

**C. CHARTIER⁻¹ - G. MURIGNEUX⁻¹ - M. PELLERIN⁻¹
PH. CAMUSET⁻²**

L'INFESTATION PAR *Dictyocaulus viviparus* CHEZ LES BOVINS LAITIERS ADULTES : ETUDE EN ABATTOIR ET SUIVI LONGITUDINAL DE L'EXCRETION SUR LA PERIODE FIN D'HIVER-DEBUT D'ETE DANS UN TROUPEAU A RISQUE

1- LUNAM Université, ONIRIS, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation. Nantes Atlantique, UMR 1300 BioEpAR INRA, BP 40706, F-44307 Nantes Cedex 3

2- Commission Parasitologie SNGTV, Clinique Vétérinaire, 24 rue Carnot F-76190 Yvetot

RÉSUMÉ

Dictyocaulus viviparus est un nématode de l'appareil respiratoire dont la dynamique d'infestation est difficilement prédictible dans les troupeaux de vaches laitières. La recherche de ce nématode a été réalisée par perfusion de l'artère pulmonaire lors d'une enquête d'abattoir sur une centaine de vaches laitières. La prévalence du portage a été estimée à $13.0 \pm 6.7\%$. Un suivi longitudinal a été mis en place dans un élevage à risque en Haute Normandie sur la période fin d'hiver-début d'été en associant coproscopie (tous les 15 jours) et ELISA MSP sur lait individuel et lait de tank (tous les mois). Les bovins excréteurs au moment de la mise à l'herbe ont été les seuls contributeurs dans la reprise des cycles parasites. Sur la période d'étude, 40.4% des vaches, en majorité des primipares, ont excrété au moins une fois avec des intensités d'excrétion larvaire variant de 1 à 11 L1/30g de fèces. Au plan individuel, la prévalence d'excrétion et la réponse en anticorps, basses et stables pendant tout le printemps, ont augmenté brutalement fin juin-début juillet pour atteindre 27% et 14% respectivement. Les signes cliniques, sous la forme de quelques toux isolées, sont apparus de manière synchrone à cette période. Les valeurs de l'ELISA MSP sur lait de tank (ODR), basses et stables au printemps (0.108 à 0.140), ont atteint 0.301, début juillet, tout en restant en dessous du seuil de positivité (0.410). Ces résultats sont cohérents avec la littérature et incitent à poursuivre les travaux sur le développement des outils ELISA MSP dans le dépistage précoce de la dictyocaulose bovine clinique.

La dictyocaulose bovine est une parasitose respiratoire majeure due à *Dictyocaulus viviparus*. Classiquement, elle atteint les jeunes bovins au cours de leur première saison de pâture. Depuis le début des années 1990 dans les régions tempérées d'Europe, et parallèlement à l'arrêt de la vaccination dans les pays où elle était pratiquée, l'incidence des cas clinique chez les adultes semble avoir augmenté considérablement. Dans certaines régions, la bronchite vermineuse rentre dans le diagnostic différentiel de la toux d'été des bovins adultes. Cette affection semble difficilement prédictible et peut poser de sérieux problèmes économiques lorsqu'un épisode clinique survient dans un élevage (Holzhauer et al., 2012).

Depuis une vingtaine d'années et l'augmentation du nombre de cas clinique sur les bovins adultes en Europe, des études de prévalence ont été menées dans certains pays d'Europe lors de suivis d'abattoir ou de suivis transversaux d'excrétion larvaire ou sérologiques mais aucun travail de ce genre n'a été réalisé en France à ce jour. Par ailleurs, des données concernant le suivi d'excrétion larvaire des vaches adultes en particulier à la reprise du pâturage au printemps jusqu'à un épisode clinique sont très peu nombreuses voire absentes. Enfin, des outils ELISA commencent à être évalués collectivement (lait de tank) ou individuellement et les premières informations sont encourageantes (Schunn et al., 2012, Ploeger et al., 2012).

L'objectif de cette étude est triple

- Estimation du portage de *D. viviparus* par les vaches laitières à l'abattoir

- Etude de la dynamique d'excrétion larvaire chez 50 vaches laitières adultes dans un troupeau à risque au cours de la première partie de la saison de pâture

- Evaluation de l'outil ELISA MSP sur lait individuel et de tank lors de l'étude longitudinale ci-dessus.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. ETUDE EN ABATTOIR

Animaux

Une centaine de vaches laitières tout-venant ont fait l'objet de prélèvement à l'abattoir de l'entreprise Charal à Cholet (49) entre le 25 mars et le 13 octobre 2011.

Réalisation des prélèvements

La fraisure des animaux sélectionnés a été identifiée par le numéro de tuerie. Le cœur est sectionné à la base des atriums. Les poumons sont parés puis perfusés selon la méthode de Inderbitzen modifiée par Oakley (1980) : un tuyau d'arrivée d'eau en caoutchouc est introduit dans l'artère pulmonaire, avant sa bifurcation et maintenu fermement en place. Les autres gros vaisseaux de la base du cœur sont obstrués à leur base au niveau des oreillettes par une ligature ou à la main. L'eau est ensuite ouverte à son plus grand débit et perfuse les poumons par l'artère pulmonaire jusqu'à ce que les poumons se remplissent et qu'environ 10L d'eau soient rejetés par la base de la trachée. Les bronches principales sont ensuite ouvertes sur leur longueur et rincées. L'ensemble du liquide est récupéré. Cette méthode permet un lavage du poumon par un flux d'eau des alvéoles vers les bronches suite à la rupture des capillaires et des vaisseaux par surpression et a pour objectif de récupérer les parasites en très petit nombre y compris les stades immatures de petite taille en position profonde. Le liquide obtenu est passé sur un tamis de maille 45µm à l'aide d'un jet d'eau puissant (Ploeger, communication personnelle). Les débris ainsi obtenus sont récoltés et conservés dans l'alcool à 70° à +4°C.

Détermination de la charge parasitaire

Les prélèvements sont de nouveau passés sur le tamis de 45µm et la lecture est effectuée à la loupe binoculaire au grossissement X12. Les parasites isolés sont ensuite identifiés. Les parasites recueillis sont classés en trois catégories de taille selon Eysker et al. (1990) : stade adulte (>20 mm), stade juvénile (1.5 à 20 mm) et stade inhibé (<1.5 mm)

1.2. ÉTUDE LONGITUDINALE DANS UN ÉLEVAGE À RISQUE

Caractéristiques de l'exploitation

Un élevage laitier a été sélectionné en Seine-Maritime (76) et suivi du 15/03/2012 au 13/07/2012. Dans ce troupeau, la dictyocaulose est régulièrement signalée chez les vaches adultes depuis quelques années. Les vèlages ont lieu tout au long de l'année. Les animaux de renouvellement pâturent dans des parcelles spécifiques et éloignées du troupeau de vaches adultes, celles-ci pâturent sur trois parcelles en rotation rapide (1 semaine) autour de la stabulation. Les génisses prêtes à vèler sont intégrées dans le troupeau adulte 3 semaines avant la date du terme. En première année de pâture, les génisses sont traitées avec de la moxidectine longue action lors de la mise à l'herbe. En deuxième année, aucun traitement antiparasitaire n'est effectué. Au moment du vêlage, les génisses reçoivent un traitement avec de la moxidectine pour-on en période de pâture, et du fenbendazole par voie orale pendant la période de stabulation. Pour 2012, en raison du suivi, aucun traitement antiparasitaire n'a été mis en place aussi bien au niveau collectif qu'individuel lors du vêlage. En revanche, un traitement collectif des adultes (Eprinex®) avait été réalisé l'automne précédent (2011) suite à un épisode clinique de dictyocaulose.

Réalisation des prélèvements

Le suivi a été réalisé sur 50 vaches soit la moitié du troupeau. Le pourcentage de primipares dans notre échantillon (46%) était légèrement supérieur à celui du troupeau (40%). Les prélèvements de fèces ont été réalisés tous les 15 jours (9 prélèvements par animal), les prélèvements de lait tous les mois (4 prélèvements par animal + 4 prélèvements de lait de tank). Des prélèvements d'herbe ont été réalisés en mars, avril et juillet.

Analyses de laboratoire

Infestivité des parcelles

La technique de prélèvement d'herbe est celle de Gruner et Raynaud (1980). Quand les bouses ont été visibles, les pincées d'herbes ont été coupées à 5 à 10 cm des bouses car les larves sont peu mobiles. La technique d'extraction des larves à partir du prélèvement d'herbe puis du produit de lavage et de trempage sont adaptées à partir de Eysker et Kooyman (1993). Le résultat est exprimé en L3/kg de MS d'herbe.

Coproscopie

Pour chaque prélèvement, 30 g de fèces ont été

examinés. La technique s'appuie sur l'utilisation d'un verre à pied conique avec une forte inclinaison des parois (Mc Kenna, 1999), et d'un tissu « tamis » de 31µm, qui a pour but de stopper le maximum de débris (liquide clair) tout en laissant passer les larves 1 (Ploeger ; communication personnelle). Cette technique très sensible est nécessaire compte tenu du faible nombre de L1 (1 à 4 L1/30g) rencontré chez les bovins adultes (Eysker et al., 1994). Les Baermann étaient mis en place rapidement après le prélèvement et laissés plus de 20 heures. Cinq mL du culot étaient récupérés en éliminant le surnageant à la seringue puis disposés une plaque rectangulaire en plastique transparent, utilisable sur un microscope. Nous avons réalisé un quadrillage de la plaque pour faciliter la lecture complète du culot. Ce quadrillage correspondait à un champ microscopique au grossissement x40. Les résultats sont exprimés en L1/30g de fèces.

Technique ELISA avec l'antigène MSP

Les échantillons de laits ont été écrémés et additionnés de bronopol. Les laits ont été analysés par une technique ELISA utilisant l'antigène recombinant Major Sperm Protein (MSP), développée au sein de l'université d'Hanovre (Von Holtum et al., 2008) et actuellement non commercialisée. Cette technique a été adaptée sur lait par Fiedor et al en 2009, montrant une spécificité de 97.5% et une sensibilité >99%. Les résultats sont exprimés en Ratio de Densité Optique (ODR) avec des seuils de 0.573 (Fiedor et al. 2009) pour le lait individuel et de 0.410 (Schunn et al. 2012) pour le lait de tank. La tech-

nique ELISA MSP a été réalisée par le Laboratoire Service International (LSI) à Lissieu (Rhône). Les résultats sont exprimés en Ratio de Densité Optique (ODR) par la formule (DO échantillon-DO blanc)/(DO contrôle positif-DO blanc).

Analyse des données

Les données ont été, selon le cas, analysées par des tests non paramétriques (test de Khi-deux, test de Mann et Whitney) ou paramétriques (analyse de variance en données répétées).

2. RÉSULTATS

2.1. ETUDE EN ABATTOIR

Les animaux sélectionnés sont des vaches laitières de race Prim'Holstein, Montbéliarde et Normande. Les 100 animaux prélevés sont des vaches de 3,5 à 14 ans, avec une moyenne d'âge de 7,8 ans.

La provenance des vaches sélectionnées est diverse, avec une majorité des animaux provenant du grand Ouest de la France (45% en provenance des Pays de la Loire et 15% de Bretagne, mais aussi Picardie, Haute et Basse Normandie, et Poitou Charente).

L'examen des nématodes adultes a confirmé l'identification unique de *Dictyocaulus viviparus*.

La prévalence apparente est de 13.0±6.7% (13 animaux/100).

Les charges parasitaires des animaux infestés figurent au tableau 1. Il n'y a pas de concordances exactes entre les colonnes car certains parasites

Tableau 1 : Charges parasitaires observées sur les animaux prélevés à l'abattoir

	Identification de l'animal prélevé	Nombre total de parasites prélevés par animal porteur*	Nombre de parasites JUVENILES prélevés par animal porteur	Nombre de parasites ADULTES prélevés par animal porteur
Période 1 [15- mars – 30- mai]	7267	7	3	3
	7266	7	1	0
	6777	1	1	0
	6872	1	1	0
	3383	5	4	0
	6852	2	0	0
Période 2 [31-mai – 15- août]	5608	5	3	0
	8666	4	3	1
	4172	14	3	3
	4174	1	0	0
	5998	2	2	0
Période 3 [16 août – 13 octobre]	2262	1	1	0
	2266	28	28	0

* : le nombre total de parasites est établi à partir du comptage des extrémités des vers et peut donc différer du total par stade qui lui nécessite la mesure des spécimens entiers.

n'étaient présents qu'à l'état de fragments. La charge moyenne des animaux parasités est de 5.8 ± 7.6 vers. La grande majorité des parasites est retrouvée au stade juvénile. Aucun nématode au stade hypobiotique (< 1.5 mm) n'a été retrouvé.

2.2. ÉTUDE LONGITUDINALE DANS UN ÉLEVAGE À RISQUE

Un traitement collectif du troupeau à l'Eprinex a été réalisé en automne 2011 à la suite à un épisode clinique.

2.2.1 Données météorologiques

En comparant avec les valeurs normales (Rouen), la période de février a été beaucoup plus froide (température moyenne de -5.2°C sur la première décade avec un minimum de -10°C par rapport à $+3.6^\circ\text{C}$). Le printemps a été un peu plus humide par rapport aux normales avec 285 mm d'eau entre avril et juillet (contre 240 mm pour les normales). Il a notamment davantage plu en Juin et Juillet.

2.2.2. Infestivité des pâtures

Les comptages larvaires réalisés à partir des prélèvements d'herbe ont montré que l'infestivité initiale, c'est-à-dire avant la mise à l'herbe en mars, est très faible voire nulle sur les pâtures (Tableau 2). Les prélèvements réalisés plus tard dans la saison (fin avril et début juillet) n'ont pas permis de mettre en évidence une contamination significative des parcelles par les L3 de *D. viviparus*.

Tableau 2 : Nombre de L3 de *D. viviparus*/kg de matière sèche d'herbe*

23/03/2012	< 71 L3/kg MS herbe
30/04/2012	< 21 L3/kg MS herbe
04/07/2012	24 L3 /kg MS d'herbe

* : seuil défini à partir de la quantité de MS d'herbe examiné (variable selon le prélèvement)

2.2.3. Excrétion de L1 de *D. viviparus*

Au cours des 7 premières séries de prélèvements, du 19 mars au 11 juin, la prévalence apparente instantanée est faible, entre 2 et 6%, et varie peu.

L'incidence, entre 0 et 4.9 % indique une certaine régularité de nouvelles excrétions sur cette période (tableau 3). A partir du 25 juin, nous avons observé une augmentation significative de la prévalence apparente instantanée et de l'incidence qui atteignent respectivement 27.1% et 21%. La prévalence cumulée montre que de mars à juillet 2012, 40.4% des vaches sélectionnées (19 animaux) ont au moins excrété 1 fois.

Sur le tableau 3, on constate que l'intensité d'excrétion varie entre 1 et 2 L1/30g de fèces sur la première période du 19 mars au 11 juin. Puis elle augmente à partir du 25 juin, avec 4.8 ± 5.3 L1/30g le 25 juin, et 11.3 ± 15.9 L1/30g le 09 juillet. La figure 1 montre que les multipares n'excrètent pas ou très peu. En revanche, les primipares excrètent de manière plus intense et fréquente ($\text{Khi-deux} < 0.01$). La valeur maximale d'excrétion observée est de 52 L1/30g fèces.

2.2.4. Suivi sérologique

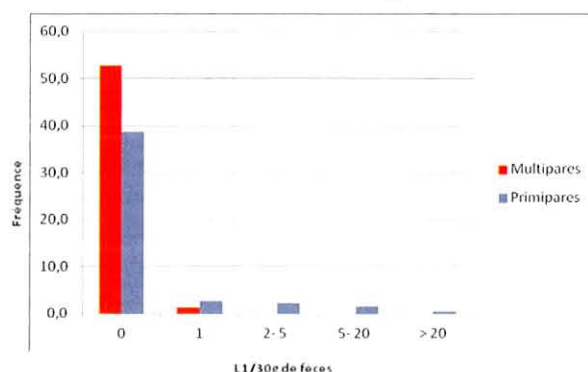
2.2.4.1. Valeurs des Ratio de Densité Optique (ODR)

Une analyse de variance (modèle linéaire mixte généralisé) a permis d'étudier les effets fixes, parité et saisonnalité sur la variable ODR (Tableau 4). Les valeurs d'ODR de l'ELISA MSP sont significativement plus élevées chez les primipares. De même, la réponse sérologique est plus importante lors de la période 4, c'est-à-dire le 02/07/2012. On observe également une interaction entre parité et période. L'augmentation des valeurs ODR lors de la période 4 (début juillet) est donc le fait des primipares.

Quand on considère l'évolution des valeurs moyennes (Tableau 5), la moyenne ODR des laits individuels varie peu pour les 3 premières dates, entre 0.108 ± 0.083 et 0.140 ± 0.162 . En revanche, sur la dernière série de début juillet, la valeur moyenne atteint 0.259 ± 0.225 .

Il faut remarquer qu'en début de saison, la valeur moyenne d'ODR chez les multipares est légèrement plus élevée que chez les primipares. Ce phénomène s'inverse en fin de saison. Les multipares conservent des valeurs stables (0.107 ± 0.060 à 0.178 ± 0.080) alors

Figure 1 : Distribution des valeurs coproscopiques (L1/30g de fèces) en fonction de la parité sur la période d'étude (n=442 observations ou animaux/dates de prélèvement) (chi-deux, $p < 0.01$)



L'INFESTATION PAR DICTYOCAULUS VIVIPARUS CHEZ LES BOVINS LAITIERS ADULTES

Tableau 3 : Caractéristiques de l'excrétion de L1 de *D. viviparus* pour 50 vaches d'une exploitation en Haute-Normandie

	19/03/2012	02/04/2012	16/04/2012	30/04/2012	14/05/2012	28/05/2012	11/06/2012	25/06/2012	09/07/2012
Effectif	50	50	50	50	49	49	49	48	47
% de primipares	46	46	46	46	45	45	45	46	46
Nombre instantané d'excrétrices Prévalence apparente instantanée (%)	3 6,0	3 6,0	2 4,0	1 2,0	2 4,1	1 2,0	2 4,1	13 27,1	10 21,3
Nouvelles excrétrices Incidence (%)		1 2,1	1 2,2	0 0,0	2 4,4	1 2,4	2 4,9	8 21,0	1 3,4
Nombre cumulé d'excrétrices Prévalence cumulée (%)		4 8,0	5 10,0	5 10,0	7 14,3	8 16,3	10 20,0	18 37,5	19 40,4
Intensité d'excrétion ± écart-type (en L1/30 g de fèces)	1,3 ± 0,6	1,0 ± 0	2,0 ± 1,4	2,0	1,0 ± 0	1,0	1,0 ± 0	4,8 ± 5,4	11,3 ± 15,9

- **Prévalence apparente instantanée (%)** : décrit le nombre de vaches excrétrices à un instant t par rapport au nombre total d'animaux échantillonnés.
- **Incidence (%)** : décrit le nombre de nouvelles excrétrices sur une période donnée (15 jours ici) par rapport au nombre de vaches négatives à la situation précédente.
- **Prévalence cumulée (%)** : pour calculer cet indicateur, on considère tout animal qui a été positif au moins une fois sur la période d'étude.
- **Intensité d'excrétion** : correspond au nombre de larves 1 moyen / 30 g de fèces pour les vaches excrétrices.

Tableau 4 : Analyse de variance pour données répétées (modèle linéaire mixte généralisé) : associations entre l'ODR de l'ELISA MSP pour la dictyocaulose et les effets fixes (parité, saison) et (n=197)

Parité		P<0,01	
	Primipare ^a	0,173	
	Multipare ^b	référence	
Période		P<0,01	
	1 ^a	-0,028	
	2 ^a	-0,049	
	3 ^a	-0,009	
	4 ^b	référence	
Interaction		P<0,01	
	P1 ^a	-0,192	
	P2 ^a	-0,155	
	P3 ^a	-0,182	
	P4 ^b	0	
	M1 ^a	0	
	M2 ^a	0	
	M3 ^a	0	
	M4 ^a	0	

a,b : des exposants différents indiquent une différence significative entre les modalités du facteur.

Tableau 5 : Valeurs d'ODR individuels et de mélange sur la période fin d'hiver-début d'été

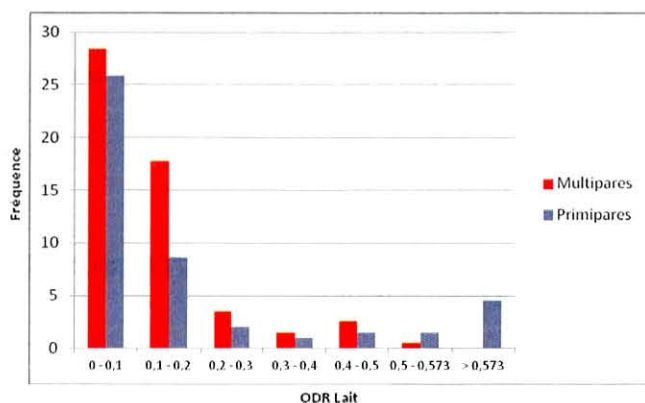
	21/03/2012	25/04/2012	31/05/2012	02/07/2012
Moyenne des Primipares	0,096 ± 0,086	0,121 ± 0,173	0,138 ± 0,204	0,384 ± 0,245
Moyenne des Multipares	0,178 ± 0,080	0,107 ± 0,060	0,141 ± 0,121	0,153 ± 0,136
Moyenne globale ± écart type	0,108 ± 0,083	0,106 ± 0,124	0,140 ± 0,162	0,259 ± 0,225
Tank	0,109	0,138	0,127	0,301

que, chez les primipares, la valeur moyenne augmente pour atteindre une valeur de 0.384 ± 0.245 .

Les ELISA MSP réalisés sur lait de tank suivent la même évolution que pour la moyenne des valeurs d'ODR individuels. En fin de période d'étude, la valeur d'ODR sur lait de tank atteint 0.301.

La figure 2 ci-dessous décrit la distribution des ODR individuels sur lait en distinguant multipares et primipares. 80 % des valeurs ODR sont comprises entre 0 et 0.2. Les 20% restant se distribuent entre 0.2 et 0.7 avec les valeurs les plus élevées pour les primipares.

Figure 2 : Distribution des ODR en ELISA MSP sur lait individuel en fonction de la parité sur la période d'étude (n=197 observations ou animaux/dates de prélèvement) (chi-deux, $p < 0.01$).



2.2.4.2 Valeurs d'ODR rapportées à l'excrétion larvaire

Il existe une relation significative entre ODR et excrétion larvaire. Il y a une différence significative entre la moyenne des ODR des vaches à LPG négative

(0.125 ± 0.136) et celle des vaches à LPG positive (0.400 ± 0.136) ($p < 0.01$). De même, il existe une différence significative entre la moyenne des LPG des vaches à ODR < 0.573 (0.15 ± 0.73) et celle des vaches à ODR > 0.573 (4.89 ± 6.68) ($p < 0.01$).

2.2.4.3 Prévalence en ELISA MSP en fonction de différents seuils et excrétion coproscopique

Les prévalences sérologiques individuelles ont été calculées en utilisant différents seuils de positivité ODR décrits dans la littérature pour les valeurs individuelles ou pour les laits de tank : 0.573 et 0.493 (Fiedor et al., 2009), 0.410 (Schunn et al., 2012). Nous les avons couplées aux prévalences d'excrétion de L1 (Tableau 6). La coproscopie est prise arbitrairement comme méthode de référence pour les estimations de sensibilité et de spécificité.

La meilleure concordance (Kappa) est obtenue pour un seuil d'ODR de 0.410. Toutefois, pour les trois seuils ODR, la valeur varie entre 0.43 et 0.53, ce qui signifie un accord modéré entre les résultats coproscopiques et sérologiques. L'agrément total qui ne prend en compte que les résultats concordants (++) et (--) est d'environ 80% pour les 3 seuils. Lorsqu'on abaisse le seuil de positivité ODR de 0.573 à 0.410, l'estimation de la sensibilité de la technique ELISA MSP passe de 42.9 à 64.3%. Cette augmentation de 21.4% de la sensibilité s'accompagne d'une baisse de 9% de la spécificité (87.9%).

2.2.5. Apparition de signes cliniques et traitement anthelminthique

La toux est apparue à la fin du mois de juin. Cette

Tableau 6 : Concordance entre ELISA MSP selon les seuils et positivité par coproscopie (02/07/12)

		Excrétion			Sensibilité/Spécificité	Valeur kappa	% d'agrément total
		Coproscopie +	Coproscopie -	Totaux			
ODR > 0,573	ELISA +	6	1	7	42,9/97,0	0,47	80,10%
	ELISA -	8	32	40			
	Totaux	14	33	47			
ODR > 0,493	ELISA +	7	3	10	50,0/90,9	0,45	78,70%
	ELISA -	7	30	37			
	Totaux	14	33	47			
ODR > 0,410	ELISA +	9	4	13	64,3/87,9	0,53	80,10%
	ELISA -	5	29	34			
	Totaux	14	33	47			

toux était légère, peu fréquente et concernait seulement quelques vaches. Lors des deux premières semaines de juillet, le nombre de vaches qui tousaient a augmenté pour atteindre environ 20 vaches (20% du troupeau).

Trois vaches ont été traitées le 17/07/12 puis 21 nouvelles vaches le 23/07/12 selon l'appréciation clinique de l'éleveur. Un traitement collectif du troupeau (éprinomectine) a été mis en place le 12 août 2012 et s'est traduit selon l'éleveur par une disparition de la toux.

3. DISCUSSION

3.1. PORTAGE À L'ABATTOIR

L'étude sur le portage de *Dictyocaulus viviparus* par des bovins adultes à l'abattoir donne des informations originales pour la France. La technique utilisée (méthode de perfusion d'Inderbitzen) est de surcroît originale pour une étude de prévalence. Eysker et al. (1990) ont réalisé chez des veaux naturellement infestés une technique d'Inderbitzen suivie d'une technique de Baermann en récoltant les parasites à chaque étape, en considérant que l'association des deux techniques permettait d'atteindre une sensibilité proche de 100%. La technique de perfusion permet la récolte de 91.8% des vers adultes (>20 mm), 78.6% des juvéniles (1.5-20 mm) et seulement 49.6% des stades inhibés (<1.5 mm). La prévalence de 13.0±6.7% retrouvée dans notre étude n'est donc qu'une estimation minimale du portage des dictyocauls par les bovins laitiers adultes. En effet :

- aucun stade hypobiotique (<1.5mm) n'a pu être récolté dans notre travail probablement en raison d'une difficulté technique de lecture,
- l'échantillon de bovins est tout-venant et il est possible que certains animaux ne pâturaient pas,
- il n'est pas exclu que certaines vaches adultes de réforme aient été vermifugées avant envoi à l'abattoir.

La distribution de *D. viviparus* au sein de la population bovine est mal connue. Différentes études à l'abattoir et sur le terrain visant à déterminer la prévalence du portage de *D. viviparus* chez les vaches laitières ont été menées en Europe (Hollande, Belgique, Suède, Irlande) (Agneessens et al., 2000 ; Borgsteede et al., 2000 ; Eysker et al., 1994 ; Hoglund et al., 2010 ; Murphy et al., 2006). Lors de ces études, la prévalence d'animaux adultes porteurs, détectés soit par sérologie soit par coproscopie variait de 4,8% à 14%. Ces données montrent l'importance des animaux adultes dans la persistance de l'infection dans les troupeaux et posent la question de leur rôle dans la circulation du parasite dans les exploitations.

3.2. DYNAMIQUE ET CARACTÉRISATION DE L'EXCRÉTION LARVAIRE

Lors du suivi longitudinal au sein d'un troupeau à risque, nous avons pu commencer les coproscopies en mars avant la mise à l'herbe. Trois animaux sur 50 étaient excréteurs de L1, avec une intensité d'excrétion de 1.3 ± 0.6 L1/30g de fèces. Ces données sont en accord avec les études publiées précédemment sur les bovins porteurs latents. Dans une étude réalisée au niveau troupeau, Eysker et al. (1994) ont montré que la prévalence à travers des pools de fèces était faible en fin d'hiver (15% des troupeaux et 1 seul pool positif par troupeau) avec une intensité d'excrétion basse (entre 1 et 4 L1/30 g de fèces). Par ailleurs, les prélèvements d'herbe répétés à 2 reprises ont montré une infestation résiduelle par les larves transhivernantes indétectable.

Ces résultats peuvent être expliqués par deux éléments. D'une part, l'ensemble des adultes a été traité fin septembre 2011. Ainsi la contamination en fin de saison de pâture (novembre) a été probablement stoppée ainsi qu'une partie du recyclage parasitaire. D'autre part, les températures ont fortement chuté pendant les 2 premières semaines de février sans chute de neige associée (qui aurait pu constituer un substrat isolant). A ces températures, la mortalité larvaire a probablement été très importante voire totale. Les données concernant la survie des L3 de *D. viviparus* aux conditions hivernales sont très limitées et d'interprétation délicate. Selon Michel et Rose (1954), la survie est plus importante en automne et début d'hiver qu'au printemps et en été. De la même manière, des survies hivernales sont signalées dans le Kentucky aux USA, au Canada, en Irlande et en Ecosse (Lyons et al., 1981). Toutefois, Jorgensen au Danemark (1981), lors d'une étude de survie sur 2 hivers, signale des résultats très contrastés, le froid (avec la neige) semblant toutefois plus favorable à la survie que des températures plus clémentes.

Bien que le nombre des vaches excrétrices et l'intensité d'excrétion soient faibles avant la mise à l'herbe, ces animaux porteurs latents semblent constituer la seule source de parasite permettant la reprise des cycles parasitaires au printemps. Saatkamp et al. (1994) ont montré également le rôle prédominant des bovins adultes porteurs par rapport aux L3 transhivernantes. Ces bovins sont à l'origine d'une contamination légère des pâtures au début du printemps, puis, par des auto-infestations plus ou moins rapides, ils sont la cause d'épisodes cliniques ultérieurs de bronchite vermineuse dans les troupeaux adultes.

De mars à mi juin, nous avons observé une prévalence (2-6%) et une incidence (0-4.9%) basses et constantes. Aux Pays-Bas, il a été observé une augmentation importante de la prévalence de trou-

peau entre avril et juin (de 15 à 72%) avec de nombreux pools de fèces positifs (Eysker et al., 1994). Selon les auteurs, ce phénomène pourrait être expliqué par une reprise de développement au printemps des stades larvaires inhibés présents dans les fines bronchioles. De même, dans l'étude de Schunn et al. (2012), en utilisant l'ELISA MSP (antigène de vers adultes) sur lait de tank, il a été observé un pic sérologique en avril qui serait lié à la reprise du développement des stades immatures inhibés chez les porteurs latents.

A partir du 25 juin, nous avons observé une augmentation nette de la prévalence (27.1%) et de l'incidence (21%) d'excrétion. Cette augmentation de l'excrétion larvaire est intervenue 1 mois après une forte augmentation de la température moyenne (10°C à 16.4°C). Le développement L1-L3 et la survie des L3 ont pu être favorisés sur les pâtures avec cette hausse des températures et avec les précipitations abondantes (3ème décennie d'avril notamment). Parallèlement à cette augmentation de la prévalence d'excrétion, l'intensité d'excrétion a aussi augmenté avec 4.8 ± 5.3 L1/30g de fèces le 25 juin et 11.3 ± 15.9 L1/30 g de fèces le 09 juillet. Sur notre période d'étude, ce sont les primipares qui participent le plus à l'excrétion larvaire puisque, sur un total de 19 excrétrices, 15 sont des primipares. De plus, l'intensité d'excrétion est significativement plus élevée chez cette catégorie d'animaux. Ces résultats confirment ceux de Ploeger et al. (2012) aux Pays-Bas. On peut ainsi considérer qu'en début de saison, les primipares s'infestent davantage que les multipares, qu'elles contribuent au recyclage parasitaire qui amènera éventuellement les multipares à s'infester fortement à leur tour en seconde partie de saison. Dans ce type d'exploitation, où il y a séparation des parcelles destinées aux jeunes de celles des adultes, les génisses ont peu ou pas de contact avec *D. viviparus* avant d'intégrer le troupeau adulte. Ces vaches primipares vont ingérer les larves déposées par les porteurs latents sur les pâtures puis recycler le parasite. La dynamique d'infestation va dépendre bien sûr du % de primipares dans l'élevage, de la période et de l'importance des introductions des primipares, de la conduite de pâturage, des conditions météorologiques et du statut immunitaire du troupeau adulte.

3.3. RELATION ENTRE EXCRÉTION ET CLINIQUE DE LA DICTYOCAULOSE

Parallèlement à l'augmentation de la prévalence d'excrétion larvaire fin juin – début juillet, de la toux a été signalée par l'éleveur chez quelques animaux (en particulier des primipares). La date d'apparition de la clinique dans cet élevage est en accord avec la période à risque décrite dans l'en-

semble des publications rapportant des cas cliniques de dictyocaulose, c'est-à-dire en début d'été si les conditions sont favorables, et jusqu'à octobre (Bateman et al. 1986 ; David 1997 ; Bliss et Myers 1998 ; Camuset 2008 ; Musken et Otten 2009 ; Wapenaar et al. 2007 ; Holzhauer et al. 2012).

3.4. EVALUATION DE L'OUTIL ELISA MSP SUR LAIT INDIVIDUEL ET DE TANK

Début juillet, la prévalence individuelle en ELISA MSP sur le lait était de 14.6 % en utilisant le seuil ODR de 0.573 (27.1 % avec le seuil 0.410), alors que la prévalence d'excrétion était de 27%. Sur une période août-octobre aux Pays-Bas, Ploeger et al. (2012) en utilisant l'ELISA CEDITEST ont des résultats dans le même ordre de grandeur : prévalence sérologique de 21.2% et prévalence d'excrétion de 14.8%. L'abaissement du seuil individuel semble intéressant car il permet néanmoins de garder des caractéristiques satisfaisantes, tout en augmentant nettement la sensibilité (64.3%). Cette approche est bien sûr à valider sur de plus grands effectifs. Dans l'étude de Ploeger et al. (2012), 39 % des vaches qui excrètent sont séronégatives. Dans notre étude, 57 % des vaches qui excrètent début juillet sont séronégatives au seuil de 0.573 et 38% au seuil de 0.410.

Lors des 4 séries de prélèvement, aucun lait de tank n'a présenté de résultats ELISA positif y compris en juillet (valeur de 0.301 soit <0.410). En revanche, la dynamique des ODR pour le lait de tank a été la même que pour la moyenne des laits individuels. En 2012, Schunn et al. ont également observé une corrélation entre les courbes en anticorps des laits individuels et de tank dans 13 troupeaux sur 15.

Selon Schunn et al. (2012), le seuil ELISA MSP lait de tank de 0.410 permet de détecter dans 100% des cas les élevages ayant une prévalence individuelle minimale de 20%. Nos données sont à rapprocher de ces résultats allemands bien qu'elles ne permettent pas une stricte comparaison, le lait de tank correspondant aux 100 vaches traitées et non aux 50 vaches en suivi.

CONCLUSION

Cette étude a permis d'obtenir des données épidémiologiques descriptives sur l'infestation des vaches laitières par *Dictyocaulus viviparus*. Le suivi d'un troupeau à risque, de la mise à l'herbe jusqu'à l'épisode clinique, a montré l'importance du portage résiduel en début de saison, le rôle tenu par les primipares dans le recyclage des infestations et les perspectives que représentent le monitoring du lait de tank et celui des laits individuels, en particulier des primipares, dans le suivi des infestations.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les abattoirs Charal à Cholet (Mme I. Madec), le réseau ExcellVet (Dr O. Legay), l'Ecole Vétérinaire d'Hanovre (équipe du Pr T. Schnieder), le laboratoire LSI (Mme B. Gentin), la Faculté Vétérinaire d'Utrecht (Pr H. Ploeger), l'UMR 1300 BioEpAR (A. Lehebel et N. Brisseau) et le laboratoire Merial (Dr JJ Pravieux) pour leur soutien à cette étude.

BIBLIOGRAPHIE

Agneessens J., Clearebout E., Dorny P., Borgsteede FHM., Vercruysse J., 2000. Nematode parasitism in adult dairy cows in Belgium. *Veterinary parasitology*. 90, 1-2: 83-92.

Bateman KG., Baird JD., Slocombe JO., Leslie KE., Curtis RA., Menzies PI., 1986. Verminous pneumonia in adult dairy cows in Southern Ontario due to *Dictyocaulus viviparus*. *The Canadian Veterinary Journal*. 27, 6: 233.

Bliss DH., Myers GH., 1998. Lungworm (*Dictyocaulus*) outbreak in lactating dairy cows. *Large Animal Practice*. 20-23.

Borgsteede F.H.M., Tibben J., Cornelissen JB., Agneessens J., Gaasenbeek CP., 2000. Nematode parasites of adult dairy cattle in the Netherlands. *Veterinary parasitology*. 89, 4: 287-296.

Camuset Ph., 2008. La dictyocaulose bovine : pourquoi les vaches laitières sont-elles atteintes? *Journées Nationales des GTV*: 827-834.

David GP., 1997. Survey on lungworm in adult cattle. *The Veterinary Record*. 141: 343-344.

Eysker M., Boersema JH., Hendriks WM: Recovery of different stages of *Dictyocaulus viviparus* from cattle lungs by a combination of a perfusion and a Baermann technique. *Research in Veterinary Science* 49: 373-374, 1990

Eysker M., Classens EW., Lam TJ., Moons MJ., Pijpers A., 1994. The prevalence of patent lungworm infections in herd of dairy cows in the Netherlands. *Veterinary Parasitology*. 53, 3-4: 263-267.

Eysker M., Kooyman FNJ., 1993. Notes on necropsy and herbage processing techniques for gastrointestinal nematodes of ruminants. *Veterinary parasitology*. 46, 1-4: 205-213.

Fiedor C., Strube C., Forbes A., Buschbaum S., Klewer AM., von Samson-Himmelstjerna G., 2009. Evaluation of a milk ELISA for the serodiagnosis of *Dictyocaulus viviparus* in dairy cows. *Veterinary parasitology*. 166, 3: 255-261

Gruner J. Raynaud JP., 1980. Technique allégée de prélèvements d'herbe et de numération, pour juger de l'infestation des pâturages de bovins par les larves de nématodes parasites. *Revue Méd. vét.* 131,

7: 521-529.

Höglund J., Dahlström F., Engström A., Hessel A., Jakubek EB, Schnieder T, Strube C, Sollenberg S: Antibodies to major pasture borne helminth infections in bulk-tank milk samples from organic and nearby conventional dairy herds in south-central Sweden. *Veterinary Parasitology* 171: 293-299, 2010

von Holtum C., Strube C. Schnieder T., von Samson-Himmelstjerna G., 2008. Development and evaluation of a recombinant antigen-based ELISA for serodiagnosis of cattle lungworm. *Veterinary parasitology*. 151, 2-4: 218-226.

Muskens J., Otten FTM., 2009. Severe lungworm infection in dairy cattle. *Tijdschrift Voor Diergeneeskunde*. 134, 16: 664-666.

Jørgensen RJ., 1980. Epidemiology of bovine dictyocaulosis in Denmark. *Veterinary Parasitology*. 7, 2: 153-167.

Lyons ET., Hemken RD., Button FS., 1981. Overwintering of larvae of the cattle lungworm (*Dictyocaulus viviparus*) on pasture in Kentucky. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 179, 5: 456-457.

McKenna PB., 1999. Comparative evaluation of two emigration/sedimentation techniques for the recovery of dictyocaulid and protostrongylid larvae from faeces. *Veterinary parasitology*. 80, 4: 345-351.

Michel JF., Rose JH., 1954. Some observations on the free living stages of the cattle lungworm in relation to their natural environment. *Journal of comparative pathology*. 64, 3: 195-205.

Murphy TM., Fahy KN., McAuliffe A., Forbes AB., Clegg TA., O'Brien DJ., 2006. A study of helminth parasites in culled cows from Ireland. *Preventive veterinary medicine*. 76, 1: 1-10.

Muskens J., Otten FTM., 2009. Severe lungworm infection in dairy cattle. *Tijdschrift Voor Diergeneeskunde*. 134, 16: 664-666.

Oakley GA: The recovery of *Dictyocaulus viviparus* from bovine lungs by lung perfusion: a modification of Inderbitzen's method. *Research in Veterinary Science* 29: 395-396, 1980