

Apport des tests de laboratoire dans le diagnostic des strongyloses gastro-intestinales des ruminants et le choix des traitements

Contribution of laboratory tests in the diagnosis of gastrointestinal strongylosis in ruminants and choice of treatments

Par Dominique KERBOEUF⁽¹⁾
(communication présentée le 17 juin 2004)

RÉSUMÉ

Le diagnostic clinique des strongyloses gastro-intestinales des ruminants est difficile dans un grand nombre de cas en raison du manque de symptomatologie très spécifique. De plus, la tendance de plus en plus grande à traiter les animaux préventivement et non plus curativement implique de disposer de moyens de diagnostic quantitatifs sensibles. Le développement progressif de phénomènes de résistance aux anthelminthiques impose des contraintes supplémentaires quant au choix et à l'utilisation des molécules. Les tests de diagnostic de laboratoire sont utiles et même souvent indispensables, dans ces démarches. Trois grandes catégories de tests sont disponibles : les tests parasitologiques classiques, les dosages sériques en relation avec les lésions occasionnées par les parasites, les tests de détection des résistances. Les principes, les conditions d'utilisation et les limites d'interprétation sont décrits dans cette courte synthèse.

Mots-clés : diagnostic, strongyloses gastro-intestinales, ruminants, pepsinogène, résistance aux anthelminthiques.

(1) INRA, BASE, équipe « MutliRésistances et Antiparasitaires », 37380 Nouzilly
Tél 02 47 42 77 53
Fax 02 47 42 77 74
e-mail kerboeuf@tours.inra.fr

SUMMARY

The clinical diagnosis of gastrointestinal strongylosis in ruminants is often difficult because of its relatively unspecific symptomatology. Moreover, as the use of prophylactic treatments is increasingly preferred over curative treatments, quantitative and accurate tests for diagnosis are required. As the gradual development of anthelmintic resistance restricts further the choice and use of molecules, laboratory diagnostic tests become useful and even often essential. Three main categories of tests are available: traditional parasitological techniques, serological assays linked to the lesions caused by the parasites, and tests for the detection of anthelmintic resistance. The principles, conditions of use and limits of interpretation of these tests are described in this brief synthesis.

Key words: *diagnosis, gastrointestinal strongylosis, ruminants, pepsinogen, anthelmintic resistance.*

• INTRODUCTION

Les ruminants élevés au pâturage sont tous infestés par des strongles gastro-intestinaux. Cependant, les variations de la charge parasitaire sont extrêmement importantes aussi bien du point de vue du nombre de parasites hébergés par l'animal que de celui de la nature de ces parasites (espèces présentes, stades parasitaires, état d'inhibition du développement, pouvoir pathogène spécifique, chimiorésistance...). Ces variations sont d'une part d'origine naturelle, en grande partie en relation avec la climatologie et d'autre part, liées aux interventions prophylactiques, qu'elles soient thérapeutiques ou non.

Toutes ces variations font que la seule démonstration de la présence de ces nématodes est notoirement insuffisante pour estimer le risque encouru par les animaux, pour juger de l'opportunité d'effectuer ou non des traitements anthelminthiques et pour choisir la thérapeutique la plus appropriée. Le recours au seul diagnostic clinique ne fournit que des présomptions qu'il est indispensable de compléter par des informations plus précises. Ceci tient au fait que la symptomatologie des strongyloses gastro-intestinales est souvent équivoque et renseigne rarement sur la nature du parasite et ses caractéristiques biologiques (inhibition, chimiorésistance...). Cette situation est renforcée actuellement par la quasi-disparition des grandes pathologies vermineuses grâce à la mise sur le marché de médicaments efficaces. Cependant, ces helminthoses restent des handicaps sérieux pour une production d'animaux d'élevage rentable et de qualité. Leur développement à bas bruit les rend encore plus insidieuses et la justification des traitements doit être encore plus réfléchie que par le passé, d'autant plus qu'ils sont souvent plus coûteux et, dans certains cas, plus nocifs pour l'environnement et les produits animaux. De plus, ils génèrent de façon croissante des phénomènes de chimiorésistance.

Devant une telle situation, la nécessité de développer des outils de diagnostic performants est renforcée. Leur mise au point est néanmoins difficile au regard des exigences de l'information attendue. Un des points les plus délicats à résoudre est certainement l'obtention de données quantitatives qui sont dans le cas de ces maladies parasitaires particulièrement essentielles. De ce fait, un certain

nombre de méthodologies applicables au diagnostic d'autres maladies sont difficilement transposables.

Les tests disponibles pour le diagnostic des strongyloses peuvent être classés en trois catégories : les techniques helminthologiques « classiques », les dosages sériques, les tests pour la détection des résistances aux anthelminthiques.

• TECHNIQUES HELMINTHOLOGIQUES

Elles ne seront pas détaillées dans ce document. Différents ouvrages français ou étrangers fournissent à la fois les modalités d'obtention des parasites, la manière de les dénombrer et les clés d'identification. Ceux d'EUZEBY (1982) et de LEVINE (1968) fournissent des données très complètes sur ces points.

Selon les objectifs du diagnostic et les possibilités de réalisation, les prélèvements proviennent :

- soit d'animaux vivants (par exemple, recherche d'œufs ou de larves de parasites par coproscopies, coprocultures),
- soit d'animaux morts (par exemple, autopsies helminthologiques),
- soit de l'environnement extérieur (par exemple, recherche de larves infestantes sur les pâturages).

Un abrégé des principales caractéristiques morphologiques utiles à la diagnose des nématodes des ruminants figure dans l'article de KERBOEUF *et al.* (1997). La **figure 1** montre un exemple des caractéristiques morphologiques utiles à la diagnose des larves infestantes de strongles.

Ces techniques ont l'avantage d'être directes et de fournir des informations quantitatives et aussi qualitatives, comme l'identification parasitaire, très précises. Elles présentent divers inconvénients, entre autres la lourdeur de leur mise en œuvre, leur coût, surtout pour celles nécessitant l'abattage d'animaux, la formation très spécialisée du personnel de laboratoire.

• DOSAGES SÉROLOGIQUES

Différents paramètres sanguins sont modifiés au cours des strongyloses gastro-intestinales : en particulier la gastrine, le phosphore et le pepsinogène. Ce dernier est le plus spécifique et le plus utilisé.



Figure 1 : Cliché montrant une larve infestante de *Nematodirus battus*. La gaine (deuxième cuticule conservée lors de la dernière mue) est bien visible, en particulier à l'extrémité postérieure de la larve (« queue de la gaine »). Cette queue de gaine très longue est caractéristique du genre *Nematodirus*. L'enroulement de l'extrémité antérieure de la larve montre les plis de cette gaine. Les zones plus sombres à l'intérieur de la larve correspondent aux « cellules intestinales », véritable tube digestif du nématode.

1. Dosage de la gastrine

La gastrine est une hormone régulant la physiologie du tube digestif en contrôlant le pH du suc gastrique et la trophicité de la muqueuse stomacale. La présence de nématodes dans la caillette entraîne une augmentation de pH qui provoque, en retour, une élévation du taux de gastrine sérique. Le dosage de la gastrine (Van VEEN SCHILLORN, 1988) apporte pratiquement les mêmes informations que le dosage du pepsinogène. Il présente cependant le grand inconvénient d'être un test radio-immunologique, ce qui nécessite un laboratoire dédié aux radio-éléments avec un personnel autorisé.

Les taux sériques normaux sont de 100 à 200 pg/mL chez les bovins. Ils peuvent être multipliés par cinq lors d'infestation importante de la caillette par *Ostertagia*.

2. Dosage du phosphore

L'infestation par des nématodes de l'intestin grêle provoque une abrasion des villosités intestinales et des altérations de la perméabilité de la muqueuse. Ces lésions ont pour conséquence une moindre absorption des nutriments, dont les éléments minéraux et, en particulier, le phosphore. Bien que très peu spécifique, le dosage du phosphore sérique est un des seuls éléments disponibles pour évaluer l'importance des lésions intestinales. Il est cependant très peu utilisé en raison du manque de données relatives à son interprétation chez des animaux infestés naturellement.

3. Dosage du pepsinogène

Le principe du dosage du pepsinogène sérique est ancien. Le pepsinogène est transformé en pepsine sous l'action combinée de la température (37°C) et du pH acide. Il agit ensuite sur un substrat riche en acides aminés aromatiques, points de

coupure des protéines par l'enzyme. Ces radicaux aromatiques sont dosés par colorimétrie. Des modalités simplifiées de cette technique ont été récemment décrites (KERBOEUF *et al.*, 2002). Les résultats sont exprimés en milliunités (mU) par rapport à une gamme étalon réalisée avec un des acides aminés libérés par la pepsine (tyrosine).

La concentration en pepsinogène sérique varie en fonction des lésions de la muqueuse de la caillette (ou de l'estomac chez les monogastriques). La migration des larves et la présence des parasites dans cette muqueuse provoquent la destruction d'une partie des glandes fundiques. Ceci a pour conséquence un passage accru du pepsinogène dans le courant sanguin, alors qu'il est normalement excrété en majorité dans la lumière de la caillette. L'augmentation du taux de pepsinogène est proportionnelle à l'intensité des lésions. Celles-ci étant, de façon très majoritaire, dues à la présence de parasites chez les ruminants élevés au pâturage, ce dosage peut être utilisé comme moyen indirect d'appréciation de l'importance des lésions et, par extension, du nombre de parasites présents (KERBOEUF *et al.*, 1981). La **figure 2** montre un exemple des variations du taux de pepsinogène enregistrées chez des jeunes bovins au cours de la saison de pâturage et l'effet des traitements anthelminthiques sur les lésions produites par la présence de nématodes dans la caillette.

Ce dosage a été largement utilisé tant pour suivre le développement d'infestations expérimentales des différents ruminants (bovins, ovins, caprins) que sur le terrain. Dans ce dernier cas, il a fourni des informations pertinentes lors de nombreuses enquêtes épidémiologiques ou d'études de l'efficacité de nouvelles molécules anthelminthiques. C'est un test qui figure assez régulièrement dans les dossiers d'AMM même s'il n'y est pas imposé.

L'utilité du dosage du pepsinogène en clinique vétérinaire ainsi que les modalités d'interprétation ont été résumées récemment à la demande des praticiens qui l'utilisent fréquemment pour ajuster les recommandations de la prophylaxie antiparasitaire. En particulier, c'est un outil de décision lors du choix des traitements d'automne des bovins. (KERBOEUF, 2003) : il est le plus utile chez cette catégorie de ruminants car la relation entre le nombre de vers présents et la concentration en pepsinogène sérique peut être décrite par une régression linéaire (KERBOEUF *et al.*, 1981). Ceci tient au fait que les bovins hébergent en général principalement un seul genre de parasite dans la caillette, les *Ostertagia*. L'interprétation du dosage s'en trouve simplifiée. Les mesures doivent toutefois être réalisées sur des groupes d'au moins cinq animaux, les variations individuelles étant assez importantes. La relation taux de pepsinogène / nombre de vers est très fiable chez les jeunes animaux (ostertagiose de type 1) ou chez les animaux plus âgés mais ayant eu peu de contact avec les parasites au cours de leurs premières années de pâturage. Elle est plus difficile à quantifier au fur et à mesure que l'immunité s'installe. D'autre part, si le taux de pepsinogène reste plus élevé que la normale au moment des périodes d'inhibition larvaire (ostertagiose de pré-type 2), il n'est

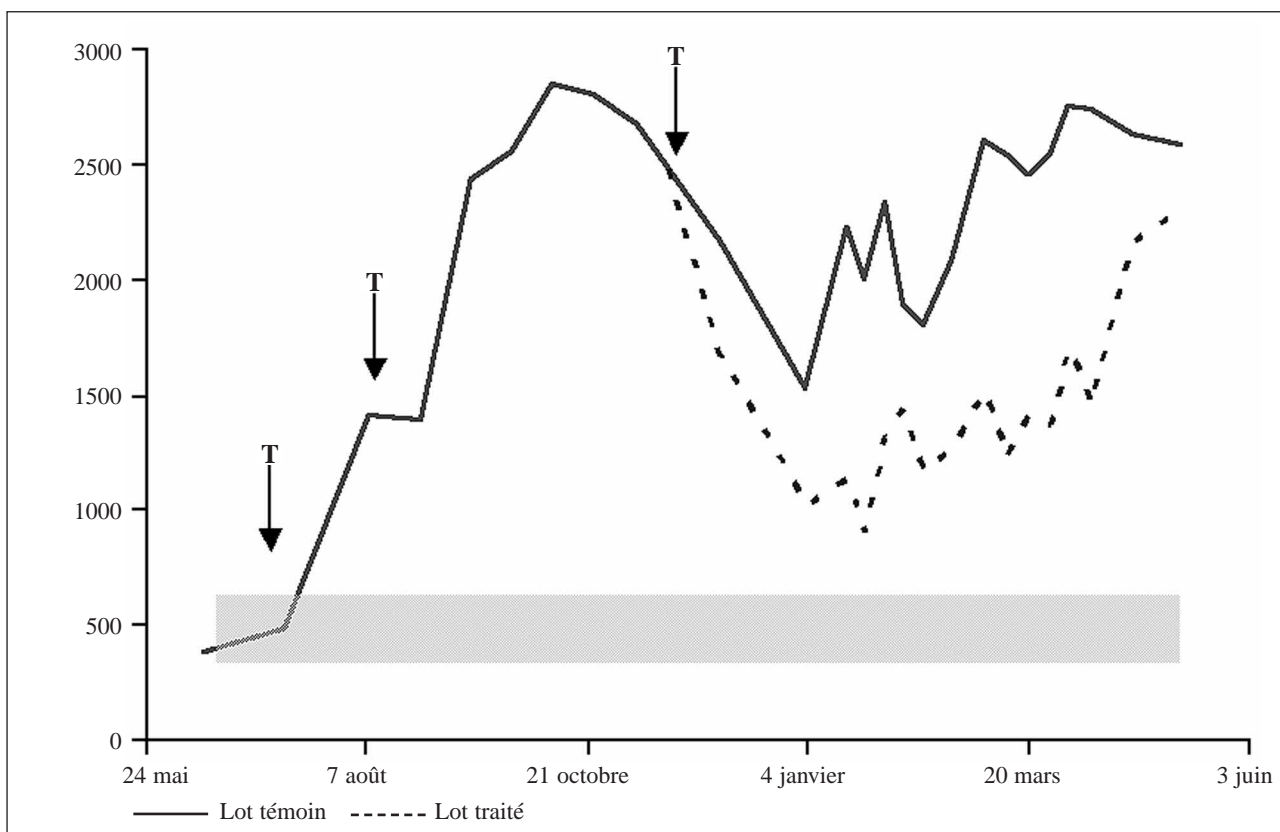


Figure 2 : Utilisation du dosage du pepsinogène sérique pour suivre l'infestation de jeunes bovins au cours de la saison de pâturage (d'après KERBOEUF et al., 1979). L'infestation progresse régulièrement au cours du printemps et de l'été puis elle chute au cours de l'automne. Au début du printemps suivant, les larves restées dans la muqueuse de la caillette reprennent leur développement et causent de nouvelles lésions. Le taux de pepsinogène augmente à nouveau. Les traitements (T) administrés pendant la période printemps-été ont eu peu d'effets sur les lésions en raison de la réinfestation permanente des animaux restés sur le pâturage. Par contre, le traitement de rentrée à l'étable a montré une différence significative entre les animaux témoins non traités et les animaux traités. Ces parasites présents chez ces derniers n'ont cependant pas été totalement éliminés puisqu'une reprise de développement est également constatée comme chez les animaux témoins suivant la même chronologie, avec toutefois une moindre incidence.

cependant pas possible de prédire le nombre de parasites présents. Le taux normal est compris entre 300 et 600 mU. Il peut atteindre 3500-4000 mU lors d'infestations sévères ou lors de la levée de l'hypobiose qui s'accompagne d'importantes lésions de la muqueuse (ostertagiose de type 2).

Chez les autres ruminants, les populations parasitaires sont plus complexes, différentes espèces et différentes générations d'une même espèce sont présentes simultanément avec des pouvoirs pathogènes variables. La quantité de nématodes et l'importance des lésions sont moins directement liées, l'augmentation de la concentration en pepsinogène est plus faible que chez les bovins à charge parasitaire égale. Les charges parasitaires elles-mêmes sont moindres. En conséquence, l'interprétation est plus délicate. De plus, le coût du dosage est plus difficilement supportable pour ces espèces de moindre rentabilité.

Cette mesure est théoriquement applicable à d'autres espèces de rente (équins, porcins). Néanmoins les variations en fonction de la pathologie parasitaire ont été beaucoup moins étudiées, ce qui rend l'interprétation beaucoup plus délicate. Les taux normaux sont différents (inférieur à 250 mU chez le cheval, supérieur à 1 000 mU chez le porc).

• TESTS DE DÉPISTAGE DE LA RÉSISTANCE AUX ANTHELMINTHIQUES

La résistance aux anthelminthiques chez les ruminants

Depuis plus de vingt ans, des phénomènes de résistance aux anthelminthiques sont apparus un peu partout dans le monde, touchant dans un premier temps l'hémisphère Sud (Australie, Afrique du Sud, Nouvelle Zélande) puis, plus progressivement, l'hémisphère nord.

Les petits ruminants hébergent beaucoup plus fréquemment des strongles résistants que les bovins sans que les causes univoques aient été clairement mises en évidence pour expliquer cette différence. Le nombre et la fréquence des traitements ont été les plus souvent incriminés mais il semble bien que le développement de la résistance obéisse à des lois beaucoup plus complexes que cette simple relation de cause à effet. Progressivement, certes avec un peu plus de lenteur, le phénomène est observé chez les bovins. Il est aggravé par le relativement petit nombre de familles chimiques d'anthelminthiques disponibles sur le marché et par l'existence de résistances croisées vis-à-vis de molécules

de la même famille chimique et de résistances multiples vis-à-vis de molécules de familles différentes.

La gravité de cette situation, dans un contexte où les firmes pharmaceutiques réduisent les travaux de mise au point de nouvelles molécules, conduit à essayer de préserver au maximum l'efficacité des traitements. Il est donc indispensable de connaître la sensibilité des parasites présents dans les élevages, de savoir s'il existe ou non des résistances croisées ou multiples, de déterminer la ou les meilleures stratégies pour le choix d'une solution alternative, de suivre l'intensité de la résistance avant et après ces interventions.

Pour ce faire, différents tests de dépistage et de quantification de la résistance ont été mis au point. Comme précédemment, certains s'adressent plus particulièrement aux études expérimentales, d'autres sont applicables sur le terrain.

Les mécanismes de résistance aux anthelminthiques chez les nématodes

La mise au point de ces tests a souffert du manque d'informations scientifiques relatives au mode d'action des anthelminthiques, à leur pharmacologie chez le parasite et enfin aux mécanismes de résistance. Le plus souvent, un mode d'action « principal » a été mis en évidence, qui a parfois été supplanté par un autre mode d'action découvert un peu plus tard. C'est le cas, par exemple, pour les anthelminthiques de la famille des benzimidazoles qui ont d'abord été décrits comme des inhibiteurs d'une enzyme, la fumarate réductase. Puis d'autres chercheurs ont montré que les benzimidazoles bloquaient la polymérisation de la β -tubuline. Pour d'autres anthelminthiques, comme le lévamisole, ce sont des récepteurs à des neuromédiateurs qui représentent la cible intracellulaire. Des canaux ioniques des membranes ont été identifiés comme points clés dans l'activité des lactones macrocycliques. Ces modes d'action sont propres à chaque famille chimique d'antiparasitaire. Lorsque des phénomènes de résistance apparaissent, ils mettent en jeu des mutations de ces cibles. Ce sont des mécanismes de résistance spécifique.

L'efficacité des traitements dépend aussi de la pharmacologie des anthelminthiques non seulement chez l'hôte mais aussi chez le parasite. L'absorption, la diffusion et l'élimination des anthelminthiques chez l'hôte ont été relativement bien analysées. Par contre, la pharmacologie de ces substances chez le parasite est presque totalement inconnue. Même si la physiologie des parasites est plus simple que celle des vertébrés, les nématodes sont malgré tout des organismes pluricellulaires capables de multiples adaptations. C'est l'une de leurs caractéristiques principales. Il est donc très probable, et même démontré pour certains mécanismes, que les nématodes ont développé des stratégies particulières pour faire face à un contact avec des toxiques. Les mécanismes de résistance non spécifique jouent également un rôle très important dans l'efficacité des traitements (KERBOEUF *et al.*, 2003). Ceci a pu être démontré par l'utilisation d'inhibiteurs de ces mécanismes

qui ont permis d'obtenir des réversion de résistance allant jusqu'à 50%. Ces mécanismes sont fortement impliqués dans les résistances multiples, c'est-à-dire se développant simultanément vis-à-vis de plusieurs familles d'anthelminthiques ayant des modes d'action différents.

Les tests de détection de la résistance

Les tests de détection de la résistance doivent être adaptés aux particularités de la résistance décrites au paragraphe précédent. Ils doivent permettre de distinguer les résistances spécifiques et non spécifiques.

La résistance est un état relatif qui est estimé par rapport à la sensibilité de parasites « de référence » pratiquement éliminés en totalité par les doses recommandées. La dimension quantitative de la mesure est donc essentielle pour cette appréciation et pour le suivi de l'évolution du phénomène. Les résultats des tests sont exprimés en dose efficace d'anthelminthique ou mieux en facteur de résistance défini comme le rapport de la dose efficace chez les parasites étudiés à celle efficace vis-à-vis des parasites « de référence ». L'efficacité vis-à-vis des parasites sensibles doit être connue avec précision. En particulier, la moindre activité vis-à-vis de certains genres ou de certaines espèces de nématodes ne doit pas être confondue avec une résistance acquise du parasite vis-à-vis de l'anthelminthique présentant une moindre efficacité. Il convient aussi d'éliminer les inefficacités dues à une mauvaise utilisation de l'anthelminthique (dosage inadapté, appareil de dosage mal réglé, rejet du produit...).

Il existe trois catégories de tests : moléculaires, biologiques standards ou adaptés à la détection des résistances multiples.

Tests moléculaires

Ces tests consistent à mettre en évidence le ou les gènes impliqués dans les mécanismes de résistance. Ils sont en relation directe avec le mode d'action connu de l'anthelminthique. C'est le cas par exemple de la mise en évidence par PCR, de la mutation de la β -tubuline lors de résistances aux benzimidazoles (WINTERROWD *et al.*, 2003).

Ils ont l'avantage de la très grande précision de l'analyse et de la sensibilité de la mesure. Par contre, ils nécessitent une très bonne connaissance du ou des modes d'action de ces molécules, ce qui est rarement le cas. Ils fournissent d'autre part actuellement une assez mauvaise estimation de l'intensité de la résistance. En effet, le résultat de l'analyse est plus qualitatif que quantitatif. Il permet de savoir si la mutation est présente ou non mais on ignore généralement quelle proportion de parasites sont affectés dans une population hébergée par un animal ou un ensemble d'animaux. Les mesures peuvent parfois être réalisées individuellement sur les parasites. Cependant, dans ce cas, il est trop coûteux et trop long d'analyser un grand nombre de parasites lors d'un diagnostic de routine. Ces tests sont donc plutôt réservés à des travaux de recherche.

Tests biologiques

Leur principe repose sur l'obtention d'une relation «dose-effet» par mise en contact de parasites avec des concentrations croissantes d'anthelminthique. Ces tests sont réalisés avec des stades libres de nématodes (œufs ou larves) et, selon leurs modalités particulières, ils permettent de détecter la résistance aux différentes familles d'anthelminthiques. Les tests « d'éclosion des œufs » sont utilisés pour les benzimidazoles qui ont des propriétés ovicides. Les tests « de développement larvaire » rendent possible l'analyse des autres familles d'anthelminthiques. En effet, les résultats acquis avec ces derniers ont montré qu'ils sont utilisables quel que soit le mode d'action de la molécule.

Ces deux catégories de tests présentent l'avantage d'être peu coûteux, de fournir des données quantitatives précises et d'indiquer l'état de résistance individuel des parasites à une molécule donnée. Un très petit nombre de parasites résistants présents dans une population sensible peut ainsi être identifié. Ces tests permettent de suivre très facilement le développement de la résistance.

Tests pour la détection des résistances multiples

Les tests biologiques décrits au paragraphe précédent ne renseignent pas sur le type de mécanisme mis en jeu pour la résistance. Pour ce faire, ils peuvent être complétés

par des tests plus spécifiques dont le principe de mise en contact des parasites avec différentes doses d'anthelminthique est le même, mais où une série supplémentaire est ajoutée qui comporte, en plus de l'anthelminthique, un inhibiteur du mécanisme de résistance multiple incriminé.

La figure 3 montre un exemple de ce type de tests. Deux populations d'*Haemonchus contortus* ont été comparées, l'une sensible aux différents anthelminthiques actuellement commercialisés, l'autre résistante aux benzimidazoles et à l'ivermectine. La relation « dose-effet » a été rendue linéaire par transformation des données (logarithme pour les doses d'anthelminthique, probit pour les pourcentages de développement du parasite). La comparaison des droites de régression met bien en évidence la différence de dose létale 50 p. cent, le changement de pente de la droite avec l'acquisition d'une forte résistance. L'ajout d'un inhibiteur de transport transmembranaire de xénobiotiques montre l'implication de ce mécanisme de résistance non spécifique dans l'efficacité des anthelminthiques. L'ivermectine a été prise comme exemple mais le test aurait pu inclure d'autres molécules avec des modes d'action différents. Grâce à l'étude simultanée de l'effet de plusieurs molécules, le choix de la meilleure stratégie prophylactique se trouve facilitée.

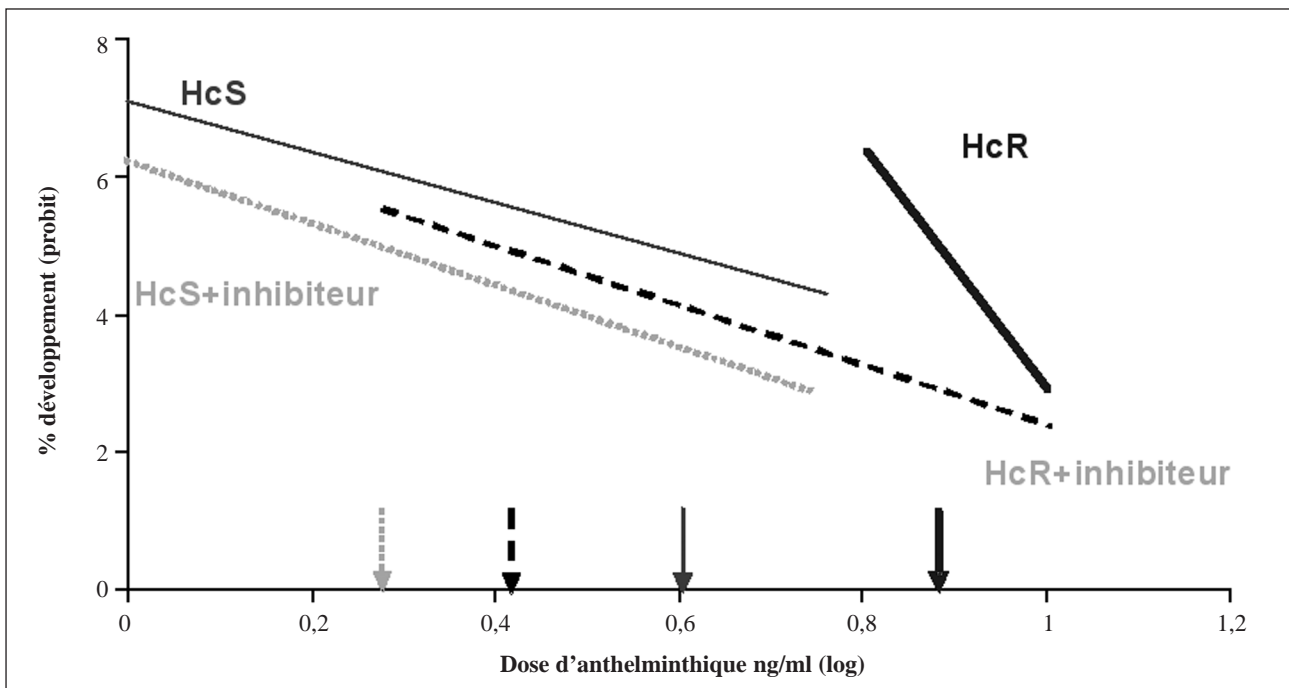


Figure 3 : Intérêt des tests biologiques pour le dépistage des résistances aux anthelminthiques. Deux isolats d'*Haemonchus contortus* ont été comparés, l'un sensible (HcS), l'autre résistante (HcR) à plusieurs anthelminthiques. Le test de développement des larves en présence d'ivermectine montre une différence significative de DL50 (flèches en trait fin pour HcS, en trait épais pour HcR) et un effet d'un inhibiteur de transport transmembranaire bloquant un des mécanismes de résistance non spécifique (DL50 indiquées par les flèches en pointillés fin pour HcS et en pointillés épais pour HcR). À noter, la différence très importante de pente des droites de régression entre les deux isolats pour les parasites non soumis à l'inhibiteur. Elle indique une résistance élevée de l'isolat HcR.

• CONCLUSIONS

L'ensemble des tests de laboratoire disponibles actuellement permet d'établir un bilan de l'état parasitaire d'un troupeau sans abattre d'animaux. Les données obtenues renseignent sur le type de parasite présent, leur nombre approximatif et, pour certains d'entre eux, sur les lésions qu'ils ont occasionnées. La résistance aux anthelminthiques peut aussi être appréciée qualitativement et quantitativement, ainsi que le type de mécanisme de résistance mis en jeu.

Ces outils devraient limiter le nombre de traitements systématiques sans contrôle ni de leur utilité ni de leur efficacité. L'abus des traitements présente de graves inconvénients tant pour leur coût que pour les résidus qu'ils génèrent aussi bien chez l'animal que dans le milieu extérieur. Cependant, la généralisation de l'emploi de ces tests passe par une amélioration des techniques avec mise au point de tests plus faciles à utiliser et par la formation d'un personnel spécialisé en plus grand nombre.

BIBLIOGRAPHIE

- BEAUMONT-SCHWARTZ C, KERBOEUF D, HUBERT J (1987) Méthodes de mise en évidence de souches de strongles gastro-intestinaux résistantes aux anthelminthiques. *Rec. Méd. Vét.*, **163**, 683-688.
- BEUGNET F, KERBOEUF D (1997) La résistance aux antiparasitaires chez les parasites des ruminants. *Le Point Vétérinaire*, numéro spécial, **28**, 1949-1956.
- EUZEBY J (1982) *Diagnostic expérimental des helminthoses animales (Animaux domestiques – Animaux de laboratoire – Primates). Travaux pratiques d'helminthologie vétérinaire*. Éditions Ministère de l'Agriculture « Informations techniques des Services Vétérinaires », Livre 1 et 2, 365 p.
- HUBERT J, KERBOEUF D (1992) A microlarval development assay for the detection of anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Vet. Rec.*, **130**, 442-446.
- KERBOEUF D (1991) Résistance des strongles vis-à-vis des anthelminthiques : détection, quantification, interprétation des résultats. *Rev. Méd. Vét.*, **142**, 637-644.
- KERBOEUF D (2003) Le dosage du pepsinogène sérique chez les animaux de rente. Intérêt pour le diagnostic des strongyloses, méthodes d'analyse et interprétation. In: *Journées nationales des GTV, Gestes techniques et examens complémentaires*. Nantes (FRA), 163-169.
- KERBOEUF D, BLACKALL W, KAMINSKY R, VON SAMSON-HIMMELSTJERNA. (2003). P-glycoprotein in helminths: function and perspectives for anthelmintic treatment and reversal of resistance. *Antimicrob. Agents*, **22**, 332-346.
- KERBOEUF D, HUBERT J, HOSTE H (1997) Le diagnostic de laboratoire des strongyloses des ruminants. *Le Point Vétérinaire*, numéro spécial, **28**, 1871-1878.
- KERBOEUF D, HUBERT J, LE STANG JP (1979) Évolution du taux de pepsinogène sérique au cours de l'ostertagiose bovine. Intérêt du dosage lors des traitements. *Rec. Méd. Vét.*, **155**, 143-148.
- KERBOEUF D, KOCH C, LE DREAN E, LACOURT A. (2002) Méthode simplifiée de mesure de la concentration en pepsinogène dans le serum. *Rev. Méd. Vét.*, **153**, 707-712.
- KERBOEUF D, LE GARFF G, 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. *Ann. Rech. Vét.*, **12**, 201-213.
- LEVINE ND (1968) *Nematodes parasites of domestic animals and of man*. Editor Burgess Publishing Company, Minneapolis, USA, 1 vol., 600 p.
- VAN VEEN SCHILLHORN TW (1988) Evaluation of enzyme and hormone levels in the diagnosis of ostertagiosis. *Vet. Parasitol.*, **27**, 139-149.
- WINTERROWD CA, POMROY WE, SANGSTER NC, JOHNSON SS, GEARY TG (2003) Benzimidazole-resistant beta-tubulin alleles in a population of parasitic nematodes (*Cooperia oncophora*) of cattle. *Vet. Parasitol.*, **117**, 161-172.