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
AZ	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
BA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BC	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BD	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1
BE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BF	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
BG	0	0	0	0	0	3	3	3	3	0

## Annexe 6 : Bulletin d'analyse de la chromatographie de l'huile essentielle de cannelle utilisée pour le traitement 2

N° de lot : CHC11A4  
Date de péremption : 07/2018

Origine : Chine

Partie distillée : Rameau

### Propriétés organoleptiques :

Aspect : liquide limpide  
Couleur : jaune virant sur le marron rougeâtre  
Odeur : poudré, épicé, caractéristique

### Propriétés physico-chimiques :

Densité à 20°C : 1.055  
Indice de réfraction à 20°C : 1.611  
Pouvoir rotatoire à 20°C : -0.1°

Constituants	%	Norme (%)	Allergènes(%)
α-PINENE	0.07		
CAMPHENE	0.04		
β-PINENE	0.02		
LIMONENE	0.03		0.03
STYRENE	0.13	Tr - 0.15	
p-CYMENE	0.02		
α-COPAENE	0.24		
BENZALDEHYDE	0.83	0.5 - 2.0	
ACETOPHENONE	0.00	Tr - 0.1	
ALDEHYDE SALICYLIQUE	0.23	0.2 - 1.0	
ALDEHYDE PHENYLETHYLIQUE	0.45		
ALCOOL PHENYLETHYLIQUE	0.49		
E-CINNAMALDEHYDE	81.96	70 - 88	81.93
ACETATE DE CINNAMYLE	1.73	Tr - 6.0	
EUGENOL	0.03		0.03
ALCOOL CINNAMIQUE	0.19	Tr - 1.0	0.19
Trans-o-METHOXY-CINNAMALDEHYDE	8.37	3.0 - 15	
COUMARINE Mw=146	1.82	1.5 - 4.0	1.82
ACETATE D'o-METHOXYCINNAMYLE	0.04	Tr - 2.0	
BENZOATE DE BENZYLE	0.05		0.05
<b>TOTAL</b>	<b>96.74</b>		





# **RISK ANALYSIS OF BOVINE PARAMPHISTOMOSIS IN ORGANIC DAIRY FARMS OF LOIRE-ATLANTIQUE AND ESSENTIAL OIL TREATMENTS EFFECTIVENESS ASSESSMENT**

## **ABSTRACT**

Although there is a lack of available information on the effectiveness of alternative medicine Organic against ruminal fluke, organic livestock farmers in Loire-Atlantique surprisingly make extensive use of essential oil in treating bovine paramphistomosis (accounting for 73 % of treatments). In order to fill this gap, this study tried to assess the effectiveness of two aromatherapy treatments. Using a Stoll copromicroscopic sedimentation technique, 84 cows from 6 different farms have been tested with SOLUPHYT-P, one of the most frequently used treatments, and one preparation of essential cinnamon oil. The egg-output count and the prevalence over time significantly decreased, however the results showed no impact of the treatment in comparison with the control group. The assessment of the copromicroscopic technique showed a reasonable detection for positive cows and especially for the most infested cows with an egg-output of more than 120 epg. Conversely, we obtained bad repeatability rates of egg output counting for the cows slightly affected such that, we could not conclude on excretion variability of the excretion during several days. Through fieldworks in the pastures, Trematodes risks analysis showed great relevance in making wise use of deworming treatments and also highlighted the importance of the drying period in the contamination of the whole dairy herd.


## **KEY WORDS**

PARAMPHISTOMOSIS, CATTLE FARMING, ORGANIC FARMING, DAIRY FARMING, LOIRE-ATLANTIQUE, AROMATHERAPY, RISK ANALYSIS, COPROMICROSCOPIC TECHNIQUE.

Vu: **Le Professeur Rapporteur**

De l'Ecole Nationale Vétérinaire,  
Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes  
Atlantique ONIRIS

Professeur *A. Chauvin*



Vu: **La Directrice Générale**

De l'Ecole Nationale Vétérinaire,  
Agroalimentaire et de l'Alimentation  
Nantes Atlantique ONIRIS  
D. BUZONI-GATEL



Nantes, le *28/09/15*

Vu:

**Le Président de la Thèse**

Professeur

*Pr. Michel MARJOLET*  
Faculté Médecine NANTES

Vu:

Le Doyen de la Faculté de  
Médecine de Nantes

Professeur Pascale JOLLIET

**Vu et permis d'imprimer**

*Joanna Alié*  
RAUCT

# **ANALYSE DES RISQUES DE PARAMPHISTOMOSE BOVINE DANS LES ELEVAGES BIOLOGIQUES DE LOIRE-ATLANTIQUE ET EVALUATION DE L'EFFICACITE DE TRAITEMENTS D'AROMATHERAPIE**

## **RESUME**

Les éleveurs biologiques de Loire Atlantique utilisent en majorité des huiles essentielles dans le traitement de la paramphistomose bovine (73 % des traitements utilisés). Les données sur l'efficacité de ces traitements alternatifs sont pourtant rares. L'efficacité de deux traitements d'aromathérapie, le SOLUPHYT-P, produit le plus fréquemment employé, et une préparation à base d'huile de cannelle, a été testé sur 84 vaches de 6 élevages différents à l'aide d'une méthode coproscopique de Stoll. Malgré une diminution du taux d'infestation et de la prévalence au cours du temps, l'impact des traitements est nul par rapport au groupe témoin. L'évaluation de méthode coproscopique a montré une détection plutôt bonne des vaches positives et particulièrement pour les vaches les plus contaminées et excréant plus de 120 opg. Mais nous avons obtenu une plus mauvaise répétabilité du comptage d'œufs pour les vaches faiblement infestées, ce qui ne nous a pas permis de conclure sur la variabilité de l'excrétion plusieurs jours de suite. L'analyse des risques Trématodes par la visite des pâtures a démontré son intérêt pour raisonner l'usage des anti-parasitaires et a mis en évidence l'importance de la période du tarissement pour la contamination du troupeau laitier.

## **MOTS CLES**

PARAMPHISTOMOSE, ELEVAGE BOVIN, ELEVAGE BIOLOGIQUE, ELEVAGE LAITIER, LOIRE-ATLANTIQUE, AROMATHERAPIE, ANALYSES DE RISQUES, COPROSCOPIES.

## **JURY**

Président : Monsieur Michel MARJOLET  
Professeur à la Faculté de Médecine de Nantes

Rapporteur : Monsieur Alain CHAUVIN  
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation  
Nantes Atlantique – ONIRIS

Assesseur : Monsieur Christophe CHARTIER  
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de  
l'Alimentation Nantes Atlantique – ONIRIS

Adresse de l'auteur  
15 rue du champ rond  
35600 REDON

Adresse de l'imprimeur