



HAL
open science

Optimisation de la stratégie d'échantillonnage intra-lot pour le dosage de pepsinogène sérique chez les génisses de première saison de pâturage

Chloé Hoisnard

► **To cite this version:**

Chloé Hoisnard. Optimisation de la stratégie d'échantillonnage intra-lot pour le dosage de pepsinogène sérique chez les génisses de première saison de pâturage. Sciences du Vivant [q-bio]. 2024. dumas-04848955

HAL Id: dumas-04848955

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04848955v1>

Submitted on 19 Dec 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ANNEE 2024 - Thèse n° 97

**OPTIMISATION DE LA STRATÉGIE
D'ÉCHANTILLONNAGE INTRA-LOT
POUR LE DOSAGE DE PEPSINOÈNE SÉRIQUE CHEZ
LES GÉNISSES DE PREMIÈRE SAISON DE PÂTURAGE**

THÈSE

pour l'obtention du diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

l'UFR de Médecine de l'Université de

Nantes le 22 octobre 2024

par

Chloé HOISNARD

Sous la codirection de

Nadine RAVINET et Aurore BOISHARDY

Président du jury : Monsieur Alain CHAUVIN, professeur à ONIRIS

Membres du jury : Monsieur Aurélien MADOUASSE, maître de conférence à ONIRIS

Madame Aurore BOISHARDY, ingénieure de recherche à ONIRIS

Membre invité : Madame Clémence BÉE, vétérinaire praticien au cabinet MAINEVET

ANNEE 2024 - Thèse n° 97

**OPTIMISATION DE LA STRATÉGIE
D'ÉCHANTILLONNAGE INTRA-LOT
POUR LE DOSAGE DE PEPSINOGENE SÉRIQUE CHEZ
LES GÉNISSES DE PREMIÈRE SAISON DE PÂTURAGE**

THÈSE

pour l'obtention du diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

l'UFR de Médecine de l'Université de

Nantes le 22 octobre 2024

par

Chloé HOISNARD

Sous la codirection de

Nadine RAVINET et Aurore BOISHARDY

Président du jury : Monsieur Alain CHAUVIN, professeur à ONIRIS

Membres du jury : Monsieur Aurélien MADOUASSE, maître de conférence à ONIRIS

Madame Aurore BOISHARDY, ingénieure de recherche à ONIRIS

Membre invité : Madame Clémence BÉE, vétérinaire praticien au cabinet MAINEVET

Département BPSA Biologie, Pathologie et Sciences de l'Aliment		
Responsable : Emmanuel JAFFRES – Adjointe : Frédérique NGUYEN		
Pharmacologie et Toxicologie	Jean-Claude DESFONTIS (Pr) Yassine MALLEM (Pr) Hervé POULIQUEN (Pr)	Antoine ROSTANG (MC) Meg-Anne MORICEAU (CERC) Martine KAMMERER (Pr émérite) Marc GOGNY (Pr émérite)
Physiologie fonctionnelle, cellulaire et moléculaire	Jean-Marie BACH (Pr) Lionel MARTIGNAT (Pr) Julie HERVE (MC HDR) Grégoire MIGNOT (MC)	Solenn GAVAUD (CERC)
Histologie et anatomie pathologique	Marie-Anne COLLE (Pr) Jérôme ABADIE (MC)	Laetitia JAILLARDON (MC) Frédérique NGUYEN (MC)
Biochimie alimentaire industrielle	Carole PROST (Pr) Joëlle GRUA (MC)	Clément CATANEO (MC) Alix KHALIL (MC) Laurent LE THUAUT (MC)
Microbiotech	Hervé PREVOST (Pr) Géraldine BOUE (MC) Nabila HADDAD (MC) Emmanuel JAFFRES (MC)	Mathilde MOSSER (MC) Boris MISERY (MC) Raouf TAREB (MC) Quentin PRUVOST (CEC)
PACENV = VET1	Eléonore BOUGUYON (PRAG) Nicolas BROSSAUD (PRAG)	Charlotte MOCQUARD (PRAG) Aurore CALVEL (PRAG)
Département SAESP Santé des Animaux d'Élevage et Santé Publique		
Responsable : Raphaël GUATTEO – Adjoint : Jean-Michel CAPPELIER		
Elevage, nutrition et santé des animaux domestiques	Nathalie BAREILLE (Pr) François BEAUDEAU (Pr) Christine FOURICHON (Pr)	Juan Manuel ARIZA CHACON (MC) Ségoène CALVEZ 5(Pr) Aurélien MADOUASSE (MC) Nora NAVARRO-GONZALES (MC)
Infectiologie	Alain CHAUVIN (Pr) Emmanuelle MOREAU (Pr) Nathalie RUVOEN-CLOUET (Pr) Pauline MAISONNASSE (CERC)	Albert AGOULON (MC) Suzanne BASTIAN (MC) Léa LOISEL (AERC) Kenny OBERLE (MC) Nadine RAVINET (MC)
Médecine des animaux d'élevage	Catherine BELLOC (Pr) Christophe CHARTIER (Pr émérite) Raphaël GUATTEO (Pr) Anne RELUN (MC)	Sébastien ASSIE (MC) Isabelle BREYTON (MC) Mily LEBLANC MARIDOR (MC) Maud ROUAULT (AERC)
Hygiène et qualité des aliments	Jean-Michel CAPPELIER (Pr) Louis DELAUNAY (CERC) Bruno LE BIZEC (Pr) Marie-France PILET (Pr)	Sofia STRUBBIA (MC)

Département DSC Sciences cliniques		
Responsable : Catherine IBISCH – Adjoint : Marion FUSELLIER		
Anatomie comparée	Eric BETTI (MC) Claude GUINTARD (MC) Margarida RIBEIRO DA SILVA NEUNLIST (MC Stagiaire)	
Pathologie chirurgicale et anesthésiologie	Eric AGUADO (Pr) Olivier GAUTHIER (Pr) Eric GOYENVALLE (MC HDR)	Pierre MAITRE (MC) Caroline TESSIER (MC) Gwénola TOUZOT-JOURDE (MC) Claire DEFOURMSTRAUX (MC)
Dermatologie, parasitologie des carnivores et des équidés, mycologie	Jacques GUILLOT (Pr) Emmanuel BENSIGNOR (Pr Ass)	Sabrina VIEU (AERC) Maria Dolores SANCHEZ (AERC)
Médecine interne, imagerie médicale et législation professionnelle vétérinaire	Anne COUROUCE (Pr) Jack-Yves DESCHAMPS (Pr) Françoise ROUX (Pr) Juan HERNANDEZ-RODRIGUEZ (Pr Ass) Nora BOUHSINA (MC)	Nicolas CHOUIN (MC) Amandine DRUT (MC) Marion FUSELLIER-TESSON (Pr) Catherine IBISCH (MC) Aurélia LEROUX (MC) Odile SENECAT (MC)
Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Jean-François BRUYAS (Pr) François FIENI (Pr)	Djemil BENCHARIF (Pr) Lamia BRIAND (Pr)
Département GPA Génie des procédés alimentaires		
Responsable : Sébastien CURET-PLOQUIN – Adjointe : Vanessa JURY		
Lionel BOILLEREAUX (Pr) Sébastien CURET-PLOQUIN (Pr) Marie DE LAMBALLERIE (Pr) Francine FAYOLLE (Pr) Michel HAVET (Pr)	Alain LEBAIL (Pr) Olivier ROUAUD (Pr) Kévin CROUVISIER-URION (MC) Vanessa JURY (Pr) Emilie KORBEL (MC)	Jean-Yves MONTEAU (MC HDR) Eve-Anne NORWOOD (MC) Raphaël PORYLES (MC) Laurence POTTIER (MC) Cyril TOUBLANC (MC)
PAC-ING	Cyril Gaillard (PCEA)	
Département MSC Management, statistiques et communication		
Responsable : Samira ROUSSELIERE – Adjointe : Véronique CARIOU		
Mathématiques, statistiques, informatique	El Mostafa QANNARI (Pr émérite) Chantal THORIN (Pr Ag) Evelyne VIGNEAU (Pr) Jean-Michel GALHARRET(MC stagiaire)	Véronique CARIOU (Pr) Benjamin MAHIEU (MC) Michel SEMENOU (MC)
Economie, gestion, législation	Jean-Marc FERRANDI (Pr) Pascal BARILLOT (MC) Ibrahima BARRY (MC) Florence BEAUGRAND (MC)	Sibylle DUCHAINE (MC) Sonia MAHJOUB (MC) Samira ROUSSELIERE (MC) Christophe PAPINEAU (Ens. Cont.)
Langues et communication	Marc BRIDOU (PLPA) David GUYLER (Ens. Cont.) Nathalie GOODENOUGH (PCEA) Patricia JOSSE (Ens. Cont.)	Shaun MEEHAN (Ens. Cont.) Linda MORRIS (PCEA) Ian NICHOLSON (ENS. Cont.)

Pr Ag : Professeur Agrégé, Pr : Professeur, MC : Maître de Conférence, MCC : MC contractuel, PLPA : Professeur Lycée Professionnel Agricole, PCEA : Professeur Certifié Enseignement Agricole, HDR : Habilité à Diriger des Recherches, CERC : Chargé d'Enseignement et de Recherche Contractuel, Ens. Cont. : Enseignant Contractuel

La reproduction d'extraits de cette thèse est autorisée avec mention de la source. Toute reproduction partielle doit être fidèle au texte utilisé. Cette thèse devra donc être citée en incluant les éléments bibliographiques suivants :

- Nom et prénoms de l'auteur : Chloé HOISNARD
- Année de soutenance : 2024.
- Titre de la thèse : Optimisation de la stratégie d'échantillonnage intra-lot pour le dosage de pepsinogène sérique chez les génisses de première saison de pâturage
- Intitulé du diplôme : Thèse de doctorat vétérinaire
- Université de soutenance : Faculté de Médecine de Nantes.
- École de soutenance : Oniris : École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de L'alimentation Nantes Atlantique
- Nombre de pages : 114p.

Remerciements

A Monsieur Alain Chauvin,

Professeur à ONIRIS,

Pour avoir accepté de présider mon jury de thèse,
Sincères remerciements.

A Madame Nadine Ravinet

Maître de Conférence à ONIRIS,

Pour m'avoir proposé ce sujet, pour m'avoir encadrée et soutenue pendant cette thèse. Ce fut un plaisir de travailler ensemble, tant sur le plan intellectuel que sur le plan humain. C'est une chance d'avoir travaillé avec une personne d'aussi passionnée et passionnante que toi. Merci beaucoup.

A Monsieur Aurélien Madouasse,

Maître de Conférence à Oniris,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de faire partie de mon jury de thèse,
Sincères remerciements.

A Aurore Boishardy,

Ingénieure de recherche à ONIRIS,

Merci d'avoir accepté de prendre le relais de Nadine et de m'accompagner sur la fin de cette thèse. Merci pour ton soutien et tous tes bons conseils.

A Madame Anne Lehébel et Madame Nadine Brisseau,

Du service de parasitologie d'ONIRIS,

Merci pour toutes les explications, votre patience et votre réactivité.
Sincères remerciements.

A Clémence Bée,

Vétérinaire au cabinet Mainevet à Meslay-du-Maine,

Merci mille fois pour cette année. Ce fût un plaisir de réaliser cette tournée pepsinogène parmi la clientèle du cabinet, merci aux éleveurs pour leur aide dans la constitution de la base de données.

Sommaire

Remerciements	6
Sommaire	7
Liste des annexes	9
Liste des figures	9
Liste des tableaux	11
Liste des abréviations	13
Introduction	15
Partie 1 : Étude bibliographique	17
1 Synthèse bibliographique sur l'ostertagiose en pathologie bovine	17
1.1 Biologie et pathologie clinique du parasite	17
1.1.1 <i>Ostertagia ostertagi</i> : position systématique et morphologie	17
1.1.2 Cycle biologique d' <i>Ostertagia ostertagi</i>	17
1.1.3 Lésions microscopiques et macroscopiques	20
1.1.4 Les modifications biochimiques et humorales	21
1.1.5 Conséquences de l'ostertagiose chez les bovins	22
1.1.6 Mise en place de l'immunité	24
1.2 Diagnostic de l'ostertagiose chez les génisses	25
1.2.1 Suspicion clinique	25
1.2.2 La coproscopie, à réserver aux cas cliniques	25
1.2.3 Le dosage de pepsinogène sérique	26
1.2.4 Le comptage larvaire, une technique laborieuse à l'interprétation délicate	27
1.2.5 Le dosage des anticorps anti- <i>Ostertagia</i> , pertinent sur les vaches laitières adultes	27
1.3 Maîtrise des infestations par <i>Ostertagia ostertagi</i>	28
1.3.1 Maîtrise thérapeutique de l'infestation	28
1.3.2 Combiner les méthodes de lutte entre elles : le contrôle intégré de l'infestation.....	34
2 Le dosage de pepsinogène : outil d'aide à la décision de traitement à la rentrée en stabulation	38
2.1 Description et activité du pepsinogène	38
2.1.1 Le pepsinogène, une proenzyme gastrique.....	38
2.1.2 Sécrétion du pepsinogène et sa régulation	39
2.1.3 L'activation du pepsinogène en pepsine	39
2.1.4 Passage du pepsinogène dans le sang.....	40
2.2 Intérêt diagnostique du dosage du niveau de pepsinogène sérique	40
2.3 Stratégie d'échantillonnage intra-lot pour le dosage de pepsinogène	43
2.4 Mise en œuvre sur le terrain	46
2.5 Méthodes de laboratoire utilisées	47
2.6 Interprétation des résultats lors de dosage avec la méthode de Kerboeuf	47
2.7 Limites du dosage de pepsinogène	49

Partie 2 : Étude expérimentale	51
1 Objectifs de l'étude.....	51
2 Matériels et méthodes.....	54
2.1 Échantillon de l'étude	54
2.2 Prélèvements et analyse de laboratoire	56
2.2.1 Prélèvements sanguins.....	56
2.2.2 Dosage de pepsinogène sérique.....	56
2.3 Traitement statistique des données	57
2.3.1 Préambule au travail statistique : définition des stratégies de décision thérapeutique et de l'erreur diagnostique liée à l'échantillonnage intra-lot	57
2.3.2 Taille d'échantillon idéale et optimale requise en fonction de la taille du lot et de la définition de l'erreur	61
2.3.3 Facteurs de variation du taux d'erreur.....	62
3 Résultats.....	65
3.1 Évaluation du taux d'erreur thérapeutique lié à l'échantillonnage en fonction de la taille d'échantillon et de la taille de lot	65
3.1.1 Évolution du taux d'erreur par taille d'échantillon quelle que soit la taille du lot (N=301 lots)	65
3.1.2 Évolution du taux d'erreur par taille d'échantillon et selon les différentes tailles de lots.....	66
3.2 Évaluation de la taille d'échantillon idéale et optimale en fonction de la taille du lot et du taux d'erreur accepté	69
3.2.1 Taille d'échantillon idéale en fonction de la taille du lot.....	69
3.2.2 Taille d'échantillon optimale en fonction de la taille du lot	70
3.3 Étude des facteurs de variation du taux d'erreur.....	76
3.3.1 Facteurs de variation du taux d'erreur à l'échelle du lot	76
3.3.2 Typologie de lots à risque et score de risque associé.....	81
4 Discussion	85
4.1 Synthèse des résultats	85
4.1.1 Évolution du taux d'erreur selon la taille d'échantillon	85
4.1.2 Taille d'échantillon idéale et optimale	86
4.1.3 Facteurs de variation du risque d'erreur.....	87
4.2 Validité des résultats	92
4.2.1 Base de données	92
4.2.2 Incertitude de mesure	92
4.2.3 Validité des seuils	93
4.3 Perspectives.....	93
4.3.1 Perspectives d'application pratique	93
4.3.2 Perspectives de recherche	95
Conclusion.....	97
Bibliographie.....	98
Annexes	103

Liste des annexes

Annexe 1 : méthode de dosage du pepsinogène sérique

Liste des figures

Figure 1 : Cycle parasitaire d'Ostertagia ostertagi (Ravinet et al. 2015).....	18
Figure 2 : Œuf de strongle gastro-intestinal observé au microscope au grossissement x 100 (Boucher, 2013)	18
Figure 3 : Larve L3 d'Ostertagia ostertagi observée au microscope au grossissement x40 (Ravinet et al., 2015)	19
Figure 4 : Aspect macroscopique de la muqueuse abomasale chez un veau atteint d'ostertagiose (à droite) et chez un veau sain (à gauche), (Charlier et al., 2020).	21
Figure 5 : mécanisme de l'augmentation du taux de pepsinogène sérique en cas d'Ostertagiose (Ravinet et al. 2015).....	22
Figure 6 : Les différents types d'ostertagiose en fonction du contexte épidémiologique (Chauvin, 2020).....	23
Figure 7 : Schéma des principes généraux d'utilisation des anthelminthiques	29
Figure 8 : Schéma illustrant la régulation de la sécrétion de pepsinogène	39
Figure 9 : Taille d'échantillon requise pour estimer la valeur moyenne réelle du pepsinogène sérique d'un groupe de veaux de première saison de pâturage (allant de 6 à 40 veaux) avec une confiance de 95 % et une erreur absolue (écart par rapport à la moyenne du lot) souhaitée de 0,3 et 0,5 U Tyr (d'après (Charlier et al., 2011)).....	46
Figure 10 : Principe de la méthode de dosage du pepsinogène sérique (d'après Ravinet, 2015)	47
Figure 11 : schéma illustrant les bases de données utilisées pour la construction de l'abaque... ..	55
Figure 12 : schéma illustrant la définition 1 de l'erreur	58
Figure 13 : schéma illustrant la définition 2 de l'erreur basée sur l'écart au seuil	59
Figure 14 : schéma illustrant la stratégie de décision thérapeutique de la définition 3 de l'erreur	60
Figure 15 : Moyenne du taux d'erreur en fonction de la taille d'échantillon	65
Figure 16 : Taux d'erreur moyen en fonction de la taille de l'échantillon intra-lot tiré au sort pour les tailles de lot de 8 à 30 (définition 1 de l'erreur).....	66
Figure 17 : Taux d'erreur moyen en fonction de la taille de l'échantillon intra-lot tiré au sort pour les tailles de lot de 8 à 30 (définition 2 de l'erreur).....	67
Figure 18 : Taux d'erreur en fonction de la taille du tirage au sort pour les tailles de lot de 8 à 30 (définition 3 de l'erreur)	68
Figure 19 : taux d'erreur en fonction de la moyenne de référence du lot (quelle que soit la taille de l'échantillon)	76
Figure 20 : : Répartition des erreurs thérapeutiques selon les classes de la moyenne de référence du lot	77
Figure 21 : Répartition des erreurs thérapeutiques (>10%) selon les classes de la moyenne de référence du lot	77

Figure 22 : Évolution du taux d'erreur en fonction de l'écart entre la moyenne de référence du lot et le seuil de traitement	78
Figure 23 : taux d'erreur en fonction de l'écart-type de la distribution intra-lot des valeurs individuelles de pepsinogène parmi l'ensemble des lots.....	78
Figure 24 : Taux d'erreur en fonction du coefficient de variation de la distribution intra-lot des valeurs individuelles de pepsinogène	79
Figure 25 : schéma d'aide au choix de la stratégie d'échantillonnage.....	94

Liste des tableaux

Tableau I : Relation niveau d'infestation - excrétion fécale en OPG pour les strongyloses digestives (Lequeux et Chauvin, 2018)	26
Tableau II : principales caractéristiques des strongylicides utilisables chez les bovins.	28
Tableau III : Molécules anthelminthiques utilisables de la famille des benzimidazoles	30
Tableau IV : Molécules anthelminthiques utilisables de la famille des imidazothiazoles.....	30
Tableau V: Molécules anthelminthiques utilisables de la famille des lactones macrocycliques ..	31
Tableau VI : Synthèse d'études portant sur l'intérêt du pepsinogène dans le diagnostic de l'ostertagiose	41
Tableau VII : Synthèse d'études portant sur l'échantillonnage des génisses pour le dosage de pepsinogène sérique.....	44
Tableau VIII: Principales interprétations des différentes valeurs de pepsinogène sérique lorsque le dosage a été réalisée avec la méthode de Kerboeuf (d'après Ravinet et al., 2015)	48
Tableau IX : Récapitulatif des bases de données utilisées pour la construction de l'abaque	54
Tableau X : Répartition des lots en fonction de leur taille (= nombre de génisses dans le lot) parmi les cinq bases de données utilisées pour la base de données globale	56
Tableau XI: Lots à grands effectifs utilisés pour la reconstruction de lots de 9 à 30 animaux par tirage au sort.....	56
Tableau XII : Règle de décision de traitement liée aux résultats de l'échantillon dans le cadre de la définition 3 : nombre d'individus devant avoir un niveau de pepsinogène > 2000 dans les 5 à N-1 valeurs de l'échantillon intra-lot pour conduire à la décision de traiter si la moyenne des valeurs est comprise entre 1500 et 2000 mUTyr.....	61
Tableau XIII : variables utilisées dans les modèles statistiques d'explication du taux d'erreur....	63
Tableau XIV : Taille d'échantillon idéale (taux d'erreur = 0%) selon la taille du lot et pour les trois définitions de l'erreur	70
Tableau XV : Taille d'échantillon optimale pour un risque d'erreur $\leq 5\%$ selon la définition 1 de l'erreur et distribution des taux d'erreurs associés à cette taille d'échantillon optimale	71
Tableau XVI: Taille d'échantillon optimale pour un risque d'erreur $\leq 10\%$ selon la définition 1 de l'erreur et distribution des taux d'erreurs associés à cette taille d'échantillon optimale	72
Tableau XVII : Taille d'échantillon optimale pour un risque d'erreur $\leq 5\%$ selon la définition 2 de l'erreur et distribution des taux d'erreurs associés à cette taille d'échantillon optimale	73
Tableau XVIII : Taille d'échantillon optimale pour un risque d'erreur $\leq 5\%$ selon la définition 3 de l'erreur et distribution des taux d'erreurs associés à cette taille d'échantillon optimale	74
Tableau XIX : Taille d'échantillon optimale pour un risque d'erreur $\leq 10\%$ selon la définition 3 de l'erreur et distribution des taux d'erreurs associés à cette taille d'échantillon optimale	75
Tableau XX : résultats de l'analyse multivariée des facteurs de variation du taux d'erreur (analyse sur toutes les tailles de lots et de tirage au sort).....	80
Tableau XXI : résultats de l'analyse multivariée des facteurs de variation du taux d'erreur (analyse sur toutes les tailles de lots et de tirage au sort).....	81
Tableau XXII : : comparaison entre les différentes modalités de classes de moyenne et du coefficient de variation	82
Tableau XXIII : score de risque fonction de la moyenne de référence et du coefficient de variation.....	82

Tableau XXIV : effectifs des lots selon les scores de risque (scores basés sur la valeur de la moyenne de référence et coefficient de variation des pepsinogènes intra-lot)	83
Tableau XXV : Effectifs de lots réels et de lots reconstruits en fonction des différentes tailles de lot.....	87
Tableau XXVI : Taille d'échantillon optimale pour un taux d'erreur inférieur à 10% (définition 1), selon la valeur de la moyenne de référence et l'écart-type des niveaux de pepsinogène intra-lot.	89
Tableau XXVII : Taille d'échantillon optimale autorisant au maximum 20% des lots impactés par une inversion thérapeutique	90
Tableau XXVIII : abaque donnant la taille d'échantillon optimale en fonction de la taille du lot (afin que moins de 20% des lots soient impactés par un risque d'inversion thérapeutique >10%)	91
Tableau XXIX : règle d'échantillonnage pour une évaluation du risque parasitaire moyenne (tableau simplifié issu du tableau XXVIII).....	94

Liste des abréviations

AH : anthelminthique
BZM : benzimidazole
HCl : acide chlorhydrique
LEV : lévamisole
LM : lactone macrocyclique
MAH : mise à l'herbe
MOX : moxidectine
Opg : œufs par gramme
OD : odds ratio
RAE : rentrée à l'étable
RAH : résistance aux anthelminthiques
RDO : ratio de densité optique
SGI : strongles gastro-intestinaux
TAS : tirage au sort
TC : traitement ciblé
TCS : traitement ciblé sélectif
TREF : test de réduction d'excrétion fécale

Introduction

Les strongles gastro-intestinaux des bovins sont des helminthes nématodes présents dans le tube digestif des bovins ayant accès au pâturage. Les conséquences économiques et cliniques de ces strongyloses peuvent être très importantes (diarrhée, retard de croissance). Les génisses de première et deuxième saison de pâturage constituent le groupe d'animaux le plus sensible à ces parasites car leur immunité vis-à-vis des strongles n'est pas encore acquise. Il existe de nombreuses espèces de strongles gastro-intestinaux dans nos climats tempérés. *Ostertagia ostertagi* est le plus fréquent et le plus pathogène, c'est donc sur celui-ci que repose la gestion des strongyloses gastro-intestinales.

Les cycles parasitaires se succèdent en cours de saison de pâturage augmentant progressivement le risque parasitaire. Ce risque est par conséquent plus élevé en deuxième partie de saison de pâturage. Afin de gérer le risque d'ostertagiose un traitement anthelminthique peut être nécessaire. Cependant, il n'est pas toujours facile en pratique de le mettre en œuvre sur des génisses au pâturage. Cela positionne donc le traitement de rentrée en stabulation comme un moment d'importance. De plus, le risque d'ostertagiose est variable selon de nombreux facteurs : météo, durée de pâturage, âge à la mise à l'herbe, planning de pâturage etc... Ainsi, des examens complémentaires sont nécessaires afin de statuer sur la nécessité ou pas d'un traitement de rentrée en stabulation. La coproscopie est inopérante à ce moment-là de l'année. En effet, les larves sont enkystées dans la muqueuse de la caillette des bovins durant l'hiver. Le dosage de pepsinogène sérique constitue actuellement l'examen complémentaire le plus pertinent dans l'aide à la décision de traitement des génisses à la rentrée en stabulation.

Le pepsinogène est un reflet des lésions abomasales et donc indirectement du parasitisme localisé à ce segment. En effet, il existe une relation quantitative entre le nombre de vers dans la caillette et le niveau de pepsinogène sérique (Kerbœuf et al., 1981). Cet outil diagnostique a été développé dans les années 1980 grâce à l'étude de Kerboeuf. L'étude met en évidence que le prélèvement de 5 à 10 animaux autorise un diagnostic quantitatif (estimation du nombre de vers dans la caillette) de bonne qualité. La relation entre charge parasitaire et niveau de pepsinogène est étudiée pour des groupes restreints d'animaux. On peut se demander si, pour des tailles de lots plus élevées, un échantillon de 5 à 10 animaux serait suffisant pour le diagnostic d'ostertagiose. En 2011, l'étude de Charlier apporte une approche méthodologique différente. L'étude révèle qu'une estimation fiable de la moyenne du niveau de pepsinogène du lot peut être obtenue avec 7 animaux échantillonnés (Charlier et al., 2011) sur des lots jusqu'à 40 animaux. Cependant, la notion de seuil de décision thérapeutique n'intervient pas car l'erreur repose sur l'écart entre la moyenne de l'échantillon et celle du lot. De plus, bien que l'étude porte sur des lots de plus grandes tailles (de 6 à 40), il s'agit de lots simulés informatiquement.

Ainsi, pour les lots de génisses de taille moyenne en France, ne faudrait-il pas aller au-delà de 10 génisses en mesurant le taux d'erreur lié à l'aléa d'échantillonnage sur de vrais lots ? Ce taux d'erreur pourrait varier en fonction de la définition de l'erreur et donc du seuil de décision thérapeutique. Cela permettrait d'aller jusqu'à la construction d'un abaque : nombre de génisses à prélever en fonction de la taille du lot et d'une certaine définition de l'erreur. L'objectif de cette étude est donc d'évaluer la taille d'échantillon optimale pour le dosage de pepsinogène sérique chez les génisses de première saison de pâturage dans le but de construire un abaque à destination des vétérinaires praticiens. Cette étude sera structurée en deux parties. Une première partie sera consacrée à l'étude bibliographique du diagnostic de l'ostertagiose chez les génisses de première saison de pâturage comprenant un focus sur le dosage de pepsinogène. La seconde partie détaillera l'étude personnelle réalisée sur le sujet.

Partie 1 : Étude bibliographique

1 Synthèse bibliographique sur l'ostertagiose en pathologie bovine

1.1 Biologie et pathologie clinique du parasite

1.1.1 *Ostertagia ostertagi* : position systématique et morphologie

Ostertagia ostertagi est un helminthe nématode parasite de la caillette des bovins. La position systématique d'*Ostertagia ostertagi* est la suivante (Taylor et al., 2007) :

Classe / Nematoda

Ordre / Strongylida

Famille / Trichostrongyloidea

Genre / *Ostertagia*

Le parasite au stade adulte est un vers mince, caractéristique des Trichostrongylidés, mesurant 6 à 9 mm de longueur. La cavité buccale est peu développée. Il existe un dimorphisme sexuel. Les mâles, plus petits que les femelles, présentent une bourse copulatrice munie de spicules courts et épais, terminés par 3 branches incurvées. Chez la femelle, la vulve est située à environ 1,5 mm de la partie postérieure et est recouverte d'un rabat. La queue s'effile progressivement et se termine par une pointe fine et arrondie (Taylor et al., 2007)

1.1.2 Cycle biologique d'*Ostertagia ostertagi*

Ostertagia ostertagi effectue un cycle de vie homoxène semi-direct en deux phases (Figure 1) :

- **Une phase externe** : évolution de l'œuf jusqu'à la larve L3 sur les pâtures
- **Une phase interne** : évolution de la larve L3 jusqu'au stade adulte dans la caillette des bovins

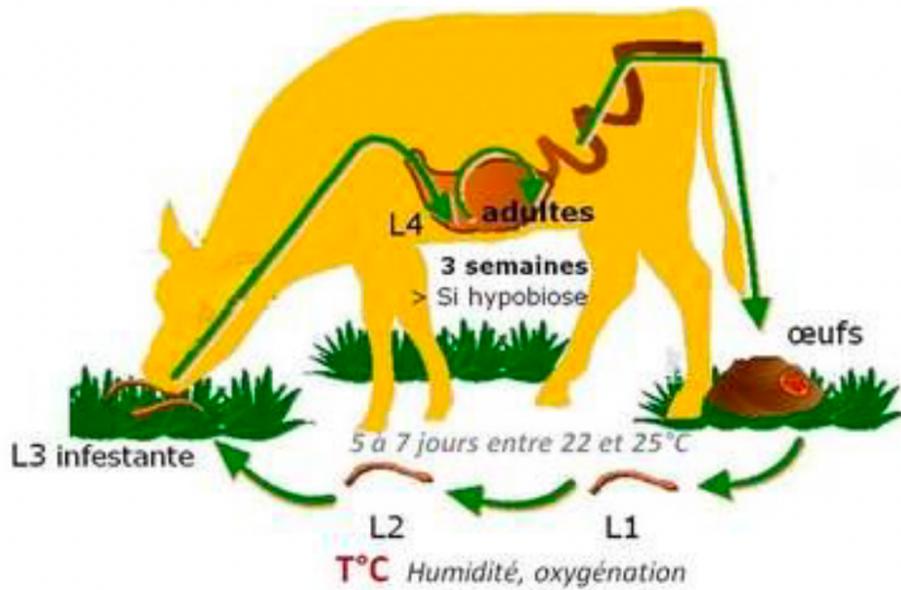


Figure 1 : Cycle parasite d'*Ostertagia ostertagi* (Ravinet et al. 2015)

1.1.2.1 Phase externe du cycle

Les **oöufs** (Figure 2) sont excrétés dans le milieu extérieur via les bouses des bovins infestés. Ces derniers sont ellipsoïdes et mesurent 80 à 100 μm de long pour 40 à 50 μm de large. Ils possèdent une coque mince et contiennent un nombre variable de blastomères.



Figure 2 : Oöuf de strongle gastro-intestinal observé au microscope au grossissement x 100 (Boucher, 2013)

Les œufs se développent en larves dans les bouses. Plusieurs stades larvaires se succèdent de L1 à L3 qui est le stade infestant. Les larves L1 et L2 sont rhabditoïdes, elles se nourrissent de bactéries et d'algues microscopiques. Les larves L3 infestantes sont strongyloïdes, elles ne se nourrissent pas et vivent sur les réserves accumulées par les stades précédents. De plus, les larves L3 (Figure 3) maintiennent la cuticule des larves L2 leur permettant de survivre plusieurs mois dans les pâtures (Charlier et al., 2020).



Figure 3 : Larve L3 d'*Ostertagia ostertagi* observée au microscope au grossissement x40 (Ravinet et al., 2015)

La survie des stades libres et le développement des œufs en larves sont dépendants des conditions environnementales. Trois paramètres jouent un rôle clé dans ce développement : **la température, l'humidité et l'oxygénation** (Anderson, 1988). La température régule la rapidité du processus de développement, mais sans humidité ni oxygène, il n'y a pas de développement. La température optimale de développement se situe entre **22°C et 25°C** (en cas d'oxygénation et d'humidité suffisantes). Il faut alors **7 jours** pour passer de l'œuf à la larve L3 (Charlier et al., 2020). À des températures en dehors de l'intervalle 15-27°C, la proportion de la population d'œufs qui termine le développement libre est considérablement réduite (Anderson, 1988). La deuxième condition au développement des larves est l'humidité, celle-ci doit être comprise entre 80 et 95%. L'humidité protège les larves de la dessiccation et donc de la mort, elle permet également le mouvement et la motilité des larves (Stromberg, 1997) : la migration horizontale qui permet la sortie des bouses pour gagner l'herbe adjacente, et la migration verticale le long des brins d'herbe.

1.1.2.2 Phase interne du cycle

L'infestation des bovins au pâturage se fait par ingestion de larves L3 qui se trouvent sur l'herbe contaminée. Ces larves transitent par le haut du système digestif des bovins jusqu'à la caillette. La perte de la cuticule se produit pendant une heure environ via l'action du suc gastrique. Les larves pénètrent alors dans la muqueuse de la caillette où se déroule la mue en L4.

Les larves L4 regagnent ensuite la lumière de la caillette où elles se transforment en adultes, stade capable de se reproduire. Les œufs issus de l'accouplement sont excrétés dans les bouses : ainsi déposés sur les pâtures, ils deviennent l'origine d'un nouveau cycle parasitaire.

La période pré-patente, correspondant à la durée entre l'ingestion de larves et l'émission des œufs, est de **21 jours** (Taylor et al., 2007). Cependant cette durée est allongée en cas d'hypobiose. L'**hypobiose** correspond à une inhibition du développement des larves L4 (arrêt de la croissance et du métabolisme) avec enkystement dans la muqueuse de la caillette. Les larves L4 peuvent rester enkyster dans la muqueuse jusqu'à 6 mois (Taylor et al., 2007). L'hypobiose se produit lorsque les conditions de développement sont défavorables au parasite. Les mécanismes sous-jacents de ce phénomène ne sont pas totalement élucidés. Les hypothèses émises concernent l'implication de stimuli environnementaux (sécheresse, baisse de la température extérieure, diminution de la photopériode), d'un mécanisme de régulation densité-dépendant (cf. § suivant) ou de la réponse immunitaire de l'hôte (Merlin, 2017). La reprise du cycle se nomme la levée d'hypobiose dont le mécanisme est également inconnu. Sous climat tempéré, l'hypobiose a lieu le plus souvent entre la fin d'hiver et le début du printemps suivant.

Le **mécanisme de régulation densité dépendant** repose sur une diminution des larves réussissant à s'établir et à se reproduire en cas de charge parasitaire élevée. En effet, une charge parasitaire élevée entraîne une compétition entre les vers de la même espèce et entre ceux d'espèces différentes. Cette compétition se traduit par des taux d'établissement plus faibles, des vers plus petits, une fécondité plus faible et une mortalité accrue des vers (Charlier et al., 2020). Par ailleurs, le mécanisme densité-dépendant, ainsi que l'hypobiose, sont l'une des raisons pour lesquelles il existe souvent une **faible corrélation entre le nombre d'œufs fécaux et la charge de vers chez les bovins** (Charlier et al., 2020).

1.1.3 Lésions microscopiques et macroscopiques

Les parasites en développement provoquent une réduction de la masse fonctionnelle des glandes gastriques. En particulier, les cellules pariétales sont remplacées par des cellules indifférenciées à division rapide et non sécrétantes d'acide chlorhydrique. Ces changements cellulaires se produisent initialement dans la glande parasitée mais à mesure qu'elle se distend par le parasite en croissance, ces changements se propagent aux glandes environnantes non parasitées. Par conséquent, il en résulte une **muqueuse gastrique hyperplasique épaissie** (Taylor et al., 2007).

Macroscopiquement, il est possible d'observer des petits **nodules** avec un orifice à la surface de la muqueuse de la caillette (Figure 4). Les plis de la caillette sont souvent très œdémateux et congestifs. En cas d'infestation sévère, une nécrose et une desquamation de la surface de la muqueuse peuvent se produire (Taylor et al., 2007)

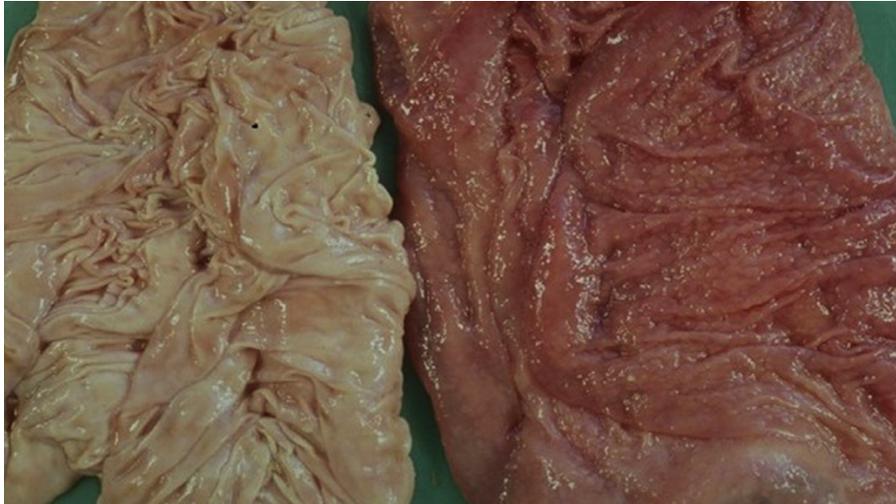


Figure 4 : Aspect macroscopique de la muqueuse abomasale chez un veau atteint d'ostertagiose (à droite) et chez un veau sain (à gauche), (Charlier et al., 2020).

1.1.4 Les modifications biochimiques et humorales

L'entrée des larves L3 dans la muqueuse et la sortie des larves L4 retournant dans la lumière de la caillette créent des lésions traumatiques au niveau de la muqueuse à l'origine de modifications gastro-intestinales (Fox, 1997).

Les larves L4 s'implantent dans la caillette au niveau des glandes gastriques ce qui altère les cellules produisant l'acide chlorhydrique (les cellules pariétales). Ces cellules sont remplacées par des cellules indifférenciées, ne produisant pas d'HCl. Ainsi, la diminution de la sécrétion d'acide chlorhydrique entraîne une **augmentation du pH dans la caillette**, celui-ci peut passer de 2 à 7 (Charlier et al., 2020). En réponse à cette augmentation de pH, la gastrine est sécrétée en grande quantité par rétrocontrôle, ce qui mène à une production de pepsinogène accrue (Ravinet et al., 2013). En conditions physiologiques, le pepsinogène est transformé en pepsine par l'acide chlorhydrique. En cas d'ostertagiose, cette transformation n'est pas possible du fait de l'augmentation du pH. Le pepsinogène non transformé s'accumule et passe dans la circulation sanguine à la faveur de disjonctions des ponts intercellulaires des cellules des glandes (Figure 5), induites par les mouvements d'entrée et de sortie des larves dans la muqueuse (Berghen et al., 1993). Par ailleurs, les produits d'excrétion-sécrétion des vers adultes inhibent le fonctionnement des cellules pariétales ce qui participe à l'augmentation du pH de la caillette (Charlier et al. 2020).

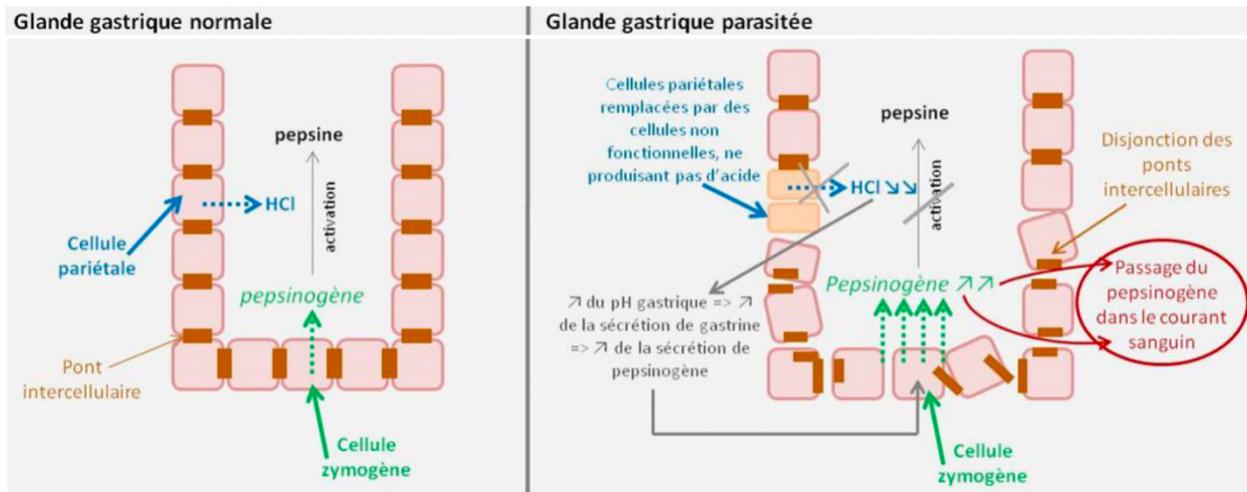


Figure 5 : mécanisme de l'augmentation du taux de pepsinogène sérique en cas d'Ostertagiose (Ravinet et al. 2015)

L'alcalinisation du pH de la caillette est responsable d'une **maldigestion** des protéines alimentaires due au déficit en pepsine. De plus, la disjonction des ponts intercellulaires autorise le passage de protéines plasmatiques dans la lumière de la caillette. Ces deux phénomènes participent à l'installation d'une **hypoalbuminémie** chez les bovins infestés. L'alcalinisation du pH est également responsable du développement de bactéries anaérobies, pouvant en partie être responsable de **diarrhée** (Stromberg, 1997). L'**hypergastrinémie** entraîne une baisse de l'ingestion des bovins (Stromberg, 1997), qui, associée à la spoliation des nutriments par les parasites, est responsable d'une baisse de production.

1.1.5 Conséquences de l'ostertagiose chez les bovins

1.1.5.1 Conséquences cliniques

L'ostertagiose subclinique est la forme majoritaire rencontrée chez les bovins, avec souvent des conséquences sur les productions (cf. infra). Les formes cliniques peuvent s'exprimer lorsque les charges parasitaires sont plus élevées, et différentes formes existent en fonction du contexte épidémiologique (figure 6) :

- **Ostertagiose de type I** : elle apparaît en cours de saison de pâturage lorsque les parasites réalisent des cycles parasitaires complets (pas d'hypobiose). Au fur et à mesure des cycles, le nombre de vers augmente et, lorsque la charge parasitaire est trop importante, des signes cliniques apparaissent. L'ostertagiose de type I touche principalement les bovins en première saison de pâturage, lors de la 2^{ème} moitié de la saison de pâture donc principalement de juillet à octobre. Les manifestations cliniques sont une diminution de

l'appétit, une **diarrhée** aqueuse et verdâtre et un amaigrissement. Un nombre de vers adultes supérieur à 40 000 concorde avec l'apparition des signes cliniques caractéristiques d'ostertagiose (Anderson & Armour, 1965).

- **Ostertagiose de pré-type II** : elle commence en fin de saison de pâturage et persiste tout l'hiver. Elle correspond à l'entrée des larves en hypobiose et à leur enkystement au sein de la muqueuse de la caillette. Il s'agit le plus souvent d'une forme asymptomatique.
- **Ostertagiose de type II** : elle correspond à la sortie des larves en hypobiose en fin d'hiver - début printemps suivant la première saison de pâture. La sortie des larves est massive et simultanée ce qui entraîne de graves lésions au niveau de la muqueuse abomasale. La forme clinique est aigüe, la sortie des larves entraîne une **diarrhée profuse**, une **déshydratation**, une **perte de poids** intense, un **œdème de l'auge** (par hypoalbuminémie) avec parfois de la mortalité.
- **Ostertagiose allergique** : elle apparaît en 2^{ème} ou 3^{ème} saison de pâture lors de ré infestation, cette forme est plus rare que les autres. Chez les bovins touchés, l'amaigrissement peut être sévère, et accompagné d'une diarrhée profuse constante ou intermittente. L'œdème de la caillette est très marqué, l'organe pouvant atteindre deux à trois fois son poids.

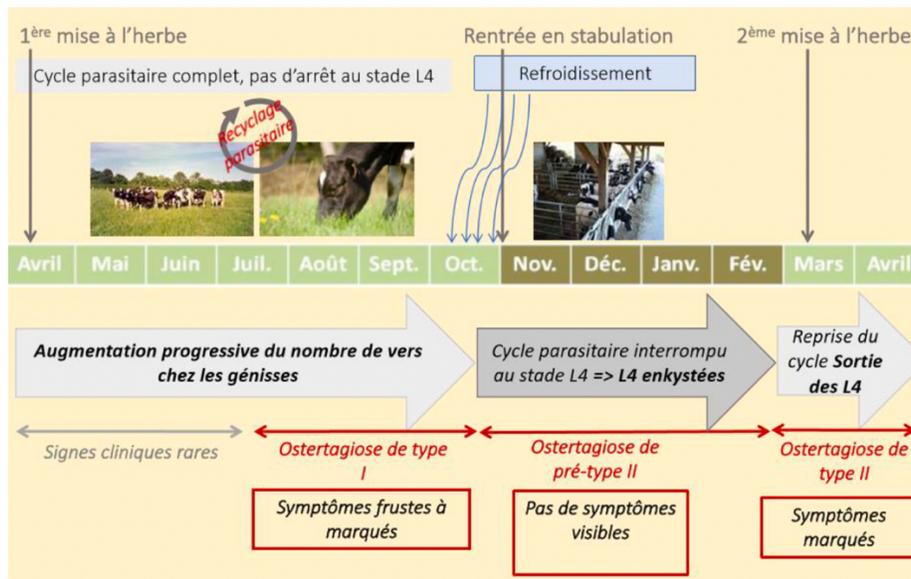


Figure 6 : Les différents types d'ostertagiose en fonction du contexte épidémiologique (Ravinet et al. 2015)

1.1.5.2 Conséquences sur les performances de production

L'infestation par *Ostertagia*, même lorsqu'elle reste subclinique, peut avoir un impact sur les performances de production des animaux. Chez les jeunes animaux, elle peut induire un retard de croissance, et chez les animaux adultes, des baisses de production laitière. Pour quantifier les baisses de production, une approche classique consiste à traiter des animaux (donc supprimer les vers) et évaluer l'évolution de la croissance ou de la production laitière après traitement en comparaison à un groupe témoin non traité.

L'augmentation de la prise de poids est l'effet le plus souvent observé après traitement visant les nématodes gastro-intestinaux. Une étude américaine a comparé la croissance de veaux traités (doramectine) et non traités (Ballweber et al., 1997). Le GMQ des veaux traités avec de la doramectine était supérieur à celui des veaux non traités dans les quatre lots de l'étude : +0,152 kg/j (non significatif), +0,160, +0,272 et +0,192 kg/j (significatif). Ainsi, cela a permis une augmentation de la croissance de 19%, 21%, 43% et 95% dans les quatre lots respectifs. En cas d'effets délétères sur la **croissance** induits par les parasites au cours de la première saison de pâturage, ce retard de croissance peut se maintenir jusqu'en fin de deuxième saison de pâturage (Larsson et al., 2006). De plus, le niveau de production laitière est positivement corrélé au poids corporel au vêlage, ainsi les strongyloses gastro-intestinales survenant durant les deux premières saisons de pâturage influenceraient négativement la future production laitière par diminution du poids corporel (Charlier et al., 2009).

La réponse de la **production laitière** au traitement anthelminthique dans des études récentes sur des troupeaux laitiers en pâturage a été observée comme étant d'environ 0,6 kg/vache par jour, alors que les effets sur les performances de reproduction restent ambigus (Charlier et al., 2009). Une méta-analyse de 75 essais publiés entre 1972 et 2002 a estimé la réponse, après traitement antiparasitaire, à 0,35 kg/vache par jour (Sanchez et al., 2004). Cependant, il existe des écarts de réponse au traitement suivant les études et au sein même de ces études entre les différents troupeaux et différents individus.

1.1.6 Mise en place de l'immunité

L'acquisition de l'immunité se fait progressivement suite aux contacts étroits et répétés entre le bovin et le parasite. Cette immunité est dite **concomitante**, cela signifie qu'elle nécessite la présence de parasites pour perdurer dans le temps (existence d'un équilibre entre hôte et parasite). L'immunité nécessite 6 à 8 mois de **temps de contact effectif (TCE)** avec les larves infestantes L3 pour que le bovin soit immunisé (Charlier et al., 2020). Le TCE correspond à la durée de pâturage, à laquelle on soustrait les périodes de sécheresse et/ou de forte complémentation ainsi que la durée des traitements rémanents. Il apparaît donc que les **bovins à risque**

correspondent aux bovins de première saison de pâturage pour lesquels l'immunité n'est pas encore installée.

Les manifestations du développement de l'immunité contre les nématodes gastro-intestinaux des bovins se traduisent par une suite d'événements (Vercruysse & Claerebout, 1997). Tout d'abord, une diminution de la fécondité des vers adultes, induisant une diminution de la contamination des parcelles, par réduction du nombre d'œufs excrétés. Puis, un retard de croissance et un arrêt du développement des vers au stade L4. Enfin, une résistance à l'établissement de nouvelles infections chez l'hôte immun par réduction des larves L3 pénétrant dans la muqueuse abomasale, diminuant ainsi les lésions de la caillette.

1.2 Diagnostic de l'ostertagiose chez les génisses

1.2.1 Suspicion clinique

Les signes cliniques observés à l'origine d'une suspicion d'ostertagiose sont :

- **Poil terne, piqué**
- **Amaigrissement**
- **Anorexie**
- **Diarrhée** aqueuse sans hyperthermie associée

En général plusieurs animaux d'un même lot sont atteints chez des bovins en première ou deuxième saison de pâturage. La clinique est peu spécifique et nécessite donc la mise en œuvre d'examens complémentaires.

1.2.2 La coproscopie, à réserver aux cas cliniques

La coproscopie permet la mise en évidence et la quantification des œufs de strongles gastro-intestinaux dans les fèces. Elle consiste à concentrer, le plus souvent par flottation, les œufs de SGI dans les matières fécales des bovins. Plusieurs méthodes sont possibles afin de dénombrer les œufs, par exemple la technique de Wisconsin, McMaster ou mini-FLOTAC.

La technique mini-FLOTAC, très utilisée pour sa simplicité et sa rapidité, est basée sur la flottation et la translation. La flottation des œufs se fait grâce au mélange avec un liquide de densité élevée (solution saturée en sel ou solution de sulfate de zinc), cette suspension de fèces étant réalisée dans le Fill-FLOTAC. Puis, la suspension est insérée dans les chambres de la cellule Mini-FLOTAC : les œufs viennent alors se coller à la lamelle par flottation, puis la lecture au microscope est possible après translation du dispositif. Les seuils d'interprétations couramment utilisés sont notés dans le tableau I ci-dessous.

Tableau I : Relation niveau d'infestation - excrétion fécale en OPG pour les strongyloses digestives (Lequeux et Chauvin, 2018)

Niveau d'infestation	Excrétion fécale
<i>Faible</i>	< 50 opg
<i>Moyenne</i>	50 – 500 opg
<i>Forte</i>	500 – 2500 opg
<i>Très forte</i>	> 2500 opg

La coproscopie est une méthode **simple** et **assez rapide** à réaliser. Il s'agit d'un excellent outil diagnostique pour **confirmer une suspicion clinique** d'ostertagiose de type I (pendant l'été ou l'automne, le plus souvent chez des génisses de première saison de pâturage), car dans ce cas les animaux ont une probabilité élevée d'être fortement parasités et d'excréter beaucoup d'œufs.

Elle peut aussi s'utiliser chez les génisses en première (voire en deuxième) saison de pâture, pour évaluer la sensibilité/résistance des SGI à une molécule anthelminthique : il faut alors réaliser un test de réduction d'excrétion fécale post-traitement (TREF) après un temps de pâturage suffisant pour permettre un recyclage parasitaire, mais insuffisant pour permettre l'installation de l'immunité avec réduction de la ponte des parasites, soit deux mois après la mise à l'herbe (Lequeux & Chauvin, 2018).

La coproscopie présente également plusieurs limites. En effet, cette technique ne permet pas de diagnose d'espèce (sauf pour *Nematodirus*). Il n'est donc pas possible de savoir si les animaux infestés le sont davantage par *Cooperia* ou par *Ostertagia* (cela nécessiterait une coproculture). De plus, dans un contexte d'infestation subclinique, il n'existe **pas de bonne corrélation entre le niveau d'excrétion fécale et la charge parasitaire**. Ainsi, les résultats coproscopiques ne peuvent être utilisés dans un tel contexte pour estimer la charge parasitaire et évaluer la nécessité d'un traitement. Enfin, la coproscopie est inutile dans le cas où les parasites ne pondent pas d'œufs. Elle n'est donc pas utilisable pour le diagnostic des parasitoses larvaires (ostertagiose de (pré)-type II) et peu recommandée lorsque l'immunité entraînant une baisse de ponte a été entamée chez l'individu.

1.2.3 Le dosage de pepsinogène sérique

Le pepsinogène est un marqueur des lésions de la caillette des bovins. En effet, il existe une relation quantitative entre le niveau de pepsinogène et le nombre de vers présents dans la caillette (Kerbœuf et al., 1981). Le dosage de pepsinogène est un examen complémentaire utilisé principalement dans le cadre d'aide à la décision de traitement **à la rentrée en stabulation** des génisses de première saison de pâturage. Cet outil diagnostique a été développé dans les années 1980. L'étude de Kerboeuf (1981) montre qu'il s'agit d'un outil diagnostique à **l'échelle du**

groupe, et qu'une valeur individuelle de pepsinogène n'est pas interprétable. Un échantillon de 5 à 10 animaux autorise alors une estimation fiable de la moyenne de la charge parasitaire du groupe (Kerbœuf et al., 1981). Une deuxième étude s'est basée sur des lots simulés afin de calculer la taille d'échantillon minimum autorisant un écart par rapport à la moyenne du lot de 0,5U Tyr (Charlier et al., 2011). Une estimation fiable de la moyenne du niveau de pepsinogène du lot peut être obtenue avec 7 animaux prélevés pour des lots jusqu'à 40 animaux.

1.2.4 Le comptage larvaire, une technique laborieuse à l'interprétation délicate

Le comptage larvaire consiste à évaluer, *via* des prélèvements d'herbe, le niveau de contamination des parcelles par les larves L3 infestantes et ainsi de mesurer l'exposition des animaux. Les techniques d'estimation du nombre de larves de troisième stade sur l'herbe peuvent être divisées en trois phases :

- Collecte de l'herbe sur la pâture dont on souhaite estimer l'infestivité
- Séparation et concentration des larves à partir du prélèvement d'herbe
- Dénombrement/identification des larves.

L'interprétation des résultats doit se faire avec précaution et prendre en compte le moment de prélèvement au cours de la saison de pâturage. Des valeurs inférieures à 1000 L3/kg de MS peuvent être considérées comme sans danger pour les animaux, entre 1000 et 5000 L3/kg MS l'infestivité est considérée comme modérée, et au-dessus de 5000 L3/kg de MS l'infestivité est forte (Molento et al., 2016).

Cet outil est utile en début de saison de pâturage afin d'évaluer la contamination résiduelle (suite au passage de l'hiver) des parcelles, ou en fin de saison de pâturage afin d'objectiver l'efficacité de la prévention antiparasitaire (Lequeux & Chauvin, 2018). Les phases 1 et 2 étant laborieuses, cette approche de l'infestivité des parcelles reste surtout cantonnée aux protocoles de recherche visant à suivre la dynamique d'infestation parasitaire.

1.2.5 Le dosage des anticorps anti-*Ostertagia*, pertinent sur les vaches laitières adultes

La détection et le dosage des anticorps dirigés contre les antigènes d'*Ostertagia ostertagi* se réalisent par la méthode **ELISA** (enzyme-linked immunosorbent assay). Les résultats sont exprimés en ratio de densité optique (RDO) par rapport à des témoins positifs et négatifs. Cette analyse est habituellement réalisée sur la matrice **lait de tank** afin d'estimer l'exposition du troupeau de vaches laitières adultes aux SGI. Il s'agit d'un indicateur du contact avec le parasite, cependant il n'est pas corrélé à la charge parasitaire, ni au niveau d'immunité acquise (Lequeux & Chauvin, 2018). Ainsi, même si cet indicateur peut être intéressant à prendre en compte en fin

de saison de pâturage afin de déterminer la nécessité ou non d'un traitement, il ne doit jamais être utilisé comme seul indicateur décisionnaire dans le choix de traitement des vaches laitières adultes. En effet, il faut également analyser la conduite de pâturage des vaches laitières (notamment proportion d'herbe dans la ration) ainsi que le temps de contact effectif (TCE) des génisses (Ravinet et al., 2015).

Le taux d'anticorps anti-*Ostertagia* peut également se mesurer sur sérum individuel des génisses. Plusieurs études ont montré que ce taux d'anticorps est négativement corrélé au GMQ des génisses à la rentrée en stabulation (Merlin, 2017). Il pourrait s'agir d'un paramètre intéressant, cependant, le fait qu'il ne soit pas corrélé à la charge parasitaire limite son utilisation. De plus, les taux d'anticorps sont difficilement interprétables par manque de spécificité (Höglund et al., 2009). La mesure du RDO sur sérum individuel n'est donc pas encore ajustée et adaptée pour l'évaluation rigoureuse du risque lié à l'infestation par *Ostertagia* sur le terrain.

1.3 Maîtrise des infestations par *Ostertagia ostertagi*

1.3.1 Maîtrise thérapeutique de l'infestation

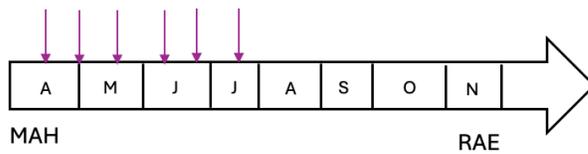
1.3.1.1 Les molécules strongylicides disponibles

La lutte contre les strongles gastro-intestinaux repose actuellement en grande partie sur l'administration d'anthelminthiques (Charlier et al., 2014). Trois familles de molécules sont utilisables chez les bovins : benzimidazoles, imidazothiazole et lactones macrocycliques (LM). Leurs principales caractéristiques sont résumées dans le tableau II et leurs principes généraux d'utilisation à la figure 7.

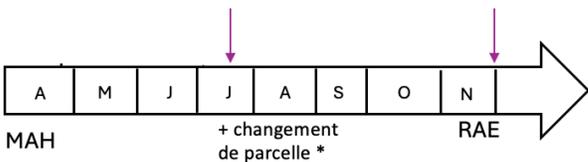
Tableau II : principales caractéristiques des strongylicides utilisables chez les bovins.

Famille de molécules	Spectre d'activité	Rémanence	Voies d'administration
Benzimidazoles	Strongles digestifs et respiratoires Adulticide et larvicide. Activité partielle sur les L4 en hypobiose.	Non	Orale
Imidazothiazole	Strongles digestifs Adulticide	Non	Orale, IM, SC, Pour-on
Lactones Macrocycliques	Spectre large : endo et ectoparasites. Adulticide et larvicide, efficace sur les L4 en hypobiose.	Oui	SC, Pour-on

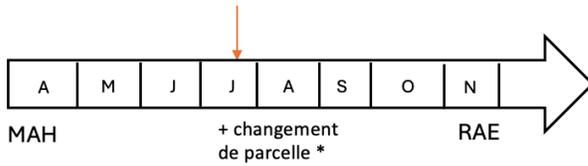
Relargage séquentielle d'une dose
toutes les 3 semaines



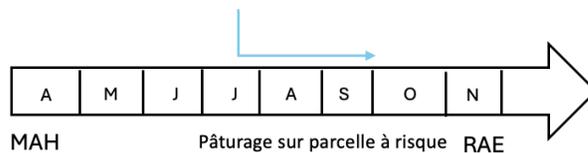
Bolus BENZIMIDAZOLE : objectif préventif, administré le plus souvent dès la mise à l'herbe sur des génisses de 1^{ère} saison de pâturage. Traitement de l'animal et annulation de l'excrétion donc limitation de la contamination des pâtures.



Suspension buvable BENZIMIDAZOLE : action flash curative. En cours de saison de pâturage à associer à un passage sur une parcelle saine, ou à utiliser à la rentrée en stabulation.



Suspension buvable ou injectable LEVAMISOLE : action flash, curative. En cours de saison de pâturage à associer à un passage sur une parcelle saine. Ne pas utiliser à la rentrée en stabulation en automne car inactif sur les L4 enkystées en hypobiose.



Pour-on ou injectable LM rémanente : protège de la ré-infestation, donc intéressante en cas de pâturage sur parcelle à risque (protection des animaux + effet assainissant partiel de la parcelle). Plutôt à éviter à la rentrée en stabulation sauf si ectoparasites à traiter en plus.

* Pratique du « dose and move » à éviter. Privilégier le traitement d'une partie du lot lors du passage sur la parcelle saine (TCS) ou traitement de l'ensemble du lot (TC) 2-3 jours après passage sur la parcelle saine

Figure 7 : Schéma des principes généraux d'utilisation des anthelminthiques

Ces principes généraux nous montrent l'utilisation qui peut être faite des anthelminthiques sur le terrain, et cela depuis quelques années. Cependant, des études récentes ont démontré l'apparition de résistances des SGI aux anthelminthiques chez les bovins (cf. infra). Il est donc important de revoir les usages des anthelminthiques en prônant une utilisation raisonnée et parcimonieuse. En effet, le recours excessif et non approprié à ces molécules augmente le risque de résistance aux anthelminthiques. Les traitements entraînent un retard de mise en place de l'immunité par diminution du contact avec le parasite, notamment dans les cas des molécules rémanentes. Enfin, l'écotoxicité des molécules, et particulièrement de la famille des lactones macrocycliques, est à prendre en considération.

Les tableaux III, IV et V reprennent les différentes molécules utilisables dans la gestion des strongyloses digestives, avec des exemples de spécialités disponibles.

Tableau III : Molécules anthelminthiques utilisables de la famille des benzimidazoles

	Molécules	Nom déposé	Voie d'administration Posologie en mg/kg	Rémanence	Temps d'attente
BENZIMIDAZOLES	Fenbendazole	PANACUR	Suspension buvable 7,5 mg/kg	Non	Viande : 11 j Lait : 6 j
	Oxfendazole	OXFENIL SYNANTHIC	Suspension buvable 4,5 mg/kg	Non	Viande : 15 j Lait : 7 j
		REPIDOSE FARMINTIC	Dispositif intraruminal	Libération répétée sur 130 jours.	Viande : 6 mois Ne pas utiliser sur les génisses gestantes.
	Albendazole	VALBAZEN	Suspension buvable 7,5 mg/kg	Non	Viande : 5 j Lait : 3,5 j
	Nétobimin	HAPADEx	Suspension buvable 7,5 mg/kg	Non	Viande : 6 j Lait : 3 j

Tableau IV : Molécules anthelminthiques utilisables de la famille des imidazothiazoles

	Molécules	Nom déposé	Voie d'administration Posologie en mg/kg	Rémanence	Temps d'attente
IMIDAZOTHIAZOLES	Lévamisole	NEMISOL INJECTABLE	Solution injectable IM 7,5 mg/kg	Non	Viande : 3 j Ne pas utiliser 2 mois avant vêlage
		NEMISOL TRANSCUTANE	Pour on 10 mg/kg	Non	Viande : 3 j Ne pas utiliser 2 mois avant vêlage
		LEVAMISOLE	Solution buvable 7,5 mg/kg	Non	Viande : 3 j Ne pas utiliser 2 mois avant vêlage

Tableau V: Molécules anthelminthiques utilisables de la famille des lactones macrocycliques

	Molécules	Nom déposé	Voie d'administration Posologie en mg/kg	Rémanence	Temps d'attente
LACTONES MACROCYCLIQUES	Eprinomectine	EPRECIS	Injectable SC 0,2 mg/kg	2 semaines	Viande : 63 j Lait : 0 j
		EPRINEX EPRIVALAN	Pour on 0,5 mg/kg	4 semaines	Viande : 15 j Lait : 0 j
	Moxidectine	CYDECTINE	Injectable LA SC 1 mg/kg	120 j	Viande : 108 j Ne pas utiliser 80 jours avant vêlage.
			Injectable SC 0,2 mg/kg	5 semaines	Viande : 65 j Ne pas utiliser 60 jours avant vêlage.
			Pour on 0,5 mg/kg	5 semaines	Viande : 14 j Lait : 6 j
	Ivermectine	IVOMEK CEVAMECTIN VIRBAMEK	Injectable SC 0,2 mg/kg	3 semaines	Viande : 49 j Ne pas utiliser 28 j avant vêlage.
			Pour on 0,5 mg/kg	3 semaines	Viande : 16 j Ne pas utiliser 2 mois avant vêlage.
	Doramectine	DECTOMAX	Injectable SC 0,2 mg/kg	4 semaines	Viande : 70 j Ne pas utiliser 2 mois avant vêlage.

- **Résistances aux anthelminthiques, une menace à la maîtrise du parasitisme**

La résistance à un anthelminthique (AH) donné dans une population parasitaire donnée correspond à l'augmentation de la fréquence des individus qui tolèrent des doses de cet AH supérieures à celles tolérées par les individus normaux, cette tolérance étant héréditaire (Sutherland & Leathwick, 2011). Plusieurs tests permettent la mise en évidence des résistances, le plus utilisé est le **test de réduction d'excrétion fécale post-traitement** (TREF). Ce test repose sur une coproscopie avant et après traitement des mêmes animaux (Kaplan et al., 2023). On parle de résistance dès lors que la réduction de la population parasitaire à la suite du traitement est inférieure à 90%. Cependant le TREF se heurte à plusieurs limites dans la réalisation et l'interprétation. En effet, le nombre d'animaux à prélever dépend du nombre d'œufs comptés au microscope. Plus le niveau d'infestation est élevé, moins le nombre d'animaux à prélever est important. Le TREF s'effectue sur un minimum de 8 animaux dont la coproscopie révèle un nombre d'œufs supérieur à 40 par individu (nombre d'œufs comptés au microscope avant application du coefficient multiplicateur) (Kaplan et al., 2023). De plus, la relation entre charge parasitaire et excrétion fécale n'est pas parfaite et la production d'œufs dépend de la densité de parasites (mécanisme de régulation densité-dépendant, cf. supra).

Le phénomène de résistance aux anthelminthiques (RAH) s'accroît par la **forte pression de sélection** exercée sur les parasites lors de traitement AH. Parmi les facteurs influençant la pression de sélection, on retrouve :

- **La fréquence d'usage** : l'usage massif et souvent insuffisamment raisonné des molécules antiparasitaires chez les bovins exerce une forte pression de sélection et joue donc un rôle évident dans l'apparition des résistances (Leathwick & Besier, 2014). Cette utilisation massive peut s'expliquer à la fois par la difficulté à évaluer le risque parasitaire, le faible prix des lactones macrocycliques et la facilité d'application des solutions pour-on.
- **La non-rotation des familles antiparasitaires** : par habitude, les éleveurs traitent souvent avec la même famille de molécule (rotation d'AH rare), ce qui conduit à une pression de sélection qui se répète et qui peut durer plusieurs années (Chartier et al., 2015).
- **Le sous-dosage** : l'exposition variable des bovins, surtout en cas de sous-dosage accentue le risque d'apparition des phénomènes de résistance (Leathwick & Besier, 2014). Le sous-dosage est favorisé par l'utilisation de la formulation dite « pour-on ». En effet, il existe une variabilité de biodisponibilité des formulations « pour-on » selon les individus (Gayrard et al., 1999). Cette variabilité est également accentuée par l'absorption orale de l'AH (*via* le léchage par les congénères ou l'auto-léchage) (Sallovitz et al., 2005). Ainsi, en

raison d'un sous-dosage significatif chez une partie des animaux traités, la faible biodisponibilité des formulations « pour-on » et la grande variabilité individuelle conduisent à une possibilité de sélection accrue de résistance aux anthelminthiques.

- **L'utilisation des molécules rémanentes (LM)** : la rémanence est un facteur de risque dans l'apparition des résistances. En effet, après traitement l'émission des œufs dans les matières fécales provient des vers survivants. Pendant la durée de rémanence, seuls les parasites résistants nouvellement ingérés survivent : l'avantage reproductif donné aux parasites résistants perdure dans le temps et participe donc à ensemençer les parcelles avec des populations de vers résistants (Leathwick & Besier, 2014). De plus, l'usage des molécules rémanentes, retarde la mise en place de l'immunité. Par conséquent, une part importante des génisses de deuxième saison de pâturage est traitée, voire des bovins adultes, ce qui peut augmenter la pression de sélection.

La résistance aux anthelminthiques des bovins, bien que moins documentée que pour les petits ruminants, est un phénomène dont l'ampleur ne cesse d'augmenter. Un article de 2011 rapporte 145 cas documentés de résistance aux anthelminthiques chez les parasites nématodes des bovins dans le monde (Sutherland & Leathwick, 2011). Les résistances impliquent les trois anthelminthiques à spectre large et au moins dix espèces de nématodes. La grande majorité des cas de résistance sont signalés depuis le début des années 2000. Cela pourrait indiquer une augmentation de la prévalence de la résistance dans le monde, une augmentation des tests de résistance ou plus probablement une combinaison des deux facteurs. En Europe, une méta-analyse sur la période 1980-2020 indique que, chez les bovins, la prévalence de la RAH des SGI varie selon les classes d'anthelminthiques de 0 à 100 % (BZM et LM), 0 à 17 % (LEV) et 0 à 73 % (MOX) (Rose Vineer et al., 2020). La RAH constitue une menace réelle dans la gestion des strongyloses gastro-intestinales en élevage. Il est important de reconsidérer les pratiques actuelles et d'évoluer vers une rationalisation des traitements antiparasitaires. Cette rationalisation passe par un ciblage des traitements sur les animaux à risque pendant les périodes à risque.

- **Écotoxicité des molécules AH**

Les bovins traités avec des lactones macrocycliques (LM) excrètent dans leur fèces des **résidus toxiques** pour les insectes, notamment ceux participant à la dégradation des bouses. Par conséquent, les endectocides réduisent la quantité et la diversité des insectes coprophages et participent à l'accumulation des bouses dans les pâtures (Floate, 2006). Toutes les molécules de la famille des LM ne présentent pas le même degré de toxicité, la doramectine étant la molécule la plus toxique suivie de l'ivermectine et de l'éprinomectine puis de la moxidectine. Il a été montré

que 90% des larves de bousier étaient éliminées par les résidus d'ivermectine durant la première semaine suivant le traitement (Lumaret & Kadiri, 2018). De plus, l'ivermectine diminue le tonus musculaire des bousiers, réduit leurs facultés olfactives et impacte la fertilité des adultes (Lumaret & Kadiri, 2018). La réduction de la population des bousiers sur les pâtures n'impacte pas seulement la dégradation des déjections : outre les bénéfices apportés en termes de qualité des sols, les bousiers participent au biocontrôle des mouches par compétition et à la gestion des strongyloses. En effet, les insectes coprophages sont impliqués dans le transport d'acariens consommant des larves de nématodes (Lumaret & Kadiri, 2018). Aussi, la réduction de la population des insectes et les lombrics se traduit par moins de ressources alimentaires pour les petits mammifères (hérissons, taupes, musaraignes) et oiseaux qui se nourrissent de ces derniers (Lumaret & Kadiri, 2018).

Les rejets en milieu aquatique sont également délétères pour les espèces aquacoles, en particulier les organismes filtreurs (crustacés d'eau douce) (Lumaret et al., 2012). Ces rejets jusque dans les cours d'eau peuvent se faire par différentes voies : écoulement direct d'un AH « pour-on » dans l'environnement ou défécations à proximité d'un point d'eau (LM liées aux particules organiques dans les bouses).

Il convient donc d'adapter la lutte contre les nématodes gastro intestinaux des bovins en adéquation avec les enjeux environnementaux. L'usage parcimonieux et raisonné des AH *via* le TC et TCS (cf. infra) permet également une réduction de l'élimination de résidus toxiques, et donc un moindre impact écotoxique des traitements administrés.

1.3.2 Combiner les méthodes de lutte entre elles : le contrôle intégré de l'infestation

Plusieurs leviers, plus ou moins évidents à mettre en place, existent dans le but de rationaliser l'usage des anthelminthiques et diminuer le risque d'apparition de résistances.

1.3.2.1 Rationalisation de l'usage des AH

1) Diminuer la fréquence des traitements AH

Il est important de **diminuer la fréquence des traitements** en ciblant exclusivement les **animaux à risque** qui sont les bovins en première saison de pâturage. Le choix de traitement devrait tout d'abord s'appuyer sur des **outils diagnostiques de groupe**. Bien que ces outils comportent plusieurs limites comme évoqué précédemment, ils sont tout de même d'une aide précieuse dans la prise de décision. Dans l'étude de Charlier en 2011, 82 troupeaux ont été suivis pendant deux années consécutives. Parmi ces troupeaux, 39 ont suivi en année n+1 les conseils formulés en année n en fonction des taux de pepsinogène. Il a été conseillé à 39% des troupeaux

de réduire l'intensité de la chimioprophylaxie. Des échantillons d'animaux de ces troupeaux ont montré un niveau de pepsinogène plus élevé l'année n+1, mais aucun d'entre eux n'avait un niveau moyen de pepsinogène considéré comme excessif (Charlier et al., 2011). La mesure du niveau de pepsinogène à la rentrée à l'étable, à partir d'un nombre limité d'animaux peut contribuer à la construction d'un protocole de traitement ciblé et donc une utilisation plus raisonnée des antiparasitaires.

Promouvoir l'acquisition de l'immunité sur la période clé de première saison de pâturage permet de ne pas traiter les bovins en deuxième saison de pâturage ainsi que les adultes.

Nous avons vu que le sous-dosage favorise l'apparition des résistances, ainsi il est nécessaire **d'évaluer au mieux le poids des animaux** à l'aide de pesées, ou de mesures thoraciques avec un ruban barymétrique ou bien lorsque les 2 solutions sont impossibles de se référer au poids de l'animal le plus lourd.

2) Conservation de populations refuges

Une **population refuge** correspond à une sous-population de parasites non exposés à l'action de l'AH lorsque celui-ci est administré à des animaux (Greer et al., 2020). Ainsi, la pression de sélection ne s'exerce pas sur cette sous-population. Les quelques parasites résistants survivant après traitement chez les animaux traités peuvent alors ensuite être dilués par la population refuge, ce qui ralentit le phénomène d'apparition de résistances à l'AH utilisé.

Il existe trois types de population refuge (Greer et al., 2020) :

- Les larves se trouvant sur les pâtures au moment du traitement des animaux
- Les parasites hébergés par les animaux non traités
- Dans une moindre mesure, les larves L4 en hypobiose, en cas de traitement avec des molécules n'agissant pas sur ce stade.

Certaines pratiques de traitement sont associées au maintien d'une population refuge très faible et participent donc à augmenter la pression de sélection. Par exemple, le moment de traitement est essentiel : il faut éviter de traiter quand les animaux sont sur des parcelles peu contaminées notamment en période de sécheresse où le développement des larves L3 est ralenti (Leathwick & Besier, 2014). Par ailleurs, une pratique à risque dans l'apparition des résistances consiste en un « dose and move ». En effet, les œufs des parasites résistants réensemencent la nouvelle parcelle non contaminée, favorisant ainsi la sélection de populations résistantes. Il faut donc **privilégier le « move and dose »** (*changer de parcelle et traiter*) (Ravinet et al., 2019).

Pour parvenir à conserver une population refuge, les pratiques de traitement suivantes peuvent être adoptées :

- **Traitement ciblé (TC)** : l'ensemble du lot est traité en fonction de la connaissance du risque parasitaire, ou de paramètres qui quantifient la gravité de l'infestation (Charlier et al., 2014). La population refuge est constituée par les larves présentes sur les pâtures.
- **Traitement ciblé sélectif (TCS)** : seuls certains individus du groupe sont traités, sur la base d'un ou de plusieurs indicateurs (nombre d'œufs fécaux, gain de poids, note d'état corporel, etc...) (Charlier et al., 2014). La population refuge repose alors sur les parasites présents chez les animaux non traités. Ainsi, garder une population refuge en **sélectionnant quelques animaux à traiter** individuellement (pas de traitement de tous les animaux du lot) permet de ménager une population de parasites sur laquelle ne s'exerce pas la pression de sélection et donc de diminuer le risque de résistances.

Plusieurs études montrent que **le GMQ pourrait être un bon indicateur** de traitement ciblé sélectif (Berk et al., 2016), (Merlin, 2017). Dans l'étude de Berk, les veaux ont été traités lorsque le GMQ individuel était inférieur au GMQ moyen de 50 % des veaux ayant la croissance la plus faible dans un groupe traité (traitement à 3, 8 et 13 semaines). L'étude d'Aurélien Merlin a testé une stratégie de TCS différente : seuls les animaux ayant un GMQ pré-traitement inférieur à la moyenne du lot ont été traités. Sur 17 lots considérés comme fortement exposés, le GMQ post-traitement et les indicateurs d'infestation en fin de saison étaient similaires entre les groupes traités collectivement et les groupes traités sélectivement (Merlin, 2017).

Par ailleurs, l'étude de Högberg et al. (2019) a évalué si la surveillance en temps réel de l'activité des animaux pouvait être utilisée comme indicateur d'infestation subclinique aux SGI. Les résultats suggèrent que même de faibles niveaux d'infestation parasitaire affectent l'activité des bovins. En effet, un temps de couchage moyen quotidien plus élevé a été observé chez les animaux les plus parasités au cours des 40 premiers jours de pâturage. Cependant, aucune différence de GMQ n'a été observée entre les deux groupes (Högberg et al., 2021) ce qui indiquerait que les différences de charges parasitaires étaient faibles, ou en tout cas insuffisamment différentes pour créer un différentiel de croissance associé. Ainsi, des enregistrements comportementaux potentiellement basés sur des capteurs pourraient être intégrés dans les stratégies de traitements ciblés sélectifs.

3) Choix des anthelminthiques

Le marché des anthelminthiques est dominé par les lactones macrocycliques, molécules rémanentes, utilisées principalement en forme galénique « pour-on ». Il s'agit d'une pratique à

risque dans l'apparition des résistances, les formes **orales ou sous-cutanées** sont donc à privilégier. De plus, l'utilisation de la même famille d'AH favorise la pression de sélection exercée sur les parasites. Chez les petits ruminants, l'usage quasi-exclusif et fréquent des benzimidazoles est en partie responsable de l'étendue des résistances constatées aujourd'hui avec cette famille de molécule (Chartier et al., 2015). Ainsi, la **rotation de famille d'AH** est une pratique à privilégier.

1.3.2.2 *Pratiques de pâturage diminuant l'infestivité des parcelles*

Face aux nombreuses limites des traitements anthelminthiques (résistance, écotoxicité), des mesures alternatives ou complémentaires sont à privilégier. Ces mesures reposent principalement sur la gestion du pâturage.

La stratégie préventive : cette stratégie consiste à introduire des animaux sur des parcelles peu ou faiblement contaminées. Cela correspond donc à des pâtures non pâturées depuis longtemps, nouvellement semées ou fauchées. L'administration d'un vermifuge trois semaines après l'entrée dans la pâture est censée diminuer la contamination de la parcelle. Cependant, il s'agit d'une pratique à risque dans l'apparition de résistances du fait de l'absence de populations refuges.

La stratégie d'évasion : cette stratégie repose sur le changement de parcelle avant que le risque parasitaire ne soit élevé. La conduite de pâturage, via la **rotation des pâtures**, joue donc un rôle clé dans la gestion des parasitoses de pâturage. Cependant sa mise en œuvre est complexe (difficulté à évaluer le risque parasitaire) et à adapter à chaque élevage.

La stratégie de dilution : le pâturage simultané ou successif d'animaux sensibles et d'animaux faiblement excréteurs de même espèce (vaches adultes) ou d'espèces différentes (ovins, caprins, chevaux) permet une dilution des larves dans les pâtures. Dans le cas de pâturage vache-veaux, les adultes ingèrent des larves mais excrètent très peu d'œufs du fait de l'immunité. Elles exercent donc un effet assainissant sur les parcelles (Ravinet et al., 2019). Une étude sur le pâturage alterné de façon annuelle entre bovins/ovins n'a pas permis d'atteindre des niveaux de contamination suffisamment bas pour empêcher le développement de parasitoses (Bairden et al., 1995).

1.3.2.3 *Autres mesures préventives encore en développement*

En augmentant la pression de sélection par l'usage fréquent des AH, l'apparition de résistances risque de mener à des impasses thérapeutiques par réduction de l'arsenal thérapeutique efficace contre les SGI. Des mesures préventives visant à réduire leur utilisation sont en cours de recherche afin de ne pas arriver à cette situation. Parmi ces stratégies en cours

de développement, le recours à des métabolites secondaires de plante (MSP) pourrait avoir un effet bénéfique sur la santé des animaux et la lutte contre les SGI. Par exemple, **les plantes riches en tanin** telles que le sulla, les lotiers corniculés et pédonculés et le sainfoin montrent des propriétés intéressantes (Hoste et al., 2023). En effet, la distribution de plantes riches en tanins sous forme d'alicament, engendre une baisse d'excrétion des œufs, une baisse d'installation des larves infestantes (L3) chez les moutons ou les chèvres ainsi qu'un retard de développement des œufs en larves 3 (Hoste et al., 2023). Malgré des résultats prometteurs, l'application pratique se heurte à plusieurs limites : variabilités des effets observés (variabilité selon le niveau d'ingestion des ruminants, selon la teneur en tanin des plantes), mode de production et coût de la mesure de la concentration en tanins.

Une seconde perspective de recherche est la **sélection génétique** des individus résistants aux strongles gastro-intestinaux. La résistance vis-à-vis des infestations par les SGI chez les ruminants se traduit entre autres par une diminution du nombre d'œufs de nématodes excrétés par l'animal (donc moins de contamination des pâtures et des congénères). Plusieurs études ont démontré la possibilité de sélectionner des petits ruminants résistants (De La Chevrotière et al., 2011), (Moreno-Romieux et al., 2018). Il s'agit d'un levier d'action prometteur qui s'inscrit dans un concept de lutte intégrée contre les parasites. En effet, la sélection génétique ne pourra être efficace qu'en complémentarité avec d'autres pratiques d'élevage comme la rotation de pâture et le traitement ciblé (Hoste et al., 2010). Des travaux sont en cours de recherche concernant la résistance génétique des bovins.

2 Le dosage de pepsinogène : outil d'aide à la décision de traitement à la rentrée en stabulation

2.1 Description et activité du pepsinogène

2.1.1 Le pepsinogène, une proenzyme gastrique

Les **protéases aspartiques gastriques** sont des enzymes protéolytiques présentes dans le tube digestif des bovins. Ces enzymes permettent la digestion des protéines alimentaires par hydrolyse des liaisons peptidiques. Elles sont sécrétées sous forme de proenzyme qui est une forme inactive. L'activation se fait dans la lumière du tube digestif via l'action de l'acidité gastrique.

Le pepsinogène est une **proenzyme** appartenant au groupe des protéases aspartiques. Il existe plusieurs formes structurales de pepsinogène chez les bovins : A et C. La forme A est la forme majoritaire chez les bovins adultes et possède 4 isoformes. Le pepsinogène est constitué

d'une seule chaîne polypeptidique de 372 acides aminés et possède un prosegment situé du côté N-terminal (Sidikou et al., 2005).

2.1.2 Sécrétion du pepsinogène et sa régulation

Le pepsinogène est sécrété par les cellules principales de l'estomac, la régulation de sa sécrétion est décrite ci-dessous (figure 8).

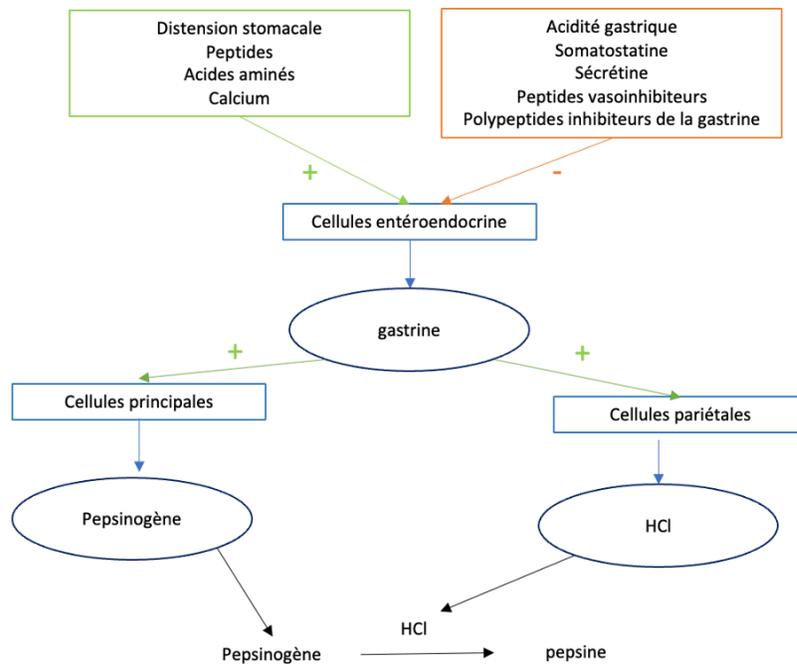


Figure 8 : Schéma illustrant la régulation de la sécrétion de pepsinogène

Plusieurs facteurs influencent les sécrétions enzymatiques de la caillette (Sidikou et al., 2005) :

- **L'âge** : avec l'âge, le pepsinogène A devient le zymogène dominant dans la muqueuse abomasale
- **Le régime alimentaire** : la consommation de nourriture solide augmente la sécrétion de pepsinogène

2.1.3 L'activation du pepsinogène en pepsine

Une fois dans la lumière de l'estomac, le pepsinogène est converti en pepsine correspondant à l'enzyme active. Cette transformation peut se réaliser via deux mécanismes : activation **intramoléculaire** ou **autocatalytique** (Al-Janabi et al., 1972). Ces deux voies existent

pour un pH compris entre 1 et 4,6. Cependant l'importance relative de ces deux voies dépend de plusieurs facteurs. La présence de pepsine accentue la réaction autocatalytique alors qu'une concentration élevée en pepsinogène favorise la voie intramoléculaire. De plus, le **pH** influence également la voie d'activation. Pour un pH = 2, 83% d'une solution de pepsinogène (dosée à 1mg/mL) est activée en pepsine selon un mécanisme intramoléculaire. Tandis que pour un pH = 4, ce pourcentage est seulement de 16% (Al-Janabi et al., 1972). Ainsi, un **pH bas favorise les réactions intramoléculaires**.

2.1.4 Passage du pepsinogène dans le sang

A la faveur de lésions de la muqueuse abomasale, le pepsinogène passe dans la circulation sanguine (figure 5). Ainsi, des concentrations élevées de pepsinogène sont trouvées en cas de déplacement ou d'ulcère de la caillette (Hajimohammadi et al., 2016). De plus, lors d'infestation par *Ostertagia ostertagi*, les migrations et le développement larvaires dans la muqueuse abomasale induisent également des lésions et donc le passage de pepsinogène dans la circulation sanguine (Ravinet et al., 2013), d'où son intérêt dans le diagnostic de l'ostertagiose.

2.2 Intérêt diagnostique du dosage du niveau de pepsinogène sérique

L'intérêt du dosage de pepsinogène dans le diagnostic de l'ostertagiose chez les bovins non immuns a été démontré dès les années 1960. Le tableau suivant (tableau VI) récapitule quelques études soulignant l'utilité de ce dosage. Ces études ont notamment montré l'intérêt du dosage de pepsinogène à **l'échelle du lot**, en interprétant la valeur moyenne de pepsinogène d'un échantillon de génisses. Il s'agit donc d'un outil de **traitement ciblé : traitement des lots à risque pendant une période à risque**.

Tableau VI : Synthèse d'études portant sur l'intérêt du pepsinogène dans le diagnostic de l'ostertagiose

Étude	Échantillons d'étude	Conclusion
<p>A field study of parasitic gastritis in cattle (Anderson & Armour, 1965)</p> <p>(Méthode de dosage du pepsinogène : méthode de Edwards, Jepson et Wood)</p>	<p>29 foyers d'ostertagiose rapportés par les vétérinaires praticiens – Écosse</p> <p>Veaux âgés de 4 à 6 mois – durée de pâturage de 6 semaines à 6 mois</p>	<p>Il existe une relation significative entre le niveau de pepsinogène sanguin et les types d'ostertagiose :</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Ostertagiose de type I : niveau de pepsinogène sérique significativement augmenté chez les veaux avec expression clinique de l'infestation (2902 +/- 170 mUTyr/mL) ➤ Ostertagiose de pré-type II : niveau de pepsinogène légèrement élevé (1114 +/- 64 mUTyr/mL) ➤ Ostertagiose de type II : niveau de pepsinogène fortement augmenté (4039 +/- 432 mUTyr/mL). <p>→ Intérêt du dosage de pepsinogène dans le diagnostic de l'ostertagiose</p>
<p>Forecasting of bovine abomasal worm burden by means of serum pepsinogen measurement study on suckling calves and heifers in first and second grazing season. (Kerbœuf et al., 1981)</p> <p>(Méthode de dosage du pepsinogène : méthode de Kerboeuf)</p>	<p>Évolution du taux de pepsinogène chez des bovins de race Limousine.</p> <p><u>Groupe 1 :</u> 6 génisses de 8 à 9 mois : autopsie avec comptage des parasites et mesure du taux de pepsinogène</p> <p><u>Groupe 2 :</u> Génisses de 13-14 mois Au total : 53 génisses sur 4 ans.</p>	<p>Il existe une relation significative entre le niveau de pepsinogène et le nombre de vers présents dans la caillette des jeunes bovins en première et deuxième saison de pâture (animaux non immuns). Les résultats sont valables pour l'ostertagiose de type I.</p> <p>Pour un niveau de pepsinogène donné, la dispersion du nombre total de strongles est élevée. Il n'est donc pas possible de prévoir individuellement avec précision le nombre total de vers d'une génisse donnée pour laquelle une seule analyse de pepsinogène est disponible.</p> <p>→ L'intérêt du dosage de pepsinogène se trouve donc dans le diagnostic de groupe : évaluation de la charge parasitaire moyenne du lot à partir du niveau de pepsinogène moyen pour un lot d'animaux.</p>

<p>Serum pepsinogen levels to monitor gastrointestinal nematode infections in cattle revisited. (Charlier et al., 2011)</p> <p>(Méthode de dosage du pepsinogène : micro-méthode de Vercruysse et Dorny)</p>	<p>5-8 échantillons de sang par lot sur des bovins de première saison de pâture à la rentrée à l'étable. Au total 3991 échantillons provenant de 677 fermes en Belgique.</p> <p>Modélisation de la valeur moyenne du pepsinogène du lot (distribution log normale) à partir des données récoltées dans les 677 troupeaux.</p> <p>A partir de ces distributions, 35000 troupeaux ont été générés informatiquement (taille 6 à 40).</p>	<p>Les variations des niveaux individuels de pepsinogène s'expliquent davantage par des différences entre les groupes de veaux que par des différences entre les animaux au sein d'un groupe de veaux.</p> <p>→ Intérêt du diagnostic de groupe</p>
--	--	--

2.3 Stratégie d'échantillonnage intra-lot pour le dosage de pepsinogène

La pratique d'échantillonnage actuelle consiste à prélever 5 génisses dans un lot et d'effectuer un dosage individuel. La décision thérapeutique est alors basée sur la moyenne de pepsinogène de l'échantillon. Cette stratégie repose sur les travaux de Kerboeuf et al. (1981) qui ont montré qu'il existe une corrélation entre le niveau de pepsinogène moyen de 5 génisses et la charge parasitaire moyenne de ces 5 génisses. Cependant, ses travaux n'indiquent pas si le nombre de génisses minimal à prélever doit être adapté à la taille du lot. L'étude de Charlier en 2011 porte sur des lots de plus grande taille (6 à 40) et renseigne sur l'intérêt de prélever 7 génisses dans un lot pour avoir une estimation précise de la moyenne du lot (Charlier et al., 2011). Cette étude comporte néanmoins plusieurs limites, il s'agit de lots générés informatiquement (les valeurs de pepsinogène ne reposent pas sur des lots réels) et son approche n'indique pas l'impact de l'aléa d'échantillonnage dans la décision thérapeutique. En effet, l'erreur absolue est définie par rapport à l'écart entre la moyenne de référence du lot et celle de l'échantillon. Or un écart important avec la moyenne du lot n'a pas forcément pour conséquence un changement dans la décision thérapeutique. Par exemple, pour un lot dont la moyenne du lot entier est de 2200mUTyr, et dont la moyenne de l'échantillon est de 3000 mUTyr, la décision thérapeutique reste la même. Des études plus récentes ont cherché à quantifier l'impact de l'aléa d'échantillonnage dans la décision thérapeutique. Les travaux de Gadois et Frangeul montrent des résultats prometteurs. En effet, il pourrait être pertinent de prélever 7 génisses, au lieu de 5, dans un lot (dosages individuels, interprétation de la valeur moyenne) afin de réduire cet aléa d'échantillonnage. Par ailleurs, ces études montrent également une corrélation significative entre la moyenne des dosages individuels et de mélange (Frangeul et al, 2022, Gadois, 2020). Le tableau 7 récapitule les conclusions des études portant sur la stratégie d'échantillonnage des génisses pour le dosage de pepsinogène sérique.

Tableau VII : Synthèse d'études portant sur l'échantillonnage des génisses pour le dosage de pepsinogène sérique

Étude	Conclusion
<p>Forecasting of bovine abomasal worm burden by means of serum pepsinogen measurement study on suckling calves and heifers in first and second grazing season. (Kerbœuf et al., 1981)</p> <p>(Méthode de dosage du pepsinogène : méthode de Kerboeuf)</p>	<p><u>Lots</u> : 53 génisses sur 4 ans</p> <p>Un échantillon de 5 à 10 animaux d'un lot permet d'obtenir une estimation de la charge parasitaire (nombre de vers présents dans la caillette) moyenne d'un lot à partir des résultats pepsinogènes. De 5 à 10 analyses, la précision sur la charge parasitaire augmente considérablement pour une analyse complémentaire, qu'il est donc intéressant de réaliser. Pour un échantillon de 10 et plus, les analyses complémentaires n'apportent que très peu de bénéfices sur la précision de la moyenne de la charge parasitaire du lot.</p> <p>→ 5 à 10 prélèvements dans un lot sont suffisants pour établir un diagnostic.</p>
<p>Serum pepsinogen levels to monitor gastrointestinal nematode infections in cattle revisited. (Charlier et al., 2011)</p> <p>(Méthode de dosage du pepsinogène : micro-méthode de Vercruysse et Dorny)</p>	<p><u>Lots</u> : 35 000 lots simulés</p> <p><u>Moyenne de référence en pepsinogène</u> : moyenne du lot modélisé</p> <p><u>Erreur</u> : écart en mUTyr entre la moyenne de l'échantillon et celle du lot. Un écart ≤ 500 mUTyr est jugé comme acceptable.</p> <p>Le nombre de prélèvements requis pour estimer, avec un intervalle de confiance à 95%, la moyenne du pepsinogène sérique d'un lot de bovins de première saison de pâture, avec une erreur absolue de 300 à 500 mUTyr est illustré figure 9.</p> <p>Pour une erreur absolue ≤ 300 mUTyr, la taille d'échantillon varie de 5 pour un lot de 6 animaux à 15 pour un lot de 40. Si l'on accepte une erreur absolue jusqu'à 500 mUTyr alors le nombre d'échantillons nécessaires est plus faible. Il est de 6 pour un lot ≤ 23 animaux et 7 pour un lot compris entre 24 et 40 animaux.</p> <p>→ En acceptant une erreur absolue de 0,5 U Tyr, une estimation fiable de la moyenne du niveau de pepsinogène du lot peut être obtenue avec ≤ 7 animaux échantillonnés, en fonction de la taille du troupeau.</p>

<p>Diagnostic de l'ostertagiose chez les génisses en fin de première saison de pâturage : évaluation de l'intérêt du pepsinogène de mélange et du niveau d'anticorps anti <i>Ostertagia ostertagi</i>. (Gadois, 2020)</p> <p>(Méthode de dosage du pepsinogène : méthode de Kerboeuf)</p>	<p><u>Lots</u> : 124 lots de génisse (5 à 9 prises de sang par lot) <u>Moyenne de référence en pepsinogène</u> : moyenne du 1^{er} tirage au sort <u>Erreur</u> : changement dans la décision thérapeutique par rapport à des seuils fixés à 1500 ou 2000 mUTyr</p> <p><u>Aléas d'échantillonnage</u> : tirage au sort de 5 génisses parmi 6,7,8 ou 9 (67 lots comptant au moins 6 génisses). Dans 13 lots sur 67 (20%), inversion de la décision thérapeutique possible en fonction du tirage au sort des génisses pour un seuil de traitement fixé à 1500 mUTyr. En augmentant le seuil à 2000 mUTyr, il y a inversion de la décision thérapeutique dans 6% des lots. → Le choix des 5 génisses prélevées au sein d'un lot pour effectuer le dosage de pepsinogène sérique peut avoir un impact important sur la moyenne obtenue avec parfois inversion de la décision thérapeutique. Le risque d'erreur dépend aussi du lot et du seuil de traitement.</p>
<p>Diagnostic de l'ostertagiose chez les génisses laitières en fin de première saison de pâturage via la mesure du niveau de pepsinogène sérique : révision de la stratégie d'échantillonnage et intérêt du dosage en mélange. (Frangeul et al, 2022)</p> <p>(Méthode de dosage du pepsinogène : méthode de Kerboeuf)</p>	<p><u>Lots</u> : 18 lots de génisses de première saison de pâturage, 5 à 52 génisses par lot <u>Moyenne de référence</u> : moyenne des dosages individuels du lot <u>Erreur</u> : changement dans la décision thérapeutique par rapport à des seuils fixés à 1500, 1750 ou 2000 mUTyr</p> <p><u>Aléas d'échantillonnage</u> : tirage au sort de 5 à 10 génisses dans des lots de 6 à 52 génisses → Variabilité importante des résultats en fonction de l'échantillonnage des génisses, inversion de la décision thérapeutique pouvant aller jusqu'à une fois sur deux dans certains lots.</p> <p><u>Identification des facteurs de variation du taux d'erreur</u> : taille de l'échantillon, coefficient de variation du niveau de pepsinogène dans le lot, écart du niveau de pepsinogène moyen du lot au seuil thérapeutique fixé, réalisation d'un traitement durant la saison de pâturage, présence d'une sécheresse et taux d'homogénéité du lot.</p>

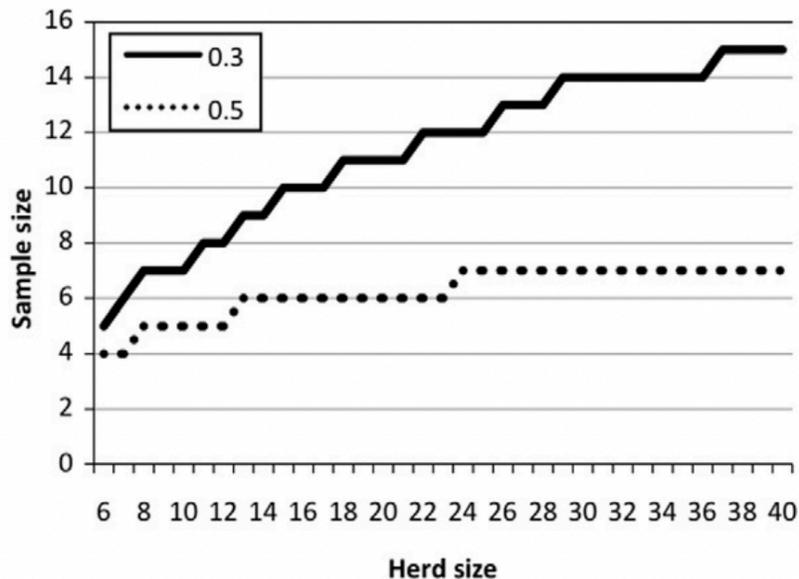


Figure 9 : Taille d'échantillon requise pour estimer la valeur moyenne réelle du pepsinogène sérique d'un groupe de veaux de première saison de pâturage (allant de 6 à 40 veaux) avec une confiance de 95 % et une erreur absolue (écart par rapport à la moyenne du lot) souhaitée de 0,3 et 0,5 U Tyr (d'après (Charlier et al., 2011))

2.4 Mise en œuvre sur le terrain

Le dosage de pepsinogène sérique peut être utilisé dans plusieurs situations (Ravinet et al., 2015) chez les génisses en première voire en deuxième saison de pâturage :

- 1) **En fin d'été – début automne** : en cours de saison de pâturage afin de confirmer une suspicion clinique d'ostertagiose, cette analyse peut être réalisée en complément de la coproscopie.
- 2) **A la rentrée en stabulation** : en fin de saison de pâturage afin d'évaluer la nécessité d'un traitement anthelminthique. En effet, à cette période les parasites sont en majorité en hypobiose (ostertagiose de pré-type 2), et la détection des stades larvaires n'est pas possible à la coproscopie.
Cet indicateur permet également d'estimer rétrospectivement la qualité des mesures de contrôle mises en place au cours de la saison de pâturage ainsi que le niveau du contact parasitaire et indirectement l'immunité générée (Lequeux & Chauvin, 2018).
- 3) **En fin d'hiver – début printemps** : en cas de suspicion d'ostertagiose de type 2 chez des génisses ayant déjà pâturé l'année précédente.

Il est important de prélever, quelle que soit la situation, un lot homogène d'animaux selon leur âge, leur historique de pâturage et les traitements reçus.

2.5 Méthodes de laboratoire utilisées

Les méthodes de dosage enzymatique du pepsinogène reposent sur la transformation du pepsinogène en pepsine en milieu acide puis en un ajout de substrat de nature protéique. La pepsine lyse alors ce substrat en plusieurs peptides. La lecture au spectrophotomètre permet d'obtenir la quantification de l'activité enzymatique de la pepsine (figure 10).

Il existe plusieurs méthodes mais deux sont principalement utilisées : **méthode simplifiée de Kerboeuf** et **micro-méthode de Dorny et Vercruysse**. Ces deux méthodes diffèrent par la nature du substrat utilisé, ainsi que par leurs seuils d'interprétation.

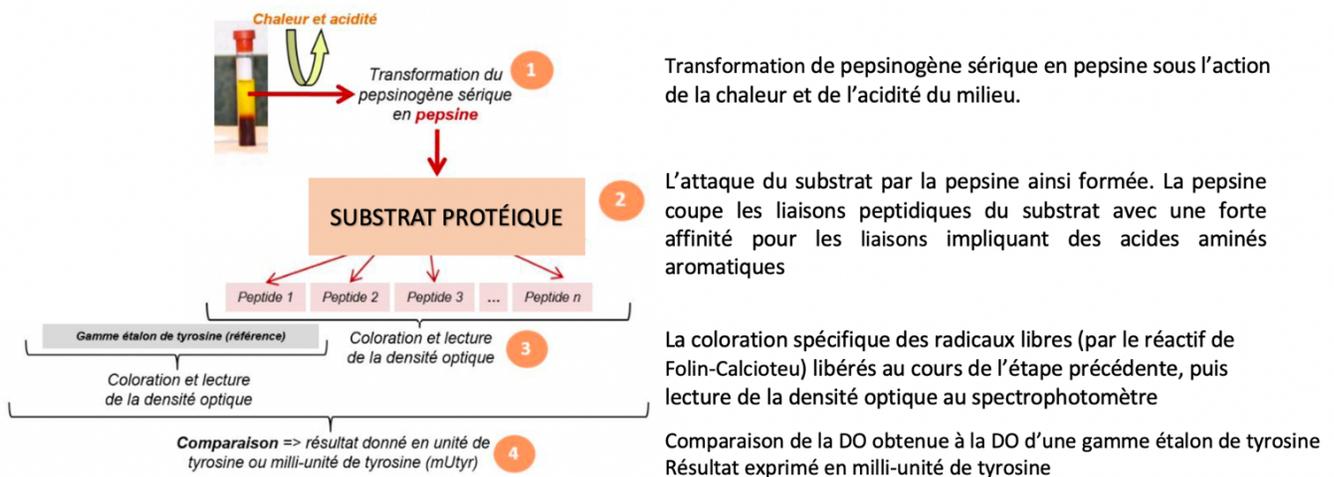


Figure 10 : Principe de la méthode de dosage du pepsinogène sérique (d'après Ravinet, 2015)

2.6 Interprétation des résultats lors de dosage avec la méthode de Kerboeuf

Les seuils classiquement utilisés sont présentés dans le tableau VIII, il faut être vigilant à la **catégorie d'âge des animaux** et à la **date de prélèvement** (contexte épidémiologique orientant vers le type d'ostertagiose possible) lors de l'interprétation des résultats. Les seuils utilisés sont valables pour des animaux **non immuns**, et usuellement les prélèvements sanguins effectués en vue de ce dosage sont en majorité réalisés à la rentrée en stabulation. Les prélèvements doivent se faire sur 5 à 7 animaux provenant d'un **lot homogène** (en âge, en traitement, en historique de pâturage...).

Ces seuils sont à utiliser avec précaution en prenant en compte les données épidémiologiques et cliniques. Enfin, il est important de souligner que les valeurs données dans le tableau VIII sont valables uniquement si le substrat utilisé par le laboratoire est l'hémoglobine.

Les conséquences cliniques de l'infestation parasitaire sont observées pour des niveaux de pepsinogène supérieurs à **3000 mUTyr** ; cela correspond à un nombre de vers dans la caillette entre 20 000 et 30 000. Cette correspondance entre le nombre de vers et le niveau de pepsinogène ne concerne que l'ostertagiose de type I (Kerbœuf et al., 1981).

Tableau VIII: Principales interprétations des différentes valeurs de pepsinogène sérique lorsque le dosage a été réalisée avec la méthode de Kerboeuf (d'après Ravinet et al., 2015)

Date de prélèvement	Valeurs (mUTyr)	Interprétation	Commentaires
A la rentrée en stabulation	300 – 600	Valeurs « normales »	Passage de pepsinogène physiologique en petite quantité. Si les valeurs sont trop basses, revoir le plan de traitement afin de favoriser l'installation de l'immunité.
	600 –1500	Faible charge parasitaire	Absence de conséquence zootechnique, installation de l'immunité. Aucun traitement nécessaire.
	1500 – 2000	Risque Ostertagiose de pré-type II	Charge parasitaire élevée (larves en hypobiose). Au cours de l'hiver, les larves sont inhibées et peu de migrations existent. Risque de conséquences zootechniques. Traitement nécessaire avec action sur les larves enkystées.
Fin d'été – début automne	A partir de 2000 – 2500	Confirmation Ostertagiose de type I	Ostertagiose d'été / début d'automne en saison 1 ou 2. Relation avérée entre taux de pepsinogène et charge parasitaire. Traitement nécessaire.
Fin d'hiver – début printemps	>2000, parfois valeurs très élevées entre 3000 et 4000	Confirmation Ostertagiose de type II	Fin hiver / début printemps, avant deuxième saison de pâturage. Traitement nécessaire.

<w

Les seuils de pepsinogène utilisés orientent la décision de traitement à la rentrée en stabulation. Pour les valeurs comprises entre 1500 et 2000 mUTyr, les seuils thérapeutiques peuvent être imprécis. En effet, en dessous de 1500 mUTyr, il est certain de ne pas traiter. Pour un résultat supérieur à 2000mUTyr, il est nécessaire de traiter les animaux. En revanche, pour des valeurs entre 1500 et 2000, aucun seuil de traitement ne fait consensus, celui-ci varie selon les études. Le seuil thérapeutique varie donc selon les vétérinaires praticiens mais le plus couramment utilisé est celui de 1500mUTyr.

2.7 Limites du dosage de pepsinogène

Comme déjà évoqué précédemment, les résultats de pepsinogène sont à interpréter avec précaution en fonction de l'historique de pâturage, des traitements effectués, du moment du dosage, de la méthode utilisée etc... En effet, cet outil, bien que très utile comporte plusieurs limites :

- Les résultats de laboratoire sont **peu reproductibles** (Charlier et al., 2011) et les seuils utilisés habituellement en France sont valables uniquement si le substrat utilisé est l'hémoglobine.
- Les résultats ne sont valables que sur des animaux non immuns, l'outil n'est donc **pas utilisable chez les vaches adultes**.
- Le taux de pepsinogène sérique peut être augmenté en réponse à **d'autres pathologies** (déplacement de caillette, ulcère, acidose). Cependant, chez les jeunes bovins au pâturage le parasitisme joue un rôle prépondérant dans les affections de la caillette.

De plus, le taux de pepsinogène pourrait **varier en fonction de la date de prélèvement**. En effet, plus on s'éloigne de la date de rentrée en stabulation, plus le taux serait bas (absence de migration des larves dans la muqueuse abomasale). Ainsi les seuils utilisés pourraient ne pas être les mêmes en fonction de la date de prélèvement. Une étude est en cours concernant cette hypothèse.

Partie 2 : Étude expérimentale

1 Objectifs de l'étude

Le dosage de pepsinogène sérique est un outil développé dans les années 1980 pour évaluer, à l'échelle d'un groupe de génisses, la charge parasitaire moyenne en *Ostertagia* dans la caillette. Depuis cette période, il est recommandé de prélever 5 à 10 génisses dans un lot et d'interpréter la moyenne du niveau de pepsinogène. Cette recommandation repose sur les travaux de Kerboeuf et al. (1981). Cette étude établit le lien entre la moyenne du niveau de pepsinogène sérique et la charge parasitaire moyenne, et indique qu'une prédiction correcte de la charge parasitaire moyenne peut être obtenue si l'on prélève 5 à 10 génisses. Cependant, cette étude n'aborde pas la question de l'échantillonnage intra-lot : elle rapporte une bonne corrélation entre le niveau moyen de pepsinogène calculé pour n génisses (n compris entre 5 et 10) et le nombre moyen d'*Ostertagia* hébergés par ces mêmes génisses ; mais n'indique pas le nombre optimal de génisses à prélever en fonction de la taille du lot pour prédire la charge parasitaire moyenne du lot entier. Or, pour des lots de taille importante, l'aléa d'échantillonnage peut être grand (ex : 3003 combinaisons possibles de 5 parmi 15), et il est très probable que tous les échantillons ne donnent pas le même résultat de niveau de pepsinogène moyen. Par conséquent, l'aléa d'échantillonnage pourrait affecter la prédiction de la charge parasitaire du lot entier, voire pourrait inverser la décision thérapeutique. Depuis les travaux de Kerboeuf et al. (1981), peu d'études se sont intéressées au dosage de pepsinogène et notamment à l'erreur liée à l'aléa d'échantillonnage.

L'étude de Charlier et al. (2011) s'intéresse à des lots comprenant 6 à 40 génisses mais il s'agit de lots simulés informatiquement (modélisation de la distribution des niveaux de pepsinogène dans un lot à partir de données biologiques réelles puis simulation informatique de 35 000 lots à partir de ces données). Cette étude visait à quantifier l'erreur liée à l'aléa d'échantillonnage et a défini l'erreur comme un écart par rapport à la moyenne du lot, un écart jusqu'à 300mUTyr étant jugé comme très précis et jusqu'à 500mUTyr comme acceptable. Ainsi, cette étude rapporte que, en acceptant une erreur absolue de 500mUTyr, une estimation fiable de la moyenne du niveau de pepsinogène du lot entier peut être obtenue avec 7 animaux échantillonnés quelle que soit la taille du lot. Toutefois, cette approche méthodologique ne quantifie pas les erreurs thérapeutiques liées au fait que les résultats obtenus pour chaque échantillon peuvent se trouver de part et d'autre d'un seuil de traitement. Or, c'est la quantification de cette erreur en regard de la taille d'échantillon qui est la plus intéressante d'un point de vue pratique, c'est-à-dire connaître l'impact de l'aléa d'échantillonnage sur la décision thérapeutique en fonction de la taille du lot. Pour l'illustrer, deux exemples : pour une même moyenne de lot à 1300 mUTyr, la moyenne de l'échantillon peut être de 750 mUTyr (différence > 500 mUTyr) ou de 1700 mUTyr

(différence ≤ 500 mUTyr). Dans le premier cas, la différence est comptabilisée comme une erreur dans le modèle d'étude de Charlier et al. (2011), dans le second elle ne l'est plus. Or, d'un point de vue biologique, dans la première situation, les deux résultats indiquent une charge parasitaire faible à modérée et conduisent à une conclusion similaire de non traitement par le vétérinaire (aucun changement de décision thérapeutique dû à l'échantillonnage). A l'inverse, dans la seconde situation, deux décisions thérapeutiques s'opposent (traitement non nécessaire à 1300 mUTyr et nécessité de traitement à 1700 mUTyr). Il y a inversion de la décision thérapeutique consécutive à l'échantillonnage. Les thèses vétérinaires de Typhaine Gadois (2020) et Mélanie Frangeul (2022) ont cherché à quantifier le taux d'erreur dans la décision thérapeutique lié à l'aléa d'échantillonnage.

L'étude de Typhaine Gadois (2020) s'est intéressée à l'impact de l'aléa d'échantillonnage de 5 génisses dans des lots de 6 à 9 animaux (lots de petite taille). Pour un seuil de traitement fixé à 1500 mUTyr, dans 13 lots sur 67 (20%), une inversion de la décision thérapeutique a été possible en fonction du tirage au sort de 5. Le choix des génisses prélevées au sein d'un lot pour effectuer le dosage de pepsinogène sérique peut donc avoir un impact important sur la moyenne de pepsinogène obtenue avec parfois inversion de la décision thérapeutique. D'une part des animaux qui nécessiteraient un traitement AH n'en auront pas. A l'inverse, des animaux, pour lesquels aucun traitement ne serait nécessaire en auront un. Dans un contexte d'utilisation raisonnée des AH et de santé des troupeaux, cela pose question. Aussi, cela est valable pour des lots de 6 à 9 génisses, et nous pouvons supposer que l'erreur diagnostique est d'autant plus grande pour des lots de grande taille.

L'étude de Mélanie Frangeul (2022) s'est intéressée ensuite à ce risque d'inversion de la décision thérapeutique lié à l'aléa l'échantillonnage, pour des échantillons de 5 à 10 génisses dans des lots de 6 à 52 animaux. Les résultats de la thèse de Mélanie Frangeul ont également montré un impact non négligeable de l'aléa d'échantillonnage sur la décision thérapeutique : l'échantillonnage de 7 génisses permettrait, en moyenne (sur tous les lots comptant au moins 8 génisses), un risque d'erreur thérapeutique inférieur à 10% (ce qui est concordant avec celui de l'étude de Charlier et al. (2011)), mais ce risque est variable et peut parfois atteindre 50%, et il augmente lorsque la taille du lot augmente. Il serait donc intéressant de connaître la taille optimale d'échantillon à prélever (celle minimisant le risque d'inversion de la décision thérapeutique) en fonction de la taille du lot de génisses. Pour cela, il faudrait évaluer le risque d'erreur thérapeutique pour des tailles d'échantillon allant de 5 à N-1 (N étant la taille du lot), et notamment pour des tailles de lot de génisses fréquentes en France.

Par ailleurs, l'étude de M. Frangeul a mis en évidence un autre facteur important faisant varier l'erreur diagnostique : l'écart entre le niveau de pepsinogène moyen du lot et le seuil choisi comme seuil de traitement. En effet, plus la moyenne d'un lot est proche du seuil de décision thérapeutique, plus l'impact de l'aléa d'échantillonnage sur le risque d'inversion thérapeutique

est important. Toutefois, dans l'étude de M. Frangeul, un échantillon génère une erreur si son niveau de pepsinogène moyen se trouve de l'autre côté du seuil de traitement comparé au niveau de pepsinogène moyen global de tout le lot. Ainsi, l'erreur est surestimée d'un point de vue biologique. Par exemple, pour une moyenne de lot à 1450mUTyr et un seuil thérapeutique fixé à 1500mUTyr, la décision est de ne pas traiter. Un échantillon dont la moyenne est à 1520mUTyr sera compté comme erreur, alors que d'un point de vue biologique, les moyennes sont semblables. Il serait donc intéressant de définir l'erreur de manière plus fine afin de ne pas la surestimer.

L'objectif de cette étude est de poursuivre les travaux sur la stratégie d'échantillonnage des génisses pour le dosage de pepsinogène sérique. Le but est de construire un abaque à destination des vétérinaires praticiens : celui-ci contiendrait le nombre de génisses à prélever en fonction de la taille du lot et du taux d'erreur accepté. Afin de construire cet abaque, nous allons nous appuyer sur trois définitions différentes de l'erreur. Ces définitions ont pour objectif de limiter la surestimation du taux d'erreur. Pour cela, nous allons notamment prendre appui sur la notion d'écart entre la moyenne de référence et le seuil de décision thérapeutique ainsi que sur la distribution des valeurs intra-lot. Cette étude se décompose en trois parties :

- 1) Évaluation du risque d'erreur thérapeutique en fonction de la taille d'échantillon et de la taille de lot
- 2) Évaluation de la taille d'échantillon idéale et optimale en fonction du taux d'erreur accepté
- 3) Étude des facteurs de variation du taux d'erreur

2 Matériels et méthodes

2.1 Échantillon de l'étude

L'étude reposait sur la compilation de cinq bases de données. Au total, cela a représenté 2716 génisses de première saison de pâturage, celles-ci étant réparties dans 250 lots de 2 à 52 animaux. Le tableau IX reprend les principaux éléments de chaque base de données utilisées dans cette étude.

Les élevages sélectionnés en 2023 dans la clientèle du cabinet vétérinaire Mainevet à Meslay-du-Maine (Mayenne) s'élevaient au nombre 12. Les critères d'inclusion des lots de génisses dans l'étude étaient : un minimum de 10 génisses par lot et une durée de pâturage supérieure à 3 mois. Au total, 14 lots ont été inclus dans cette étude, dont 10 provenant d'élevages laitiers et 4 d'allaitants. Tous les prélèvements ont eu lieu dans le mois suivant la rentrée à l'étable.

Tableau IX : Récapitulatif des bases de données utilisées pour la construction de l'abaque

	Année de prélèvement	Localisation	Nombre de génisses	Nombre de lots	Taille des lots
Clientèle Mainevet	2023-2024	Mayenne	199	14	10 à 27
Thèse M. Frangeul	2020-2021	Ille et Vilaine Loire-Atlantique	340	18	3 à 35
	2013-2014	Bretagne Normandie	665	29	9 à 52
Thèse T. Gadois	2016-2017	Normandie, Bretagne, Pays de la Loire, Auvergne- Rhône-Alpes et Grand Est	742	125	3 à 9
Thèse L. Puget	2023-2024	Cantal, Isère, Drôme	260	21	7 à 30
Thèse M. Leligois	2018	Grand ouest	510	43	2 à 39
TOTAL			2716	250	2 à 52

Parmi ces cinq bases de données, seules les tailles de lot comprises entre 6 et 30 animaux ont été retenues. En effet, dans le cas des lots de 5 génisses ou moins, l'ensemble des animaux est prélevé, il n'y a donc pas d'aléa d'échantillonnage. Un nombre maximum de 30 animaux a été fixé dans le cadre de la construction de l'abaque car la majorité des lots rencontrés sur le terrain comprennent 10 à 30 génisses. La figure 11 récapitule les lots sélectionnés parmi les différentes bases de données à l'issue du travail de sélection.

Après cette première sélection sur la base de la taille du lot, certaines tailles de lot étaient peu représentées ou même pas du tout (cf. 1ères lignes du tableau X). La construction d'un abaque en fonction de la taille du lot nécessitant que toutes les tailles de lot soient étudiées, nous avons reconstruit des lots par tirage au sort d'animaux provenant de lots réels afin de disposer au minimum de 10 lots pour chaque taille. Les données des lots reconstruits provenaient des « grands lots » comprenant plus de 30 animaux (tableau XI) et qui n'avaient donc pas été inclus lors de l'étape précédente de sélection, soit 11 lots comprenant 33 à 52 animaux. La base de données finale était donc composée de **301 lots** dont 167 fixes et 134 reconstruits.

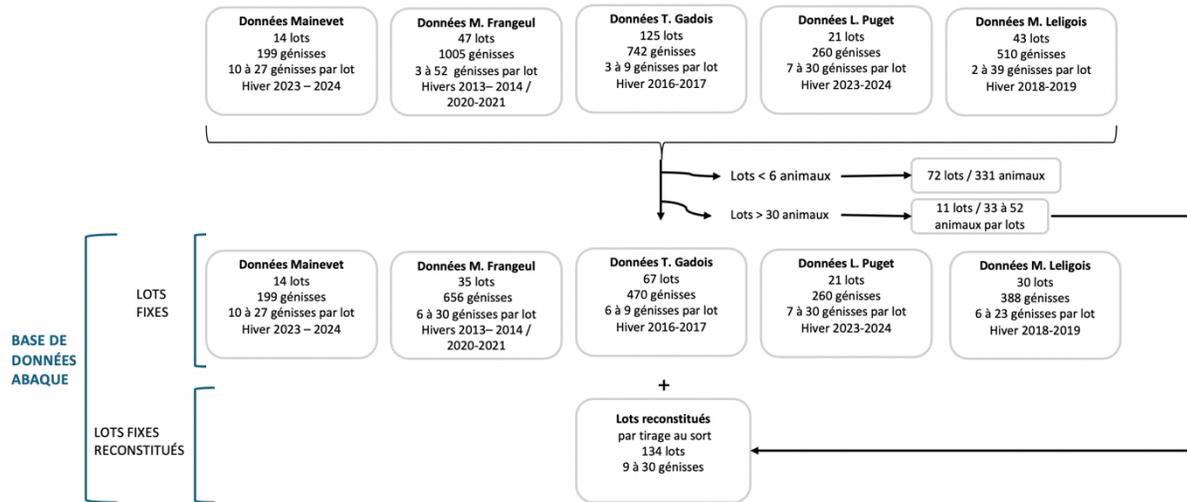


Figure 11 : schéma illustrant les bases de données utilisées pour la construction de l'abaque

Tableau X : Répartition des lots en fonction de leur taille (= nombre de génisses dans le lot) parmi les cinq bases de données utilisées pour la base de données globale

Taille du lot	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Nombre de lot fixes	31	17	33	6	9	7	7	5	5	4	4	8	7	1	2	4	2	5	2	0	0	3	0	3	2
Nombre de lot reconstruits	0	0	0	4	1	3	3	5	5	6	6	2	3	9	8	6	8	5	8	10	10	7	10	7	8
Clientèle Maine-et-Vilaine					2	3	1	1	2	2	1				1							1			
Thèse M. Frangeul			2	1		1	2	2	2	1	2	5	2			2	2	3	2			2		3	1
Thèse T. Gadois	27	14	24	2																					
Thèse L. Puget		1	4	1	5	2	2		1	1	1				1	1									1
Thèse M. Leligois	4	2	3	2	2	1	2	2				3	5	1		1		2							

Tableau XI: Lots à grands effectifs utilisés pour la reconstruction de lots de 9 à 30 animaux par tirage au sort

Taille du lot	33	34	35	36	37	39	42	52
Nombre de lot	1	2	3	1	1	1	1	1

2.2 Prélèvements et analyse de laboratoire

2.2.1 Prélèvements sanguins

Les prélèvements ont été réalisés sur des génisses en fin de saison de pâturage dans les jours ou semaines suivant la rentrée en stabulation. Les prélèvements ont été faits au niveau de la veine caudale par des vétérinaires praticiens et des étudiants vétérinaires. Les prélèvements sanguins ont été collectés sur tube sec puis centrifugés. Le sérum obtenu a été placé dans un tube Eppendorf pour acheminement au laboratoire en frais ou en congelé. Les prélèvements ont été acheminés au laboratoire de parasitologie de l'unité de recherche BIOEPAR (Oniris INRAE) ou au laboratoire public de Ploufragan, LABOCEA.

2.2.2 Dosage de pepsinogène sérique

Les dosages de pepsinogène sérique ont été effectués dans les deux laboratoires selon la méthode simplifiée de Kerboeuf (Kerboeuf et Koch, 2002). Le protocole utilisé est décrit dans l'annexe 1. Les résultats sont exprimés en milli-unités tyrosine par millilitre (mUTyr/mL). Le pepsinogène a été dosé individuellement sur l'ensemble des sérums.

2.3 Traitement statistique des données

Les données récoltées ont été reportées dans une base de données sur Microsoft Office Excel. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (version 2023 12.1). Pour l'ensemble des tests, la significativité statistique a été fixée au seuil de p-value = 0,05.

2.3.1 Préambule au travail statistique : définition des stratégies de décision thérapeutique et de l'erreur diagnostique liée à l'échantillonnage intra-lot

L'erreur thérapeutique découlant de l'échantillonnage intra-lot est intimement dépendante de la façon dont on décide de traiter (c'est-à-dire la stratégie de « référence » de décision thérapeutique) mais aussi de la façon dont on définit l'erreur thérapeutique par rapport à cette définition de référence. Dans notre étude, nous avons décidé de quantifier les erreurs liées à l'échantillonnage selon différentes manières de prendre la décision de traitement et selon différentes définitions de l'erreur thérapeutique liée à l'échantillonnage.

2.3.1.1 *Décision thérapeutique basée sur un seuil fixe à 1500 mUTyr*

Pour chaque lot de taille N, la décision thérapeutique « de référence » était basée sur la moyenne des niveaux de pepsinogène sérique individuels des N génisses composant le lot : le seuil de traitement a été fixé à 1500 mUTyr (il s'agit d'un seuil prudent classiquement utilisé par les vétérinaires praticiens en France), et pour tout lot dont la moyenne globale des niveaux de pepsinogène était supérieur à ce seuil, la décision était de traiter contre les SGI *versus* ne pas traiter si cette moyenne était inférieure au seuil. A partir de tout échantillon intra-lot (comprenant 5 à N-1 génisses, tirées au sort au sein du lot), la décision de traitement (pour la totalité du lot) se prenait de la même manière, en se basant sur la moyenne des 5 à N-1 niveaux de pepsinogène individuels et le positionnement de cette moyenne par rapport au seuil de 1500 mUTyr. Dans le cas où la décision thérapeutique liée au résultat de l'échantillon différait de la décision de référence alors cela a été noté comme une erreur. Autrement dit, toute moyenne d'échantillon se positionnant de l'autre côté du seuil de 1500 mUTyr par rapport à la moyenne globale du lot conduisait à une erreur. Nous appelons cette définition de l'erreur définition 1 (Figure 12).

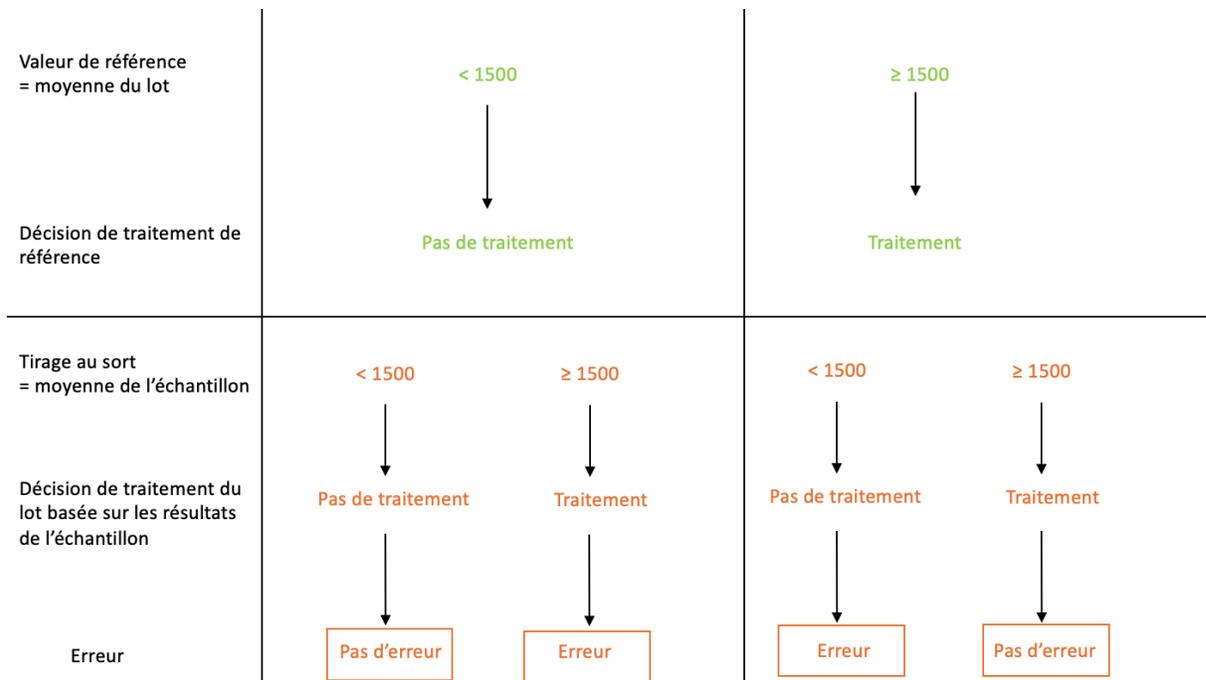


Figure 12 : schéma illustrant la définition 1 de l'erreur

2.3.1.2 Décision thérapeutique basée sur un seuil unique à 1500 mUTyr et erreur définie en fonction d'un écart au seuil

- Décision thérapeutique de référence à l'échelle du lot

La décision thérapeutique de référence se prenait de la même manière que ci-dessus (§ 2.3.1.1) : elle était basée sur la moyenne des N valeurs individuelles des niveaux de pepsinogènes des génisses composant le lot, en utilisant le seuil de traitement de 1500 mUTyr. Ainsi, pour les lots dont la moyenne était supérieure à 1500 mUTyr, la décision thérapeutique de référence était de traiter. Si la moyenne était inférieure à 1500 mUTyr, la décision était de ne pas traiter.

- Décision thérapeutique liée aux niveaux de pepsinogène de l'échantillon intra-lot émis par tirage au sort

Plus la moyenne d'un lot est proche du seuil de décision thérapeutique, plus la probabilité que la moyenne de pepsinogène d'un échantillon passe de l'autre côté de ce seuil (même en restant proche du seuil) est élevée, ce qui peut conduire à une surestimation des erreurs thérapeutiques liées à l'échantillonnage (Frangeul, 2022). Pour éviter cette surestimation, nous avons fait le choix de définir l'erreur thérapeutique liée à l'aléa d'échantillonnage en prenant en compte un écart par rapport au seuil (cf. figure 13). L'incertitude de mesure du niveau de pepsinogène à l'échelle individuelle est située entre 300 et 600 mUTyr. En retenant la médiane de cette incertitude (soit 450), l'incertitude de mesure de la moyenne d'un échantillon de 5

animaux est de $\frac{450}{\sqrt{5}} \approx 200$ mUTyr. Ainsi, nous avons retenu **200 mUTyr** comme l'écart au seuil minimal nécessaire pour que la décision thérapeutique liée à l'échantillon soit différente de la décision de référence. Par exemple, pour un lot présentant une moyenne inférieure à 1500 mUTyr alors la décision de référence était de ne pas traiter. Une erreur serait comptabilisée si la moyenne d'un échantillon issu de ce lot était $> 1500 + 200$ soit ≥ 1700 mUTyr. La figure 13 récapitule cette définition de l'erreur basée sur l'écart au seuil, nous l'appelons définition 2.

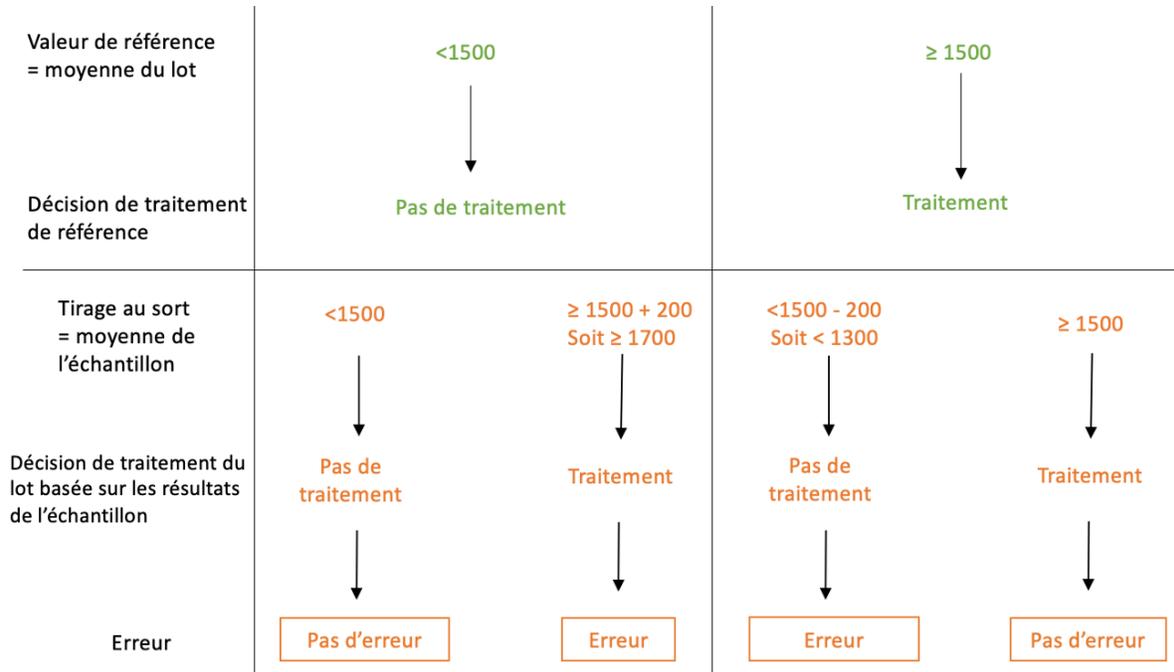


Figure 13 : schéma illustrant la définition 2 de l'erreur basée sur l'écart au seuil

2.3.1.3 Décision thérapeutique basée sur 2 seuils : un seuil de non-traitement à 1500 mUTyr et un seuil de traitement à 2000 mUTyr

- Décision thérapeutique de référence à l'échelle du lot

Le seuil de traitement à 1500 mUTyr étant un seuil très prudent de traitement, nous avons choisi d'élaborer une deuxième stratégie ayant pour but d'affiner la décision de traitement pour les moyennes comprises entre 1500 et 2000 mUTyr. Cette stratégie de décision reposait sur 2 seuils : un seuil de non-traitement à 1500 mUTyr et un seuil de traitement à 2000 mUTyr. Ainsi, pour tous les lots dont la moyenne globale des pepsinogènes des N génisses était inférieure à 1500 mUTyr, la décision thérapeutique de référence était de ne pas traiter. Pour tous les lots dont la moyenne globale des N génisses était supérieure à 2000 mUTyr, la décision thérapeutique de référence était de traiter. Pour les lots dont la moyenne globale des N génisses était comprise

entre 1500 et 2000 mUTyr, le choix de traitement ou de non-traitement était basé sur le **pourcentage d'animaux dont le niveau de pepsinogène individuel était supérieur à 2000 mUTyr** : si plus de **25% des animaux** du lot avaient un niveau de pepsinogène supérieur à 2000 mUTyr, alors la décision de référence était de traiter, et dans le cas contraire (moins de 25% des animaux au-dessus de 2000 mUTyr), la décision de référence était de ne pas traiter.

- Décision thérapeutique liée aux niveaux de pepsinogène de l'échantillon intra-lot émis par tirage au sort

La décision de traitement à partir de l'échantillon se faisait de la même manière qu'à l'échelle du lot (seuil de non-traitement à 1500 mUTyr et seuil de traitement à 2000 mUTyr). Pour des valeurs comprises entre 1500 et 2000 mUTyr, la décision thérapeutique était basée sur le nombre de valeurs au-dessus de 2000 mUTyr en fonction de la taille du lot (tableau XII) (car dans les échantillons de petite taille, la valeur stricte de 25% utilisée dans la décision de référence n'était pas aisément applicable). Le tableau XII a été construit de façon à ce que le nombre d'individus dont la valeur en pepsinogène était supérieure à 2000 mUTyr soit le plus proche de 25% de l'effectif total. Ainsi, si le nombre de pepsinogènes au-dessus de 2000 mUTyr était supérieur ou égal à l'effectif noté dans le tableau XII alors la décision thérapeutique était de traiter. La figure 14 reprend l'arbre de décision à l'origine de la définition de l'erreur, nous l'appelons définition 3.

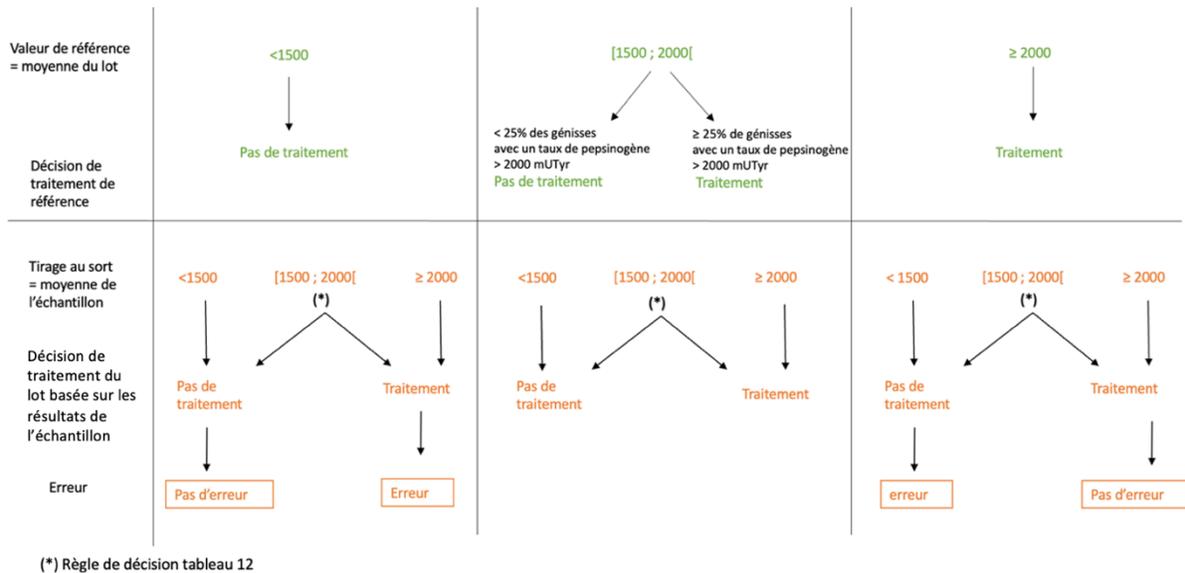


Figure 14 : schéma illustrant la stratégie de décision thérapeutique de la définition 3 de l'erreur

Tableau XII : Règle de décision de traitement liée aux résultats de l'échantillon dans le cadre de la définition 3 : nombre d'individus devant avoir un niveau de pepsinogène > 2000 dans les 5 à N-1 valeurs de l'échantillon intra-lot pour conduire à la décision de traiter si la moyenne des valeurs est comprise entre 1500 et 2000 mUTyr.

Taille de l'échantillon issu du tirage au sort intra-lot	Nombre de pepsinogènes > 2000 mUTyr pour conduire à la décision de traiter*
[5– 6]	1
[7– 10]	2
[11 – 14]	3
[15 – 18]	4
[19 – 22]	5
[23– 26]	6
[27 – 30]	7

*si la moyenne des valeurs de pepsinogène au sein de l'échantillon est comprise entre 1500 et 2000 mUTyr

2.3.2 Taille d'échantillon idéale et optimale requise en fonction de la taille du lot et de la définition de l'erreur

2.3.2.1 Tirages au sort et évaluation du taux d'erreur thérapeutique liée à l'échantillonnage

Pour chaque taille de lot (N génisses par lot, avec $6 \leq N \leq 30$), des **tirages au sort aléatoires** de k génisses ont été effectués (avec $5 \leq k \leq N-1$). Les combinaisons de k parmi N animaux ont été réalisées grâce à un programme sous le logiciel R, le nombre de combinaisons réalisé par lot augmentant avec la taille du lot. Le nombre de combinaisons utilisées a été fixé à 50 000, toutes les combinaisons possibles ont été utilisées lorsque le nombre de combinaisons totales étaient inférieures à 50 000 sinon, un tirage au sort de 50 000 combinaisons parmi l'ensemble des combinaisons a été effectué pour calculer le taux d'erreur. Pour chacun des tirages au sort de k génisses parmi N, la moyenne des niveaux de pepsinogène individuels a été calculée (**moyenne de l'échantillon**). La valeur de référence du lot correspondait à la moyenne globale des niveaux de pepsinogène individuels des N génisses du lot. De cette dernière découlait la **décision thérapeutique de référence** selon les stratégies présentées au paragraphe 2.3.1. (Cf. figures 12, 13 et 14). Puis pour chacune des 3 définitions de l'erreur thérapeutique liée à l'échantillon : dès que le niveau de pepsinogène moyen d'une combinaison était tel que la décision thérapeutique était différente de la décision thérapeutique de référence, une erreur était comptabilisée. Une erreur correspondait donc à un changement entre la décision thérapeutique de référence et celle

de l'échantillon. Puis, pour chacune des trois définitions de l'erreur thérapeutique, chaque lot et chaque taille d'échantillon (5 à N-1), un taux d'erreur a été calculé de la façon suivante :

$$\text{Taux d'erreur} = \frac{\text{nombre d'erreurs (par rapport à la décision de référence)}}{\text{nombre de combinaison possibles}} \times 100$$

En considérant X lots de taille N, un taux d'erreur a été calculé pour chaque taille d'échantillon (5 à N-1) dans chaque lot. Pour une taille de lot donnée, et une taille d'échantillon donnée, le taux d'erreur prenait donc X valeurs. Le **taux d'erreur moyen** a donc été calculé en moyennant ces X valeurs.

2.3.2.2 Détermination de la taille d'échantillon idéale en fonction de la taille du lot

La **taille d'échantillon idéale** était le nombre minimal m_i de génisses à prélever dans un lot permettant d'obtenir un risque d'erreur thérapeutique égal à 0 par rapport à la décision thérapeutique de référence. Cela signifie que l'ensemble des tirages au sort d'échantillons de taille m_i aboutissait à une conclusion identique à celle de référence en termes de traitement. La taille d'échantillon idéale a été déterminée avec les trois définitions de l'erreur.

2.3.2.3 Détermination de la taille d'échantillon optimale en fonction de la taille du lot

La **taille d'échantillon optimale** était le nombre minimal m_o de génisses à prélever dans un lot permettant d'obtenir un risque d'erreur thérapeutique inférieur à 10% par rapport à la décision thérapeutique de référence. Cela signifie que plus de 90% des tirages au sort d'échantillons de taille m_o aboutissaient à la même conclusion que la conclusion de référence en termes de traitement. La taille d'échantillon optimale a été déterminée avec les trois définitions de l'erreur. De plus, la taille d'échantillon optimale a été également déterminée pour un risque d'erreur inférieur à 5%.

2.3.3 Facteurs de variation du taux d'erreur

La proximité entre la moyenne globale des niveaux de pepsinogène des N génisses du lot et le seuil de décision thérapeutique pourrait être un facteur de variation du taux d'erreur. Effectivement, les lots dont la moyenne globale est comprise entre 1300 et 1700 mUTyr sont probablement les lots où le risque d'erreur lié à l'échantillonnage est le plus élevé puisque l'aléa d'échantillonnage pourrait aisément engendrer des moyennes d'échantillon passant de part et d'autre du seuil de traitement à 1500 mUTyr. Afin de vérifier cette hypothèse, la distribution des taux d'erreur selon la **moyenne de référence du lot** a été décrite pour chacune des 3 définitions

de l'erreur. Il est aussi possible d'approcher la proximité avec le seuil de décision par **l'écart entre la moyenne de référence du lot et ce seuil**. Le seuil de décision thérapeutique à partir duquel a été calculé l'écart au seuil était de 1500mUTyr. L'étude du taux d'erreur en fonction de l'écart au seuil n'a pas été réalisée pour la définition 3 car il existait deux seuils (un seuil de traitement à 2000mUTyr et un seuil de non-traitement à 1500mUTyr), donc le calcul d'un simple écart au seuil n'était pas possible pour cette définition.

De même, la dispersion des valeurs individuelles de pepsinogènes dans le lot impacte très probablement le taux d'erreur lié à l'échantillonnage. En effet, les lots pour lesquels la dispersion intra lot est élevée seraient plus à risque d'avoir un taux d'erreur élevé car l'aléa d'échantillonnage pourrait alors entraîner une plus grande variabilité de la moyenne d'échantillon en fonction des tirages au sort. Afin de décrire l'effet de la dispersion intra lot, deux variables ont été retenues : **l'écart-type et le coefficient de variation des valeurs individuelles de pepsinogène à l'intérieur de chaque lot**. Les modalités des différentes variables sont décrites ci-dessous (tableau XIII). Les valeurs seuils utilisées pour les variables de dispersion correspondaient aux terciles de la base de données globale.

Enfin, **le rapport entre taille d'échantillon et la taille du lot** est très probablement un facteur de variation du taux d'erreur. Il est logique d'émettre l'hypothèse que plus la taille d'échantillon augmente, plus le risque d'erreur est faible.

Tableau XIII : variables utilisées dans les modèles statistiques d'explication du taux d'erreur

	Variables	Modalités	Hypothèse
Indicateurs de proximité avec le seuil de décision thérapeutique	Moyenne de référence	<1300]1300-1700]]1700-2000] >2000	La classe]1300-1700] est associée à un risque d'erreur plus élevé
	Écart au seuil	<200]200 – 500] >500	Plus l'écart au seuil est faible plus le risque d'erreur est élevé
Indicateurs de distribution	Écart-type*	Variabilité faible Variabilité moyenne Variabilité forte	Le risque d'erreur augmente avec la variabilité
	Coefficient de variation *	<0,28 0,28-0,40 >0,40	Plus la dispersion augmente plus le risque d'erreur est fort
	Rapport entre la taille de l'échantillon et la taille du lot	Variable continue	Plus le rapport entre la taille d'échantillon augmente, plus le risque d'erreur est faible

*Les valeurs seuils utilisées pour catégoriser ces variables de dispersion correspondent aux terciles de la base de données globale.

Une analyse descriptive des cinq variables présentées dans le tableau XIII a été réalisée dans laquelle nous avons étudié l'évolution du taux d'erreur selon les différentes modalités de chaque variable.

Puis, une analyse multivariée a été réalisée afin d'étudier le lien entre le taux d'erreur et les variables décrites. Pour cela, un modèle binomial a été appliqué car la variable à expliquer était le taux d'erreur soit une proportion. Une analyse univariée a tout d'abord été réalisée, et si la p-value était inférieure ou égale à 0,20, la variable était retenue pour l'analyse multivariée. Deux hypothèses ont été vérifiées au cours de cette première étape de l'analyse. Dans un premier temps, la linéarité entre la fonction de lien et les variables explicatives quantitatives a été testée. Si elle n'était pas vérifiée alors la variable était découpée en classes. Dans un second temps, l'absence de sur-dispersion a été vérifiée. A l'issue des premiers modèles, la présence de sur-dispersion nous a orienté vers un modèle quasi-binomial permettant de corriger ce biais. A l'issue des analyses univariées, un calcul des VIF (Variance Inflation Value) a été réalisé pour ne conserver dans l'analyse multivariée que des variables qui n'étaient pas colinéaires. Enfin, un modèle multivarié a été construit avec les variables sélectionnées. Seules les variables explicatives dont la p-value était $<0,05$ ont été conservées. Nous avons conservé deux modèles différents du fait de la colinéarité de certaines variables et de l'absence de significativité de certains résultats. Un premier modèle a testé les variables : écart au seuil, écart type et le rapport entre la taille de tirage au sort sur la taille de lot. Puis un deuxième modèle a testé les variables : moyenne de référence, coefficient de variation et le rapport entre la taille de tirage au sort et la taille de lot. Ces deux modèles ont été choisis car les résultats mettent en évidence des relations significatives entre les variables. Les résultats sont exprimés en Odds-ratio (OR) :

- OR > 1 et intervalle de confiance n'incluant pas la valeur 1 : il y a plus de risque de présenter l'évènement lorsqu'on présente la modalité de la variable testée.
- OR < 1 et intervalle de confiance n'incluant pas la valeur 1 : il y a moins de risque de présenter l'évènement lorsqu'on présente la modalité de la variable testée.
- OR = 1 et intervalle de confiance incluant la valeur 1 : les deux variables ne sont pas liées.

Pour certaines tailles de lot, la taille d'échantillon optimale était très faible (moyenne du taux d'erreur faible quel que soit la taille d'échantillon) alors qu'à l'opposé certaines tailles de lot nécessitaient une taille d'échantillon optimale élevée. Afin d'étudier les causes de ces résultats non attendus, un score de risque a été créé. A partir des résultats de l'analyse multivariée, nous avons identifié des facteurs de variations du taux d'erreur et les modalités associées à un risque d'erreur plus élevé. Nous avons attribué un **score de risque** à chaque lot de taille 9 à 30. Le score de risque n'a été réalisé que sur les lots à partir de la taille 9, car, c'est à partir de cette taille que les effectifs étaient homogènes (N=10 pour chaque taille de lot de 9 à 30) ce qui permettait de comparer facilement les scores de risque entre les différentes tailles de lot. Notre hypothèse

étant que les tailles de lots qui se démarquaient des autres étaient constituées de lots avec un score très bas (taux d'erreur moyen faible) ou très haut (taux d'erreur moyen élevé).

3 Résultats

3.1 Évaluation du taux d'erreur thérapeutique lié à l'échantillonnage en fonction de la taille d'échantillon et de la taille de lot

3.1.1 Évolution du taux d'erreur par taille d'échantillon quelle que soit la taille du lot (N=301 lots)

Pour chaque définition de l'erreur, la moyenne du risque d'erreur tous lots confondus en fonction de la taille des échantillons tirés au sort, est présentée sur la figure 15. Pour toutes les définitions, le taux d'erreur diminuait avec l'augmentation de la taille d'échantillon. Concernant la définition 1 (en bleu sur la figure 15), nous constatons que cette diminution était progressive avec l'augmentation de la taille d'échantillon. Le taux d'erreur passait de 8,7% pour un échantillon de 5 à 0% pour un échantillon de 29. Pour la définition 2, le taux d'erreur moyen était très faible (<2,2%) quelle que soit la taille de l'échantillon. Le taux d'erreur semblait évoluer par palier pour la définition 3 : paliers entre 6 et 7, 10 et 11, 14 et 15, 18 et 19, 22 et 23, 26 et 27. Ces paliers correspondaient à ceux retrouvés dans la règle de décision de traitement (nombre de génisses avec un niveau individuel de pepsinogène > 2000 mUTyr dans l'échantillon tiré au sort) (tableau XII) : à chaque fois que la courbe orange descendait d'un palier, cela correspondait à une génisse en plus avec un niveau de pepsinogène > 2000 mUTyr à comptabiliser pour prendre la décision de traiter.

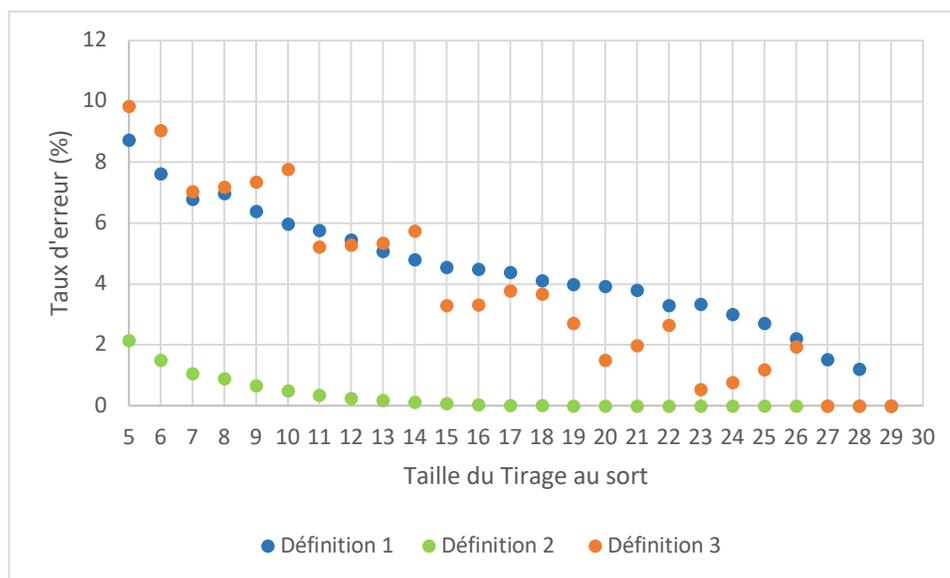


Figure 15 : Moyenne du taux d'erreur en fonction de la taille d'échantillon

3.1.2 Évolution du taux d'erreur par taille d'échantillon et selon les différentes tailles de lots.

3.1.2.1 Taux d'erreur en fonction de la taille de l'échantillon et de la taille du lot pour la définition 1 de l'erreur

Pour une taille de lot donnée, et une taille d'échantillon donnée, le taux d'erreur moyen a été calculé (moyenne des taux d'erreur des X lots de taille N pour un échantillon de k génisses) et est présenté sur la figure 16 ci-dessous. Comme déjà constaté sur la figure 15, ce taux d'erreur moyen diminuait de façon progressive avec l'augmentation de la taille de l'échantillon. Pour un risque d'erreur moyen inférieur à 10%, une taille **d'échantillon de 8** semblait suffisante hormis pour deux tailles de lots : 22 et 27 (Figure 16). En effet, on peut voir graphiquement que, pour ces deux tailles de lots, les taux d'erreur moyens étaient plus élevés que l'ensemble des autres tailles.

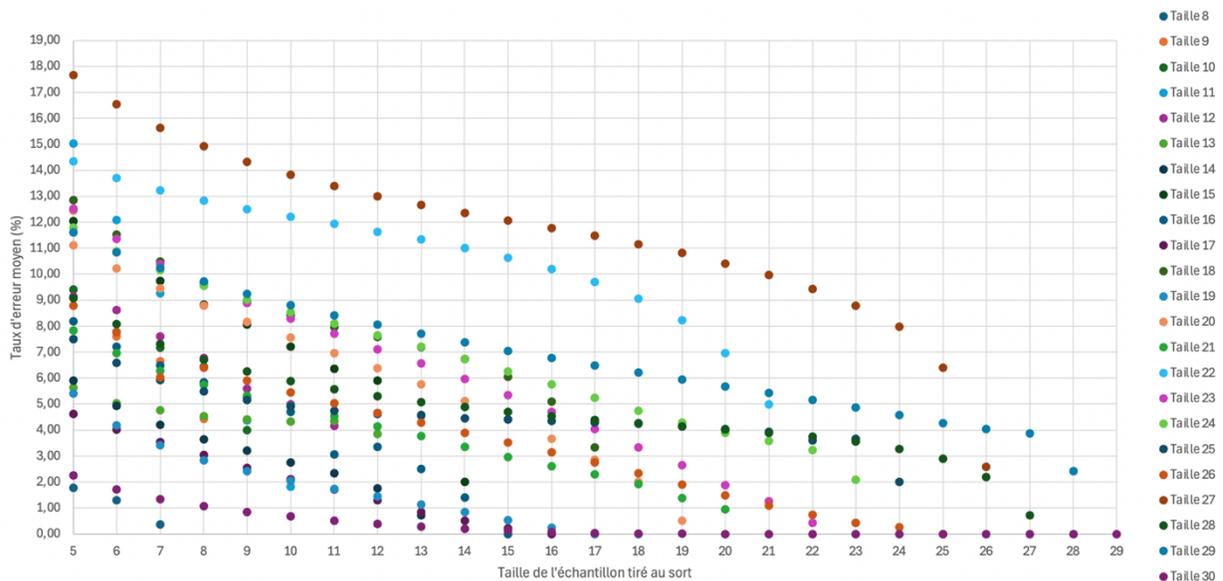


Figure 16 : Taux d'erreur moyen en fonction de la taille de l'échantillon intra-lot tiré au sort pour les tailles de lot de 8 à 30 (définition 1 de l'erreur)

3.1.2.2 Taux d'erreur en fonction de la taille de l'échantillon et de la taille du lot pour la définition 2 de l'erreur

Pour la définition 2 de l'erreur reposant sur l'écart au seuil, le taux d'erreur moyen était faible pour toutes les tailles de lot et chutait rapidement à 0 avec l'augmentation de la taille d'échantillon (Figure 17). Le risque d'erreur était inférieur ou égal à 5% quelle que soit la taille du lot (excepté pour les lots de taille 27 : le taux d'erreur moyen était très légèrement supérieur à 5% pour les échantillons intra-lots de 5 génisses).

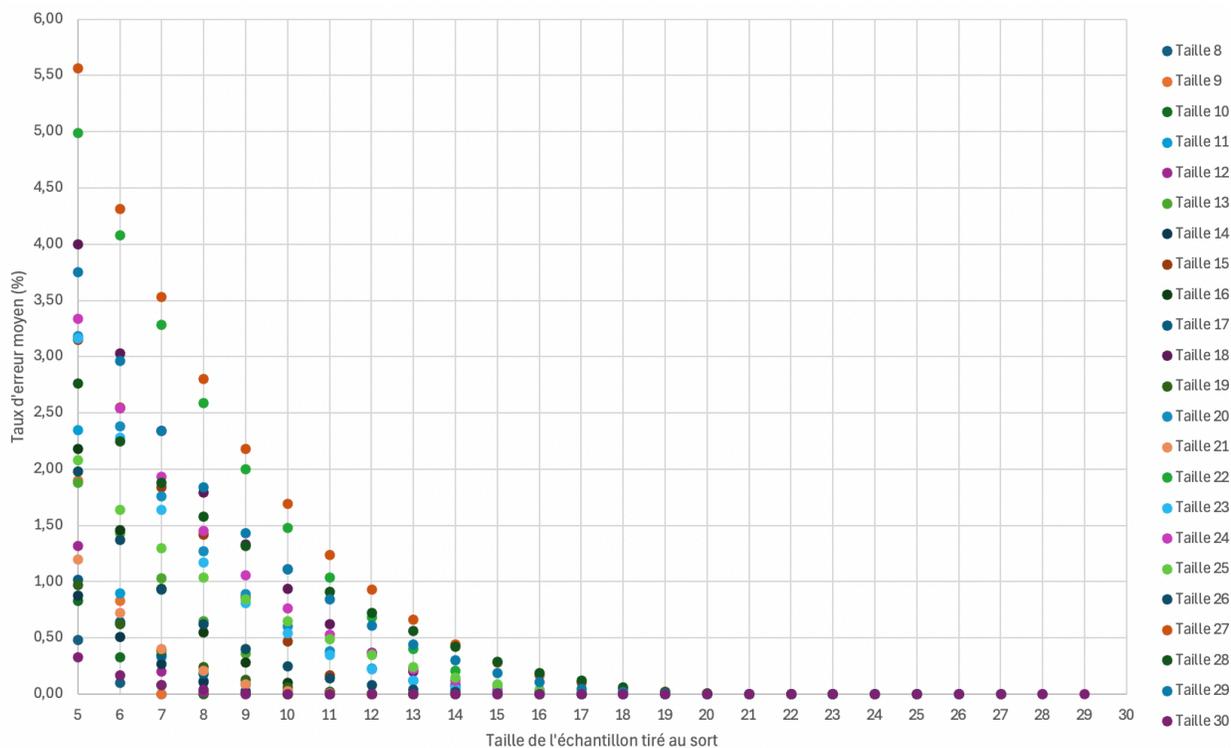


Figure 17 : Taux d'erreur moyen en fonction de la taille de l'échantillon intra-lot tiré au sort pour les tailles de lot de 8 à 30 (définition 2 de l'erreur)

3.1.2.3 Taux d'erreur en fonction de la taille de l'échantillon et de la taille du lot pour la définition 3 de l'erreur

Il est possible de distinguer sur la figure 18 ci-dessous l'évolution par palier du risque d'erreur moyen qui avait été mise en évidence sur la figure 15 pour la définition 3. Celle-ci est très visible pour la taille de lot 27 en orange sur le graphique (Figure 18). Cependant cette évolution par palier rend moins facile la lecture graphique. Par ailleurs, nous avons constaté que le taux d'erreur moyen montait plus haut que pour les deux autres définitions. En effet, le taux d'erreur maximal était de 21,6% (lot de taille 11, tirage au sort de 5). Excepté pour les lots de taille 27, le risque d'erreur était inférieur à 10% pour les échantillons de 15 génisses et plus.

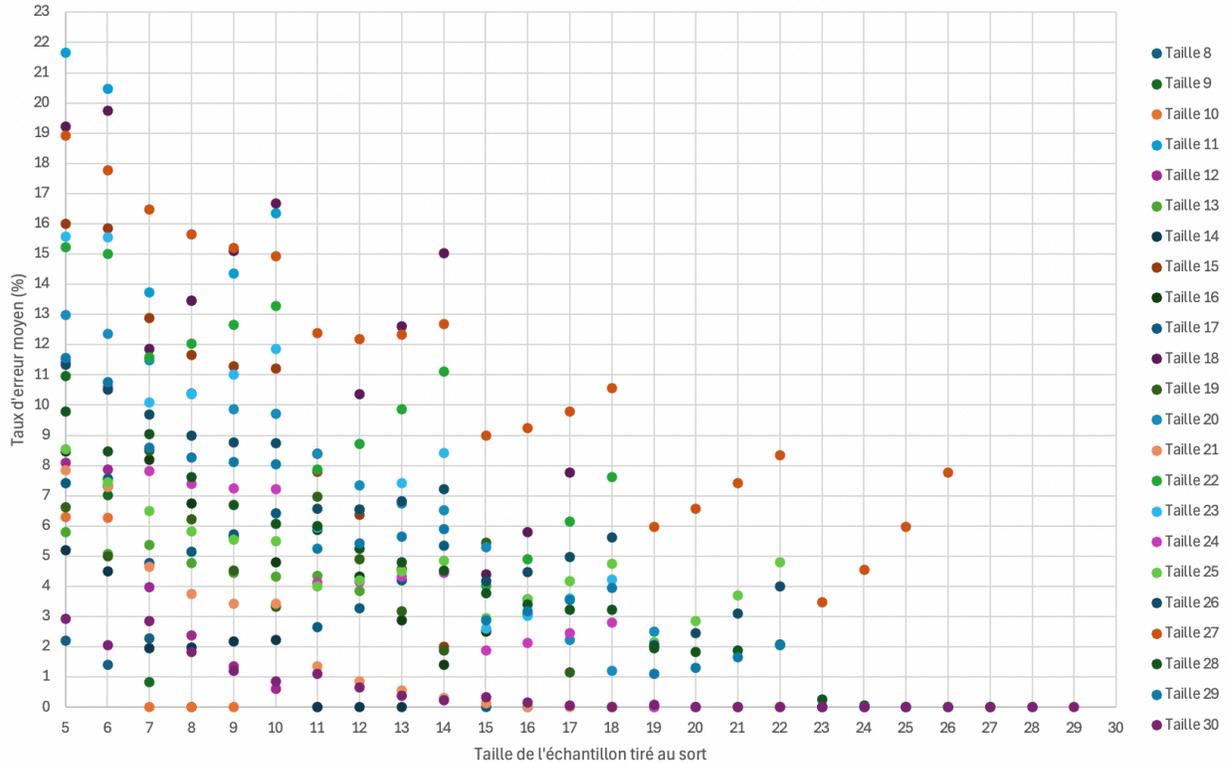


Figure 18 : Taux d'erreur en fonction de la taille du tirage au sort pour les tailles de lot de 8 à 30 (définition 3 de l'erreur)

Bilan :

L'erreur thérapeutique liée à l'échantillonnage diminuait avec l'augmentation de la taille de l'échantillon. Les définitions 1 et 2 révélaient une diminution progressive (mais plus rapide pour la définition 2) alors que, pour la définition 3, cette diminution se faisait par palier. Les paliers correspondaient à ceux de la règle de décision de traitement (nombre de génisses > 2000mUTyr au sein de l'échantillon) : à chaque palier il y avait chute du taux d'erreur puis augmentation progressive de celui-ci jusqu'au palier suivant. Excepté pour les lots de taille 27, le risque d'erreur moyen était inférieur à 10% pour les échantillons de plus de 8 génisses pour la définition 1, 5 génisses pour la définition 2 et 15 génisses pour la définition 3. Le taux d'erreur moyen maximum était de 17,6% pour la définition 1, 5,5% pour la définition 2 et 21,6% pour la définition 3.

3.2 Évaluation de la taille d'échantillon idéale et optimale en fonction de la taille du lot et du taux d'erreur accepté

3.2.1 Taille d'échantillon idéale en fonction de la taille du lot

La taille d'échantillon minimum à prélever pour obtenir un taux d'erreur moyen à 0% est présentée dans le tableau XIV. Cela signifie que tous les échantillons de k génisses parmi N aboutissaient à la même décision thérapeutique que la décision thérapeutique de référence. On constate que, quelle que soit la définition de l'erreur, la **taille d'échantillon idéale était comprise entre N et $N-7$** . Pour la définition 1, dans plus de 90% des cas la taille d'échantillon nécessaire était de N ou $N-1$. La définition 2 autorisait moins de prélèvements : jusqu'à $N-7$ pour le lot de taille 29. Pour la définition 3 de l'erreur, la taille d'échantillon idéale augmentait globalement avec la taille du lot, les valeurs étaient comprises entre N et $N-5$. La taille de lot 30 a été mise de côté car celle-ci est caractérisée par un taux d'erreur moyen très faible. Par conséquent, la taille d'échantillon idéale d'un lot de taille 30 ne suivait pas l'évolution globale constatée pour les lots de taille inférieure (augmentation de la taille d'échantillon avec la taille du lot).

Tableau XIV : Taille d'échantillon idéale (taux d'erreur = 0%) selon la taille du lot et pour les trois définitions de l'erreur

Taille du lot	Taille d'échantillon idéale m_i		
	Définition 1	Définition 2	Définition 3
6	6	5	6
7	7	6	7
8	8	7	8
9	9	7	8
10	10	8	7
11	11	9	11
12	12	9	11
13	13	10	13
14	14	10	11
15	15	12	15
16	15	12	16
17	16	12	15
18	18	16	18
19	17	14	18
20	20	17	20
21	21	14	17
22	22	18	19
23	23	19	19
24	24	18	19
25	25	21	23
26	25	23	23
27	27	23	27
28	28	22	25
29	29	22	24
30	22	14	24
Taille d'échantillon idéale	Entre N et N-2 (Hors lot taille 30)	Entre N-1 et N-7 (Hors lot taille 30)	Entre N et N-5 (Hors lot taille 30)

3.2.2 Taille d'échantillon optimale en fonction de la taille du lot

3.2.2.1 Taille d'échantillon optimale avec la définition 1

- **Taille d'échantillon optimale pour un taux d'erreur $\leq 5\%$**

La taille d'échantillon optimale, c'est-à-dire celle associée à un risque d'erreur accepté de 5% (taux d'erreur moyen $\leq 5\%$), évoluait de façon assez aléatoire, aucune tendance ne semblait se dégager (tableau XV). En effet, pour un lot de 15 animaux, 13 prélèvements étaient nécessaires alors que pour un lot de 25, 10 prélèvements suffisaient. De plus, la taille d'échantillon optimale était très faible pour quelques tailles de lots (en rouge dans le tableau XV) : lots de taille 17, 19 et

30. A l'inverse, certaines tailles de lots nécessitaient une taille d'échantillon importante (en orange dans le tableau XV) : lots de taille 18, 22 et 27.

Nous avons constaté également dans le tableau XV que le taux d'erreur maximal pouvait parfois atteindre des valeurs très élevées. Cela ne concernait qu'un lot à chaque fois et indiquait donc que certaines spécificités intra-lot pouvaient parfois conduire à un fort risque d'erreur lié à l'aléa d'échantillonnage.

Tableau XV : Taille d'échantillon optimale pour un risque d'erreur $\leq 5\%$ selon la définition 1 de l'erreur et distribution des taux d'erreurs associés à cette taille d'échantillon optimale

Taille du lot	Taille d'échantillon optimale m_o	Moyenne taux d'erreur	Écart-type	Minimum	Q1	Médiane	Q3	Maximum
6	5	3,76	11,14	0	0	0	0	50
7	6	2,52	5,61	0	0	0	0	14,28
8	5	1,79	5,43	0	0	0	0	25,00
9	8	4,44	14,05	0	0	0	0	44,4
10	9	4,00	9,66	0	0	0	0	30,00
11	9	4,36	9,47	0	0	0,90	3,63	30,90
12	10	5,00	13,81	0	0	0	0	43,93
13	7	4,76	14,19	0	0	0	0	45,10
14	6	4,92	11,80	0	0	0,08	1,98	37,62
15	13	4,57	11,04	0	0	0	0	34,28
16	10	4,69	9,88	0	0	0	0,02	23,77
17	5	4,62	10,67	0	0	0	0,06	32,43
18	17	3,33	7,02	0	0	0	0	16,66
19	6	4,19	9,18	0	0	0	2,65	29,38
20	15	4,41	9,07	0	0	0	0,89	23,90
21	10	4,93	11,93	0	0	0	0,01	37,11
22	21	5,00	12,93	0	0	0	0	40,90
23	16	4,71	9,32	0	0	0	3,89	27,99
24	18	4,74	12,38	0	0	0	1,89	39,64
25	10	4,91	14,16	0	0	0,02	0,25	45,10
26	12	4,65	9,91	0	0	0	0,31	27,36
27	26	2,59	6,06	0	0	0	0	18,51
28	14	4,89	13,75	0	0	0	0,06	43,76
29	23	4,87	13,21	0	0	0	0	41,98
30	5	2,25	5,26	0	0	0,31	1,17	17,01

- **Taille d'échantillon optimale pour un taux d'erreur $\leq 10\%$**

La taille optimale, c'est-à-dire, celle associée à un risque d'erreur accepté de 10% (taux d'erreur moyen $\leq 10\%$), se situait entre **5 et 8 animaux pour toutes les tailles de lots**, sauf pour les lots de taille 22 et 27. En effet, pour ces lots de 22 et 27 animaux il faudrait en prélever

respectivement 17 et 21 pour un risque d'inversion thérapeutique moyen inférieur à 10%. En revanche, même si la moyenne du taux d'erreur est de moins de 10% pour une taille d'échantillon donné, cela pouvait aller jusqu'à 50%. Ainsi, dans certains cas, la moitié des échantillons possibles de k génisses parmi N aboutissait à une inversion de la décision thérapeutique.

Tableau XVI: Taille d'échantillon optimale pour un risque d'erreur $\leq 10\%$ selon la définition 1 de l'erreur et distribution des taux d'erreurs associés à cette taille d'échantillon optimale

Taille du lot	Taille d'échantillon optimale m_o	Moyenne taux d'erreur	Écart-type	Minimum	Q1	Médiane	Q3	Maximum
6	5	3,76	11,14	0	0	0	0	50,00
7	5	5,60	10,81	0	0	0	0	28,57
8	5	1,79	5,43	0	0	0	0	25,00
9	6	7,62	14,56	0	0	1,78	5,35	46,42
10	5	9,40	17,20	0	0	0,79	6,94	49,60
11	8	6,72	11,35	0	0	2,72	6,96	36,96
12	5	9,14	16,6	0	0	0	11,83	47,97
13	5	5,64	14,19	0	0	0,31	1,59	45,45
14	5	5,91	12,55	0	0	0,49	3,97	39,81
15	7	9,75	15,95	0	0	0,5	10,62	44,19
16	5	8,19	14,33	0	0	1,09	5,86	35,30
17	5	4,62	10,67	0	0	0	0,06	32,43
18	8	9,65	17,58	0	0	1,24	4,68	43,15
19	5	5,21	9,97	0	0	0,03	4,87	31,72
20	7	9,45	15,76	0	0	0,04	13,71	38,77
21	5	7,83	14,72	0	0	1,65	3,90	44,12
22	17	9,69	16,41	0	0	0	18,38	44,68
23	8	9,58	15,41	0	0	0,78	16,87	40,77
24	8	9,55	15,85	0	0	0,56	17,17	44,32
25	5	7,50	14,03	0	0,29	2,28	5,03	45,59
26	5	8,79	14,24	0	0,18	2,01	8,08	38,69
27	21	9,96	16,47	0	0	0	20,41	42,24
28	5	9,08	14,89	0	0,02	3,34	7,79	46,69
29	8	9,72	16,72	0	0	0,03	11,80	46,29
30	5	2,25	5,26	0	0	0,31	1,17	17,01

3.2.2.2 Taille d'échantillon optimale avec la définition 2

- **Taille d'échantillon optimale pour un taux d'erreur $\leq 5\%$**

Nous avons vu précédemment que la définition 2 de l'erreur était caractérisée par un taux d'erreur moyen très faible (cf. Figure 17), toujours inférieur ou égal à 5% sauf pour un point. Ainsi, la taille d'échantillon optimale n'a été évaluée que pour un risque d'erreur $\leq 5\%$, et elle était de 5 génisses pour toutes les tailles de lot à l'exception de la taille de lot 27. En effet, pour cette taille

de lot, c'est un échantillon de 6 génisses qui permettait d'atteindre un risque d'erreur $\leq 5\%$. De plus, nous avons constaté qu'avec cette définition 2 de l'erreur, le taux d'erreur maximal était beaucoup plus faible (il ne dépassait que rarement 20%).

Tableau XVII : Taille d'échantillon optimale pour un risque d'erreur $\leq 5\%$ selon la définition 2 de l'erreur et distribution des taux d'erreurs associés à cette taille d'échantillon optimale

Taille du lot	Taille d'échantillon optimale m_o	Moyenne taux d'erreur	Écart-type	Minimum	Q1	Médiane	Q3	Maximum	
6	5	0	0	0	0	0	0	0	
7	5	0,56	2,30	0	0	0	0	9,52	
8	5	0,487	1,91	0	0	0	0	10,71	
9	5	1,90	5,48	0	0	0	0	17,46	
10	5	0,83	2,49	0	0	0	0	7,93	
11	5	2,35	3,23	0	0	1,62	2,59	10,17	
12	5	1,32	2,25	0	0	0	2,55	6,18	
13	5	1,88	5,57	0	0	0	0	17,71	
14	5	0,88	2,48	0	0	0	0,26	7,94	
15	5	3,15	7,04	0	0	0,09	1,45	22,21	
16	5	2,18	4,28	0	0	0,01	0,89	11,08	
17	5	1,02	2,57	0		0	0	8,08	
18	5	4,00	7,30	0	0	0,54	2,96	21,38	
19	5	0,97	2,84	0	0	0	0,18	9,07	
20	5	3,18	5,85	0	0	0	4,43	17,58	
21	5	1,20	2,38	0	0	0,05	0,29	6,26	
22	5	4,99	8,12	0	0	0,05	9,85	19,71	
23	5	3,16	5,28	0	0	0,28	4,04	15,03	
24	5	3,34	5,97	0	0	0,23	5,36	18,20	
25	5	2,08	5,39	0	0	0,12	0,54	17,29	
26	5	1,98	3,82	0	0	0,06	1,06	10,55	
27	Risque $\leq 5\%$	6	4,43	6,41	0	0,02	0,40	8,20	17,09
	Risque $\leq 10\%$	5	5,56	7,52	0	0,08	0,99	10,70	19,87
28	5	2,76	6,59	0	0	0,20	0,79	21,11	
29	5	3,75	6,62	0	0	0,01	3,73	17,93	
30	5	0,33	0,93	0	0	0	0,01	2,96	

3.2.2.3 Taille d'échantillon optimale avec la définition 3

- **Taille d'échantillon optimale pour un taux d'erreur $\leq 5\%$**

Pour la définition 3 de l'erreur, nous avons pu constater que les tailles d'échantillons optimales étaient assez hétérogènes et n'augmentaient pas de façon progressive avec la taille du

lot. Par exemple, un échantillon de 15 génisses était nécessaire pour un risque d'erreur $\leq 5\%$ à la fois pour les lots de taille 17, 23 et 29. Nous retrouvons la taille de lot 27 caractérisée par une taille d'échantillon très élevée (27 animaux à prélever pour un risque d'erreur moyen $\leq 5\%$) et la taille de lot 30 caractérisée par une taille d'échantillon optimale très faible (5 animaux à prélever). Pour 8 tailles de lot le taux d'erreur maximum était de 0%. Ainsi, dans certains cas, l'ensemble des échantillons possibles de k génisses parmi N aboutissait à la même décision thérapeutique que celle de référence. On constate également que le taux d'erreur maximal pouvait parfois atteindre des valeurs très élevées (45%) mais cela ne concernait que très peu de lots à chaque fois (maximum 2 lots concernés).

Tableau XVIII : Taille d'échantillon optimale pour un risque d'erreur $\leq 5\%$ selon la définition 3 de l'erreur et distribution des taux d'erreurs associés à cette taille d'échantillon optimale

Taille du lot	Taille d'échantillon optimale m_o	Moyenne taux d'erreur	Écart-type	Minimum	Q1	Médiane	Q3	Maximum
6	6	0	0	0	0	0	0	0
7	7	0	0	0	0	0	0	0
8	5	2,21	5,70	0	0	0	0	25,00
9	7	0,83	2,63	0	0	0	0	8,33
10	7	0	0	0	0	0	0	0
11	11	0	0	0	0	0	0	0
12	7	3,98	8,71	0	0	0	0	24,74
13	8	4,78	13,88	0	0	0	0,34	44,21
14	6	4,51	10,78	0	0	0,19	1,98	34,46
15	13	4,57	11,04	0	0	0	0	34,28
16	12	4,32	9,39	0	0	0	0	26,48
17	15	0	0	0	0	0	0	0
18	18	0	0	0	0	0	0	0
19	16	3,09	6,52	0	0	0	0	15,47
20	16	3,59	9,43	0	0	0	0	29,88
21	7	4,64	6,19	0	0	2,60	7,02	19,00
22	19	0	0	0	0	0	0	0
23	15	2,60	5,28	0	0	0,01	1,25	15,41
24	11	4,13	7,27	0	0	0,83	3,46	21,98
25	11	4,00	10,45	0	0	1,12	1,14	33,70
26	19	2,05	5,55	0	0	0	0,03	17,67
27	27	0	0	0	0	0	0	0
28	13	4,79	9,74	0	0	0,15	4,91	31,20
29	15	2,89	5,59	0	0	0,05	3,85	17,88
30	5	2,92	5,10	0	0	0,46	3,20	16,18

- **Taille d'échantillon optimale pour un taux d'erreur ≤10%**

Dans trois quarts des cas la taille d'échantillon optimale pour un taux d'erreur ≤ 10% était comprise entre **5 et 7**. Mais pour quelques lots, cette valeur était plus élevée (en orange dans le tableau). Ces lots (sauf les lots de taille 20) correspondaient aux limites de paliers fixés dans la règle de décision (nombre de génisses > 2000mTyr).

Tableau XIX : Taille d'échantillon optimale pour un risque d'erreur ≤10 % selon la définition 3 de l'erreur et distribution des taux d'erreurs associés à cette taille d'échantillon optimale

Taille du lot	Taille d'échantillon optimale m_o	Moyenne taux d'erreur	Écart-type	Minimum	Q1	Médiane	Q3	Maximum
6	5	2,68	9,71	0	0	0	0	50
7	7	0	0	0	0	0	0	0
8	5	2,21	5,70	0	0	0	0	25,00
9	6	7,02	14,75	0	0	0,59	3,27	46,42
10	5	6,30	12,52	0	0	0	2,18	31,74
11	11	0	0	0	0	0	0	0
12	5	8,1	13,98	0	0	0	11,93	37,12
13	5	5,81	14,13	0	0	0,34	1,88	45,37
14	5	5,20	10,67	0	0,07	0,79	4,07	34,26
15	11	7,80	14,56	0	0	0	6,04	40,00
16	5	8,46	14,56	0	0	1,09	6,19	36,28
17	5	7,41	18,68	0	0	0	0,68	59,08
18	15	4,41	13,95	0	0	0	0	44,11
19	5	6,63	11,01	0	0	2,01	4,86	32,81
20	9	9,87	16,87	0	0	0,27	13,19	40,97
21	5	7,85	13,07	0	0,31	2,27	5,78	38,78
22	15	4,03	7,54	0	0	0	2,58	18,65
23	11	5,94	8,85	0	0	0,95	8,45	25,68
24	7	7,81	9,78	0	0,03	6,02	9,17	29,60
25	5	8,54	15,71	0	0,40	3,54	5,87	51,61
26	7	9,69	13,28	0	0,05	3,68	16,69	40,32
27	19	5,96	12,38	0	0	0,68	4,28	39,46
28	5	9,79	13,85	0	0,11	4,07	13,01	43,14
29	7	8,59	10,75	0	0,49	2,99	15,08	31,63
30	5	2,92	5,10	0	0	0,46	3,20	16,18

Bilan :

La taille d'échantillon optimale n'augmentait pas de façon progressive avec la taille du lot. Les résultats étaient assez hétérogènes avec notamment certains lots qui se démarquaient des autres (en orange et en rouge dans les tableaux XV à XIX), soit parce qu'ils étaient caractérisés par une taille d'échantillon optimale très faible ou très élevée. Par conséquent, ces résultats motivaient une analyse des facteurs de variation du taux d'erreur.

3.3 Étude des facteurs de variation du taux d'erreur

3.3.1 Facteurs de variation du taux d'erreur à l'échelle du lot

3.3.1.1 Étude descriptive du taux d'erreur quelle que soit la taille du lot (N=301 lots)

- **Effet de la moyenne de référence**

On observait un taux d'erreur beaucoup plus élevé autour du **seuil de 1500 mUTyr**. Plus on s'éloignait de la valeur seuil, plus le taux d'erreur était faible (Figure 19).

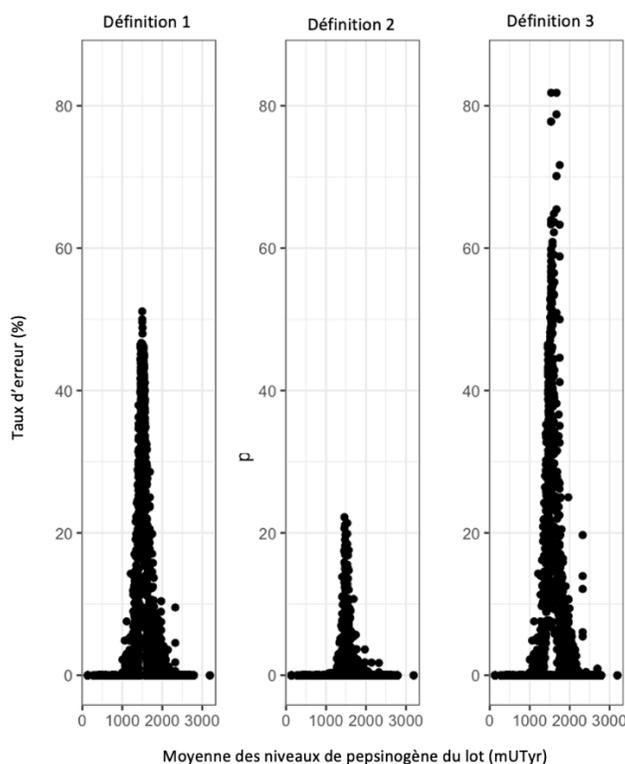


Figure 19 : taux d'erreur en fonction de la moyenne de référence du lot (quelle que soit la taille de l'échantillon)

Pour chacune des tailles d'échantillons de l'ensemble des 301 lots, nous avons comptabilisé le nombre de fois où le taux d'erreur était >0% en fonction de la catégorie de la moyenne de référence du lot. Ainsi nous avons obtenu la répartition des erreurs thérapeutiques selon la catégorie de la référence (classes : ≤1300,]1300-1700], >1700). Les résultats sont présentés dans la figure 20. La classe de moyenne]1300-1700] mUTyr regroupait plus de 50% du nombre d'erreurs pour les définitions 1 et 2. En revanche, la classe > 1700 mUTyr comprenait la majorité des erreurs pour la définition 3. Si on ne comptabilise que les taux d'erreurs supérieurs à 10% alors la classe]1300 – 1700] regroupait quasiment l'ensemble des erreurs comme le montre le graphique ci-dessous (Figure 21).

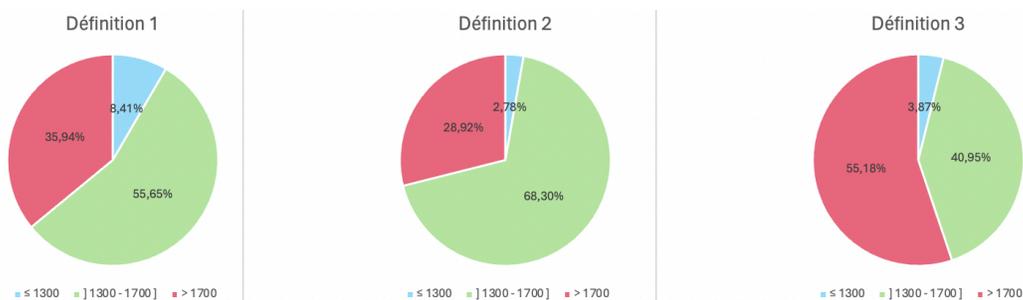


Figure 20 : Répartition des erreurs thérapeutiques selon les classes de la moyenne de référence du lot

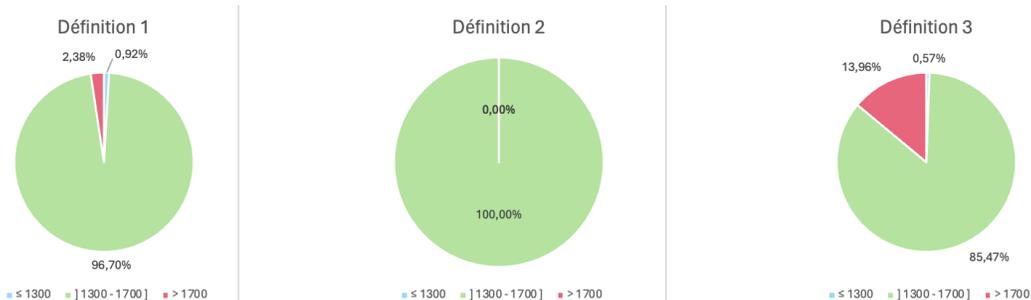


Figure 21 : Répartition des erreurs thérapeutiques (>10%) selon les classes de la moyenne de référence du lot

- **Effet de l'écart au seuil**

Graphiquement nous avons constaté que, plus l'écart au seuil était faible, plus le risque d'erreur thérapeutique était élevé (Figure 22).

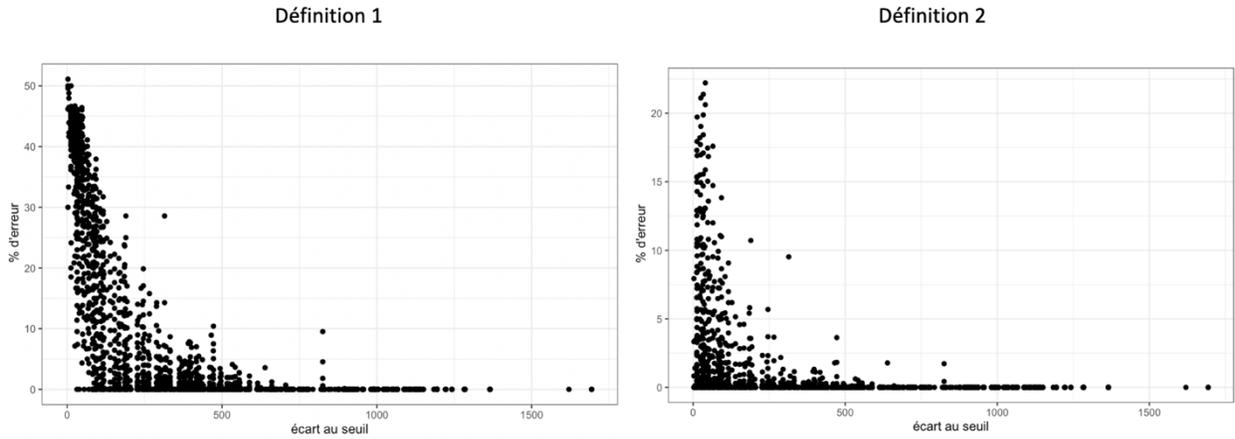


Figure 22 : Évolution du taux d'erreur en fonction de l'écart entre la moyenne de référence du lot et le seuil de traitement

- **Effet de l'écart-type**

Nous avons ensuite analysé la distribution du taux d'erreur selon l'écart-type. L'hypothèse étant que les lots présentant un écart-type élevé sont également ceux où le taux d'erreur est le plus élevé. Graphiquement, l'hypothèse n'était pas vérifiée (Figure 23), il semblait y avoir un taux d'erreur plus élevé pour les lots dont l'écart type était compris entre 480 et 750.

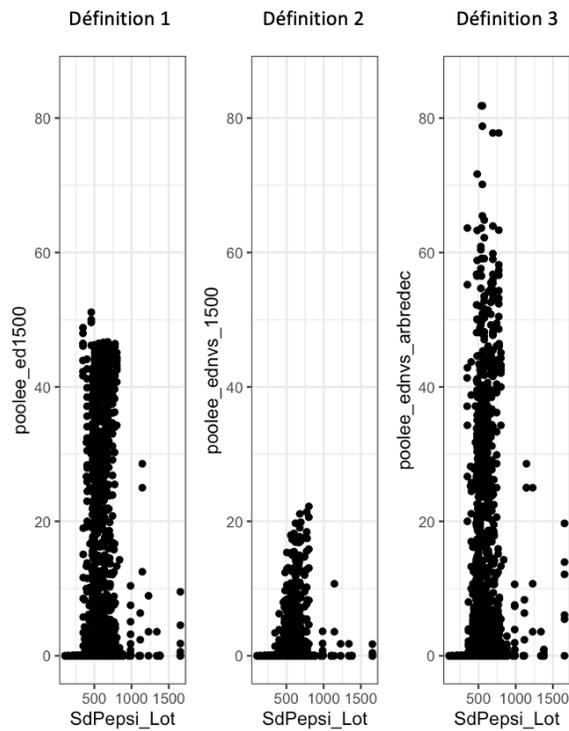


Figure 23 : taux d'erreur en fonction de l'écart-type de la distribution intra-lot des valeurs individuelles de pepsinogène parmi l'ensemble des lots

- **Effet du coefficient de variation**

Le risque d'erreur paraissait graphiquement plus élevé pour un coefficient de variation autour de 0,4 (Figure 24). Un coefficient de variation élevé ne semblait pas associé à un risque d'erreur plus important.

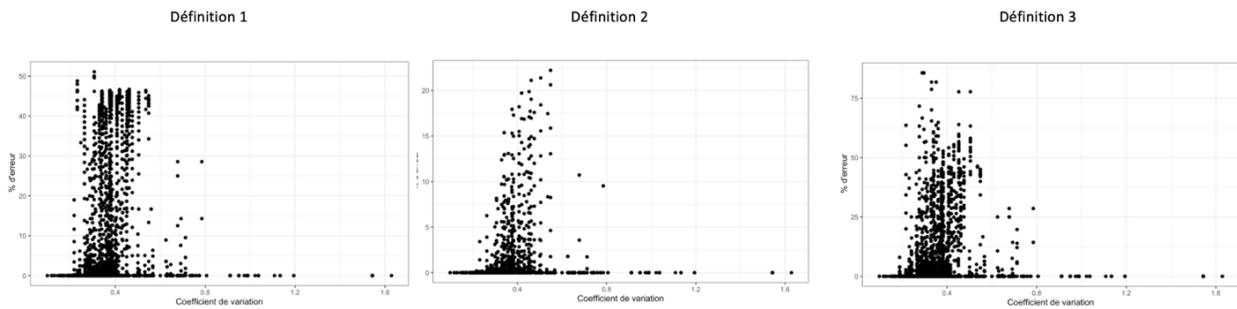


Figure 24 : Taux d'erreur en fonction du coefficient de variation de la distribution intra-lot des valeurs individuelles de pepsinogène

3.3.1.2 Analyse multivariée des facteurs de variation du taux d'erreur

- **Premier modèle (variables : écart au seuil, écart-type et rapport taille de tirage au sort/taille de lot)**

Nous avons constaté que, lorsque le rapport entre la taille du tirage au sort et la taille du lot augmentait, alors le risque d'erreur était plus faible (OR significativement <1). Un écart au seuil faible était associé à un risque d'erreur plus élevé (OR significativement >1).

Concernant la définition 1, les lots dont la variabilité est moyenne ou forte étaient associés à un risque d'erreur plus élevé (OR significativement >1). L'écart-type n'était pas une variable significative pour la définition 2.

Le modèle statistique n'a pas été réalisé pour la définition 3 car il existe deux seuils : un de traitement et un de non-traitement donc la variable écart au seuil n'était pas possible.

Tableau XX : résultats de l'analyse multivariée des facteurs de variation du taux d'erreur (analyse sur toutes les tailles de lots et de tirage au sort)

	Variable	Catégorie	n	OR	IC à 95%	p-value
Définition 1	Écart-Type	variabilité faible	568	1,00		<0,0001
		variabilité moyenne	1125	22.12	[6.66 ; 73.41]	
		variabilité forte	1661	72,36	[2.12e+01 ; 2.45e+02]	
	Taille du TAS/Taille de Lot	variable continue	3354	0.12	[1.17e-01 ; 1.40e-01]	<0,0001
	Ecart au seuil	[200 - 500[1213	1,00		<0,0001
		<200	738	3.87	[5.70e+01 ; 1.54e+02]	
≥500		1403	0.02	[1.40e-02 ; 5.65e-02]		

	Variable	Catégorie	n	OR	IC à 95%	p-value
Définition 2	Écart-Type	variabilité faible	568	1,00		< 0,0001
		variabilité moyenne	1125	5.62e+01	[9.59e-02 ; 3.29e+04]	
		variabilité forte	1661	2.52e+02	[4.30e-01 ; 1.48e+05]	
	Taille du TAS/Taille de Lot	variable continue	3354	1.36e-04	[1.09e-04 ; 1.69e-04]	< 0,0001
	Ecart au seuil	variable continue	3354	9.83e-01	[9.82e-01 ; 9.84e-01]	< 0,0001

- **Deuxième modèle (variables : moyenne de référence, coefficient de variation et rapport taille de tirage au sort/taille de lot)**

De même que pour l'analyse précédente, lorsque le rapport entre la taille du tirage au sort et la taille du lot augmentait alors le risque d'erreur était plus faible. La classe de moyenne de référence]1300-1700] était associée à un risque d'inversion thérapeutique plus important que les autres classes. Le coefficient de variation jouait également un rôle significatif dans le risque d'erreur, un coefficient de variation élevé étant associé à un risque d'erreur plus fort.

Tableau XXI : résultats de l'analyse multivariée des facteurs de variation du taux d'erreur (analyse sur toutes les tailles de lots et de tirage au sort)

	Variable	Catégorie	n	OR	IC à 95%	p-value
Définition 1	Coefficient de variation	[0,28 - 0,40[854	1,00		< 0,0001
		<0,28	1669	0,29	[0,14 ; 0,58]	
		≥ 0,40	831	2,26	[1,29 ; 3,97]	
	Taille du TAS/Taille de Lot	variable continue	3354	0,12	[0,11 ; 0,14]	< 0,0001
	Moyenne 4 classes] 1300 - 1700]	738	1,00		< 0,0001
		≤ 1300	983	5,46E-03	[2,81E-04 ; 1,0606-03]	
] 1700 - 2000]	662	0,02	[0,01 ; 0,04]	
>2000		971	8,930E-04	[4,39E-04 ; 1,81E-03]		

	Variable	Catégorie	n	OR	IC à 95%	p-value
Définition 2	Coefficient de variation	[0,28 - 0,40[854	1,00		< 0,0001
		<0,28	1669	0.13	[4.95e-02 ; 3.72e-01]	
		≥ 0,40	831	7.02	[3.57 ; 13.81]	
	Taille du TAS/Taille de Lot	variable continue	3354	1.31e-04	[1.20e-04 ; 1.49e-04]	< 0,0001
	Moyenne 4 classes] 1300 - 1700]	738	1,00		< 0,0001
		≤ 1300	983	1.26e-05	[4.48e-05 ; 3.57e-04]	
] 1700 - 2000]	662	0,01	[6,84e-03 ; 3,57e-04]	
>2000		971	7.49e-04	[2.94e-04 ; 1.91e-03]		

	Variable	Catégorie	n	OR	IC à 95%	p-value
Définition 3	Coefficient de variation	[0,28 - 0,40[854	1.00		0,004
		<0,28	1669	1.20	[0.76 ; 1.88]	
		≥ 0,40	831	1.99	[1.32 ; 3.01]	
	Taille du TAS/Taille de Lot	variable continue	3354	0.05	[0.04 ; 0.05]	< 0,0001
	Moyenne 4 classes] 1300 - 1700]	738	1.00		< 0,0001
		≤ 1300	983	0.02	[0.01 ; 0.03]	
] 1700 - 2000]	662	0.15	[0.09 ; 0.25]	
>2000		971	0.01	[0 ; 0.01]		

3.3.2 Typologie de lots à risque et score de risque associé

L'analyse multivariée a permis de mettre en évidence plusieurs facteurs de variation du risque d'erreur : écart entre la moyenne de référence et le seuil de traitement, moyenne de référence, écart-type et coefficient de variation. Un score de risque a été calculé pour chaque lot de taille 9 à 30 en fonction des résultats de ces deux analyses multivariées (la construction des scores reposait sur les résultats de l'analyse multivariée de la définition 1 de l'erreur). Un seul outil de scoring a été conservé. L'outil était basé sur la moyenne et le coefficient de variation : il permettait d'expliquer les particularités des tailles de lots qui se démarquaient des autres. Afin de classer les différentes modalités des variables selon un score de risque, les comparaisons deux à deux de chaque modalité des variables ont été testées (risque d'erreur plus élevé ou plus faible d'une modalité par rapport à une autre). La classe de moyenne de référence]1300-1700] était associée à un risque d'erreur plus élevé si nous la comparons à toutes les autres classes (OR significativement >1) (Tableau XXII), un score de risque égal à 2 lui a donc été attribué. La classe de moyenne de référence]1700-2000] était associée à un risque d'erreur plus élevé que les classes > 2000 et ≤1300 (OR significativement >1), son score de risque est donc intermédiaire (score de risque = 1). Il n'existait pas de différence significative sur le risque d'erreur entre les

classes de moyenne de référence ≤ 1300 et > 2000 (p -value $> 0,05$), ces deux classes étaient donc associées à un score de risque faible (score de risque =0). Nous avons procédé de la même façon pour attribuer un score de risque entre 0 et 2 aux modalités du coefficient de variation (tableau XXII). Nous aboutissons au tableau de score de risque présenté ci-dessous (tableau XXIII).

Tableau XXII : : comparaison entre les différentes modalités de classes de moyenne et du coefficient de variation

	Comparaison des deux modalités sur le taux d'erreur		OR	p-value
	Modalité 1	Modalité 2		
Classes de moyenne]1300-1700]]1700-2000]	41,46	<0,0001
]1300-1700]	≤ 1300	1830,61	<0,0001
]1300-1700]	> 2000	1119,40	<0,0001
]1700-2000]	≤ 1300	44,14	<0,0001
]1700-2000]	> 2000	26,99	<0,0001
		≤ 1300	> 2000	0,61
Coefficient de variation	[0,28;0,4[$< 0,28$	3,37	0,0015
	[0,28 - 0,4[$\geq 0,4$	0,44	0,0121
	$< 0,28$	$\geq 0,4$	0,13	<0,0001

Pour chaque lot, le score de risque est la somme du score des deux variables (moyenne de référence et coefficient de variation). Par exemple, un lot dont la moyenne de référence est de 1800 mUTyr et dont le coefficient de variation est de 0,48 aura un score de risque s'élevant à 3 (1 pour la moyenne de référence et 2 pour le coefficient de variation). Un score de risque élevé est associé à un taux d'erreur plus élevé alors qu'un score de risque bas est associé à un taux d'erreur faible.

Tableau XXIII : score de risque fonction de la moyenne de référence et du coefficient de variation

Moyenne	≤ 1300 ou > 2000	1700 – 2000	1300 - 1700
	0	1	2
Coefficient de variation	$< 0,28$	0,28 – 0,4	$> 0,4$
	0	1	2

Le tableau XXIV présente les effectifs de lots pour les scores de risque allant de 0 à 4. Nous avons constaté que les lots de taille 30 étaient regroupés vers les scores de taille faible (8 lots sur 10 avaient un score de 0 ou 1 contre maximum 6 pour les autres tailles). La taille de lot 22 était la seule à comprendre 2 lots en score 4, ce qui pouvait expliquer le taux d'erreur moyen élevé de cette taille de lot.

Tableau XXIV : effectifs des lots selon les scores de risque (scores basés sur la valeur de la moyenne de référence et coefficient de variation des pepsinogènes intra-lot)

Taille de lot	Score de risque				
	0	1	2	3	4
9	1	2	3	3	1
10	2	2	5	1	0
11	2	0	3	4	1
12	3	2	3	2	0
13	0	5	3	1	1
14	3	3	3	1	0
15	0	3	5	1	1
16	4	2	2	1	1
17	3	2	4	1	0
18	0	3	3	3	1
19	2	4	3	1	0
20	3	2	2	2	1
21	3	2	4	1	0
22	2	3	2	1	2
23	1	2	4	2	1
24	2	2	3	2	1
25	2	2	5	1	0
26	2	3	3	2	0
27	1	2	3	3	1
28	2	3	3	1	1
29	2	3	2	2	1
30	2	6	1	1	0

Bilan :

L'analyse statistique confirme que les variables suivantes sont des facteurs significatifs de variation du taux d'erreur :

- **Le rapport entre la taille de l'échantillon et la taille du lot** : le risque d'erreur diminue lorsque la taille d'échantillon augmente
- **Indicateurs de la proximité entre la moyenne de référence et le seuil de décision thérapeutique** :
 - **L'écart au seuil** : un écart au seuil faible est associé à un risque d'erreur plus élevé
 - **La moyenne de référence du lot** : une moyenne se trouvant dans la classe]1300-1700] est associée à un risque d'erreur plus élevé
- **Indicateurs de dispersion des valeurs individuelles de pepsinogène intra-lot** :
 - **Le coefficient de variation** : si les valeurs sont très dispersées autour de la moyenne alors le risque d'erreur est plus élevé.
 - **Écart-type** : une variabilité moyenne ou forte est associée à un risque d'erreur plus important

Les scores de risque attribués à chaque lot à partir de ces résultats permettent de mieux comprendre les résultats très hétérogènes de l'abaque et des lots qui se démarquent des autres. Cela est vrai pour les lots 22 (score de risque élevé) et 30 (score de risque faible).

4 Discussion

4.1 Synthèse des résultats

4.1.1 Évolution du taux d'erreur selon la taille d'échantillon

Le premier objectif de cette thèse était d'évaluer l'évolution du taux d'erreur thérapeutique, c'est-à-dire le risque d'inversion de la décision thérapeutique lié à l'aléa d'échantillonnage, en fonction de la taille d'échantillon et de la taille de lot. Il avait déjà été démontré dans la thèse vétérinaire de M. Frangeul (2022) que ce risque d'inversion thérapeutique diminuait avec l'augmentation de la taille d'échantillon, mais cela avait été étudié seulement pour des tailles d'échantillons de 5 à 10. Dans ce travail, le taux d'erreur associé à une gamme plus importante de tailles d'échantillon a été étudié (de 5 à $N-1$, N étant la taille totale du lot avec $6 \leq N \leq 30$). Nos résultats sont en accord avec ceux de M. Frangeul : nous avons observé une diminution du risque d'erreur lorsque la taille d'échantillon augmente, avec, pour un lot moyen de 15 génisses, un risque qui devient inférieur à 10% lorsque 46%, 33%, 73% des génisses du lot sont prélevées pour les définitions 1, 2 et 3 de l'erreur, respectivement.

L'étude de M. Frangeul (2022) a également montré que le risque d'inversion thérapeutique lié à l'aléa d'échantillonnage n'est pas négligeable. En effet, dans le cas d'un échantillonnage de 5 génisses, avec un seuil thérapeutique fixé à 1500 mUTyr, dans 57,8% des cas (26/45 lots), au moins une combinaison aboutie à une inversion thérapeutique. Cela était probablement lié à une définition trop sévère de l'erreur (passage de l'autre côté du seuil de 1500 mUTyr par rapport à la moyenne de référence du lot). Nous avons donc construit deux autres définitions de l'erreur (définition 2 et 3) qui avaient pour but de limiter la surestimation du risque d'erreur. La définition 2, qui repose sur le passage de l'autre côté du seuil de 1500 mUTyr mais en s'en éloignant d'au moins 200 mUTyr, devait permettre de ne pas comptabiliser comme erreur deux résultats très similaires (par exemple une moyenne de référence à 1520 mUTyr, et une moyenne d'échantillon à 1485 mUTyr). Cette définition 2 a conduit à un taux d'erreur moyen extrêmement faible. En effet, ce dernier est inférieur à 5,5% pour toutes les tailles de lot. Nous avons donc probablement été trop sévère sur cette définition, peut-être qu'un écart au seuil plus faible (100mUTyr) serait suffisant. Pour la définition 3 de l'erreur, le risque d'erreur évolue par paliers qui correspondent aux paliers de la règle de décision de traitement (nombre de génisses >2000 mUTyr). Le taux d'erreur chute à chaque fois qu'une génisse supplémentaire supérieure à 2000 mUTyr est nécessaire afin qu'une erreur soit comptabilisée. Cette définition est donc très dépendante de ce facteur, ce qui majore le risque d'inversion thérapeutique. En effet, le taux d'erreur fluctue énormément selon le tirage au sort des animaux au-dessus de 2000 mUTyr.

4.1.2 Taille d'échantillon idéale et optimale

- **Taille d'échantillon idéale**

La taille d'échantillon idéale qui permettrait un risque d'erreur nul et donc de ne pas se tromper dans la décision thérapeutique correspond au prélèvement de quasiment toutes les génisses du lot. Bien qu'idéal, cela n'est pas réalisable sur le terrain pour des raisons économiques et notamment sur les lots de grande taille.

- **Taille d'échantillon optimale pour un risque d'inversion thérapeutique inférieur à 10%**

Deux études antérieures avaient montré qu'un échantillon de 7 génisses est intéressant : Charlier et al. (2011), Frangeul (2022). C'est le chiffre qui permet, dans le cas des travaux de Charlier et al. (2011), une estimation fiable du niveau de pepsinogène du lot. Par ailleurs, dans l'étude de M. Frangeul (2022), le prélèvement de 7 génisses permet un risque d'inversion thérapeutique moyen (moyenne du taux d'erreur pour un échantillon de 7 génisses sur les 43 lots de l'étude et des seuils de décision thérapeutiques à 1500, 1750 et 2000 mUTyr) inférieur à 10%. Les résultats de notre étude se rapprochent de cela puisque, pour la définition 1 de l'erreur (seuil fixe à 1500mUTyr), identique à celle de M. Frangeul, un **échantillon de 8 animaux est suffisant pour un risque d'inversion thérapeutique moyen inférieur à 10%**. Ce résultat concerne toutes les tailles de lots de 6 à 30 à l'exception des tailles de lot 22 et 27. En effet, pour les lots comprenant 22 et 27 génisses, nous avons mis en évidence que le risque d'erreur thérapeutique < 10% n'est atteint que pour une taille d'échantillon bien plus grande (17 et 21 génisses respectivement pour la définition 1). L'analyse multivariée et l'attribution d'un score de risque à chaque lot a permis d'expliquer en partie ce phénomène. En effet, parmi tous les lots de taille 22, il y a des effectifs plus importants de lots dont le score de risque est haut.

- **Taille d'échantillon optimale pour un risque d'inversion thérapeutique inférieur à 5%**

Si l'on veut être plus exact dans l'interprétation du dosage de pepsinogène et accepter un risque d'inversion thérapeutique plus faible (<5%) alors nous pouvons nous attendre à ce que la taille d'échantillon optimale soit plus élevée et augmente avec la taille du lot. Or ce n'est pas ce que nous avons constaté pour la définition 1 (tableau XV). En effet, aucune tendance ne se dégage, la taille d'échantillon optimale pour un risque d'erreur <5% est très variable selon les tailles de lots.

Les abaques construits pour les définitions 2 et 3 de l'erreur ne paraissent pas utilisables en pratique (tableaux XVII et XVIII). En effet, la définition 2 de l'erreur étant trop sévère, l'abaque

montre que le prélèvement de 5 génisses suffit pour un risque d'erreur moyen <5%, quelle que soit la taille de lot. Pour la définition 3, le risque d'erreur est fortement conditionné par le nombre de génisses >2000 mUTyr tiré au sort. Ainsi, le risque d'erreur est majoré selon ce facteur et les tailles d'échantillon optimales sont fortement dépendantes de cette variable.

4.1.3 Facteurs de variation du risque d'erreur

4.1.3.1 Analyse des lots problématiques

Certaines tailles de lots se sont démarquées des autres en nécessitant une taille d'échantillon très faible pour obtenir un taux d'erreur moyen inférieur à 5% (définition 1 de l'erreur). Cela correspond aux lots de taille 17, 19 et 30 (en rouge dans le tableau XV). A l'inverse, pour d'autres tailles de lots la taille d'échantillon doit être très élevée pour obtenir un taux d'erreur moyen inférieur à 10% ou 5%. Il s'agit des lots de taille 18, 22 et 27 (en orange dans le tableau XV). Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour expliquer cela :

- Biais entre les lots réels et lots reconstruits
- Biais dans la constitution de la population de lots de chaque taille (différences d'effectifs de lots à risque)

- **Différence entre lots réels et reconstruits**

Nous avons supposé qu'il existe une différence entre les effectifs de lots fixes et reconstruits qui expliquerait cette différence dans les tailles d'échantillons optimales, les lots reconstruits par tirage aléatoire pouvant, par exemple, présenter des distributions de niveaux de pepsinogène individuels ne reflétant pas la réalité et la diversité des distributions retrouvées dans les lots réels fixes. Toutefois, le tableau ci-dessous ne permet pas de confirmer cette hypothèse. En effet, la taille de lot 30 est en rouge dans le tableau et la taille 22 en orange, alors qu'elles ont les mêmes effectifs de lots fixes et reconstruits.

Tableau XXV : Effectifs de lots réels et de lots reconstruits en fonction des différentes tailles de lot

Taille du lot	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Nombre de lot fixes	31	17	33	6	9	7	7	5	5	4	4	8	7	1	2	4	2	5	2	0	0	3	0	3	2
Nombre de lot reconstruits	0	0	0	4	1	3	3	5	5	6	6	2	3	9	8	6	8	5	8	10	10	7	10	7	8

- **Différence dans les effectifs de lots à risque parmi les populations de lots constituant chaque taille de lot**

L'analyse statistique a mis en évidence plusieurs facteurs de variation du taux d'erreur dont la valeur de la moyenne de référence du lot et le coefficient de variation intra-lot des niveaux de pepsinogène individuels. L'attribution d'un score de risque à chaque lot basé sur ces facteurs révèle que la taille de lot 30 est caractérisée par une sous-représentation de lots à risque, alors que la taille de lot 22 est caractérisée par une sur-représentation de lots à risque. Ainsi il est possible d'expliquer en partie l'hétérogénéité des résultats de l'abaque. En revanche, aucune explication basée sur ce score de risque n'a permis d'expliquer le taux d'erreur élevé de la taille 27 et du taux d'erreur faible des tailles 17 et 19. Cela suggère que d'autres facteurs peuvent influencer fortement ce taux d'erreur, mais que nous n'avons pas identifié dans ce travail.

4.1.3.2 *Taille d'échantillon optimale en fonction des différentes typologies de lots.*

Cette étude a permis de montrer que les variations du risque d'erreur à l'échelle du lot peuvent s'expliquer par différents facteurs : valeur de la moyenne de référence ou écart entre le seuil de traitement et la moyenne de référence, écart type et coefficient de variation des niveaux de pepsinogène intra-lot. Ces variables « mathématiques » dépendant des valeurs de pepsinogène individuels du lot, ne sont pas disponibles avant le prélèvement, il n'est donc pas possible d'anticiper la taille de l'échantillon à prélever en fonction de ces facteurs. Cependant, ces facteurs peuvent être liés à des facteurs biologiques. Par exemple, l'homogénéité du lot (en âge et en poids) influence probablement la dispersion des valeurs. Effectivement, la thèse de M. Frangeul (2022) a montré que le risque d'inversion thérapeutique diminue lorsque le lot est homogène. De plus, l'âge à la mise à l'herbe et la durée de la saison de pâturage peuvent aussi avoir un impact sur ces variables mathématiques. Il est probable que, plus la durée de pâturage est longue, plus la moyenne du niveau de pepsinogène sera élevée et donc loin du seuil de traitement.

Nous avons donc regardé la taille d'échantillon optimale pour un risque d'erreur moyen inférieur à 10% en fonction de la valeur de la moyenne de référence et de l'écart-type des niveaux de pepsinogène individuels. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous (tableau XXVI). Pour une moyenne inférieure à 1300 mUTyr, le prélèvement de 5 animaux suffit pour avoir un taux d'erreur inférieur à 10%, quelle que soit la taille du lot. De même, pour une moyenne supérieure à 1700 mUTyr, un échantillon de 5 animaux suffit pour obtenir un risque d'erreur inférieur à 10%. En revanche, pour une moyenne comprise entre 1300 et 1700 mUTyr, il faut prélever entre N et N-7 génisses quelle que soit la taille du lot (hors lot taille 30). Ces résultats

sont donc en faveur d'une analyse de risque préalable qui permettrait de se situer entre trois niveaux de risque parasitaire et qui orienterait vers le nombre de génisses à prélever dans le lot pour le dosage de pepsinogène sérique :

- Risque parasitaire faible : taille d'échantillon faible, 5 prélèvements suffisent
- Risque parasitaire élevé : taille d'échantillon faible, 5 prélèvements suffisent
- Pas d'analyse de risque / Risque parasitaire moyen : taille d'échantillon présentée dans le tableau XXVI.

Toutefois, pour que cette stratégie d'échantillonnage soit efficace, il faut que l'analyse de risque préalable soit rigoureuse et fiable, une mauvaise estimation du risque parasitaire pourrait conduire à une taille d'échantillon inadaptée (trop petite) et donc à un risque d'erreur lié à l'échantillonnage élevé. Mais ces résultats indiquent bien que l'usage des examens complémentaires ne peut être entrepris sans connaissance du contexte clinique épidémiologique. De plus, pour un vétérinaire qui a l'habitude d'utiliser le dosage de pepsinogène comme examen complémentaire, il est possible de se reposer sur les résultats des années précédentes pour affiner l'estimation du risque parasitaire.

Tableau XXVI : Taille d'échantillon optimale pour un taux d'erreur inférieur à 10% (définition 1), selon la valeur de la moyenne de référence et l'écart-type des niveaux de pepsinogène intra-lot.

		Taille de lot																												
Moyenne de référence (mUTyr)	VARIABILITÉ	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30							
< 1300	FAIBLE		5	5	5	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5		5							
	MOY	5	5		5	5	6	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5		5								
	FORTE	5	5	5	5		5		5			5										5								
1300 - 1700	FAIBLE		5		12			8							21															
	MOY	8	10	10			13	14		13	17		18	18	22	16	16	24	19	26	11	29	9							
	FORTE	9		8	10	13		15	14		18	14	17		22	24			26	27	22									
> 1700	FAIBLE				5							5																		
	MOY	5	5			5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5							
	FORTE	5		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	7	5	5	5							

		Taille de lot																												
Moyenne de référence (mUTyr)	VARIABILITÉ	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30							
< 1300	FAIBLE	5																												
	MOY	5																												
	FORTE	5																												
1300 - 1700	FAIBLE	5																												
	MOY	9	10	10	12	13	13	15	14	13	18	14	18	18	22	22	24	24	19	26	27	29	9							
	FORTE	5																												
> 1700	FAIBLE	5																												
	MOY	5																												
	FORTE	5																												

4.1.3.3 Taille d'échantillon optimale en fonction des effectifs de lots avec un taux d'erreur moyen supérieur à 10%

Comme nous avons pu le voir précédemment, le taux d'erreur moyen est dépendant de plusieurs facteurs, notamment la valeur de la moyenne de référence et l'écart-type des niveaux de pepsinogène individuels, et dépend donc de la « typologie » des lots constituant la base de

données. Par conséquent, même si nous avons prouvé que le risque d'inversion thérapeutique diminue avec la taille d'échantillon, les abaques construits (tableaux XV à XIX) ne vont pas dans ce sens. Ainsi, nous pourrions raisonner la construction de l'abaque d'une autre manière : en se basant, pour une taille de lot donnée, sur les effectifs de lots au-dessus d'un certain taux d'erreur au lieu de se baser sur la moyenne du taux d'erreur. Par exemple, la taille d'échantillon optimale serait celle autorisant au minimum 80% des lots de cette taille à présenter un risque d'inversion thérapeutique égal à 0. Un nouvel abaque reposant sur cette stratégie est présenté dans le tableau ci-dessous (tableau XXVII). On observe qu'il existe encore des résultats hétérogènes, par exemple pour une taille de lot de 25, un échantillon de 15 suffit ; alors que pour un lot de 20 génisses il en faudrait 17.

Tableau XXVII : Taille d'échantillon optimale autorisant au maximum 20% des lots impactés par une inversion thérapeutique

Taille de Lot	Taille d'échantillon optimale	Effectifs de lot dont le taux d'erreur est compris dans l'intervalle										Nombre de lots impactés par minimum 1 inversion thérapeutique	Nombre total de lots	% de lots concernés par une inversion thérapeutique	
		<5 %	5-10%	10-15%	15-20%	20-25%	25-30%	30-35%	35-40%	40-45%	45-50%				50-55%
6	5				2			1			1		4	31	12,9%
7	6			3									3	17	17,6%
8	5	2	1		1	1							5	33	15,2%
9	7					1				1			2	10	20,0%
10	8			1								1	2	10	20,0%
11	10				1								1	10	10,0%
12	10		1							1			2	10	20,0%
13	7	1									1		2	10	20,0%
14	9	1						1					2	10	20,0%
15	13			1				1					2	10	20,0%
16	11					2							2	10	20,0%
17	6			1			1						2	10	20,0%
18	13								2				2	10	20,0%
19	11	1			1								2	10	20,0%
20	17			1	1								2	10	20,0%
21	12		1					1					2	10	20,0%
22	21		1							1			2	10	20,0%
23	21			1									1	10	10,0%
24	21	1							1				1	10	10,0%
25	15	1								1			2	10	20,0%
26	18		1		1								2	10	20,0%
27	26		1		1								2	10	20,0%
28	19	1								1			2	10	20,0%
29	24	1								1			2	10	20,0%
30	12	2											2	10	20,0%

Un nouvel abaque (tableau XXVIII) est proposé en se basant sur la même stratégie que précédemment pour la définition 1 de l'erreur. Cependant, deux autres conditions sont ajoutées :

- Seul un taux d'erreur >10% est pris en compte dans le pourcentage de lots impactés par une inversion thérapeutique
- Pour une taille de lot donnée, il n'est pas possible d'avoir une taille d'échantillon plus petite que celle des tailles de lots inférieures.

Ce tableau montre la taille d'échantillon optimale autorisant minimum 80% des lots à présenter un risque d'inversion thérapeutique moyen inférieur à 10%. La taille d'échantillon ne peut qu'augmenter avec la taille du lot. Ainsi, dans certains cas, une taille d'échantillon plus petite pourrait être suffisante mais cela n'est pas en adéquation avec les résultats de l'évolution du taux d'erreur avec la taille de lot. Deux tailles de lots (22 et 27) posent problème du fait de leur taux d'erreur élevé. Il a été choisi de construire la taille d'échantillon optimale sans tenir compte de ces deux lots, c'est pourquoi ce sont les deux seuls dont le pourcentage de lots concernés par une inversion thérapeutique est de 30%.

Tableau XXVIII : abaque donnant la taille d'échantillon optimale en fonction de la taille du lot (afin que moins de 20% des lots soient impactés par un risque d'inversion thérapeutique >10%)

Taille de Lot	Taille TAS	Effectifs de lot dont le taux d'erreur est compris dans l'intervalle										nombre de lots impactés par un risque d'inversion thérapeutique >10%	Nombre total de lots	% de lots concernés par inversion thérapeutique >10%	
		<5%	5-10%	10-15%	15-20%	20-25%	25-30%	30-35%	35-40%	40-45%	45-50%				50-55%
6	5				2			1		1			4	31	12,9%
7	6			3									3	17	17,6%
8	7			1									1	33	3,0%
9	7					1				1			2	10	20,0%
10	8			1								1	2	10	20,0%
11	8	2	2	1					1				2	10	20,0%
12	8		1		1						1		2	10	20,0%
13	8	1								1			1	10	10,0%
14	8	2						1					1	10	10,0%
15	8	1	2					1		1			2	10	20,0%
16	8	2					2						2	10	20,0%
17	8		1				1						1	10	10,0%
18	8	3	1							2			2	10	20,0%
19	8	3				1							1	10	10,0%
20	14	1				1	1						2	10	20,0%
21	14	1						1					1	10	10,0%
22	14	1						2			1		3	10	30,0%
23	16		1	1			1						2	10	20,0%
24	16		1	1						1			2	10	20,0%
25	16	1								1			1	10	10,0%
26	16	1		1		1							2	10	20,0%
27	16	3						1	1	1			3	10	30,0%
28	16	2								1			1	10	10,0%
29	16	2				1				1			2	10	20,0%
30	16	1											0	10	0,0%

Bilan :

- Pour un seuil de décision thérapeutique à 1500mUTyr, un échantillon de **8 animaux** est suffisant pour un risque d'inversion thérapeutique moyen inférieur à 10% pour des lots allant de 6 à 30 animaux. Cependant, pour une taille d'échantillon de 8, le pourcentage d'inversion thérapeutique peut atteindre 50% dans certains cas.
- Un échantillon de **5 à 16 génisses** (cf. tableau XXVIII) autorise plus de 80% des lots à présenter un risque d'erreur inférieur à 10%.
- Une analyse de risque préalable permet d'ajuster le nombre d'animaux à prélever. Dans le cas d'un risque parasitaire faible ou fort, 5 animaux peuvent suffire. En l'absence d'analyse de risque ou de risque parasitaire moyen, un échantillon plus important d'animaux sera nécessaire (cf. tableau XXVI).

4.2 Validité des résultats

4.2.1 Base de données

La base de données utilisée pour la construction de l'abaque comprend des lots reconstruits à partir de lots réels. En effet, dans un souci de puissance statistique il a été décidé d'inclure minimum 10 lots dans chaque catégorie de taille de lot. Ainsi, pour atteindre cet effectif, au total 134 lots ont été reconstruits par tirage au sort dans 11 lots de grande taille non utilisés car comprenant plus de 30 génisses et n'étant donc pas représentatifs des tailles de lots classiques en France. On peut donc se poser la question de la diversité des résultats de pepsinogène étant donné le faible nombre de lots à l'origine des lots reconstruits. Cependant, cette importance est à relativiser par le fait qu'il s'agit de lots réels et non simulés informatiquement. De plus, la base de données reste très intéressante car jusqu'à la taille de lot 24 il y a des lots fixes dans toutes les tailles.

4.2.2 Incertitude de mesure

Les études montrent que les incertitudes de mesures prises en compte concernant les dosages de pepsinogène varient de 300 à 600 mUTyr/mL (Gadois, 2020). Les résultats de laboratoire sont peu reproductibles entre eux (Charlier et al., 2011), la variabilité inter-laboratoire

étant plus importante que la variabilité intra-laboratoire. Dans le cas de cette étude tous les dosages n'ont pas été réalisés par le même laboratoire en fonction des thèses correspondantes (deux laboratoires différents parmi toutes les thèses mais la même méthode de dosage a été utilisée). Il aurait donc été intéressant que l'incertitude soit calculée au moment où les analyses ont été effectuées, et ce, dans les différents laboratoires où les dosages ont été faits. Le calcul du taux d'erreur moyen aurait pu prendre en compte l'incertitude de mesure afin d'analyser son impact sur le risque d'erreur. Une meilleure connaissance des incertitudes de mesure permettrait d'affiner les seuils d'interprétation. Par exemple, dans la définition 2 de l'erreur nous avons choisi un écart au seuil autorisé de 200mUTyr, cet écart pourrait être plus précis en fonction de l'incertitude de mesure.

4.2.3 Validité des seuils

Les taux d'erreur ont été calculés en se basant sur 3 définitions différentes de l'erreur. Le seuil fixe à 1500 mUTyr dans le cadre de la définition 1 est discutable. En effet, il s'agit d'un seuil très prudent de décision de traitement. Certains vétérinaires praticiens utilisent plutôt le seuil de 2000 mUTyr. La définition 3 reprend cette idée du seuil de traitement à 2000 mUTyr qui serait peut-être plus juste. Cependant la règle de décision de traitement pour la catégorie [1500-2000] reste discutable. En effet, nous avons vu que le risque d'erreur est très lié au fait de tirer au sort 1 ou 2 génisses supérieures à 2000 mUTyr dans un lot, ce qui ajoute encore plus de variabilité au taux d'erreur.

4.3 Perspectives

4.3.1 Perspectives d'application pratique

4.3.1.1 Proposition d'un abaque à destination des vétérinaires praticiens

Le dosage de pepsinogène est un examen complémentaire qui ne doit pas être réalisé à l'aveugle, c'est-à-dire sans aucune connaissance du contexte clinique et épidémiologique du lot à prélever, ces derniers peuvent jouer sur le niveau moyen de pepsinogène du lot et sur la dispersion des valeurs intra-lot et donc *in fine*, comme le montrent nos résultats, sur le risque d'inversion de la décision thérapeutique lié à l'aléa d'échantillonnage. Ceci plaide pour une estimation préalable du risque parasitaire, par exemple à l'aide d'outils comme Parasit'Sim, afin que la stratégie d'échantillonnage soit raisonnée en fonction de ce risque. En effet, pour un risque parasitaire très faible, il est supposé que la moyenne du niveau de pepsinogène soit basse et 5 génisses peuvent suffire pour confirmer cette hypothèse. De même, un vétérinaire praticien qui estime le risque parasitaire comme élevé, peut prélever 5 génisses afin de confirmer la nécessité

de traitement à la rentrée en stabulation. Cependant, si le risque parasitaire est jugé moyen alors il faudrait augmenter la taille de l'échantillon. Le schéma ci-dessous propose une stratégie d'échantillonnage qui repose sur les typologies de lot à risque (Figure 25). De plus, comme déjà évoqué précédemment, un vétérinaire praticien qui a l'habitude d'utiliser le dosage de pepsinogène comme examen complémentaire peut se baser sur les résultats des années précédentes pour affiner l'évaluation du risque parasitaire.

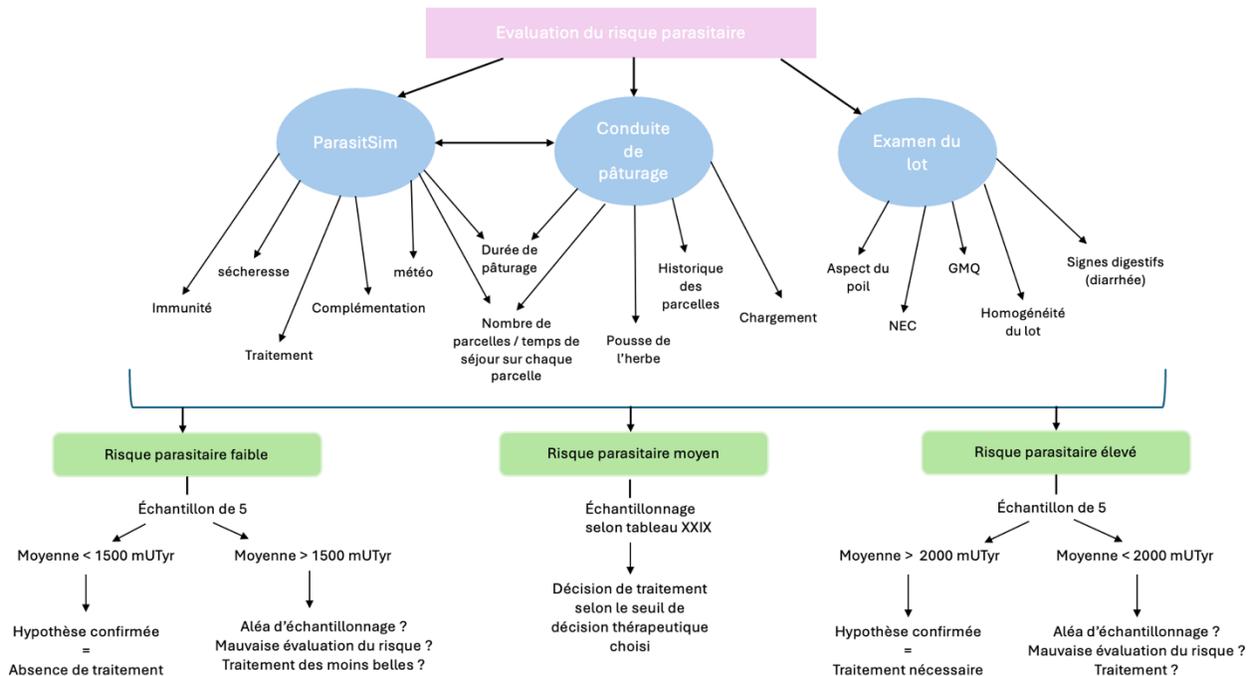


Figure 25 : schéma d'aide au choix de la stratégie d'échantillonnage

Tableau XXIX : règle d'échantillonnage pour une évaluation du risque parasitaire moyenne (tableau simplifié issu du tableau XXVIII)

Taille de lot	6	7	8 à 9	10 à 19	20 à 22	23 à 30
Taille d'échantillon	5	6	7	8	14	16

4.3.1.2 Extrapolation des résultats

La base de données globale est constituée quasi exclusivement de lots de génisses issus de troupeaux laitiers. L'application de la stratégie d'échantillonnage aux troupeaux allaitants est envisageable. En effet, l'interprétation des résultats de pepsinogène reste la même dans les deux systèmes. La stratégie d'échantillonnage basée sur l'estimation préalable du risque parasitaire

serait similaire, mais bien sûr en prenant en compte les particularités propres au système allaitant pour évaluer ce risque (ex : mélange de générations dans les lots de veaux sous la mère, sevrage plus tardif qu'en système laitier et risque parasitaire retardé).

Le dosage de pepsinogène est un examen complémentaire utilisé à la rentrée en stabulation des génisses de première saison de pâturage. Il serait envisageable d'appliquer la stratégie d'échantillonnage proposée aux génisses en fin de deuxième année de saison de pâture. Cependant, il faudrait dans tous les cas prendre quelques précautions : prise en compte des données de première saison de pâture afin d'évaluer l'acquisition de l'immunité (via le TCE par exemple). Dans des lots d'animaux immuns, certains présentent un niveau de pepsinogène élevé sans corrélation avec la charge parasitaire ce qui rend l'interprétation de ce dosage complexe voire impossible.

Les prélèvements sanguins de cette étude ont été effectués à la rentrée en stabulation. Cependant, des prélèvements pendant la période à risque (deuxième moitié de saison de pâture) pourraient être pertinents. En effet, l'étude de Ploeger et al. (1994) montre que de légères augmentations des valeurs moyennes de pepsinogène en juillet-août peuvent indiquer un risque potentiel de baisse de croissance dans la seconde moitié de saison de pâture (Ploeger et al., 1994).

4.3.2 Perspectives de recherche

4.3.2.1 *Affiner le calcul du taux d'erreur*

Nous avons calculé le taux d'erreur en prenant en compte à la fois l'erreur par défaut et par excès. L'erreur par excès signifie que l'on traite alors qu'il n'y a pas besoin. Cela impacte donc la pression de sélection exercée sur les parasites dans un contexte d'augmentation des résistances aux antiparasitaires. L'erreur par défaut veut dire que l'on ne traite pas alors qu'il faudrait traiter. A court terme, du point de vue d'un vétérinaire praticien ou d'un éleveur le risque d'erreur le plus grave constitue l'erreur par défaut pouvant avoir un impact sur la santé des animaux. Ainsi, il pourrait être intéressant de refaire les tirages au sort et le calcul du risque d'inversion thérapeutique en ne prenant en compte que l'erreur par défaut. Cela aurait très certainement un impact sur la taille d'échantillon optimale qui serait probablement abaissée.

De plus, il pourrait également être judicieux de changer l'écart au seuil accepté de la définition 2 de l'erreur. Il faudrait probablement réduire cet intervalle, peut-être en l'abaissant à 100 mUTyr.

4.3.2.2 *Dosage en mélange*

Malgré des tailles d'échantillon optimales assez hétérogènes, les résultats montrent tout de même que, pour des tailles de lot élevées, l'échantillonnage de 5 génisses n'est pas suffisant. Cependant, augmenter le nombre d'animaux prélevés augmente également le coût des analyses. La thèse vétérinaire de T. Gadois (2020) a montré qu'il existe une corrélation entre la moyenne des pepsinogènes individuels et le niveau de pepsinogène du mélange. Ainsi, il serait intéressant d'approfondir ce constat en testant la valeur diagnostique de plusieurs mélanges pour les lots de grande taille (ex : prélever 20 génisses et faire 4 dosages sur des mélanges de 5 sérums).

4.3.2.3 *Évolution du niveau de pepsinogène au cours du temps*

Dans notre étude, la date de dosage de pepsinogène par rapport à la rentrée en bâtiment était variable selon les lots. On peut supposer que le niveau de pepsinogène n'est pas constant au cours du temps et que celui-ci diminue lorsque l'on s'écarte de la date de rentrée en bâtiment (une étude est en cours concernant l'évolution du niveau de pepsinogène à partir de la rentrée en bâtiment). Ainsi, la variabilité du niveau de pepsinogène intra lot pourrait diminuer au fil du temps. Cela impacterait donc le risque d'inversion thérapeutique. En effet, plus la dispersion intra-lot est élevée, plus le risque d'inversion thérapeutique est élevé. La stratégie d'échantillonnage pourrait donc aussi dépendre de la date de prélèvement.

4.3.2.4 *Traitement sélectif des génisses à la rentrée en stabulation*

Le dosage de pepsinogène est un examen complémentaire dont l'interprétation se fait à l'échelle du lot (traitement ciblé). En effet, nous avons vu qu'une valeur individuelle de pepsinogène n'est pas interprétable (Charlier et al., 2011). En cas de niveau de pepsinogène élevé à la rentrée en bâtiment, la recommandation est d'appliquer un traitement antiparasitaire à tout le lot avec action sur les larves enkystées. Cependant, les animaux sont rentrés en bâtiment et aucune population refuge existe si l'ensemble du lot est traité. La question du choix des animaux à traiter à la rentrée en stabulation se pose donc. D'autres examens seront nécessaires dans l'objectif de mettre en place un traitement ciblé-sélectif. La population refuge sera alors constituée par les larves enkystées chez les animaux non traités. Une approche simple serait de conseiller de traiter « les moins belles ». Il s'agit cependant d'un critère très subjectif, il pourrait être objectivé par des critères tels que le GMQ et la note d'état corporel. Le critère du GMQ est prometteur, une étude a déjà montré son intérêt dans le traitement ciblé sélectif en cours de saison de pâturage (Merlin, 2017).

Conclusion

Cette étude met en évidence une diminution de l'erreur thérapeutique lorsque la taille d'échantillon augmente. Le risque d'erreur thérapeutique est donc lié au nombre d'animaux prélevé dans un lot de N animaux mais également à la façon dont nous décidons de traiter. En effet, nous avons quantifié les erreurs selon trois stratégies de décision thérapeutique (définition 1, 2 et 3 de l'erreur) et, nous avons montré que le risque d'erreur variait en fonction de la stratégie choisie. Les définitions 2 et 3 semblent peu pertinentes comme stratégie de décision thérapeutique : le taux d'erreur est toujours très faible pour la définition 2 quelle que soit la taille d'échantillon et la taille de lot ; pour la définition 3 le taux d'erreur est très dépendant du nombre de génisses présentant un niveau de pepsinogène individuel > 2000 mUTyr.

La taille d'échantillon idéale qui permettrait un risque d'erreur nul et donc de ne pas se tromper dans la décision thérapeutique n'est pas envisageable sur le terrain car cela correspond au prélèvement de quasiment toutes les génisses du lot. Pour un seuil de décision thérapeutique à 1500 mUTyr, la taille d'échantillon optimale est de 8 animaux (pour des lots jusqu'à 30 animaux) en acceptant un risque d'inversion thérapeutique moyen inférieur à 10%. Cependant, pour une taille d'échantillon de 8, le pourcentage d'inversion thérapeutique peut atteindre 50% dans certains cas. Ce taux d'erreur maximal qui peut être très élevé, ne concerne très souvent qu'un seul lot et donc ne reflète pas la situation générale de la majorité des lots. Nous avons donc regardé la taille d'échantillon autorisant minimum 80% des lots à présenter un risque d'inversion thérapeutique inférieur à 10%, il faudrait alors prélever entre 5 et 16 animaux pour des lots de 5 à 30 génisses.

Nous avons également étudié la taille d'échantillon optimale pour un risque d'erreur moyen inférieur à 10% en fonction de la valeur de la moyenne de référence et de l'écart-type des niveaux de pepsinogène individuels. La taille d'échantillon optimale varie en fonction de la moyenne de référence. Ces résultats suggèrent qu'une analyse de risque préalable serait intéressante afin de situer entre 3 niveaux de risque et qui orienterait vers le nombre de génisses à prélever dans le lot pour le dosage de pepsinogène sérique. Toutefois, pour que cette stratégie d'échantillonnage soit efficace, il faut que l'analyse de risque préalable soit rigoureuse et fiable afin de ne pas conduire à une taille d'échantillon inadaptée (trop petite) et donc à un risque d'erreur lié à l'échantillonnage élevé. Ces résultats indiquent bien que l'usage des examens complémentaires ne peut être déconnecté du contexte clinique épidémiologique. A partir de l'ensemble de ces résultats nous avons donc proposé un abaque (Figure 25), celui-ci serait à approfondir pour aider les vétérinaires praticiens à situer le niveau de risque parasitaire.

Bibliographie

- AL-JANABI, J., HARTSUCK, J. A., & TANG, J. (1972). Kinetics and Mechanism of Pepsinogen Activation. *Journal of Biological Chemistry*, 247(14), 4628-4632. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)45033-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)45033-3)
- ANDERSON, N. (1988). Aspects of the biology of *Ostertagia ostertagi* in relation to the genesis of ostertagiasis. *Veterinary Parasitology*, 27(1-2), 13-21. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(88\)90057-X](https://doi.org/10.1016/0304-4017(88)90057-X)
- ANDERSON, N., & ARMOUR, J. (1965). A field study of parasitic gastritis in cattle. *The Veterinary Record*, 77(41), 1196-1202.
- BAIRDEN, K., ARMOUR, J., & DUNCAN, J. L. (1995). A 4-year study on the effectiveness of alternate grazing of cattle and sheep in the control of bovine parasitic gastro-enteritis. *Veterinary Parasitology*.
- BALLWEBER, L. R., SMITH, L. L., STUEDEMANN, J. A., YAZWINSKI, T. A., & SKOGERBOE, T. L. (1997). The effectiveness of a single treatment with doramectin or ivermectin in the control of gastrointestinal nematodes in grazing yearling stocker cattle. *Veterinary Parasitology*, 72(1), 53-68. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00078-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00078-2)
- BERGHEN, P., HILDERSON, H., VERCRUYSE, J., & DORNY, P. (1993). Evaluation of pepsinogen, gastrin and antibody response in diagnosing ostertagiasis. *Veterinary Parasitology*, 46(1-4), 175-195. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(93\)90057-T](https://doi.org/10.1016/0304-4017(93)90057-T)
- BERK, Z., LAURENSEN, Y. C. S. M., FORBES, A. B., & KYRIAZAKIS, I. (2016). Modelling the consequences of targeted selective treatment strategies on performance and emergence of anthelmintic resistance amongst grazing calves. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 6(3), 258-271. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2016.11.002>
- BOUCHER, C. (2013). L'excrétion coproscopiques d'œufs de strongles digestifs chez les bovins laitiers adultes : Évaluation de trois techniques coproscopiques et facteurs de variation de l'excrétion au niveau individuel et troupeau. [Thèse pour le diplôme de docteur vétérinaire]. *Oniris : École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique*.
- CHARLIER, J., DORNY, P., LEVECKE, B., DEMELER, J., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., HÖGLUND, J., & VERCRUYSE, J. (2011). Serum pepsinogen levels to monitor gastrointestinal nematode infections in cattle revisited. *Research in Veterinary Science*, 90(3), 451-456. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.06.029>
- CHARLIER, J., HÖGLUND, J., MORGAN, E. R., GELDHOF, P., VERCRUYSE, J., & CLAEREBOUT, E. (2020). Biology and Epidemiology of Gastrointestinal Nematodes in Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36(1), 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.11.001>
- CHARLIER, J., HÖGLUND, J., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., DORNY, P., & VERCRUYSE, J. (2009). Gastrointestinal nematode infections in adult dairy cattle : Impact on production, diagnosis and control. *Veterinary Parasitology*, 164(1), 70-79. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.04.012>

CHARLIER, J., MORGAN, E. R., RINALDI, L., VAN DIJK, J., DEMELER, J., HÖGLUND, J., HERTZBERG, H., RANST, B. V., HENDRICKX, G., VERCRUYSSSE, J., & KENYON, F. (2014). Practices to optimise gastrointestinal nematode control on sheep, goat and cattle farms in Europe using targeted (selective) treatments. *Veterinary Record*, 175(10), 250-255. <https://doi.org/10.1136/vr.102512>

CHARTIER, C., CHAUVIN, A., & RAVINET, N. (2015). La résistance des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques chez les bovins, vers un nécessaire changement de paradigme. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire, élevage et santé*, 8(30), 23-31.

DE LA CHEVROTIÈRE, C., MORENO, C., JAQUIET, P., & MANDONNET, N. (2011). La sélection génétique pour la maîtrise des strongyloses gastro-intestinales des petits ruminants. *INRAE Productions Animales*, 24(3), 221-234.

<https://doi.org/10.20870/productions-animales.2011.24.3.3257>

FLOATE, K. D. (2006). Endectocide use in cattle and fecal residues : Environmental effects in Canada.

FOX, M. T. (1997). Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants : Recent developments. *Veterinary Parasitology*, 72(3-4), 285-308. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00102-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00102-7)

FRANGEUL ET AL. (2022). *Diagnostic de l'ostertagiose chez les génisses laitières en fin de première saison de pâturage via la mesure du niveau de pepsinogène sérique : Révision de la stratégie d'échantillonnage et intérêt du dosage en mélange*. [Thèse pour le diplôme de docteur vétérinaire]. Oniris : École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantiques.

GADOIS, T. (2020). *Diagnostic de l'ostertagiose chez les génisses en fin de première saison de pâturage : évaluation de l'intérêt du pepsinogène de mélange et du niveau d'anticorps anti-ostertagia ostertagi*. [Thèse pour le diplôme de docteur vétérinaire]. Oniris : École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantiques.

GAYRARD, V., ALVINERIE, M., & TOUTAIN, P. L. (1999). Comparison of pharmacokinetic profiles of doramectin and ivermectin pour-on formulations in cattle. *Veterinary Parasitology*, 81(1), 47-55. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(98\)00236-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00236-2)

GREER, A. W., VAN WYK, J. A., HAMIE, J. C., BYARUHANGA, C., & KENYON, F. (2020). Refugia-Based Strategies for Parasite Control in Livestock. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36(1), 31-43. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.11.003>

HAJIMOHAMMADI, A., TABANDEH, M. R., NAZIFI, S., & KHOSRAVANI, M. (2016). The Serum Pepsinogen Level of Dairy Cows with Gastrointestinal Disorders. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 43(23931), 0-0. <https://doi.org/10.16988/iuvfd.265490>

HÖGBERG, N., HESSLE, A., LIDFORS, L., BALTRUŠIS, P., CLAEREBOU, E., & HÖGLUND, J. (2021). Subclinical nematode parasitism affects activity and rumination patterns in first-season grazing cattle. *Animal*, 15(6), 100237. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100237>

HÖGLUND, J., MORRISON, D. A., CHARLIER, J., DIMANDER, S.-O., & LARSSON, A. (2009). Assessing the feasibility of targeted selective treatments for gastrointestinal nematodes in first-season grazing cattle based on mid-season daily weight gains. *Veterinary Parasitology*, 164(1), 80-88. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.04.016>

HOSTE, H., RAVINET, N., CHARTIER, C., MARIE-MAGDELEINE, C., BAMBOU, J.-C., BONNEAU, M., MANDONNET, N., JACQUIET, P., & DESQUESNES, M. (2023). Réduction d'usage et alternatives aux antiparasitaires en élevage des ruminants. *INRAE Productions Animales*, 327-344. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2022.35.4.7333>

HOSTE, H., SOTIRAKI, S., LANDAU, S. Y., JACKSON, F., & BEVERIDGE, I. (2010). Goat–Nematode interactions : Think differently. *Trends in Parasitology*, 26(8), 376-381. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.04.007>

KAPLAN, R. M., DENWOOD, M. J., NIELSEN, M. K., THAMSBORG, S. M., TORGERSON, P. R., GILLEARD, J. S., DOBSON, R. J., VERCRUYSSSE, J., & LEVECKE, B. (2023). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guideline for diagnosing anthelmintic resistance using the faecal egg count reduction test in ruminants, horses and swine. *Veterinary Parasitology*, 318, 109936. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2023.109936>

KERBCEUF, D., GARFF, G. L., & MAGE, C. (1981). Forecasting of bovine abomasal worm burden by means of serum pepsinogen measurement study on suckling calves and heifers in first and second grazing season. *Annales de Recherche Veterinaires*, 1981, 12 (2), pp.201-213.

Kerboeuf, D., & Koch, C. (2002). Méthode simplifiée de mesure de la concentration en pepsinogène dans le sérum. *Revue Méd Vét.* 2002, 153, 11, 707-712.

LARSSON, A., DIMANDER, S.-O., RYDZIK, A., UGGLA, A., WALLER, P. J., & HÖGLUND, J. (2006). A 3-year field evaluation of pasture rotation and supplementary feeding to control parasite infection in first-season grazing cattle—Effects on animal performance. *Veterinary Parasitology*, 142(3-4), 197-206. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.07.017>

LEATHWICK, D. M., & BESIÉ, R. B. (2014). The management of anthelmintic resistance in grazing ruminants in Australasia—Strategies and experiences. *Veterinary Parasitology*, 204(1-2), 44-54. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.12.022>

LEQUEUX, G., & CHAUVIN, A. (2018). Gestion des parasitoses chez les bovins : Intérêts et limites du diagnostic de laboratoire. *Bulletin des GTV, Numéro spéciale*, 115-122.

LUMARET, J.-P., ERROUSSI, F., FLOATE, K., ROMBKE, J., & WARDHAUGH, K. (2012). A Review on the Toxicity and Non-Target Effects of Macrocyclic Lactones in Terrestrial and Aquatic Environments. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(6), 1004-1060. <https://doi.org/10.2174/138920112800399257>

LUMARET, J.-P., & KADIRI, N. (2018). Les médicaments vétérinaires et leurs résidus : Quels risques pour les organismes non cibles et le fonctionnement des écosystèmes ? *Bulletin des GTV, numéro spécial*, 93-100.

MERLIN, A. (2017). *Optimisation de l'usage des antiparasitaires chez la génisse laitière en vue de prévenir le risque d'émergence de populations de strongles digestifs résistants : Développement d'une stratégie de traitement sélectif*. [Thèse de doctorat]. Oniris : École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantiques.

MOLENTO, M. B., BUZATTI, A., & SPRENGER, L. K. (2016). Pasture larval count as a supporting method for parasite epidemiology, population dynamic and control in ruminants. *Livestock Science*, 192, 48-54. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.08.013>

MORENO-ROMIEUX, C., SALLE, G., JACQUIET, P., BLANCHARD, A., CHYLINSKI, C., CABARET, J., FRANCOIS, D., SACCAREAU, M., ASTRUC, J. M., BAMBOU, J. C., & MANDONNET, N. (2018). La résistance génétique aux infections par les nématodes gastro-intestinaux chez les petits ruminants : Un enjeu de durabilité pour les productions à l'herbe. *INRA Productions Animales*, 30(1), 47-56. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2017.30.1.2231>

PLOEGER, H. W., KLOOSTERMAN, A., RIETVELD, F. W., BERGHEN, P., HILDERSON, H., & HOLLANDERS, W. (1994). Quantitative estimation of the level of exposure to gastrointestinal nematode infection in first-year calves. *Veterinary Parasitology*, 55(4), 287-315. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(94\)90071-X](https://doi.org/10.1016/0304-4017(94)90071-X)

RAVINET, N., CHARTIER, C., MERLIN, A., & CHAUVIN, A. (2019). *Influence de la conduite du pâturage sur le risque parasitaire lié aux strongles digestifs*. In : Journées AFPP - Élevage à l'herbe : quels bénéfices complémentaires ? 12 mars 2019. pp. 47-57.

RAVINET, N., CHAUVIN, A., & CHARTIER, C. (2015). *Guide d'intervention pour la maîtrise du risque parasitaire lié aux strongles digestifs en troupeaux bovins laitiers*. UMT Maîtrise de la Santé des troupeaux bovin.

RAVINET, N., LE DREAN, E., & CHAUVIN, A. (2013). Les interprétations du dosage de pepsinogène sérique. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire, élevage et santé*, 6(25), 52-60.

ROSE VINEER, H., MORGAN, E. R., HERTZBERG, H., BARTLEY, D. J., BOSCO, A., CHARLIER, J., CHARTIER, C., CLAEREBOUT, E., DE WAAL, T., HENDRICKX, G., HINNEY, B., HÖGLUND, J., JEZEK, J., KASNÝ, M., KEANE, O. M., MARTINEZ-VALLADARES, M., MATEUS, T. L., MCINTYRE, J., MICKIEWICZ, M., ... RINALDI, L. (2020). Increasing importance of anthelmintic resistance in European livestock : Creation and meta-analysis of an open database. *Parasite*, 27, 69. <https://doi.org/10.1051/parasite/2020062>

SALLOVITZ, J. M., LIFSCHITZ, A., IMPERIALE, F., VIRKEL, G., LARGHI, J., & LANUSSE, C. (2005). Doramectin concentration profiles in the gastrointestinal tract of topically-treated calves : Influence of animal licking restriction. *Veterinary Parasitology*, 133(1), 61-70. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.05.049>

SANCHEZ, J., DOHOO, I., CARRIER, J., & DESCÔTEAUX, L. (2004). A meta-analysis of the milk-production response after anthelmintic treatment in naturally infected adult dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 63(3-4), 237-256. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.01.006>

SIDIKOU ET AL. (2005). *Le pepsinogène et la prochymosine des bovins : Connaissances actuelles, applications et perspectives dans la stratégie de lutte contre les verminoses gastrointestinales.*

Stromberg, B. E. (1997). Environmental factors influencing transmission. *Veterinary Parasitology*, 72(3-4), 247-264. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00100-3](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00100-3)

SUTHERLAND, I. A., & LEATHWICK, D. M. (2011). Anthelmintic resistance in nematode parasites of cattle : A global issue? *Trends in Parasitology*, 27(4), 176-181. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.11.008>

TAYLOR, M., COOP, R., & WALL, R. (2007). Parasite Taxonomy and morphology. In *Veterinary Parasitology* (third edition).

VERCRUYSSSE, J., & CLAEREBOU, E. (1997). Immunity development against *Ostertagia ostertagi* and other gastrointestinal nematodes in cattle. *Veterinary Parasitology*, 72(3-4), 309-326. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00103-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00103-9)

Annexes

Annexe 1 : méthode de dosage du pepsinogène sérique

 Unité BioEpAR	Mode Opérateur	Réf : IHPM-MO-05
	Dosage du pepsinogène sérique	Version : 1.3 Date : 14/01/2013 Page : 1 / 6

Mis à disposition :

- copie classeur armoire qualité laboratoire immuno
- serveur Sambazoot/ Qualité/ Doc qualité BioEpAR/ Biochimie
- Classeur animateur qualité EPID

OBJECTIF :

Le pepsinogène sérique permet de mettre en évidence indirectement la présence de strongles (*Ostertagia ostertagi*) dans la caillette, d'évaluer l'intensité des lésions, de connaître les vagues d'infestations au cours d'une saison d'herbe, de mesurer l'efficacité d'un traitement.

PLAN :

I PRINCIPE

II REACTIFS

III PETIT MATERIEL

IV APPAREILS

V MODE OPERATOIRE

VI RECOMMANDATIONS

I / PRINCIPE :

Le pepsinogène est transformé en pepsine en milieu acide à 37-38°C.

La pepsine libérée agit en milieu acide sur un substrat protéique, en libérant des radicaux aromatiques qui seront dosés.

Service responsable	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
EPID	Nom : M-A Malard Fonction :AI Visa :	Nom : A. Bouju A.Chauvin Fonction :TFR PR Visa :	Nom N.Brisseau Fonction :AI Visa :

  Unité BioEpAR	Mode Opérateur	Réf : IHPM-MO-05
	Dosage du pepsinogène sérique	Version : 1.3 Date : 14/01/2013 Page : 2 / 6

II / REACTIFS

Chlorure de Sodium (NaCl)

Hydroxyde de Sodium (NaOH) :

- *Solution à 0,5M : 10,3 g pastilles qsp 500 ml d'eau déminéralisée
(Recommandation : refaire la solution régulièrement (< 6 mois) car impact sur la coloration donc sur le résultat)
- *Solution à 0,6M : 12,36 g pastilles qsp 500 ml d'eau déminéralisée

Acide Chlorhydrique (HCl) :

- *Solution à 1M : 43,78 ml HCl pur, qsp 500 ml d'eau déminéralisée
- *Solution à 6M : 26,26 ml HCl concentré + 23,74 ml d'eau déminéralisée

Tampon Sorensen :

Solution A (conserver à +4°C) :

Glycine (Eurobio réf.GEPGLY00-65)	18,77	g
NaCl	14,62	g
Eau déminéralisée	qsp 250,00	ml

Tampon Sorensen (conserver à +4°C) :

Solution A	19,10	ml
HCl (1M)	30,90	ml
Eau déminéralisée	qsp 500	ml

Hémoglobine bovine dénaturée (Hgb)

Hgb a : 50 mg/ml (conservé à +4°C), à conserver 15 jours au frigo

Hgb (Sigma H2625 – stockée à +4°C)	2,00	g
Eau déminéralisée	40,00	ml

Agiter pendant une heure pour réhydrater la solution

Hgb fille : au 1/5 extemporanée, pour une plaque

Hgb a (après agitation pendant une heure)	4,5	ml
Tampon Sorensen	18,00	ml
HCl (6M)	ajuster à pH 1,9	

Acide trichloracétique (TCA) 10 % (conserver à +4°C) :

TCA (Sigma T4885 – stocké à +4°C)	100	g
Eau déminéralisée	qsp 1000	ml

Service responsable	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
EPID	Nom : M-A Malard Fonction : AI Visa :	Nom : A. Bouju A. Chauvin Fonction : TFR PR Visa :	Nom N. Brisseau Fonction : AI Visa :

L-Tyrosine 0,1mg/ml (conservée en aliquots de 2000 μ l à -20°C) :

L-Tyrosine (Sigma, réf : 93830 ou T8566-25G)	0,01 g
TCA 10 % (Sigma, réf : T 4885)	100 ml

Réactif de FOLIN au 1/3 (conserver à $+4^{\circ}\text{C}$ à l'abri de la lumière) : pour une plaque

Réactif de FOLIN (Sigma F9252)	3,40 ml
Eau déminéralisée	6,80 ml

III / PETIT MATERIEL ET CONSOMMABLES

Tubes à hémolyse non stériles en plastique
 Ritips de 50 ml, 5 ml et 2,5 ml
 Pointes 200 μ l et 1000 μ l
 Pipette multi distributrice électronique ou mécanique
 Pipettes 200 μ l et 1000 μ l
 Microplaques 96 puits à fond plat standards NUNC

IV APPAREIL

Etuve à 37°C
 Vortex
 Centrifugeuse (Eppendorf 5810 R)
 pH mètre
 Lecteur de microplaque-filtre 750 nm

V MODE OPERATOIRE

➤ Production de pepsine et attaque de l'hémoglobine

Préparer 3 tubes pour chaque échantillon, et **un témoin +** par plaque :

	Tube A	Tube B	Tube C
Sérum	100 μ l		100 μ l
Hgb	500 μ l	500 μ l	
TCA			1000 μ l

Service responsable	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
EPID	Nom : M-A Malard Fonction :AI Visa :	Nom : A. Bouju A.Chauvin Fonction :TFR PR Visa :	Nom N.Brisseau Fonction :AI Visa :

  Unité BioEpAR	Mode Opérateur	Réf : IHPM-MO-05
	Dosage du pepsinogène sérique	Version : 1.3 Date : 14/01/2013 Page : 4 / 6

Agiter au vortex puis recouvrir le portoir d'une feuille d'aluminium.
Incuber 22h dans l'étuve à 37°C.

➤ Arrêt de la réaction

Agiter le tube C au vortex puis le transférer dans le tube B.
Ajouter 1000 μ l de TCA 10% dans le tube A pour arrêter la réaction, à l'aide d'un ritip de 50 ml.
Vortexer les tubes A et B.
Centrifuger les tubes A et B pendant 5 minutes à 2200 tours/minute (programme 2 - centrifugeuse Eppendorf 5810R située dans le laboratoire de diagnostic).

➤ Préparation de la gamme étalon de tyrosine

Concentration de tyrosine en μ g/ml	Quantité de solution de tyrosine à 0,1 mg/ml en μ l	Quantité de TCA 10% en μ l	NaOH 0,6 M en μ l
0	0	1000	2000
2,5	25	975	2000
5	50	950	2000
10	100	900	2000
20	200	800	2000
30	300	700	2000
40	400	600	2000
50	500	500	2000

➤ Coloration

Sérum :

Dans un tube à hémolyse de 5 ml, prélever 250 μ l de surnageant du tube A.
Ajouter 500 μ l de NaOH 0,5M à l'aide d'un ritip de 5 ml.
Ajouter 150 μ l de réactif de FOLIN dilué au 1/3 à l'aide d'un ritip de 2,5 ml.
Agiter au vortex.
Procéder de la même manière avec le tube B.

Gamme tyrosine :

Ajouter 300 μ l de réactif de FOLIN dilué au 1/3 à l'aide d'un ritip de 2,5 ml, en même temps que pour les échantillons.

Service responsable	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
EPID	Nom : M-A Malard Fonction : AI Visa :	Nom : A. Bouju A. Chauvin Fonction : TFR PR Visa :	Nom N. Brisseau Fonction : AI Visa :

  Unité BioEpAR	Mode Opérateur	Réf : IHPM-MO-05 Version : 1.3 Date : 14/01/2013 Page : 5 / 6
	Dosage du pepsinogène sérique	

Laisser les tubes à température ambiante au moins 15 minutes avant le dépôt en plaques.

Recommandation : éviter une incubation > 30 minutes

➤ Lecture

Dans une microplaque, déposer en double selon le modèle ci-dessous :

- dans les colonnes 1 et 2 : 200 µl de chaque dilution de la gamme étalon de tyrosine
- dans les colonnes impaires de 3 à 11 en duplicate : 200 µl du tube A (échantillon)
- dans les colonnes paires de 3 à 11 en duplicate : 200 µl du tube B (blanc du sérum)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Ty0	Ty 0	Témoïn Tube A 200 µl	Témoïn Tube B 200 µl	Sérum 4 Tube A	Sérum 4 Tube B	Sérum 8 Tube A	Sérum 8 Tube B	Sérum 12 Tube A	Sérum 12 Tube B	Sérum 16 Tube A	Sérum 16 Tube B
B	Ty 2,5	Ty 2,5	Témoïn Tube A 200 µl	Témoïn Tube B 200 µl	Sérum 4 Tube A	Sérum 4 Tube B	Sérum 8 Tube A	Sérum 8 Tube B	Sérum 12 Tube A	Sérum 12 Tube B	Sérum 16 Tube A	Sérum 16 Tube B
C	Ty 5	Ty 5	Sérum 1 Tube A	Sérum 1 Tube B	Sérum 5 Tube A	Sérum 5 Tube B	Sérum 9 Tube A	Sérum 9 Tube B	Sérum 13 Tube A	Sérum 13 Tube B	Sérum 17 Tube A	Sérum 17 Tube B
D	Ty10	Ty 10	Sérum 1 Tube A	Sérum 1 Tube B	Sérum 5 Tube A	Sérum 5 Tube B	Sérum 9 Tube A	Sérum 9 Tube B	Sérum 13 Tube A	Sérum 13 Tube B	Sérum 17 Tube A	Sérum 17 Tube B
E	Ty 20	Ty 20	Sérum 2 Tube A	Sérum 2 Tube B	Sérum 6 Tube A	Sérum 6 Tube B	Sérum 10 Tube A	Sérum 10 Tube B	Sérum 14 Tube A	Sérum 14 Tube B	Sérum 18 Tube A	Sérum 18 Tube B
F	Ty 30	Ty 30	Sérum 2 Tube A	Sérum 2 Tube B	Sérum 6 Tube A	Sérum 6 Tube B	Sérum 10 Tube A	Sérum 10 Tube B	Sérum 14 Tube A	Sérum 14 Tube B	Sérum 18 Tube A	Sérum 18 Tube B
G	Ty 40	Ty 40	Sérum 3 Tube A	Sérum 3 Tube B	Sérum 7 Tube A	Sérum 7 Tube B	Sérum 11 Tube A	Sérum 11 Tube B	Sérum 15 Tube A	Sérum 15 Tube B	Sérum 19 Tube A	Sérum 19 Tube B
H	Ty 50	Ty 50	Sérum 3 Tube A	Sérum 3 Tube B	Sérum 7 Tube A	Sérum 7 Tube B	Sérum 11 Tube A	Sérum 11 Tube B	Sérum 15 Tube A	Sérum 15 Tube B	Sérum 19 Tube A	Sérum 19 Tube B

La mesure de la densité optique (DO) s'effectue à 750 nm au lecteur de microplaque.

➤ Résultat

$$\text{Sérum}_{(mU \text{ tyrosine})} = \frac{(\text{DO moyenne A} - \text{DO moyenne B})}{a} \times 66,97$$

Do = Densité Optique

a = coefficient directeur de la droite de régression linéaire de la gamme étalon

Enregistrer le fichier sous la forme : « peps_ _ _ aammjjPx »

avec _ : espace ; aa : année ; mm : mois ; jj : jour ; x : numéro de la plaque

Service responsable	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
EPID	Nom : M-A Malard Fonction : AI Visa :	Nom : A. Bouju A. Chauvin Fonction : TFR PR Visa :	Nom N. Brisseau Fonction : AI Visa :

  Unité BioEpAR	Mode Opérateur	Réf : IHPM-MO-05
	Dosage du pepsinogène sérique	Version : 1.3 Date : 14/01/2013 Page : 6 / 6

Utiliser la procédure décrite dans le porte-vues rose (dans la chemise en carton « Pepsinogène ») pour effectuer les calculs en mU tyrosine sous excel.

VI RECOMMANDATIONS

- Imprimer et conserver les résultats dans la chemise cartonnée.
- Inscire la valeur du T+ sur la fiche « Surveillance » scotchée à l'intérieur de la chemise.
- A chaque changement de T+ il est important de noter ces informations dans le cahier « suivi des mises au point technique du pepsinogène ».
- Chaque problème rencontré sera également mentionné dans ce cahier ainsi que la solution apportée.

Service responsable	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
EPID	Nom : M-A Malard Fonction :AI Visa :	Nom : A. Bouju A.Chauvin Fonction :TFR PR Visa :	Nom N.Brisseau Fonction :AI Visa :

OPTIMISATION DE LA STRATÉGIE D'ÉCHANTILLONNAGE INTRA-LOT POUR LE DOSAGE DE PEPSINOGENÈ SÉRIQUE CHES LES GÉNISSES DE PREMIÈRE SAISON DE PATURAGE

OPTIMIZATION OF INTRA-BATCH SAMPLING STRATEGY FOR SERUM PEPSINOGEN LEVEL IN FIRST SEASON GRAZING HEIFERS

Thèse d'État de Doctorat Vétérinaire : Nantes, le 22/10/2023

RÉSUMÉ

Le dosage de pepsinogène sérique à la rentrée en bâtiment est l'examen complémentaire de choix dans l'aide à la décision de traitement. Il est habituellement conseillé de prélever 5 à 10 génisses dans un lot et d'interpréter la moyenne du niveau de pepsinogène de l'échantillon prélevé. Peu d'études se sont intéressées au dosage de pepsinogène et notamment à l'erreur liée à l'aléa d'échantillonnage. Cette étude visait à :

- Évaluer le risque d'erreur thérapeutique en fonction de la taille d'échantillon et de la taille de lot
- Évaluer la taille d'échantillon idéale et optimale en fonction du taux d'erreur accepté
- Étudier des facteurs de variation du taux d'erreur

Les niveaux de pepsinogènes ont été déterminés sur 301 lots de génisses (167 fixes et 134 reconstruits à partir de lots réels) allant de 6 à 30 animaux. Le risque d'erreur a été calculé pour chaque lot et chaque taille d'échantillon allant de 5 à N-1 (N étant la taille du lot). Pour une taille de lot donnée, le risque d'erreur diminue avec l'augmentation de la taille d'échantillon. La taille d'échantillon optimale, pour un risque d'erreur accepté inférieur à 10%, dépend du risque parasitaire. Pour un risque parasitaire jugé comme faible ou élevé, un échantillon de 5 animaux est suffisant pour confirmer l'analyse de risque et la nécessité, ou pas, de traitement des génisses. Pour un risque parasitaire jugé comme moyen, davantage de génisses doivent être prélevées : entre 5 et 16 pour des lots de 5 à 30 animaux.

MOTS CLÉS :

- Génisse
- Ostertagiose
- Pâturage
- Échantillonnage
- Pepsinogène
- Protéine sérique
- Dosage

DATE DE SOUTENANCE : 22/10/2024