

<b><u>INTRODUCTION</u></b>	7
<b>I- PRESENTATION DES AGENTS DES MYIASES ETUDIEES : <i>Hypoderma diana</i>, <i>Cephenemyia stimulator</i> et <i>Pharyngomyia picta</i></b>	11
<b>I.1- MYIASE SOUS-CUTANEE : <i>Hypoderma diana</i></b>	11
I.1.1- Définition de l'espèce	11
I.1.2- Cycle biologique	15
I.1.3- Troubles associés	16
I.1.4- Le matériel antigénique des hypodermes	18
I.1.5- Réactions croisées et sérodiagnostic	19
<b>I.2- MYIASES NASO-PHARYNGÉES : <i>Cephenemyia stimulator</i> et <i>Pharyngomyia picta</i></b>	20
I.2.1- Définition des espèces	20
I.2.2- Cycle biologique de <i>Cephenemyia stimulator</i>	20
I.2.3- <i>Pharyngomyia picta</i>	25
I.2.4- Troubles associés aux myiases naso-pharyngées	26
I.2.5- Le matériel antigénique de <i>Cephenemyia stimulator</i>	27
<b>I.3- METHODE DE LUTTE CONTRE LES AGENTS DES MYIASES</b>	28
I.3.1- Traitement de l'hypodermose bovine et de l'œstrose ovine	28
I.3.2- Traitement des cervidés	29
<b><u>II- ENQUETE GENERALE SUR LE STATUT PARASITAIRE DES DEPARTEMENTS FRANCAIS VIS-A-VIS DE L'HYPODERMOSE ET DE LA CÉPHÉNÉMYIOSE</u></b>	31
<b>II.1- MATERIEL ET METHODE</b>	31
<b>II.2- RESULTATS DE L'ENQUETE GENERALE</b>	31
II.2.1- Hypodermose	31
II.2.2- Céphénémyiose	32
II.2.3- Mouvements d'animaux	33
<b>II.3- DISCUSSION</b>	34
II.3.1- Périodes de chasse et cycle parasitaire	35
II.3.2- Mouvements d'animaux assurés par l'homme	36

<b><u>III- DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE DE LA CÉPHÉNÉMYIOSE ET DE L'HYPODERMOSE DES CERVIDES</u></b>	37
<b>III.1- MATERIEL ET METHODE</b>	38
III.1.1- Animaux et buvards	38
III.1.1.1- Protocole de l'enquête	38
III.1.1.1.1- Départements étudiés	38
III.1.1.1.2- Prélèvements dans chaque département	38
III.1.1.2- Technique de prélèvement et protocole	43
III.1.1.2.1- Chevreuils vivants	44
III.1.1.2.2- Cervidés issus de la chasse	44
III.1.1.2.3- Précautions lors du prélèvement	45
III.1.2- Diagnostic sérologique	45
III.1.2.1- La technique ELISA	45
III.1.2.1.1- Objectif	45
III.1.2.1.2- Principe	45
III.1.2.1.3- Préparation des pools de sérums de référence et des antigènes	46
III.1.2.1.3.1- Hypodermose	46
III.1.2.1.3.2- Oestrose des cervidés	46
III.1.2.1.3.2.1- sérums de référence pour la sérologie des myiases naso-pharyngées	46
III.1.2.1.3.2.2- Antigènes de <i>Cephenemyia stimulator</i>	47
III.1.2.1.3.2.3- Fraction antigénique de <i>Cephenemyia stimulator</i> reconnue par les anticorps des cervidés parasités par <i>Cephenemyia stimulator</i> ou par <i>Pharyngomyia picta</i>	47
III.1.2.1.4- Mode opératoire des sérologies ELISA	48
III.1.2.2- Expression des résultats des sérologies et définition du seuil de positivité des test ELISA hypodermose et céphénémyiose	49
III.1.2.2.1- Définition du seuil de positivité du test ELISA Hypodermose	50
III.1.2.2.2- Définition du seuil de positivité du test ELISA Céphénémyiose	50
III.1.3- Caractéristiques de l'échantillon	51
III.1.3.1- Département de l'Aisne	51
III.1.3.2- Département de la Marne	52
III.1.3.3- Département du Cher	52
III.1.3.4- Département du Loir-et-Cher	53
III.1.3.5- Département du Loiret	53

III.1.3.6- Département de l'Indre	54
III.1.3.7- Département de l'Indre-et-Loire	54
III.1.3.8- Département de la Charente-Maritime	55
III.1.3.9- Département du Lot	55
III.1.3.10- Département de la Dordogne	56
<b>III.2- RESULTATS DE L'ETUDE SEROLOGIQUE</b>	<b>57</b>
III.2.1- Comparaison réponse de densité optique en fonction de la nature du prélèvement : sérum ou sang imbibé sur un buvard.	57
III. 2.2 – Antigène de <i>Cephenemyia stimulator</i>	57
III.2.3- Réactions croisées entre <i>Hypoderma diana</i> et <i>Cephenemyia stimulator</i>	59
III.2.4- Définition du seuil de positivité du test ELISA Céphénémyiose	60
III.2.5- Hypodermose	62
III.2.5.1- Résultats des sérologies Hypodermose par département	62
III.2.5.2- Cartographie du parasitisme par <i>Hypoderma diana</i> et évolution du pourcentage de densité optique en fonction du mois de prélèvement	63
III.2.5.2.1- Cartographie des foyers d'hypodermose	64
III.2.5.2.1.1- Cartographie des résultats Hypodermose dans le Lot	64
III.2.5.2.1.2- Cartographie des résultats Hypodermose en Charente-Maritime	65
III.2.5.2.1.3- Cartographie des résultats Hypodermose dans le Cher	66
III.2.5.2.1.4- Cartographie des résultats Hypodermose dans le Loir-et-Cher	67
III.2.5.2.1.5- Cartographie des résultats Hypodermose dans le Loiret	68
III.2.5.2.1.6- Cartographie des résultats Hypodermose dans l'Indre	69
III.2.5.2.1.7- Cartographie des résultats Hypodermose dans l'Indre-et-Loire	70
III.2.5.2.1.8- Cartographie générale des résultats des sérologies hypodermose de la région Centre	71
III.2.5.2.2- Evolution des pourcentages de densité optique résultants de la sérologie ELISA Hypodermose, en fonction du mois de prélèvement	72
III.2.5.2.2.1- Distribution des résultats de l'Aisne et de la Marne	72
III.2.5.2.2.2- Distribution des résultats de la région Centre	73
III.2.5.2.2.3- Distribution des résultats du Lot	73
III.2.5.2.2.4- Distribution des résultats de la Charente-Maritime	74
III.2.5.2.2.5- Distribution des résultats de la Dordogne	74

III.2.6- Céphénémyiose	75
III.2.6.1- Résultats des sérologies Céphénémyiose par département	75
III.2.6.2- Cartographies du parasitisme par les œstres des cervidés et évolution du pourcentage de densité optique en fonction du mois de prélèvement	76
III.2.6.2.1- Cartographies des résultats du test ELISA céphénémyiose	76
III.2.6.2.1.1- Cartographie des résultats dans l'Aisne	76
III.2.6.2.1.2- Cartographie des résultats dans la Marne	77
III.2.6.2.1.3- Cartographie des résultats dans le Cher	78
III.2.6.2.1.4- Cartographie des résultats dans le Loiret	79
III.2.6.2.1.5- Cartographie des résultats dans le Loir-et-Cher	80
III.2.6.2.1.6- Cartographie des résultats dans l'Indre	81
III.2.6.2.1.7- Cartographie des résultats dans l'Indre-et-Loire	82
III.2.6.2.1.8- Cartographie des résultats dans le Lot	83
III.2.6.2.1.9- Cartographie des résultats en Charente-Maritime	84
III.2.6.2.1.10- Cartographie des résultats dans la région Centre	85
III.2.6.2.2- Evolution des pourcentages de densité optique de la sérologie ELISA céphénémyiose en fonction du mois de prélèvement	86
III.2.6.2.2.1- Distribution des résultats de l'Aisne et de la Marne	86
III.2.6.2.2.2- Distribution des résultats de la région Centre	87
III.2.6.2.2.3- Distribution des résultats du Lot	87
III.2.6.2.2.4- Distribution des résultats de la Charente-Maritime	88
III.2.6.2.2.5- Distribution des résultats de la Dordogne	88

<b>III.3- DISCUSSION</b>	89
III.3.1- Relations entre les commémoratifs et les résultats des sérologies	89
III.3.1.1- <i>Hypoderma diana</i>	89
III.3.1.2- <i>Cephenemyia stimulator</i> et <i>Pharyngomyia picta</i>	90
III.3.2- Définition du seuil de positivité du test ELISA	91
III.3.2.1- Définition du seuil de positivité du test ELISA Hypodermose	91
III.3.2.2- Définition du seuil de positivité du test ELISA Céphénémyiose	92
III.3.3- Distribution de l'infestation parasitaire par département	92
III.3.3.1- <i>Hypoderma diana</i>	92
III.3.3.1.1- L'hypodermose dans le Lot	92
III.3.3.1.2- L'hypodermose en Charente Maritime	93
III.3.3.1.3- L'hypodermose dans la région Centre et la Sologne	93
III.3.3.1.4- Comparaison de la prévalence de l'hypodermose des cervidés avec les prévalences connues dans d'autres pays	94
III.3.3.2- Comparaison de la prévalence de la céphénémyiose des cervidés avec les prévalences connues de l'œstrose, ou de la prévalence de la céphénémyiose obtenue par diagnostic parasitologique	94
III.3.4- Cinétique annuelle des anticorps	96
III.3.4.1- <i>Hypoderma diana</i>	96
III.3.4.2- <i>Cephenemyia stimulator</i>	96
III.3.5- Antigènes de <i>Cephenemyia stimulator</i>	98
III.3.6- Qualité du buvard	99
III.3.7- Variations d'intensité du parasitisme par <i>Cephenemyia.stimulator</i> Liés à l'âge ou au sexe	100
III.3.7.1- Variations liées à l'âge	100
III.3.7.2- Variations liées au sexe	100
III.3.8- Doit-on traiter la faune sauvage ?	101
III.3.9- Conséquence de l'introduction d'un animal porteur de varon	102
<b><u>CONCLUSION</u></b>	103
<b>Bibliographie</b>	105
<b>Annexe 1</b>	109
<b>Annexe 2</b>	111
<b>Annexe 3</b>	114

**« Les cerfs ont tous des vers vivants dans la tête ; ces vers se forment dans des cavités qui sont sous la racine de la langue, près de la vertèbre à laquelle la tête est articulée. Leur grosseur est celle des plus grands vers qui se trouvent dans les chairs corrompues ; ils se tiennent serrés et unis l'un contre l'autre, et sont tout au plus au nombre d'environ vingt »**

**Aristote, Histoire des animaux  
traduction de Camus, tom. I, p 90-91**

## INTRODUCTION

Une myiase ( grec « myia » = mouche) est une maladie parasitaire de l'homme ou de l'animal due au parasitisme de différents stades larvaires de diptères. Ces larves se nourrissent de tissu vivant ou mort de l'hôte, des liquides organiques de celui-ci ou de la nourriture ingérée par l'hôte. Suivant la localisation des larves, il existe des myiases des plaies, des myiases cutanées et sous-cutanées, des myiases naso-pharyngées, des myiases digestives, des myiases oculaires.... Ces myiases peuvent être obligatoires quand les larves vivent exclusivement en parasites obligatoires sur les tissus vivants et ne peuvent effectuer leur cycle autrement. Ces myiases sont semi-spécifiques lorsque les larves vivent normalement dans de la matière organique en décomposition, dans les déjections animales, mais peuvent dans certains cas envahir les plaies et les ulcérations des vertébrés vivants. Il existe aussi des myiases accidentelles avec introduction fortuite de larves dans l'organisme (Rodhain et Perez, 1985).

Les myiases peuvent toucher les batraciens, les reptiles, les oiseaux et les mammifères. Parmi les myiases obligatoires des mammifères, l'hypodermose bovine et l'œstrose ovine, en raison de leur importance économique, ont fait l'objet d'études approfondies et même de programmes d'éradication en France et en Europe pour l'hypodermose bovine (Boulard, 1999). En ce qui concerne les cervidés en France, ils peuvent être atteints d'une myiase sous-cutanée et cutanée due à *Hypoderma diana* et de myiases naso-pharyngées dues soit à *Cephenemyia stimulator* chez les chevreuils soit à *Pharyngomyia picta* chez les cerfs.

Au cours des dernières années, en Sologne, les chasseurs ont attiré l'attention des fédérations des chasseurs (FDC) sur l'hypodermose des cervidés, un problème sanitaire d'incidence croissante, avec de nombreux animaux présentant une centaine de varons en position sous-cutanée en région dorso-lombaire. De plus sur les chevreuils abattus l'été il n'est pas rare de trouver des larves de *Cephenemyia stimulator* dans les cavités nasales et près du larynx.

Concernant *Cephenemyia stimulator* et *Pharyngomyia picta*, peu de données sont connues pour la France. Ce sont deux parasites qui passent assez inaperçus en raison de leur cycle parasitaire. Les deuxième et troisième stades larvaires, facilement visibles par les chasseurs en raison de leur taille, se situent au niveau

du larynx et des voies respiratoires supérieures, donc dans une zone anatomique que le chasseur n'explore pas en dépeçant l'animal. De plus, ces deux stades larvaires sont présents à une période de l'année où les cervidés ne sont pas chassés, sauf parfois à l'approche. La chasse à l'approche n'est pas autorisée dans tous les départements et ne concerne que les animaux mâles. Dans les départements où elle est autorisée, en fonction des traditions de la région, elle est plus ou moins développée. Comme peu d'animaux sont abattus pendant la période où les larves sont visibles et que ces larves ne sont pas immédiatement visibles, la prévalence du parasite est souvent sous-estimée voire méconnue.

Par ailleurs concernant la céphénémyose dans le sud-ouest de la France, la rumeur fait état de « l'œstre du chevreuil transmis par les moutons » et, près de Rambouillet, la présence du varon sur les cervidés est associée à la présence proche de troupeaux de bovins. A l'inverse la question de la transmission des myiases des cervidés aux bovins ou aux ovins est aussi fréquemment soulevée.

Ce sujet concernant les myiases des cervidés méritait d'être abordé afin de savoir si ces problèmes de terrain et cette impression diffuse des chasseurs sont une prise de conscience nouvelle venant de chasseurs plus attentifs ou si ces myiases sont un problème soit nouveau soit qui s'amplifie. Par ailleurs ces myiases entraînent une dégradation de l'état général des cervidés : amaigrissement, affaiblissement, abcès cutanés, inflammation des voies respiratoires supérieures... C'est pourquoi les effets pathogènes éventuels de ces parasites, l'incidence économique et leur possibilités de contrôle devaient être évoqués.

Les différentes études effectuées précédemment sur les myiases des cervidés ont été réalisées hors de France. Par ailleurs la chronologie des deux cycles parasitaires n'est pas la même en fonction des climats. De plus pour l'instant la connaissance des myiases des cervidés demeure incomplète. Il a donc été nécessaire d'étudier en France la localisation géographique et la prévalence de ces maladies ainsi que le rôle pathogène des agents de ces myiases.

Par ailleurs un nouveau problème économique est posé par les chasseurs qui demandent aux FDC le remboursement de la viande qu'ils payent au travers des

bracelets de chasse et qu'ils trouvent impropre à la consommation. En France la chasse représente un actif de 1,95 milliard d'euros. Selon les départements, la chasse est ouverte du 1<sup>er</sup> juin à fin septembre pour le tir de sélection du chevreuil (*Capreolus capreolus*) et de début octobre à fin janvier ou fin février pour le tir en battue. Il y a en France 1,6 million de chasseurs. Le cheptel français est composé d'environ un million de chevreuils et de 75 000 cerfs (*Cervus elaphus*). Le prélèvement annuel réalisé par la chasse porte sur 300 000 chevreuils et 20 000 cerfs, ce qui représente 20 à 25 % de la population. Depuis ces dernières années, la population des chevreuils n'a fait que croître.

Si la volonté de traiter les animaux parasités est très importante de la part des chasseurs, il est nécessaire dans un premier temps de bien connaître la situation parasitaire des cervidés et de disposer des outils nécessaires au suivi de ces maladies et peut être à leur contrôle.

Ce travail a pour but de présenter dans une première partie trois agents de myiases spécifiques des cervidés en France, et de faire le point sur les connaissances actuelles de ces maladies parasitaires.

De plus les données connues en France sur ces parasites semblent très différentes selon les départements, tant au niveau de la présence ou non de ces parasites que de l'intensité de l'infestation des cervidés. C'est pourquoi, afin de préciser la disparité de parasitisme entre les départements, dans une seconde partie, nous avons réalisé une enquête auprès de 41 FDC. Cette étude a consisté à interroger les responsables SAGIR (réseau de surveillance sanitaire de la faune sauvage) de chaque fédération départementale des chasseurs sur leur connaissance de l'état sanitaire de leur département pour *Hypoderma diana* et *Cephenemyia stimulator*. De plus une mise en évidence des flux existants de cervidés a été réalisée.

Enfin, dans une troisième partie, nous avons recherché et adapté des outils sérologiques afin d'élaborer un diagnostic sérologique pour chacune de ces deux myiases. Cette autre étude s'est attachée à déterminer l'intensité de l'infestation parasitaire sur dix départements, au moyen des deux tests sérologiques ELISA.

Nous avons réalisé des diagnostics sérologiques en caractérisant des antigènes de diagnostic spécifiques de chaque myiase. Afin de travailler sur un grand nombre d'échantillons à tout moment de l'année nous avons collecté sur buvard les

échantillons de sang des animaux abattus, support facilitant les manipulations, l'expédition et le stockage.

Ainsi, à partir des résultats des sérologies ELISA hypodermose et céphénémyose, nous avons pu réaliser des cartographies de la distribution de ces deux myiases sur neuf départements étudiés afin de disposer d'une base de référence qui permettra de suivre l'évolution de ces maladies dans le temps.

Une partie de ce travail a été réalisée sur le terrain. Ainsi nous avons fait des prélèvements de sang sur des chevreuils vivants sur le site de Trois-Fontaines (51) appartenant à l'ONC (Office National de la Chasse) et les prélèvements de sang des cervidés abattus lors de chasse ont été effectués en forêt ouverte sur dix départements. De plus nous avons réalisé des autopsies des chevreuils sur le lieux de chasse. Une seconde partie du travail a été effectuée en laboratoire où j'ai pu bénéficier d'un support scientifique. Les dissections des têtes de chevreuils se sont déroulées dans le laboratoire de parasitologie de la faculté de pharmacie de Reims, avec Monsieur Hubert Ferté. Les sérologies ELISA ont été faites à l'INRA (Institut National de Recherche Agronomique) dans la station de pathologie aviaire et de parasitologie dans le laboratoire dirigé par Mademoiselle Chantal Boulard. Ce travail a fait l'objet d'un soutien financier par le laboratoire MÈRIAL et d'une allocation de thèse par la DGER et le Ministère de l'Agriculture.

## I- PRESENTATION DES AGENTS DES MYIASES ETUDIEES : *Hypoderma diana*, *Cephenemyia stimulator* et *Pharyngomyia picta*

### **I.1- MYIASE SOUS-CUTANEE : *Hypoderma diana***

#### I.1.1- Définition de l'espèce

L'hypodermose des cervidés est une maladie non contagieuse due à la migration des larves d'un parasite obligatoire du genre *Hypoderma*. La mouche du varon appartient à la classe des Insectes, à l'ordre des Brachycères, à la section des Cycloraphes, à la sous-section des Diptères, à la famille des Oestroïdae et au genre *Hypoderma*.

Plusieurs espèces d'hypodermes peuvent parasiter les cervidés dans le monde : *Hypoderma diana*, *Hypoderma tarandi*, *Hypoderma actaeon*, *Hypoderma capreola* (Zumpt, 1965). Il existe, en France trois espèces d'hypodermes. Deux espèces parasitent les bovins : ce sont *Hypoderma lineatum* et *Hypoderma bovis*. Une espèce parasite les cervidés : c'est *Hypoderma diana* (Brauer) (figures 1, 2 et 9).



Figure 1 : 2<sup>ème</sup> stade larvaire d'*Hypoderma diana*, Brauer

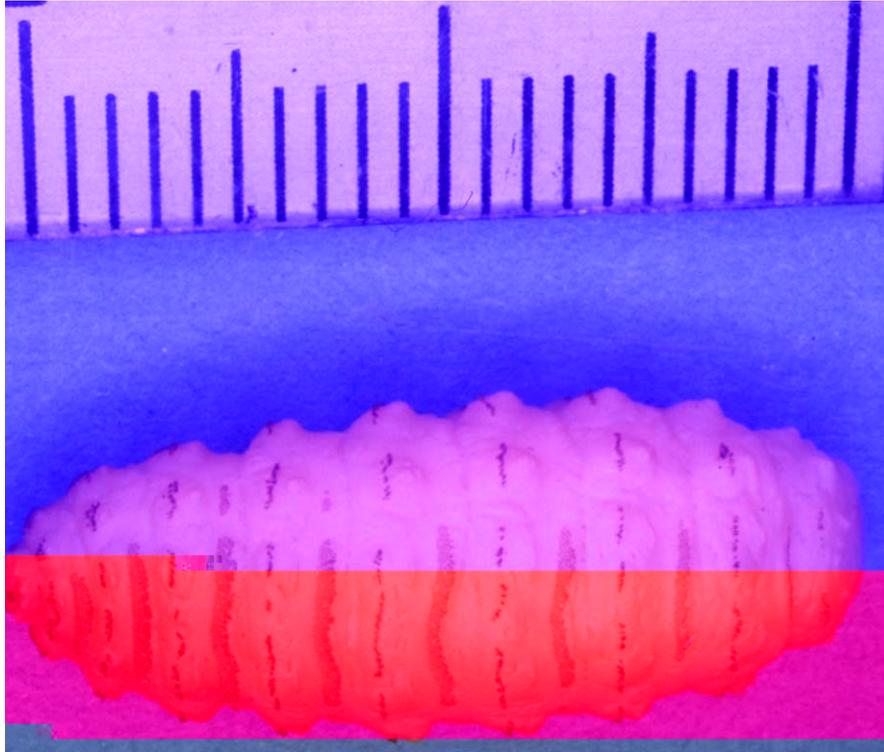


Figure 2 : jeune 3<sup>ème</sup> stade larvaire d'*Hypoderma diana*

Ces trois espèces d'hypoderme se différencient sur des critères morphologiques (figure 3). Pour cela il faut s'attacher à l'étude de la face ventrale convexe de la larve de troisième stade larvaire au niveau du dixième segment (James, 1947). En effet si le dixième segment est dénué d'épine et de spicule en région ventrale, alors il s'agit d'*Hypoderma bovis* (figure 6). Si la face ventrale du dixième segment présente une rangée antérieure d'épines, alors il s'agit d'*Hypoderma diana* (figure 4). Si la face ventrale du dixième segment est dépourvue d'épine dans la partie antérieure mais s'il existe une bande postérieure de spicules, plus courtes que les épines, sur ce même segment, alors il s'agit d'*Hypoderma lineatum* (figure 5).

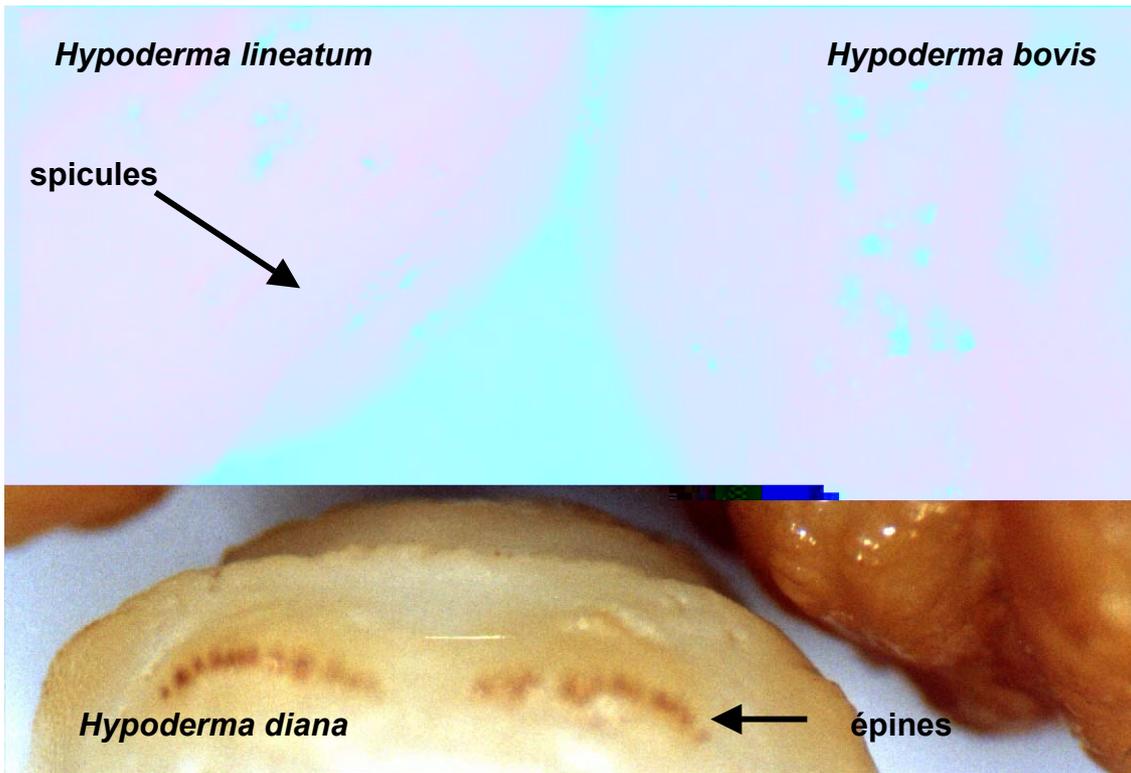


Figure 3 : Comparaison du 10<sup>ème</sup> segment (face ventrale) des larves L3 des différentes espèces d'hypoderme trouvées en France

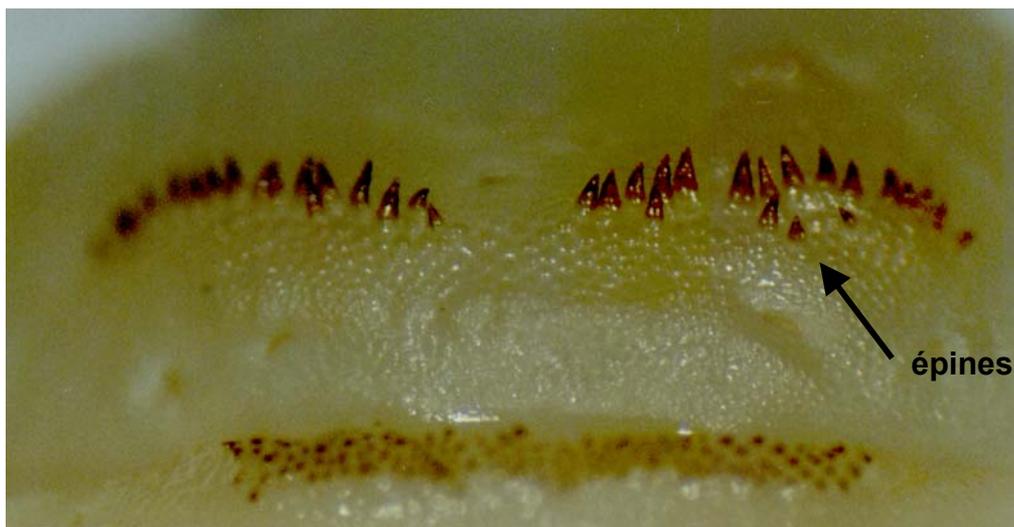


Figure 4 : Détails des épines du 10<sup>ème</sup> segment (face ventrale) des larves L3 d'*Hypoderma diana*

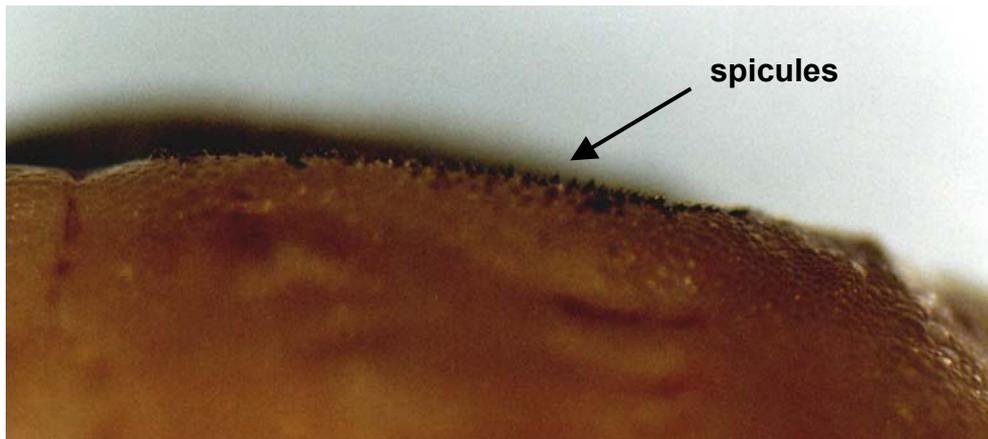


Figure 5 : Détails des spicules du 10<sup>ème</sup> segment (face ventrale) des larves L3 d'*Hypoderma lineatum*

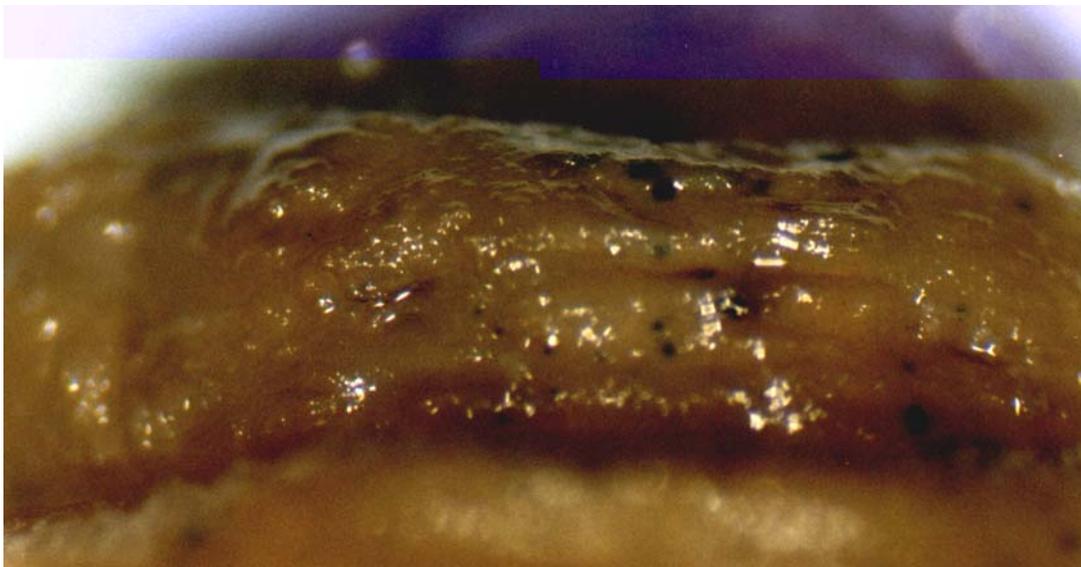


Figure 6 : Détails du 10<sup>ème</sup> segment (face ventrale) des larves L3 d'*Hypoderma bovis*. Celui-ci est dépourvu de spicule et d'épine.

Les hypodermes sont souvent spécifiques d'un hôte. Cependant *Hypoderma diana* se développe sur différentes espèces de Cervidés et de Caprinés : le chevreuil (*Capreolus capreolus*), le mouflon (*Ovis musimon*), le chamois (*Rupicara rupicara*), le daim (*Dama dama*), le sika (*Cervus nippon*), le cerf (*Cervus elaphus*), le renne (*Rangifer tarandus*) et l'élan (*Alces alces*) (Zumpt, 1965). Concernant *Hypoderma tarandi* qui parasite habituellement le renne et le caribou, Nilsen et Gjershaug (1988) ont décrit la présence de cette espèce sur le cerf en Norvège.

## I.1.2- Cycle biologique

Le cycle exact d'*Hypoderma diana* n'est pas encore totalement élucidé. Il semblerait que la migration du premier stade larvaire d'*Hypoderma diana* soit uniquement sous-cutanée (Martinez-Gomez et al, 1990) et qu'il n'y ait pas de migration dans les tissus profonds, au niveau du canal rachidien comme pour *Hypoderma bovis* ou au niveau de la sous-muqueuse oesophagienne comme pour *Hypoderma lineatum*. Cependant les observations réalisées jusqu'à ce jour principalement en Espagne ont été limitées d'octobre à fin février en raison de la fermeture de la chasse.

Les mouches adultes sont dépourvues de pièces buccales et ne vivent que quelques jours. Elles pondent les oeufs sur les poils des cervidés. L'éclosion des oeufs libère le premier stade larvaire (L1) qui traverse activement la peau et migre pendant 8 mois dans le tissu sous-cutané grâce à des protéases. La larve réabsorbe ces protéases qui s'accumulent dans son tube digestif, alors sans continuité avec l'intestin postérieur. Ce premier stade larvaire est anaérobie durant toute sa migration.

La larve L1 arrivée au terme de sa migration, passe au deuxième stade larvaire. La réorganisation de son tube digestif qui devient continu de l'intestin antérieur à l'intestin postérieur permet une libération massive des protéases. Cette libération massive provoque une lyse du tissu sous-cutané et du derme, aboutissant à la formation d'un pertuis nécessaire à la respiration aérobie des stades larvaires II et III (Boulard et al, 1988 a).

Les larves se trouvent alors chacune dans un nodule sous-cutané. A ce stade les larves sont aussi appelée « varon ».

En fin de troisième stade larvaire, la larve quitte son hôte par effraction cutanée et se laisse tomber au sol. Là, la cuticule durcit et il y a formation de la puppe. La durée de la pupaison est soumise à différents facteurs comme la température, l'humidité, et peut être le rayonnement solaire (Jorin et Gasca, 1991). Celle-ci varie entre 26 et 32 jours (Zumpt, 1965) mais peut être supérieure (Jorin et Gasca, 1991).

Il existe de grandes différences entre la chronologie des différents stades du cycle parasitaire d'*Hypoderma diana* en fonction des pays ou même des régions de France.

Tableau I : Variabilité de la chronologie du cycle d'*Hypoderma diana* en fonction du climat. D'après Martinez-Moreno et al, COST action 811

	Région		
<i>Hypoderma diana</i> : Stade de développement	Europe Centrale	Europe de l'Est	Sud Ouest de l'Europe
L1	non connu	Novembre-Mars	Septembre à Décembre
L2	Janvier-Février	Décembre - Avril	Octobre à Janvier
L3	Février-Avril	Janvier-Juin	Décembre
Adultes	Mai- Juin	Avril-Juin	non connu

En Tchécoslovaquie, Minar (1982) décrit le 1<sup>er</sup> stade d'*Hypoderma diana* de novembre à fin mars, le second de janvier à juin et le troisième de mars à mi-août. Les adultes sont actifs de fin avril à juin.

En France, d'après les commémoratifs inscrits sur les 1607 prélèvements de sang que nous avons réalisés, il apparaît que la présence d'*Hypoderma diana* au deuxième ou troisième stade est signalée à partir de début octobre jusqu'à la fin de la chasse, fin février. Les varons sont signalés principalement entre mi-décembre à fin février. La présence d'*Hypoderma diana* a été confirmée par deux méthodes de diagnostic : parasitologique et immunologique (cf 3<sup>ème</sup> partie).

### I.1.3- Troubles associés

Le nombre de larves sur un animal peut être très important. Il n'est pas rare de trouver plus 100 larves d'*Hypoderma diana* (figures 7 et 8), pouvant aller jusqu'à 400 larves sur le même animal (Martinez-Gomez et al, 1990). Les conséquences de ce parasitisme pour les cervidés sont des retards de croissance, une baisse de la production de muscle, des abcès cutanés (figures 7), une diminution de la qualité de la peau et un affaiblissement de l'état général (Martinez-Moreno et al, 1998).

Les conséquences sont aussi économiques pour l'activité de la chasse et pour les élevages qui offrent une alternative à la viande de bœuf, de mouton ou de porc.

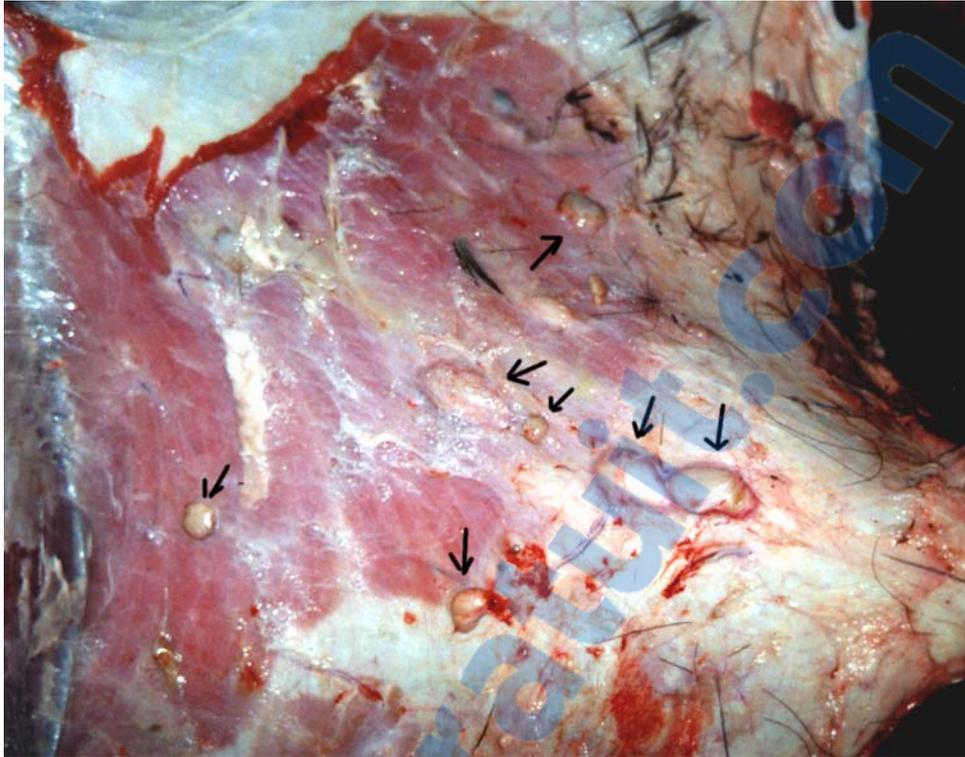


Figure 7 : Nodules varoneux et abcès sous-cutanés sur une biche abattue dans le Loir-et-Cher



Figure 8 : Dissection des larves d'*Hypoderma diana* sur un chevreuil (photo C.Boulard)

#### I.1.4- Le matériel antigénique des hypodermes

Les larves d'hypoderme de premier stade possèdent un équipement enzymatique riche en protéases : les hypodermine.

L'hypodermine A et l'hypodermine B ont une activité immunomodulatrice puissante. Elles induisent une réponse immunitaire faible (Boulard et Bencharif, 1984 ; Boulard et al, 1988 a; Chabaudie et Boulard, 1992 ; Boulard et al, 1997).

L'hypodermine C est une collagénase sécrétée par le premier stade larvaire des hypodermes. Cette collagénase permet la migration des larves dans le tissu conjonctif. De plus c'est cette même enzyme qui, accumulée dans le tube digestif aveugle au niveau de son extrémité postérieure, va permettre la lyse du derme et de l'épiderme afin de former un pertuis. Ce pertuis est nécessaire pour la respiration aérobie des stades larvaires II et III.

Le gène de l'hypodermine C a été cloné (Moiré et al, 1994). Cette protéine possède un fort pouvoir antigénique (Chabaudie et Boulard, 1993). Ceci a permis l'élaboration de l'immunodiagnostic de l'hypodermose (Boulard, 1970 ;Boulard, 1985 ; Chauvin, 1987 ; Pruet et Barrett, 1985) utilisant différentes techniques.

Il est d'ailleurs important de noter que la libération massive d'hypodermine C provoque une hypersensibilité locale et que la libération massive d'hypodermine A et d'hypodermine B peut entraîner des chocs anaphylactoïdes. Lors des traitements hypodermicides, il est recommandé de traiter les animaux en début d'infestation, lorsque les larves d'hypoderme encore de petite taille libèrent peu d'hypodermine A et d'hypodermine B lors de leur mort.



Figure 9 : Larves d'*Hypoderma diana* de troisième stade ; jeune (gauche), âgée (droite)

## I.1.5- Réactions croisées et sérodiagnostic

Pour la réalisation de l'immunodiagnostic de l'infestation des cervidés par *Hypoderma diana*, il est possible d'utiliser l'hypodermine C, collagénase du premier stade larvaire des hypodermes. Dans la pratique ce sont les antigènes du premier stade larvaire d'*Hypoderma lineatum*, d'origine bovine, qui sont utilisés (Boulard et al 1996). Chantal Boulard et ses collaborateurs ont montré l'existence de réactions croisées entre les différentes espèces d'hypoderme : *Hypoderma lineatum*, *Hypoderma bovis* et *Hypoderma diana*.

De plus il n'a été montré aucune réaction croisée avec d'autres Oestridae comme *Oestrus ovis* des ovins ou *Gasterophilus intestinalis* du cheval (Tableau II).

Tableau II : Tableau montrant l'existence de réactions sérologiques croisées au seins de la famille des Oestridés. (Boulard et al, 1996).

**Table I.** Cross-reactivity between the three instars (I, II, III) of different species of Oestridae studied by ELISA and using the sera of the specific hosts infested respectively by *H bovis*, *H lineatum*, *H diana*, *H tarandi*, *Oestrus ovis*, or *G intestinalis*.

Antigen and instar	Serum from infested animals				
	Cattle H bovis or H lineatum	Roe deer H diana	Reindeer H tarandi	Sheep O ovis	Donkeys G intestinalis
<i>H lineatum</i>					
I	+++	+++	+++	-	-
II	±	++	-	-	-
III	±	++	-	-	-
<i>H diana</i>					
II	+	+++	+	+	+
III	±	+++	-	+	-
<i>H tarandi</i>					
I	±	ND	+++	ND	ND
II	±	+	+	±	±
<i>O ovis</i>					
I	-	-	-	+	-
II	±	±	-	++	-
III	-	-	-	+	-
<i>G intestinalis</i>					
III	-	+	+	±	+
Hypodermin C	+++	+++	+++	-	-

The intensity of the reaction between the antigen and the sera assayed is expressed as a percentage of the value of the serum compared to a pool of positive and negative sera of the same hosts. A percentage of antibodies < 15% is expressed as -; ± for 15-20%; + for 21-40%; ++ for 41-60%; and +++ for > 61%.

Il sera aussi nécessaire de vérifier qu'il n'existe pas de réactions croisées entre *Hypoderma diana* et *Cephenemyia stimulator* puisque ces deux parasites peuvent se rencontrer sur le même animal.

## **I.2- Myiases naso-pharyngées : *Cephenemyia stimulator* et *Pharyngomyia picta***

### **I.2.1- Définition des espèces**

Les mouches de l'œstrose des cervidés appartiennent à la classe des Insectes, à l'ordre des Brachycères, à la section des Cycloraphes, à la sous-section des Diptères, à la famille des Oestroïdæ et au genre *Cephenemyia* ou *Pharyngomyia*.

Il existe plusieurs espèces de *Cephenemyia* qui parasitent les cervidés en Europe. Nilsen et Haugerud (1994) ont mis en évidence en 1987 la présence de *Cephenemyia ulrichii* pour la première fois en Norvège sur le renne alors que *Cephenemyia trompe* y est connu depuis longtemps (Nilsen et Haugerud, 1995). En Espagne, *Cephenemyia auribarbis* et *Pharyngomyia picta* sont décrits sur les cerfs (Ruiz Martinez et Palomares, 1993 ; Ruiz et al, 1993). En France c'est *Cephenemyia stimulator* (Clark) qui parasite les chevreuils et *Pharyngomyia picta* (Meigen) qui parasite les cerfs. Nous avons même caractérisé les larves de *Pharyngomyia picta* sur des cerfs provenant du parc de Chambord.

### **I.2.2- Cycle biologique de *Cephenemyia stimulator***

Le cycle biologique se décompose en deux phases. Une phase parasitaire avec une succession de trois stades larvaires et une phase exogène pendant laquelle l'imago va assurer les fonctions de reproduction.

La chronologie du cycle biologique varie en fonction des climats rencontrés dans les différents pays où ce parasite est présent.

D'après Ullrich (1936) le premier stade de *Cephenemyia stimulator* est visible de septembre à mi-mai, avec une période de diapause de quatre à cinq mois, le deuxième stade de fin mars à mi-mai et le troisième stade de mi-avril à fin juillet. D'après Minàr (1982), en Tchécoslovaquie, le 1<sup>er</sup> stade de *Cephenemyia stimulator* se trouve sur les chevreuil en automne jusqu'à janvier, le second de janvier à juin et le troisième de mars à mi-août. Les adultes sont actifs de juin à septembre.

Ces dates varient selon les auteurs et le lieu des études. Concernant les données de notre étude personnelle, nous avons trouvé le premier stade larvaire lors de dissections sur cinq chevreuils provenant des environs de Compiègne (Oise),

prélevés le 30 janvier 1999 (figures 10 à 17). Aucun stade larvaire plus avancé n'a été trouvé sur ces animaux.



Figure 10 : Stade larvaire de premier âge de *Cephenemyia stimulator* (larve vivante). Taille : 2mm x 0,5 mm

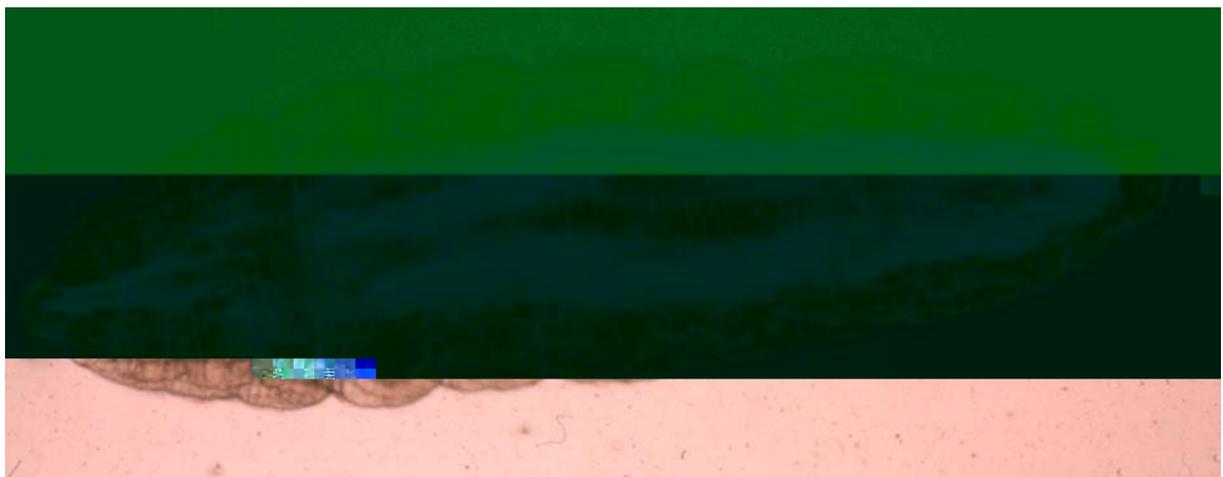


Figure 11 : Stade larvaire de premier âge de *Cephenemyia stimulator* ( larve congelée). Taille : 2mm x 0,5 mm

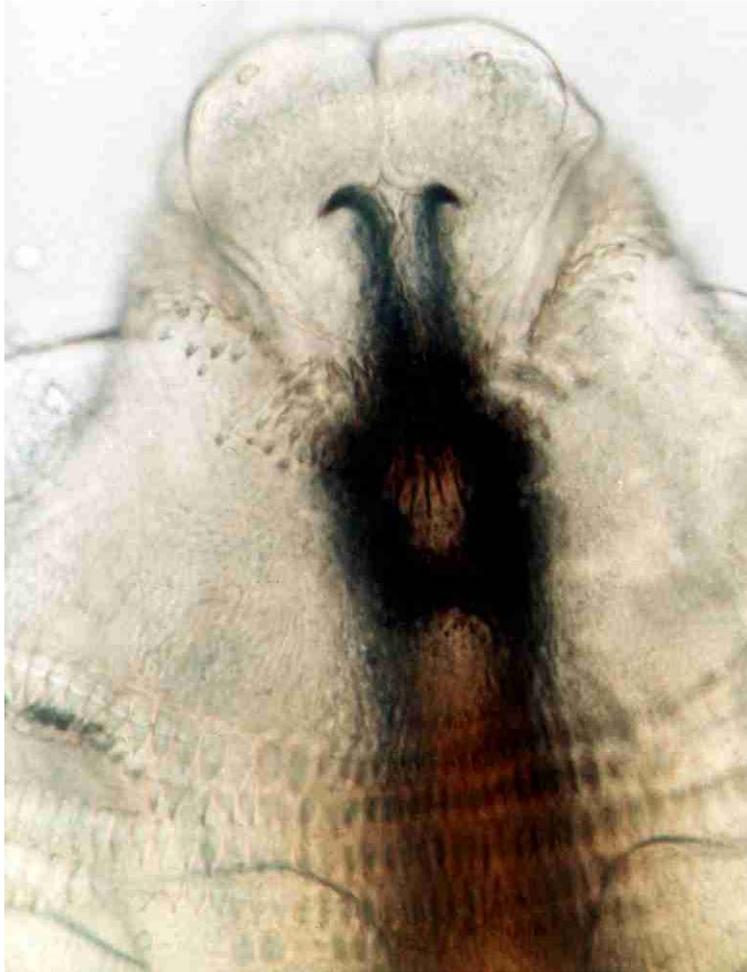


Figure 12: Détails de la partie antérieure du stade larvaire de premier âge de *Cephenemyia stimulator* (Objectif 40)

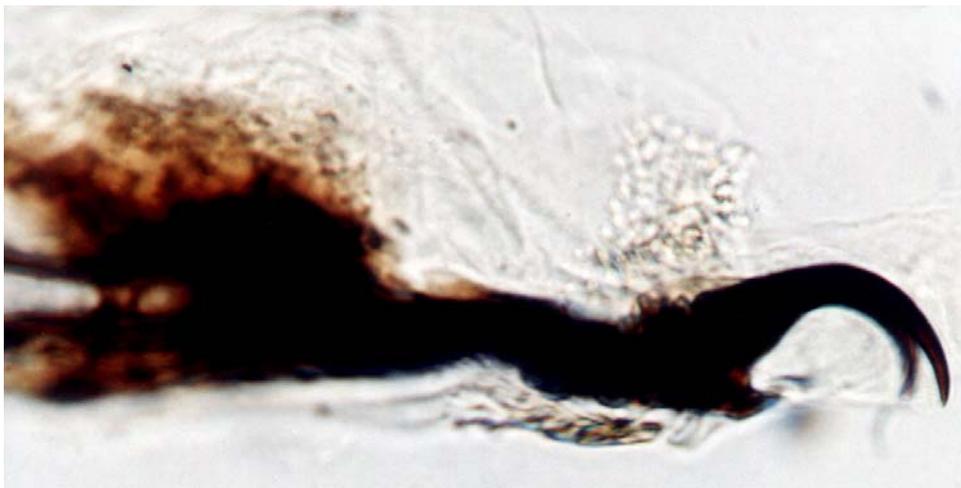


Figure 13: Détails des crochets buccaux du stade larvaire de premier âge de *Cephenemyia stimulator*

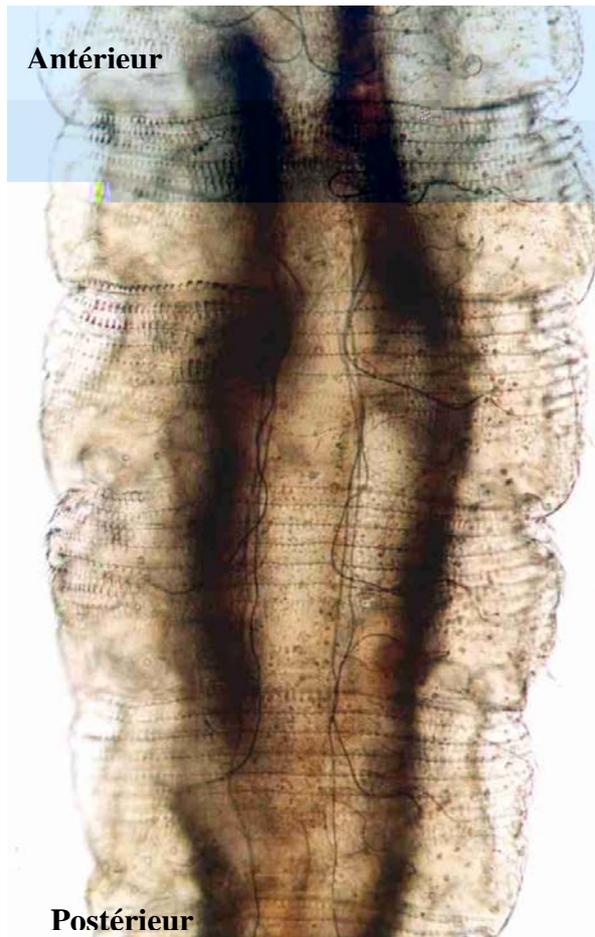


Figure 14: (gauche) Détails des segments médiaux du stade larvaire de premier âge de *Cephenemyia stimulator* (Objectif 10)

Figure 15: (gauche) Détails des segments médiaux du stade larvaire de premier âge de *Cephenemyia stimulator* (Objectif 40)

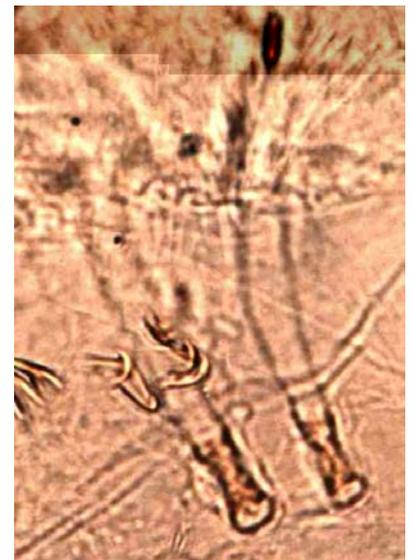


Figure 16: (gauche) Détails des segments postérieurs du stade larvaire de premier âge de *Cephenemyia stimulator* (Objectif 20)

Figure 17: (droite) Détails de l'ébauche de plaques stigmatiques du stade larvaire de premier âge de *Cephenemyia stimulator* (Objectif 100)

Les stades larvaires de premier âge ont été observés pour 81 % au niveau des récessus de l'os éthmoïde, à 12 % au niveau des cornets naseaux et 7% des larves de ce stade se trouvaient au niveau du pharynx (Dudzinski, 1970 a).

Les jeunes larve du deuxième stade (5-6 mm) se trouvent au niveau de l'os éthmoïde. Les larves de deuxième stade (L2) de grande taille ainsi que les larves de troisième stade (L3) se trouvent dans une poche néoformée à proximité du larynx. (Dudzinski W, 1970 a). En règle générale il n'y a qu'une poche qui regroupe plusieurs larves (figures 18 et 19). En Pologne, 63 larves L2 et L3 ont été trouvées en 1965 dans cette poche pharyngée sur un jeune chevreuil mâle (Dudzinski, 1970 a).

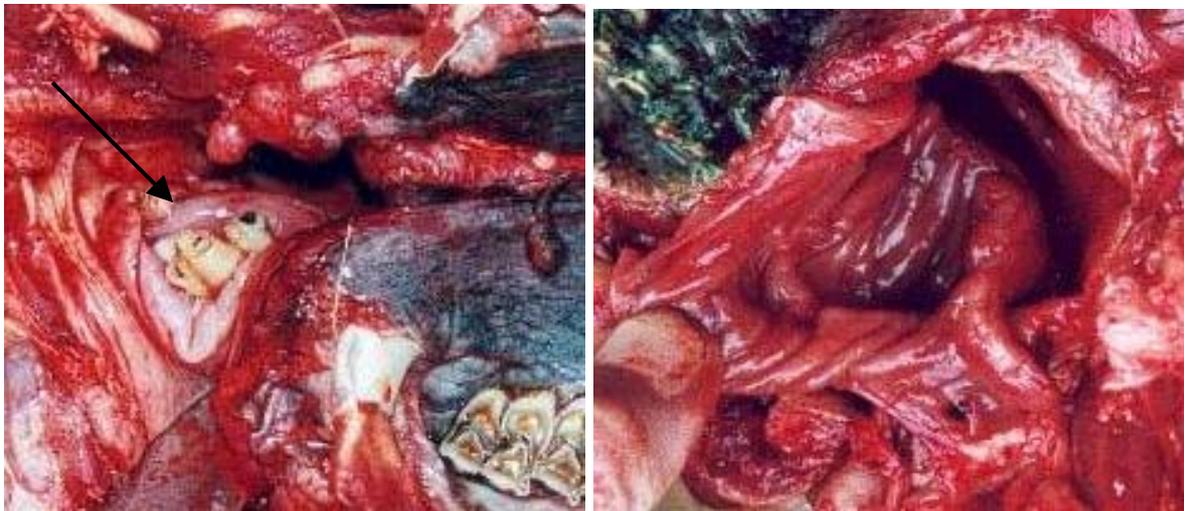


Figure 18 : Larves de *Cephenemyia stimulator* dans la poche pharyngée sur un chevreuil d'Indre

Figure 19 : Aspect macroscopique de la poche pharyngée sans les larves de *Cephenemyia stimulator*

Vu sa taille très faible (0.5 mm de diamètre sur 2 mm de longueur) et son aspect translucide (figure 10), le premier stade larvaire est très difficile à voir. Ce sont les deuxièmes et troisièmes stades larvaires (figure 21) qui sont signalés par les chasseurs. Les différentes FDC (Fédérations des Chasseurs) signalent les œstres des cervidés à partir de février et en juin, juillet, août.

Il est très difficile d'obtenir des informations entre fin février et début juin car la chasse est fermée. Seules des observations lors d'autopsies sur des chevreuils accidentés peuvent être réalisées.

En fin de troisième stade les larves sont expulsées des cavités nasales et tombent sur le sol (figure 20).



Figure 20: Larve de *Cephemyia stimulator* quittant le chevreuil par les naseaux après le décès de celui-ci.

La durée moyenne de pupaison est de 26 jours (Dudzinski, 1970 a). Les mouches adultes vivent entre 6 et 11 jours, durant lesquels la femelle dépose les premiers stades larvaires au niveau des naseaux des chevreuils.

### 1.2.3- *Pharyngomyia picta*

Les études concernant *Pharyngomyia picta* portent essentiellement sur la prévalence de ce parasite en Pologne, en Ecosse et en Espagne. Son hôte principale est le cerf mais aussi le daim, le sika et l'élan. *Pharyngomyia picta* a aussi déjà été trouvé sur des chevreuils. En Europe centrale, les mouches adultes volent de juin à août, le stade larvaire de premier âge est présent dans les cavités nasales jusqu'en mars, et les deuxième et troisième stades larvaires se trouvent comme les larves de *Cephemyia* près du pharynx entre mars et juin (Zumpt, 1965).



Figure 21: Larves de troisième stade de *Pharyngomyia picta*

Concernant les myiases naso-pharyngées des cerfs, seules les larves trouvées sur les animaux provenant du parc de Chambord ont été caractérisées. Les chasseurs parlent généralement d'œstre pour désigner l'ensemble des agents de ces myiases naso-pharyngées. Etant donné que notre échantillon de cervidés est constitué principalement de chevreuils, notre étude portera principalement sur *Cephenemyia stimulator*.

#### I.2.4- Troubles associées aux myiases naso-pharyngées

Selon certains auteurs, *Cephenemyia stimulator* aurait été à l'origine de 55 % de la mortalité générale des chevreuils en Allemagne (Ullrich, 1936) et selon Covan, une infestation de plus de 30 larves serait mortelle pour un chevreuil (Dudzinski, 1970 b). Une grande majorité d'auteurs s'accordent à dire que ce parasite est à l'origine de toux, de dyspnée, d'inflammation catarrhale, de processus histolytique, de sécrétions muco-hémorragiques provenant de l'appareil respiratoire, de tuméfaction du pharynx (figure 22) (Grunin 1957, 1966 ; Bouvier et al, 1952).



Figure 22 : Larves de 3<sup>ème</sup> stade de *Cephenemyia stimulator* au niveau de l'épiglotte sur un chevreuil abattu le 14 juillet 2000 dans l'Indre

Les larves de *Cephenemyia stimulator* ou de *Pharyngomyia picta* affectent surtout l'état général des cervidés par les troubles respiratoires engendrés : dyspnée, toux, inflammation catarrhale (Dudzinski, 1970 b). Les cervidés sont irrités par les mouches adultes qui tentent de déposer les larves dans les naseaux et par les larves elles-mêmes qui blessent la muqueuse des cavités respiratoires avec leurs crochets buccaux (figure 13) et leurs épines. Ceci entraîne une perturbation dans la nutrition et dans l'assimilation de nourriture pendant une période où le pâturage est le

meilleur. Ceci peut même se manifester par de la cachexie (Dudzinski W, 1970 b). Pour Minar (1982) un haut degré d'infestation par *Hypoderma diana* et *Cephenemyia stimulator* peut être fatal chez les jeunes chevreuils.

Sur les quatre dissections de chevreuils réalisées le 15 juillet 2000, il apparaît une inflammation du larynx sur les trois animaux parasités par *Cephenemyia stimulator* avec de nombreuses pétéchies sur les cartilages aryténoïdes et sur l'épiglotte (figure 23).



Figure 23 : Comparaison du larynx d'un chevreuil parasité par *Cephenemyia stimulator* (gauche) et d'un chevreuil sain (droite) lors d'autopsie dans l'Indre le 15 juillet 2000

#### I.2.5- Le matériel antigénique de *Cephenemyia stimulator*

Il n'existe, à notre connaissance, aucune publication concernant le matériel antigénique de *Cephenemyia spp* et la mise au point d'un test sérologique ELISA recherchant les anticorps dirigés contre les antigènes de *Cephenemyia spp*.

Par contre une étude sérologique a été réalisée pour l'œstrose des moutons en Angleterre en utilisant les antigènes solubles du premier stade d'*Oestrus ovis* (Goddard et al, 1999). De plus pour G.Tabouret (2001) une protéine de 28kDa, issue des produits de sécrétion et excrétion des larves de deuxième et troisième stade d'*Oestrus ovis*, est reconnue en Western blot par les anticorps sériques (IgG) de moutons parasités par *Oestrus ovis*.

Nous allons donc nous appuyer sur les travaux réalisés sur *Oestrus ovis* et sur les hypodermes des bovins ou d'*Hypoderma diana* pour mettre au point un test ELISA pour la céphénémyiose des cervidés. Tout comme pour les différentes espèces d'hypoderme, il est probable que le matériel antigénique de *Cephenemyia stimulator* et de *Pharyngomyia picta* soit très proche.

### I.3- METHODE DE LUTTE CONTRE LES AGENTS DES MYIASES

Plusieurs molécules existent sur le marché pour lutter contre l'œstrose ovine et contre l'hypodermose bovine. La pharmacocinétique de ces molécules est bien connue chez les ruminants domestiques.

#### I.3.1- Traitement de l'hypodermose bovine et de l'œstrose ovine

Le contrôle de l'hypodermose bovine est obligatoire depuis plusieurs années dans de nombreux pays d'Europe, et en France notamment (Boulard, 1999).

Avant l'arrivée sur le marché de différents produits, les varons étaient extraits manuellement. Maintenant les vétérinaires disposent de plusieurs molécules efficaces pour éliminer l'hypodermose (Losson, et al, 1998).

Il existe des molécules dites « endectocides » et des molécules « fasciolicides ». Avant ces molécules, les organophosphorés, introduits durant les années 1950 et 1960, étaient principalement utilisés. La molécule de cette famille toujours utilisée en France est le métrifonate. C'est un produit difficile d'emploi, sans rémanence, très toxique pour l'animal et l'éleveur.

En 1981 sont introduits les premières avermectines avec l'ivermectine (Ivomec®). Utilisées à 200 µg/kg, les avermectines ont un spectre d'action large vis à vis des nématodes et des arthropodes. L'efficacité de l'ivermectine est très grande contre le premier stade larvaire des hypodermes, ce qui a permis l'utilisation de microdoses : 0.1 µg/kg à 4 µg/kg (Drummond 1984, Argente et Hillion, 1984). L'ivermectine utilisée à 200 µg/kg est aussi efficace contre tous les stades larvaires d'*Oestrus ovis* (Dorchies et Ducos de Lahitte, 1986) et des strongyloses pulmonaires (DMV, 2001). Les avermectines sont lentement éliminées, ce qui explique leur efficacité durable contre plusieurs parasites. La doramectine, à la posologie de 200 µg/kg, est active sur les trois stades larvaires d'*Oestrus ovis*, sur les larves d'hypodermes en migration, sur les nématodes gastro-intestinaux, sur *Dictyocaulus viviparus* (DMV, 2001). De même la moxidectine (200 µg/ml) est efficace sur les larves d'*Hypoderma bovis*, d'*Hypoderma lineatum* et d'*Oestrus ovis*, sur les nématodes gastro-intestinaux et sur *Dictyocaulus filaria* (DMV, 2001).

D'après une étude réalisée par Benakhla et al en 1993 sur

l'hypodermose en Algérie, l'efficacité est de 100 % pour l'ivermectine, 80 % pour le fenthion et 96 % pour le métrifonate.

Une autre molécule utilisée est la roténone. Elle est atoxique pour l'homme et les animaux, n'entraîne pas de résidus et peut donc être utilisée en toute sécurité dans les élevages laitiers. Cependant son activité est limitée aux deuxième et troisième stades larvaires (Benakhla et al 1998). Avec la Roténone, l'efficacité varie de 72 % à 100 % (Charbon et Pfister 1993).

Parmi les molécules fasciolicides, le closantel, actif sur *Fasciola hepatica* à la posologie de 10 mg/kg, l'est aussi sur tous les stades d'*Oestrus ovis* et sur les stades sous-cutanés d'*Hypoderma bovis* et d'*Hypoderma lineatum*. Chez les ovins, le closantel est efficace contre les strongyloses à nématodes hématophages.

Le nitroxinil (10 mg/kg), utilisé dans la lutte contre les douves, les strongles gastro-intestinaux, est aussi utilisable contre les œstres (DMV, 2001).

### I.3.2- Traitement des cervidés

Le traitement des cervidés d'élevage est courant car il permet de lutter contre les pertes économiques dues aux myiases. Sur le renne, l'utilisation d'ivermectine en pour-on (500 µg/kg), per-os (200 µg/kg) ou encore par injection sous-cutanée (200 µg/kg) permet d'éliminer les varons, les oestres et de diminuer la charge de strongles intestinaux (Oksanen et al, 1993). L'ivermectine permet aussi de lutter contre l'onchocercose, autre helminthose des cervidés. L'efficacité de la doramectine a été testée sur des rennes de Norvège, parasités par *Hypoderma tarandi* et *Cephenemyia trompe*. Elle est évaluée à 100 % par voie sous-cutanée à la posologie de 200 µg/kg (Oksanen et al, 1996).

La difficulté pour les cervidés sauvages concerne le mode d'administration du traitement. Des essais concluant ont été réalisés en utilisant de l'ivermectine injectable (IVOMECC<sup>®</sup> 1 %) diluée dans de l'eau au 1/20-50 et dont on arrose les granulés. La posologie suggérée est d'administrer 0.3 mg/kg (Kutzer, 1994).



## II- ENQUETE GENERALE SUR LE STATUT PARASITAIRE DES DEPARTEMENTS FRANCAIS VIS-A-VIS DE L'HYPODERMOSE ET DE LA CÉPHÉNÉMYIOSE

### II.1- MATERIEL ET METHODE

Dans un premier temps, afin de se faire une idée sur le statut parasitaire de chaque département, un questionnaire a été envoyé à chaque Fédération départementale des Chasseurs, par l'intermédiaire de l'Union nationale des Fédérations des Chasseurs. Ce questionnaire a été renvoyé par 41 Fédérations (annexe 1).

### II.2- RESULTATS DE L'ENQUETE GENERALE

#### II.2.1- Hypodermose

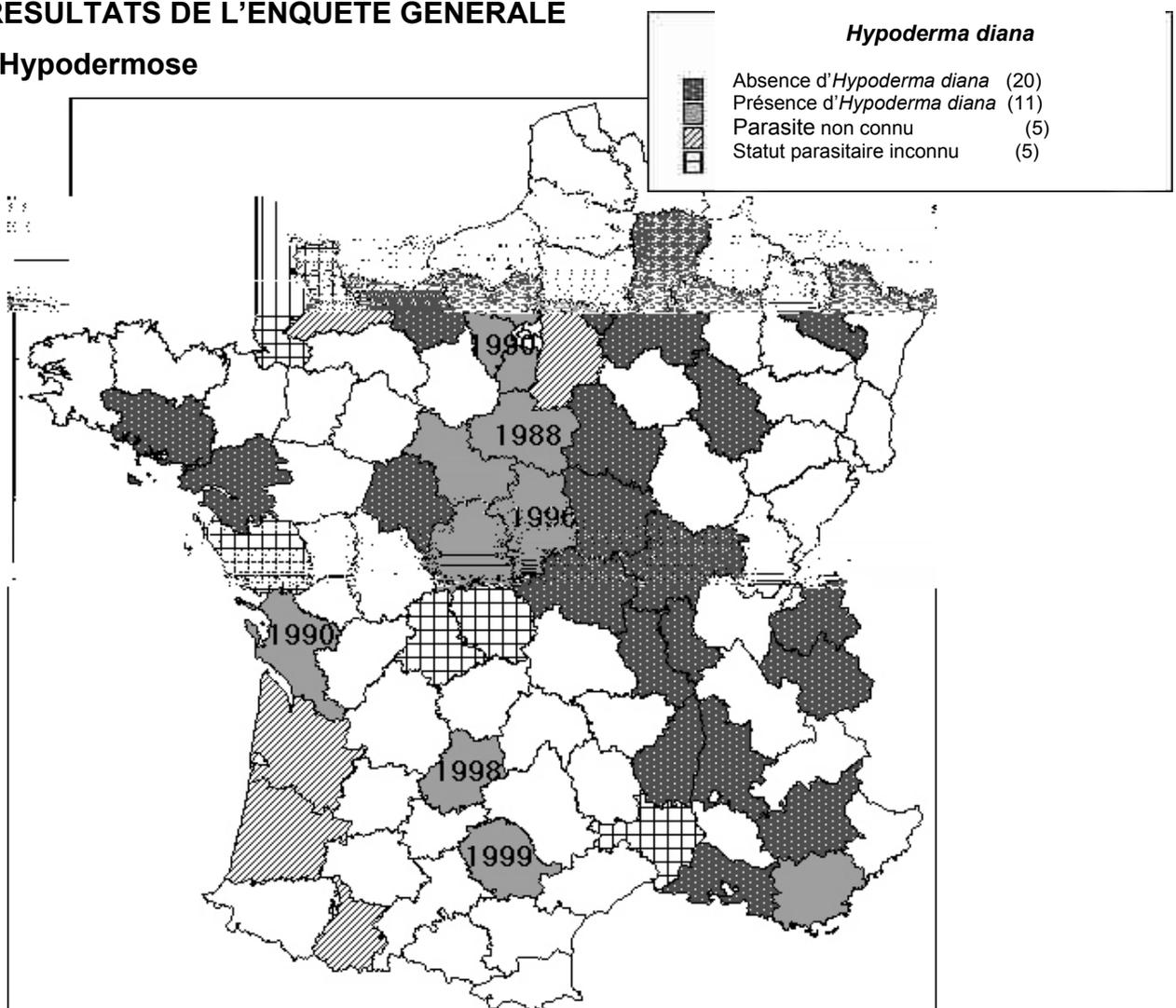


Figure 24: Cartographie de la distribution de l'hypodermose des cervidés, basée sur la connaissance du parasite par les Fédérations départementales des Chasseurs, avec la date supposée d'apparition du parasite (enquête personnelle).

Parmi les différentes FDC qui ont répondu à l'enquête, 27 % d'entre elles signalent la présence d'*Hypoderma diana* sur leur département. Par contre 12 % ne connaissent pas ce parasite.

### II.2.2- Céphénémyose

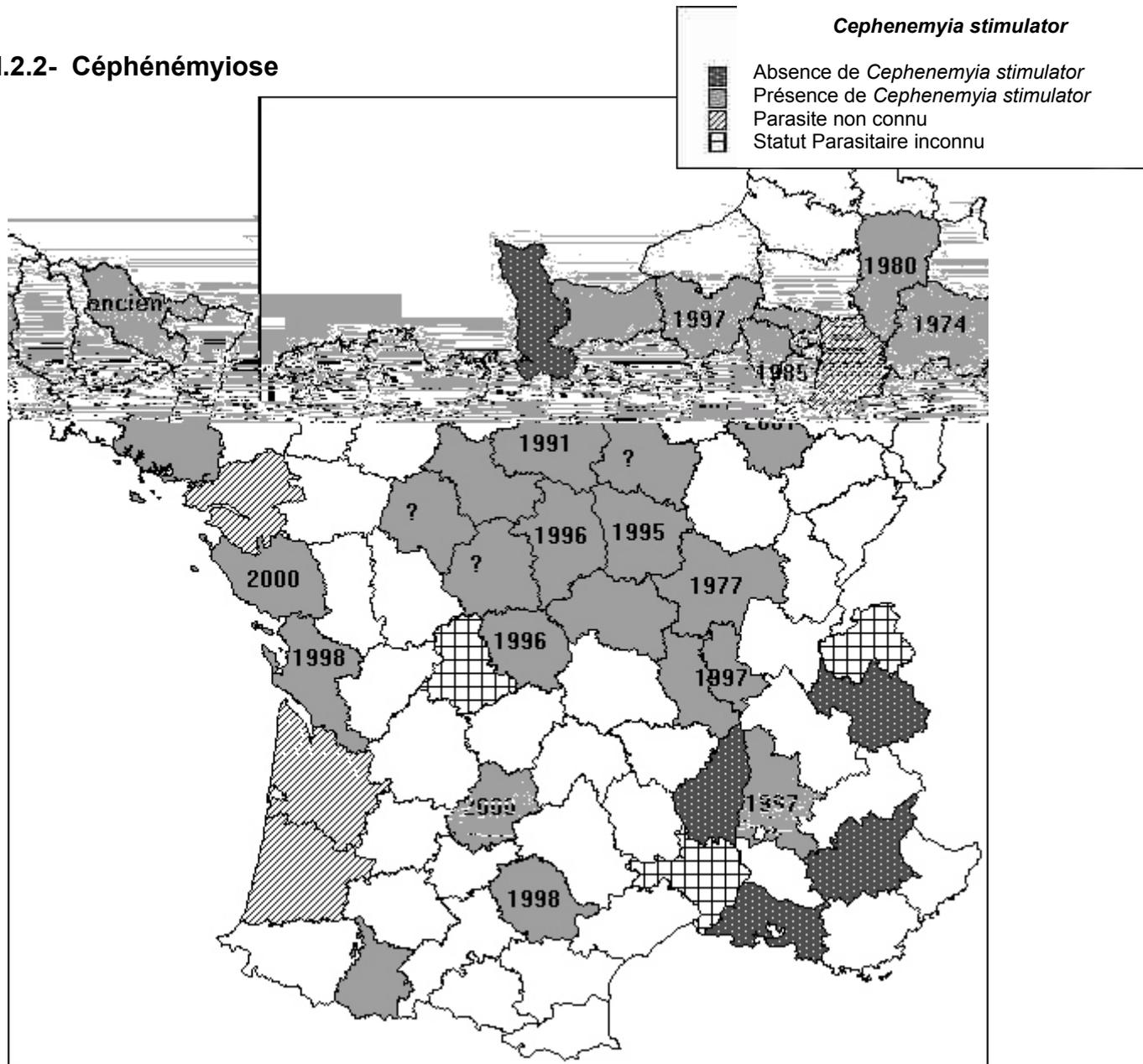


Figure 25: Cartographie de la distribution de la céphénémyose des cervidés, basée sur la connaissance du parasite par les Fédérations départementales des Chasseurs, avec la date supposée d'apparition du parasite (enquête personnelle).

Parmi les différentes FDC qui ont renvoyé le questionnaire, 70 % d'entre elles signalent la présence de *Cephenemyia stimulator* ou de *Pharyngomyia picta* sur leur département. Seulement 10 % ne connaissent pas ces parasites et 12 % affirment que les œstres sont absents de leur département.

### II.2.3- Mouvements d'animaux

De cette étude il ressort qu'il existe un flux d'animaux très important entre presque tous les départements (figure 26). Les sites qui exportent le plus d'animaux sont le territoire de Chambord (41), le site d'étude de Trois-Fontaines (51) et le polygone de Bourges (18).

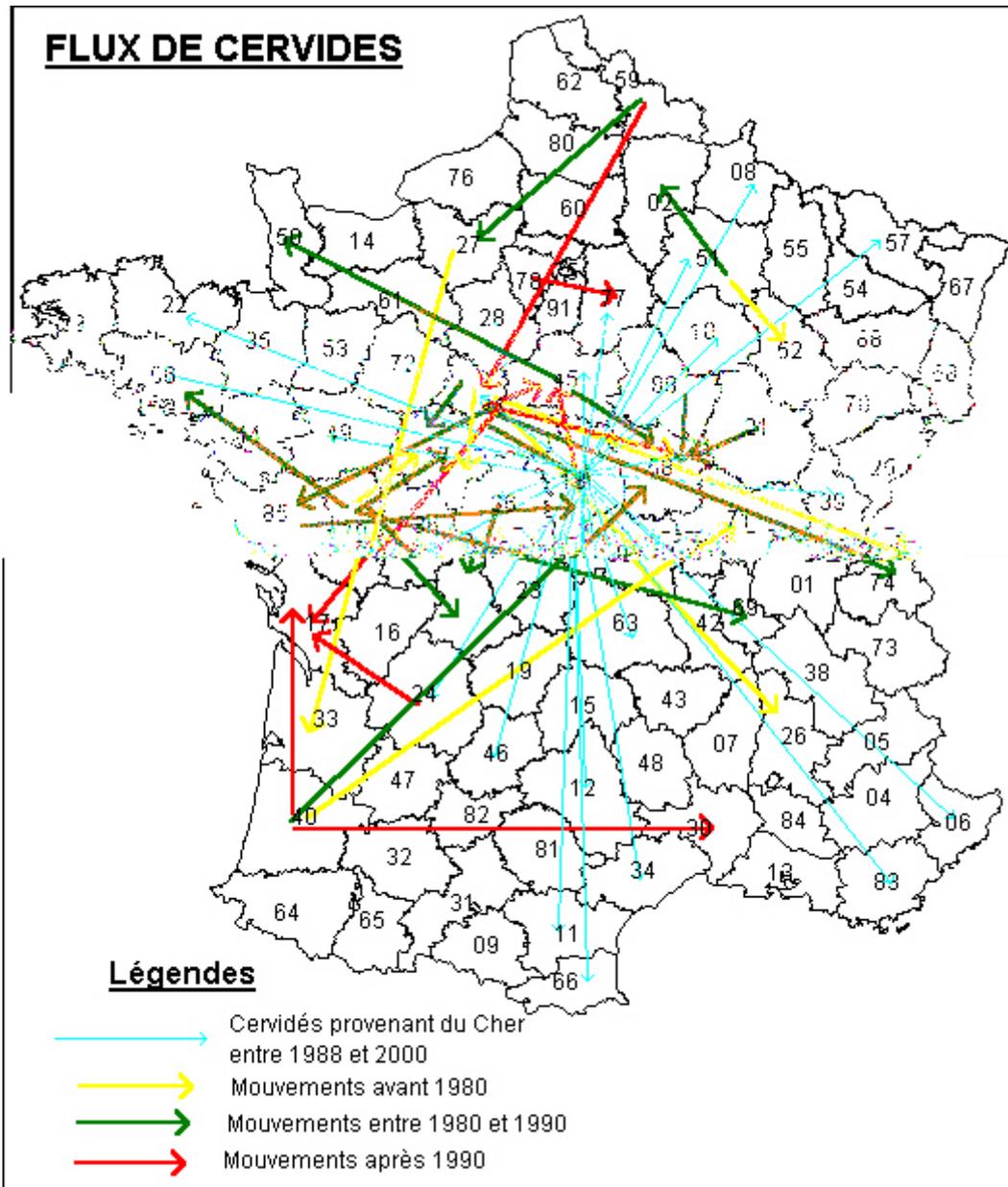


Figure 26: Cartographie des flux de cervidés connus par les 41 Fédérations départementales des Chasseurs (enquête personnelle).

### II.3- DISCUSSION

Il apparaît assez clairement que ces deux parasites sont bien connus de la plupart des fédérations qui ont répondu à l'enquête.

*Hypoderma diana* semble cantonné à quelques départements et souvent à quelques communes dans ces départements. Il semblerait que le foyer connu comme étant le plus ancien soit celui de la Sologne, située sur plusieurs départements. D'autres départements comme le Lot et le Var ont un foyer d'hypodermose beaucoup plus récent et relativement localisé à quelques communes.

La première réponse du département des Alpes-de-Haute-Provence sur la présence de varon sur ses cervidés était négative. Dans un second temps, la fédération des chasseurs nous a fait parvenir un résultat d'examen du laboratoire départemental vétérinaire de Gap qui a trouvé le 14 janvier 2002 des larves d'*Hypoderma diana* sur un chevreuil retrouvé mort le 23 décembre 2001 à Castellane-Eoulx (04). En fait, le nombre de départements sur lesquels il est possible de retrouver *Hypoderma diana* est probablement plus élevé que celui indiqué sur la figure 24.

Concernant les œstres des cervidés, leur répartition semble être beaucoup plus générale. Mais à l'exception d'une minorité de départements qui signalent leur présence depuis plus de vingt ans, la majorité des départements n'a découvert leur présence que très récemment.

En Suisse *Cephenemyia stimulator* est présent depuis de nombreuses années. Bouvier et al (1962) faisaient déjà état de la présence de larves de *Cephenemyia stimulator* sur des cadavres de chevreuils et la mort de sept animaux a été attribuée à la présence de nombreuses larves.

### II.3.1- Périodes de chasse et cycle parasitaire

La période de chasse pour les cervidés s'étale de fin septembre à fin janvier ou fin février selon les départements. En dehors de cette période, les individus mâles peuvent être tirés de début juin à fin août en tir sélectif. Cette chasse à l'approche des mâles est d'importance variable selon les régions et les traditions. C'est un type de chasse qui reste tout de même assez marginal et peu d'animaux sont prélevés pendant l'été.

Les nodules varoneux sont visibles sur les animaux entre novembre et février pour la Sologne. Dans le département du Lot la présence d'*Hypoderma diana* est signalée à partir du mois d'octobre. Au niveau du cycle parasitaire, les larves de deuxième et troisième stade sont observables sur les cervidés entre novembre et fin février. Ces larves, facilement visibles par les chasseurs, sont donc présentes sur les animaux en pleine saison de chasse au moment où la majorité des cervidés sont abattus. De plus ces nodules sont bien mis en évidence lors de la préparation de la venaison.

Concernant *Cephenemyia stimulator* et *Pharyngomyia picta*, seules les larves de deuxième et troisième stade sont facilement visibles. Ces deux stades larvaires s'observent au niveau de l'appareil respiratoire supérieur des animaux entre début février et fin août. Il peut arriver en fonction du climat que quelques larves de troisième stade soient trouvées lors de l'ouverture de la chasse fin septembre. Comme les chasseurs ne regardent que très rarement les sinus et le larynx des cervidés, que peu d'animaux sont prélevés durant cette période, la prévalence du nombre d'animaux parasités est sous-estimée et ce parasite est même souvent inconnu des chasseurs. Les taxidermistes sont les personnes qui connaissent le mieux *Cephenemyia stimulator*, qu'ils trouvent lors de la préparation des trophées.

### II.3.2- Mouvements d'animaux assurés par l'homme

Il est assez difficile de mettre en relation l'apparition d'un parasite comme *Cephenemyia stimulator* dans un département avec l'importation de cervidés issus d'un département connu infesté car les données sur la date d'apparition du parasite dans le département sont peu fiables, *Cephenemyia stimulator* passant souvent inaperçu aux yeux des chasseurs.

Par contre pour *Hypoderma diana*, la présence du parasite est beaucoup plus visible. Il est possible de concevoir que la date du premier cas signalé corresponde environ avec la date d'arrivée du varon dans le département.

Il arrive cependant assez fréquemment que des nodules varoneux soient confondus avec des nodules d'onchocercose ou avec des abcès cutanés. Nous avons mis en évidence la présence d'onchocerques sur un cerfs abattus à Quincy-Basse dans l'Aisne. Plusieurs espèces d'onchocerques, des nématodes filaires, sont connues chez les cervidés (Bain, 1981). *Onchocerca flexuosa* forme des nodules sous-cutanés chez les cerfs, avec plusieurs vers dans le même nodule.

La présence de plusieurs kystes sous-cutanés ne suffit donc pas pour affirmer la présence de varon sur le département. Seule la mise en évidence de la larve d'*Hypoderma diana* ou un test sérologique spécifique peut diagnostiquer cette infestation parasitaire.

Les flux indiqués sur la carte de la figure 26 concernent surtout des opérations de repeuplement réalisées par les FDC et les Groupement Intercommunaux de Chasse (GIC). Les données concernant les flux d'animaux sont difficiles à obtenir et souvent incomplètes. Les enclos faisant venir des animaux pour le tir ne sont pas à déclaration obligatoire dans le département d'importation. Il en résulte une mauvaise connaissance des flux réels et une absence de contrôle de l'état sanitaire des animaux.

### III- DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE DE LA CÉPHÉNÉMYIOSE ET DE L'HYPODERMOSE DES CERVIDES

Cette enquête préliminaire sur la répartition des myiases, qui repose sur des observations faites par les Fédérations des Chasseurs (figures 24 et 25), a ses limites.

Les chasseurs ne communiquent pas systématiquement aux FDC toutes les observations faites sur les cervidés, au niveau de leur territoire. L'observation du parasitisme par *Hypoderma diana* et par *Cephenemyia stimulator* ou *Pharyngomyia picta* reste souvent subjective.

Les parasites ne sont visibles que pendant une période de temps limitée, différente en fonction des départements.

Ils ne sont pas systématiquement recherchés, connus ou remarqués par tous les chasseurs et il est possible de les confondre avec d'autres parasites.

Il a donc été nécessaire d'utiliser une approche plus fine et plus sensible afin de connaître la distribution d'*Hypoderma diana* et de *Cephenemyia stimulator*.

Des outils de sérodiagnostic ont déjà été mis au point pour le suivi de l'hypodermose bovine : *Hypoderma bovis* et *Hypoderma lineatum* (Boulard et al, 1996) en utilisant comme antigène le premier stade larvaire d'*Hypoderma lineatum*. L'existence de réactions croisées entre *H.lineatum* et *H.diana* est aussi connue (Tableau II)(Boulard et al, 1996).

Cependant les prélèvements se faisant en pleine nature, tout au long de la saison de chasse et dans dix départements, il aurait été difficile de travailler sur le sérum des animaux en raison des impératifs de centrifugation et de conservation. Il a donc été nécessaire d'utiliser une nouvelle technique de prélèvement du sang sur buvard, de réaliser les mises au point et de valider la méthode.

### III.1- MATERIEL ET METHODE

#### III.1.1- Animaux et buvards

##### III.1.1.1- Protocole de l'enquête

##### III.1.1.1.1- Départements étudiés

Dix départements ont été choisis pour l'étude. Ces départements sont l'Aisne, la Charente-Maritime, le Cher, la Dordogne, l'Indre, l'Indre-et-Loire, le Loir-et-Cher, le Loiret, le Lot et la Marne. Il est possible de classer ces 10 départements en trois catégories :

- Une première catégorie regroupe des départements pour lesquels la présence d'*Hypoderma diana* n'a jamais été observée. Ces départements sont l'Aisne, la Marne et la Dordogne.
- La seconde catégorie regroupe les départements concernés depuis plusieurs années par l'hypodermose des cervidés. Ce groupe est représenté par la Sologne et au niveau administratif par le Cher, le Loiret, le Loir-et-Cher, l'Indre et l'Indre-et-Loire.
- La troisième catégorie vise à étudier des départements comme la Charente-Maritime et le Lot qui ont depuis peu de temps un foyer d'hypodermose connu.

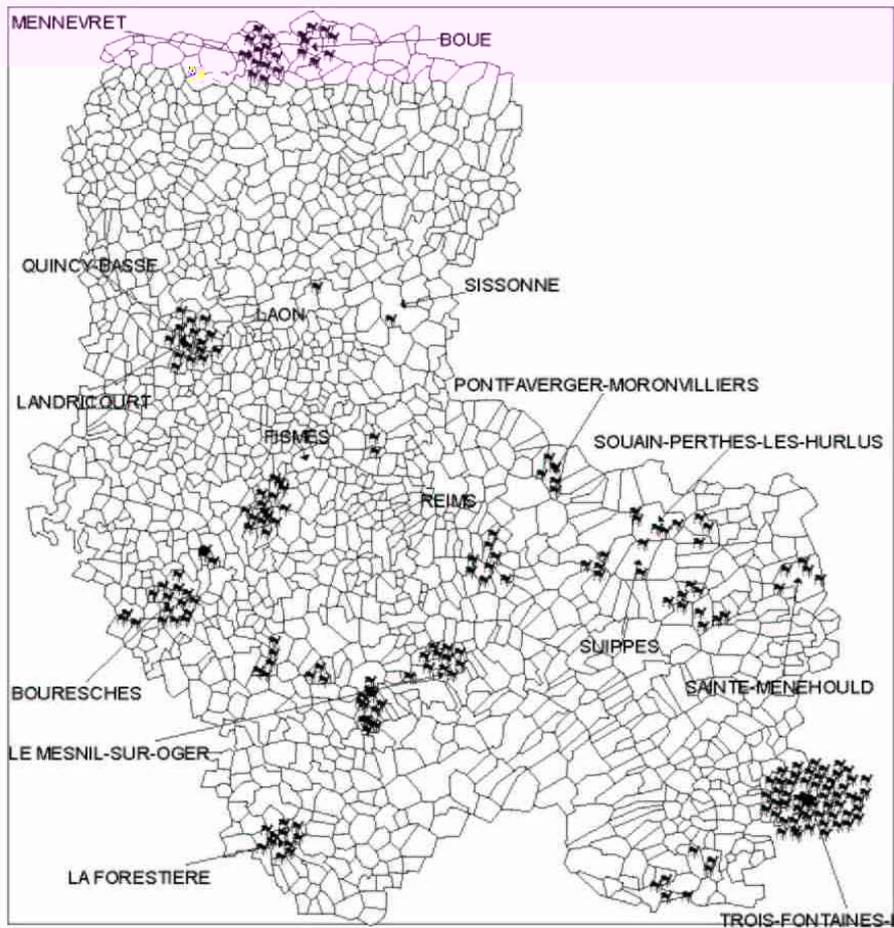
##### III.1.1.1.2- Prélèvements dans chaque département

Ce sont les Fédérations départementales des Chasseurs qui se sont chargées de distribuer les buvards aux chasseurs. Il avait été demandé aux FDC de trouver 20 lieux de prélèvements répartis sur tout le département et de réaliser 15 prélèvements de sang de cervidés sur chacun de ces 20 territoires.

Plusieurs paramètres ont modifié ce protocole de base : les aléas de la chasse, les plans de tirs hétérogènes entre les différentes communes au sein d'un même département, les relations entre les FDC et les chasseurs, et la motivation des chasseurs.

La localisation des 1578 prélèvements réalisés sur les 10 départements est présentée dans les figures 27 à 30.

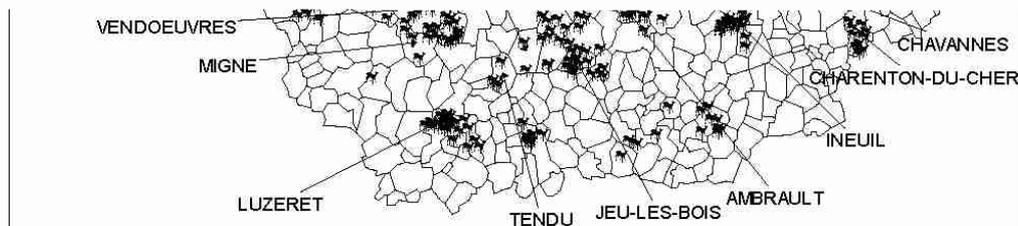
# Localisation des prélèvements dans l'Aisne et dans la Marne



-  Prélèvements
-  Limites communales

Figure 27 : Localisation des 229 prélèvements de sang de cervidés réalisés dans l'Aisne et la Marne

## Localisation des prélèvements dans la région Centre



### Légende

-  **prélèvement**
-  **Limites communales**

Figure 28 : Localisation des 904 prélèvements de sang de cervidés réalisés dans le Cher, le Loir-et-Cher, L'Indre, le Loiret et l'Indre-et-loire.

## Localisation des prélèvements dans le Lot

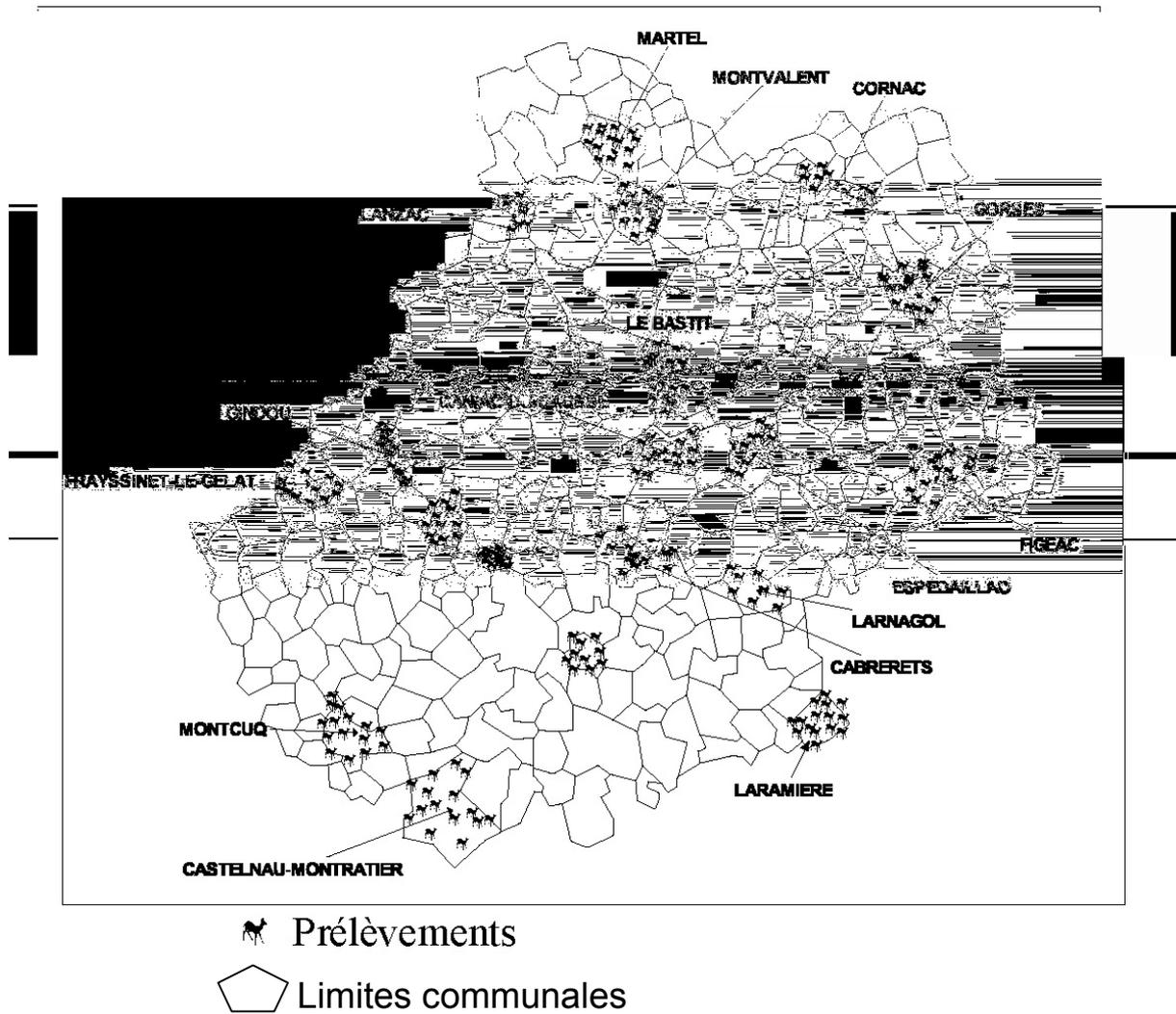


Figure 29 : Localisation des 243 prélèvements de sang de cervidés réalisés dans le Lot

## Localisation des prélèvements en Charente-Maritime

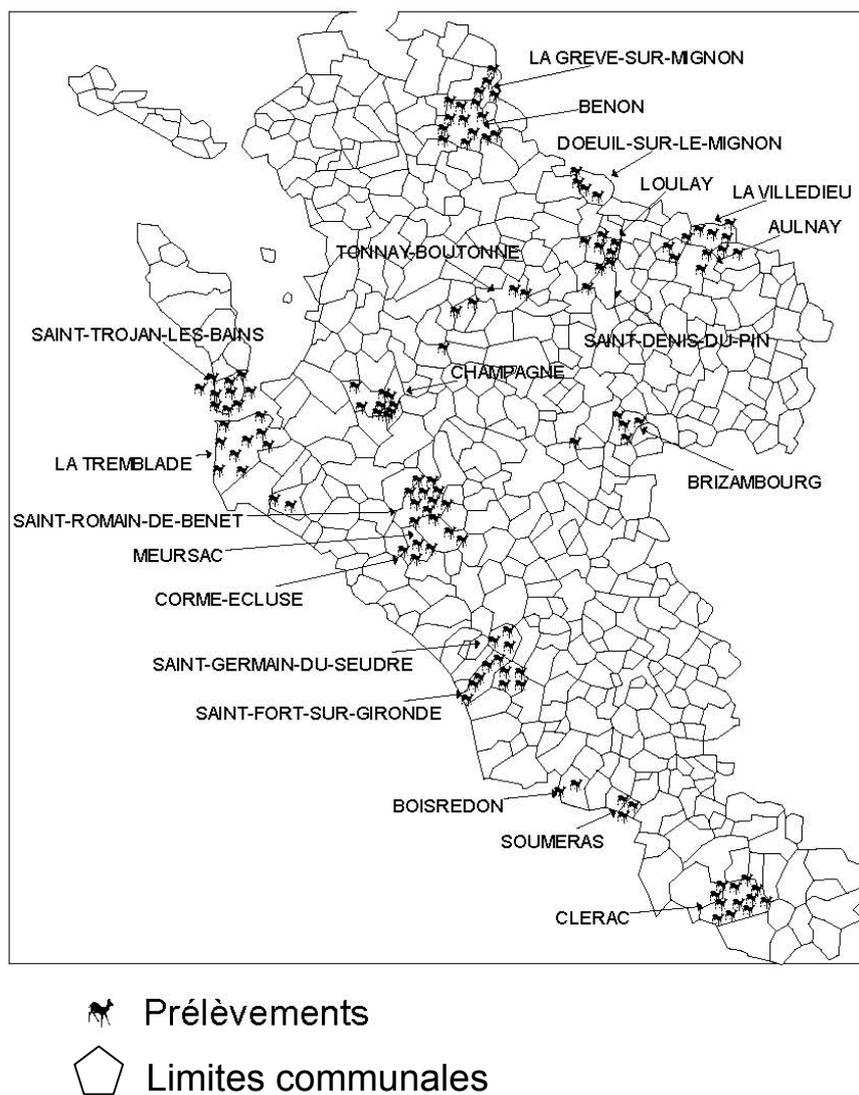


Figure 30 : Localisation des 125 prélèvements de sang de cervidés réalisés en Charente-Maritime

### III.1.1.2- Technique de prélèvement et protocole

Habituellement, les examens sérologiques sont réalisés sur le sérum des animaux. Cependant travailler sur le sérum engendre des difficultés non négligeables lorsque l'on étudie la faune sauvage. Il faut disposer de techniques robustes et limiter les interventions sur les prélèvements. De plus, la plupart des prélèvements sont réalisés par des personnes n'ayant pas l'habitude de ce genre de manipulations. C'est pourquoi dans le but de simplifier les techniques de prélèvement, de s'affranchir des manipulations liées à la centrifugation et des contraintes de conservation, à partir du chevreuil n°70, les prélèvements ont été réalisés à l'aide de buvards.

Les prélèvements ont été réalisés soit sur des chevreuils vivants lors des reprises d'animaux faites à Trois-Fontaines (Marne), soit sur des cervidés abattus lors de la saison de chasse.

Le sang des 69 premiers animaux a été prélevé sur tube sec et le sérum a été congelé après centrifugation du sang. Les 53 animaux suivants ont été prélevés sur tubes sec et sur buvards. A partir du numéro 122, le sang des cervidés a été prélevé exclusivement sur buvard (figure 31).

Chaque prélèvement a été numéroté de 1 à 1587 en fonction de son ordre d'arrivée au laboratoire.

Le buvard utilisé pour les prélèvements est du papier Wathman 3MMCHR 09002 (46 cm x 57 cm) de chez Polylabo. Dans chaque feuille sont découpés 16 rectangles de 14,2 cm de long sur 11,5 cm de large. Sur chaque buvard est collée une étiquette de 10.5 cm sur 4.2 cm à remplir, avec les commémoratifs de l'animal prélevé.

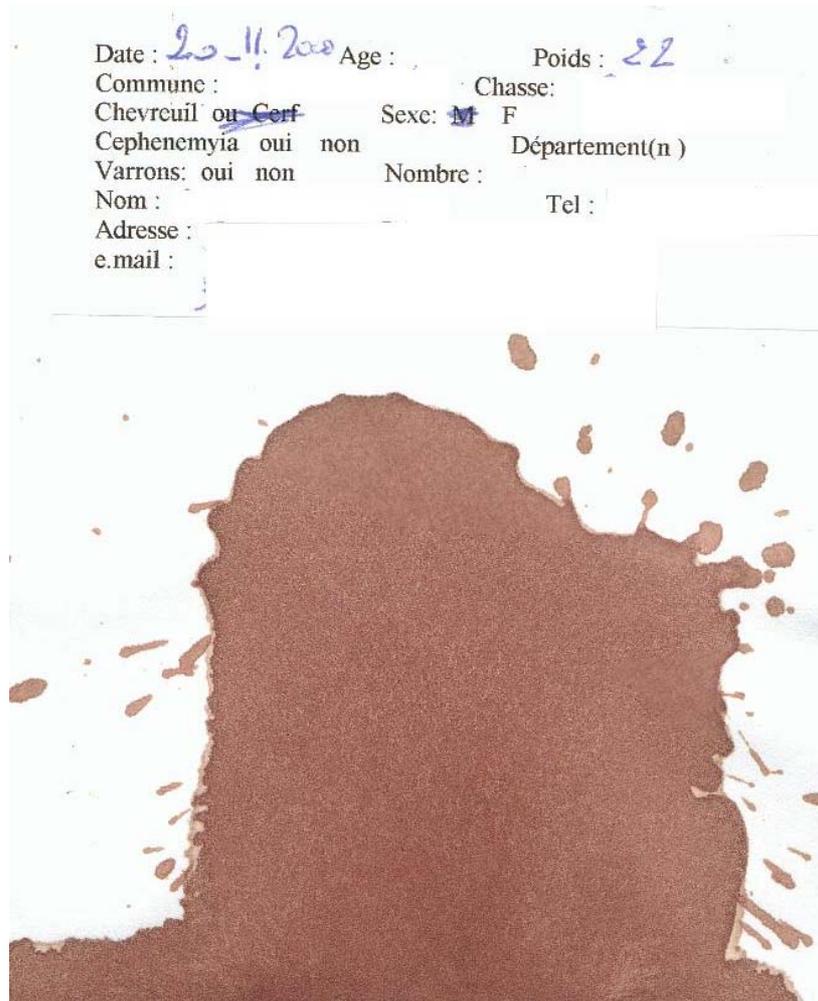


Figure 31: Buvard (Wathman 3MMCHR 09002) servant au prélèvement du sang des cervidés

#### III.1.1.2.1- Chevreuils vivants

Sur les chevreuils du domaine forestier de Trois-Fontaines, appartenant à l'ONC, la prise de sang est réalisée à la veine jugulaire et le sang est déposé sur un buvard (figure 31), de telle manière que celui-ci soit imbibé de manière homogène en sang. Les 58 chevreuils capturés dans les filets les jours de prélèvement ont été ponctionnés.

#### III.1.1.2.2- Cervidés issus de la chasse

Pour ces animaux, il a été demandé aux chasseurs de sectionner la veine jugulaire lors de la découpe du gibier et de laisser couler le sang directement sur le buvard.

### III.1.1.2.3- Précautions lors du prélèvement

Pour la réalisation des prélèvements, il a été demandé aux chasseurs que : les animaux soient prélevés au hasard et que les prélèvements soient réalisés tout au long de la saison de chasse. Le sang issu de la veine jugulaire doit être le moins souillé possible et doit bien imbiber le buvard de façon à ce que la tache de sang soit aussi bien visible d'un côté que de l'autre du buvard. Les étiquettes, avec les commémoratifs, collées sur les buvards doivent être remplies de façon complète. Enfin il a été demandé de bien laisser sécher séparément les buvards et de les envoyer en les séparant les uns des autres par une feuille de papier.

### III.1.2- Diagnostic sérologique

#### III.1.2.1- La technique ELISA

##### III.1.2.1.1- Objectif

Dans notre étude, le but de la technique ELISA est de mettre en évidence la présence d'anticorps spécifiques dirigés contre les larves d'*Hypoderma diana*, de *Cephenemyia stimulator* ou de *Pharyngomyia picta* présents dans le sérum des chevreuils ou des cerfs.

##### III.1.2.1.2- Principe

Un antigène spécifique d'un agent pathogène est fixé sur un support (plaque en plastique contenant 96 puits : figure 32).

Le sérum de l'hôte est mis en incubation sur cette plaque. S'il possède des anticorps dirigés contre les antigènes de l'agent correspondant, ceux ci vont se fixer dessus. Ensuite un deuxième anticorps, marqué à la peroxydase, anti IgG de l'espèce hôte étudiée est déposé sur la plaque. Ce deuxième anticorps va révéler les complexes antigènes-anticorps. La peroxydase fixée sur cet anticorps agissant sur un substrat donnera une coloration dont l'intensité sera proportionnelle à la quantité d'anticorps présents. La réaction observée pour chaque sérum sera comparée à des sérums de référence d'animaux indemnes ou très positifs (figure 32).

### III.1.2.1.3- Préparation des pools de sérums de référence et des antigènes

#### III.1.2.1.3.1- Hypodermose des cervidés

Le pool positif de référence est réalisé avec 500 µl des sérums suivants : n<sup>os</sup> 34, 35, 42, 47, 51, 59, 78, 81, 82 et 95. Lors de tests préliminaires, tous ces sérums avaient une densité optique élevée ; De plus pour tous ces animaux il a été trouvé des varons.

Le pool négatif de référence a été réalisé à partir de 500 µl de sérums provenant du site de Trois-Fontaines (Marne), département sur lequel il n'a jamais été signalée la présence de varon. Ces animaux sont les numéros 5, 8, 9, 15, 18, 21, 25, 26, 28 et 31. Lors des tests préliminaires, la densité optique de ces sérums était très faible.

L'antigène utilisé est issu d'une purification par précipitation en sulfate d'ammonium du premier stade larvaire d'*Hypoderma lineatum* (INRA, Nouzilly). Cette préparation est riche en hypodermine C (Boulard, 1970).

#### III.1.2.1.3.2- Oestrose des cervidés

##### III.1.2.1.3.2.1- Sérums de référence pour la sérologie des myiases naso-pharyngées

Pour le diagnostic nous avons procédé par analogie avec les hypoderminae . Dans ce groupe des genres très proche comme *Hypoderma* et *Przhevskiana* ont des réactions croisée (Boulard et al, 1996). Le sérum de référence positif choisi est le buvard qui a obtenu la densité optique la plus élevée lors du calibrage du test. *Pharyngomyia picta* et *Cephenemyia stimulator* étant également très proche phylogénétiquement, nous avons utilisé à priori, les mêmes réactifs pour leur diagnostic. C'est le buvard n° 1297 provenant du territoire de Chambord (41). L'animal correspond à un cerf de huit mois sur lequel des larves de *Pharyngomyia picta* ont été prélevées.

Le sérum de référence négatif est le buvard n°685 dont le sang a été prélevé sur un jeune chevreuil de Onzain (41). Lors des tests préliminaire ce prélèvement a donné des valeurs faibles de densité optique. Sur ce jeune chevreuil aucune larve d'œstre n'a été signalée.

### III.1.2.1.3.2.2- Antigènes de *Cephenemyia stimulator*

Pour préparer l'antigène, 7 jeunes larves de *Cephenemyia stimulator* de troisième stade ont été broyées dans 20 ml de tampon de lyse constitué de Tris à 50 mM, de NaCl à 0.15 M, d'EDTA à 2 M et de 0.5 ml de Triton pour un volume de 100 ml. Le broyat est ensuite centrifugé une heure à 4800 g. Le surnageant est filtré sur une membrane (pores de 0.45 µm) puis aliquoté en tube d'un millilitre. Les aliquots sont de nouveau centrifugés à 4800 g pendant 5 minutes à 4°C. Le broyat total de jeunes L3 est alors dosé par BCA (Bicinchonic Acid). Sa concentration est de 12.5 mg/ml.

### III.1.2.1.3.2.3- Fraction antigénique de *Cephenemyia stimulator* reconnue par les anticorps des cervidés parasités par *Cephenemyia stimulator* ou par *Pharyngomyia picta*

Pour déterminer la fraction antigénique qui réagit avec les anticorps présents dans le sang des animaux parasités par *Cephenemyia stimulator*, des Western blot ont été réalisés. Cinq fractions antigéniques ont été utilisées : des broyats totaux de larves de *Cephenemyia stimulator* de deuxième (L2) et de troisième stade (L3), des sécrétions de larves de *Cephenemyia stimulator* de deuxième et de troisième stade et un broyat total de L1 d'*Oestrus ovis*. Les protéines dénaturées par du SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) et réduites par du β mercaptoéthanol sont séparées par un champ électrique selon leur poids moléculaire. Un gel à 12 % d'acrylamide est préparé et permet de séparer les protéines de 20 à 120 kD. Dix puits sont formés sur chaque gel pour la migration du marqueur de poids moléculaire et de 9 échantillons dont on veut déterminer le poids moléculaire des protéines qui le composent.

Les protéines qui ont migré sur le gel sont ensuite transférées sur une membrane de nitrocellulose au moyen d'un tampon de transfert et d'un courant électrique. Les protéines transférées sur la membrane sont ensuite révélées au contact d'un sérum positif ou d'un sérum négatif et du conjugué marqué à la peroxydase.

La concentration du broyat total (Bt) de L3 est à 12.5 mg/ml et 2.4 µl sont déposés par puit. Pour le Bt L2 à 1.5 mg/ml, 20 µl sont déposés dans chaque puit. Pour le Bt L1 à 0.25 mg/ml, 22 µl sont déposés par puit. Les sécrétions (ES) des L2 sont à 450 µg/ml et les ES L3 à 100µg/ml. Pour les ES, 22 µl sont déposés par puit.

Pour révéler les Western blots, les buvard 685 et 1297 sont utilisés. (Annexe 2).

#### III.1.2.1.4- Mode opératoire des sérologies ELISA

Le protocole se réalise sur deux jours.

Le premier jour, les plaques ELISA sont sensibilisées avec 100µl de la solution antigénique diluée en tampon carbonate.

Pour l'hypodermose, on utilise une solution antigénique d'*Hypoderma lineatum* (Boulard et al 1981) à une concentration 2.5µg/ml.

Pour la céphénémyiose, on utilise une solution antigénique de broyat total de larves L3 de *Cephenemyia stimulator* à 1µg/ml (Technique ELISA que nous avons mise au point pour la céphénémyiose, à l'INRA de Nouzilly, à partir de la sérologie hypodermose élaborée par le laboratoire de Chantal Boulard à l'INRA).

Puis les plaques sont mises 1h à 37°C à l'étuve avant de passer la nuit à +4°C.

A l'aide d'une poinçonneuse, une pastille est découpée à partir du buvard. Cette pastille de 5 mm de diamètre et diluée dans 1 ml de PBSTG (Phosphate Buffer Saline Tween Gelatine) pour le test de l'hypodermose ou dans 700 µl de PBSTG pour le test de la céphénémyiose.

Le lendemain les plaques sont lavées automatiquement avec le tampon PBST (Phosphate Buffer Saline Tween ) préparé la veille.

Les sites de fixation non spécifiques sont saturés par 200µl/puits de tampon carbonate-gélatine à 0.5 %. Les plaques sont ensuite mises à l'étuve pendant 30 minutes à 37°C.

Le contenu des plaques est éliminé et 100µl de la solution obtenue à partir de la dilution de la pastille du buvard est déposé en triplicata dans les puits (figure 32). Le pool positif et le pool négatif sont dilués au  $1/100^{\text{ème}}$  pour la sérologie hypodermose. Pour les sérums de référence positif et négatif pour la sérologie céphénémyiose, la dilution utilisée est celle d'une pastille dans 700 µl de PBSTG. Puis les pools de référence sont déposés en triplicatas dans les cupules des plaques. Les plaques ainsi réalisées sont laissées 1h30 à l'étuve à 37°C.

Après quatre nouveaux lavages en PBST, 100µl de la solution de conjugué (Rabbit Anti Goat dilué au  $1/5000$ : anticorps de lapin dirigés contre des anticorps de chèvre) marquée à la peroxydase et diluée en PBSTG sont déposés dans chaque puits. Incubation 1 heure à 37°C.

Ensuite quatre lavages automatiques en PBST sont réalisés suivis de deux lavages manuels en PBS (Phosphate Buffer Saline) à la pissette.

100µl de solution d'ABTS (substrat de la peroxydase) sont déposés dans chaque puit, puis les plaques sont incubées une heure à 37°C avant d'être lues au spectromètre à 405 nm.

### III.1.2.2- Expression des résultats des sérologies et définition du seuil de positivité des test ELISA Hypodermose et Céphénémyiose

Pour chaque cervidé, le test sérologique est réalisé.

Les résultats bruts des sérologies ELISA sont exprimés en densité optique. Afin de pouvoir comparer entre eux tous les résultats obtenus, un pourcentage de densité optique est calculé par rapport à un pool de sérums de référence positif et un pool de sérums de référence négatif présents sur toutes les plaques ELISA.

La formule utilisée pour calculer le pourcentage de densité optique est la suivante :

$$\frac{(\text{Moyenne de l'échantillon} - \text{Moyenne du pool négatif})}{(\text{Moyenne pool positif} - \text{Moyenne pool négatif})} \times 100.$$

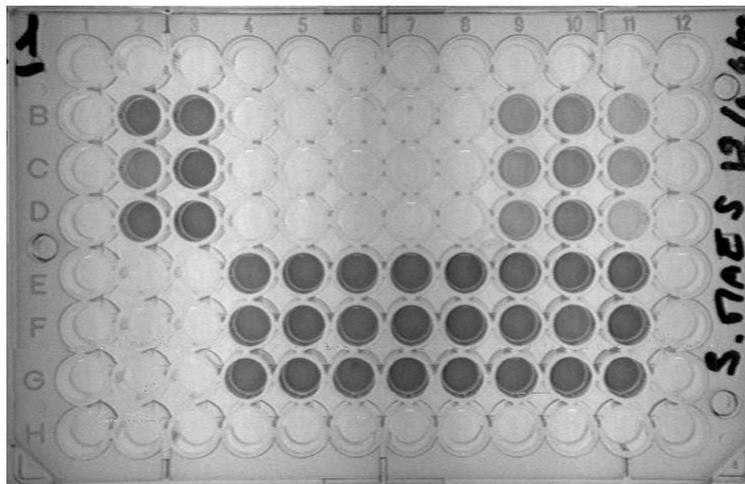


Figure 32: Plaque ELISA du test sérologique *Hypoderma diana* ; les triplicatas foncés sont les animaux positifs au test (Pool positif :B2-C2-D2 ;pool négatif :E2-F2-G2)

### III.1.2.2.1- Définition du seuil de positivité du test ELISA Hypodermose

Le seuil de positivité du test ELISA pour le sérodiagnostic de l'hypodermose a été fixé à 20 % (Boulard et al, 1996). Ce seuil correspond à la moyenne des DO des sérums négatifs auquel est ajouté trois fois l'écart type de ces DO. Ceci se vérifie dans les départements où le parasite est absent, comme l'Aisne et la Marne. Les pourcentages de DO varient alors entre 0 et 13.84 % pour ces deux départements. Dans les départements parasités, le pourcentage de densité optique varie entre 0 et 120 %.

### III.1.2.2.2- Définition du seuil de positivité du test ELISA Céphénémyiose

Pour *Cephenemyia stimulator*, aucune étude sérodiagnostic n'avait été réalisée. De plus il n'existe pas de région connue en France où les cervidés sont indemnes de ce parasite, ce qui aurait permis de définir un seuil entre les animaux sérologiquement positifs et les animaux négatifs. L'idéal aurait été de réaliser une infestation expérimentale et de suivre sur plusieurs mois le titre des anticorps contre *Cephenemyia stimulator*.

Il a alors été réalisé, avec Mr Jacques Cabaret (INRA, Nouzilly) ; une étude statistique de l'échantillon dans le but de déterminer un seuil de positivité pour le test ELISA céphénémyiose.

### III.1.3- Caractéristiques de l'échantillon

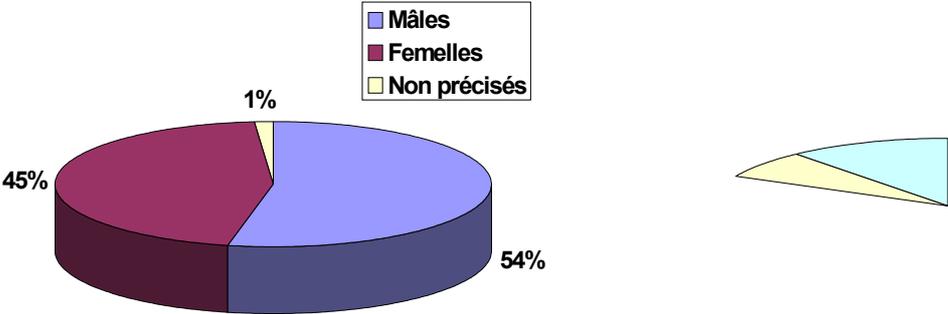
La sérologie ELISA Hypodermose a été réalisée sur 1580 cervidés. Sur ces animaux, 1511 cervidés ont été testés également avec la sérologie ELISA céphénémyiose. Cette différence d'échantillon est due à ce que certains prélèvements étant réalisés en petite quantité, il n'a pas été possible de tester ces animaux pour *Hypoderma diana* et pour *Cephenemyia stimulator*. Les caractéristiques de l'échantillon des 1580 cervidés testés pour *Hypoderma diana* sont représentés pour chaque département par le tableau III et les diagrammes qui suivent (figures 33 à 52). Pour *Cephenemyia stimulator* les caractéristiques de l'échantillon sont les mêmes.

Au niveau de l'âge, les animaux de 0 à 2 ans  $\frac{1}{2}$  sont considérés comme



III.1.3.2- Département de la Marne

L'échantillon des 152 cervidés est constitué uniquement de chevreuils



### III.1.3.4- Département du Loir-et-Cher

L'échantillon des 212 cervidés du Loir-et-Cher est constitué de 36 cerfs et de 176 chevreuils.

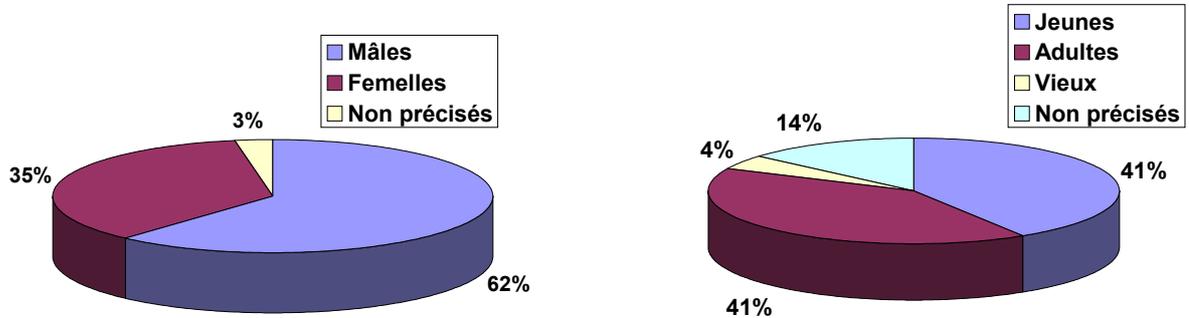
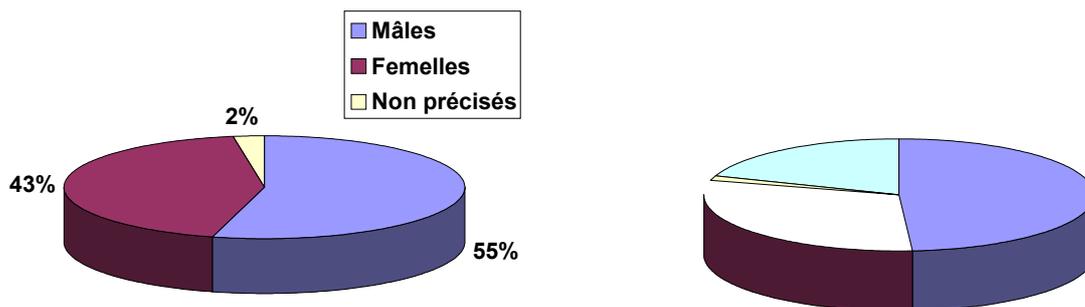


Figure 39(gauche) : Répartition de l'échantillon du Loir-et-Cher en fonction du sexe

Figure 40 (droite) : Répartition de l'échantillon du Loir-et-Cher en fonction de l'âge

### III.1.3.5- Département du Loiret

L'échantillon des 164 cervidés du Loiret est constitué de 10 cerfs et de 154 chevreuils.



### III.1.3.6- Département de l'Indre

L'échantillon des 181 cervidés de l'Indre est constitué de 94 cerfs et de 87 chevreuils.

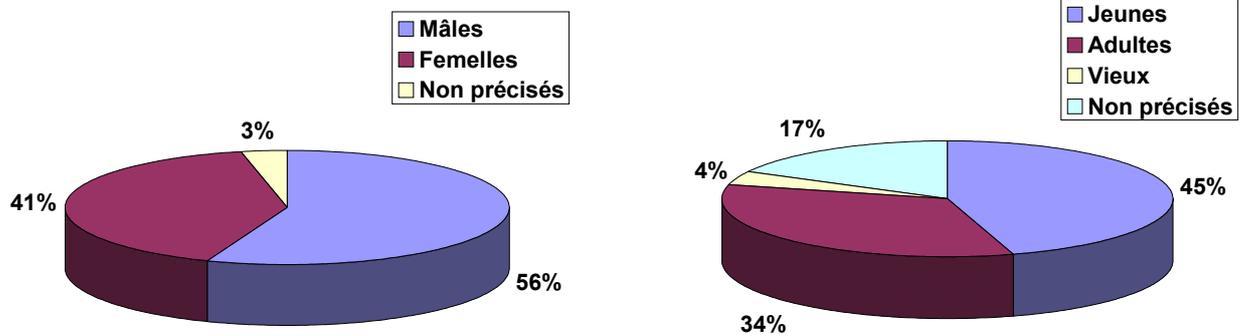


Figure 43 (gauche) : Répartition de l'échantillon de l'Indre en fonction du sexe

Figure 44 (droite) : Répartition de l'échantillon de l'Indre en fonction de l'âge

### III.1.3.7- Département de l'Indre-et-Loire

L'échantillon des 103 cervidés de l'Indre-et-Loire est constitué de 22 cerfs et de 81 chevreuils.

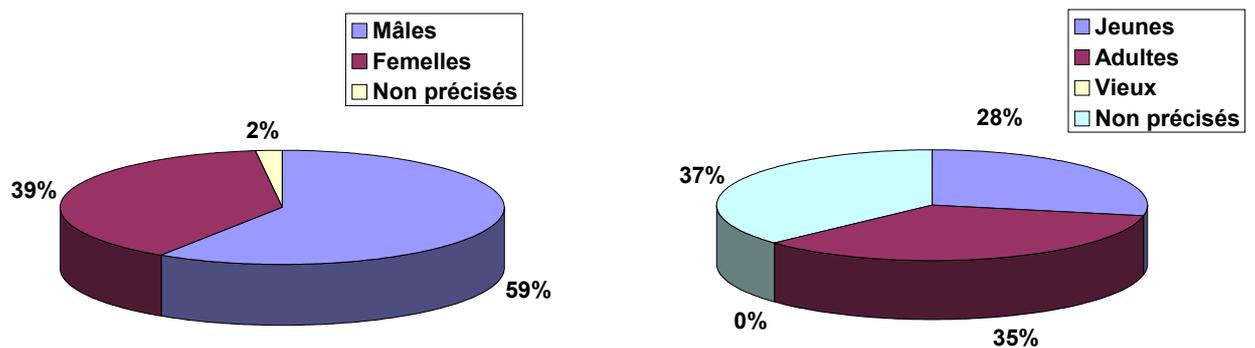
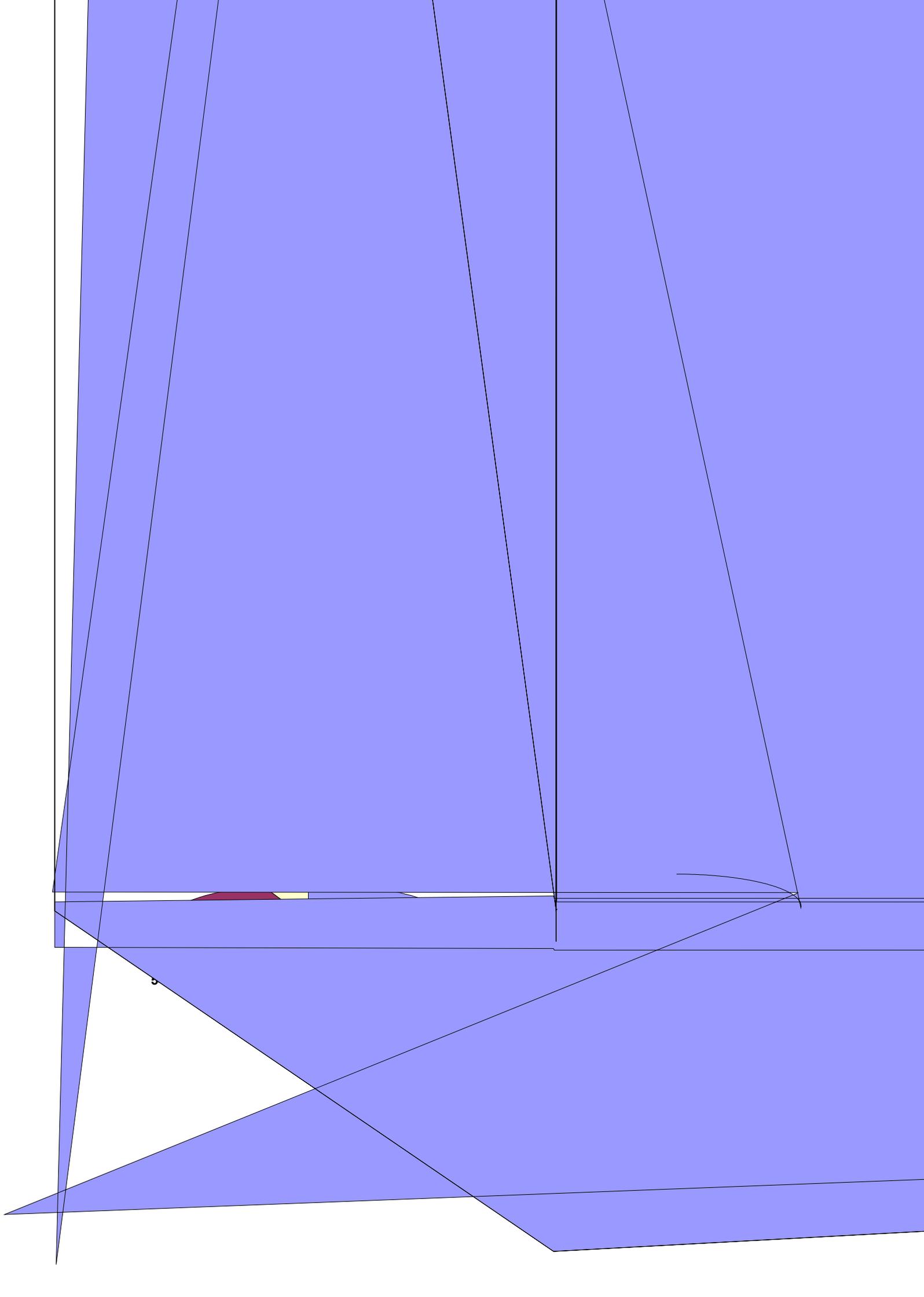


Figure 45 (gauche) : Répartition de l'échantillon de l'Indre-et-Loire en fonction du sexe

Figure 46 (droite) : Répartition de l'échantillon de l'Indre-et-Loire en fonction de l'âge



### III.1.3.10- Département de la Dordogne

L'échantillon des 77 cervidés de Dordogne est constitué uniquement de chevreuils

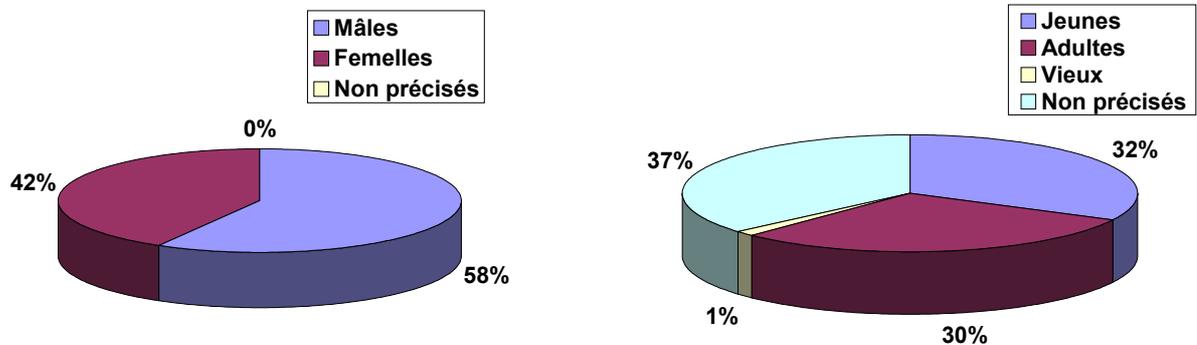


Figure 51 (gauche) : Répartition de l'échantillon de la Dordogne en fonction du sexe

Figure 52 (droite) : Répartition de l'échantillon de la Dordogne en fonction de l'âge

Au final, la répartition de l'échantillon se distribue entre les différents départements de la manière suivante : figure 53.

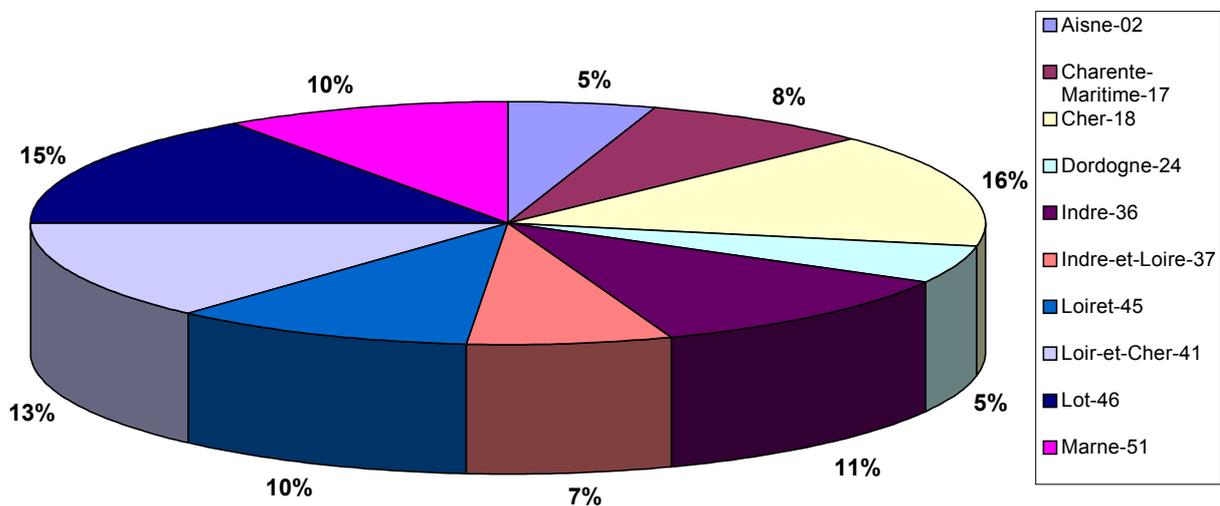


Figure 53 : Répartition des prélèvements de sang entre les différents départements

### III.2- RESULTATS DE L'ETUDE SEROLOGIQUE

III.2.1- Comparaison de la réponse de densité optique en fonction de la nature du prélèvement : sérum ou sang imbibé sur un buvard

Les résultats pour 39 animaux dont le test ELISA Hypoderme a été réalisé trois fois en utilisant le sérum dilué au 1/100<sup>ème</sup>, une pastille de buvard imbibée de sang et diluée dans 500 µl de PBSTG ou encore une pastille de buvard imbibée de sang et diluée dans 1 ml de PBSTG sont présentés figure 54.

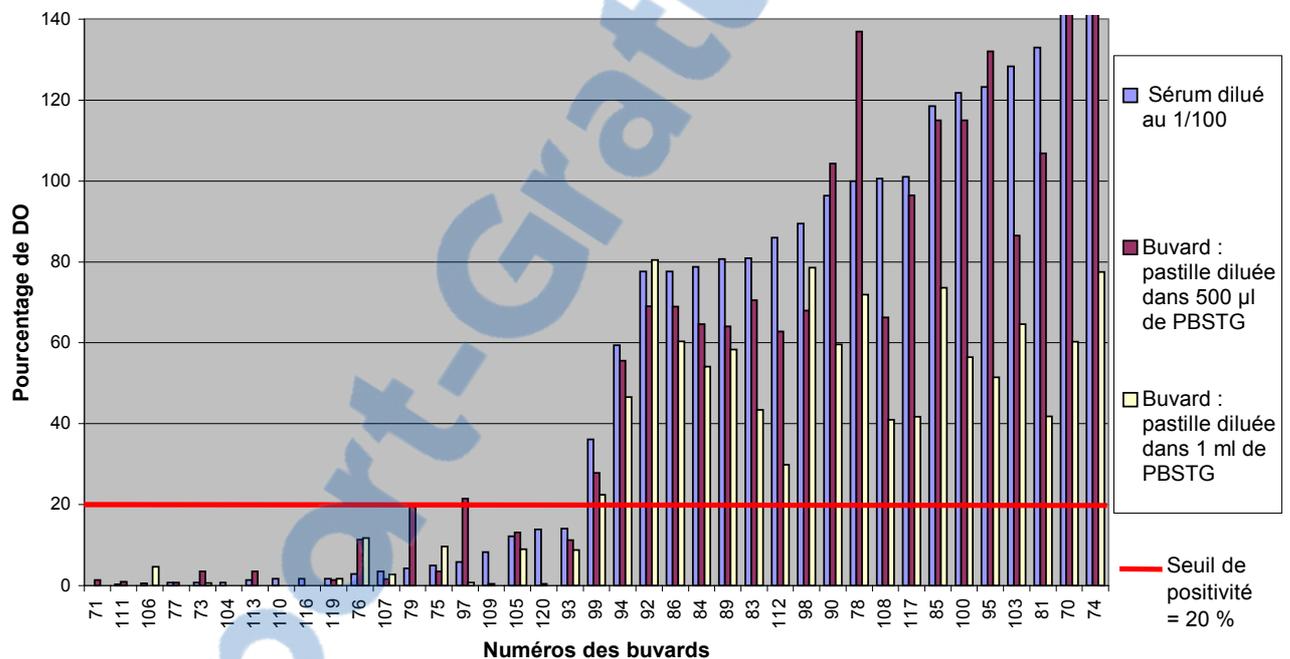
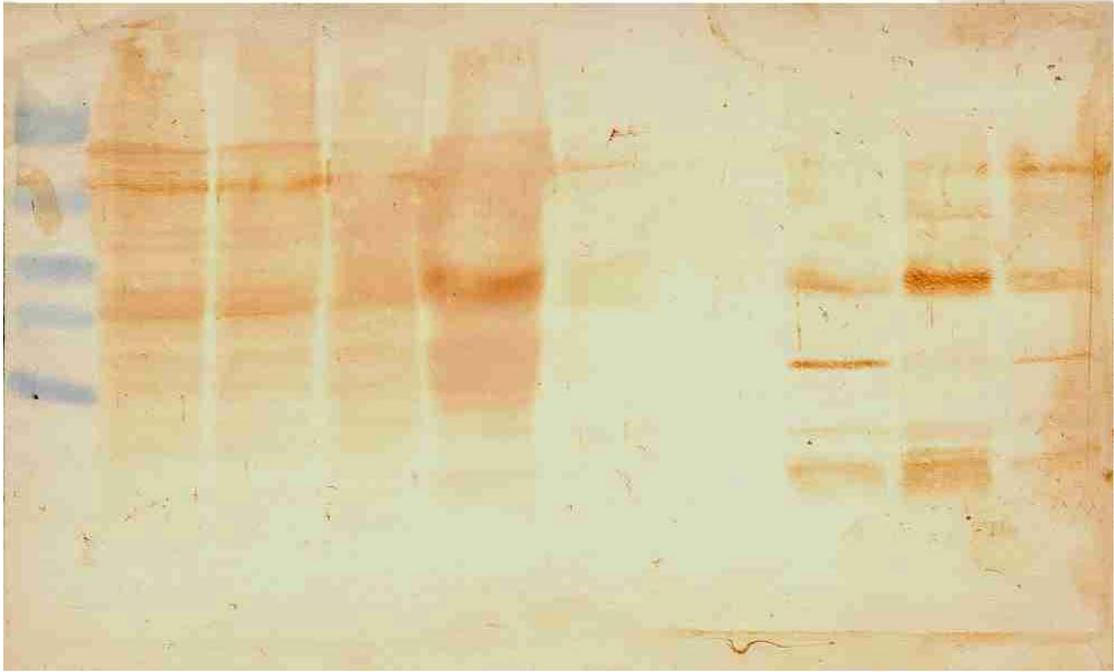


Figure 54: Comparaison du pourcentage de densité optique obtenu lors des sérologies hypoderme, pour un même animal en fonction de la dilution du sérum ou de la pastille de buvard

#### III. 2.2 – Antigène de *Cephenemyia stimulator*

La comparaison des deux western blots révèle la présence d'une bande non spécifique car reconnue par le sérum positif et le sérum négatif, entre 30 et 35 kDa. Par contre deux bandes sont révélées uniquement par le sérum positif : une première qui se situe autour de 25 kDa et une seconde vers 15 kDa pour les secrétions et excréctions de larves.

Marqueur Bt L3 Bt L3 Bt L3 Bt L3 Bt L2 Bt L1 ES L2 ES L2 ES L3



### III.2.3- Réactions croisées entre *Hypoderma diana* et *Cephenemyia stimulator*

Etant donné que *Cephenemyia stimulator* et *Hypoderma diana* appartiennent tous les deux à la famille des Oestridae, et qu'il n'est pas rare d'observer ces deux parasites sur le même animal ou uniquement un seul des deux, il est important de vérifier la spécificité de la sérologie pour *Hypoderma diana*. Une étape préliminaire a été réalisée. Elle consiste en la mise en présence de sérums issus de chevreuils parasités par *Cephenemyia stimulator* avec des antigènes d'*Hypoderma lineatum*. Les sérums de ces chevreuils ont été prélevés par Monsieur Hubert Ferté, Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie de Reims. Ces chevreuils issus de la forêt domaniale de Dourdan (Essonne), présentaient des larves de *Cephenemyia stimulator* de stade II et de stade III dans les sinus. D'autre part ces cervidés sont issus d'un département réputé indemne d'*Hypoderma diana*.

Les résultats montrent une réaction négative du test ELISA pour neuf des chevreuils. Seul le chevreuil n° 26 est considéré comme douteux au test hypodermose avec un pourcentage supérieur à 20 % (21,27 %).

Tableau IV: Résultats des sérologies hypodermose sur des chevreuils parasités par *Cephenemyia stimulator* et provenant d'une région considérée indemne d'hypodermose

N° sérum	DO moyenne	Pourcentage de DO
90	0.2	8
26	0.37	21.27
82	0.19	7.02
89	0.15	3.38
88	0.1	0.48
87	0.1	0.1
86	0.23	10.19
28	0.27	12.9
20	0.19	7.07
19	0.16	4.11

### III.2.4- Définition du seuil de positivité du test ELISA Céphénémyiose

Il n'existe pas, à notre connaissance, de test ELISA Céphénémyiose, et par conséquent de seuil défini pour cette sérologie. De plus, nous ne connaissons pas de département où aucun cervidé ne serait touché par la céphénémyiose afin de disposer de références sérologiques de négativité. Il a alors été réalisé, avec Mr Jacques Cabaret (Unité de Pathologie Aviaire et Parasitologie, INRA, Nouzilly) une étude statistique de l'échantillon. Le principe de cette analyse statistique, comparant les pourcentages de DO des individus à tester par rapport aux pourcentages de DO des individus positifs, réalisée avec le logiciel Simstat, est le suivant :

Il est possible de considérer que les erreurs du test sur les animaux négatifs proviennent d'un bruit de fond et que ce bruit de fond suit une loi normale. De plus, un coefficient d'asymétrie est calculé pour les limites croissantes de positivité. Avec des erreurs techniques ou d'autres erreurs, l'asymétrie est faible. Par contre elle augmente lorsque des faux-positifs sont introduits. Les coefficients d'asymétrie sont ensuite ajustés à une régression pondérée localement DWLS (Distance Weighted Last Square, avec le logiciel Simstat).

Cette analyse a été calibrée avec les résultats des densité d'*Hypoderma diana* car ce test sérologique est fiable (figures 57 et 58).

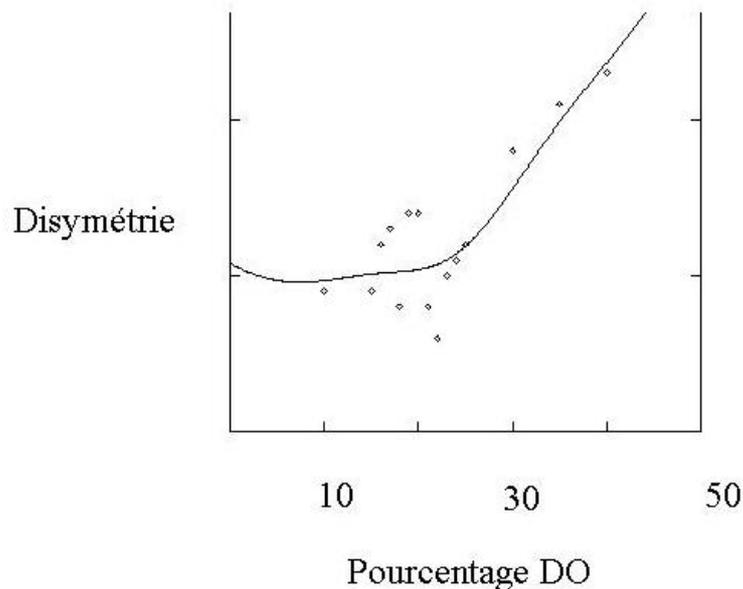


Figure 57 : Evolution de la disymétrie en fonction du pourcentage de densité optique pour le test ELISA Hypoderme

Au niveau de la courbe, la phase ascendante correspond à la zone significative. Pour *Hypoderma diana*, ce seuil se situe vers 20 %, ce qui est en accord avec ce qui a été trouvé en zone non parasitée.

La même étude a été réalisée pour *Cephenemyia stimulator*.

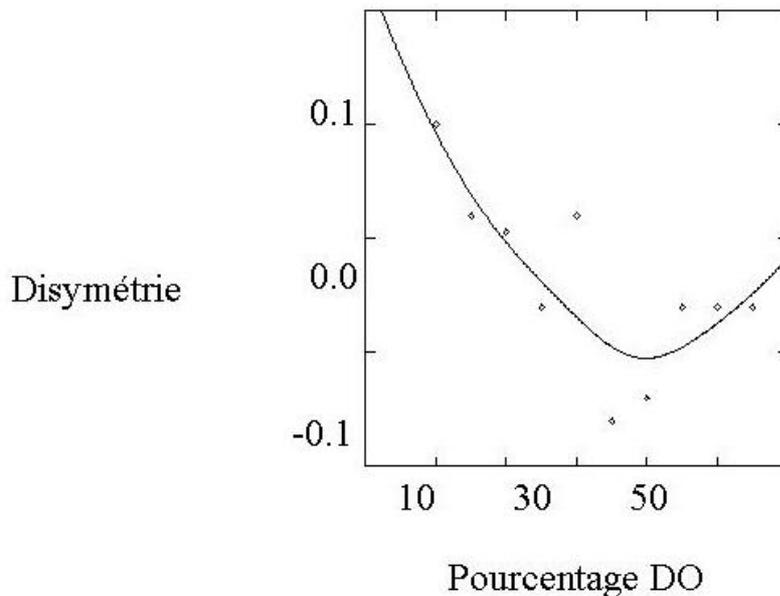


Figure 58 : Evolution de la disymétrie en fonction du pourcentage de densité optique pour le test ELISA Céphénémiose

Ici la phase ascendante commence vers 35 %. Pour être certain de ne pas inclure de faux positifs, les animaux avec un pourcentage de DO inférieur à 35% sont considérés comme négatifs, entre 35 % et 45 % ils sont considérés comme douteux, et positifs si leur pourcentage de DO est supérieur à 45%.

### III.2.5- Hypodermose

#### III.2.5.1- Résultats des sérologies Hypodermose par département

Les résultats bruts permettent de classer les différents départements en département indemne de varon ou en département parasité par *Hypoderma diana*. Trois départements sur les dix départements étudiés ne présentent aucun foyer de varon. Ce pourcentage d'infestation ne peut être étendu au niveau national car les départements ont été choisis en fonction de la présence ou non d'*Hypoderma diana* sur leur territoire.

Tableau V: Résultats des sérologies ELISA Hypodermose (*Hypoderma diana*) chez les cervidés dans dix départements

Département	Nombre de prélèvements	Pourcentage de sérologies positives	Pourcentage de sérologies négatives	Pourcentage de sérologies douteuses
Aisne	77	0 % (n= 0)	100 % (n=77)	0 % (n=0)
Marne	152	0 % (n= 0)	100 % (n= 152)	0 % (n= 0)
Charente-Maritime	125	6 % (n= 7)	94 % (n= 118)	0 % (n= 0)
Lot	243	16 % (n= 39)	84 % (n= 204)	0 % (n= 0)
Loir-et-Cher	212	39 % (n= 82)	60 % (n= 128)	1 % (n= 2)
Indre	181	10 % (n= 18)	89 % (n= 162)	1 % (n= 1)
Indre-et-Loire	103	1 % (n= 1)	97 % (n= 100)	2 % (n= 2)
Loiret	164	7 % (n= 12)	93 % (n= 52)	0 % (n= 0)
Cher	244	14 % (n= 34)	85 % (n= 208)	1 % (n= 2)
Dordogne	77	0 % (n= 0)	100 % (n= 77)	0 % (n= 0)

### III.2.5.2- Cartographies du parasitisme par *Hypoderma diana* et évolution du pourcentage de densité optique en fonction du mois de prélèvement

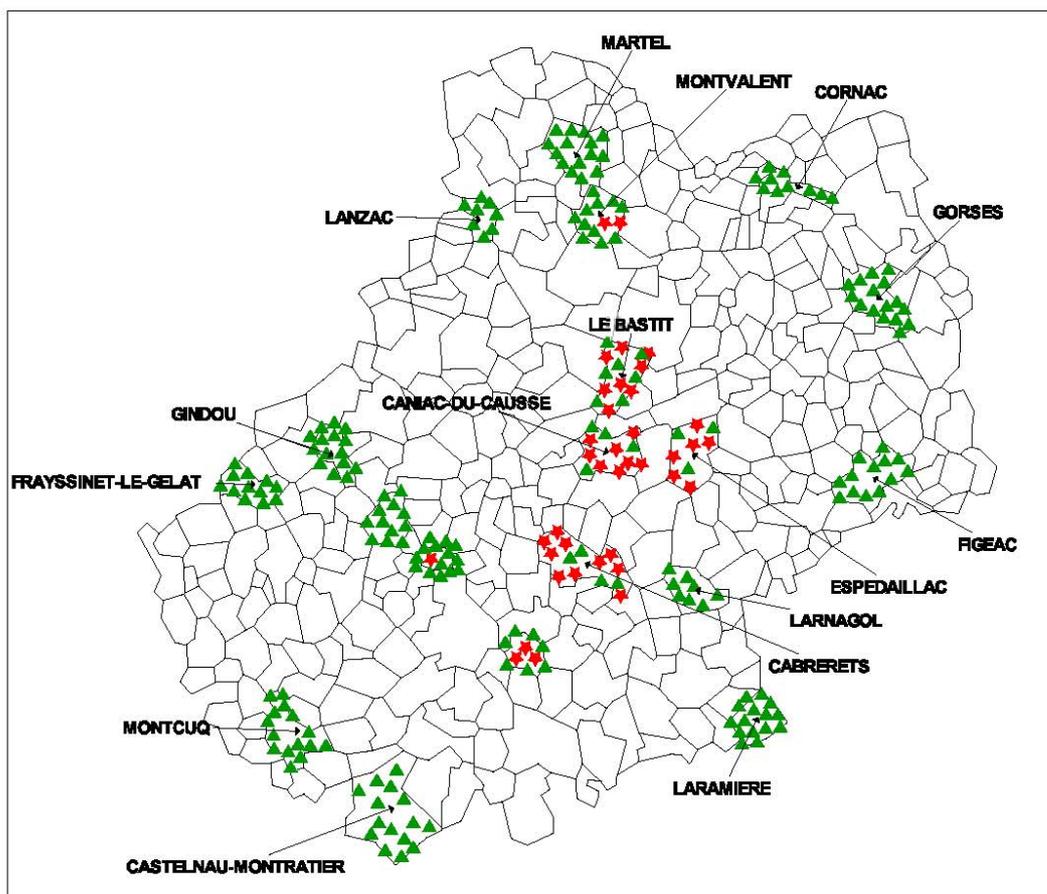
Le pourcentage trouvé au niveau départemental n'est pas révélateur de ce qui se passe au niveau de chaque commune. Les animaux parasités par *Hypoderma diana* ne sont pas distribués de façon homogène sur l'ensemble d'un département. En fait les sérologies positives au test ELISA Hypodermose sont souvent rassemblées sur quelques communes avec une prévalence élevée d'animaux parasités (figures 59 à 65).

Ces communes constituent un foyer de varon.

### III.2.5.2.1- Cartographie des foyers d'hypodermose

#### III.2.5.2.1.1- Cartographie des résultats Hypodermose dans le Lot

### Résultats des sérologies *Hypoderma diana* dans le Lot

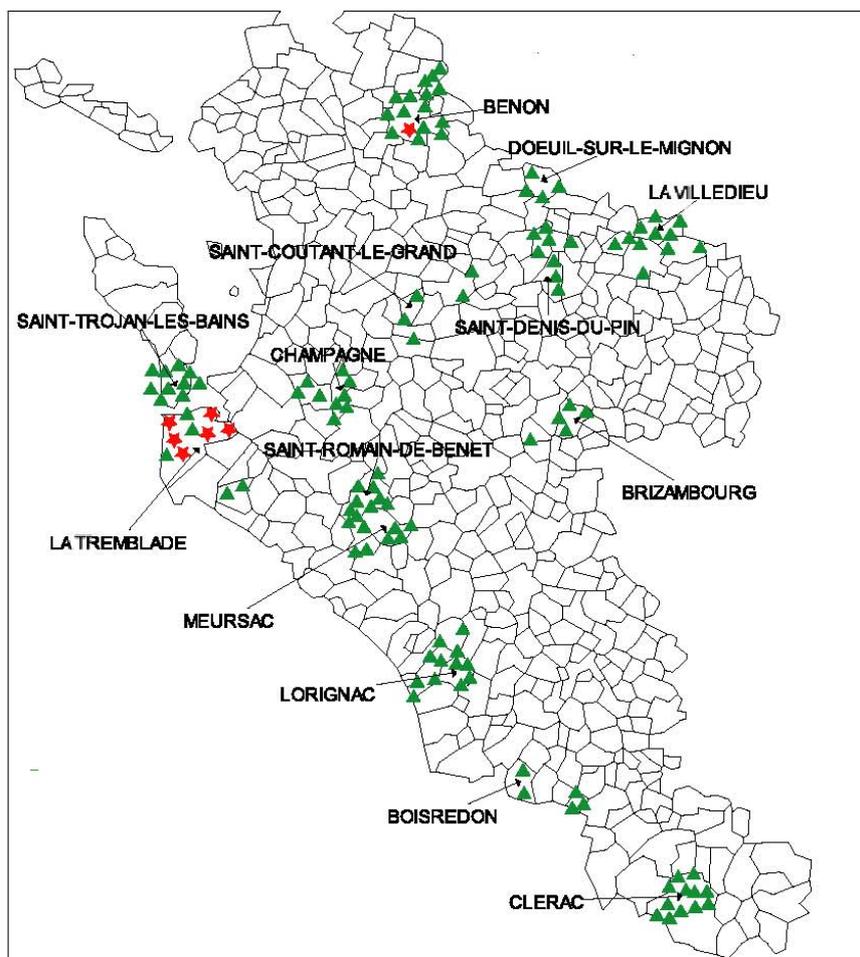


### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- sérologie douteuse
- ◊ Limites communales

Figure 59 : Cartographie des résultats de la sérologie Hypodermose des cervidés dans le Lot

### Résultats des sérologies *Hypoderma diana* en Charente-Maritime

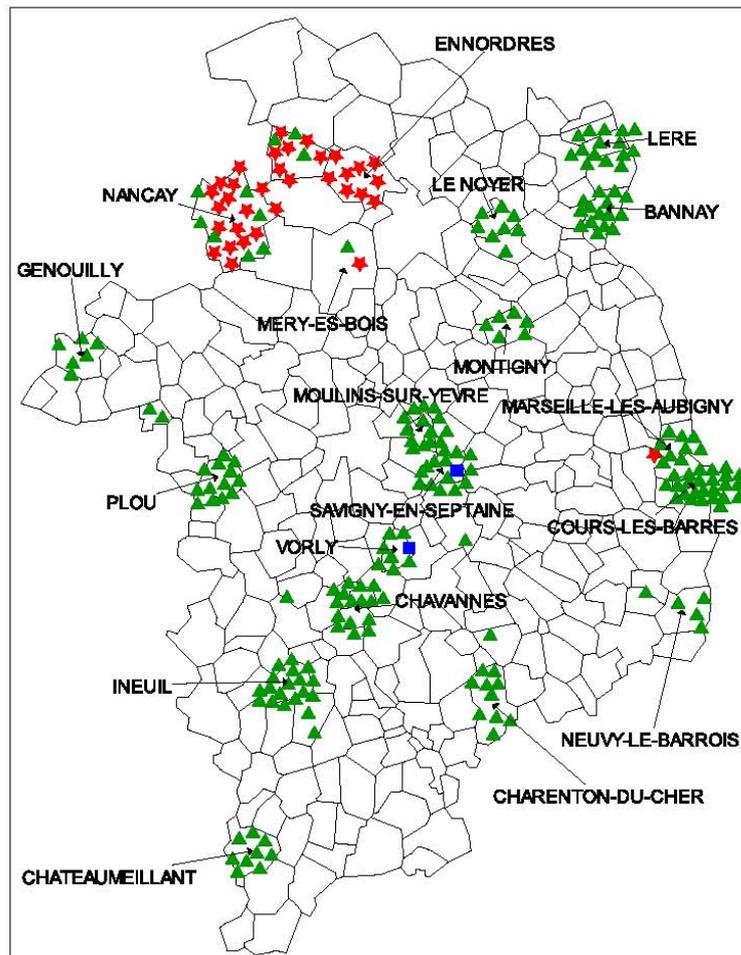


#### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- Sérologie douteuse
- ◊ Limites communales

Figure 60 : Cartographie des résultats de la sérologie Hypodermose des cervidés en Charente Maritime

### Résultats des sérologies *Hypoderma diana* dans le Cher

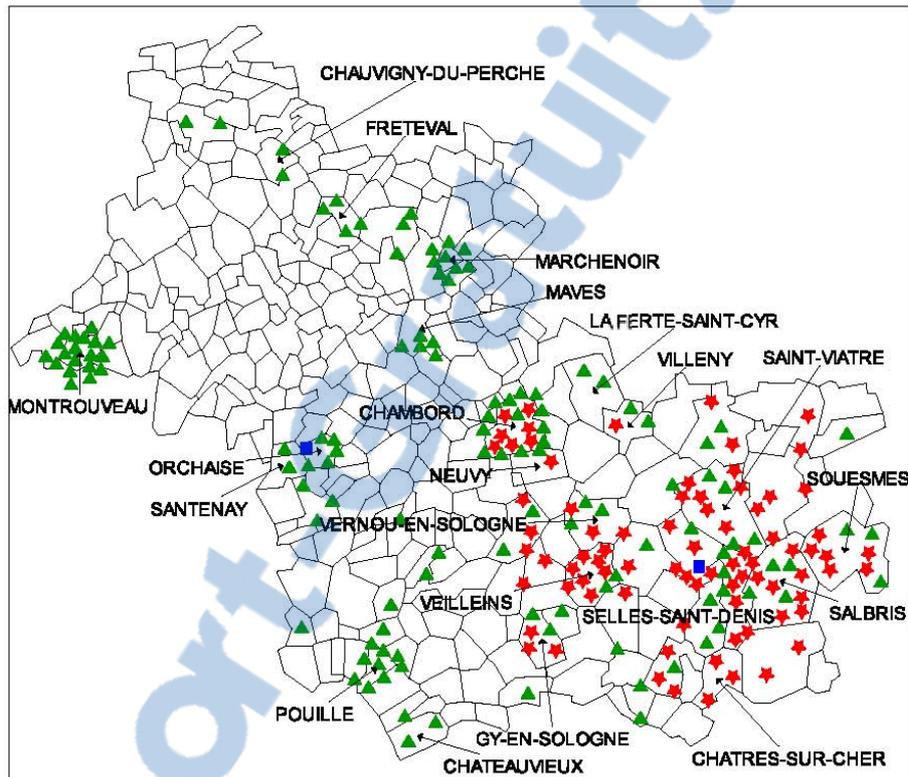


#### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- Sérologie douteuse
- ◡ Limites communales

Figure 61 : Cartographie des résultats de la sérologie Hypodermose des cervidés dans le Cher

### Résultats des sérologies *Hypoderma diana* dans le Loir-et-Cher



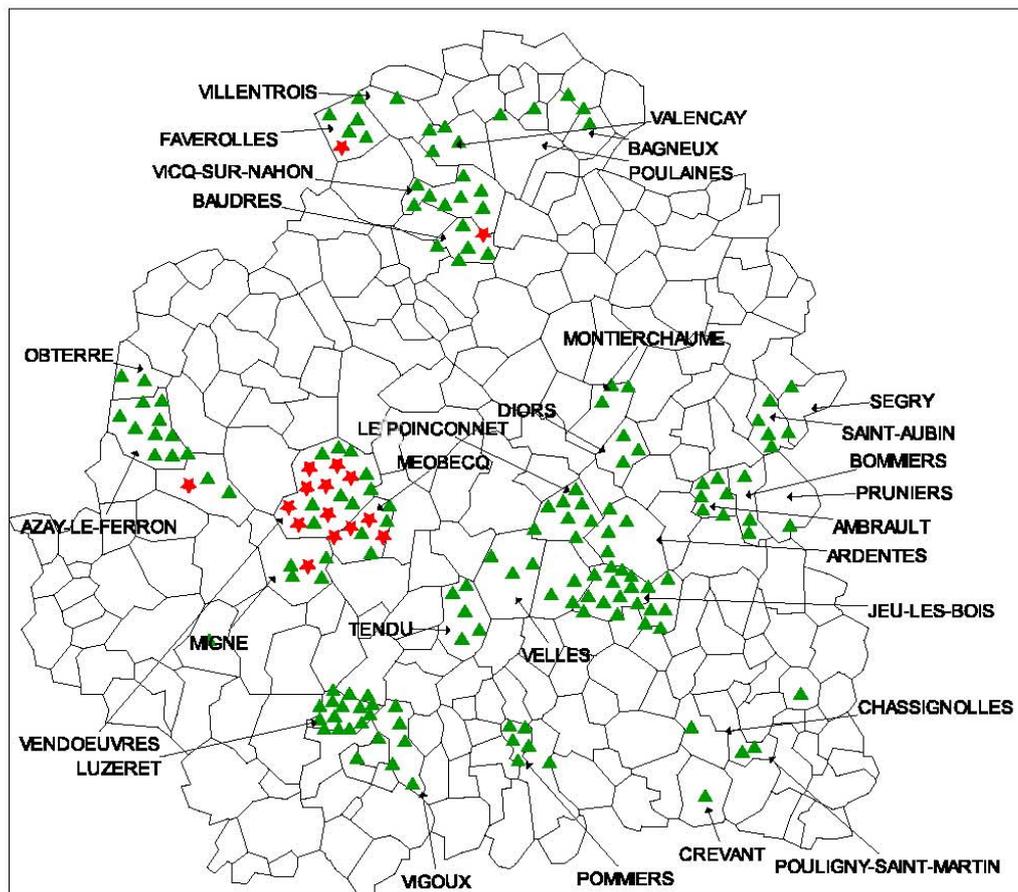
#### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- Sérologie douteuse
- ◻ Limites communales

Figure 62 : cartographie des résultats de la sérologie Hypodermose des cervidés dans le Loir-et-Cher



### Résultats sérologies *Hypoderma diana* dans l'Indre



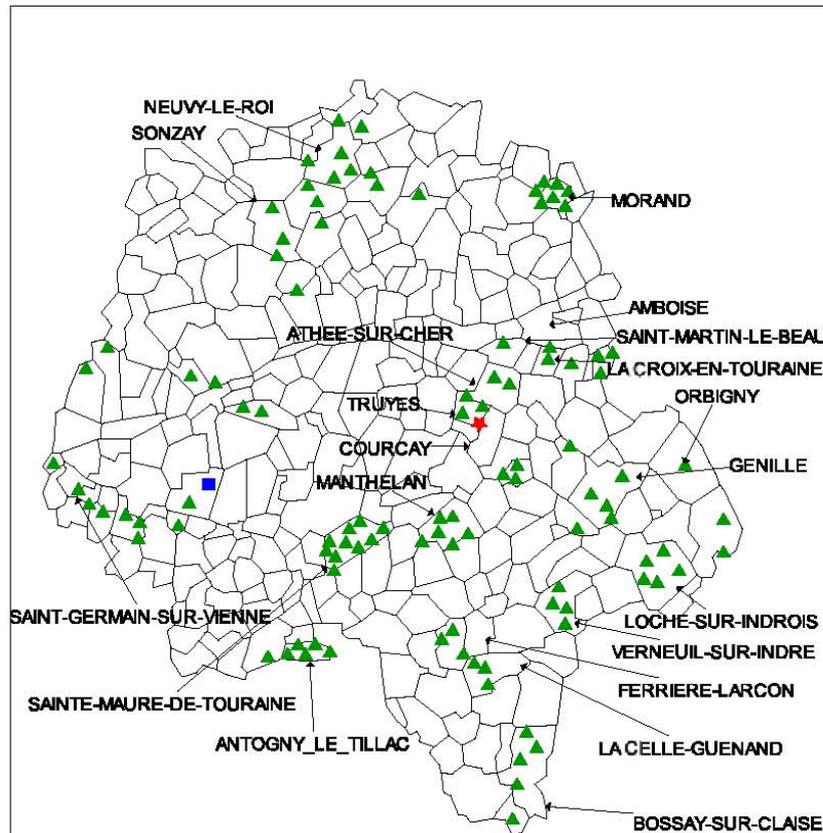
#### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- sérologie douteuse
- ◊ Limites communales

Figure 64: Cartographie des résultats de la sérologie Hypodermose des cervidés dans l'Indre



### Résultats sérologies *Hypoderma diana* dans l'Indre-et-Loire



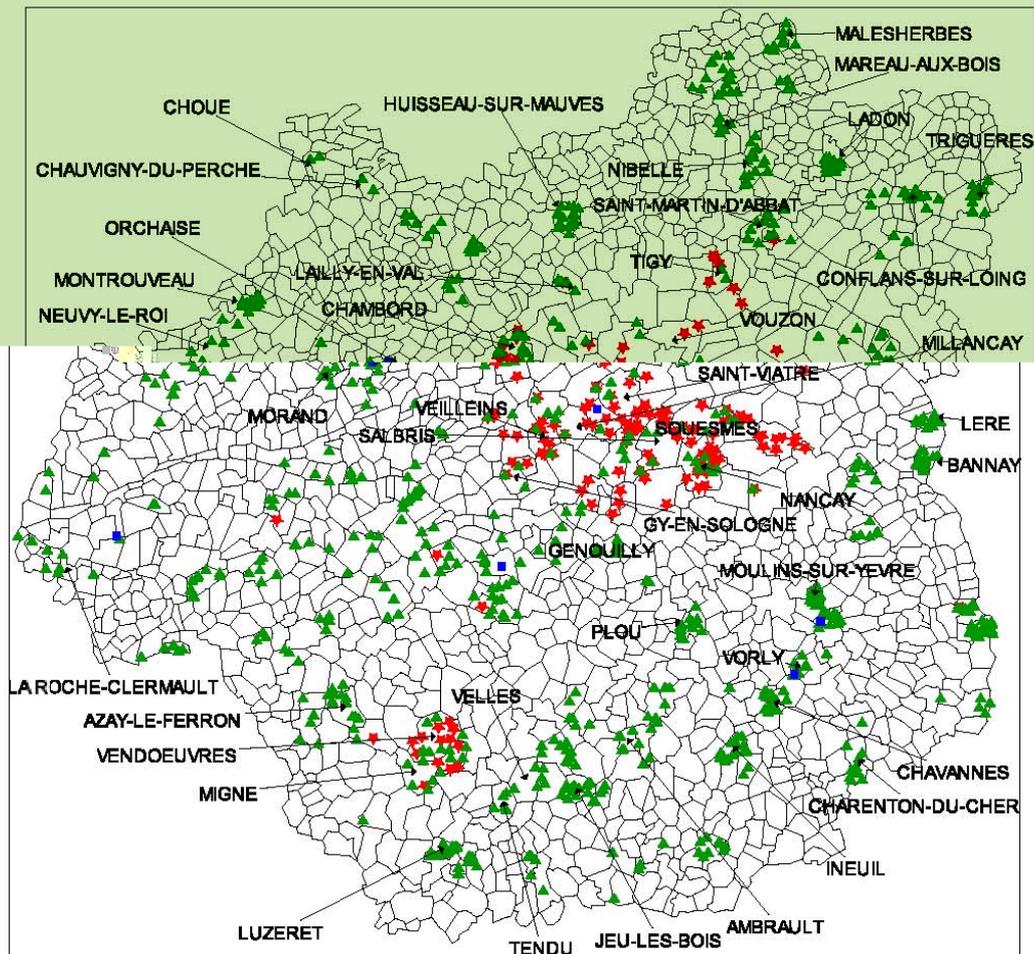
#### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- sérologie douteuse
- ◊ Limites communales

Figure 65: Cartographie des résultats de la sérologie Hypodermose des cervidés dans l'Indre-et-Loire

III.2.5.2.1.8- Cartographie générale des résultats des sérologies Hypodermose de la région Centre

### Résultats des sérologies *Hypoderma diana* dans la région Centre



#### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- Sérologie douteuse
- ◡ Limites communales

Figure 66: Cartographie des résultats de la sérologie Hypodermose des cervidés dans 5 départements de la région Centre

### III.2.5.2.2- Evolution des pourcentages de densité optique résultants de la sérologie ELISA Hypodermose, en fonction du mois de prélèvement

Les résultats des sérologies Hypodermose des cervidés prélevés sur l'année 2000-2001 ont été distribués sur un axe chronologique, en fonction de leur pourcentage de DO. La limite située à 20 % indique le seuil de positivité.

Dans les départements indemnes de varon, tous les prélèvements se positionnent sous ce seuil. C'est le cas de l'Aisne, de la Marne et de la Dordogne.

Dans les autres départements qui ont des cervidés parasités par *Hypoderma diana*, les sérologies sont réparties de part et d'autre de ce seuil, selon l'intensité de l'infestation.

La valeur moyenne des sérologies positives est plus élevée entre août et janvier.

#### III.2.5.2.2.1 Distribution des résultats de l'Aisne et de la Marne

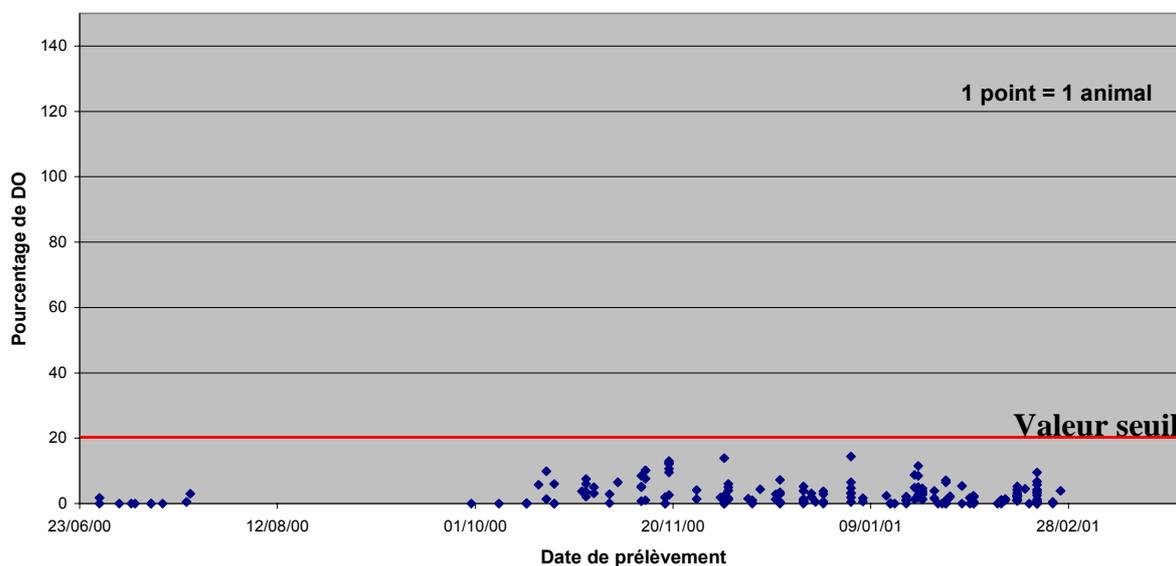
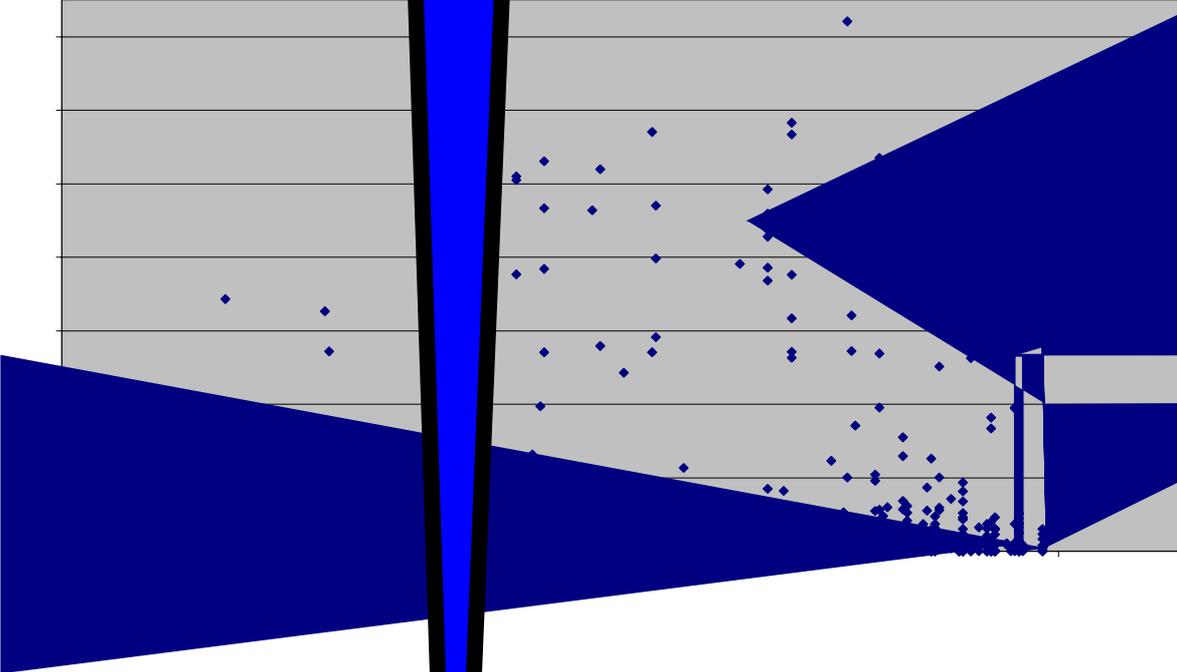


Figure 67: Distribution des 227 cervidés prélevés dans la Marne et l'Aisne lors de la saison 2000-2001 en fonction de leur pourcentage de densité optique au test ELISA Hypodermose et de leur date de prélèvement

III.2.5.2.2.2- Distribution des résultats de la région Centre



### III.2.5.2.2.4- Distribution des résultats de la Charente-Maritime

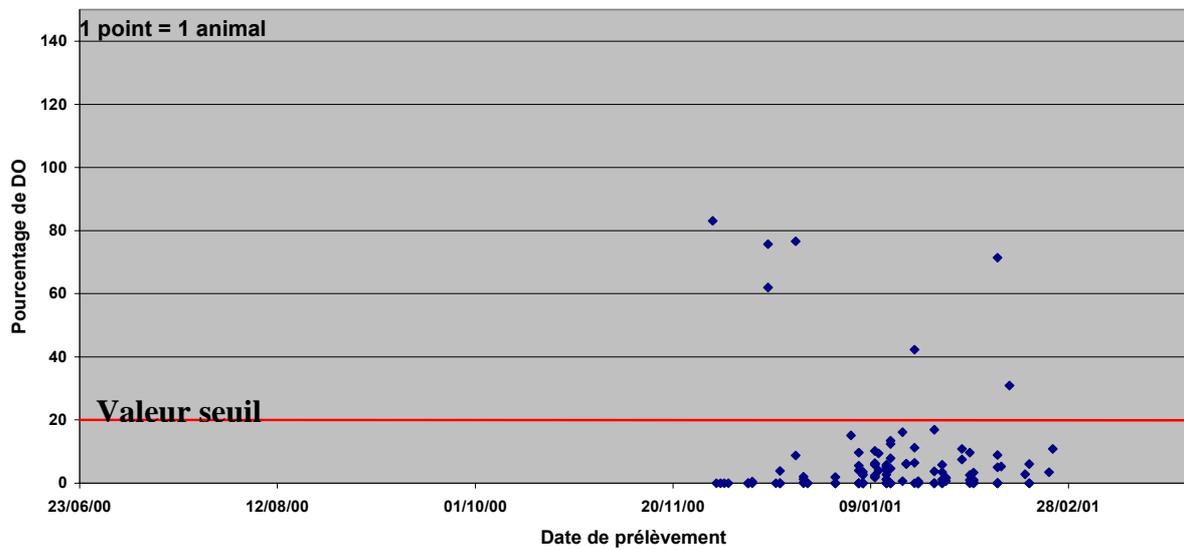


Figure 70 : Distribution des 121 cervidés prélevés en Charente Maritime lors de la saison 2000-2001 en fonction de leur pourcentage de densité optique au test ELISA Hypodermyse et de leur date de prélèvement

### III.2.5.2.2.5- Distribution des résultats de la Dordogne

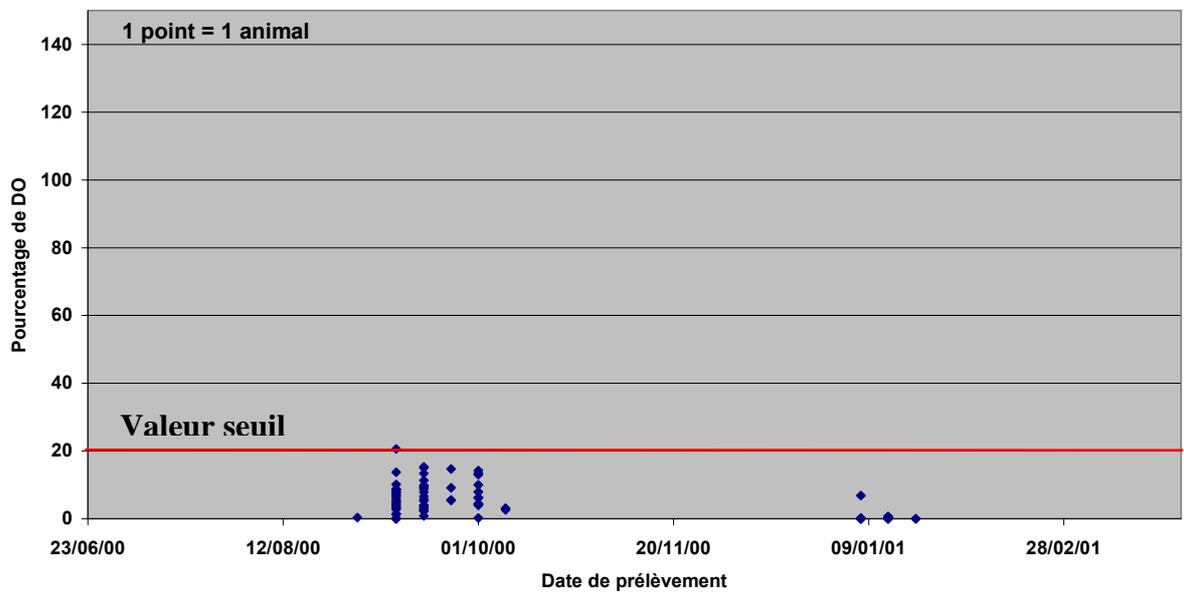


Figure 71 : Distribution des 77 cervidés prélevés en Dordogne lors de la saison 2000-2001 en fonction de leur pourcentage de densité optique au test ELISA hypodermyse et de leur date de prélèvement

### III.2.6- Céphénémyiose

#### III.2.6.1- Résultats des sérologies Céphénémyiose par département

Les résultats des sérologies Céphénémyiose montrent qu'il y a, sur les dix départements étudiés, des chevreuils positifs à la sérologie Céphénémyiose dans chacun d'entre eux. Les pourcentages d'animaux sérologiquement positifs varient entre 76 % et 92 % par département.

Le pourcentage des animaux négatifs varie entre 4 % et 18 %.

Tableau VI : Résultats des sérologies ELISA céphénémyiose chez les cervidés dans dix départements

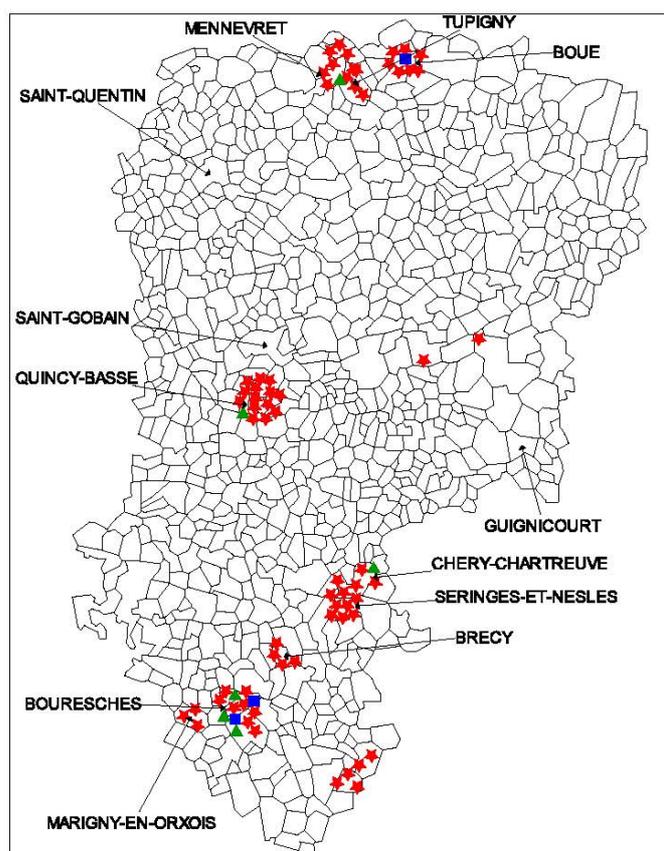
Département	Nombre de prélèvements	Pourcentage de sérologies positives	Pourcentage de sérologies négatives	Pourcentage de sérologies douteuses
Aisne	75	88 % (n= 66)	8 % (n= 6)	4 % (n= 3)
Marne	123	76 % (n= 93)	11 % (n= 14)	13 % (n= 16)
Charente-Maritime	125	79 % (n= 98)	18 % (n= 23)	3 % (n= 4)
Lot	243	77 % (n= 187)	16 % (n= 38)	7 % (n= 18)
Loir-et-Cher	174	92 % (n= 161)	5 % (n= 8)	3 % (n= 5)
Indre	181	91 % (n= 165)	4 % (n= 7)	5 % (n= 9)
Indre-et-Loire	103	87 % (n= 90)	6 % (n= 6)	7 % (n= 7)
Loiret	160	88 % (n= 140)	8 % (n= 13)	4 % (n= 7)
Cher	248	90 % (n= 222)	7 % (n= 18)	3 % (n= 8)
Dordogne	77	90 % (n= 69)	6 % (n= 5)	4 % (n= 3)

III.2.6.2- Cartographie du parasitisme par les œstres des cervidés et évolution du pourcentage de densité optique en fonction du mois de prélèvement

III.2.6.2.1- Cartographie des résultats du test ELISA Céphénémyose

III.2.6.2.1.1- Cartographie des résultats dans l'Aisne

### Résultats des sérologies *Cephenemyia stimulator* dans l'Aisne

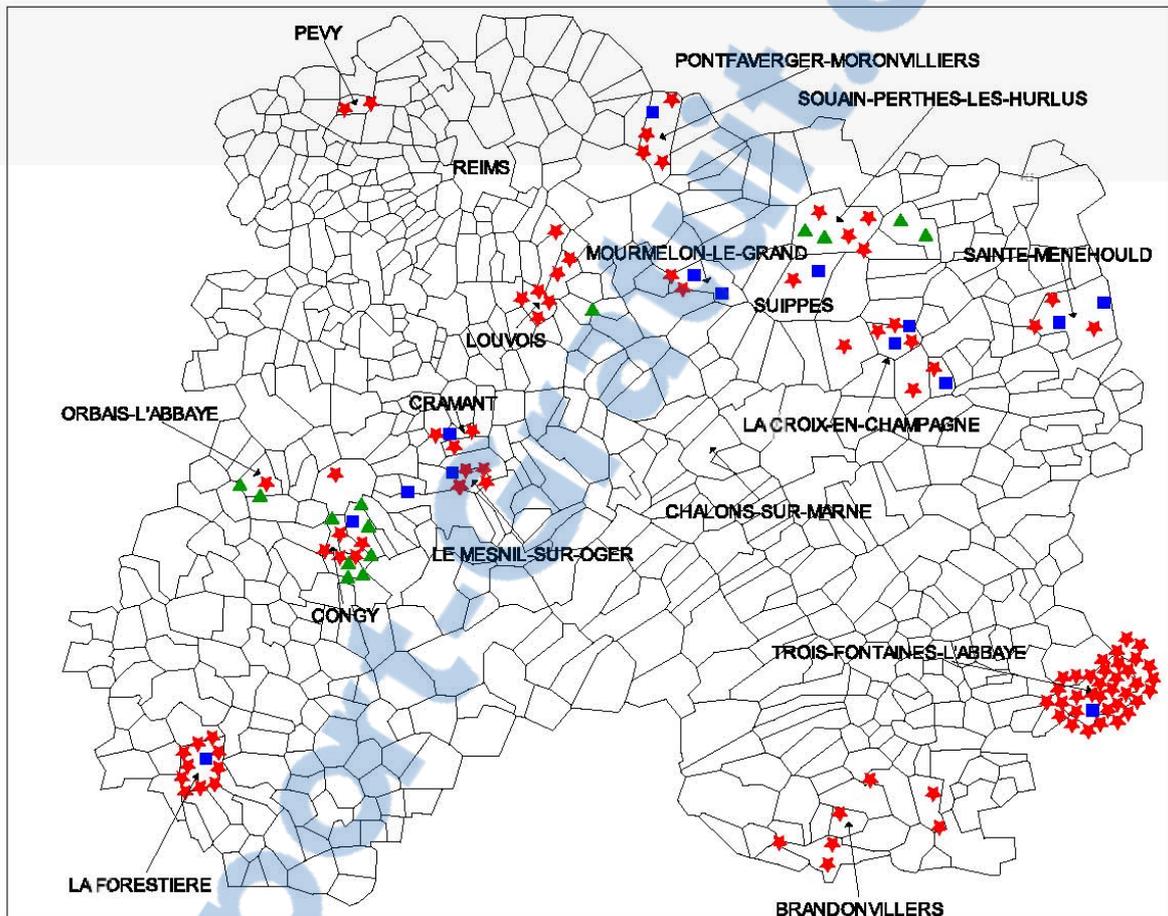


#### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- Sérologie douteuse
- ◡ Limites communales

Figure 72: Cartographie des résultats de la sérologie ELISA Céphénémyose des cervidés dans l'Aisne

### Résultats des sérologies *Cephenemyia stimulator* dans la Marne



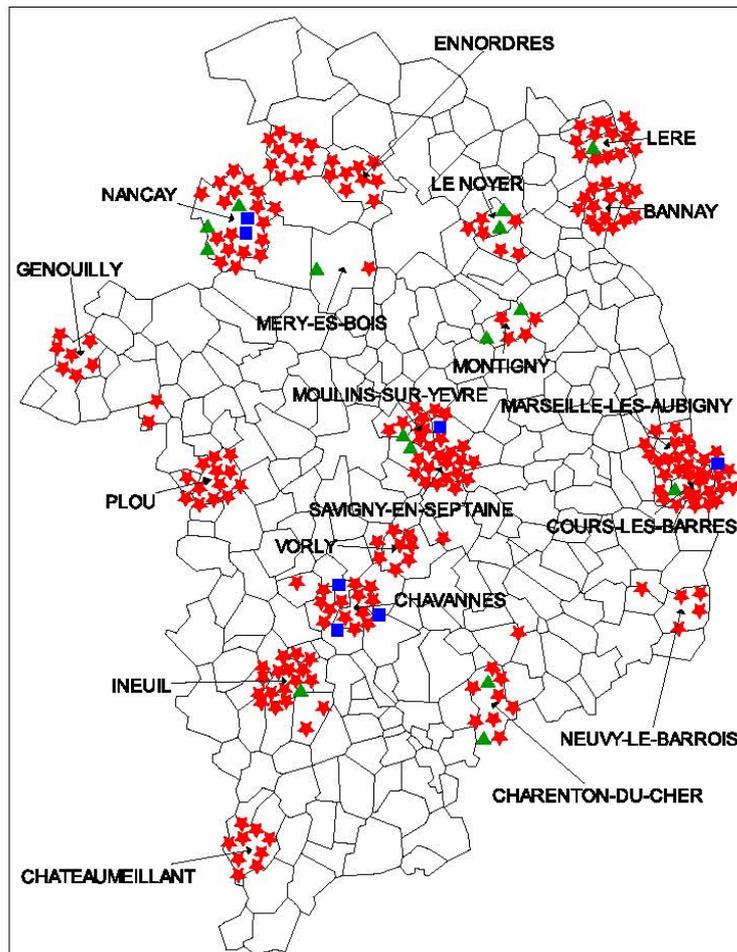
#### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- Sérologie douteuse
- ◡ Limites communales

Figure 73: Cartographie des résultats de la sérologie ELISA Céphénémiose des cervidés dans la Marne

### III.2.6.2.1.3- Cartographie des résultats dans le Cher

## Résultats sérologies *Cephenemyia stimulator* dans le Cher

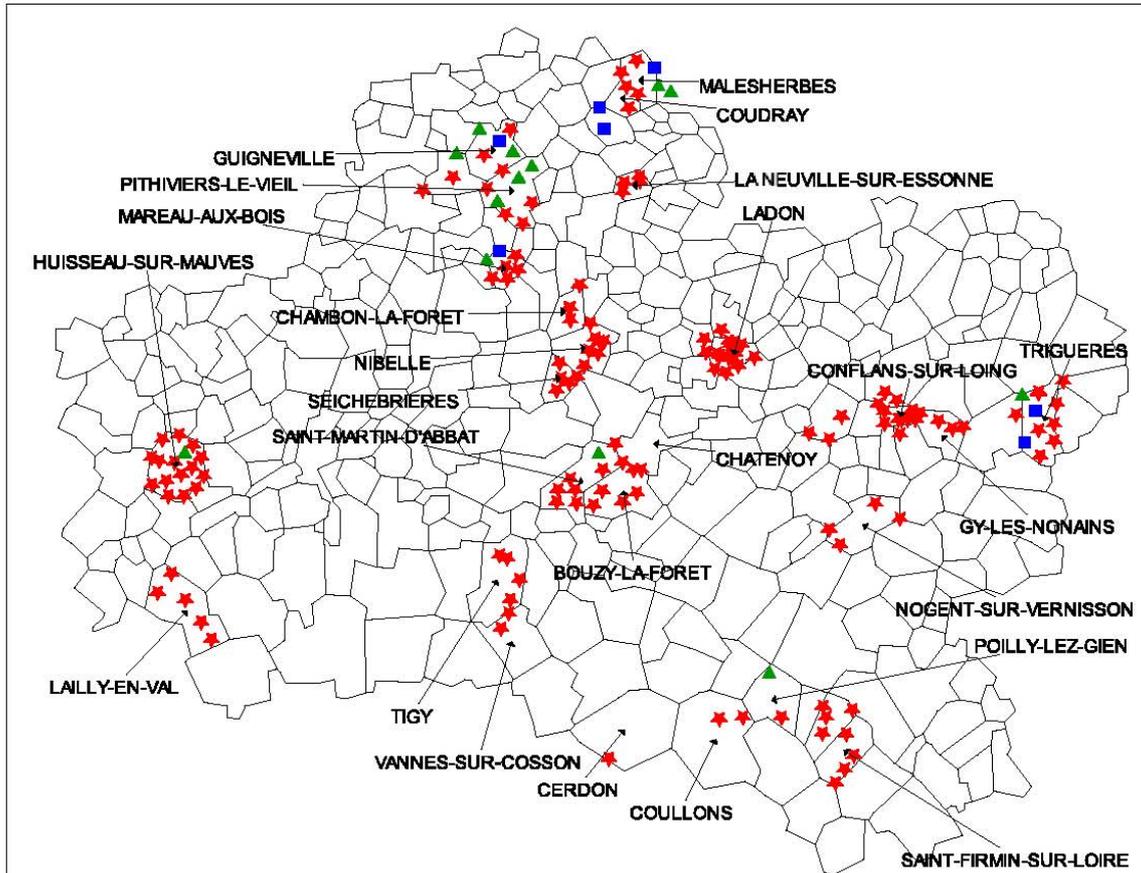


### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- Sérologie douteuse
- ◡ Limites communales

Figure 74: Cartographie des résultats de la sérologie ELISA Céphénémiose des cervidés dans le Cher

### Résultats sérologies *Cephenemyia stimulator* dans le Loiret

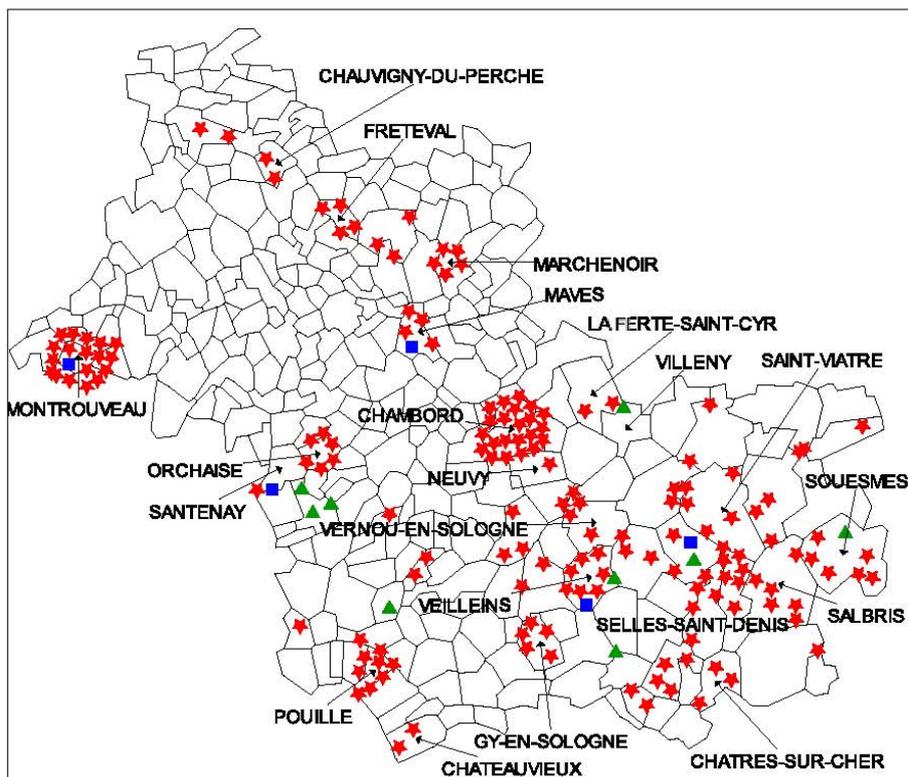


#### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- sérologie douteuse
- ◡ Limites communales

Figure 75: Cartographie des résultats de la sérologie ELISA Céphénémiose des cervidés dans le Loiret

### Résultats des sérologies *Cephenemyia stimulator* dans le Loir-et-Cher

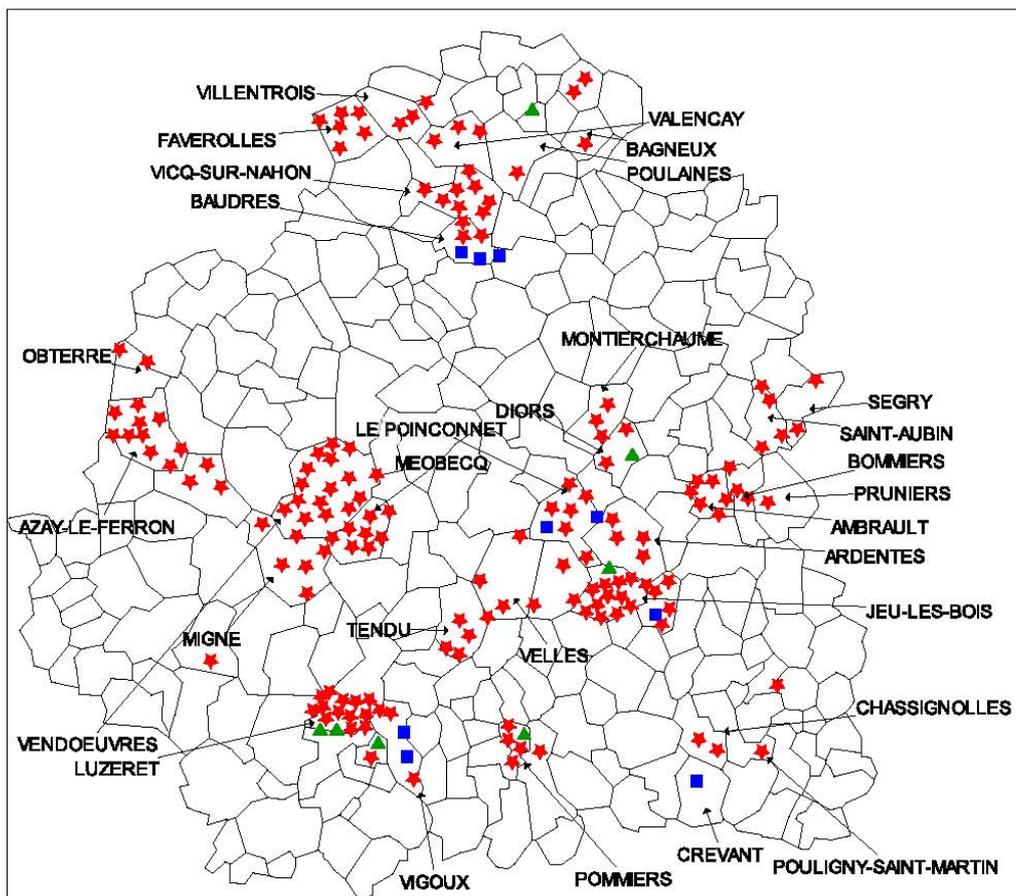


#### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- Sérologie douteuse
- ◡ Limites communales

Figure 76: Cartographie des résultats de la sérologie ELISA Céphénémiose des cervidés dans le Loir-et-Cher

### Résultats des sérologies *Cephenemyia stimulator* dans l'Indre

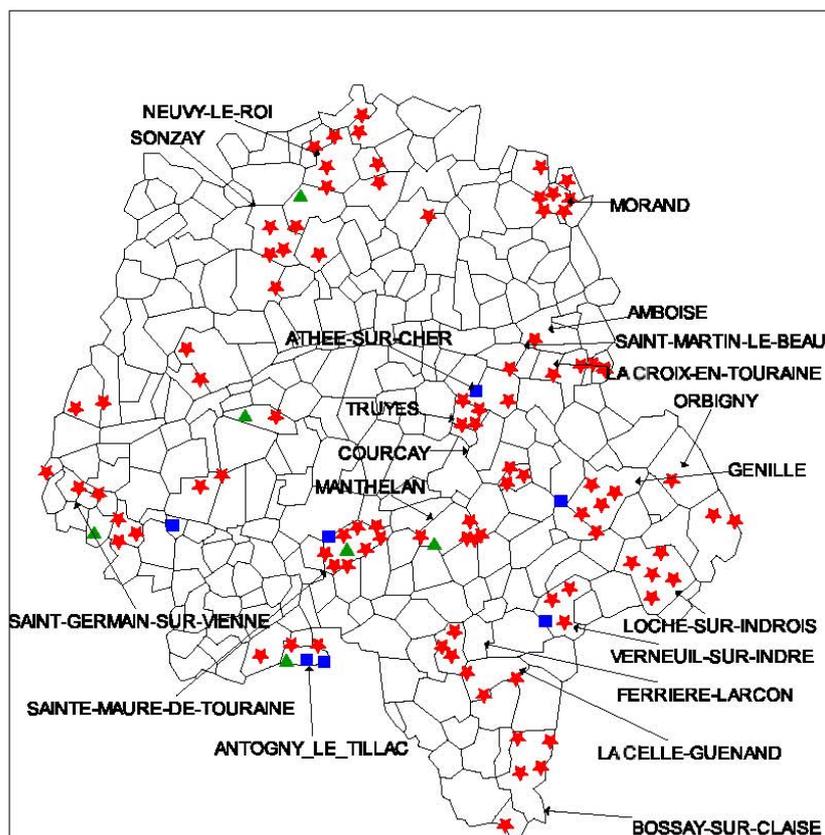


#### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- sérologie douteuse
- ◻ Limites communales

Figure 77: Cartographie des résultats de la sérologie ELISA Céphénémyiose des cervidés dans l'Indre

### Résultats sérologiques *Cephenemyia stimulator* dans l'Indre-et-Loire

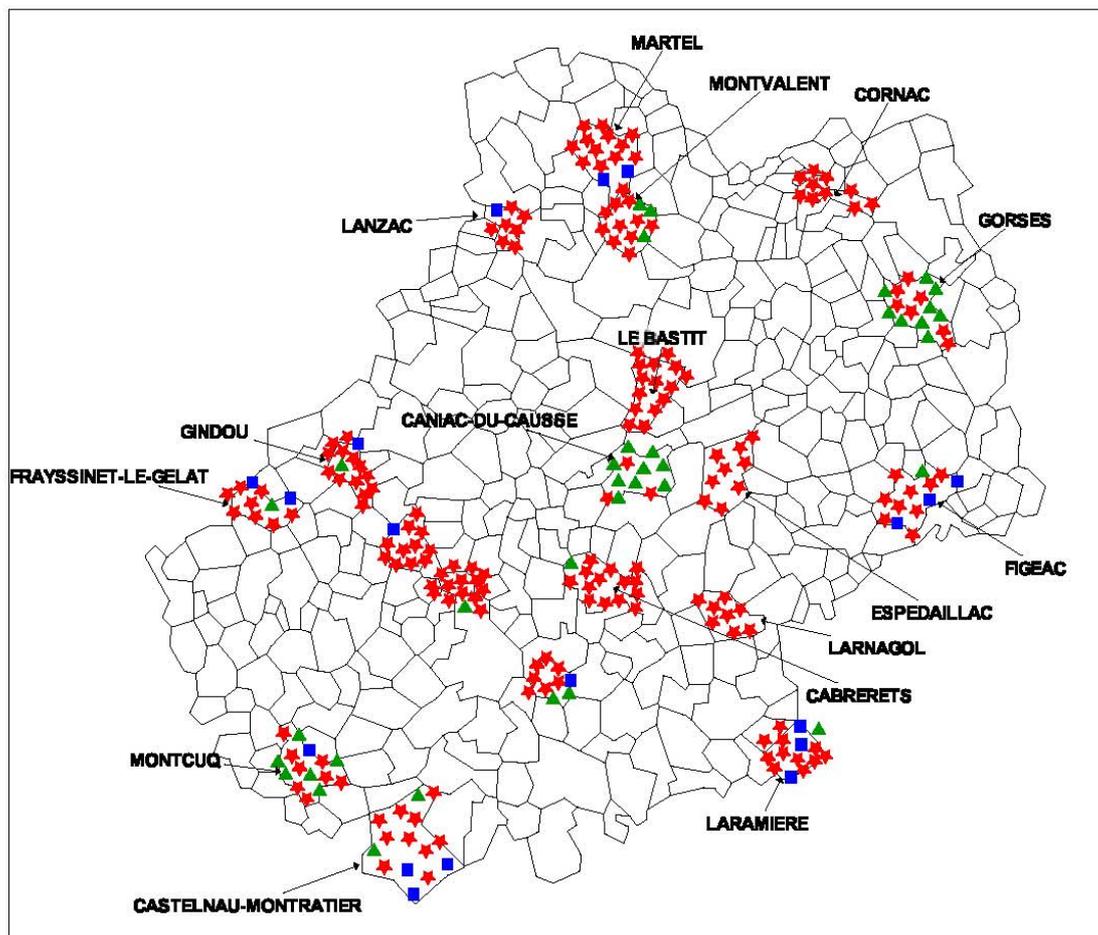


#### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- sérologie douteuse
- ◡ Limites communales

Figure 78: Cartographie des résultats de la sérologie ELISA Céphénémiose des cervidés dans l'Indre-et-Loire

### Résultats des sérologies *Cephenemyia stimulator* dans le Lot

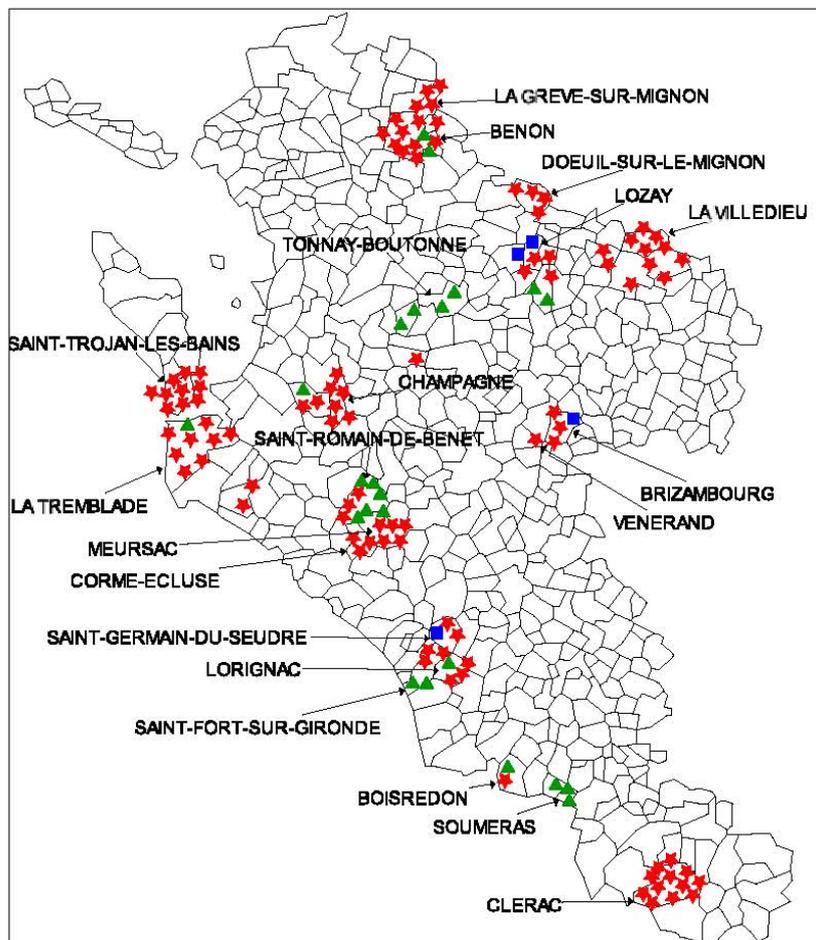


#### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- Sérologie douteuse
- ◊ Limites communales

Figure 79 : Cartographie des résultats de la sérologie ELISA Céphénémiose des cervidés dans le Lot

### Résultats des sérologies *Cephenemyia stimulator* en Charente-Maritime

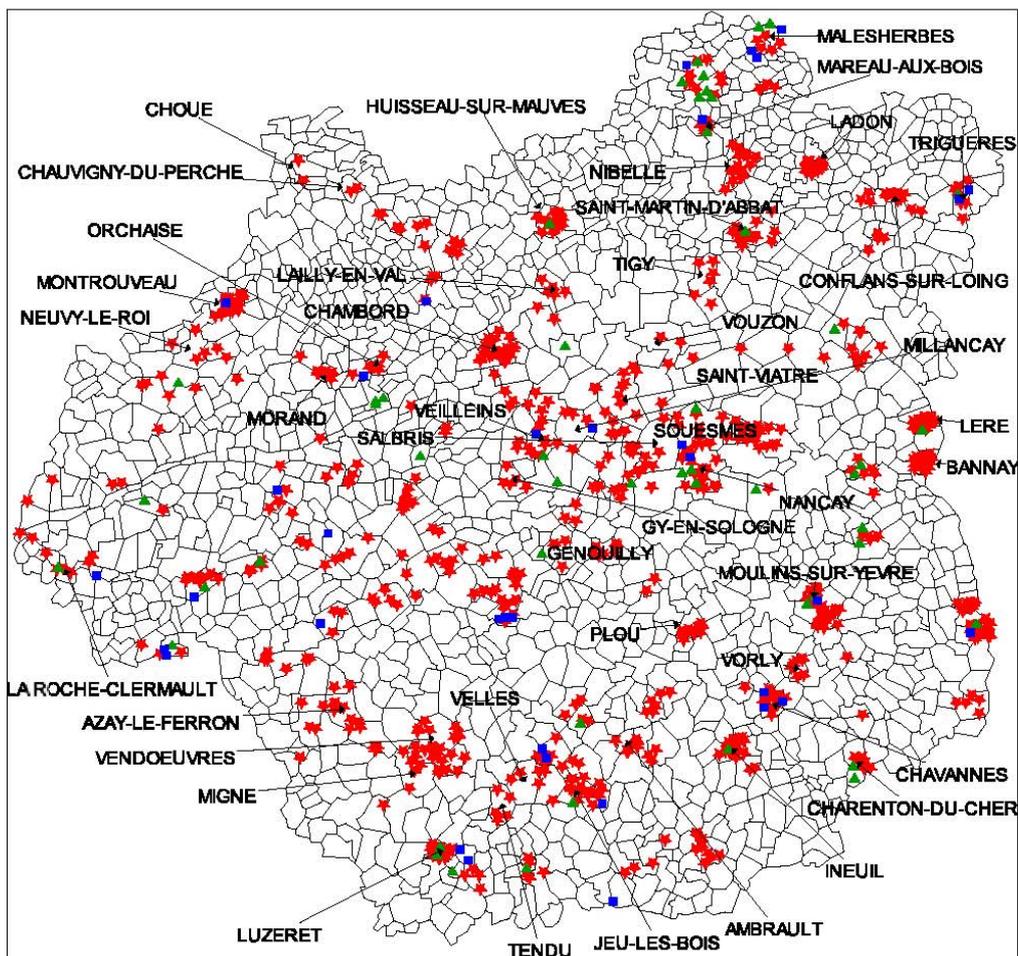


#### Légendes

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- Sérologie douteuse
- ◡ Limites communales

Figure 80: Cartographie des résultats de la sérologie ELISA Céphénémiose des cervidés en Charente Maritime

### Résultats des sérologies *Cephenemyia stimulator* dans la région Centre



#### Légende

- ★ Sérologie positive
- ▲ Sérologie négative
- Sérologie douteuse
- ◊ Limites communales

Figure 81: Cartographie des résultats de la sérologie ELISA Céphénémiose des cervidés dans cinq départements de la région Centre

### III.2.6.2.2- Evolution des pourcentages de densité optique de la sérologie ELISA Céphénémyiose en fonction du mois de prélèvement

Les résultats des sérologies céphénémyiose des cervidés prélevés sur l'année 2000-2001, exprimés en fonction des DO au test ELISA ont été distribués sur un axe chronologique. La zone comprise entre 35 % et 45 % contient les animaux douteux. Au dessus du seuil de 45 % les animaux sont sérologiquement positifs. En dessous de 35 % ils sont négatifs.

La majorité des animaux, pour les dix départements étudiés, se positionnent au dessus du seuil des 45 %.

Il ne semble pas y avoir de diminution de la valeur du pourcentage de DO avec le temps.

#### III.2.6.2.2.1- Distribution des résultats de l'Aisne et de la Marne

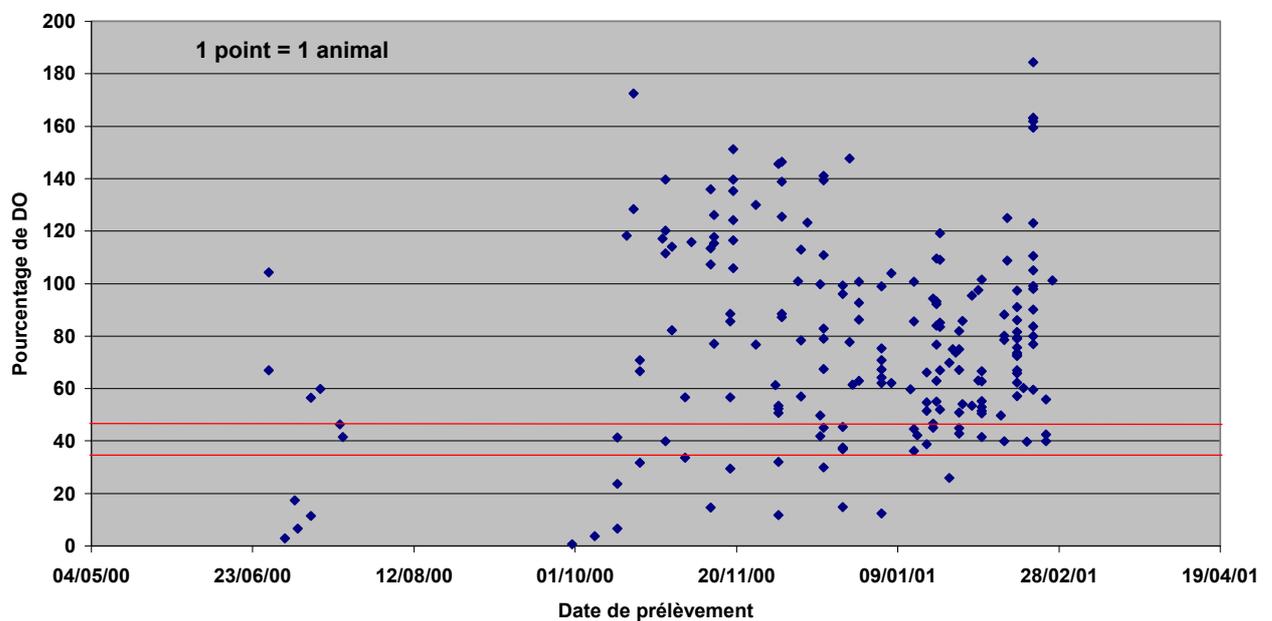


Figure 82 : Distribution des 194 cervidés prélevés dans l'Aisne et dans la Marne en fonction de leur pourcentage de DO au test ELISA Céphénémyiose et de leur date de prélèvement

### III.2.6.2.2.2- Distribution des résultats de la région Centre

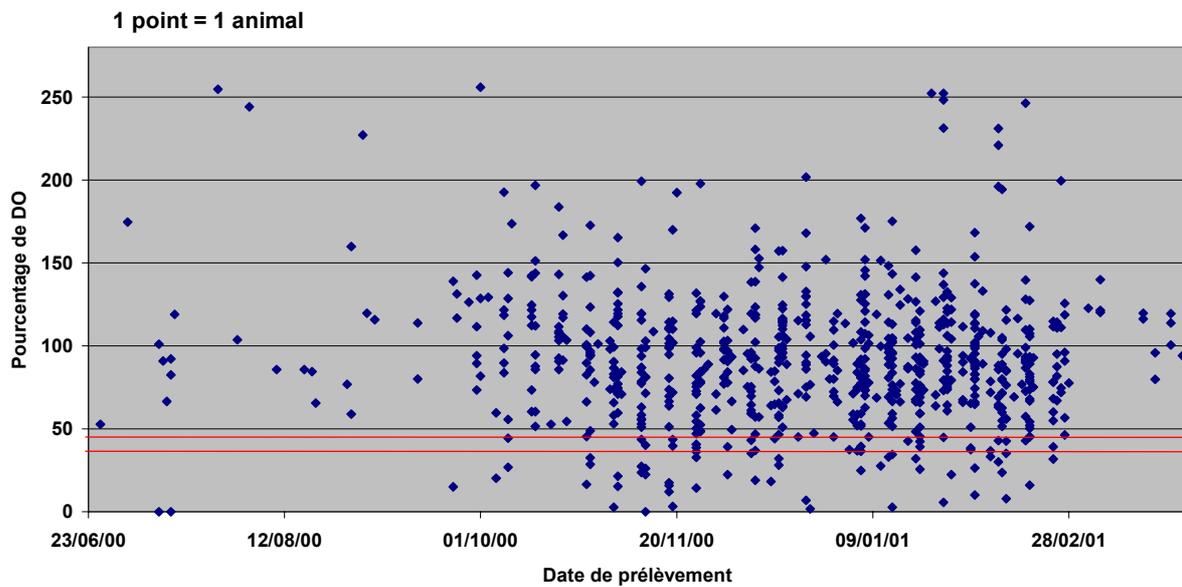
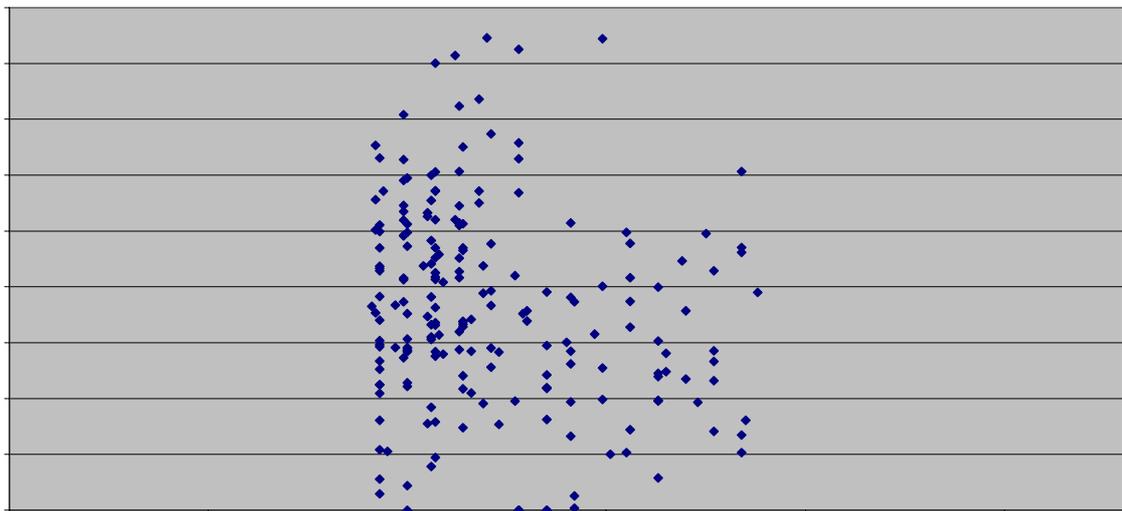


Figure 83 : Distribution des 760 cervidés prélevés dans la région Centre lors de la saison 2000-2001 en fonction de leur pourcentage de DO au test ELISA Céphénémiose et de leur date de prélèvement

### III.2.6.2.2.3- Distribution des résultats du Lot



### III.2.6.2.2.4- Distribution des résultats de la Charente-Maritime

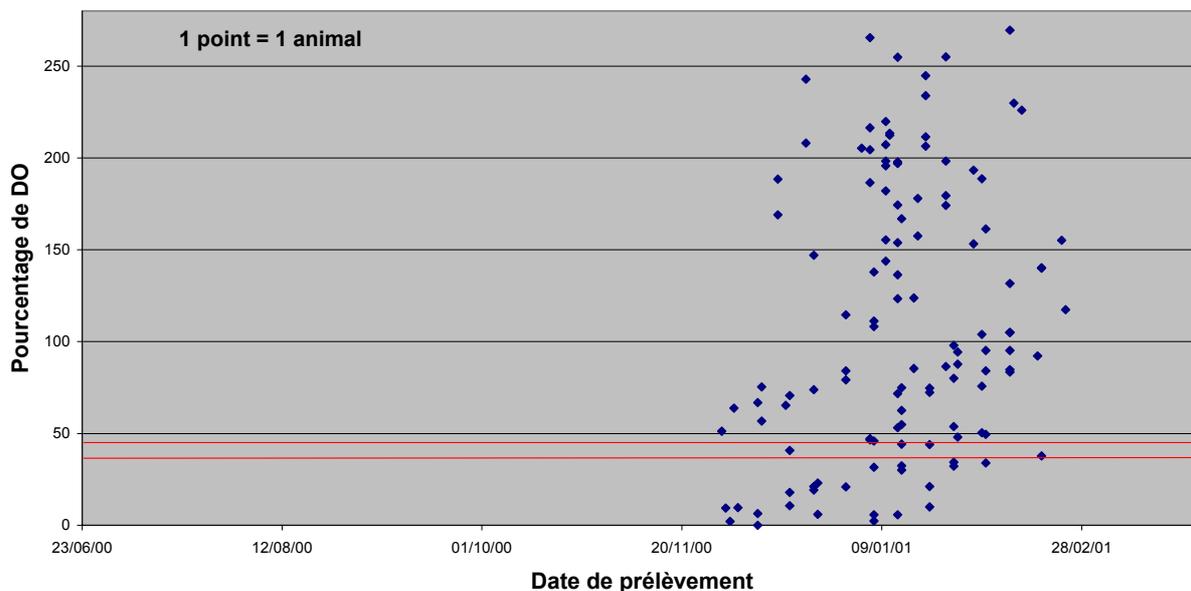


Figure 85 : Distribution des 121 cervidés prélevés en Charente Maritime lors de la saison 2000-2001 en fonction de leur pourcentage de DO au test ELISA Céphénémyiose et de leur date de prélèvement

### III.2.6.2.2.5- Distribution des résultats de la Dordogne

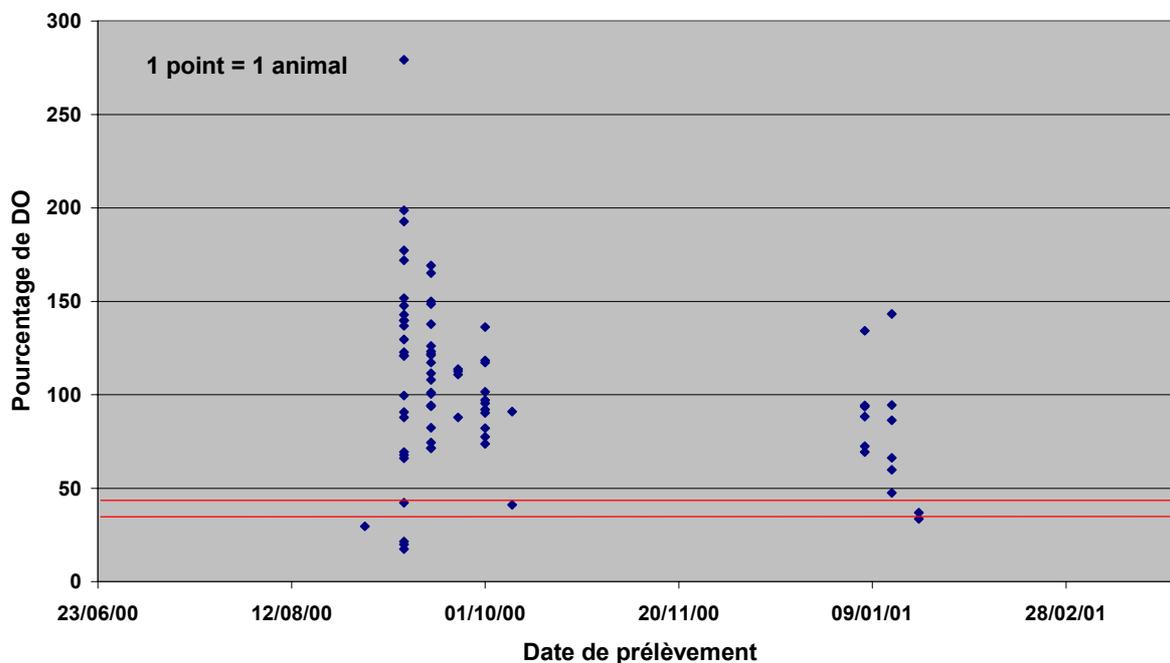


Figure 86 : Distribution des 77 cervidés prélevés en dans l'Aisne lors de la saison 2000-2001 en fonction de leur pourcentage de DO au test ELISA Céphénémyiose et de leur date de prélèvement

### **III.3- DISCUSSION**

#### III.3.1- Relations entre les commémoratifs et les résultats des sérologies

##### III.3.1.1- *Hypoderma diana*

Sur les étiquettes collées sur les buvards servant au prélèvement du sang des cervidés, les commémoratifs relatant la présence ou non d'*Hypoderma diana* ne sont fournis que dans 60 % des buvards reçus.

Dans 3.9 % des cas, le test ELISA se révèle être négatif alors que la présence de nodules varoneux a été signalée (figure 87). La première explication de cette différence entre les commémoratifs et le test est celle de l'erreur de remplissage des commémoratifs. Quatre personnes, sur cinq contactées par téléphone, ont reconnu avoir fait une erreur de remplissage et que, sur leur territoire, il n'y avait jamais eu de cas de varon mis en évidence. La cinquième personne a affirmé qu'il y avait bien des nodules sur l'animal, mais qu'il n'y avait pas de larve visible à l'intérieur, « comme celles vues en Sologne ». En fait il s'agissait sans doute de nodules d'onchocercose (Bain, 1981), comme il en a été trouvé sur des cervidés dans l'Aisne en janvier 2001 et dans l'Indre-et-Loire. Ces nodules ont été disséqués et les onchocercues mis en évidence à la loupe binoculaire.

Il y a aussi le cas inverse qui se présente dans 3.4 % des prélèvements effectués (figure 87). Le test sérologique est positif mais le parasite n'est pas signalé. En fonction de la date de prélèvement, soit *Hypoderma diana* n'est pas visible car les nodules varoneux ne sont pas encore apparus, soit la personne ayant réalisé le prélèvement ne l'a pas détecté.

Il est à signaler que les nodules sont plus difficiles à voir chez les cerfs que chez les chevreuils en raison de l'épaisseur du poil. Les cerfs ont un poil souvent collé par la boue.

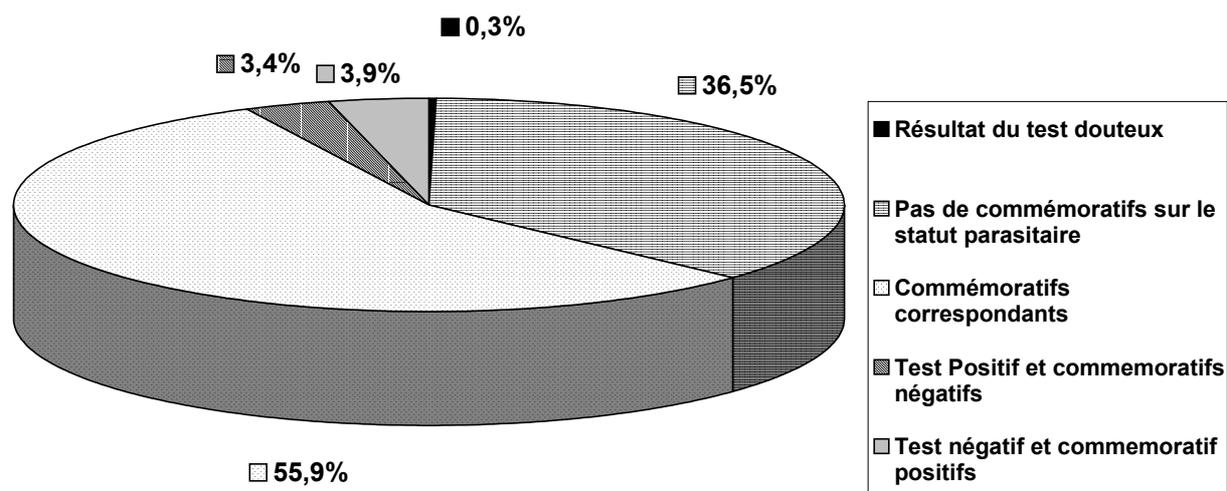


Figure 87: Correspondance entre les commémoratifs et les résultats de la sérologie ELISA Hypodermose

### III.3.1.2- *Cephenemyia stimulator* et *Pharyngomyia picta*

Concernant *Cephenemyia stimulator* et *Pharyngomyia picta*, les commémoratifs n'ont été remplis que pour 48 % des prélèvements. Ceci vient du fait que peu de personnes connaissent ces parasites. Dans 38 % des cas, le test ELISA se révèle être positif alors que l'absence de larve a été signalée (figure 88). Deux raisons peuvent être évoquées. La sérologie d'un animal peut être positive alors que seul le premier stade larvaire, difficile à observer, est présent. De plus un animal infesté une année, même s'il n'a pas été réinfesté, possède des anticorps rémanents l'année suivante. Dans 1 % des cas, le test est négatif alors que des oestres ont été signalés. Soit il y a eu une erreur de remplissage, soit la personne a peut être confondu avec un autre parasite.

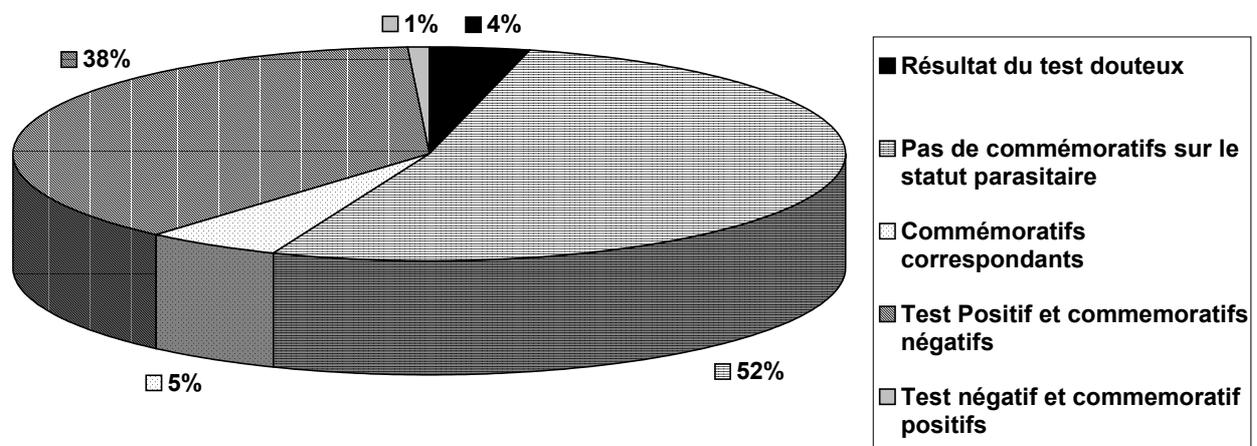


Figure 88: Correspondance entre les commémoratifs et les résultats de la sérologie ELISA Céphénémyiose

### III.3.2- Définition du seuil de positivité du test ELISA

#### III.3.2.1- Définition du seuil de positivité du test ELISA Hypoderme

Le seuil de positivité fixé pour la sérologie hypoderme est celui qui est utilisé pour les sérologies hypoderme bovine. Ce seuil a été défini à 20% (Boulard et al, 1996). D'après l'étude statistique réalisée par J.Cabaret (Figure 57) et en intégrant les résultats de quelques sérologies isolées avec un pourcentage de densité optique compris entre 20 et 25 %, il serait souhaitable de fixer ce seuil autour de 25 %. En effet les conditions de prélèvements sont plus aléatoires que dans des élevages domestiques. De plus, le bruit de fond du test ELISA hypoderme appliqué pour les cervidés est plus important. Ainsi ceci limitera le nombre des quelques animaux considérés comme « faux positif ».

### III.3.2.2- Définition du seuil de positivité du test ELISA Céphénémyiose

Ici la phase ascendante commence vers 35 %. C'est le seuil qui avait été trouvé dans une étude portant sur *Oestrus ovis* chez les moutons, en comparant les résultats de densité optique entre une population de moutons issus d'une zone indemne d'œstres et une population provenant d'une région parasitée par les œstres (Goddard, 1999). Pour être certains de ne pas inclure de faux positifs, les animaux avec un pourcentage de DO inférieur à 35% sont considérés comme négatifs, entre 35 % et 45 % ils sont considérés comme douteux, et positifs si leur pourcentage de DO est supérieur à 45%.

### III.3.3- Distribution de l'infestation parasitaire par département

#### III.3.3.1- *Hypoderma diana*

*Hypoderma diana* est présent dans plusieurs départements sous forme de foyers : soit sous forme de larges foyers comme dans la région Centre, soit de foyers plus réduits comme dans le Lot et la Charente-Maritime par exemple.

Ce parasite est absent de la Marne et de l'Aisne. En Dordogne, toutes les sérologies sont négatives sauf une qui est à 20.6 % de DO que nous considérons comme un faux positif.

#### III.3.3.1.1- L'hypodermose dans le Lot

Dans le lot, 16 % des 243 prélèvements sont positifs. Le point central du foyer inclut Le Bastit, Espedaillac, Cabreret et Carniac du Causse. Au sein de ce foyer, le pourcentage d'infestation sur les 51 chevreuils prélevés est de 65 %. Sur trois autres communes prélevées, des animaux positifs ont été trouvés. A Aujols, 3 chevreuils sur les dix cervidés prélevés sont positifs, 2 chevreuils de Montvalent sur 13 et un chevreuil de Calamane sur quinze. Pour ces trois dernières communes, le pourcentage d'infestation est assez faible. Ceci peut laisser supposer que ces communes, situées en marge du foyer principal, ont été récemment colonisées par *Hypoderma diana*.

### III.3.3.1.2- L'hypodermose en Charente Maritime

Parmi les communes étudiées, nous avons trouvé des animaux parasités par des hypodermes que sur la commune de La Tremblade, avec 6 cervidés positifs sur 9, soit 66, 5 % des animaux sont infestés. Ce département est connu parasité depuis 1990 sur le massif forestier de la Courbe.

Au niveau des flux d'animaux, 5 cerfs provenant du domaine de Chambord (41), où nous avons mis en évidence des cervidés parasités par *Hypoderma diana*, ont été lâchés dans cette forêt en 1994.

### III.3.3.1.3- L'hypodermose dans la région Centre et la Sologne

Parmi les cinq départements de la région Centre étudiés, quatre départements sont parasités par *Hypoderma diana*. Dans l'Indre-et-Loire un chevreuil prélevé à Courcay a un pourcentage de DO égal à 22,7 %. Au vu de l'épidémiologie du varon et de son pourcentage de DO, il s'agit probablement d'un faux positif.

Au niveau des autres départements, *Hypoderma diana* n'est pas présent avec la même pression parasitaire : 38 % dans le Loir-et-Cher, 8 % dans le Loiret, 8% dans l'Indre et 14 % dans le Cher. Ces pourcentages ne sont pas révélateurs de l'état parasitaire du département. A part le Loir-et-Cher, seules quelques communes sont parasitées, avec une prévalence importante dans ces communes. Pour tous ces départements, les communes parasitées sont des communes de Sologne. La seule exception concerne l'Indre avec les communes de Vendoeuvres, de Moebecq, de Migne et de Saint Michel en Brenne. Les prévalences trouvées sont respectivement de 47 %, de 50 %, de 20 % et de 33%. Il est à noter deux autres prélèvements positifs sur la carte. Au vu des pourcentages de DO proche de 20%, nous les avons classés en faux positifs.

#### III.3.3.1.4- Comparaison de la prévalence de l'hypodermose des cervidés avec les prévalences connues dans d'autres pays

Au sein des foyers d'hypodermose, les prévalences trouvées varient entre 20% et 66,5 % selon les communes. En Espagne, la prévalence trouvée, par diagnostic parasitologique, sur 318 cervidés examinés, pendant l'année 1987-88, est de 88,67 % (Martinez-Gomez et al, 1990).

Généralement, le pourcentage d'animaux parasités par *Hypoderma diana* au sein d'un foyer se stabilise autour de 60 à 80 %. Il est tout à fait probable que pour les communes avoisinantes faiblement parasitées, la prévalence augmente et que le varon soit en extension.

#### III.3.3.2- Comparaison de la prévalence de la céphénémyiose des cervidés avec les prévalences connues de l'œstrose, ou de la prévalence de la céphénémyiose obtenue par diagnostic parasitologique

Contrairement au varon, *Cephenemyia stimulator* a une distribution beaucoup plus uniforme sur les départements étudiés. Sur presque toutes les communes étudiées des dix départements entrant dans l'étude, des anticorps contre *Cephenemyia stimulator* ont été trouvés sur les cervidés. Les pourcentages d'animaux positifs, selon les départements, varient entre 76 % et 92 %. Au niveau des 1511 prélèvements testés, 86 % des animaux testés sont sérologiquement positifs.

Concernant *Pharyngomyia picta*, Ruiz et al (1993) ont trouvé, dans le sud de l'Espagne, une prévalence de 96 % sur les cerfs.

Dans une étude réalisée en Grande-Bretagne, dans une région infestée par *Oestrus ovis*, sur 111 moutons, le pourcentage d'animaux séropositifs est de 94.6 % (Goddard, 1999). De plus sur les 5 animaux séronégatifs, des larves de premier stade ont été trouvées.

Dans le sud ouest de la France, la prévalence de l'œstrose du mouton est de 65% (Yilma et Dorchies, 1991).

Le pourcentage de cervidés séropositifs au test sérologique céphénémyiose est très élevé. Les observations faites sur le terrain vont aussi dans ce sens. Sur 4 chevreuils abattus les 14 et 15 juillet 2000 sur la commune de Poulaines (Indre-36), nous avons trouvé des jeunes larves de troisième stade sur trois de ces chevreuils.

Un chasseur de l'Oise, Monsieur O. Bucheron (communication personnelle), a recherché systématiquement la présence de *Cephenemyia stimulator* sur les brocards tirés entre Juin et Août pendant 14 ans. Les 101 chevreuils proviennent du même territoire.

Tableau VII : Nombre de chevreuils trouvés parasités par *Cephenemyia stimulator* et nombre de larves par animal. Suivi pendant 14 ans sur le même territoire (Oise), d'après O.Bucheron.

<b>Année</b>	<b>Nombre d'animaux abattus</b>	<b>Nombre de chevreuil parasités par <i>Cephenemyia stimulator</i></b>	<b>Nombre moyen de larve trouvées sur les chevreuils parasités</b>	<b>Ecart Type</b>
<b>1987</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>18.8</b>	<b>9.4</b>
<b>1988</b>	<b>9</b>	<b>7</b>	<b>18</b>	<b>7</b>
<b>1989</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>20</b>	<b>6</b>
<b>1990</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>26.6</b>	<b>7.9</b>
<b>1991</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>25.5</b>	<b>9.7</b>
<b>1992</b>	<b>8</b>	<b>3</b>	<b>17.3</b>	<b>4.5</b>
<b>1993</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>24.7</b>	<b>16.6</b>
<b>1994</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>21.4</b>	<b>6.6</b>
<b>1995</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>27.5</b>	<b>14.8</b>
<b>1996</b>	<b>11</b>	<b>7</b>	<b>20.8</b>	<b>3.7</b>
<b>1997</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>19.7</b>	<b>5.2</b>
<b>1998</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>16.5</b>	<b>5.7</b>
<b>1999</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>23</b>	<b>16.2</b>
<b>2000</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>12.5</b>	<b>3.8</b>

### III.3.4- Cinétique annuelle des anticorps

#### III.3.4.1- *Hypoderma diana*

La cinétique des anticorps dirigés contre le varon a été bien étudiée chez les bovins. Il n'y a pas de persistance des anticorps d'une année sur l'autre (figure 89) (Boulard, 1996 b). C'est pourquoi bien que nous ne disposions pas d'infestations expérimentales, par homologie nous considérons qu'un cervidé sérologiquement positif au test ELISA peut être considéré comme parasité.

D'ailleurs, seul 3 % des animaux tués en janvier-février, à une période où les larves se voient bien, n'ont pas été signalés positifs.

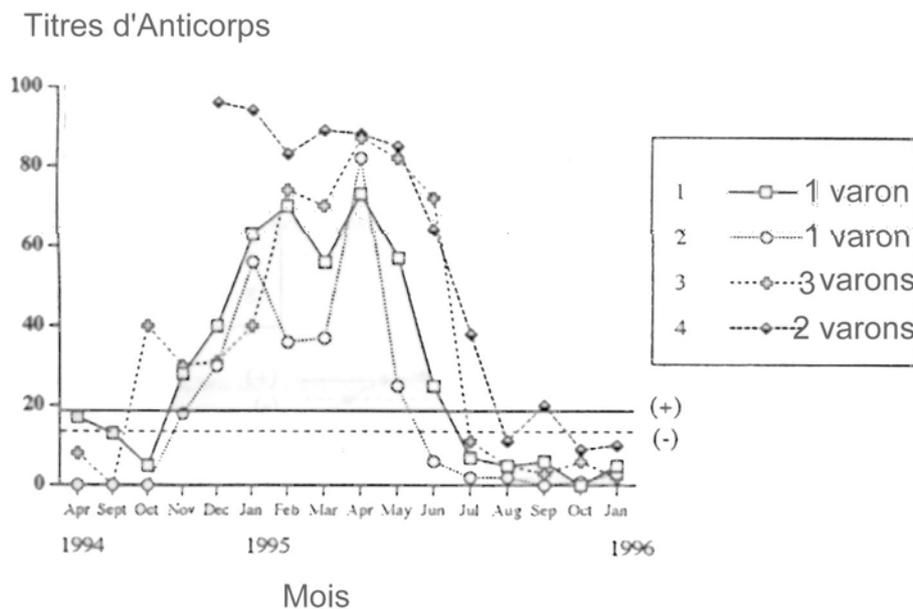


Figure 89 : Cinétique des anticorps à la suite d'une infestation expérimentale par *Hypoderma bovis* (Boulard, 1996 b)

#### III.3.4.2- *Cephenemyia stimulator*

La cinétique des anticorps contre *Cephenemyia stimulator* est différente de celle des hypodermes. D'après une étude réalisée en 1997 à l'INRA de Nouzilly (Boulard, communication personnelle) sur deux moutons, lors d'une infestation expérimentale par *Oestrus ovis*, en l'absence de réinfestation, les anticorps sont toujours détectés au bout de 75 semaines (figures 90 et 91) bien qu'ils aient été traités en 54<sup>ème</sup> semaine.

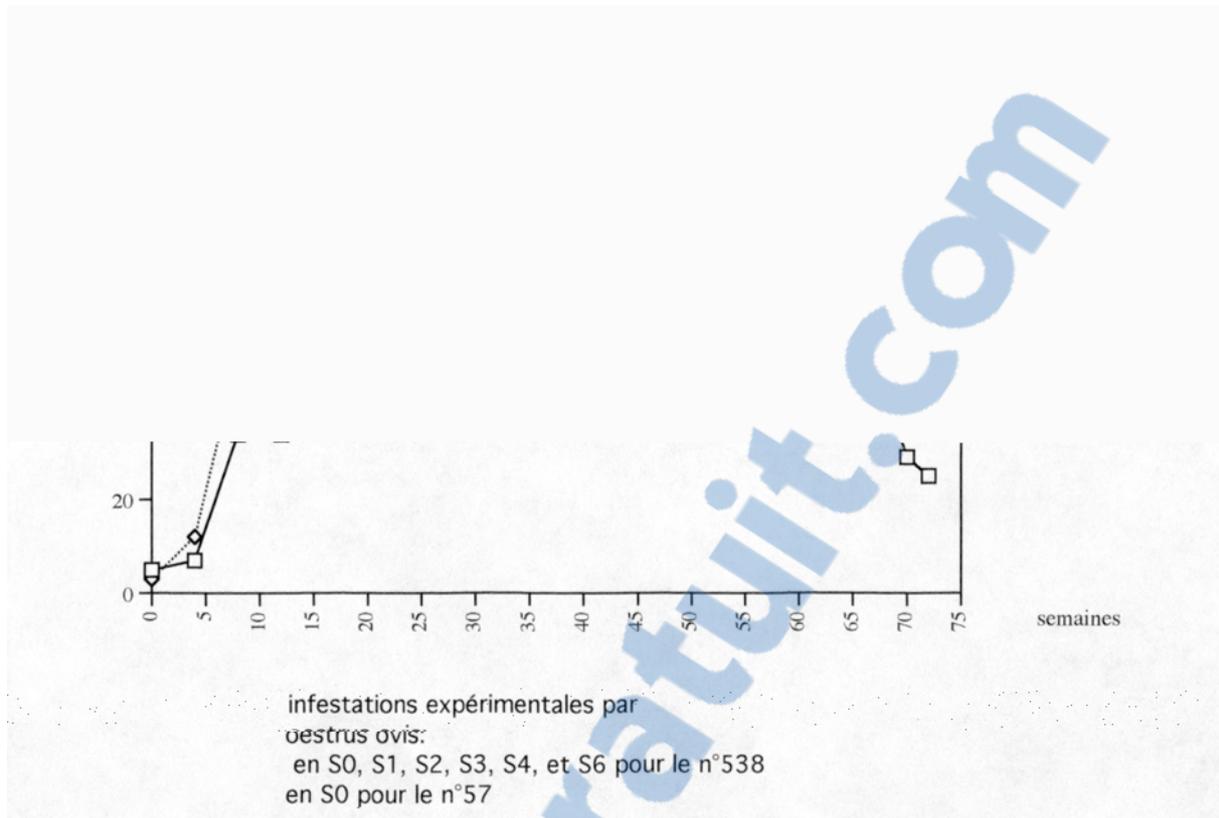


Figure 90 : Cinétique des anticorps de deux moutons après une infestation expérimentale par *Oestrus ovis*, d'après Chantal Boulard (communication personnelle)

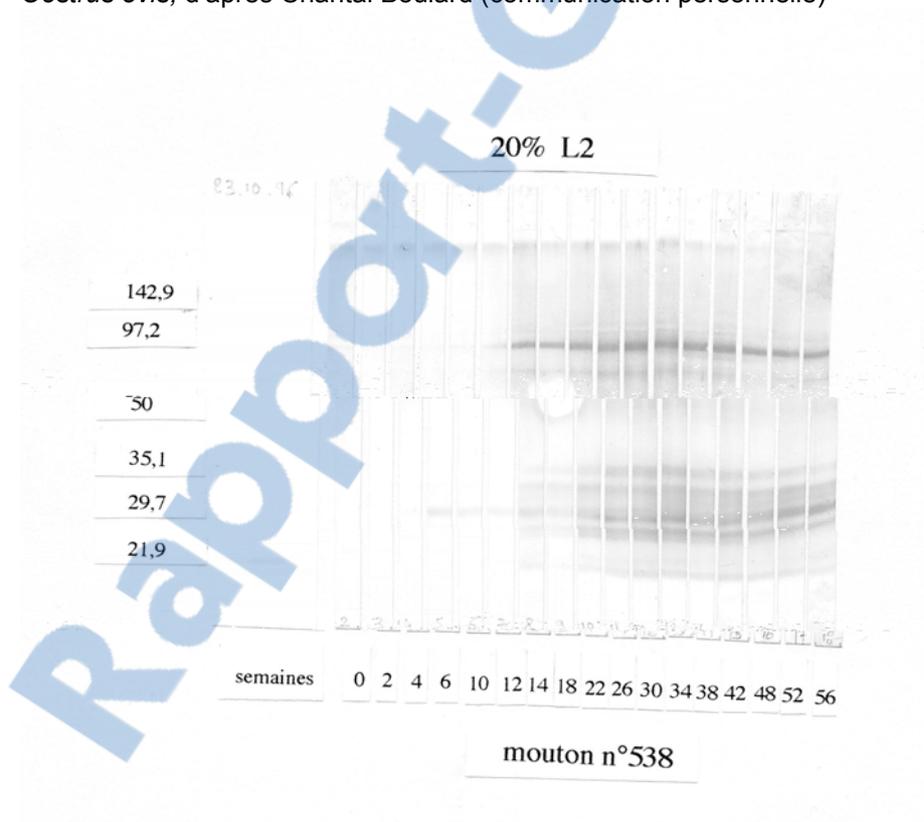


Figure 91 : Western Blot réalisé avec une fraction de 20 % de larve L2 d'*Oestrus ovis*, suivi sur 56 semaines après de multiples infestations en S0, S1, S2, S3, S4 et S6, d'après Chantal Boulard (communication personnelle)

*Cephenemyia stimulator*, *Pharyngomyia picta* et *Oestrus ovis* étant phylogénétiquement très proches, nous raisonnons par analogie et posons pour hypothèse que les chevreuils dont la sérologie est positive ne sont donc pas forcément parasités par *Cephenemyia stimulator* ou par *Pharyngomyia picta*. L'hypothèse d'une infestation l'année précédente peut être évoquée même s'ils n'ont pas été réinfestés l'année lors de laquelle la sérologie a été réalisée.

A Chambord, sur les 22 cerfs prélevés entre le 11 janvier et le 29 mars 2001, une dissection des voies respiratoires supérieures a été réalisée pour chaque animal. Alors que les sérologies sont toutes positives, les larves de *Pharyngomyia picta* ont été trouvées uniquement sur 8 cerfs. Il est possible que pour les trois animaux prélevés en janvier, il n'y ait que des larves de premier stade très difficilement détectables. Les autres cerfs sans larves, prélevés en février et mars, ont probablement été infestés l'année précédente.

#### III.3.5- Antigènes de *Cephenemyia stimulator*

Deux bandes sont révélées en Western blot avec le sérum positif. Une bande est située entre 22 kDa et 30 kDa. Une autre se situe en dessous de 22 kDa. Dans son travail sur *Oestrus ovis*, G Tabouret (2001) met en évidence un complexe protéique avoisinant 28 kDa synthétisé par les glandes salivaires des larves L2 et L3 et reconnu par les anticorps sériques. Il est possible qu'*Oestrus ovis* et *Cephenemyia stimulator* aient des protéines immunogènes très semblables, pouvant servir au diagnostic sérologique de ces parasitoses.

### III.3.6 - Qualité du buvard

Le buvard est un support de prélèvement pratique car ne nécessitant qu'une manipulation simple, des coûts de prélèvement réduits et un confort dans les temps d'expédition et d'analyse du buvard.

La comparaison préalable des résultats de l'immunodiagnostic pratiqué sur le sang des chevreuils déposé sur un buvard ou pratiqué directement sur le sérum a permis de valider ce type de technique.

Cependant certains biais existent. Si les buvards sont en contact les uns avec les autres avant d'être secs, il peut y avoir des contaminations d'un buvard à l'autre et une augmentation du nombre de faux positifs. De même, si les buvards n'ont été que partiellement imbibés de sang ou imbibés avec du sang souillé, entre autre par le contenu du rumen. Ceci diminue la concentration d'anticorps dans le prélèvement, la DO et donc le pourcentage de DO.

Par contre, le buvard est relativement stable dans le temps ; plusieurs analyses (sérologie ELISA Hypoderme) ont été réalisées pour les mêmes buvards stockés dans un tiroir à la température du laboratoire et sur une durée de 2 ans ( figure 92) : les résultats sont tout à fait similaires d'un test à l'autre.

**Comparaison des résultats sérologique des mêmes buvards à 2 ans d'intervalle**

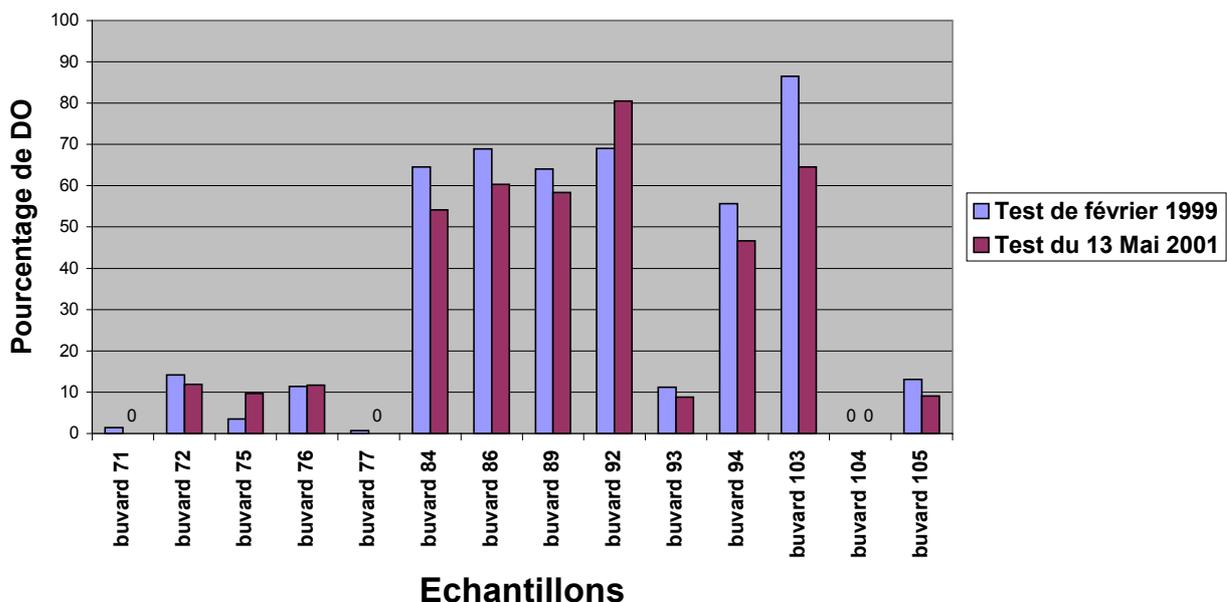


Figure 92 : Comparaison des pourcentages de densité optique de la sérologie Hypoderme, obtenus sur les mêmes buvards à deux ans d'intervalle

### III.3.7- Variations d'intensité du parasitisme par *Cephenemyia stimulator* liées à l'âge ou au sexe

#### III.3.7.1- Variations liées à l'âge

Dans plusieurs études sur *Cephenemyia phobifera* ou *Cephenemyia stimulator* (Bennett, 1962 ; Dundzinski, 1970 b), il a été montré une différence significative de la prévalence d'infestation en fonction de l'âge. Dans notre étude, pour les jeunes, les adultes et les cervidés âgés, la fréquence d'infestation est respectivement de 0.842, 0.869, 0.837.

Pour Dundzinski cette différence entre les ages peut être dû au fait que les jeunes cervidés n'ont pas encore développé les réflexes de protection face au dépôt des larves par les mouches femelles.

La comparaison de ces fréquences deux à deux par un test d'homogénéité n'a permis de faire ressortir aucune différence significative avec un risque de 5 % entre les différentes classes d'âge.

Cependant l'âge des animaux a été estimé par un grand nombre de personnes. De plus les différences les plus significatives rapportées dans la littérature concernent les animaux de moins d'un an avec les autres cervidés plus âgés. Or la classe jeune de cette étude regroupe les animaux de moins de deux ans et demi.

#### III.3.7.2- Variations liées au sexe

D'après Dundzinski (1970 b), les mâles sont plus souvent infestés que les femelles et avec plus de larves. Dans cette étude, la fréquence d'infestation des mâles est 0.900 et celle des femelles est 0.908. Les hypothèses de Dundzinski, concernant cette différence, sont la biologie différente entre mâles et femelles et les différences de condition de développement pour la larve entre les hôtes mâles et femelles.

Bennett (1962) ne trouve pas de différence d'infestation entre mâles et femelles par *Cephenemyia phobifera*. Il existe cependant de grandes différences de mode de vie entre le chevreuil et le cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*) qui vit en harde.

Dans notre étude, le test d'homogénéité de comparaison de deux fréquences ne donne pas de différence significative au risque 5 %.

### III.3.8- Doit-on traiter la faune sauvage ?

Lorsque les résultats de cette étude ont été soumis aux chasseurs, une des premières questions soulevées a été celle du traitement. Cependant deux problèmes se posent quant au traitement.

Le premier consiste à savoir si sur un plan purement d'éthique, nous pouvons nous autoriser à intervenir sur l'équilibre naturel de la faune sauvage. Par ailleurs les cervidés ont actuellement un bon taux de reproduction, ces espèces ne sont pas en voie de disparition, le parasitisme et les différentes maladies ne constituent elles pas une sorte de régulateur naturel ? D'autant plus que l'hypodermose et la céphénémyiose n'entraînent pas de risque pour la santé humaine, quelques cas de myiases humaines sont trouvés chaque année mais le cycle de parasites est presque toujours avorté. Cependant, il peut être nécessaire de traiter les cervidés d'élevage qui ne sont plus réellement des animaux sauvages. Bien entendu, s'il s'avère qu'*Hypoderma diana* ou que *Cephenemyia stimulator* passent des cervidés aux ruminants domestiques, alors une donnée économique entrerait en ligne de compte, mais aucune observation ne va actuellement dans ce sens.

Le deuxième problème si l'on devait traiter, serait de savoir comment traiter la faune sauvage. Considérant les produits qui existent sur le marché, et la répétition nécessaire de ces traitements chaque année, sachant qu'il faudrait traiter chaque année un million de chevreuils et soixante quinze mille cerfs. La nécessité de pouvoir ajuster les doses est primordiale. En effet, un surdosage des principes actifs peut provoquer des intoxications pour les animaux et pour le consommateur. Se pose aussi la question de savoir comment respecter les temps d'attente. Par contre un sous dosage du principe actif risque d'entraîner des phénomènes de résistance de différents parasites présents sur les animaux.

Si la pharmacocinétique des anti-parasitaires a fait l'objet d'études sur les animaux de rente, sur les cervidés la connaissance de la pharmacocinétique reste sommaire. Or des différences importantes du devenir du principe actif peuvent exister entre deux espèces pour le même anti-parasitaire.

Concernant *Hypoderma diana*, en Charente-Maritimes, dans le Lot ou encore dans le Var, les foyers de varon sont récents et circonscrits. Il est plus que probable que ces nouveaux foyers font suite à des mouvements d'animaux réalisés par l'homme. Dans ces cas particuliers, il pourrait tout à fait être envisageable de réaliser un traitement de manière exceptionnelle en définissant un périmètre autour

de ces foyers, à l'intérieur duquel un traitement sur les cervidés serait réalisé pendant une période déterminée. Il faut alors tenir compte de la période de traitement afin d'éviter les chocs anaphylactiques provoqués par une libération massive d'antigènes (Boulard et al, 1975 ; Boulard et al 1988). De plus il faut inclure dans le choix de la date de traitement les dates de chasse afin de respecter le temps d'attente avant de consommer la viande.

Cependant en matière de traitement, alors que depuis une vingtaine d'années les déplacements d'animaux sont fréquents et les flux importants, nous serions favorable à un traitement anti-parasitaire systématique sur tous ces animaux déplacés. Il serait possible ainsi d'éviter d'introduire des animaux porteurs de maladie et ainsi de créer de nouveaux foyers. Un contrôle sanitaire ainsi qu'une période de quarantaine devraient également aussi être réalisés.

#### III.3.7.4- Conséquence de l'introduction d'un animal porteur de varon

Un modèle de simulation spatiale et temporelle a été réalisé par French (1997) en Angleterre pour les bovins. Les résultats de cette étude sont les suivants : l'introduction d'une vache avec 30 varons dans un troupeau indemne et dans une région dépourvue d'hypoderme (au Royaume-Uni) donne après 5 ans et en l'absence de traitement une densité de 67 mouches au km<sup>2</sup>, sur un rayon de 8.5 km. Sur cette superficie 70 % à 80 % des animaux sont infestés.

Il est noté la faible mobilité des bovins se trouvant dans des enclos par rapport aux chevreuils qui se trouvent en liberté à l'état sauvage. Comme le montre l'étude réalisée à Trois-Fontaines (Widmer, 1998), suivant la végétation de son territoire, le chevreuil occupe une surface de 83.6 ha de moyenne. Une simulation du même type avec des cervidés donnerait probablement comme résultat une superficie d'infestation plus importante en cinq ans.

Par rapport à l'enquête « varons 1994 » (Lett, 1997), menée par l'ONC, il semble que les foyers infestés se maintiennent et que la diffusion de cette maladie soit contenue compte tenu du manque de continuité des forêts et donc de l'isolement des territoires des populations de chevreuil. De plus il existe d'autres foyers en dehors du Loir-et-Cher, par exemple dans le Loiret à Tigy.

## CONCLUSION

*Hypoderma diana*, *Cephenemyia stimulator* et *Pharyngomyia picta* sont présents en France. Le varon se situe dans plusieurs zones bien localisées, avec une prévalence importante. Le varon est effectivement présent en Sologne, mais aussi dans d'autres régions. *Hypoderma diana* est soit absent dans les départements, soit présent sous forme de petits foyers sans qu'il soit possible de mettre en relation ces foyers récents avec les mouvements de cervidés réalisés par l'homme. Néanmoins il existe en France des flux importants de cervidés vivants sur lesquels une prévention sanitaire serait à réaliser.

Les oestres des cervidés sont trouvés dans tous les départements étudiés, de manière disséminée, avec une prévalence supérieure ou égale à 71 %.

Le diagnostic sérologique permet d'identifier les animaux porteurs d'agents des myiases, et ainsi de s'affranchir d'un diagnostic parasitologique beaucoup plus lourd. Ainsi le nombre d'animaux parasités ne sera pas sous-estimé comme c'est souvent le cas lors de diagnostic uniquement visuel. Le diagnostic spécifique de ces deux myiases par immunodiagnostic permet donc de définir une prévalence. De plus une sérologie annuelle suffit, alors qu'un diagnostic visuel nécessite plusieurs observations en raison de la variabilité des cycles biologiques dépendant pour la recherche du stade larvaire de l'ectoparasite, des départements, des variations climatiques annuelles, et des variations individuelles. Cependant le diagnostic sérologique ne permet pas de différencier les espèces d'hypoderme ou les différents agents des myiases naso-pharyngées mais rappelons que ces espèces parasitaires sont décrites comme étroitement inféodées aux cervidés.

Les prélèvements de sang réalisés sur buvards permettent de faire face aux contraintes imposées par le travail sur la faune sauvage aussi bien au niveau de la réalisation du prélèvement lui-même que de sa conservation et de son exploitation.

La technique statistique utilisée permet de définir un seuil de positivité pour un test réalisé sur la faune sauvage, en l'absence de zone indemne connue de la maladie étudiée ou de la possibilité de réaliser des infestations expérimentales et en l'absence d'une connaissance de la spécificité et la sensibilité du test.

Cette étude ouvre donc la voie sur les possibilités d'une recherche sur la dynamique épidémiologique de deux maladies parasitaires dues à des agents des

myiases des cervidés et plus généralement de la faune sauvage avec des techniques sérologiques permettant un échantillonnage important.

Concernant les oestres et le varon des cervidés nous avons maintenant un état des lieux de la distribution et de la prévalence de ces maladies sur dix départements français. De plus, maintenant que des outils faciles à utiliser pour réaliser les sérologies ont été développés, il serait intéressant de reprendre cette étude, tous les trois ou quatre ans, afin de suivre l'évolution de ces myiases d'une part dans les dix départements étudiés mais aussi plus généralement sur toute la France et également pour d'autres maladies.

En chimiothérapie, des molécules très actives contre ces agents de myiases existent. Cependant il faut prendre en considération la justification de traiter la faune sauvage, les problèmes de rémanence des principes actifs, de leurs actions sur la faune entomologique présente dans l'environnement. De plus lors de traitement d'animaux sauvages à l'aide de formes orales, il faut veiller à distribuer spécifiquement les principes actifs pour que seule l'espèce voulue consomme l'antiparasitaire. Il serait aussi intéressant d'étudier la possibilité d'utiliser certaines molécules qui ont une action aussi bien sur les agents des myiases que sur les douves, présentes chez les cervidés. A ce stade de la connaissance de ces myiases, nous ne pouvons recommander que le traitement des animaux déplacés. Cette étude a permis de caractériser les observations diffuses des chasseurs concernant les myiases des cervidés. Elle mériterait d'être étendue sur l'ensemble du territoire et poursuivie sur plusieurs années afin d'approfondir notre connaissance de la biologie et de l'épidémiologie de ces maladies en France.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARGENTE G, HILLION E. (1984). Utilisation de petites doses d'ivermectine pour le traitement préventif de l'hypodermose bovine. *Le Point vétérinaire*, **16**, n° 85, 62-66.
- BAIN O. (1981). Le genre *Onchocerca* : Hypothèses sur son évolution et clé dichotomique des espèces. *Annales de Parasitologie*, **56**, n°5, pp.503-526.
- BENAKHLA A, LOSSON B, LONNEUX J.F, BOULARD C, BENOUARETH D. (1998). Comparative efficacy of different insecticides in treatment of cattle hypodermosis in north-eastern Algeria. *Vet Res*, **29**, 21-29.
- BENNETT G.F. (1962). On the biology of *Cephenemyia phobifera* (Diptera: Oestridae), the pharyngeal bot of the white-tailed deer, *Odocoileus virginianus*. *Can. J. Zool.*, 40, 1195-1210
- BOULARD C.(1970). Etude préliminaire d'une collagénase brute extraite de la larve de premier stade d'*Hypoderma lineatum* (de Villier). C.R. Acad. Sci., Paris, 270, série D, 1349-1351.
- BOULARD C, GARRONE R. (1973). Characterization of a collagenolytic enzyme from larvae of *Hypoderma lineatum* (Insecta : Diptera, Oestriiform). *Comp. Biochem. Physiol.*, 59B : 251-255.
- BOULARD C. (1975). Evolution des anticorps circulants chez les bovins traités contre l'hypodermose. *Ann. Rech. Vét.*, **6** (2), 143-154.
- BOULARD C, BENCHARIF F. (1984). Changes in the haemolytic activity of bovine serum complement by *Hypoderma lineatum* (insect Oestridae) larval proteinases in naive and immune cattle. *Parasite Immunology*, 6 :459-467.
- BOULARD C. (1985). Avantages de l'immunodiagnostic de l'hypodermose bovine établi par hémagglutination passive et par ELISA, à partir du sérum et du lactosérum, sur la numération des varons. *Ann. Rech. Vét.*, **16** (4), 335-343.
- BOULARD C, ARGENTE G, HILLION E. (1988 a). Hypodermose bovine. 1<sup>ère</sup> partie : description et incidence économique. *Le Point Vétérinaire*, **20**, (111), 17-30.
- BOULARD C, ARGENTE G, HILLION E. (1988 b). Hypodermose bovine. 2<sup>e</sup> partie : diagnostic et traitement. *Le Point Vétérinaire*, **20**, (112), 105-115.
- BOULARD C, MOIRE N, BIGOT Y, PERIQUET G. (1994). Sequencing and gene expression of hypodermins A, B, C in larval stages of *Hypoderma lineatum*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, **66**, 233-240.
- BOULARD C, VILLEJUBERT C, MOIRE N. (1996 a). Cross-reactive, stage-specific antigens in the Oestridae family. *Vet Res*, **27**, 535-544.

BOULARD C, VILLEJoubert C, MOIRE N, LOSSON B, LONNEUX JF. (1996 b). Sero-surveillance of hypodermosis in a herd under therapeutic control. Effect of a low level of infestation. *Vet. Parasitol.*, **66**, 109-117.

BOULARD C, VILLEJoubert C, MOIRE N. (1997). Interactions entre l'hôte et le parasite au cours de l'hypodermose bovine. *Le point Vétérinaire*, **28**, numéro spécial « Parasitologie des Ruminants », 67-71.

BOULARD C. (1999). La lutte contre l'hypodermose en Europe. *Le Point Vétérinaire*, **30**, (199), 301-307.

BOUVIER G, BURGISSER H, SCHNEIDER P A. (1962). Observations sur les maladies du gibier et des animaux sauvages faites en 1959 et 1960. Extrait du «*Schweizer Archiv für Tierheilkunde* », fasc 7, **104**, 44-450

BOUVIER G, BURGISSER H, SCHNEIDER P A. (1952). Développement des larves de *Cephenomyia stimulator* Clark (Dipt., Calliphorid.) du chevreuil en suisse. *Mitt. Schweiz. Ent. Ges.*, **25**, 265-267.

CHARBON J.L, PFISTER K. (1992). Hypodermosis in Switzerland. In: Improvements in control methods for warble fly in cattle and goat. Cost 811. Commission of the European Communities, Brussels, 45-50.

CHABAUDIE N, BOULARD C. (1992). Effect of hypodermin A, an enzyme secreted by *Hypoderma lineatum* (Insect Oestridae), on the bovine immune system. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **31**, 167-177.

CHABAUDIE N, BOULARD C. (1993). In vitro and ex vivo responses of bovine lymphocytes to hypodermin C, an enzyme secreted by *Hypoderma lineatum* (Insect Oestridae). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **36**, 153-162.

CHAUVIN A. (1987). Application de la méthode immuno-enzymatique ELISA au diagnostic de l'hypodermose bovine. Th. doc. vét., n°29, E.N.V.Nantes.

DMV. (2001). Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires et des produits de Santé Animale. Editions du point Vétérinaire, 11<sup>ème</sup> édition, Maisons-Alfort, 1814p.

DORCHIES P, DUCOS de LAHITTE J. (1986). Le traitement antiparasitaire des ovins par l'ivermectine injectable. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **137**, 485-490.

DRUMMOND R.O. (1984). Controll of larvae of the common cattle grub (Diptera, Oestridae) with animal systemic insecticides. *J. of Entomology*, **77**, (2), 402-406

DUDZINSKI W. (1970 a). Studies on *Cephenemyia stimulator* (Clark) (Diptera, Oestridae), the parasite of European roe deer, *Capreolus capreolus* (L.). I. Biology. *Acta Parasitologica Polonica*, **XVIII**, fasc.49, 555-572.

DUDZINSKI W. (1970 b). Studies on *Cephenemyia stimulator* (Clark) (Diptera, Oestridae), the parasite of European roe deer, *Capreolus capreolus* (L.). II. Invasiology. *Acta Parasitologica Polonica*, **XVIII**, fasc.49, 573-592.

FRENCH N.P. (1997). A model of warble fly infestation (hypodermosis) in space and time. *Epidémiol. santé anim*, 31-32.

GODDARD P, BATES P, WEBSTER K A. (1999). Evaluation of a direct ELISA for serodiagnosis of *Oestrus ovis* infections in sheep. *Veterinary Record*, **144**, 497-501.

GRUNIN K. (1957). Nosoglotoenyj ovod ussurijskogo losja. *Ent. Obozr.*, **29**, 224-231.

GRUNIN K. (1966). *Oestridae*. In Erwin Linder "Die Fliegen der palaarktischen Region", *Lief.*, 264, 265, 266, Stuttgart.

JAMES M.T. (1947). The flies that cause myiasis in man. *United States Dep. of Agric.*, 631, 105-112.

JORRIN.J and GASCA. A. (1991). Climatic condition on pupation of *Hypoderma diana* from Red deer. In Improvements in the Control methods for Warble-fly in Cattle and Goats. COST 811, Commission of the European Communities, Brussel, 59-65.

KUTZER E. (1994). Treatment of oestrinosis and hypodermosis in Cervidae (red deer, roe deer) by ivermectin (IVOMEC). *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Allgemeine und Angewandte Entomologie*, **9** (1-3) 165-170

LETT J M. (1997). L'hypodermose des cervidés, ou varron, dans le département du Loir-et-Cher. *Bulletin mensuel de l'Office national de la Chasse*, n°224, 24-27.

LOSSON B, LONNEUX J.F, LIEBISCH A. (1998). Chemoprophylaxis and chemotherapy of cattle hypodermosis. In : Improvements in the Control Methods for Warble Fly in Livestock. European COST 811. *European Commission*, Italy, 62-67.

MARTINEZ-GOMEZ, HERNANDEZ-RODRIGUEZ S, RUIZ-SANCHEZ P, MOLINA-RODERO R, MARTINEZ-MORENO A. (1990). Hypodermosis in the red deer *Cervus elaphus* in Cordoba, Spain. *Medical and Veterinary Entomology*, **4**, 311-314.

MARTINEZ-MORENO J, NAVARETTE I, REINA D, HERNANDEZ S. (1998). Hypodermosis in Deer. In : Improvements in the Control Methods for Warble Fly in Livestock. European COST 811. *European Commission*, Italy, 95-101.

MINAR J, (1982). A contribution to the knowledge of distribution and ecology of botflies (*Oestridae*) and warble flies (*Hypodermatidae*) in cervids. *Facultis scientiarum Naturalium universitatis Purkynianae Brunensis*. **XXIII**, Biologia 74, Opus 7, 87-92.

MOIRE N, BIGOT Y, PERIQUET G, BOULARD C. (1994). Sequencing and gene expression of hypodermins A, B, C in larval stages of *Hypoderma lineatum*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, **66**, 233-240.

MOIRE N, NICOLAS-GAULARD I, LE VERNE Y, BOULARD C. (1997). Enzymatic effect of hypodermine A, a parasite protease, on bovine lymphocyte membrane antigens. *Parasite Immunology*, **19** :21-27.

- NILSEN A.C, HAUGERUD R.E. (1994). The moose nose bot fly *Cephenemyia ulrichii* Brauer (Diptera : Oestridae) reported in Norway for the first time. *Rangifer*, 14 (2) : 89-92
- NILSEN A.C, HAUGERUD R.E. (1995). Epizootiology of the reindeer nose bot fly, *Cephenemyia trompe* (Modeer) (diptera : Oestridae), in reindeer, *Rangifer tarandus* (L.), in Norway. *Canadian Journal of Zoology*, 73, (6), 1024-1036
- NILSEN A.C, GJERSHAUG J.O. (1988). Reindeer warble fly larvae found in red deer. *Rangifer*, 8 (1) : 35-37
- OKSANEN A, NIEMINEN M, SOVERI T. (1993). A comparison of topical, subcutaneous and oral administrations of ivermectin to reindeer. *Veterinary Record* 133, 312-314
- OKSANEN A, NIEMINEN M. (1996). Larvicidal effectiveness of doramectin against natural warbl (*Hypoderma tarandi*) and throat bot (*Cephenemyia trompe*) in reindeer. *Medical and Veterinary Entomology*, 10, 395-396.
- PRUETT JH, BARETT CC. (1985). Kinetic development of humoral anti-*Hypoderma lineatum* antibody activity in the serum of vaccinated and infested cattle. *Southwest. Entomol.*, 10 (1), 39-48
- RODHAIN F, PEREZ C. (1985). Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Maloine, Paris, 458p.
- RUIZ MARTINEZ I, PALOMARES F. (1993). Occurrence and overlapping of pharyngeal bot flies *Pharyngomyia picta* and *Cephenemyia auribarbis* (Oestridae) in red deer of southern Spain. *Veterinary Parasitology*, 47, 119-127.
- RUIZ I, SORIGUER R.C, PEREZ J.M. (1993). Pharyngeal Bot Flies (Oestridae) from Sympatric Wild Cervids in Southern Spain. *J. Parasitol.*, 79 (4), 623-626
- TABOURET G. (2001) *Oestrus ovis* (Linné 1781) [Diptera : Oestridae] chez les ovins : *Activité trophique des larves et réponse immunitaire muqueuse*. Thèse de doctorat universitaire, Université Paul Sabatier, Toulouse.
- ULLRICH H. (1936). Untersuchungen über die Biologie der Rachenbremse (genus *Cephenomyia* Latreille), über die pathogenen Einflüsse der Rachenbremsenlarven auf ihre Wirtstiere und über Bekämpfungsmöglichkeiten der Rachenbremsenplage, Diss. Berlin, J. Neumann-Neudamm, 69 pp.
- WIDMER O, CHASTRAGNAT L, KLEIN F. (1998). L'occupation de l'espace par le chevreuil. *Bulletin mensuel de l'Office national de la Chasse*, n°236.
- YILMA J.M, DORCHIES P. (1991). Epidemiology of *Oestrus ovis* in southwest France. *Veterinary Parasitology*, 40, 315-323
- ZUMPT F. (1965). Myiasis in Man and Animals in the Old World. Butterworths, London, pp 146-153, 217-229

## ANNEXE 1

### Etude Myiases des Cervidés *Hypoderma diana*- *Cephenemyia stimulator*

Une étude séro-épidémiologique a débuté en février 1999 afin de mieux connaître la distribution de deux parasites des cervidés, en France.

Ces parasites sont :

- *Hypoderma diana* plus connu sous le nom de varon. C'est une larve de mouche qui se trouve en position sous cutanée chez les chevreuils et les cerfs. Elle est bien visible de décembre à mars.
- *Cephenemyia stimulator* est plus connu comme étant « l'oestre du chevreuil ». Cette larve se situe dans les sinus, les cornets nasaux et dans une poche néoformée à proximité du larynx.

Cette larve est visible (2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> stade) de fin février à fin septembre.

La taille de ces parasites est d'environ 2,5-3 cm de long pour 0,5 cm de diamètre au niveau du troisième stade larvaire.

Cette étude a été réalisée avec 10 Fédérations sur la saison de chasse 2000-2001. Pour compléter les sérologies, j'aurais besoin que toutes les Fédérations puissent répondre à ce petit questionnaire.

Je vous en remercie d'avance.

-----  
(Entourer la réponse choisie)

Département : .....

#### **I/ *Hypoderma diana***

Connaissez vous ce parasite :

Présence de varon (*Hypoderma diana*) :                      Oui                      Non                      Oui                      Non                      Peut-être

Si Oui, depuis quelle date : .....

Nom de la première commune parasitée : .....

Extension du foyer primaire :    Oui    Non

Nouveaux foyers :    Oui    Non

Si OUI, Noms des communes centrales.....

Le parasite semble t-il être en extension :    Oui    Non

Est ce un problème qui préoccupe les chasseurs :    Oui    Non

Pourcentage estimé d'animaux parasités : .....

Période pendant laquelle le parasite est visible dans votre département :

Début :

Fin :

#### **III/ *Cephenemyia stimulator***

Connaissez vous ce parasite :

Présence d' « Oestre » (*Cephenemyia stimulator*) :    Oui                      Non                      Oui                      Non                      Peut-être

Si Oui, depuis quelle date : .....

Présence sous forme :                      de foyers                      Disséminée

Nom de la première commune parasitée : .....

Si foyers : Extension du foyer primaire :    Oui    Non

Nouveaux foyers :    Oui    Non

Si OUI, Noms des communes centrales.....



Le parasite semble t-il être en extension : Oui      Non  
 Est ce un problème qui préoccupe les chasseurs : Oui      Non  
 Pourcentage estimé d'animaux parasités :.....  
 Période pendant laquelle le parasite est visible dans votre département :  
 Début :  
 Fin :

### **III/ Généralités (à l'échelle du département)**

Population estimée en chevreuils sur le département:

Population estimée en cerfs sur le département:

A/ Mouvements importants naturels de cervidés :      oui      non  
 Si oui : département de provenance :      Destination :

B/ Mouvements de cervidés par l'homme :    aucun    il y a 5 ans    il y a 10 ans  
 il y a 20 ans  
 Autre .....

1) Importation (par l'homme):      Chevreuils      Cerfs  
 Nombre d'animaux importés : .....  
 Dates d'importation : .....  
 Provenance :      France      Pays étranger  
 Département de provenance : .....  
 Remarques :

2) Exportation (par l'homme):      Chevreuils      Cerfs  
 Nombre d'animaux exportés : .....  
 Dates d'exportation : .....  
 Destination :      France      Pays étranger  
 Département de destination : .....  
 Remarques :

## ANNEXE 2

 <p style="font-size: small;">Institut National de la Recherche Agronomique <b>Centre de Tours</b> <b>Pathologie Aviaire et Parasitologie</b></p>	<p><b>[Mode opératoire]</b></p> <p><b>[Electrophorèse en gel de polyacrylamide]</b></p>		N° identification :
			Date d'émission
			Dernière mise à jour
			Date de retrait :
Fichier informatique :			Nbre de page : <i>121</i>
Rédigé par: <i>Sibille</i>	Revu par: <i>Moiré</i>	Approuvé par : <i>Boulard</i>	
Diffusion : IPMP			

### SOMMAIRE

Mots clés

Domaine d'application

Références

Principe



## Annexes

### Préparation des solutions et tampons

**Tris -HCl 1.5 M pH 8.8**

**Tris -HCl 0.5M pH 6.8**

**Tampon de migration 5X,**

**Persulfate d'ammonium à 10%**

**SDS à 10%**

---

**Tampon de charge 4X (non  
dénaturant)**

**Tampon de charge dénaturant 4X**

$\beta$

 <p>Institut National de la Recherche Agronomique  <b>Centre de Tours</b>  <b>Pathologie Aviaire et Parasitologie</b></p>	<b>[Mode opératoire]</b>		<b>N° identification :</b>
	<b>[Western Blot ]</b>		<b>Date d'émission</b> 13/08/1999
			<b>Dernière mise à jour</b> 09/06/2000
			<b>Date de retrait :</b>
<b>Fichier informatique :</b>			<b>Nbre de page :</b> <i>121</i>
<b>Rédigé par:</b>	<b>Revu par:</b> <i>Sibille</i>	<b>Approuvé par :</b> <i>Boulard</i>	
<b>Diffusion : IPMP</b>			

## SOMMAIRE

**Mots clés**

**Domaine d'application**

**Principe**

**Réactifs**

---

**Petit matériel**

**Appareillage**

**Hygiène, Sécurité**

**Mode opératoire**

---

---