

Biologische Kontrolle von Magen-Darmwürmern mit dem Pilz *Duddingtonia flagrans*

Veronika Maurer / Steffen Werne

Die Kontrolle von Magen-Darmwürmern ist eine tägliche Herausforderung für Halter von Kleinwiederkäuern. Ein neues biologisches Verfahren hat in der Schweiz und im Ausland sehr vielversprechende Resultate erzielt. Nach gegen 20 Jahren Forschung und Entwicklung wird es voraussichtlich im Jahr 2020 für erste Praxisversuche und etwa zwei Jahre später kommerziell zur Verfügung stehen und so dazu beitragen, den Einsatz von Anthelminthika zu reduzieren und die Resistenzentwicklung zu verlangsamen.

Hintergrund

Jeder Ziegen- und Schafhalter kennt das Problem: weidende Tiere infizieren sich unweigerlich mit Magen-Darmwürmern. Mit einer Kombination von geschicktem Weidemanagement und gezieltem Einsatz von Entwurmungsmitteln bekommen Tierhalter den Wurmbefall ihrer Tiere zwar meist einigermassen in den Griff. Zunehmende Resistenzen gegen alle verfügbaren Wirkstoffklassen machen aber einen noch sparsameren Einsatz von Entwurmungsmitteln nötig, damit diese auch längerfristig im Notfall als wirksame Massnahme zur Verfügung stehen. Ein neues Verfahren zur Senkung des Infektionsdrucks auf der Weide soll die heutigen Alternativen zur Kontrolle der Magen-Darmwürmer in Zukunft ergänzen.



Ziegengruppe auf Weide in Visp. Groupe de chèvres sur un pâturage à Viège.

(Photo: S. Thüer, FiBL)

Duddingtonia flagrans: der Wurmlarven-Fresser

Die Rede ist vom nematoden-fressenden Pilz *Duddingtonia flagrans* (im Text als *Duddingtonia* bezeichnet). Natürlich wächst dieser Pilz im Boden oder in verrottender organischer Substanz (beispielsweise in Kompost) und ernährt sich dort von Bodennematoden, die in Grösse und Aussehen sehr ähnlich sind wie die freilebenden Jugendstadien der Magen-Darmwürmer. Bereits vor rund 80 Jahren entdeckten Forscher diese Eigenschaft von *Duddingtonia*. Etwas später folgte die Entdeckung, dass robuste Dauersporen des Pilzes den Magen-Darmtrakt von Weidetieren unverdaut passieren können und anschliessend im Kot keimen, wachsen und Larvenstadien von Magen-Darmwürmern fangen und «fressen» können (Abbildung 1, Seite 7). Nachdem seit den 1990er Jahren Methoden zur Optimierung der Sporengärung und zur Herstellung von schmackhaften Ergänzungsfuttermitteln mit einem sehr hohen Gehalt an unverdaulichen Dauersporen entwickelt wurden, befinden sich nun entsprechende Produkte im Zulassungsverfahren.

Abbildung 2 (Seite 10) zeigt den Entwicklungszyklus der Magen-Darmwürmer. Während die ausgewachsenen Würmer im Magen-Darmtrakt der Weidetiere leben, entwickeln sich deren Eier über zwei Larvenstadien zur ansteckenden Drittlarve, die den Kot verlässt, mit dem Weidegras aufgenommen wird, ein Tier infiziert und in dessen Magen-Darmtrakt wieder zum geschlechtsreifen Wurm heranwächst. Ein grosser Anteil der Würmer lebt als Ei oder Larve ausserhalb des Wirtstiers und nur vergleichsweise wenige Individuen im Magen-Darmtrakt des Tieres.

Die *Duddingtonia*-Sporen werden den Weidetieren beispielsweise mit Kraftfutter verfüttert. Sie passieren den Magen-Darmtrakt und keimen erst im frisch abgesetzten Kot. Parallel mit der Entwicklung der Wurmlarven wächst das Pilzmyzel und bildet lassoartige Fangstrukturen, mit denen es die Wurmlarven fixiert, tötet und «verdaut». In Abbildung 2 wird dies durch Kreuze illustriert.

Forschung in der Schweiz

In der Schweiz hat das FiBL in den letzten acht Jahren seine Forschungsarbeiten mit *Duddingtonia* intensiviert. In einem Weideversuch mit Rindern (2013) konnte die Anzahl Wurmlarven auf dem Gras und folglich der Wurmbefall der Junggrinder in einer Gruppe mit *Duddingtonia* gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe reduziert und deren Gewichtszunahme gesteigert werden. Auch in einem Weideversuch mit Pferden (2016) war die Ausscheidung von Wurmeiern in der mit *Duddingtonia* behandelten Gruppe deutlich tiefer als in der Kontrollgruppe. Bei Schafen konnte in Versuchen des FiBL durch



Abbildung 1: Larve eines Magen-Darmwurms gefangen im Pilzmycel von Duddingtonia flagrans. Illustration 1: Larve d'un ver gastro-intestinal prisonnière d'un mycélium de Duddingtonia flagrans.

(Mikroskopische Aufnahme/Image microscopique: E. Perler, FiBL)

So könnte ein integriertes Kontrollsysteem mit Duddingtonia aussehen

1. Regelmässige Überwachung des Wurmbefalls (Kotuntersuchungen)
2. Bei Bedarf Entwurmung stark befallener Tiere
3. Beibehaltung oder Einführung eines vorbeugenden Weidemanagements
4. Verfütterung von Duddingtonia in Zeiten erhöhter Wurmei-Ausscheidung

die Verfütterung von Duddingtonia-Sporen die Entwicklung infektiöser Larven je nach Dosierung von Duddingtonia und Wurm-Art um 70-95 % reduziert werden.

Versuch mit Ziegen am Landwirtschaftszentrum Visp

Im Sommer 2017 führte das FiBL am Landwirtschaftszentrum Visp mit laktierenden Gämsfarbigen Gebirgsziegen einen Versuch zur biologischen Parasitenkontrolle mit Duddingtonia durch. Im ersten Versuchsteil wurde untersucht, wie viele infektiöse Wurmlarven sich aus dem Kot von Ziegen entwickeln, welche unterschiedliche Dosen von Pilzsporen erhalten. Dazu wurden die Ziegen in drei Gruppen à 10 Tiere eingeteilt, welche während drei Tagen im Melkstand entweder ein Granulat ohne Duddingtonia, ein Granulat mit Duddingtonia in normaler Dosierung oder ein Granulat mit Duddingtonia in hoher Dosierung erhielten. Von allen Tieren wurden am Tag vor und am letzten Tag der Verfütterung von Duddingtonia Kotproben genommen und die Wurmlarven sowie das Mycel von Duddingtonia

im Labor herangezogen. Nach 14 Tagen wurde ausgezählt, wie viele Wurm-Eier sich zu infektiösen Larven entwickelt hatten. Die Wirksamkeit wurde anschliessend für jedes Tier berechnet als prozentuale Reduktion der Larven nach der Behandlung gegenüber der Situation vor der Behandlung.

Die Tiere nahmen das Granulat mit den Duddingtonia-Sporen gut auf. Verglichen mit der Kontrollgruppe war in der Gruppe mit der tiefen Duddingtonia-Dosierung der Schlupf der Larven im Mittel um rund 20 % reduziert. In der Gruppe mit der hohen Dosierung betrug die Reduktion fast 70 %. Dies ist in etwa auch die Verminderung die bei anderen Nutztieren beobachtet wurde (Schaf und Rind: 70-90 %, Pferd und Esel: 75-95 %). Die beobachtete Reduktion der Larvenentwicklung im Kot um 70 % gegenüber unbehandelten Tieren liegt auch bei Ziegen weit über den Wirksamkeiten, die beim Einsatz anderer nicht-chemischer Verfahren zu erwarten sind. Die Reduktion des Larvenschlups sollte folglich zu einer geringeren Kontamination der Weiden führen. Bei einer erneuten späteren Beweidung wäre also von einer geringeren Parasitenbelastung der entsprechenden Weiden auszugehen. Leider konnte diese Reduktion in den Kotkulturen im Weideversuch in Visp nicht durch eine effektiv gemessene reduzierte Anzahl Larven auf dem Weidegras bestätigt werden.

Neuere Langzeitstudien mit Schafen

Australische Arbeiten ergaben, dass Duddingtonia bei Schafen und Ziegen zu einer Reduktion der Parasitenbelastung auf der Weide und des Wurmbefalls führt. So konnte der Wurmbefall von Lämmern mit Duddingtonia im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrolle um 58-84 % gesenkt werden (Healey et al., 2018). Andere Arbeiten zeigten, dass der Einsatz von Duddingtonia zu geringerem Entwurmungsmittel-Einsatz und besseren Zunahmen führte (Santurio et al., 2011). Zudem hatten Lämmer behandelter Auen bessere Gewichtszunahmen (Gomez-Rincon et al., 2006).

Fazit und Ausblick

Basierend auf älteren Arbeiten aus den 1990er Jahren und auf neuen Studien scheint Duddingtonia ein äusserst vielversprechendes Element einer integrierten Kontrolle von Magen-Darmwürmern bei Kleinwiederkäuern zu sein. Praxisversuche müssen dies jedoch noch bestätigen.

Ein mögliches Problem der Methode liegt bei der Verabreichung: die Dauersporen müssen über einen längeren Zeitraum verfüttert werden, um die gewünschte Reduktion des Infektionsdrucks auf der Weide zu erzielen. Gerade zur Zeit der höchsten Ausscheidung von Wurmeiern (z.B. einige Wochen nach Weidebeginn) erhalten außer Milchziegen und Milchschafen die meisten Tiere jedoch kein Kraftfutter. Der Einsatz des Futterzusatzes muss deshalb möglichst genau auf die Epidemiologie der Würmer abgestimmt werden, um den nötigen Zusatzaufwand und die Kosten möglichst gering zu halten.

Duddingtonia flagrans wird nicht als alleiniges Mittel zum Einsatz kommen. Vielmehr kann es eine Komponente eines integrierten Systems (Kasten, Seite 7) zur Wurmkontrolle sein.

Andere unterstützende Massnahmen wie z.B. die Selektion widerstandsfähiger Tiere werden ihre Bedeutung behalten.

Das FiBL wird in den nächsten Jahren im Rahmen des EU-Forschungsprojektes RELACS (Ersatz unerwünschter Betriebsmittel im Biologischen Landbau) gemeinsam mit weiteren Forschungs- und Industriepartnern Versuche zur Klärung dieser Fragen durchführen. Erste Praxisversuche mit Schafen in der Schweiz, in Schottland, Frankreich und Deutschland sind 2020 geplant. Frühestens zu diesem Zeitpunkt dürfte auch der erste Futterzusatz mit Duddingtonia in Europa verfügbar sein. Zu den Kosten kann zum jetzigen Zeitpunkt noch keine zuverlässige Aussage gemacht werden.

Dank

Wir bedanken uns beim Personal des Landwirtschaftszentrums Visp und dem Kanton Wallis (Dienststelle für Landwirtschaft) für die gute Zusammenarbeit, die Co-Finanzierung und für die engagierte Unterstützung bei der Durchführung des Versuchs.

Controllo biologico dei vermi gastrointestinali con il fungo Duddingtonia flagrans

Il controllo della problematica dei vermi gastrointestinali costituisce una sfida quotidiana per i detentori di piccoli ruminanti. Un nuovo metodo biologico che permette di ridurre la pressione di infestazione al pascolo affiancherà in futuro le misure di controllo dei vermi gastrointestinali già esistenti. Si somministrano nell'alimentazione degli animali al pascolo, ad esempio tramite il mangime concentrato, le spore del fungo Duddingtonia flagrans (Duddingtonia), il quale ha la capacità di uccidere le larve di nematodi nelle feci. Queste spore attraversano il tratto gastrointestinale e una volta eliminate con le feci iniziano a germinare. Parallelamente allo sviluppo delle larve di vermi cresce il micelio e, mediante una struttura simile ad un lasso, cattura le larve di vermi, le fissa, le uccide e «digerisce» prima che esse si diffondano nell'ambiente, riducendo in tal modo la contaminazione delle paste.

Il FiBL è stato in grado di dimostrare in varie specie animali che la somministrazione di Duddingtonia riduce lo sviluppo di larve di vermi infettivi nelle feci del 70-95 %, a seconda della specie animale e della dose. Un esperimento condotto al Centro agricolo di Visp ha rivelato che le capre tendono a richiedere una dose maggiore rispetto ad altre specie animali. Uno sperimento con bovini al pascolo effettuato dal FiBL ha inoltre mostrato una riduzione della carica parassitaria negli animali e un migliore aumento di peso giornaliero negli animali trattati con Duddingtonia. Risultati simili sono stati ottenuti da scienziati australiani in studi effettuati su ovini.

La Duddingtonia è un elemento estremamente promettente di un controllo integrato nell'ambito dei piccoli ruminanti, e in futuro potrebbe assumere questi aspetti:

1. Controllo delle infestazioni da vermi gastrointestinali con monitoraggio continuo mediante esami parassitologici delle feci.
2. Se necessario, praticare un trattamento antiparassitario agli animali fortemente infestati.
3. Mantenere un sistema di gestione dei pascoli con strategie preventive.
4. Somministrazione di Duddingtonia in periodi di maggiore eliminazione fecale di uova di vermi.

Altre misure di sostegno, come la selezione genetica di animali resistenti, manterranno comunque la loro importanza.

Nei prossimi anni, il FiBL, insieme ad altri partner operanti nel settore della ricerca e dell'industria, effettuerà delle ricerche al fine di fare chiarezza su questi punti. Sperimentazioni condotte su ovini sono previste per il 2020. Non prima di tale data, il primo additivo per mangimi con Duddingtonia dovrebbe essere disponibile anche in Europa.

Contrôle biologique des vers gastro-intestinaux avec le champignon *Duddingtonia flagrans*

Veronika Maurer / Steffen Werne

Le contrôle des vers gastro-intestinaux constitue un défi quotidien pour les détenteurs de petits ruminants. Un nouveau procédé biologique a obtenu en Suisse de même qu'à l'étranger des résultats très encourageants. Après environ 20 ans de recherche et de développement, les premiers essais en pratique pourront vraisemblablement être réalisés en 2020. Il faudra encore attendre environ 2 ans de plus jusqu'à ce que le produit commercial soit disponible. Cela devrait alors contribuer à réduire l'utilisation d'anthelmintiques et à ralentir le développement des résistances.



Ziegen in Melkstand, Visp. Des chèvres dans le stand de traite, Viège. (Photo: N. Arnold, FiBL)

Contexte

Les éleveuses et les éleveurs de chèvres et de moutons connaissent tous le problème: les animaux en pâture s'infestent inéluctablement avec des vers gastro-intestinaux. Une combinaison d'habiles mesures de gestion des pâtures d'utilisation ciblée de vermifuges permettent certes le plus souvent de garder plus ou moins la maîtrise de l'infestation parasitaire. Cependant, la progression des résistances contre toutes les classes de principes actifs requiert une utilisation encore plus parcimonieuse des vermifuges, afin de pouvoir en bénéficier à long terme à titre de mesure efficace en urgence. Une nouvelle procédure de réduction de la pression infectieuse sur les pâturages devra à l'avenir compléter les alternatives actuelles de contrôle des vers gastro-intestinaux.

Duddingtonia flagrans: le dévoreur de larves de vers

Il s'agit du dévoreur de nématodes *Duddingtonia flagrans* (ci-après duddingtonia). Ce champignon vit naturellement dans le sol ou dans la matière organique en décomposition (par exemple dans le compost), où il se nourrit de nématodes du sol qui, en taille comme en apparence, se rapprochent fortement des stades juvéniles des nématodes gastro-intestinaux dans la nature. Les chercheurs ont découvert ces caractéristiques de duddingtonia il y a déjà 8 décennies. Ce n'est qu'ultérieurement que l'on a constaté que les spores de repos robustes du champignon étaient en mesure de passer le tube gastro-intestinal des animaux au pâturage sans être

digérées. Elles parviennent alors dans les excréments, où elles peuvent germer, croître puis attaquer et «manger» les stades larvaires des vers gastro-intestinaux (illustration 1, page 7). Dans les années 1990, on a développé des méthodes d'optimisation de la production des spores et de fabrication d'aliments complémentaires appétents contenant des teneurs très élevées en spores de repos non digestibles. Grâce à cela, des produits correspondants sont aujourd'hui en cours d'homologation.

L'illustration 2 (page 10) montre le cycle de développement des vers gastro-intestinaux. Alors que les vers adultes vivent dans le tube gastro-intestinal des animaux en pâture, leurs œufs se développent via deux stades larvaires en larves 3 infectieuses, qui quittent les excréments pour être ingérées avec l'herbe de prairie. C'est ainsi que les animaux s'infestent à nouveau, permettant au parasite de se développer en ver adulte sexuellement mature dans leur tube gastro-intestinal. Une grande partie des vers vit sous la forme d'œuf ou de larve à l'extérieur de l'hôte et seuls quelques rares individus se retrouvent dans le tube gastro-intestinal de l'animal.

Les spores du duddingtonia peuvent être administrées aux animaux en pâture avec l'aliment concentré par exemple. Elles passent le tube gastro-intestinal et ne germent que dans les excréments fraîchement déposés. Le mycélium du champignon croît parallèlement au développement des larves de vers et forme ainsi des structures rappelant un lasso, avec lesquelles il immobilise, tue et «digère» les parasites. L'illustration 2 le montre avec des croix.



Abbildung 2: Entwicklungszyklus der Magen-Darmwürmer. Kreuze zeigen, wo der Zyklus durch Duddingtonia flagrans unterbrochen wird. Illustration 2: Cycle évolutif des vers gastro-intestinaux. Les croix indiquent où Duddingtonia flagrans interrompt le cycle.
(Abbildung/Illustration: FiBL)

Recherche en Suisse

En Suisse, le FiBL a intensifié ses travaux de recherche avec le duddingtonia au cours des huit dernières années. Dans une expérience de pâture avec des bovins (2013), il a été possible de réduire le nombre de larves de vers dans l'herbe. Il s'en est suivi une baisse de l'infestation parasitaire des jeunes bovins et un accroissement de leurs gains journaliers dans un groupe avec duddingtonia comparé au

groupe de contrôle non traité. Dans une expérience de pâture avec des chevaux (2016), l'excrétion d'œufs de vers dans le groupe traité avec duddingtonia s'est révélée nettement réduite en regard du groupe de contrôle. Chez les moutons, des essais menés au FiBL avec l'affouragement de spores de duddingtonia ont permis de diminuer le développement des larves infectieuses jusqu'à 70-95% en fonction du dosage du champignon et du type de ver.

Essai avec des chèvres au centre agricole de Viège

Durant l'été 2017, le FiBL a mené au centre agricole de Viège une expérience de contrôle parasitaire biologique avec duddingtonia sur des chèvres Chamoisées en lactation. Dans la première partie de l'étude, on a examiné le nombre de larves de vers infectieuses se développant dans les excréments contenant des doses variables de spores de champignon. A cet effet, on a subdivisé le groupe de chèvres en trois sous-unités de 10 animaux, qui recevaient durant trois jours, dans le stand de traite, pour le premier un granulé sans duddingtonia, pour le second un granulé avec duddingtonia en dosage normal et pour le troisième un granulé avec duddingtonia en dosage plus élevé. Des échantillons coproscopiques de tous les animaux ont été prélevés le jour avant et le dernier jour de l'affouragement de duddingtonia pour éléver les larves de vers de même que le mycélium de duddingtonia au laboratoire. Après 14 jours, on a compté le nombre d'œufs de vers qui s'étaient développés en larves infectieuses. L'efficacité a ensuite été calculée pour chaque animal sous la forme d'une réduction proportionnelle (%) des larves avec le traitement, comparé à la situation avant le traitement.

Les animaux ont bien accepté le granulé contenant les spores de duddingtonia. Comparé au groupe de contrôle, le groupe avec le dosage de duddingtonia bas affichait en moyenne une réduction d'environ 20% de larves écloses. Dans le groupe avec le dosage élevé, la réduction atteignait presque 70%. C'est environ la réduction que l'on a aussi constaté chez les autres animaux de rente (ovins et bovins: 70-90%, cheval et âne: 75-95%). La réduction de 70% du développement des larves observée dans les excréments par rapport aux animaux non traités se situe aussi chez les chèvres largement en-dessous de l'efficacité escomptée dans le cadre d'une utilisation d'autres procédés non chimiques. La réduction de l'éclosion de larves devrait pour sa part conduire à une baisse de la contamination des pâturages. Une pâture consécutive devrait par conséquent se caractériser par une charge parasitaire réduite des surfaces en question. Malheureusement, cette réduction relevée dans les cultures d'excréments de l'expérience de pâture de Viège n'a pas été confirmée par une réduction effective des larves dans l'herbe de pâturage.

Die Autoren des Artikels / Les auteurs de cet article



Veronika Maurer (veronika.maurer@frib.org) ist Themenleiterin Tiergesundheit/Parasitologie am FiBL in Frick. Ihr Arbeitsschwerpunkt liegt bei der Entwicklung der Duddingtonia-Strategie zur Wurmkontrolle bei Weidetieren.
Veronika Maurer (veronika.maurer@frib.org) est responsable de la thématique Santé animale/parasitologie au FiBL de Frick. L'accent de ses travaux se situe sur le développement de la stratégie duddingtonia au service du contrôle des vers chez les animaux au pâturage.



Steffen Werne (steffen.werne@frib.org) arbeitet seit mehreren Jahren im Departement für Nutztierwissenschaften am FiBL. Sein Forschungsschwerpunkt ist die alternative Kontrolle von inneren Parasiten bei Kleinwiederkäuern.
Steffen Werne (steffen.werne@frib.org) travaille depuis plusieurs années au département des sciences des animaux de rente du FiBL. Ses recherches se concentrent principalement sur le contrôle alternatif des parasites internes chez les petits ruminants.

Nouvelles études sur le long terme avec des moutons

Des travaux menés en Australie ont montré que le duddingtonia entraînait, chez les moutons comme chez les chèvres, une réduction tant de la charge parasitaire sur

les prairies que de l'infestation parasitaire. Ainsi, l'infestation des agneaux traités avec duddingtonia a reculé de 58 à 84% comparé à un contrôle non traité (Healey et al., 2018). D'autres travaux ont montré que l'emploi de duddingtonia a entraîné une diminution de l'emploi de vermifuges et une progression des gains journaliers (Santurio et al., 2011). En outre, les agneaux des brebis traitées affichaient eux-aussi des gains journaliers plus élevés (Gomez-Rincon et al., 2006).

Conclusion et perspectives

En se basant tant sur des travaux plus anciens datant des années 1990 que sur des études récentes, duddingtonia semble constituer un élément extrêmement prometteur d'un contrôle intégré des vers gastro-intestinaux chez les petits ruminants. Des essais en pratique devront toutefois encore le confirmer.

Un problème éventuel de cette méthode pourrait se situer au niveau de l'administration: les spores de repos doivent être affouragées sur une longue période afin d'obtenir la réduction souhaitée de la pression infectieuse au pâturage. Cependant, durant la période où l'excrétion d'œufs de vers est la plus forte, soit quelques semaines après le début de la saison de pâture, à l'exception des chèvres laitières et des brebis laitières la plupart des animaux ne reçoivent plus d'aliment concentré. L'emploi de l'aliment complémentaire doit donc être adapté aussi précisément que possible à l'épidémiologie des vers, afin de maintenir le travail supplémentaire nécessaire comme les coûts les plus bas possibles.

Duddingtonia flagrans ne devrait pas être utilisé comme seule préparation. Il constituera plutôt un des éléments d'un système de contrôle des vers intégré (encadre, page 10).

Les autres mesures de soutien, comme la sélection d'animaux plus résistants, conserveront leur importance.

Comment pourrait se concevoir un système de contrôle avec duddingtonia

1. Surveillance régulière de l'infestation parasitaire (échantillons coproscopiques)
2. En cas de besoin, vermifugation des animaux fortement infestés
3. Maintien ou introduction d'une gestion des pâtures préventive
4. Affouragement de duddingtonia durant les phases de forte excrétion d'œufs de vers

Le FiBL va mener ces prochaines années, dans le cadre du projet de recherche UE RELACS (remplacement des intrants controversés en agriculture biologiques) et en collaboration avec d'autres partenaires de recherche et industriels, des expériences visant à clarifier ces questions. Des premiers essais en pratique avec des moutons en Suisse, en Ecosse, en France et en Allemagne sont prévus pour 2020. A partir de cette date au plus tôt, le premier additif alimentaire contenant du duddingtonia devrait être disponible en Europe. Il n'est pour l'heure pas possible de donner d'indication quant au prix.

Remerciements

Nous remercions le personnel du centre agricole de Viège et le canton du Valais (service de l'agriculture) pour la bonne collaboration, le co-financement et le soutien engagé dans la réalisation de l'essai.