

Rapport de stage de Master 2

Master Gestion Intégrée des Zoonoses et Maladies Animales Tropicales

Etude de l'efficacité de l'Albendazole sur *Dicrocoelium dendriticum* chez les ovins afin de mettre au point un protocole permettant le diagnostic de la résistance en élevage.

Du 5 Janvier 2026 au 3 juillet 2026



Présenté par **Patrice Brandon NGUETSE**

Soutenu le 8 juillet 2026

Sous la direction du docteur Julie PETERMANN (ENVT)

Co-encadré par le Docteur vétérinaire Myriam DOUCET (Idele Limoges)

Établissements d'accueil : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse principalement (Toulouse), Centre Interrégional d'Information et de Recherche en Production Ovine (Le Mourier)

Résumé

La dicrocoélie ovine, causée par *Dicrocoelium dendriticum*, est principalement contrôlée en France par l'albendazole (ABZ), l'unique molécule disposant d'une autorisation de mise sur le marché pour cette indication. À la suite de suspicions d'inefficacité, cette étude a évalué l'efficacité de l'ABZ (15 mg/kg) en conditions expérimentales contrôlées afin de développer un protocole de diagnostic de résistance. Trois protocoles complémentaires ont été menés sur des brebis naturellement infestées, combinant coproscopie quantitative (FECRT), comptages d'adultes à l'autopsie et suivis biochimiques hépatiques.

Les résultats démontrent une efficacité insuffisante du traitement. Vingt-huit jours après traitement, les réductions d'excrétion fécale (FECRT) s'établissent entre 61 % et 81 %, bien en deçà du seuil d'efficacité attendu de 95 %. Ces données sont confirmées par les autopsies, qui révèlent une diminution de la charge en petites douves adultes limitée entre 29,3 % et 59,8 % selon le protocole. De plus, la persistance d'une GGT anormalement élevée (>80 UI/L) chez les animaux traités confirme l'échec de l'élimination parasitaire et le maintien des lésions biliaires. Une analyse de puissance par bootstrap a permis d'établir qu'un protocole terrain ciblant 15 animaux par lot suffit pour détecter cette résistance avec une puissance de 99,9 %.

En conclusion, l'étude confirme l'existence d'une résistance de *D. dendriticum* à l'albendazole, plaçant les exploitations concernées dans une situation d'impasse thérapeutique. Ce constat souligne l'urgence de déployer une surveillance multisite et d'explorer des alternatives curatives.

Mots clés : Dicrocoélie, *Dicrocoelium dendriticum*, Albendazole, Résistance aux anthelminthiques, Ovins, FECRT, Autopsie parasitologique.

Abstract

Ovine dicrocoeliosis, caused by *Dicrocoelium dendriticum*, is primarily controlled in France using albendazole (ABZ), the only authorized anthelmintic for this disease. Following recurring suspicions of treatment failure, this study evaluated the efficacy of ABZ (15 mg/kg *per os*) under controlled experimental conditions to develop an on-farm resistance diagnostic protocol. Three complementary protocols were conducted on naturally infected sheep, combining quantitative coproscopy (FECRT), post-mortem adult fluke counts, and hepatic biochemical markers.

The results demonstrate a clear lack of therapeutic efficacy. At the maximum effect time (Day 28), FECRT values ranged from 61% to 81%, falling far below the expected 95% efficacy threshold. These findings were corroborated by necropsies, which revealed a limited reduction in adult fluke burdens, ranging between 29.3% and 59.8% depending on the specific protocol. Furthermore, persistently high GGT levels (>80 IU/L) in treated animals confirmed the failure to eliminate the parasites and the continuation of biliary damage. A bootstrap power analysis indicated that a field protocol using 15 animals per group is sufficient to detect this level of resistance with 99.9% statistical power.

In conclusion, the study confirms the existence of resistance to albendazole in *D. dendriticum*, highlighting a critical therapeutic dead-end for sheep farmers. This alarming situation emphasizes the urgent need for multi-site epidemiological surveillance and the exploration of alternative therapeutic strategies.

Keywords: Dicrocoeliosis, *Dicrocoelium dendriticum*, Albendazole, Anthelmintic resistance, Sheep, FECRT, Parasitological necropsy.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à adresser mes sincères remerciements à l'ensemble des membres du jury pour m'avoir fait l'honneur d'évaluer mon travail de recherche.

Ce projet n'aurait pas pu voir le jour sans le soutien institutionnel et matériel de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT) et de l'Institut de l'Élevage (Idele). Je remercie ces structures de m'avoir offert un cadre de travail stimulant pour la réalisation de ce stage.

J'exprime ma plus profonde gratitude à mes deux maîtres de stage, Julie Petermann et Myriam Doucet, pour leur confiance, leur encadrement bienveillant et leur expertise scientifique tout au long de ces six mois. Merci pour le temps précieux que vous m'avez accordé. Julie, je te remercie tout particulièrement pour tes relectures minutieuses, ton exigence et tes remarques toujours pertinentes qui ont grandement contribué à la qualité de ce manuscrit.

Je remercie chaleureusement Monsieur Philippe Jacquet, chef de l'équipe GIP, de m'avoir accueilli au sein de son équipe et pour la richesse de nos échanges.

Un immense merci s'adresse à Christelle Grisez. Ta présence constante à mes côtés, ton aide inestimable au quotidien et tes conseils pratiques ont été tout aussi déterminants que ceux de mes encadrantes. Ce travail te doit beaucoup. Je remercie également Pierre Burgues, assistant ingénieur, pour son appui technique indispensable, ainsi que l'ensemble de l'équipe du CIIPRO pour leur accueil sympathique et leur accompagnement lors des expérimentations.

Une pensée chaleureuse va à mes amis et camarades de la promotion du Master GIZMAT. Je souhaite également adresser un merci tout particulier à Adrien Bamière, doctorant, ainsi qu'aux autres stagiaires qui ont croisé ma route durant cette période : Jade Rigale, Lena Placet et Cybelia Barret. Merci pour notre belle dynamique d'entraide, les moments de partage et les fous rires qui ont allégé la charge de travail au quotidien.

Enfin, je ne saurais terminer sans dédier quelques mots à ma famille. Merci à Syntich Chuba pour sa patience infinie, sa capacité à me changer les idées et son soutien indéfectible dans les moments de doute. Merci à ma sœur, Lintia Samira, pour ses encouragements, et à l'ensemble de ma famille pour avoir toujours cru en moi. C'est aussi grâce à votre force que j'achève aujourd'hui cette étape décisive de mon parcours.

Table des matières

Résumé -----	2
Abstract -----	2
Remerciements -----	3
Table des matières -----	4
Liste des Figures -----	6
Liste des tableaux -----	6
Liste des annexes -----	6
I. INTRODUCTION -----	7
I.1. TREMATODOSES HEPATIQUES ET DICROCOELIOSE -----	8
I.1.1. Fasciola hepatica (grande douve) : distribution et impact sanitaire -----	8
I.1.2. Dicrocoelium dendriticum : un parasite longtemps sous-estimé -----	8
I.1.3. Distribution géographique et contexte français actuel -----	10
I.1.4. Importance des parasitoses hépatiques chez les ovins -----	10
I.1.5. Diagnostic de la petite douve -----	11
I.2. ANTHELMINTHIQUES ET RESISTANCE -----	12
I.2.1. Les molécules antiparasitaires disponibles contre les trématodoses hépatiques -----	12
I.2.2. Résistance aux anthelminthiques : définition, mécanismes et épidémiologie -----	13
I.2.3. Diagnostic de la résistance : outils, méthodes et limites -----	13
I.2.4. Approche diagnostique intégrée en conditions d'élevage -----	14
I.3. Contexte réglementaire, stratégique et scientifique -----	15
I.4. Objectifs du travail -----	15
I.4.1. Objectif général -----	15
I.4.2. Objectifs spécifiques -----	15
I.4.3. Hypothèses de travail -----	15
II. MATÉRIEL ET MÉTHODES -----	16
II.1. Présentation du site expérimental et du laboratoire -----	16
II.1.1. Site expérimental : ferme du Mourier -----	16
II.1.2. Le laboratoire : Équipe GIP, UMR IHAP, ENVT -----	16
II.2. Présentation des dispositifs expérimentaux -----	16
II.2.1. Animaux : Sélection et allotement -----	16
II.2.2. Produit utilisé : Albendazole (ABZ) -----	16
II.2.3. Description des trois protocoles -----	17
II.3. Présentation des méthodes d'analyses de laboratoire -----	17
II.3.1. Coproscopie individuelle Technique de Mac Master -----	17

II.3.2.	Examen parasitologique post-mortem : extraction et comptage des douves adultes-----	18
II.3.3.	Analyses sanguines et biochimiques-----	19
II.4.	Analyses statistiques -----	19
II.4.1.	Type d'étude et cadre d'analyse -----	19
II.4.2.	Calcul de l'efficacité du traitement - FECRT -----	20
II.4.3.	Intervalles de confiance Méthode bootstrap -----	21
II.4.4.	Tests statistiques -----	21
II.4.5.	Analyse de puissance par bootstrap-----	21
II.5.	Logiciels et outils utilisés-----	22
II.5.1.	R et RStudio -----	22
II.5.2.	Claude.ai (Anthropic) -----	22
III.	RESULTATS -----	22
III.1.	Évaluation de l'efficacité de l'albendazole contre <i>Dicrocoelium dendriticum</i> -----	22
III.1.1.	Cinétique de l'excrétion d'œufs avant et après traitement-----	22
III.1.2.	Efficacité de l'albendazole et réduction de l'excrétion fécale-----	24
III.1.3.	Efficacité sur les douves adultes : Comptage parasitaire à l'autopsie -----	25
III.1.4.	Corrélation entre excrétion fécale et charge en douves adultes -----	25
III.1.5.	Évolution du profil biochimique hépatique -----	26
III.1.6.	Corrélations entre paramètres biochimiques et charge parasitaire-----	27
III.2.	Protocole de diagnostic de la résistance : analyse de puissance et recommandations pratiques 28	
III.2.1.	Analyse de puissance par bootstrap-----	28
III.2.2.	Proposition de protocoles opérationnels de diagnostic de la résistance -----	29
IV.	DISCUSSION-----	30
IV.1.	Une efficacité de l'albendazole manifestement insuffisante -----	30
IV.2.	Interprétation de la cinétique d'excrétion à J14-----	31
IV.3.	Corrélation excrétion fécale / charge parasitaire : la coproscopie comme variable indicatrice de la charge en petites douves adultes -----	31
IV.4.	Les marqueurs biochimiques hépatiques -----	32
IV.5.	L'analyse de puissance par bootstrap : vers un protocole opérationnel calibré -----	33
IV.6.	Limites de l'étude -----	33
V.	PERSPECTIVES -----	34
V.1.	Réévaluation des seuils d'intervention thérapeutique -----	34
V.2.	Évaluation multisite de l'efficacité de l'albendazole -----	34
V.3.	Caractérisation moléculaire de la résistance -----	34
V.4.	Exploration des alternatives thérapeutiques -----	35

V.5.	Transposition à l'espèce bovine-----	35
VI.	CONCLUSION -----	35
VII.	BIBLIOGRAPHIE -----	36
VIII.	Annexes -----	39

Liste des Figures

Figure 1:	Petite douve adulte. Source : Patrice Nguetse -----	8
Figure 2:	Cycle de la petite douve (source : Julie Petermann) -----	9
Figure 3 :	Parts respectives de la Fasciolose et de la Dicrocoeliose dans les saisies de foies novembre et décembre 2022 (source : Alzieu et al., 2023) -----	11
Figure 4 :	Présentation des trois protocoles -----	17
Figure 5 :	Illustration de la technique de Mac Master -----	17
Figure 6 :	Corrélation entre coproscopie et nombre total de douves adultes. -----	26

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Statistiques descriptives de l'excrétion d'oeufs (OPG) -----	23
Tableau 2 :	Efficacité par le FECRT -----	24
Tableau 3 :	Charge en douves adultes-----	25
Tableau 4 :	Évolution intra-groupe des marqueurs hépatiques au cours des trois protocoles (Moyennes $\pm$ SD et significativité de l'évolution) -----	27
Tableau 5 :	Corrélations significatives globales (n=36) entre les paramètres biochimiques et le nombre de petites douves adultes. -----	27
Tableau 6 :	Puissance statistique de détection de la résistance et largeur de l'IC95% du FECRT -----	28
Tableau 7 :	Protocole -----	30

Liste des annexes

Annexe 1 :	Cinétiques d'excrétion fécale d'œufs de <i>Dicrocoelium dendriticum</i> (OPG)/ protocole-----	39
Annexe 2 :	Graphiques des corrélations par protocole -----	40
Annexe 3 :	Présentation des protocoles expérimentaux des essais -----	41
Annexe 4 :	Données brutes individuelles des suivis biochimiques sanguins -----	42
Annexe 5 :	Photographies des stades adulte et immature vues sous loupe (source : Patrice Nguetse) -----	43
Annexe 6 :	Représentations graphiques issues de l'analyse de puissance par simulations Bootstrap (FECRT) -----	44

I. INTRODUCTION

Les parasitoses internes des ruminants, et en particulier les trématodoses hépatiques, constituent aujourd'hui un enjeu majeur pour les systèmes d'élevage en raison de leur large distribution géographique, de leur caractère souvent chronique et de leurs conséquences sur les performances de production (Alzieu et al., 2023; Cringoli et al., 2002). Longtemps, l'attention s'est portée en priorité sur les strongyloses gastro-intestinales, alors que la fasciolose et la dicrocoeliose sont désormais reconnues comme des parasitoses devant être pleinement intégrées dans les plans de contrôle sanitaire des troupeaux (Alzieu et al., 2023; Otranto and Traversa, 2002).

La dicrocoeliose, due à *Dicrocoelium dendriticum*, est une parasitose largement répandue chez les ruminants dans de nombreuses régions d'Europe, d'Asie et d'Afrique du Nord, mais elle reste souvent sous-diagnostiquée et son impact est souvent sous-estimée par rapport à d'autres trématodoses hépatiques (Arbabi et al., 2018; Otranto and Traversa, 2002). Cette « petite douve » induit principalement des lésions chroniques des voies biliaires, responsables de pertes de poids, de diminution de la production laitière et de saisies de foies à l'abattoir, avec des répercussions économiques parfois importantes à l'échelle des troupeaux (Arbabi et al., 2018; Manga-González et al., 2004; Otranto and Traversa, 2002). Plusieurs études rapportent des prévalences élevées, dépassant 60% de fermes ovines positives dans certaines zones d'Italie ou du Moyen-Orient, ce qui souligne la large répartition de *D. dendriticum* dans les systèmes pâturant (Arbabi et al., 2018; Cringoli et al., 2002; Murshed et al., 2022).

Le contrôle de la dicrocoeliose en France repose aujourd'hui exclusivement sur l'albendazole, seule molécule disposant d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) contre *D. dendriticum* chez les ovins et caprins en France. Les données récentes montrent une forte variabilité de la réduction de l'intensité de l'excrétion fécale post-traitement, allant de plus de 90–99% en conditions expérimentales à environ 40% dans certains élevages ovins français (Bosco et al., 2015; Königová et al., 2024; Petermann et al., 2024). Si aucun cas de résistance formellement démontré n'a encore été décrit chez *D. dendriticum*, la combinaison d'un recours exclusif à l'albendazole, de signaux récents de baisse d'efficacité et de l'absence d'alternatives thérapeutiques fait craindre l'émergence silencieuse de phénomènes de résistance, difficile à objectiver sans protocole de diagnostic adapté (Otranto and Traversa, 2002; Petermann et al., 2024). Or, le diagnostic de l'efficacité des anthelminthiques, qui repose principalement sur le test de réduction de l'intensité d'excrétion d'œufs post-traitement, en anglais *Fecal Egg Count Reduction Test* (FECRT), a fait l'objet d'une récente mise à jour des recommandations par la WAAVP pour les helminthes des ruminants (Burden et al., 2024a; Kaplan et al., 2023). Néanmoins, dans le cas particulier de *D. dendriticum*, la faible et intermittente excrétion d'œufs limite la robustesse de ce test lorsqu'il est utilisé seul. Cela justifie d'explorer des approches combinant mesures coproscopiques et marqueurs biochimiques des dommages hépatiques, telles que proposées dans des études expérimentales récentes (Geurden et al., 2022; Königová et al., 2024; Manga-González et al., 2004).

Dans cette perspective, le travail présenté dans ce mémoire vise, chez les ovins allaitants en conditions d'élevage français, à documenter l'efficacité réelle de l'albendazole contre *D. dendriticum* et à contribuer à la mise au point d'un protocole de suivi de cette efficacité, basé sur les indicateurs coproscopiques. L'objectif est de pouvoir détecter précocement une éventuelle baisse de sensibilité du parasite à ce médicament et de fournir aux praticiens un outil opérationnel pour la surveillance de la dicrocoeliose et du risque de résistance à l'albendazole.

I.1. TREMATODOSES HEPATIQUES ET DICROCOELIOSE

En Europe de l'Ouest, les trématodoses hépatiques des ruminants sont principalement dues à *Fasciola hepatica* et *Dicrocoelium dendriticum*, respectivement désignées comme « grande douve » et « petite douve » du foie (Otranto and Traversa, 2002; Theodoridis et al., 1991). Ces deux trématodes partagent la capacité d'induire des affections hépatiques chroniques, mais avec un tropisme différent : *F. hepatica* lèse massivement le parenchyme hépatique, tandis que *D. dendriticum* cible spécifiquement les voies biliaires. De plus, ils diffèrent profondément par leur biologie, leur cycle parasitaire et leurs facteurs de risque environnementaux.

I.1.1. *Fasciola hepatica* (grande douve) : distribution et impact sanitaire

Fasciola hepatica est un trématode à cycle dixène, largement distribué dans les régions tempérées humides d'Europe, d'Amérique et d'Océanie (Howell and Williams, 2020). Sa transmission repose sur un gastéropode pulmoné, amphibie (*Galba truncatula*, communément appelée limnée tronquée)) comme hôte intermédiaire obligatoire, ce qui ancre l'épidémiologie de la fasciolose dans les zones humides: mares, fossés, prairies inondées et dans les conditions climatiques favorables à ce gastéropode (Howell and Williams, 2020). Après ingestion des métacercaires produites par les limnées, les douves immatures migrent à travers le parenchyme hépatique en provoquant des lésions; les adultes se logent ensuite dans les grands canaux biliaires où ils induisent une cholangite chronique et une fibrose, responsables d'anémie, d'amaigrissement, de baisse de production laitière et de saisies hépatiques fréquentes à l'abattoir (Howell and Williams, 2020).

I.1.2. *Dicrocoelium dendriticum* : un parasite longtemps sous-estimé

I.1.2.1. Taxonomie et caractéristiques morphologiques

Dicrocoelium dendriticum, communément appelé « petite douve du foie », appartient à la famille des *Dicrocoeliidae* au sein de l'ordre des Digenea ; c'est un trématode plat de 5 à 15 mm, au corps dit "dendritique" (en raison de la morphologie très ramifiée de ses organes reproducteurs, notamment les glandes vitellogènes, rappelant les branches d'un arbre), qui colonise exclusivement les voies biliaires des ruminants domestiques et sauvages, et très exceptionnellement l'homme (Karadag et al., 2005; Otranto and Traversa, 2002). Les adultes, hermaphrodites, produisent des œufs operculés de 30 à 50 µm de longueur, libérés dans la bile puis excrétés dans les fèces. Particulièrement résistants dans l'environnement, ces œufs peuvent rester infectieux pendant plusieurs mois dans le sol (Manga-González et al., 2001). Contrairement à *F. hepatica*, *D. dendriticum* présente une excrétion ovulaire intermittente et de faible intensité, ce qui complique considérablement le diagnostic coproscopique en conditions de terrain (Manga-González et al., 2004; Otranto and Traversa, 2002).



Figure 1: Petite douve adulte. Source : Patrice Nguetse

I.1.2.2. Hôtes intermédiaires et cycle de développement

D. dendriticum a un cycle biologique complexe qui implique deux hôtes intermédiaires terrestres successifs et un hôte définitif mammifère. Les œufs excrétés éclosent dans l'environnement et libèrent des

miracidiums qui infestent des escargots terrestres du genre *Helicella* (principalement *H. itala* et *H. corderoi*), dans lesquels se développent sporocystes et cercaires ; celles-ci sont expulsées sous forme de mucoïdes (« slime balls ») ingérées par des fourmis du genre *Formica* (*F. rufibarbis*, *F. cunicularia*). La migration d'une métacercare vers le ganglion nerveux de la fourmi provoque une altération de son comportement (tétanie des mandibules la figeant au sommet des brins d'herbe), ce qui facilite grandement son ingestion accidentelle par les ruminants lors du pâturage (Manga-González et al., 2001; Otranto and Traversa, 2002). Chez l'hôte définitif, les métacercaires se libèrent de leur kyste dans le duodénum et migrent dans le canal cholédoque par voie rétrograde vers les voies biliaires intra-hépatiques, sans phase destructrice dans le parenchyme, contrairement à *F. hepatica* (Otranto and Traversa, 2002). En raison du caractère omniprésent et strictement terrestre de ces hôtes intermédiaires, ce cycle biologique échappe aux mesures agronomiques préventives classiques (telles que la gestion des pâturages, la rotation ou l'assainissement des parcelles). Cela explique le recours quasi exclusif au traitement chimique pour la maîtrise de la dicrocoélie.

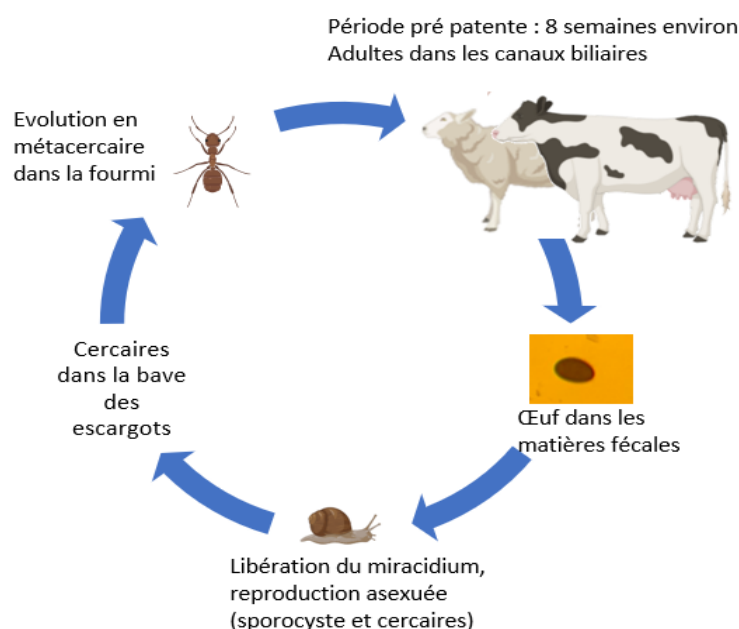


Figure 2: Cycle de la petite douve (source : Julie Petermann)

1.1.2.3. Atteintes hépatiques chroniques et conséquences cliniques

Sur le plan clinique, la dicrocoélie se caractérise par une évolution strictement chronique, la plupart des infections légères restant inapparentes ou ne se manifestant que par des signes frustes tels qu'un amaigrissement discret, une anémie modérée et une baisse de production, si bien qu'elle est souvent sous-diagnostiquée (Otranto and Traversa, 2002; Scala et al., 2019). *D. dendriticum* est un véritable parasite d'accumulation des voies biliaires : les douves adultes, de longue longévité, peuvent persister plusieurs années et s'additionner au fil des réinfestations, conduisant chez les petits ruminants à des charges de plusieurs milliers, voire dizaines de milliers de parasites, encore compatibles avec une clinique peu spécifique (Otranto and Traversa, 2003; Theodoridis et al., 1991). Ce parasitisme biliaire prolongé induit des lésions chroniques de cholangite fibrosante et de cholangiectasie des petits canaux biliaires, avec hyperplasie péribiliaire, induration hépatique et parfois cirrhose, responsables de saisies hépatiques fréquentes à l'abattoir (Manga-González et al., 2004; Scala et al., 2019). Sur le plan physiopathologique,

plusieurs travaux ont montré des augmentations modérées mais significatives des enzymes hépatiques et une corrélation étroite entre la charge parasitaire et la sévérité des lésions, tandis que les pertes de performances (croissance, production laitière, aptitude reproductrice) restent modestes mais continues, conférant à la dicrocoeliose un impact économique cumulé non négligeable dans les systèmes extensifs (Arbabi et al., 2018; Otranto and Traversa, 2003; Scala et al., 2019).

1.1.3. Distribution géographique et contexte français actuel

1.1.3.1. Répartition historique et zones endémiques en France

Historiquement, *D. dendriticum* est bien documenté dans les principaux bassins de production ovine allaitante française - Centre-Val de Loire, Nouvelle-Aquitaine, Occitanie, où les conditions agro-climatiques (pâturages calcaires secs, coteaux, systèmes extensifs) sont particulièrement favorables à son cycle terrestre (Alzieu et al., 2023; Petermann et al., 2024). Des enquêtes régionales confirment une prévalence coproscopique souvent supérieure à 30–50 % dans les troupeaux ovins de ces zones.

1.1.3.2. Conséquences pratiques et nécessité d'une stratégie adaptée

Les signalements croissants de vétérinaires praticiens et d'éleveurs, notamment dans les bassins de production ovins allaitants, traduisent une préoccupation pratique immédiate : la baisse suspectée de l'efficacité de l'albendazole (ABZ), seule molécule disposant d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) contre *D. dendriticum* en France chez les ovins, associée à une absence totale d'alternatives thérapeutiques (Petermann et al., 2024). Le projet EVERESDICO (EcoAntibio3) s'inscrit dans ce contexte pour évaluer expérimentalement cette efficacité et développer un protocole de diagnostic de résistance applicable sur le terrain (Petermann et al., 2024). La maîtrise de la dicrocoeliose apparaît ainsi comme un enjeu stratégique majeur pour la durabilité des filières ovines françaises, nécessitant des approches intégrées dépassant le seul recours au traitement chimique (Falzon et al., 2014).

1.1.4. Importance des parasitoses hépatiques chez les ovins

1.1.4.1. Importance globale des parasitoses hépatiques chez les ovins

Les trématodoses hépatiques, dominées par la fasciolose et la dicrocoeliose, figurent parmi les helminthoses les plus préoccupantes chez les ruminants. Souvent chroniques ou subcliniques, elles provoquent des « pertes invisibles » qui dégradent insidieusement la rentabilité des élevages (Arbabi et al., 2018; Manga-González et al., 2004; Scala et al., 2019). L'inflammation chronique des voies biliaires et la spoliation nutritionnelle induites par ces parasites altèrent l'état corporel et diminuent la capacité d'adaptation aux stress environnementaux, affectant ainsi le bien-être général du troupeau (Manga-González et al., 2004; Otranto and Traversa, 2002). Ces affections représentent aujourd'hui un enjeu sanitaire et économique majeur, d'autant plus que l'émergence rapide de résistances aux anthelminthiques impose de repenser d'urgence les stratégies de contrôle (Cringoli et al., 2002; Falzon et al., 2014; Geurden et al., 2014).

1.1.4.2. Pertes économiques estimées à l'échelle des filières

Les pertes économiques liées aux parasitoses hépatiques se répercutent à plusieurs niveaux de la filière, depuis la production primaire jusqu'à l'abattoir, en raison de la baisse de productivité individuelle, de la dépréciation des carcasses et des saisies d'organes parasités (Otranto and Traversa, 2002). À titre d'exemple, Arbabi et al. (2018) ont estimé que la dicrocoeliose générerait une perte économique annuelle de 30 479 USD à l'échelle de la province d'Arak (Iran). Ce chiffre a été calculé suite à l'inspection en abattoir d'une vaste cohorte de plus de 369 000 ruminants (comprenant 118 463 ovins, 207 652 caprins et 43 675 bovins). Fait marquant, cette perte financière liée aux saisies hépatiques, à la réduction de la croissance

pondérale et à la baisse de production laitière s'est révélée supérieure à celle attribuée à la fasciolose dans la même zone. Ces pertes s'accumulent de façon progressive et restent fréquemment sous-estimées, car elles résultent d'effets diffus sur la croissance, la production et la réforme des animaux plutôt que d'épisodes cliniques spectaculaires (Otranto and Traversa, 2002; Scala et al., 2019).

L'analyse des saisies hépatiques de novembre et décembre 2022 dans huit départements de la région Occitanie a montré une nette prédominance de la dicrocoeliose par rapport à la fasciolose dans les foyers examinés. Sur l'ensemble des 2052 foies saisis pour « distomatose » au sens large, 1922 cas étaient attribués à la dicrocoeliose, soit 93,7%, contre 130 cas seulement de fasciolose, représentant 6,3%. Cette répartition est retrouvée dans la plupart des départements étudiés, avec une proportion de dicrocoeliose systématiquement supérieure à celle de la fasciolose, ce qui confirme le poids important de *D. dendriticum* dans les saisies hépatiques (Alzieu et al., 2023).

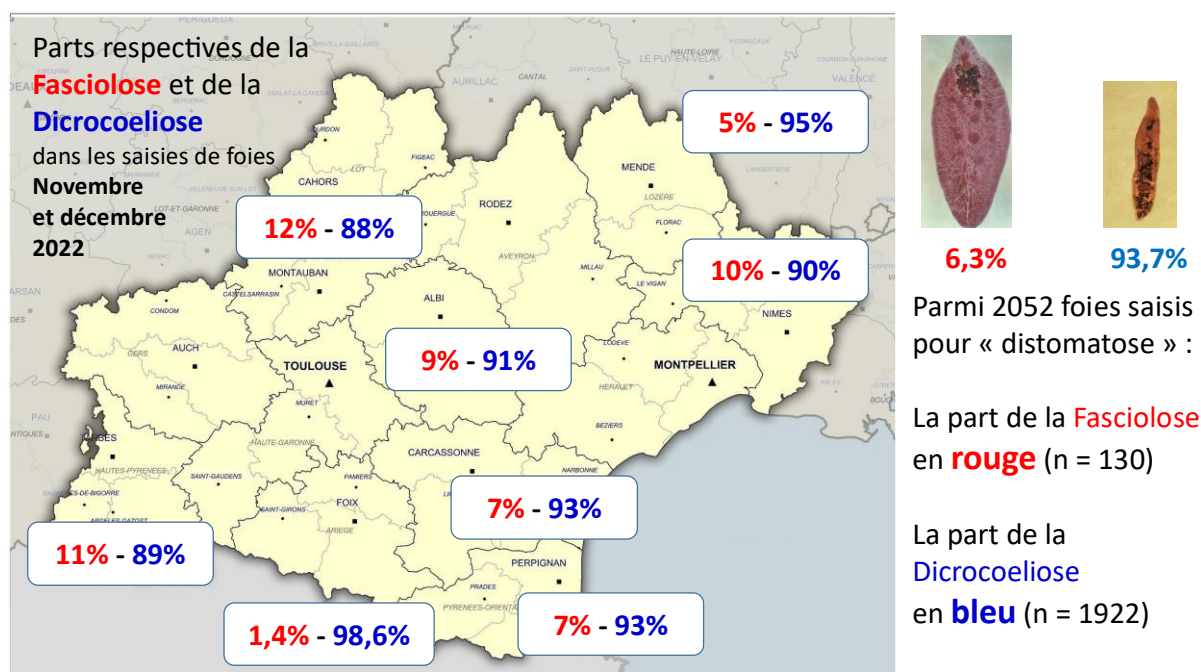


Figure 3 : Parts respectives de la Fasciolose et de la Dicrocoeliose dans les saisies de foies novembre et décembre 2022 (source : Alzieu et al., 2023)

1.1.5. Diagnostic de la petite douve

Le diagnostic de la dicrocoeliose repose principalement sur la coproscopie, avec mise en évidence des œufs de *Dicrocoelium dendriticum* dans les fèces, à l'aide de techniques de concentration adaptées. En pratique, la coproscopie quantitative par la technique de McMaster avec solution dense constitue une option intéressante en élevage, avec une sensibilité d'environ 15 œufs par gramme de fèces. La forte densité des œufs de *D. dendriticum* impose l'utilisation de solutions de flottaison plus denses (densité de 1,45) que celles employées pour le dépistage des nématodes gastro-intestinaux. Malgré son intérêt, les résultats obtenus avec cette méthode doivent être interprétés avec prudence, car l'excrétion des œufs peut être faible, intermittente et parfois tardive au cours de l'infestation, avec notamment une variabilité diurne significative (les comptages étant classiquement plus élevés en fin d'après-midi qu'en matinée) ce qui limite la valeur d'un examen coprologique isolé (Manga-González et al., 2001; Otranto and Traversa, 2002).

En complément, les paramètres biochimiques hépatiques peuvent apporter des éléments d'orientation, notamment chez les animaux présentant des infestations prolongées. Manga-González et al. (2004) ont montré que les activités de l'ASAT et de l'ALAT augmentent chez les animaux infestés, tandis

que d'autres travaux rapportent également des modifications des marqueurs de cholestase, comme la GGT, en lien avec l'atteinte des voies biliaires. Toutefois, ces paramètres restent peu spécifiques et ne permettent pas, à eux seuls, de confirmer la maladie ; ils doivent donc être interprétés en association avec les résultats coprologiques, le contexte clinique et, si possible, les données nécropsiques.

I.2. ANTHELMINTHIQUES ET RESISTANCE

I.2.1. Les molécules antiparasitaires disponibles contre les trématodoses hépatiques

I.2.1.1. Classe des benzimidazoles : mécanisme d'action et pharmacocinétique

Les benzimidazoles (BZD) constituent la principale classe anthelminthique utilisée contre *D. dendriticum*. Leur mécanisme d'action repose sur une liaison sélective à la β -tubuline parasitaire, inhibant la polymérisation des microtubules et perturbant l'absorption du glucose intracellulaire, conduisant à la mort du parasite (Lacey, 1988). Le spectre d'activité des BZD varie selon les molécules et les espèces parasitaires ciblées : certains membres de la famille (albendazole, nétobimin) présentent une activité documentée contre *D. dendriticum*, contrairement à d'autres (fébantel, oxfendazole) dont l'efficacité reste insuffisante aux doses homologuées. Chez les ruminants, les BZD présentent une absorption gastro-intestinale variable selon le pH ruminal et la vitesse de transit, avec une biodisponibilité améliorée lors d'administration en période péri-prandiale ; les métabolites actifs, notamment le sulfoxyde d'albendazole, atteignent des concentrations intra-hépatiques et biliaires supérieures à celles du composé parent (Rojo-Vázquez et al., 2012).

I.2.1.2. L'albendazole : seul traitement avec AMM en France contre D. dendriticum chez les ovins

En France, l'albendazole (ABZ) est l'unique molécule disposant d'une AMM contre *D. dendriticum* chez les ovins et les caprins, administré par voie orale à la dose de 15 mg/kg de poids vif (Petermann et al., 2024). Les données publiées témoignent d'une efficacité variable : Königová et al. (2024) rapportent une réduction de l'intensité d'excrétion d'œufs post-traitement de 88,5 à 92,4 % à dose unique sur des brebis naturellement infestées, tandis que Bosco et al. (2015) obtiennent jusqu'à 99 % d'efficacité avec un double traitement à une semaine d'intervalle. À l'inverse, Petermann et al. (2024) documentent une efficacité de seulement 39 % sur une exploitation ovine française, valeur très inférieure aux 90 % généralement attendus, soulevant la question de l'émergence d'une résistance.

I.2.1.3. Autres molécules trématodocides et impasse thérapeutique actuelle

Plusieurs autres molécules ont été évaluées contre *D. dendriticum*, sans disposer d'AMM en France. Le praziquantel à 50 mg/kg a démontré une efficacité de 95,9 % par comptage à l'abattoir dans des conditions expérimentales (Akkaya et al., 2007), et une efficacité comparable a été rapportée chez les lamas à 25–50 mg/kg. Le nétobimin, promédicament de l'albendazole, affiche une efficacité de 90,8 à 91,5 % à 20 mg/kg selon les formulations (Senlik et al., 2008), mais n'est plus distribué en France actuellement. Le triclabendazole, développé spécifiquement contre *F. hepatica*, ne dispose d'aucune AMM pour *D. dendriticum* en France, de même que le closantel et le radoxanide. Cette absence d'alternatives thérapeutiques valides, risque d'aboutir à une situation d'impasse thérapeutique, conférant à l'ABZ un monopole de fait en France, ce qui est particulièrement préoccupant dans un contexte de suspicion d'émergence de résistance (Otranto and Traversa, 2002; Petermann et al., 2024).

1.2.2. Résistance aux anthelminthiques : définition, mécanismes et épidémiologie

1.2.2.1. Définition et concepts fondamentaux

La résistance aux anthelminthiques est définie comme la capacité héréditaire d'une population parasitaire à tolérer des doses de substance active létales pour la majorité des individus d'une population normale de la même espèce. Elle se distingue de la tolérance (phénomène individuel non transmissible) et de l'efficacité réduite par sous-dosage ou mauvaise administration. Sur le plan pratique, la résistance est diagnostiquée par le *Fecal Egg Count Reduction Test* (FECRT)* lorsque la réduction d'excrétion d'œufs est inférieure aux seuils d'efficacité définis par les guidelines de la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) pour les nématodes, fixés à 95 % avec une borne inférieure de l'Intervalle de Confiance (IC)95 % supérieure à 90 % pour la plupart des associations molécule-parasite (Coles et al., 1992; Kaplan et al., 2023).

1.2.2.2. Mécanismes moléculaires de résistance aux benzimidazoles

La résistance aux benzimidazoles chez les nématodes gastro-intestinaux est bien caractérisée sur le plan moléculaire. Elle repose principalement sur des mutations ponctuelles aux codons 167, 198 et 200 du gène codant la β -tubuline isotype 1, qui réduisent l'affinité de liaison du médicament à sa cible et rendent le parasite tolérant à des concentrations normalement létales (Lacey, 1988). Ces polymorphismes nucléotidiques (SNP) se transmettent selon un mode dominant ou codominant, ce qui explique leur fixation rapide dans les populations parasitaires sous pression de sélection. Chez *D. dendriticum*, aucun mécanisme moléculaire de résistance n'a encore été formellement démontré ; mais on peut faire l'hypothèse que des mutations de ce gène puissent être impliqués (Mottier and Prichard, 2008).

1.2.2.3. Résistance chez les helminthes : ampleur du phénomène

Chez les nématodes gastro-intestinaux des petits ruminants, la résistance aux benzimidazoles est désormais généralisée en Europe. Geurden et al. (2014), dans une étude multicentrique conduite en France, Grèce et Italie, ont mis en évidence une prévalence élevée de multirésistance dans les élevages ovins, notamment vis-à-vis des BZD et des lactones macrocycliques. Chez les trématodes, la résistance au triclabendazole chez *F. hepatica* est documentée dans plusieurs pays européens (Fairweather et al., 2020), constituant un précédent majeur pour la gestion des trématodoses hépatiques. Si aucun cas de résistance n'a été formellement démontré chez *D. dendriticum* jusqu'en 2020, la situation actuelle évolue. En effet, la baisse d'efficacité documentée par Petermann et al. (2024) rapportant 39 % d'efficacité contre 90 % attendus constitue un avertissement sérieux quant à l'émergence potentielle d'une résistance à l'albendazole chez ce parasite.

1.2.3. Diagnostic de la résistance : outils, méthodes et limites

1.2.3.4. Le FECRT : principe, protocole et limites pour D. dendriticum

Le Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT) est la méthode de référence recommandée par la WAAVP pour évaluer l'efficacité des traitements anthelminthiques et diagnostiquer une résistance en conditions de terrain (Coles et al., 1992; Kaplan et al., 2023). Son principe repose sur la comparaison des comptages d'œufs fécaux (OPG) avant et après traitement, dans un groupe traité et, idéalement, un groupe contrôle non traité. Les nouvelles lignes directrices de la WAAVP (Burden et al., 2024b; Kaplan et al., 2023) recommandent un dispositif apparié et définissent le nombre minimal d'œufs à compter au microscope comme critère d'inclusion, plutôt qu'un seuil d'OPG moyen. L'efficacité est déclarée satisfaisante lorsque la réduction d'excrétion est supérieure à 95 %, avec une borne inférieure de l'IC95 %

supérieure à 90 % (Coles et al., 1992). La fiabilité du test dépend fortement de la variabilité des données et de la taille des groupes, des paramètres récemment modélisés (Denwood et al., 2023).

Pour *D. dendriticum*, l'application du FECRT se heurte à des contraintes biologiques spécifiques. La ponte est naturellement faible, intermittente et soumise à une variabilité diurne significative les comptages étant plus élevés en fin d'après-midi qu'en matinée (Manga-González et al., 2001) rendant difficile l'obtention d'un nombre d'œufs suffisant pour une analyse statistiquement robuste. La corrélation entre OPG et charge parasitaire réelle, bien que positive, présente une variabilité individuelle importante, en particulier dans les premières semaines de la période patente (Manga-González et al., 2001).

1.2.3.5. Méthodes parasitologiques complémentaires

Le comptage des douves adultes à l'autopsie demeure le gold standard pour évaluer l'efficacité d'un traitement antiparasitaire, car il permet une mesure directe et exhaustive de la charge parasitaire résiduelle, indépendamment des fluctuations d'excrétion coproscopique (Bosco et al., 2015; Otranto and Traversa, 2003). Les parasites peuvent être extraits du foie, de la vésicule biliaire et de la partie proximale du duodénum ; l'intégration des trois compartiments améliore la sensibilité du comptage total. En conditions d'élevage commercial, cette méthode n'est applicable qu'aux animaux destinés à l'abattoir, ce qui en restreint l'usage aux protocoles expérimentaux.

1.2.3.6. Approches moléculaires

Le séquençage du gène β -tubuline isotype 1 permet de détecter les mutations ponctuelles associées à la résistance aux BZD chez les nématodes, et constitue un outil de surveillance complémentaire au FECRT (Lacey, 1988). Pour *D. dendriticum*, l'analyse génétique des populations adultes notamment par RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) et focalisation isoélectrique des enzymes a montré une variabilité génétique intra-spécifique significative (Manga-González et al., 2004), mais les marqueurs moléculaires de résistance aux BZD spécifiques à *D. dendriticum* n'ont pas encore été identifiés et validés.

1.2.3.7. Tests in vitro et ex vivo

Les tests *in vitro* notamment le test d'éclosion d'œufs (Egg Hatch Test) et les tests de mobilité larvaire sont couramment utilisés pour évaluer la sensibilité aux BZD chez les nématodes, et ont été proposés pour les trématodes. Chez *D. dendriticum*, ces approches en laboratoire ont surtout permis d'étudier les interactions fondamentales entre le parasite et le médicament. Rojo-Vázquez et al. (2012) ont cherché à analyser comment la petite douve métabolise l'albendazole (ABZ). Pour ce faire, ils ont mené des expériences sur des douves adultes maintenues en survie dans des milieux de culture (*ex vivo*), ainsi que sur des extraits cellulaires de ces parasites (*in vitro*). Leurs travaux ont ainsi permis de prouver que *D. dendriticum* possède bien des enzymes actives capables de métaboliser la molécule. Cependant, la standardisation des conditions expérimentales, la validation des seuils de sensibilité/résistance et la corrélation avec les résultats *in vivo* restent insuffisamment établies pour *D. dendriticum*, ce qui limite actuellement leur applicabilité diagnostique.

1.2.4. Approche diagnostique intégrée en conditions d'élevage

L'ensemble des limites décrites pour chaque méthode prise isolément plaide pour une approche multi-paramètres combinant coproscopie quantitative (FECRT), biomarqueurs biochimiques du dommage hépatique et, lorsque cela est possible, autopsie parasitologique (Königová et al., 2024; Petermann et al., 2024). Cette combinaison améliore la sensibilité et la spécificité globales du diagnostic, en exploitant la complémentarité des informations : le FECRT traduit la réduction de la charge parasitaire active, les

enzymes hépatiques reflètent la récupération fonctionnelle du foie, et l'autopsie quantifie directement les douves résiduelles après traitement.

L'adaptabilité d'un tel protocole aux contraintes d'un élevage commercial impose cependant une sélection rigoureuse des indicateurs les plus informatifs, des effectifs suffisants pour atteindre une puissance statistique adéquate, et une standardisation des conditions de prélèvement (heure, délai post-traitement). Denwood et al. (2023) fournissent un cadre statistique permettant de calculer prospectivement les tailles d'échantillon nécessaires pour le FECRT selon la variabilité attendue des données. La construction d'un protocole opérationnel intégrant ces différents indicateurs, validé en conditions expérimentales avant transfert aux praticiens de terrain, constitue précisément l'objectif central du projet EVERESDICRO et du présent travail.

I.3. Contexte réglementaire, stratégique et scientifique

Dans le cadre du plan Écoantibio 3, la France s'est engagée à surveiller et à contenir l'émergence des résistances aux antiparasitaires, en inscrivant cette problématique dans une approche One Health visant à préserver l'efficacité des outils thérapeutiques disponibles. C'est dans cette dynamique que s'inscrit le projet EVERESDICRO, dont l'objectif est d'évaluer, en conditions expérimentales contrôlées, l'efficacité de l'albendazole contre *D. dendriticum* et de proposer un protocole de diagnostic de la résistance applicable en médecine vétérinaire de terrain. La pertinence scientifique de cette démarche repose sur le déficit documentaire persistant concernant l'efficacité réelle de cette molécule en élevage français, ainsi que sur les premiers résultats empiriques rapportant une réduction de l'efficacité de l'albendazole sur la petite douve, qui soulignent l'urgence de développer des outils de surveillance fiables et standardisés (Petermann et al., 2024).

I.4. Objectifs du travail

I.4.1. Objectif général

Ce travail vise à évaluer l'efficacité réelle de l'albendazole (15 mg/kg, voie orale) contre *Dicrocoelium dendriticum* chez des ovins allaitants en conditions expérimentales contrôlées, et à contribuer à la mise au point d'un protocole de diagnostic de résistance applicable en pratique vétérinaire de terrain.

I.4.2. Objectifs spécifiques

1. Mesurer l'efficacité de l'albendazole par FECRT et comptage des douves adultes à l'autopsie, selon différentes modalités de traitement et délais d'abattage.
2. Analyser les évolutions du profil biochimique hépatique avant et après traitement et les corrélérer à la charge parasitaire.
3. Déterminer par simulation bootstrap le nombre minimal d'animaux nécessaire pour détecter une efficacité réduite.
4. Proposer un protocole opérationnel combinant coproscopie et biochimie, applicable en pratique vétérinaire.

I.4.3. Hypothèses de travail

H1. L'efficacité de l'albendazole est inférieure à 95% dans au moins un protocole.

H2. Le FECRT seul ne suffit pas à détecter cette baisse d'efficacité.

H3. L'association coproscopie + biomarqueurs améliore le diagnostic.

H4. Un protocole standardisé permet de détecter une résistance émergente avec une puissance suffisante.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1. Présentation du site expérimental et du laboratoire

II.1.1. Site expérimental : ferme du Mourier

L'étude a été conduite à la ferme expérimentale du Mourier, rattachée au Centre Interrégional d'Information et de Recherche en Production Ovine (CIIRPO) de l'Idéle, située à 25 km au sud de Limoges, sur la commune de Saint-Priest-Ligoure (Haute-Vienne, 87), à une altitude d'environ 300 m.

L'exploitation couvre 95 ha intégralement en herbe, dont environ la moitié en prairies permanentes, et dispose de 2 500 m² de bergerie (4 bâtiments) ainsi que d'un parc de contention de 650 m² associé à une salle de tonte. Le troupeau compte environ 750 brebis, réparties à parts égales entre la race Vendéenne et des brebis F1 (Île-de-France × Romanov). La ferme est agréée par le ministère de l'Agriculture pour la réalisation d'essais en conditions contrôlées.

Le climat local est de type océanique dégradé, avec des hivers doux et humides favorisant la persistance des cycles parasitaires, en particulier ceux de *D. dendriticum*, dont la présence est documentée sur cette ferme depuis plusieurs années. Le troupeau est traité annuellement contre la petite douve, et des suspicions récurrentes d'inefficacité de l'albendazole ont motivé la mise en place des essais EVERESDICRO (Petermann et al., 2024).

II.1.2. Le laboratoire : Équipe GIP, UMR IHAP, ENVT

Les travaux de parasitologie et d'extraction des petites douves ont été conduits au sein de l'équipe Gestion Intégrée des Parasites (GIP) de l'UMR INRAE–ENVT IHAP 1225, en collaboration avec le laboratoire de biochimie de l'ENVT et les équipes de l'Institut de l'Élevage (Idéle) pour la partie analyse de données. Cette équipe dispose de l'expertise technique et des équipements nécessaires au comptage d'œufs par coproscopie, à l'extraction et au comptage des parasites adultes depuis les organes prélevés à l'abattoir.

II.2. Présentation des dispositifs expérimentaux

II.2.1. Animaux : Sélection et allotement

Les brebis incluses dans les essais étaient naturellement infestées par *D. dendriticum* au sein du troupeau du Mourier. Cette infestation était attestée par une coproscopie positive avant l'allotement. Les lots traités (T) et témoins (C) ont été constitués de façon à être homogènes en termes d'intensité d'excrétion d'œufs (OPG), d'âge et de note d'état corporel (NEC), afin de limiter les biais de comparaison. Deux catégories d'animaux ont été incluses dans chaque protocole : des brebis de réforme (R), abattues en fin de suivi pour les analyses d'autopsie, et des brebis en production (P), non abattues, destinées à renforcer la puissance statistique des analyses coproscopiques.

II.2.2. Produit utilisé : Albendazole (ABZ)

Le traitement antiparasitaire utilisé dans les trois protocoles est l'albendazole (ABZ), sous le nom commercial Valbazen®, administré par voie orale à la dose de 15 mg/kg de poids vif, conformément à l'AMM française. Les brebis ont été pesées individuellement afin d'ajuster le volume distribué et de limiter

le risque de sous-dosage dans ce contexte de suspicion de résistance. Le traitement a été administré au lot traité à J0 dans les trois protocoles, avec un second traitement à J62 uniquement dans le protocole 2.

II.2.3. Description des trois protocoles

Les trois protocoles évaluent l'efficacité de l'albendazole contre *D. dendriticum* selon des approches expérimentales complémentaires, résumées par la Figure 4. Le protocole P1 (référence) consiste en un traitement unique à la rentrée en bergerie avec une évaluation finale à 28 jours post-traitement. Le protocole P2 teste l'intérêt d'un double traitement espacé de deux mois (à la rentrée, puis à J62) pour maximiser le contrôle de l'infestation. Enfin, le protocole P3 cible spécifiquement l'efficacité sur les parasites adultes : son traitement unique est différé d'environ 70 jours après la mise en bâtiment (arrêt des réinfestations), un délai couvrant la période prépatente de la petite douve afin de s'assurer que l'intégralité des parasites a atteint le stade adulte au moment de l'administration.

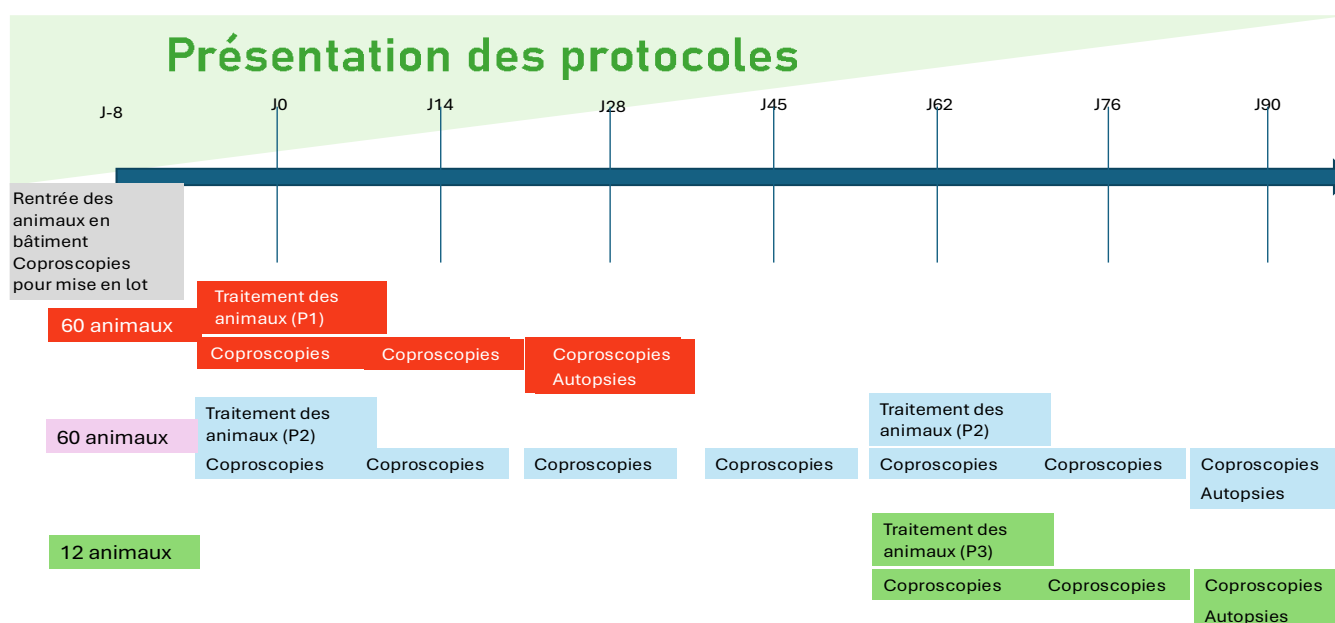


Figure 4 : Présentation des trois protocoles

II.3. Présentation des méthodes d'analyses de laboratoire

II.3.1. Coproscopie individuelle Technique de Mac Master

Le comptage des œufs par gramme de matière fécale (OPG) a été réalisée par coproscopie individuelle selon la technique de flottation de Mac Master, en utilisant une solution de LST (Lithium Sodium Tungstate) diluée avec de l'eau pour obtenir une densité finale de 1,45. La sensibilité de la méthode est de 15 œufs par gramme de fèces (OPG). Il s'agit de la méthode de McMaster modifiée par Raynaud. Illustré par la figure 5.

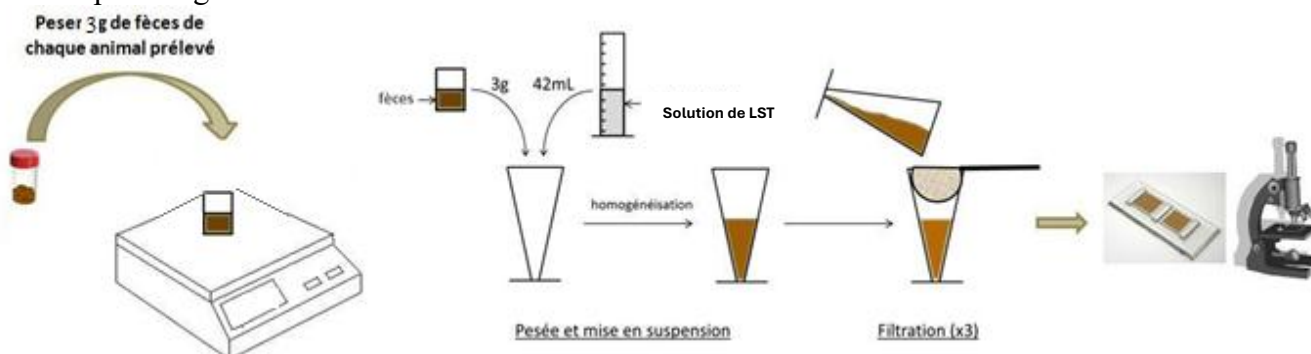


Figure 5 : Illustration de la technique de Mac Master

II.3.2. Examen parasitologique post-mortem : extraction et comptage des douves adultes

Le dénombrement des douves adultes à l'autopsie constitue le gold standard pour évaluer l'efficacité d'un traitement antiparasitaire, car il permet une mesure directe et exhaustive de la charge parasitaire réelle, indépendamment des variations d'excrétion coproscopie.

II.3.2.1. Prélèvement et transport des organes

Les foies, les vésicules biliaires et les deux premiers mètres du duodénum des brebis de réforme ont été prélevés à l'abattoir immédiatement après abattage. Chaque foie a été conditionné individuellement dans un sachet plastique et hermétiquement fermé. L'ensemble des organes a été transporté en caisse réfrigérée (4–8 °C) jusqu'à l'ENVT dans les heures suivant l'abattage, puis conservé en chambre froide à 8 °C jusqu'au traitement le lendemain matin.

Avant traitement, les parasites présents à la surface externe des foies et dans les sachets d'emballage ont été récupérés et conservés temporairement dans un bocal contenant de l'eau additionnée de 10 % d'alcool, avant d'être regroupés avec les parasites extraits par broyage.

II.3.2.2. Protocole d'extraction

L'extraction des douves adultes a été réalisée selon le protocole suivant :

- Découpe des foies en cubes d'environ 1 cm³ puis placer dans du sérum physiologique ;
- Incubation des fragments à 37 °C pendant 3 à 4 heures dans une étuve, afin de faciliter la digestion partielle des tissus et la libération des parasites des canaux biliaires ;
- Broyage manuel modéré des fragments directement au-dessus d'une série de tamis superposés (maille 350 µm puis 250 µm), sous eau courante, afin de récupérer les parasites. L'opération est répétée 2 à 3 fois avec des lavages successifs ;
- Regroupement de l'ensemble des parasites extraits chez un animal dans un pot individuel et conservation avec ajout de 100 ml d'alcool jusqu'au comptage.

II.3.2.3. Comptage et classification

Les douves adultes extraites ont été comptées sous loupe binoculaire. Pour chaque animal, trois catégories ont été distinguées et dénombrées séparément :

- Les **douves adultes entières (ALD)** récupérées à l'autopsie
- Les **fragments (Mor_ALD)** correspondent à des fragments de douves comptabilisés individuellement lors du comptage ; ils sont divisés par deux afin de les ramener à un équivalent en nombre de douves entières ;
- **Formes immatures (Immature)** sont des parasites dont la taille est comparable à celle des adultes mais qui s'en distinguent par leur aspect blanchâtre ou translucide et par un appareil reproducteur incomplètement développé, visible sous loupe binoculaire.

Le nombre total de douves (Total_Douves) utilisé pour les analyses d'efficacité a été calculé selon la formule :

$$\text{Total_Douves} = \text{ALD} + (\text{Mor_ALD} / 2) + \text{Immature}$$

Pour les Protocoles 2 et 3, ce calcul intègre les parasites extraits des trois compartiments (foie, vésicule biliaire, duodénum) :

$$\text{Total_Douves} = (\text{ALD} + \text{ALD_vb} + \text{ALD_d}) + (\text{Mor_ALD} + \text{Mor_ALD_vb} + \text{Mor_ALD_d}) / 2 + (\text{Immature} + \text{Immature_vb} + \text{Immature_d})$$

Où les indices *_vb* et *_d* désignent respectivement les parasites extraits de la vésicule biliaire et du duodénum.

Afin d'évaluer la pertinence du foie comme indicateur indirect de la charge totale en douves adultes, une analyse complémentaire a été réalisée à partir des données des Protocoles 2 et 3. La charge en douves adultes du foie était très fortement corrélée à la charge totale foie + vésicule biliaire + duodénum (ρ de Spearman $\approx 0,996$; $p < 0,001$) et restait modérément à fortement corrélée à la charge extra-hépatique seule (vésicule biliaire + duodénum, $\rho \approx 0,73$; $p < 0,001$). En moyenne, le foie concentrait environ 95 % de la charge adulte (± 4 %), la vésicule biliaire 4–5 % et le duodénum moins de 1 %, ce qui confirme que le foie représente à lui seul l'essentiel du fardeau parasitaire et peut être considéré comme un bon indicateur indirect de la charge totale en douves, en particulier pour interpréter les résultats de P1.

II.3.3. Analyses sanguines et biochimiques

II.3.3.1. Prélèvements sanguins

Les prélèvements sanguins ont été réalisés par ponction jugulaire sur les brebis de réforme aux temps définis dans chaque protocole. Deux types de tubes ont été utilisés selon les analyses prévues : tubes EDTA (bouchon violet) pour la numération formule sanguine (NFS) et les tubes héparinés (bouchon vert) pour la biochimie hépatique.

II.3.3.2. Paramètres biochimiques hépatiques

Les paramètres biochimiques ont été dosés par le laboratoire de biologie clinique de l'ENVT. Les enzymes hépatiques mesurées sont les suivantes :

- Aspartate aminotransférase (**AST**, UI/L) : marqueur de cytolysé hépatique ;
- Alanine aminotransférase (**ALT**, UI/L) : marqueur secondaire de cytolysé ;
- Gamma-glutamyl transférase (**GGT**, UI/L) : marqueur spécifique de l'atteinte des voies biliaires, particulièrement sensible dans la dicrocélie ;
- Phosphatases alcalines (**PAL / A_Phosph**, UI/L) : marqueur de cholestase ;
- Protéines totales (**T_prot**, g/L) et albumine (**Albumin**, g/L) : marqueurs de la fonction de synthèse hépatique ;
- Bilirubine totale (**T_bilirubin**, $\mu\text{mol/L}$) : marqueur de la fonction d'excrétion hépatique.

II.3.3.3. Autres paramètres sanguins

Une numération formule sanguine (NFS) a été réalisée à J0 sur les brebis de réforme afin d'évaluer l'état général des animaux (anémie, réponse inflammatoire) et de permettre une interprétation correcte des paramètres biochimiques hépatiques.

II.4. Analyses statistiques

II.4.1. Type d'étude et cadre d'analyse

L'ensemble des analyses a été réalisé sous R (version 4.6) via l'environnement RStudio, en fixant le seuil de significativité à $\alpha = 0,05$. Compte tenu des effectifs modestes (6 à 30 animaux par groupe selon les paramètres) et de la distribution non normale des données de comptage (OPG, charges parasitaires), des tests non paramétriques ont été privilégiés pour la plupart des comparaisons.

II.4.2. Calcul de l'efficacité du traitement - FECRT

L'efficacité de l'albendazole sur la réduction de l'excrétion d'œufs de *D. dendriticum* a été évaluée par le Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT), qui repose sur la comparaison des niveaux d'excrétion fécale avant et après traitement, avec ou sans groupe témoin non traité. Dans cette étude, trois formules complémentaires ont été calculées en parallèle, chacune correspondant à une configuration expérimentale particulière déjà décrite dans la littérature.

II.4.2.1. FECR1 : formule avec mesures avant/après et groupe témoin

La première formule, décrite par Dash et al. (1988), utilise les excréctions moyennes des groupes traité et témoin, mesurées avant et après traitement. Elle permet de prendre en compte à la fois le niveau initial d'excrétion du groupe traité et l'évolution naturelle observée dans le groupe témoin non traité. En notant T_1 et T_2 les moyennes d'OPG du groupe traité avant et après traitement, et C_1 et C_2 les moyennes d'OPG du groupe témoin aux mêmes dates, le pourcentage de réduction est calculé selon la formule suivante :

$$FECR_1 = 100 \times \left(1 - \frac{T_2}{T_1} \times \frac{C_1}{C_2} \right) \text{ (Dash et al., 1988)}$$

Cette formule constitue l'approche la plus complète lorsque des données pré- et post-traitement sont disponibles dans les deux groupes.

II.4.2.2. FECR2 : formule avec groupe témoin au temps post-traitement

La deuxième formule compare uniquement les niveaux d'excrétion observés après traitement entre le groupe traité et le groupe témoin. Elle est classiquement associée aux travaux méthodologiques de Coles et al. (1992) sur le FECRT. En notant T_2 la moyenne d'OPG du groupe traité et C_2 celle du groupe témoin au temps post-traitement considéré, la réduction est calculée comme suit :

$$FECR_2 = 100 \times \left(1 - \frac{T_2}{C_2} \right) \text{ (Coles et al., 1992)}$$

Cette approche est plus simple à mettre en œuvre, car elle ne nécessite qu'une comparaison post-traitement entre lots. Dans la présente étude, elle présente également un intérêt pour les comparaisons fondées sur les données d'autopsie, les comptages de douves adultes n'étant disponibles qu'après abattage.

II.4.2.3. FECR3 : comparaison du même lot pré et post traitement

La troisième formule repose sur la comparaison des excréctions avant et après traitement au sein du seul groupe traité. Elle a été présentée par McKenna (2006) parmi les différentes procédures possibles de calcul du FECRT. En notant T_1 la moyenne d'OPG avant traitement et T_2 la moyenne d'OPG après traitement dans le groupe traité, la formule est la suivante :

$$FECR_3 = 100 \times \left(1 - \frac{T_2}{T_1} \right) \text{ (McKenna, 2006)}$$

Cette formule est utile lorsqu'aucun groupe témoin n'est disponible, ou lorsqu'une analyse complémentaire centrée sur l'évolution du groupe traité est souhaitée. En revanche, elle ne permet pas de distinguer complètement l'effet propre du traitement de la dynamique naturelle de l'infestation au cours du temps.

Interprétation des résultats

Les valeurs de FECR obtenues ont été interprétées conjointement avec leurs intervalles de confiance à 95%, calculés par bootstrap non paramétrique. Dans les études consacrées à *Dicrocoelium dendriticum*, l'efficacité de l'albendazole est généralement jugée satisfaisante lorsque la réduction de l'excrétion fécale

est supérieure à 95% et que la borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95% demeure au-dessus de 90% (Corba and Krupicer, 1992; Petermann et al., 2024).

II.4.3. Intervalles de confiance Méthode bootstrap

Les intervalles de confiance à 95 % (IC95%) des indicateurs d'efficacité (FECRT) ont été calculés par Bootstrap non paramétrique avec $n = 2\,000$ répliques. Cette méthode consiste à rééchantillonner aléatoirement avec remise les données observées, à recalculer la statistique d'intérêt sur chaque échantillon Bootstrap, puis à extraire les percentiles 2,5 et 97,5 de la distribution obtenue pour définir l'IC95%. Cette approche est particulièrement adaptée aux données parasitologiques, caractérisées par une distribution asymétrique, une forte variabilité interindividuelle et la présence fréquente de valeurs extrêmes.

II.4.4. Tests statistiques

II.4.4.1. Test de Wilcoxon-Mann-Whitney

La comparaison des distributions d'OPG (delta entre deux temps) et de charges parasitaires entre les groupes traité et contrôle a été réalisée par le test de Wilcoxon-Mann-Whitney (test de la somme des rangs, non paramétrique). Ce test compare les rangs des observations plutôt que leurs valeurs absolues, le rendant robuste face aux distributions asymétriques et aux valeurs extrêmes caractéristiques des données parasitologiques.

La version appariée du test (test des rangs signés de Wilcoxon) a été utilisée pour les comparaisons intra-sujet au sein d'un même groupe entre deux temps de prélèvement (notamment pour les analyses biochimiques J0 vs J_final).

II.4.4.2. Corrélation de Spearman

Les relations entre variables continues (excrétion d'œufs, charge parasitaire adulte, paramètres biochimiques) ont été étudiées par le coefficient de corrélation de Spearman (ρ), version non paramétrique du coefficient de Pearson. Ce choix est justifié par la nature des données (non normales, avec valeurs extrêmes) et par la relation attendue qui n'est pas nécessairement linéaire entre, par exemple, le nombre de doutes adultes et l'excrétion d'œufs.

Les intervalles de confiance à 95 % sur le coefficient ρ ont été calculés par la transformation de Fisher ($z = 0,5 \times \ln[(1+\rho)/(1-\rho)]$), méthode standard recommandée pour ce type de corrélation.

II.4.5. Analyse de puissance par bootstrap

Une analyse de puissance statistique a été réalisée a posteriori par simulation bootstrap, dans l'objectif de déterminer le nombre minimal d'animaux nécessaire pour détecter une résistance à l'Albendazole avec une puissance statistique de 80 % et 90 %, en conditions de terrain. Cette analyse s'appuie sur la variabilité réelle observée dans les données de P1 ($n = 30$ animaux par groupe pour la coproscopie).

Pour chaque taille de groupe testée (de 6 à 50 animaux par lot), 2 000 échantillons virtuels ont été générés par tirage aléatoire avec remise à partir des données observées, puis les trois formules de FECR ont été recalculées pour chaque échantillon. La proportion de simulations aboutissant à un FECR $< 95\%$ (i.e. détectant une efficacité insuffisante) a été utilisée comme estimateur de la puissance, et cette procédure a été appliquée séparément aux temps J14 et J28.

II.5. Logiciels et outils utilisés

II.5.1. R et RStudio

L'ensemble des analyses statistiques et la production des graphiques ont été réalisées sous R (version 4.6, R Core Team, 2026), utilisant l'environnement de développement RStudio (version 2026.4.0.0, Posit PBC). R a servi à l'importation des données, au calcul des indicateurs d'efficacité (FECR), aux procédures de bootstrap et aux tests statistiques non paramétriques.

II.5.2. Claude.ai (Anthropic)

Le modèle de langage Claude (versions Sonnet et Opus, Anthropic, 2024–2025) a été utilisé comme outil d'aide à la programmation, en particulier pour générer et adapter certains scripts R (fonctions de bootstrap, calcul de FECR, visualisations graphiques). Tous les choix méthodologiques, l'interprétation des résultats et la rédaction scientifique ont été réalisés par l'auteur, et l'ensemble des sorties numériques a été vérifié indépendamment avant inclusion dans le mémoire.

III. RESULTATS

III.1. Évaluation de l'efficacité de l'albendazole contre *Dicrocoelium dendriticum*

Les trois protocoles expérimentaux visent à répondre à la question centrale du projet EVERESDICRO : l'albendazole (ABZ) à 15 mg/kg conserve-t-il une efficacité satisfaisante contre *Dicrocoelium dendriticum* dans les conditions actuelles d'élevage ovin allaitant ? Le protocole 1 (P1) correspond au schéma de traitement de référence utilisé en élevage, tandis que les protocoles 2 (P2, double traitement) et 3 (P3, traitement différé ciblant les adultes) ont été évalués comme alternatives potentielles à la suite des résultats insuffisants obtenus avec P1.

III.1.1. Cinétique de l'excrétion d'œufs avant et après traitement

La cinétique de l'excrétion fécale d'œufs a été suivie dans les trois protocoles, chez les lots traité (T) et contrôle (C), à partir des OPG moyens mesurés aux différents temps de prélèvement. Les valeurs détaillées pour P1, P2 et P3 sont présentées dans le tableau 1. Avant traitement, les trois protocoles partaient d'une situation comparable, avec des OPG moyens proches entre lots : en P1 à J-8 (en moyenne 376,3 OPG dans le lot T vs 346,7 OPG dans le lot C), en P2 à J-8 (307,7 vs 294,7 OPG) et en P3 à J0 (150,0 vs 127,5 OPG), sans différence significative.

Tableau 1 : Statistiques descriptives de l'excrétion d'oeufs (OPG)

Temps	Groupe	P1		P2		P3	
		Moyenne	SD	Moyenne	SD	Moyenne	SD
J0	T	198,7	215,2	260,2	240,9	150,0	114,0
	C	221,5	192,9	217,8	186,7	127,5	83,9
	P-value	0,433		0,767		0,689	
J14	T	317,8	257,6	337,8	251,2	116,7	87,6
	C	322,2	238,2	251,5	201,3	124,2	137,5
	P-value	0,751		0,141		0,631	
J28	T	49,2	58,6	38,7	56,2	58,3	58,5
	C	221,3	204,3	171,8	161,9	200,0	178,9
	P-value	< 0,001		< 0,001		0,12	
J45	T	—	—	62,7	90,3	—	—
	C	—	—	198,7	337,1	—	—
	P-value	—		0,007		—	
J62	T	—	—	110,2	85,6	—	—
	C	—	—	174,8	184,7	—	—
	P-value	—		0,329		—	
J76	T	—	—	184,7	291,5	—	—
	C	—	—	277,2	266,6	—	—
	P-value	—		0,022		—	
J90	T	—	—	112,7	104,9	—	—
	C	—	—	222,5	259,1	—	—
	P-value	—		0,077		—	

Après le premier traitement, P1 et P2 présentait une dynamique initialement similaire jusqu'à J28 : aucune différence n'était détectée à J14, puis l'excrétion chutait nettement à J28 dans les lots traités, avec en P1 des OPG moyens d'environ 50 OPG dans le lot T contre plus de 220 OPG dans le lot C. Les deux protocoles divergeaient ensuite : en P1, l'abattage à J28 ne permettait pas de suivre l'évolution ultérieure, alors qu'en P2 les OPG du lot traité augmentaient progressivement entre J28 et J62 ($62,7 \pm 90,3$ OPG à J45 puis $110,2 \pm 85,6$ OPG à J62), tandis que le lot contrôle restait proche de la situation de départ ($174,8 \pm 184,7$ OPG à J62). Le second traitement administré à J62 dans P2 était suivi d'une nouvelle diminution de l'excrétion dans le lot traité au cours des 28 jours suivants, sans toutefois revenir à des niveaux proches de zéro ($112,7 \pm 104,9$ pour le lot T et $222,5 \pm 259,1$ pour le lot C à J90), ce qui suggère un contrôle partiel mais non durable de la petite douve malgré la double administration.

Le protocole 3 se distinguait par un schéma de traitement plus tardif par rapport à la rentrée en bâtiment, et un suivi coproscopique plus rapproché, résumé ici aux temps J0, J14 et J28. À J0, les OPG étaient comparables entre lots ($150,0 \pm 114,0$ OPG dans le lot T vs $127,5 \pm 83,9$ OPG dans le lot C), confirmant l'homogénéité initiale. À J14, l'excrétion fécale restait proche dans les deux groupes, sans effet net du traitement sur ce premier contrôle résumé dans le tableau. Ce n'est qu'à J28 que les OPG semblent plus faibles dans le lot traité que dans le lot contrôle, de sorte que l'effet du traitement apparaît moins marqué que dans P1 et P2.

Ainsi, le tableau 1 met en évidence trois profils : une réduction nette à J28 sous traitement unique en P1, une réduction initiale suivie d'une re-augmentation des OPG avant puis après le second traitement

en P2, et une diminution plus lente et moins régulière en P3, avec une séparation entre lots qui n'apparaît clairement qu'aux temps les plus tardifs.

III.1.2. Efficacité de l'albendazole et réduction de l'excrétion fécale

L'efficacité de l'albendazole sur l'excrétion fécale d'œufs a été estimée, dans les trois protocoles, selon trois formules de FECRT avec des intervalles de confiance à 95% calculés par bootstrap (Tableau 2). Dans P1, P2 et P3, les FECRT calculés au premier contrôle post-traitement (J14) restaient nuls ou négatifs, avec des IC95% très larges englobant la valeur nulle (en P1 FECR1 $\approx -10\%$, FECR2 $\approx 0\%$; en P2 FECR1 $\approx -12,5\%$; en P3 FECR1 $\approx 20\%$, FECR2 $\approx 6\%$), indiquant l'absence de réduction de l'excrétion détectable à ce stade, quel que soit le schéma expérimental.

Tableau 2 : Efficacité par le FECRT

Temps	FECRTs	P1		P2		P3	
		Valeurs	IC	Valeurs	IC	Valeurs	IC
J14	FECR1	-10,0	[-111,5 ; +40,1]	-12,5	[-97,6 ; +39,5]	5,7	
	FECR2	+1,3	[-45,7 ; +33,2]	-34,3	[-97,6 ; +7,9]	-11,0	
	FECR3	-60,0	N/A	-29,9	N/A	-29,4	
J28	FECR1	75,2	[50,1 ; 88,2]	81,2	[61,0 ; 91,5]	75,2	[38.4% – 91.2%]
	FECR2	77,8	[63,4 ; 87,4]	77,5	[59,9 ; 88,2]	70,8	[10% – 92%]
	FECR3	75,3	N/A	85,1	N/A	61,1	[33.3% – 83.3%]
J45	FECR1	/	/	73,6	[32,5 ; 89,6]	/	/
	FECR2	/	/	68,5	[25,4 ; 85,9]	/	/
	FECR3	/	/	75,9	N/A	/	/
J62	FECR1	/	/	47,2	[0,4 ; 71,2]	/	/
	FECR2	/	/	37,0	[-2,2 ; 58,7]	/	/
	FECR3	/	/	57,7	N/A	/	/
J90	FECR1	/	/	57,6	[13,2 ; 78,7]	/	/
	FECR2	/	/	49,4	[13,2 ; 70,6]	/	/
	FECR3	/	/	56,7	N/A	/	/

À J28, les trois protocoles convergeaient vers des taux de réduction élevés, mais insuffisants au regard des niveaux d'efficacité rapportés dans la littérature pour l'albendazole (généralement supérieurs à 90 %) sur des populations sensibles (Königová et al., 2024) Dans P1, les réductions coproscopiques (FECR1 et FECR2) étaient de l'ordre de 75-78 % ; dans P2, FECR1 s'établissait autour de 81 % et FECR2 à 77-78 % ; enfin dans P3, ces valeurs atteignaient respectivement 75 % et 71 %, avec des intervalles de confiance plus larges. Autrement dit, au temps d'effet maximal, aucune modalité n'atteint le niveau de réduction attendu pour un traitement pleinement efficace.

Le suivi prolongé propre au protocole 2 mettait en évidence une dégradation de cette efficacité apparente au cours du temps : entre J28 et J62, les FECR diminuaient nettement (valeurs autour de 40–50% avec des IC95% englobant de nouveau la valeur nulle). Après le second traitement à J62, les FECR mesurés à J76 et J90 restaient intermédiaires (de l'ordre de 55–60%), avec des intervalles de confiance larges.

Ainsi, le tableau 2 montre qu'aux temps où l'effet est maximal (J28), les trois protocoles convergent vers des FECRT de l'ordre de 70-80%, Ces résultats traduisent une réduction parasitaire globale insuffisante pour conclure à une pleine sensibilité de la souche. L'approche multi-protocoles précise ce constat : le protocole P2 documente clairement la perte d'efficacité dans le temps, tandis que le protocole P3 démontre qu'un traitement tardif s'avère encore moins performant que le protocole de référence (P1).

III.1.3. *Efficacité sur les douves adultes : Comptage parasitaire à l'autopsie*

Le comptage des douves adultes à l'autopsie constitue le critère de référence pour l'évaluation de l'efficacité antiparasitaire. Dans les P2/P3, les douves ont été dénombrées dans les trois compartiments anatomiques (foie, vésicule biliaire et partie proximale du duodénum), tandis que, dans le protocole 1, seules les douves présentes dans le foie ont été comptabilisées. Les statistiques descriptives des charges parasitaires (moyenne, médiane, valeurs extrêmes) ainsi que les valeurs de Réduction de la Charge Parasitaire (RCP) pour les trois protocoles sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Charge en douves adultes

Protocole	Groupe	n	Moyenne	SD	Médiane	Min	Max
P1	Traité (T)	6	568	430	421	140	1 328
	Contrôle (C)	6	1 413	562	1 276	860	2 363
	FECR2	-	59,8 %	IC95% [29,5 ; 80,1]			p = 0,016
P2	Traité (T)	6	449,4	184,8	474,2	206	709
	Contrôle (C)	6	635,3	470,0	607	70	1 302
	FECR2	-	29,3 %	[-53,4 ; 60,6]			p = 0,522
P3	Traité (T)	6	509,2	364,0	468,5	88	1 059
	Contrôle (C)	6	800,8	551,6	705	257	1 774
	FECR2	-	36,4%	[-36,7 ; 71,9]			p = 0,423

Dans les trois protocoles, la charge parasitaire moyenne du lot traité (T) est systématiquement inférieure à celle du lot contrôle (C). Le taux de réduction de la charge parasitaire (RCP) atteignait 59,8 % dans P1 (IC95% : [29,5 ; 80,1] ; p = 0,016), 29,3 % dans P2 (IC95% : [-53,4 ; 60,6] ; p = 0,522) et 36,4 % dans P3 (IC95% : [-36,7 ; 71,9] ; p = 0,423). Seul le Protocole 1 montre donc une réduction statistiquement significative de la charge en douves adultes entre les lots traité et contrôle, tandis que dans P2 et P3, les intervalles de confiance très larges traduisent une incertitude importante liée au faible effectif autopsié. Globalement, les réductions de la charge parasitaire observées sur les douves adultes se situent entre 29,3 % et 59,8 % selon les protocoles.

III.1.4. *Corrélation entre excrétion fécale et charge en douves adultes*

La relation entre l'excrétion fécale d'œufs et la charge en douves adultes à l'autopsie a été explorée par le coefficient de corrélation de Spearman, afin d'évaluer dans quelle mesure la coproscopie pouvait constituer un indicateur indirect pertinent de la charge parasitaire individuelle. L'analyse a été menée de manière globale, en regroupant l'ensemble des animaux autopsiés issus des trois protocoles (n=36).

À cette échelle globale, la corrélation entre l'OPG final et la charge totale en douves adultes est positive et statistiquement significative (Spearman $\rho = 0,68$; $p < 0,001$). Ces résultats confirment que l'OPG final constitue un indicateur indirect fiable de l'intensité de l'infestation. Cette relation globale est illustrée par la figure 5.

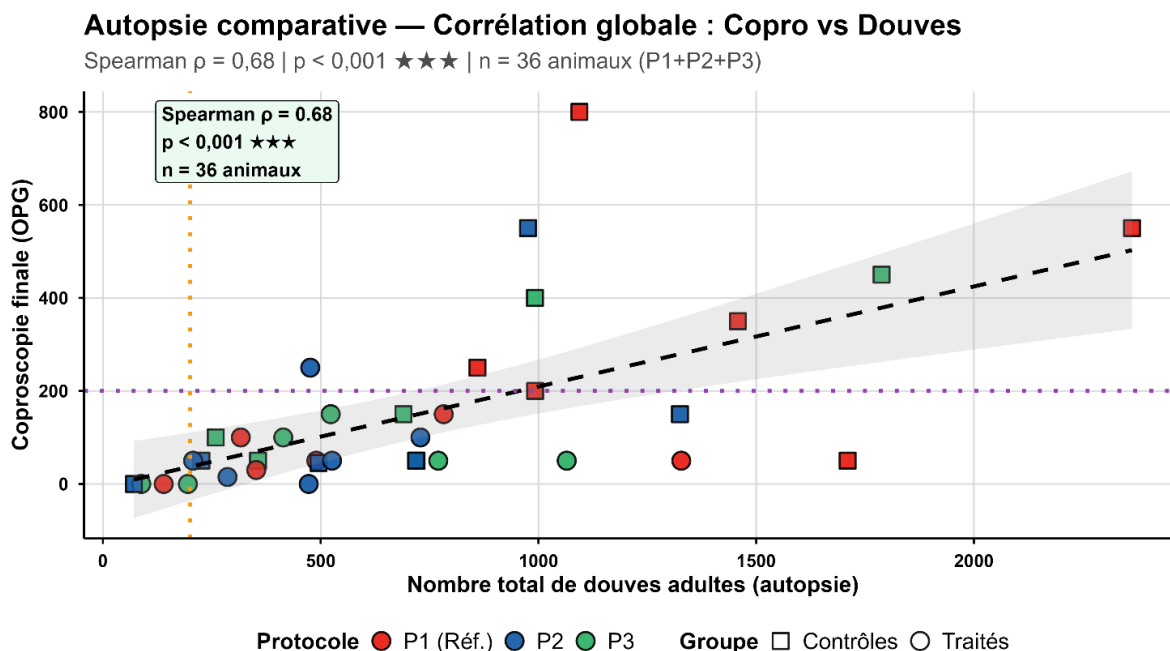


Figure 6 : Corrélation entre coproscopie et nombre total de douves adultes.

III.1.5. Évolution du profil biochimique hépatique

L'évolution des paramètres biochimiques hépatobiliaires (Tableau 4) montre une amélioration partielle du profil hépatique au cours du temps. Dans les protocoles 1 et 2, les marqueurs de cytolysse (AST) et de cholestase (phosphatase alcaline) diminuent de manière significative ($p < 0,05$) tant chez les animaux traités que témoins. Dans le protocole 3, bien qu'une tendance à la baisse soit également observée pour ces deux paramètres, elle n'atteint pas le seuil de significativité statistique. En revanche, l'évolution de la GGT n'est jamais significative ($p > 0,05$) : elle demeure anormalement élevée tout au long du suivi, tant chez les traités que chez les contrôles (généralement au-dessus de 75 UI/L). Ces résultats confirment la persistance d'une atteinte biliaire chronique qui ne se résorbe pas sur la durée de l'étude, y compris après l'administration d'albendazole.

Tableau 4 : Évolution intra-groupe des marqueurs hépatiques au cours des trois protocoles (Moyennes $\pm$ SD et significativité de l'évolution)

Protocole	Paramètre (Normes)	Lot Traité (J0 $\rightarrow$ Jfinal)	p-value (T)	Lot Contrôle (J0 $\rightarrow$ Jfinal)	p-value (C)
P1 (n=6)	AST (40–96 UI/L)	180,3 $\pm$ 69,1 $\rightarrow$ 29,5 $\pm$ 6,2	0,031	159,3 $\pm$ 33,7 $\rightarrow$ 28,3 $\pm$ 4,5	0,031
	PAL (50–229 UI/L)	65,2 $\pm$ 23,4 $\rightarrow$ 24,3 $\pm$ 10,6	0,031	83,2 $\pm$ 39,7 $\rightarrow$ 31,8 $\pm$ 16,5	0,031
	GGT (33–55 UI/L)	97,1 $\pm$ 44,1 $\rightarrow$ 84,2 $\pm$ 16,8	0,562	100,7 $\pm$ 11,7 $\rightarrow$ 88,4 $\pm$ 15,8	0,094
P2 (n=6)	AST (40–96 UI/L)	174,5 $\pm$ 68,3 $\rightarrow$ 48,0 $\pm$ 13,3	0,031	162,2 $\pm$ 42,1 $\rightarrow$ 36,3 $\pm$ 11,4	0,031
	PAL (50–229 UI/L)	58,3 $\pm$ 15,7 $\rightarrow$ 20,0 $\pm$ 0,0	0,031	58,8 $\pm$ 27,0 $\rightarrow$ 23,3 $\pm$ 8,2	0,031
	GGT (33–55 UI/L)	85,1 $\pm$ 12,7 $\rightarrow$ 77,0 $\pm$ 15,4	0,094	88,0 $\pm$ 11,7 $\rightarrow$ 84,5 $\pm$ 8,6	0,219
P3 (n=6)	AST (40–96 UI/L)	25,2 $\pm$ 2,3 $\rightarrow$ 35,2 $\pm$ 6,5	0,062	23,0 $\pm$ 3,1 $\rightarrow$ 32,5 $\pm$ 14,1	0,156
	PAL (50–229 UI/L)	20,3 $\pm$ 0,8 $\rightarrow$ 23,0 $\pm$ 7,3	0,317	21,0 $\pm$ 2,4 $\rightarrow$ 23,3 $\pm$ 4,8	0,109
	GGT (33–55 UI/L)	79,6 $\pm$ 14,3 $\rightarrow$ 78,0 $\pm$ 15,0	0,844	76,6 $\pm$ 8,9 $\rightarrow$ 77,5 $\pm$ 16,2	0,438

(*) indique une différence statistiquement significative ($p < 0,05$) entre la valeur à J0 et la valeur finale (Test de Wilcoxon apparié).

III.1.6. Corrélations entre paramètres biochimiques et charge parasitaire

L'association entre les paramètres biochimiques hépatiques et la charge parasitaire totale à l'autopsie a été explorée. Afin de s'affranchir des biais liés aux faibles effectifs par lot, l'analyse a été menée à l'échelle globale en regroupant l'ensemble des animaux des trois protocoles ($n = 36$).

À l'échelle globale, l'analyse révèle deux associations statistiquement significatives (Tableau 6). D'une part, l'activité de la GGT au temps initial (J0) est positivement corrélée à la charge en douves adultes mesurée à l'autopsie (Spearman $\rho = 0,381$; $p = 0,016$). D'autre part, les protéines totales présentent également une corrélation significative et positive avec la charge parasitaire (Spearman $\rho = 0,44$; $p = 0,007$; IC95% [0,13–0,67]). *D. dendriticum* étant un parasite d'accumulation à longue longévité, la charge parasitaire finale (notamment chez les animaux témoins ou en échec thérapeutique) reflète en grande partie la population d'adultes déjà établie en début d'étude. Cette corrélation souligne donc que la GGT initiale reflète partiellement l'intensité de l'atteinte biliaire chronique induite par l'accumulation des parasites.

. L'absence de corrélation significative avec les autres paramètres en fin d'étude confirme que la biochimie hépatique reste un indicateur quantitatif globalement insuffisant pour estimer la charge parasitaire résiduelle, rendant la coproscopie (OPG) bien plus performante pour cet usage.

Tableau 5 : Corrélations significatives globales ($n=36$) entre les paramètres biochimiques et le nombre de petites douves adultes.

Paramètre	ρ de Spearman	p-value
GGT à J0	0,381	0,02
Protéines totales	0.440	0.007

En synthèse, les trois protocoles convergent vers un constat univoque. **L'ABZ à 15 mg/kg en dose unique, en double traitement, ou traitement retardé (ciblant exclusivement les adultes) est manqué**

d'efficacité dans ce troupeau (FECRT 70–78 % ; efficacité sur adultes 30–60 % ; GGT persistante hors normes). La convergence des résultats est en faveur d'une résistance de *D. dendriticum*. À l'ABZ dans cette population parasitaire.

III.2. Protocole de diagnostic de la résistance : analyse de puissance et recommandations pratiques

La démonstration d'une efficacité insuffisante pose immédiatement la question opérationnelle : comment un vétérinaire praticien ou un expérimentateur peuvent-ils détecter cette résistance de façon fiable, avec un effectif compatible avec les contraintes d'une étude de terrain et un protocole standardisé ? L'analyse de puissance par simulation bootstrap, conduite sur les données réelles de P1, répond à cette question en quantifiant la probabilité de détection selon l'effectif, le temps de prélèvement et la méthode utilisée.

III.2.1. Analyse de puissance par bootstrap

Résultats : puissance et précision selon la taille du groupe

Le tableau 6 présente les résultats complets de l'analyse de puissance.

Tableau 6 : Puissance statistique de détection de la résistance et largeur de l'IC95% du FECRT

n/groupe	Puissance FECR1 J14 (%)	Puissance FECR2 J14 (%)	Largeur IC FECR1 (pts)	Largeur IC FECR2 (pts)
6	100,0	100,0	224,4	177,7
8	100,0	100,0	182,6	145,3
10	100,0	100,0	158,1	129,6
12	100,0	100,0	144,2	117
15	100,0	100,0	124,5	104,2
20	100,0	100,0	105,5	88,8
25	100,0	100,0	93,8	79
30	100,0	100,0	85,3	71,7
40	100,0	100,0	72,6	61,7
50	100,0	100,0	64,1	55,2
n/groupe	Puissance FECR1 J28 (%)	Puissance FECR2 J28 (%)	Largeur IC FECR1 (pts)	Largeur IC FECR2 (pts)
6	96,4	97,5	121,3	66,5
8	98,2	98,8	86,2	51,3
10	99,2	99,4	69,6	43,5
12	99,6	99,7	62,1	39
15	99,9	99,9	50,3	34
20	100,0	100,0	41,4	28,3
25	100,0	100,0	35,7	25,1
30	100,0	100,0	32,2	22,5
40	100,0	100,0	27,2	19,4
50	100,0	100,0	24,3	17,4

Le premier enseignement est contre-intuitif mais crucial : J14 affiche une puissance de 100 % pour tous les effectifs, non parce qu'il est un bon indicateur, mais parce que le FECRT y est mécaniquement négatif ou nul (excrétion augmentée par maturation des immatures).

À J28, la puissance de détection reste très élevée dès les petits effectifs. Elle atteint 96,4 à 97,5% à $n = 6$ par groupe, puis dépasse 99% à partir de $n = 10$. En parallèle, la précision de l'estimation s'améliore progressivement avec l'augmentation de l'effectif. Pour FECR1, la largeur de l'IC95% passe de 121,3 points à $n = 6$ à 50,3 points à $n = 15$, puis à 27,2 points à $n = 40$. Pour FECR2, elle diminue de 66,5 points à $n = 6$ à 34 points à $n = 15$, puis à 19,4 points à $n = 40$. Ainsi, si la capacité de détection est satisfaisante dès de petits groupes, la robustesse de l'estimation reste insuffisante aux faibles effectifs, en particulier pour FECR1.

Le compromis optimal se situe à **$n = 15$ à 25/groupe pour un protocole expérimental** (largeur IC ≈ 36 –43 pts, puissance 100 %) et à **$n = 12$ comme minimum terrain** (largeur IC ≈ 51 pts, puissance ≥ 99 %).

III.2.2. Proposition de protocoles opérationnels de diagnostic de la résistance

Sur la base de la corrélation documentée entre OPG final et charge en petites douves adultes ($\rho = 0,68$; $p < 0,001$; $n = 36$), de l'analyse de puissance par bootstrap, et des enseignements tirés des trois protocoles expérimentaux, deux protocoles de diagnostic de la résistance à l'albendazole chez *D. dendriticum* sont proposés (tableau 9) mais doivent encore être validés dans la deuxième partie du projet. Le premier est conçu pour une utilisation en élevage commercial par un vétérinaire praticien ; le second est destiné aux études menées en conditions expérimentales contrôlées. Dans les deux cas, la coproscopie constitue le critère principal d'évaluation, en s'appuyant sur la corrélation établie entre excrétion fécale d'œufs au temps final et charge parasitaire individuelle.

Le protocole terrain repose sur un effectif minimal de 15 animaux par lot, avec deux temps de prélèvement de matières fécales (J0 et J28) et le calcul des formules FECR1 et FECR2 avec IC95% bootstrap. La puissance associée à cet effectif est de 99,9 % pour la détection d'une efficacité inférieure à 95 %, avec une largeur d'IC95% de 35 points, permettant une estimation quantitative exploitable. Le protocole expérimental prévoit 20 animaux par lot, des prélèvements coproscopiques réguliers (à J0, J14 et J28) et une période de stabulation préalable (afin de bloquer toute nouvelle infestation au pâturage), garantissant une puissance de 100 % et une largeur d'IC95% de 32 points. Dans les deux cas, en l'absence de directives officielles de la WAAVP spécifiques à *Dicrocoelium dendriticum*, le critère de suspicion de résistance proposé s'inspire des méthodologies générales d'évaluation des anthelminthiques (Coles et al., 1992; Kaplan et al., 2023) et des attentes d'efficacité rapportées dans la littérature pour des souches sensibles. Il est ainsi défini par un FECR < 95 % assorti d'une borne inférieure de l'IC95 % inférieure à 90 %.

L'évaluation à J14 est maintenue comme un indicateur. Dans un élevage donné, une absence de réduction de l'excrétion (FECRT nul ou négatif) dès J14 constitue un premier signal d'alerte fort en faveur

d'une baisse d'efficacité thérapeutique, permettant d'orienter la suspicion clinique avant même l'obtention des résultats définitifs à long terme.

Tableau 7 : Protocole

Critère	Protocole terrain à affiner après phase de test	Protocole expérimental
Objectif	Surveillance de l'efficacité en élevage commercial	Évaluation de l'efficacité en conditions expérimentales contrôlées
Effectif minimal	15 animaux / lot (T et C)	20 animaux / lot pour la coproscopie (dont 6 brebis de réforme pour l'autopsie)
Temps de prélèvement	J0, J14 et J28	J0, J14 et J28
Formules FECRT	FECR1 (WAAVP) et FECR2 (Coles) avec IC95%	FECR1, FECR2 et FECR3 avec IC95%
Critère de résistance	FECR < 95 % et IC95% borne inf. < 90 %	FECR < 95 % et IC95% borne inf. < 90 % (coproscopique) + réduction des douves adultes < 95 % (si autopsie disponible)
Biomarqueurs biochimiques	GGT et AST à J0 et J28 (optionnel) brebis de réforme disponibles	7 paramètres à J-72, J0 et J28 (obligatoire) brebis de réforme uniquement

IV. DISCUSSION

IV.1. Une efficacité de l'albendazole manifestement insuffisante

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'efficacité de l'albendazole contre *Dicrocoelium dendriticum* dans des conditions expérimentales contrôlées. Les données de coproscopie et les autopsies parasitologiques de cette étude convergent vers un même constat : l'albendazole (15 mg/kg) ne présente plus une efficacité thérapeutique satisfaisante dans le troupeau étudié.

En effet, la baisse d'excrétion fécale et la réduction directe de la charge en petites douves adultes à l'autopsie demeurent systématiquement, et ce pour les trois protocoles, largement inférieures aux niveaux d'efficacité attendus pour une population parasitaire sensible (généralement supérieurs à 90 %), (Königová et al., 2024). Ces données confortent les observations récentes de Petermann et al. (2024) réalisées en élevage, tout en y apportant une confirmation parasitologique directe et robuste par autopsie.

L'évaluation de schémas d'administration alternatifs confirme ce constat. Le recours à un double traitement à deux mois d'intervalle (Protocole 2) n'apporte pas d'amélioration décisive ; la seconde dose s'appliquant à une population parasitaire ayant déjà survécu à la première, elle ne compense pas la perte de sensibilité intrinsèque. De même, le Protocole 3 a été conçu pour traiter les animaux plus tardivement afin de cibler spécifiquement les stades adultes. Les taux de réduction obtenus, comparables à ceux du traitement classique, indiquent que la baisse d'efficacité n'est pas simplement liée à un échappement temporaire des formes immatures. L'albendazole échoue bien à détruire les stades adultes eux-mêmes.

L'ensemble de ces observations démontre la présence d'une résistance phénotypique à l'albendazole au sein de cette exploitation. Cette émergence locale s'inscrit dans la continuité préoccupante de la généralisation des résistances aux anthelminthiques, déjà largement documentée chez les nématodes gastro-

intestinaux ovins (Geurden et al., 2014) et chez d'autres trématodes hépatiques comme *Fasciola hepatica* (Fairweather et al., 2020). Elle illustre les conséquences directes d'une pression de sélection prolongée, induite par le recours quasi exclusif à une seule molécule pour le contrôle de cette parasitose (Otranto and Traversa, 2002).

IV.2. Interprétation de la cinétique d'excrétion à J14

Les résultats obtenus lors de cette étude mettent en évidence des valeurs de FECRT calculées à J14 nulles, voire négatives, oscillant entre -10 % et +5,7 % selon la formule employée, avec des intervalles de confiance englobant largement la valeur zéro. L'analyse de puissance par bootstrap confirme la robustesse de ces observations : à J14, la détection d'un FECRT < 95 % atteint 100 % pour tous les effectifs testés.

Cette absence de diminution de l'excrétion des œufs contredit la littérature. En effet, sur des populations parasitaires sensibles à l'albendazole, une baisse significative est détectable dès J14, la molécule détruisant rapidement une grande partie des adultes (Bosco et al., 2015; Königová et al., 2024).

La forte excrétion observée à J14 reflète donc la dynamique d'une population résistante. L'albendazole ne détruisant pas les douves adultes, celles-ci continuent de pondre. De plus, le traitement peut éliminer une petite fraction de parasites, ce qui modifie l'équilibre dans les voies biliaires et favorise la maturation rapide des stades immatures préexistants (Manga-González et al., 2001; Otranto and Traversa, 2002). Ce cumul entre les adultes résistants et l'arrivée de jeunes adultes expliquerait le maintien de l'excrétion.

L'évaluation définitive de l'efficacité thérapeutique nécessite un suivi minimum de 28 jours pour s'affranchir de la maturation tardive des stades immatures (Manga-González et al., 2001). Toutefois, le contrôle coproscopique à J14 possède un véritable intérêt clinique. Les études montrent en effet que, face à une population parasitaire sensible, l'albendazole provoque une chute drastique de l'excrétion des œufs dès le 14ème jour post-traitement (Bosco et al., 2015; Königová et al., 2024). Par conséquent, le maintien d'un niveau d'excrétion élevé à J14 constitue une forte présomption d'échec thérapeutique. Ce délai représente un signal d'alerte précoce, permettant d'orienter rapidement le diagnostic clinique vers une résistance, sans avoir à attendre le bilan final à long terme.

IV.3. Corrélation excrétion fécale / charge parasitaire : la coproscopie comme variable indicatrice de la charge en petites douves adultes

La corrélation globale entre l'excrétion d'œufs et la charge en petites douves adultes (ρ de Spearman = 0,68 ; $p < 0,001$; $n = 36$) est positive et significative, et témoigne d'une relation modérée à bonne entre l'excrétion fécale et la charge parasitaire individuelle. Cette valeur est cohérente avec les données de la littérature (Campo et al., 2000; Senlik et al., 2008), qui décrivent une relation positive entre intensité d'excrétion d'œufs et charge parasitaire chez *D. dendriticum*, mais avec une variabilité individuelle importante liée au caractère intermittent et faiblement intensif de la ponte de ce trématode (Manga-González et al., 2001).

L'analyse complémentaire montrant que le foie concentre en moyenne 95 % de la charge adulte totale, avec une corrélation foie/total de $p = 0,996$, valide *a posteriori* la comparaison des protocoles P1 (foie seul) et P2/P3 (trois compartiments). Cette distribution, où la quasi-totalité des parasites se loge dans les canaux biliaires intrahépatiques plutôt que dans la vésicule biliaire ou le début de l'intestin grêle, est cohérente avec le tropisme tissulaire de *D. dendriticum* (Otranto and Traversa, 2002; Senlik et al., 2008). Cette démonstration est méthodologiquement importante car elle permet d'interpréter les résultats de P1 dans le même cadre de référence que les autres protocoles, sans minoration significative liée à l'exclusion des compartiments extra-hépatiques.

IV.4. Les marqueurs biochimiques hépatiques

Les profils biochimiques hépatiques observés dans les trois protocoles convergent vers un tableau d'atteinte hépatobiliaire chronique active, caractérisé par une élévation persistante de la GGT (valeurs en moyenne supérieures à 80 UI/L, au-delà de la valeur de référence maximale de 55 UI/L pour les ovins) et des valeurs d'AST élevées à J0. Il convient de souligner que l'infestation par *Fasciola hepatica* (grande douve) était quasi nulle dans ce troupeau expérimental ; par conséquent, l'évolution de ces paramètres hépatiques peut être imputée spécifiquement à *D. dendriticum*.

L'élévation de la GGT, enzyme spécifique des cholangiopathies et particulièrement sensible dans la microcœliose (Manga-González et al., 2004), elle traduit la persistance d'une irritation mécanique et inflammatoire des voies biliaires intrahépatiques liée à la présence des petites douves adultes. De façon notable, cette traduction biochimique d'une souffrance biliaire contrastait avec l'absence de lésions macroscopiques majeures visibles sur les foies lors des autopsies. Le maintien de valeurs élevées à J28 (groupes P1 et P3) et à J90 (groupe P2), tant chez les sujets traités que témoins, s'explique par deux facteurs. D'une part, la persistance d'un nombre significatif de parasites. D'autre part, la présence de lésions chroniques au niveau des canaux biliaires (cholangite fibrosante), dont le processus de cicatrisation s'étend bien au-delà de la période d'observation de cette étude.

L'absence d'amélioration significative des paramètres biochimiques chez les animaux traités reflète avant tout l'insuffisance d'efficacité du traitement : l'albendazole n'ayant pas fait suffisamment baisser la charge parasitaire, l'irritation causée par les douves survivantes a perduré. En effet, les lésions de cholangiectasie et de fibrose péribiliare induites par *D. dendriticum* (Otranto and Traversa, 2002; Scala et al., 2019) ne régressent pas dans les délais du suivi coproscopique, même si la charge parasitaire est réduite. De plus, les corrélations entre les marqueurs biochimiques finaux et la charge en douves adultes sont faibles et non significatives (p compris entre -0,18 et +0,26), indiquant que, dans les conditions de cette étude, la biochimie hépatique ne constitue pas une variable indicatrice de la charge parasitaire individuelle. Ces résultats confirment que les enzymes hépatiques ont une valeur diagnostique d'orientation dans le contexte de la microcœliose, mais qu'elles ne peuvent se substituer au FECRT ni à l'autopsie parasitologique pour l'évaluation de l'efficacité thérapeutique.

La GGT apparaît néanmoins comme le marqueur le plus spécifique de l'atteinte biliaire dans ce contexte, et son inclusion dans un protocole de suivi de l'efficacité reste justifiée, notamment pour évaluer l'état hépatique de départ avant traitement et identifier les animaux présentant une atteinte sévère susceptible de biaiser l'interprétation des données coproscopiques.

IV.5. L'analyse de puissance par bootstrap : vers un protocole opérationnel calibré

L'analyse de puissance par simulation bootstrap constitue l'un des apports méthodologiques les plus directement transférables au terrain. Elle démontre qu'avec les niveaux d'efficacité observés dans ce troupeau (FECRT $\approx$ 75-80 % à J28), un effectif de 15 animaux par lot suffit à atteindre une puissance de 99,9 % pour détecter un FECRT inférieur à 95 % à J28, avec une largeur d'intervalle de confiance de l'ordre de 35 points de pourcentage. Un effectif minimal de 12 animaux par lot reste acceptable en conditions de terrain (puissance $\geq$ 99 % ; largeur IC $\approx$ 51 points), tandis qu'un effectif de 20 à 25 animaux par lot est recommandé pour un protocole expérimental nécessitant une estimation plus précise.

Ces résultats sont à replacer dans le contexte de la variabilité réelle des données de P1 ($n = 30$ animaux par lot en coproscopie), qui représente la base de la simulation bootstrap. La puissance élevée obtenue dès les petits effectifs est la conséquence directe du niveau d'efficacité insuffisant observé : plus l'efficacité réelle est éloignée du seuil de 95 %, plus il est facile de la détecter avec un faible nombre d'animaux. En revanche, si des études futures documentent des situations de sensibilité réduite moins marquées (par exemple, une efficacité réelle de l'ordre de 80-85 %), des effectifs plus importants seraient nécessaires pour maintenir une puissance statistique satisfaisante, conformément aux calculs prévisionnels proposés par Denwood et al. (2023) pour le FECRT.

IV.6. Limites de l'étude

Plusieurs limites méritent d'être soulignées pour contextualiser l'interprétation des résultats. En premier lieu, l'étude a été conduite sur un unique site expérimental (ferme du Mourier), dont les antécédents de traitement annuel à l'albendazole et les suspicions cliniques d'inefficacité constituaient le contexte motivant l'essai. Si les résultats démontrent clairement que les petites doutes sont résistantes au sein de cette exploitation, cette situation n'est pas directement généralisable à l'ensemble des élevages ovins français. Déterminer si cette inefficacité thérapeutique est un cas isolé ou une tendance globale constituera d'ailleurs l'une des perspectives majeures de la suite du projet EVERESDICRO.

En second lieu, concernant les effectifs d'autopsie, le nombre de 6 animaux par groupe a été rigoureusement déterminé en amont sur la base d'un calcul de puissance statistique. Par conséquent, l'absence de différence significative observée entre les charges parasitaires des lots traités et témoins (notamment dans les protocoles 2 et 3) ne traduit pas un manque de puissance de l'essai lié à un faible échantillonnage, mais reflète bien l'absence d'effet du traitement. Cette non-significativité constitue donc une preuve supplémentaire de la résistance parasitaire dans ces conditions.

Troisièmement, l'étude n'intègre pas de caractérisation moléculaire des populations de *D. dendriticum* présentes dans le troupeau. Aucun marqueur moléculaire de résistance aux benzimidazoles n'ayant encore été formellement décrit chez cette espèce, il est actuellement impossible d'identifier le déterminisme génétique sous-jacent à la baisse d'efficacité observée. La définition phénotypique de la résistance, telle qu'appliquée ici (FECRT < 95 % avec une borne inférieure de l'IC95 % < 90 %), constitue donc la référence pratique de diagnostic en l'état actuel des connaissances.

Enfin, l'interprétation épidémiologique des résultats doit prendre en considération la dynamique d'infestation. En effet, des facteurs saisonniers et climatiques sont susceptibles d'influencer l'intensité de l'excrétion (OPG) et la distribution des stades parasitaires au sein de l'hôte, indépendamment de l'effet propre du traitement anthelminthique.

V. PERSPECTIVES

Les résultats de cette étude ouvrent plusieurs axes de recherche et d'action prioritaires, que l'on peut organiser selon deux niveaux d'enjeu : d'une part, la réévaluation des pratiques de gestion parasitaire et le développement de nouveaux outils diagnostiques ; d'autre part, la confirmation à plus grande échelle des observations réalisées au Mourier.

V.1. Réévaluation des seuils d'intervention thérapeutique

Dans le contexte actuel de perte d'efficacité de la seule molécule disponible, le premier point à creuser est la pertinence même du traitement systématique. Comme suggéré par les observations réalisées au CIIRPO, des charges parasitaires importantes en petites douves ne se traduisent pas nécessairement par un impact clinique ou par une dégradation mesurable de la production zootechnique des animaux. Il apparaît donc indispensable d'évaluer l'impact réel de la charge parasitaire sur les performances des ovins. L'objectif serait d'établir des seuils de traitement justifiés et adaptés aux nouveaux outils de diagnostic, permettant d'évoluer vers un traitement ciblé sélectif afin de préserver l'efficacité des rares molécules encore actives.

V.2. Évaluation multisite de l'efficacité de l'albendazole

La perspective immédiate suivante est l'extension de l'évaluation de l'efficacité thérapeutique à un panel représentatif d'élevages ovins allaitants, en priorité dans les grands bassins de production (Nouvelle-Aquitaine, Occitanie, Centre-Val de Loire). L'application du protocole terrain proposé dans ce travail à une enquête multisite ciblée permettrait d'estimer avec précision la prévalence réelle des troupeaux présentant une efficacité anthelminthique insuffisante.

V.3. Caractérisation moléculaire de la résistance

Parallèlement à l'approche phénotypique, la caractérisation moléculaire de la résistance représente un enjeu scientifique de premier plan. Chez les nématodes gastro-intestinaux, les mutations aux codons 167, 198 et 200 du gène codant la β -tubuline isotype 1 sont bien caractérisées comme marqueurs de résistance

aux benzimidazoles (Lacey, 1988 ; Mottier and Prichard, 2008). Chez *D. dendriticum*, aucun marqueur n'a encore été identifié. Le séquençage des populations adultes issues de cette étude constituerait une première étape dans la recherche de marqueurs, en comparant des populations sensibles et résistantes lorsque de telles souches seront disponibles.

V.4. Exploration des alternatives thérapeutiques

L'absence d'alternatives thérapeutiques disposant d'une AMM en France constitue une contrainte majeure. Plusieurs pistes méritent d'être explorées, sous réserve que des laboratoires pharmaceutiques s'engagent dans ces démarches. Le praziquantel, dont l'efficacité contre *D. dendriticum* est documentée à 50 mg/kg (Akkaya et al., 2007), pourrait faire l'objet d'essais cliniques pour établir une posologie et une tolérance acceptables chez les ovins. Le nétobimin présentait également des efficacités de 90 à 91 % à 20 mg/kg (Senlik et al., 2008) et pourrait être réévalué, sachant toutefois que la résistance croisée entre molécules de la même famille reste une forte probabilité à investiguer.

V.5. Transposition à l'espèce bovine

Les résultats de ce travail soulèvent des questions analogues pour les bovins, chez lesquels l'albendazole est également l'unique traitement sans pour autant disposer d'une AMM dans cette espèce hôte. Toutefois, l'extension du protocole FECRT aux troupeaux bovins se heurte à un verrou méthodologique important. En effet, *D. dendriticum* pond naturellement moins chez les bovins, et la consistance hydratée des fèces bovines entraîne un phénomène de dilution massif des œufs. Cette particularité physiologique diminue fortement la sensibilité de la coproscopie quantitative, compliquant considérablement le diagnostic et l'évaluation de l'efficacité thérapeutique sur le terrain.

VI. CONCLUSION

Ce travail apporte, dans le cadre du projet EVERESDICRO, une contribution expérimentale originale à la question de l'efficacité de l'albendazole contre *D. dendriticum* en élevage ovin français. La mise en œuvre de trois protocoles complémentaires a permis d'évaluer l'efficacité de la molécule selon des modalités variées, en combinant coproscopie quantitative (FECRT), comptage des petites douves adultes à l'autopsie et biomarqueurs biochimiques hépatiques.

Les résultats obtenus convergent vers un constat univoque : l'albendazole à 15 mg/kg administré par voie orale ne présente pas une efficacité satisfaisante dans ce troupeau. Les FECRT au temps d'effet maximal (J28) s'établissent à 61-81 % selon le protocole et la formule considérés, loin du seuil de 95 % attendu dans les publications précédentes pour des souches sensibles. Les comptages réalisés à l'autopsie confirment directement ce constat, avec des réductions de la charge parasitaire limitées entre 30 % et 60 %. Enfin, la GGT reste anormalement élevée chez tous les animaux (traités comme témoins). Ce maintien de l'atteinte biliaire confirme que le traitement n'a pas réussi à éliminer les parasites. L'ensemble de ces

éléments est compatible avec l'existence d'une résistance à l'albendazole au sein de la population de *D. dendriticum* de la ferme du Mourier.

Ces résultats soulignent l'urgence d'une prise de conscience collective face à la situation de la dicrocoélie en France : l'albendazole est l'unique molécule disposant d'une AMM contre *D. dendriticum* chez les petits ruminants. Ce manque d'alternative peut placer de fait les éleveurs dans une impasse thérapeutique si la seule molécule disponible devient inefficace. La vigilance, la surveillance et la recherche de solutions nouvelles apparaissent dès lors comme des priorités sanitaires et scientifiques de premier ordre.

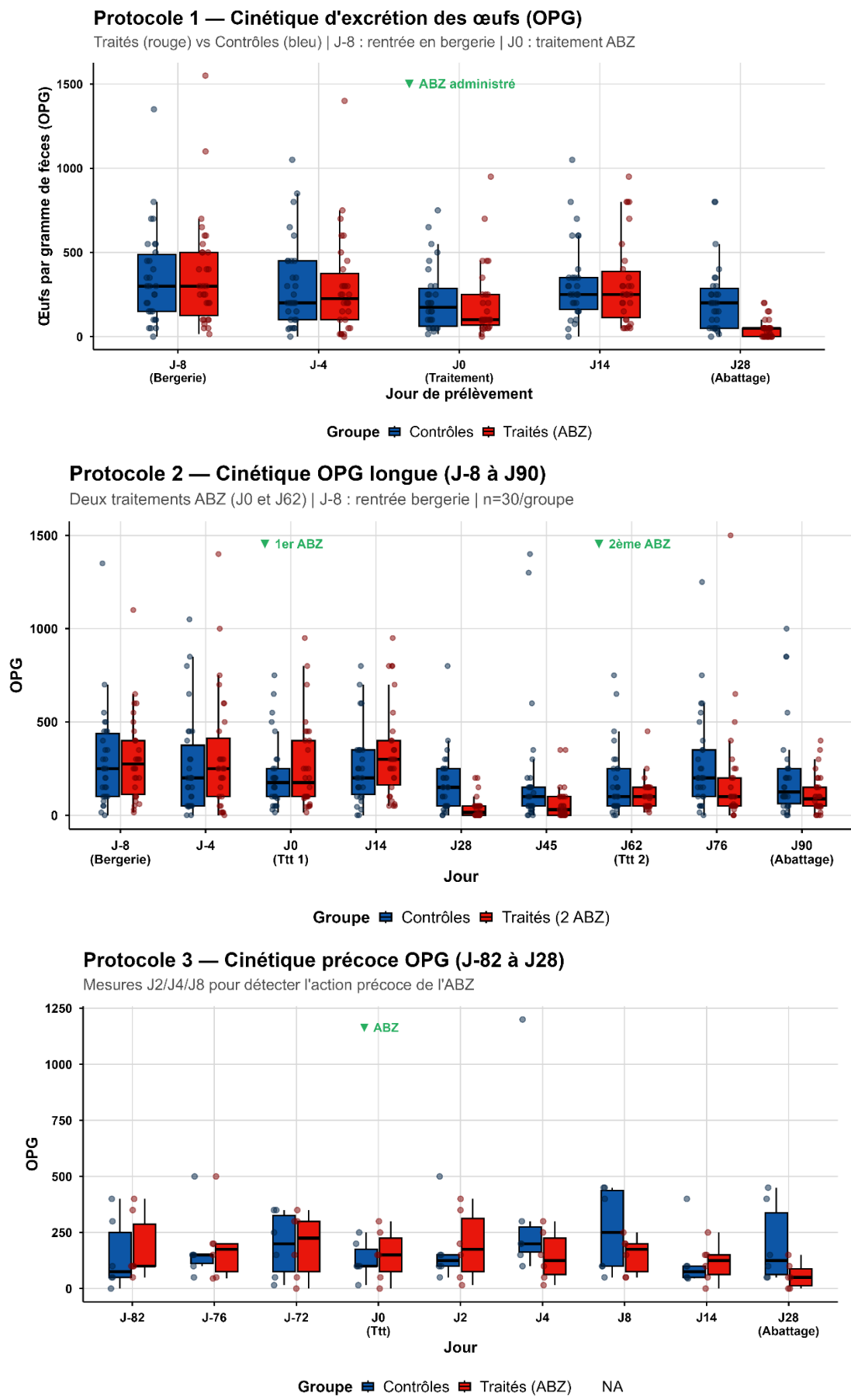
VII. BIBLIOGRAPHIE

- Akkaya, H., Deniz, L., Sezen, E., 2007. Effect of praziquantel on *Dicrocoelium dendriticum* in naturally infected sheep.
- Alzieu, J.-P., Jacquet, P., Gartioux, J.-P., Casteignau, A., Rameil-Marty, M., Desclaux, X., Lemaire, M., 2023. Fasciolose – dicrocoélie : une recrudescence prévisible chez les bovins.
- Arbabi, M., Nezami, E., Hooshyar, H., Delavari, M., 2018. Epidemiology and economic loss of fasciolosis and dicrocoeliosis in Arak, Iran. *Vet. World* 11, 1648–1655. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.1648-1655>
- Bosco, A., Rinaldi, L., Salamina, V., Santaniello, M., Morgoglione, M.E., Guariglia, I., Cappelli, G., Scala, A., Cringoli, G., 2015. Field trial on the efficacy of albendazole micronised (single and double treatment) against *Dicrocoelium dendriticum* in naturally infected sheep: A new strategy for the control of dicrocoeliosis. *Small Rumin. Res.* 126, 2–5. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.01.017>
- Burden, D.J., Bartley, D.J., Besier, R.B., Claerebout, E., Elliott, T.P., Höglund, J., Rehbein, S., Torres-Acosta, J.F.J., Van Wyk, J.A., Yazwinski, T., 2024a. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.): Third edition of the guideline for evaluating efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Vet. Parasitol.* 329, 110187. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2024.110187>
- Burden, D.J., Bartley, D.J., Besier, R.B., Claerebout, E., Elliott, T.P., Höglund, J., Rehbein, S., Torres-Acosta, J.F.J., Van Wyk, J.A., Yazwinski, T., 2024b. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.): Third edition of the guideline for evaluating efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Vet. Parasitol.* 329, 110187. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2024.110187>
- Campo, R., Manga-González, M.Y., González-Lanza, C., 2000. Relationship between egg output and parasitic burden in lambs experimentally infected with different doses of *Dicrocoelium dendriticum* (Digenea). *Vet. Parasitol.* 87, 139–149. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(99\)00165-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(99)00165-X)
- Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F.H.M., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A., Waller, P.J., 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 44, 35–44. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(92\)90141-U](https://doi.org/10.1016/0304-4017(92)90141-U)
- Corba, J., Krupicer, I., 1992. Efficacy of intraruminal albendazole boluses against *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Parasitol. Res.* 78, 640–642. <https://doi.org/10.1007/BF00931513>
- Cringoli, G., Rinaldi, L., Veneziano, V., Capelli, G., Malone, J.B., 2002. A cross-sectional coprological survey of liver flukes in cattle and sheep from an area of the southern Italian Apennines. *Vet. Parasitol.* 108, 137–143. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00183-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00183-8)
- Dash, K.M., Hall, E., Barger, I.A., 1988. The role of arithmetic and geometric mean worm egg counts in faecal egg count reduction tests and in monitoring strategic drenching programs in sheep. *Aust. Vet. J.* 65, 66–68. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1988.tb07359.x>

- Denwood, M.J., Kaplan, R.M., McKendrick, I.J., Thamsborg, S.M., Nielsen, M.K., Levecke, B., 2023. A statistical framework for calculating prospective sample sizes and classifying efficacy results for faecal egg count reduction tests in ruminants, horses and swine. *Vet. Parasitol.* 314, 109867. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2022.109867>
- Fairweather, I., Brennan, G.P., Hanna, R.E.B., Robinson, M.W., Skuce, P.J., 2020. Drug resistance in liver flukes. *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.* 12, 39–59. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2019.11.003>
- Falzon, L.C., O'Neill, T.J., Menzies, P.I., Peregrine, A.S., Jones-Bitton, A., vanLeeuwen, J., Mederos, A., 2014. A systematic review and meta-analysis of factors associated with anthelmintic resistance in sheep. *Prev. Vet. Med., Special Issue: SVEPM 2014 - supporting decision making on animal health through advanced and multidisciplinary methodologies*, 2014 Society of Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine conference 117, 388–402. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.07.003>
- Geurden, T., Hoste, H., Jacquet, P., Traversa, D., Sotiraki, S., Frangipane Di Regalbono, A., Tzanidakis, N., Kostopoulou, D., Gaillac, C., Privat, S., Giangaspero, A., Zanardello, C., Noé, L., Vanimisetti, B., Bartram, D., 2014. Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in France, Greece and Italy. *Vet. Parasitol.* 201, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.01.016>
- Geurden, T., Smith, E.R., Vercruysse, J., Yazwinski, T., Settje, T., Nielsen, M.K., 2022. World association for the advancement of veterinary parasitology (WAAVP) guideline for the evaluation of the efficacy of anthelmintics in food-producing and companion animals: general guidelines. *Vet. Parasitol.* 304, 109698. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2022.109698>
- Howell, A.K., Williams, D.J.L., 2020. The Epidemiology and Control of Liver Flukes in Cattle and Sheep. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 36, 109–123. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.12.002>
- Kaplan, R.M., Denwood, M.J., Nielsen, M.K., Thamsborg, S.M., Torgerson, P.R., Gilleard, J.S., Dobson, R.J., Vercruysse, J., Levecke, B., 2023. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guideline for diagnosing anthelmintic resistance using the faecal egg count reduction test in ruminants, horses and swine. *Vet. Parasitol.* 318, 109936. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2023.109936>
- Karadag, B., Bilici, A., Doventas, A., Kantarci, F., Selcuk, D., Dincer, N., Oner, Y.A., Erdinciler, D.S., 2005. An unusual case of biliary obstruction caused by *Dicrocoelium dendriticum*. *Scand. J. Infect. Dis.* 37, 385–388. <https://doi.org/10.1080/00365540510031430>
- Königová, A., Burčáková, L., Babják, M., Dolinská, M.U., Kostecká, Z., Šimková, J., Kremeň, J., Kuzmina, T.A., Várady, M., 2024. Efficacy of a single-dose albendazole against lancet liver fluke *Dicrocoelium dendriticum* and liver enzymes activity in naturally infected sheep. *Exp. Parasitol.* 256, 108656. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2023.108656>
- Lacey, E., 1988. The role of the cytoskeletal protein, tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles. *Int. J. Parasitol.* 18, 885–936. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(88\)90175-0](https://doi.org/10.1016/0020-7519(88)90175-0)
- Manga-González, M.Y., Ferreras, M.C., Campo, R., González-Lanza, C., Pérez, V., García-Marín, J.F., 2004. Hepatic marker enzymes, biochemical parameters and pathological effects in lambs experimentally infected with *Dicrocoelium dendriticum* (Digenea). *Parasitol. Res.* 93, 344–355. <https://doi.org/10.1007/s00436-004-1128-2>
- Manga-González, M.Y., González-Lanza, C., Cabanas, E., Campo, R., 2001. Contributions to and review of dicrocoeliosis, with special reference to the intermediate hosts of *Dicrocoelium dendriticum*. *Parasitology* 123 Suppl, S91–114. <https://doi.org/10.1017/s0031182001008204>
- McKenna, P., 2006. Further comparison of faecal egg count reduction test procedures: Sensitivity and specificity. *N. Z. Vet. J.* 54, 365–366. <https://doi.org/10.1080/00480169.2006.36726>
- Mottier, M.D.L., Prichard, R.K., 2008. Genetic analysis of a relationship between macrocyclic lactone and benzimidazole anthelmintic selection on *Haemonchus contortus*. *Pharmacogenet. Genomics* 18, 129–140. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3282f4711d>
- Murshed, M., Al-Quraishy, S., Mares, M.M., Mohammed, O.B., Aljawdah, H.M.A., 2022. Survey of *Dicrocoelium dendriticum* infection in imported Romani and local sheep (*Ovis aries*), and potential

- epidemiological role in Saudi Arabia. *J. Anim. Sci. Technol.* 64, 1215–1225. <https://doi.org/10.5187/jast.2022.e63>
- Otranto, D., Traversa, D., 2003. Dicrocoeliosis of ruminants: a little known fluke disease. *Trends Parasitol.* 19, 12–15. [https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(02\)00009-0](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(02)00009-0)
- Otranto, D., Traversa, D., 2002. A review of dicrocoeliosis of ruminants including recent advances in the diagnosis and treatment. *Vet. Parasitol.* 107, 317–335. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00121-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00121-8)
- Petermann, J., Grisez, C., Lavigne, S., Jacquet, P., 2024. Lack of Efficacy of Albendazole against *Dicrocoelium dendriticum* Infection in a Sheep Farm in France. *Anim. Open Access J. MDPI* 14, 1992. <https://doi.org/10.3390/ani14131992>
- Rojo-Vázquez, F.A., Meana, A., Valcárcel, F., Martínez-Valladares, M., 2012. Update on trematode infections in sheep. *Vet. Parasitol.* 189, 15–38. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.03.029>
- Scala, A., Tamponi, C., Dessì, G., Sedda, G., Sanna, G., Carta, S., Corda, A., Jacquet, P., Varcasia, A., Ligios, C., 2019. Dicrocoeliosis in extensive sheep farms: a survey. *Parasit. Vectors* 12, 342. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3609-2>
- Senlik, B., Cirak, V.Y., Tinar, R., 2008. Field efficacy of two netobimin oral suspensions (5% and 15%) in sheep naturally infected with *Dicrocoelium dendriticum*. *Small Rumin. Res.* 80, 104–106. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.09.004>
- Theodoridis, Y., Duncan, J.L., MacLean, J.M., Himonas, C.A., 1991. Pathophysiological studies on *Dicrocoelium dendriticum* infection in sheep. *Vet. Parasitol.* 39, 61–66. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(91\)90062-Z](https://doi.org/10.1016/0304-4017(91)90062-Z)

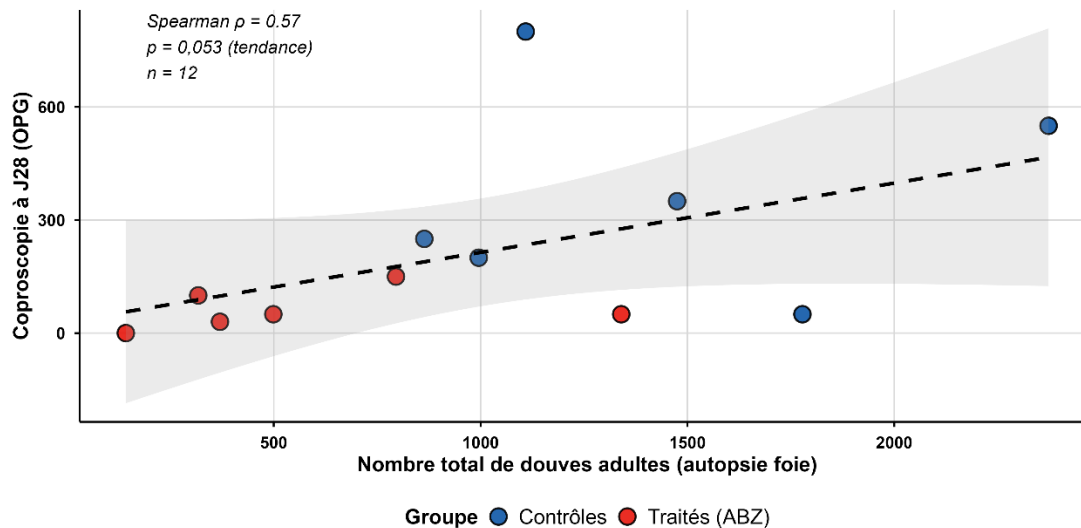
VIII. Annexes



Annexe 1 : Cinétiques d'excrétion fécale d'œufs de *Dicrocoelium dendriticum* (OPG)/ protocole

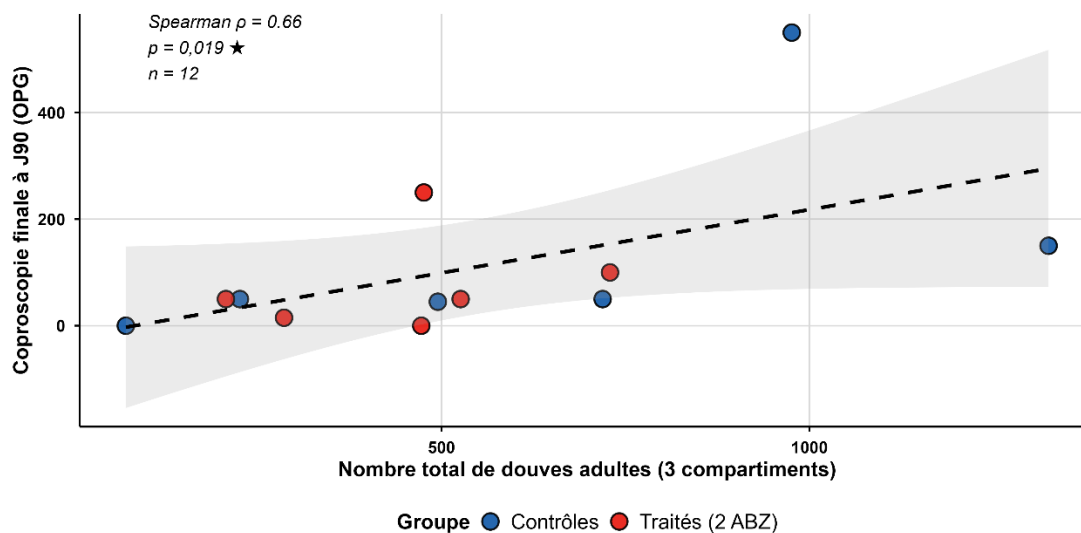
Protocole 1 — Corrélation : Coproscopie J28 vs Douves adultes

Spearman $\rho = 0,57$ | $p = 0,053$ | $n = 12$ animaux autopsiés



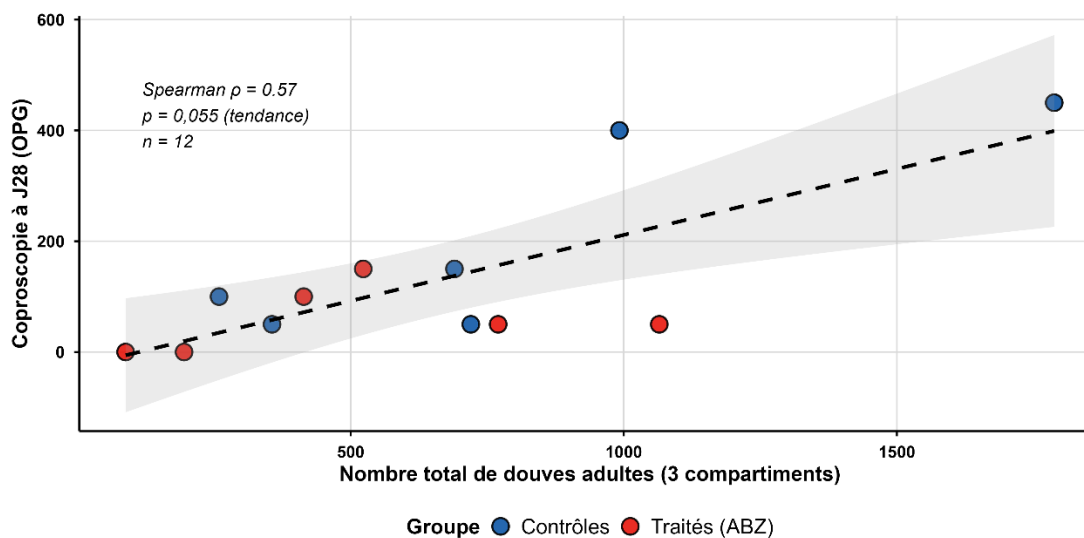
Protocole 2 — Corrélation : Coproscopie J90 vs Douves adultes

Spearman $\rho = 0,66$ | $p = 0,019$ ★ — Meilleure corrélation individuelle de l'étude



Protocole 3 — Corrélation : Coproscopie J28 vs Douves adultes

Spearman $\rho = 0,57$ | $p = 0,055$ — Même valeur qu'en P1 à J28

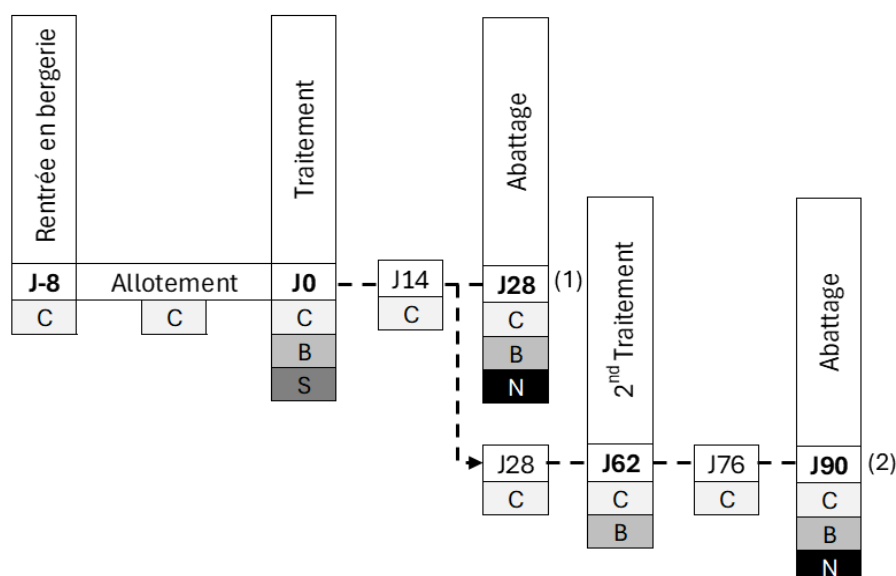


(1) Suivi et évaluation de l'efficacité du protocole de traitement classiquement utilisé en élevage

Lots	Type d'animaux	Paramètres suivis			
Témoin (n=30)	Réforme (n=6)	C	B	S	N
	En production (n=24)	C			
Traité (n=30)	Réforme (n=6)	C	B	S	N
	En production (n=24)	C			

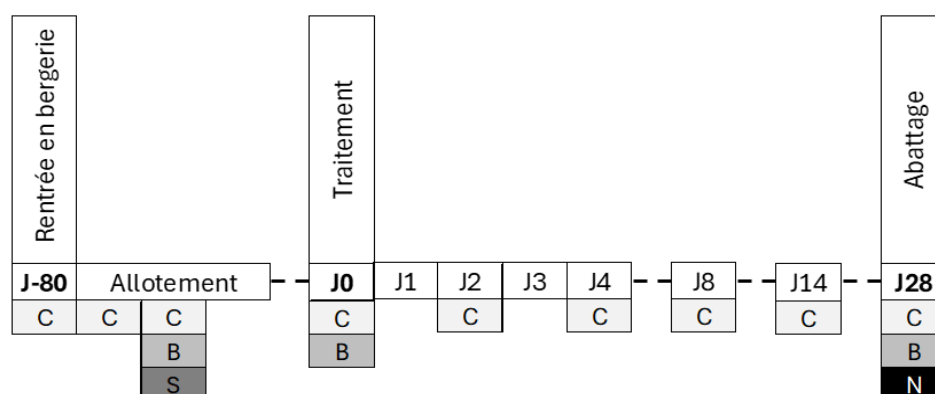
(2) Suivi et évaluation de l'efficacité d'un protocole de 2 traitements à 2 mois d'intervalle

Lots	Type d'animaux	Paramètres suivis			
Témoin (n=30)	Réforme (n=6)	C	B	S	N
	En production (n=24)	C			
Traité (n=30)	Réforme (n=6)	C	B	S	N
	En production (n=24)	C			



(3) Essai d'évaluation de l'efficacité de l'ABZ sur *D.d* adulte

Lots	Type d'animaux	Paramètres suivis			
Témoin (n=6)	Réforme (n=6)	C	B	S	N
Traité (n=6)	Réforme (n=6)	C	B	S	N



C	Coproscopies
B	Paramètres biochimiques du foie
S	Autres paramètres sanguins
N	Comptage de parasites

Protocole 1 : J0 → J28 (brebis de réforme, n = 6 par lot)							
Paramètre	Normes	J0 Lot T	J0 Lot C	Jfinal Lot T *	Jfinal Lot C *	p T apparié	p C apparié
Protéines totales (g/L)	56–78	78,7 ± 2,2	82,8 ± 4,5	75,8 ± 4,6	77,0 ± 2,8	0,249	0,028
Albumine (g/L)	24–37	30,7 ± 2,4	32,8 ± 1,7	32,5 ± 1,4	34,3 ± 2,1	0,109	0,173
AST (UI/L)	40–96	180,3 ± 69,1	159,3 ± 33,7	29,5 ± 6,2	28,3 ± 4,5	0,028	0,028
ALT (UI/L)	5–17	27,3 ± 6,0	28,5 ± 4,6	26,2 ± 5,0	27,0 ± 3,6	0,345	0,463
PAL (UI/L)	50–229	65,2 ± 23,4	83,2 ± 39,7	24,3 ± 10,6	31,8 ± 16,5	0,028	0,028
GGT (UI/L)	33–55	97,1 ± 44,1	100,7 ± 11,7	84,2 ± 16,8	88,3 ± 15,8	0,463	0,075
Bilirubine (μmol/L)	2–8	2,4 ± 0,8	4,0 ± 2,0	1,7 ± 0,0	1,7 ± 0,0	0,068	0,043
Protocole 2 : J0 → J90 (brebis de réforme, n = 6 par lot)							
Paramètre	Normes	J0 Lot T	J0 Lot C	Jfinal Lot T *	Jfinal Lot C *	p T apparié	p C apparié
Protéines totales (g/L)	56–78	71,3 ± 1,8	79,0 ± 4,6	71,3 ± 1,8	70,8 ± 5,2	0,031	0,031
Albumine (g/L)	24–37	30,8 ± 3,0	32,8 ± 2,1	32,0 ± 2,8	32,8 ± 3,4	0,034	1,000
AST (UI/L)	40–96	174,5 ± 68,3	162,2 ± 42,1	48,0 ± 13,3	36,3 ± 11,4	0,031	0,031
ALT (UI/L)	5–17	28,8 ± 3,1	30,2 ± 3,5	28,2 ± 2,9	23,8 ± 4,8	0,715	0,031
PAL (UI/L)	50–229	58,3 ± 15,7	58,8 ± 27,0	20,0 ± 0,0	23,3 ± 8,2	0,031	0,031
GGT (UI/L)	33–55	85,1 ± 12,7	88,0 ± 11,7	77,0 ± 15,4	84,5 ± 8,6	0,094	0,219
Bilirubine (μmol/L)	2–8	2,1 ± 0,7	2,8 ± 0,8	1,7 ± 0,0	1,8 ± 0,2	0,180	0,042
Protocole 3 : J0 → J28 (brebis de réforme, n = 6 par lot)							
Paramètre	Normes	J0 Lot T	J0 Lot C	Jfinal Lot T *	Jfinal Lot C *	p T apparié	p C apparié
Protéines totales (g/L)	56–78	77,7 ± 4,1	81,2 ± 3,1	68,8 ± 4,2	70,5 ± 2,8	0,078	0,066
Albumine (g/L)	24–37	33,0 ± 1,4	34,5 ± 1,4	33,0 ± 2,9	33,8 ± 2,4	0,562	0,688
AST (UI/L)	40–96	152,2 ± 20,4	140,7 ± 14,6	35,2 ± 6,5	32,5 ± 14,1	0,062	0,156
ALT (UI/L)	5–17	24,5 ± 2,4	28,3 ± 5,3	21,7 ± 2,1	23,8 ± 4,9	0,844	0,705
PAL (UI/L)	50–229	66,8 ± 29,5	96,8 ± 26,1	23,0 ± 7,3	23,3 ± 4,8	0,317	0,109
GGT (UI/L)	33–55	85,8 ± 11,9	77,1 ± 8,4	78,0 ± 15,0	77,5 ± 16,2	0,844	0,438
Bilirubine (μmol/L)	2–8	2,5 ± 1,1	2,4 ± 0,7	1,8 ± 0,4	1,7 ± 0,0	0,655	0,109

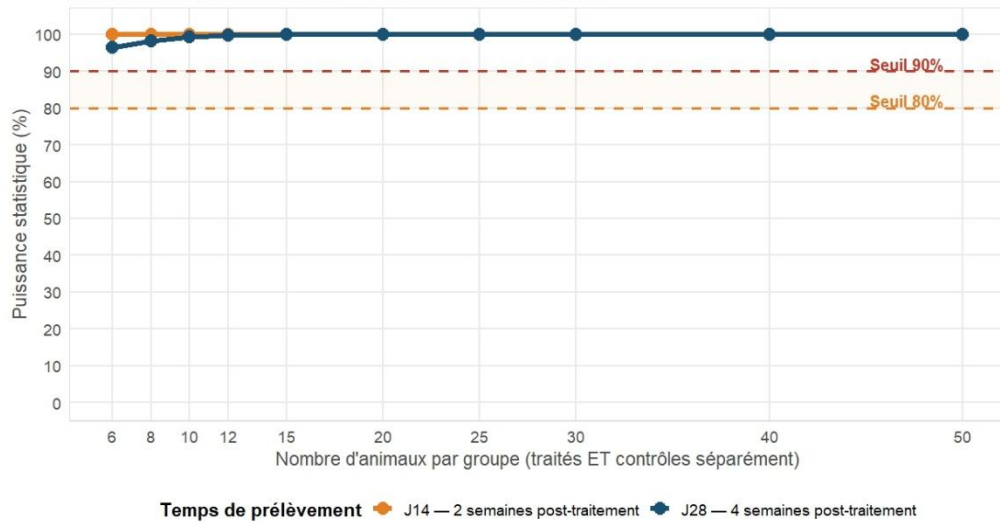
Annexe 4 : Données brutes individuelles des suivis biochimiques sanguins



Annexe 5 : Photographies des stades adulte et immature vues sous loupe (source : Patrice Nguetse)

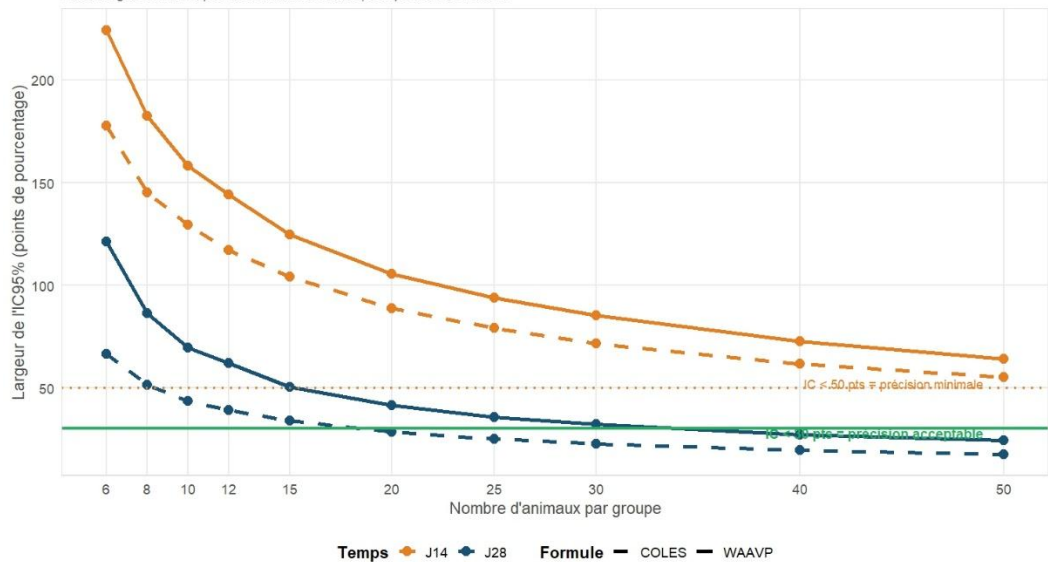
G1 — Puissance WAAVP : quel est le meilleur temps de contrôle ?

J14 vs J28 | Résistance détectée si WAAVP < 95% | Bootstrap n=2000 simulations



G3 — Précision de l'estimation : largeur de l'IC95% du FECRT

Plus la largeur est faible, plus la conclusion est fiable | Comparaison J14 vs J28



G2 — Puissance à J28 : comparaison des 3 formules FECRT

Les 3 formules mesurent l'efficacité différemment | Bootstrap n=2000 | Mesures à J28

