

Rapport
d'expertise



**Rapport de l'expertise réalisée au
Groupement de Défense Sanitaire de
la Réunion**

du 04 au 08 décembre 2017

Thomas HÜE

Janvier 2018
Rapport n°1 / 2018

DEMANDE INITIALE

Une des missions du GDS de la Réunion est de mettre en place des programmes de lutte contre les tiques du bétail dans les élevages. Dans ce cadre, ce GDS a souhaité obtenir un appui et une expertise pour faire évoluer ses programmes à partir de l'expérience acquise en Nouvelle-Calédonie.

Au cours de cette mission, il était notamment demandé de mettre en place des tests de résistance aux acaricides et de présenter les méthodes de lutte développées en Nouvelle-Calédonie lors de formations après des éleveurs, des techniciens et des vétérinaires pour discuter de leur adaptation dans le contexte d'élevage réunionnais.

Il était enfin prévu d'envisager les collaborations à mettre en place notamment sur la lutte agronomique et un vaccin anti-tique.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Jérôme Huet, président du GDS de la Réunion, Didier Guilhen, directeur du GDS qui ont permis la réalisation de cette mission et particulièrement Ann Dernburg qui a géré depuis le début l'organisation de cette mission.

Un grand remerciement également à Alexandra Moles pour sa participation à la mise en œuvre des journées de formation.

PLANNING DE LA MISSION

Lundi 04 décembre	
Matin	Après-midi
Formation des techniciens d'élevage : en salle	Formation des techniciens d'élevage : Visite d'élevage Eleveur allaitant – Plaine des Cafres
Mardi 05 décembre	
Matin	Après-midi
Visite d'élevage Eleveur laitier et allaitant – St Joseph	Discussions autour des enquêtes en cours et sur les résultats obtenus
Soirée d'information des vétérinaires praticiens	
Mercredi 06 décembre	
Matin	Après-midi
Formation d'éleveurs et de techniciens d'élevage : en salle	Formation d'éleveurs et de techniciens d'élevage : Visite d'élevage Eleveur allaitant – Plaine des Cafres
Jeudi 07 décembre	
Matin	Après-midi
Discussion sur les études à mettre en œuvre pour développer les outils de lutte contre les tiques	Rencontre de la DAAF sur le développement d'un vaccin anti-tique à la Réunion Rencontre de la Sica-Révia pour discuter de la gestion des tiques en filière allaitante
Vendredi 08 décembre	
Matin	Après-midi
Visite d'un élevage de Moka – Etang Salé les bains Présentation de la méthodologie des tests de résistance aux acaricides	Déjeuner avec la clinique vétérinaire des Hauts Débriefing de la mission

INTRODUCTION

A la Réunion, les éleveurs bovins doivent faire face à de nombreuses contraintes sanitaires dont les hémoparasitoses qui représentent une des premières causes de mortalité dans les cheptels. Ces hémoparasitoses, l'anaplasmose et les babésiose, sont transmises par les tiques et par les stomoxes et une des possibilités de contrôle de ces maladies repose sur le contrôle de leur vecteur. La tique du bétail, *Rhipicephalus microplus*, est l'unique vectrice des babésioses mais elle intervient également dans la transmission de l'anaplasmose, et à ce titre, il est important de développer et diversifier des moyens de lutte efficaces contre ce parasite qui soient économiquement supportables pour les éleveurs.

L'objectif de ce rapport est donc, à partir d'un état des lieux initial, de proposer des pistes pour accompagner le GDS, les intervenants en élevage et les éleveurs dans la mise en place d'une lutte intégrée pour une gestion efficace et pérenne des tiques dans les exploitations.

EVALUATION DU PROGRAMME ACTUEL DE LUTTE CONTRE LES TIQUES

❖ *Contexte général*

Les filières bovines réunionnaises ont la particularité de reposer sur l'élevage de races françaises dans des conditions tropicales. Ces races (Limousine, Charolaise, Prim'Holstein...), initialement sélectionnées en conditions tempérées, se retrouvent ainsi soumis à des différents stress (climatique, alimentaire, parasitaire...) propres au contexte tropical.

D'un point de vue parasitaire, les bovins sont ici exposés à différentes tiques tropicales dont une, *Rhipicephalus microplus*, responsable de la transmission des hémoparasitoses impactant lourdement les filières laitière et allaitante. Les conditions climatiques réunionnaises sont favorables au développement de cette tique une majeure partie de l'année obligeant les éleveurs à avoir recours à des acaricides chimiques pour la contrôler.

Ces tiques se développant dans les pâturages, elles touchent essentiellement les élevages allaitants ainsi que les élevages laitiers où les animaux ont accès aux pâturages.

L'ampleur de cette problématique 'tique' est estimée de façon très variable selon les interlocuteurs rencontrés. Elle semble plus préoccupante dans les hauts de l'Ouest mais des éleveurs rencontrés sur la Plaine des Cafres et jusqu'au volcan nous ont signalé que c'était

également un problème important dans leurs élevages, certains étant obligé de traiter toutes les 2-3 semaines contre les tiques. En revanche, les vétérinaires rencontrés considèrent que les tiques et les babésioses ne sont pas une contrainte majeure, alors que l'anaplasmose, transmise par les stomoxes, mais également par les tiques, entraîne des pertes beaucoup plus importantes.

Cependant, tous ces interlocuteurs se sont montrés désireux de mieux connaître la biologie des tiques ainsi que des moyens de lutte autres que les produits chimiques pour élargir le panel des méthodes de contrôle et réduire l'usage des pesticides dans les élevages.

❖ *Gestion actuelle des tiques*

▪ *Lutte chimique*

A l'heure actuelle dans les élevages réunionnais, l'essentiel des traitements contre les tiques sont réalisés par aspersion (Sébacil®, Butox 50%®, Tactic®). Or, avec ce mode d'application – et d'autant plus si des résistances sont en cours de développement ou si les acaricides ne sont pas correctement utilisés, les traitements permettent de tuer une majorité des tiques présentes sur les animaux mais une partie des tiques peuvent survivre au traitement (tiques fixées dans des plis, zone axillaire ou inguinale...). Elles vont alors finir leur cycle et tomber dans les parcelles. Ces tiques vont ensuite produire des œufs puis des larves qui à nouveau contamineront les animaux quand ils séjourneront sur ces parcelles.

Il faut donc considérer ces traitements comme une aide pour soulager les animaux mais, en aucun cas, dans ces conditions, ils ne permettent d'éliminer les tiques d'une exploitation, **ni même de gérer de façon durable les populations de tiques dans un élevage.**

De plus, le recours régulier aux pesticides entraîne inexorablement le développement des **phénomènes de résistance** de la part des parasites qui, tôt ou tard, finissent par survivre aux traitements réalisés par les éleveurs. Les éleveurs rencontrés ne semblent pas observer de baisse d'efficacité des acaricides employés mais la deltaméthrine (Butox®) est utilisée depuis plus de 20 ans à la Réunion pour lutter contre les tiques et il faut craindre et surveiller une émergence de ce problème.

- *Lutte agronomique*

L'élimination des plantes envahissantes des pâturages pour lutter contre les tiques a été mise en place dans les élevages réunionnais depuis une quinzaine d'années avec des résultats satisfaisants. Cette approche est intéressante car elle permet d'une part de diminuer les sites favorables au développement des tiques mais elle permet également de gagner en surface fourragère pour les animaux.

Cependant, ceci ne représente qu'une petite partie de ce qu'il est possible de faire en terme de gestion des pâturages et la lutte agronomique doit prendre en compte l'exploitation dans son ensemble. Cela nécessite d'étudier autant les pratiques de l'éleveur que la gestion des parcelles. Elle devra donc être revue et développée pour assurer une gestion durable des tiques dans les exploitations.

Par exemple, dans une partie des élevages visités, les animaux sont vus tous les matins sur une plate-forme où ils sont alimentés. Les bovins s'y rendent en passant par des couloirs desservant plusieurs parcelles. Ces couloirs représentent alors des zones à risque dans la gestion des tiques. En effet, trois semaines après être montés au stade de larves sur les animaux, les tiques se gorgent pendant la nuit précédant leur chute au sol et se détachent tôt le matin. Les animaux passent dans ces couloirs à l'heure où les tiques se détachent. Les couloirs seront donc régulièrement infestés et vont représenter une zone où les bovins pourront régulièrement se recontaminer.

De plus, quand l'éleveur voit des tiques sur ses animaux, il programme un traitement le lendemain, il y a donc un risque important de contamination des zones fréquentées par les animaux dans les 24h séparant l'observation des tiques et le traitement.

Ces pratiques seront à prendre en compte dans la gestion des tiques à l'échelle de l'exploitation.

- ❖ *Appui du GDS*

Dans le cadre du programme de lutte contre les hémoparasitoses et leurs vecteurs porté par le GDS, le message technique proposé aux éleveurs porte essentiellement sur la maîtrise des populations de vecteurs et surtout des stomoxes car ces dernières sont présentes en grande quantité dans la majorité des élevages et représentent à ce titre une gêne importante.

La gestion des tiques concerne moins d'éleveurs. Le message technique délivré par le GDS porte sur deux axes : l'élimination des plantes pouvant servir de zones de développement pour les tiques (marie-éreinées, gestion de l'enherbement des barrières, élimination des

refus...) et la bonne utilisation des acaricides chimiques (respect des dosages et quantité à appliquer sur les animaux).

Le conseil est délivré par trois techniciens ruminants, la lutte intégrée n'étant qu'une de leurs nombreuses missions. Les diagnostics personnalisés sont proposés aux nouveaux adhérents et aux éleveurs confrontés à des infestations massives de tiques ou pertes attribuées aux hémoparasitoses qui en font la demande. Ces diagnostics débouchent sur des propositions immédiates visant à soulager les animaux par l'utilisation d'acaricides ; les propositions de fond portent sur l'aménagement des prairies. Ces visites restent ponctuelles et il n'y a pas forcément d'accompagnement régulier des éleveurs sur ce point.

❖ *Recommandations*

Etant donné que les personnes rencontrées n'ont pas toutes la même perception de l'ampleur que représentent les tiques dans les filières d'élevage, cela brouille le message délivré aux éleveurs. Il serait donc intéressant avant tout de réaliser une **enquête auprès des éleveurs** – voire étendre l'enquête à la question des stomoxes et des hémoparasitoses en général – pour quantifier ce(s) problème(s) en termes de coût, d'impact... Cela permettrait d'avoir une donnée fiable lors des discussions avec les partenaires et de prioriser les mesures à mettre en place au sein du GDS. Des enquêtes similaires, à dire d'éleveurs, avaient déjà été menées entre 2004 et 2006 et il serait intéressant de voir l'évolution de la situation.

Les politiques d'éradication des tiques ont échoué dans tous les programmes de lutte mis en place à travers le monde. Le message, qu'il faut aujourd'hui admettre et porter, est qu'il y aura toujours des tiques dans les exploitations mais il faut arriver à les maintenir à un niveau compatible avec l'élevage des bovins.

Comme nous l'avons évoqué, il faut craindre tôt ou tard le développement de phénomène de résistance des tiques aux acaricides et il est recommandé de mettre en place les **tests de résistance** pour évaluer l'efficacité des acaricides utilisés. Il est en effet difficile de mettre en place un programme de lutte efficace sans connaître l'efficacité des produits utilisés.

Par ailleurs, à ce jour, il n'est pas annoncé le développement de nouvelles molécules pour lutter contre les tiques en élevage et il faut d'ores et déjà considérer que le contrôle uniquement chimique des tiques ne pourra pas suffire à moyen ou long terme.

De plus, le message technique porté par le GDS est resté le même depuis une quinzaine d'années, donc soit les éleveurs ont compris et intégré les messages, soit ils n'ont pas - et ne vont pas - changé. Il convient donc de renouveler et diversifier le message technique pour faire avancer les éleveurs.

Il est donc nécessaire de **développer des mesures de lutte alternatives** à la lutte chimique pour maîtriser ces parasites tout en diminuant le recours aux produits chimiques.

Ces méthodes de lutte présentées ci-dessous ont fait preuve de leur efficacité mais leur mise en œuvre nécessite un accompagnement régulier par des techniciens formés à ces outils.

Il faudra enfin et surtout que les actions à mettre en place soient décidées et validées **collectivement** au cours de discussions réunissant l'ensemble des partenaires (éleveurs, techniciens, Sica, vétérinaires...) pour que les messages soient portés d'une même voix par tous auprès des éleveurs.

Il existe deux approches pour gérer les tiques dans un élevage : soit élever des animaux sensibles à ces parasites en mettant tout en œuvre pour contrôler ces parasites – ceci nécessite notamment d’avoir des acaricides toujours efficaces et le développement de l’ensemble des moyens de lutte disponibles au sein de programme de lutte intégrée, soit élever des animaux naturellement résistants à ces parasites. Ces deux options ne s’opposent pas et peuvent être menées en parallèle. Mais cette réflexion doit être menée à l’échelle de l’éleveur et de la filière, car toute décision sur le choix génétique au sein de l’élevage aura des conséquences zootechniques dont il faut bien évaluer la portée.

1. Vaccin anti-tique

Un vaccin anti-tique a été développé dans les années 80 et a été commercialisé en Australie pendant les années 90. Un vaccin similaire (Gavac®, produit à Cuba) est toujours commercialisé en Amérique Centrale et du Sud. L’antigène de ce vaccin est une protéine du tube digestif de la tique (protéine Bm86) et lorsque la tique va faire son repas de sang, elle va ingérer des anti-corps dirigés contre cette protéine. L’utilisation de ce vaccin entraîne des lésions hémorragiques chez les tiques se gorgeant sur des animaux vaccinés, ce qui va notamment entraîner une baisse des capacités de reproduction des tiques. Les tiques vont alors produire moins de larves, ce qui va diminuer la pression parasitaire dans les pâturages. Les études menées dans différents pays indiquent une diminution par 2 à 3 de l’usage des acaricides suite à la mise en place de la vaccination dans les troupeaux. La vaccination entraîne également une diminution de la transmission de la babésiose au sein des troupeaux.

2. Développement de la *Lutte agronomique*

Un des volets de la lutte agronomique consiste à gérer les rotations des troupeaux en sachant si une parcelle est infestée ou non par les larves de tiques avant de mettre le troupeau. Ceci nécessite d’enregistrer les rotations des troupeaux et de noter quand des tiques sont observées sur les animaux.

A partir du moment où sont connus les temps de développement des tiques dans les pâturages (ponte, durée de maturation des œufs, durée de survie des larves...), il est possible d’estimer quand une parcelle risque d’héberger des larves de tiques susceptibles d’infester les animaux. Cette méthode permet d’anticiper les futures infestations de tiques et de gérer les troupeaux en conséquence.

Mais la lutte agronomique repose également sur l'identification et la gestion des points à risque au sein d'une exploitation en terme de tiques (déplacement des animaux, croisement des troupeaux, efficacité des produits, technique de traitement...).

Ces approches nécessitent un certain investissement en terme de temps de la part des éleveurs mais s'avèrent très efficaces pour gérer les tiques et est totalement gratuite.

3. Recours à la **Lutte génétique**

L'élevage d'animaux résistant à la tique est une solution durable pour la gestion de ce parasite. Cela peut s'envisager soit par l'utilisation de races naturellement résistantes à la tique, soit par la sélection d'animaux plus résistants au sein des troupeaux avec la réforme des animaux les plus sensibles.

- Utilisation de races résistantes

Du fait de leurs origines, certaines races sont naturellement résistantes à la tique.

Les races de *Bos indicus*, dont le Brahman et ses dérivés, sont les races les plus résistantes à la tique. Elles sont très bien adaptées aux milieux tropicaux, avec une bonne résistance également à des épisodes de sécheresse et aux parasites interne mais certaines peuvent avoir un tempérament parfois difficile. Il est par ailleurs connu que les animaux de race Brahman ou ses dérivés résistent mieux aux hémoparasitoses.

Parmi les *Bos taurus*, dont sont issues les races européennes, certains rameaux se sont développés dans des conditions tropicales et ont développé une bonne résistance à la tique. Ils sont dénommées '*Bos taurus* adaptés aux conditions tropicale' et différentes races existent (Sénépol, Criollo, Africander...). Ces races ont des performances zootechniques plus proches des races européennes que les *Bos indicus*.

En élevage laitier, il est aussi possible d'utiliser des races issues de croisements avec des *Bos indicus* et la race Jersiaise semble également relativement résistante à la tique mais les performances de production sont alors à prendre en compte.

L'utilisation de ces animaux en race pure ou en croisement – avec un minimum de 50% de sang dit 'résistant' - permet ainsi de maintenir les élevages sans avoir à traiter les animaux contre les tiques, quand les animaux sont élevés dans de bonnes conditions.

- Sélection intra-troupeau

Un autre aspect de la lutte génétique concerne l'identification, au sein d'un troupeau, des animaux les plus sensibles aux tiques pour les réformer. En notant régulièrement les animaux les plus infestés, l'objectif est de voir si certains animaux sont toujours plus sensibles pour les éliminer. Une étude australienne menée dans ce sens a permis, en 15 ans, de diviser par 7 le nombre de tiques sur les animaux. Ce travail, à long terme, peut être une piste intéressante à initier pour diminuer les infestations parasitaires dans les élevages de bovins de race sensible à la tique.

4. Utilisation d'acaricides à base de **substances naturelles**

Différents acaricides à base d'huiles essentielles sont commercialisés avec une efficacité intéressante contre la tique du bétail. Ceux-ci peuvent présenter une alternative aux acaricides chimiques.

Deux produits ont notamment montré des activités acaricides intéressantes au laboratoire et sur le terrain en Nouvelle-Calédonie et aux Etats-Unis.

Le premier s'administre en spray à main lorsque l'éleveur voit des tiques. Son usage n'est pas recommandé en élevage allaitant car il ne permet pas de couvrir l'ensemble du corps de l'animal mais il est ainsi intéressant pour les éleveurs laitiers lors de la traite.

Le second s'applique en aspersion sur l'ensemble du corps mais son coût encore élevé ne permet pas un usage régulier dans les troupeaux.

La recherche de nouvelles molécules au sein de la biodiversité est actuellement en pleine expansion et plusieurs plantes semblent présenter des activités intéressantes. Une plante réunionnaise a, à ce titre, déjà été étudiée dans le cadre d'une thèse avec le laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments de l'Université de La Réunion et a abouti à l'isolement de la molécule acaricide. Il s'agit ici du domaine de la recherche dont les résultats pour une utilisation en élevage ne sont pas attendus avant plusieurs années.

1. *Bonnes pratiques pour la Lutte chimique*

1.a. Gestion raisonnée des **traitements acaricides**

Il est important de maintenir les messages sur les bonnes pratiques d'utilisation des acaricides. En effet, une mauvaise utilisation de ces acaricides est à l'origine du développement rapide des phénomènes de résistance des tiques à ces produits.

La **rotation des familles d'acaricide** au cours de l'année est aussi une pratique à promouvoir. Le Butox® est à privilégier en période de pullulation de stomoxes mais le Taktic® peut être préconisé en hiver quand la pression des mouches est moins importante. Enfin, les lactones macrocycliques (ivermectine...) peuvent être utilisées une à deux fois par an, en plus de leur efficacité sur les tiques en alternance avec les deux précédentes familles, elles assurent également une action vermifuge sur les bovins traités.

Comme nous l'avons vu précédemment, l'efficacité et l'utilité d'un traitement acaricide doit se réfléchir dans le cadre d'une lutte intégrée, en association notamment avec la gestion des rotations. Le conseil sur l'utilisation des produits devra par la suite évoluer avec la mise en place de cette lutte intégrée.

1.b. Gestion de **l'introduction des bovins** dans un élevage

Il est important que les éleveurs aient conscience du risque sanitaire que représente l'introduction d'un animal, tant en terme d'introduction de maladies que comme moyen de diffusion des tiques entre les élevages et il est essentiel que les éleveurs mettent en place des mesures de quarantaine.

Pour assurer un détiquage efficace lors de l'introduction d'animaux, il est recommandé d'utiliser un acaricide de la famille des lactones macrocycliques. C'est la famille chimique qui a été le moins utilisée jusqu'à présent, le risque d'avoir des résistances est donc faible et leur utilisation par injection ou en pour-on leur garantit une efficacité optimale. Il est ensuite nécessaire de garder les animaux introduits dans une zone de quarantaine (idéalement hors-sol) pendant une semaine. A savoir que lorsqu'un produit est utilisé en pour-on, il faut compter 4 à 5 jours pour que son effet soit complet sur les tiques.

1.c. Mise en place des **tests de résistance**

La mise en place de ces tests sera à prioriser car la connaissance de l'efficacité des acaricides est un préalable à la mise en place d'un programme de lutte efficient. Les éleveurs réunionnais utilisent de la deltaméthrine (Butox[®]) depuis plus de 20 ans pour lutter contre les tiques et, même si ces derniers ne semblent pas observer de problème d'efficacité, il est indispensable de connaître le degré de résistance des populations de tique vis-à-vis de cette molécule. Une étude, menée en 2004 au GDS dans 37 élevages, avait déjà révélé l'existence de résistance avérée dans un élevage et en cours de développement dans 13 autres.

La mise en œuvre pratique des tests de résistance initialement prévue n'a pas pu être réalisée car l'ensemble du matériel nécessaire n'avait pas encore été complètement livré.

Cependant, les protocoles utilisés à l'IAC ont été transmis au GDS et ont été revus en détail (Cf annexes).

Les protocoles transmis permettent d'évaluer l'efficacité de la deltaméthrine (Butox[®]), de l'amtiaz (Tactic[®]) et des lactones macrocycliques (Ivomec[®], Cydectine[®]...). Il serait intéressant de réaliser un bilan des souches de tiques réunionnaises vis-à-vis de ces trois familles d'acaricides mais cela peut s'avérer chronophage et l'efficacité de la deltaméthrine sera à vérifier en priorité.

Ces tests peuvent être réalisés dans 2 optiques :

1/ réaliser une enquête à l'échelle du département pour avoir une photographie à un instant donné de l'état des résistances des tiques réunionnaises aux différentes familles d'acaricides. La difficulté réside dans la collecte de tiques gorgées dans un nombre suffisant d'élevages. Une collecte sur les animaux à l'abattoir peut être une solution pour faciliter cette étape ;

2/ fournir une prestation aux éleveurs. Dans ce cadre, l'éleveur, souhaitant vérifier l'efficacité des produits utilisés dans son élevage, pourrait collecter des tiques et les déposer au GDS pour analyse. Cela permet alors de suivre l'évolution des résistances et d'apporter un conseil individuel sur les produits à éviter et ceux à utiliser dans l'élevage.

Ces deux approches peuvent être réalisées successivement. En effet, la réalisation d'un bilan initial sur l'ensemble des familles d'acaricides permettrait de cibler quels seraient les tests à mettre en place par la suite en routine.

Cette étude initiale nécessite d'avoir une personne dédiée sur une période de 5 mois et peut s'envisager dans le cadre d'un stage. Elle permettrait de réaliser suffisamment d'analyses sur un temps donné pour mettre au point et valider les techniques qui pourraient ensuite être réalisées en routine par une personne dédiée au GDS.

2. Développement d'une *lutte intégrée*

2.a. **Vaccin** anti-tique

L'usage de ce vaccin pourrait être un outil intéressant pour les éleveurs réunionnais pour abaisser la pression parasitaire dans les élevages, limiter la transmission de la babésiose et diminuer l'usage des acaricides. Un vaccin est en cours de développement en Nouvelle-Calédonie, il entraîne une diminution de l'ordre de 75% des capacités de reproduction des tiques et les derniers essais en élevage ont lieu actuellement.

Deux options sont envisageables : soit utiliser le vaccin produit en Nouvelle-Calédonie, soit développer un vaccin propre à la Réunion. La première option est la plus simple mais elle nécessite de savoir au préalable si les populations de tiques réunionnaises sont suffisamment proches des tiques calédoniennes pour que le vaccin soit efficace. Il faudra pour cela réaliser le séquençage de la protéine digestive de tiques prélevées dans les élevages et comparer les séquences. Cette étude peut notamment être réalisée par l'équipe du CSIRO de Brisbane sur de l'ARN de tique.

S'il existe une trop grande variabilité génétique entre les souches réunionnaises et calédoniennes, il faudrait alors réaliser un vaccin propre à la Réunion. Tous les contacts sont déjà identifiés et ce programme serait tout à fait envisageable.

Ce vaccin n'étant pas homologué à l'heure actuelle en France, il faudra demander au préalable une autorisation d'utilisation à la Réunion. Des discussions ont eu lieu pendant la semaine avec les services vétérinaires. La demande d'autorisation est à formuler auprès de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament mais les services vétérinaires se sont montrés très favorables à cette démarche.

Il faut cependant savoir que, du fait de son mode d'action, les animaux vaccinés vont tout de même avoir des tiques. Si la vaccination se met en place à la Réunion, il faudra donc prévoir un accompagnement technique des éleveurs pour qu'ils connaissent le mode d'action et ne se découragent pas s'ils voient des tiques sur leurs animaux vaccinés.

2.b. Développement de la **Lutte agronomique**

Il faut continuer à accompagner les éleveurs dans l'élimination des zones refuges pour les tiques dans les pâturages. Les éleveurs rencontrés ont bien intégré ce message et sont satisfaits des résultats observés. Mais il faut aller plus loin dans l'approche globale de l'exploitation pour assurer une gestion pérenne des tiques.

Comme évoqué précédemment, il est dans un premier temps nécessaire d'identifier quels sont les points critiques dans les élevages en ce qui concerne la gestion des tiques. Ceci passe par un audit complet de l'élevage et des pratiques de l'éleveur. Il repose également sur une

bonne connaissance de la biologie des tiques. Ces points ont été abordés lors des formations et il convient à présent de voir comment les adapter aux conditions d'élevage réunionnaises. Un appui technique est possible à ce niveau, dans le prolongement des formations, pour identifier les points à risque dans la gestion des troupeaux et des parcelles au sein des élevages.

Un second point concerne l'évaluation de l'infestation des parcelles en fonction des précédentes observations de tiques sur les animaux. Cela permet de savoir si les bovins seront en contact avec une population de larves de tiques en rentrant dans un pâturage. Si cette information est connue, cela permet de gérer les traitements sans laisser les tiques se gorger (et donc de recontaminer les parcelles).

Cette approche peut permettre de réduire fortement le recours aux traitements chimiques sur les animaux et de diminuer l'impact des infestations, puisque dans les conditions néo-calédoniennes, il a été observé une baisse de 60 à 90% du nombre des traitements chimiques suite à la mise en place de ces recommandations.

Cependant, elle nécessite de connaître les paramètres de développement des tiques (ponte, durée de maturation des œufs, temps de survie des larves...) dans conditions d'élevage locales et une étude préalable sera nécessaire pour déterminer les paramètres biologiques de développement des tiques dans les pâturages des différentes zones d'élevage de la Réunion.

Il est dans ce cadre recommandé de commencer par **suivre de manière très rapprochée 4 ou 5 élevages** en notant les rotations et les observations de tiques pour comprendre et identifier les pratiques à risque dans les élevages réunionnais.

Un appui technique de l'IAC est envisageable à ce niveau et l'embauche d'un stagiaire pour l'analyse des paramètres climatiques et de développement des tiques serait à envisager après une première année de suivi.

Par ailleurs, un suivi des rotations est déjà réalisé dans certains élevages par l'ARP pour la gestion de la ressource fourragère. L'ARP dispose également des parcelles pour ces suivis. Il est de ce fait possible de commencer les suivis dans ces élevages avec ces outils pour mettre en place une gestion agronomique des tiques. La gestion de la ressource fourragère est en effet indissociable de la gestion des tiques car il faut considérer qu'un animal bien nourri résistera mieux aux infestations de tiques.

Il est donc important de développer des suivis conjoints en portant un message unique auprès des éleveurs sur la conduite de ses pâturages pour gérer au mieux sa ressource fourragère et ses tiques pour améliorer son adhésion à cette méthode de lutte.

2.c. Recours à la **Lutte génétique**

Hormis la présence des bœufs Moka et de quelques Brahmans, tous les bovins élevés à la Réunion sont issus de races sensibles à la tique.

L'élevage allaitant réunionnais s'est orienté vers le développement des races Limousine, Charolaise et Blonde d'Aquitaine avec de bons résultats. Cependant, ces races n'ont jamais été en contact avec cette tique dans leur bassin d'origine et le contrôle strict de ces parasites est une condition sine qua non pour le maintien de ces animaux dans les conditions d'élevage réunionnaises avec toutes les contraintes que cela engendre.

Dans ce cadre, une sélection intra-troupeau des animaux les plus résistants et la réforme des plus sensibles serait intéressante à mettre en place ou sensibiliser les éleveurs. Dans sa forme la plus simple, cela consiste à noter 3 à 4 fois par an lors des traitements, le numéro des vaches les plus infestées pour regarder en fin d'année quelles sont les animaux qui sont régulièrement les plus parasités. L'objectif serait alors d'inclure ce critère parmi les autres critères de réforme des animaux.

Cette approche, sur du long terme, permettrait de diminuer la pression parasitaire dans les pâturages et d'améliorer la résistance globale des troupeaux.

De même, l'élevage laitier repose essentiellement sur les races Prim'Holstein. La réforme des animaux les plus sensibles est une piste à développer même si les contraintes rencontrées en élevage laitier rend plus difficile la réforme des animaux sur ce critère.

Certains éleveurs rencontrés nous ont également signalé que les bovins de race Salers présents à la Réunion semblaient moins sensibles aux tiques que les bovins limousins. Il pourrait être intéressant de confirmer cette observation pour ensuite pouvoir utiliser cette race, soit en race pure, soit en croisement.

Dans le cadre de la préservation de la race Moka, il pourrait être également d'étudier dans quelle mesure ces animaux sont résistants aux tiques du bétail pour un usage de cette race en croisement dans des élevages où il peut être difficile de contrôler et de traiter les animaux.

Même s'elle ne semble pas être d'actualité à ce jour à la Réunion, l'utilisation de races résistantes à la tique pourrait avoir une utilité pour les éleveurs ne pouvant pas gérer correctement les tiques (environnement trop difficile, surveillance et/ou gestion compliquées des troupeaux...). C'est un débat qui devra avoir lieu entre tous les intervenants des filières pour qu'une décision collective soit prise en évaluant les avantages et les inconvénients des différentes pistes. Le choix de la (ou des) race(s) devra alors être bien réfléchi pour qu'il prenne en compte les contraintes de l'élevage réunionnais.

2.d. Utilisation d'acaricides à base de **substances naturelles**

Les produits présentés précédemment peuvent être proposés aux éleveurs laitiers et/ou allaitants comme alternative ponctuelle à un traitement à base d'acaricides chimiques.

Différents éleveurs rencontrés au cours de cette semaine nous ont également signalé des remèdes « traditionnels » pour lutter contre les tiques. Il serait intéressant de réaliser un recensement de ces méthodes pour les évaluer ensuite en conditions expérimentales.

1. *Espaces de discussion*

Les discussions que nous avons pu avoir tout au long de cette semaine avec différents acteurs de la filière (éleveurs, techniciens, vétérinaires, Sica-Révia) ont révélé des points de vue parfois très divergents sur la problématique des tiques, des hémoparasitoses et sur la manière de gérer ces problèmes. La gestion des tiques et des babésioses ne semblent plus réellement un problème pour les vétérinaires alors que pour certaines éleveurs rencontrés, cela reste un problème important, certains réalisant une douzaine de traitements acaricides par an, d'autres étant obligés de traiter toutes les 2 à 3 semaines.

La gestion de l'anaplasnose, transmise essentiellement par les stomoxes et dans une certaine mesure par les tiques, semble plus préoccupante. Mais, alors que certains intervenants considèrent qu'il vaut mieux exposer les animaux jeunes aux hémoparasitoses pour les immuniser quitte à avoir des formes cliniques sporadiques à l'âge adulte, d'autres indiquent qu'il faut mieux viser une baisse de prévalence de cette pathologie dans les troupeaux. A ce titre, il n'existe pas de politique « filière » de gestion de ces hémoparasitoses, à l'origine de cas cliniques dans les élevages ou les centres d'allotement lors d'échanges d'animaux entre des élevages « naïfs » et des élevages ayant de fortes prévalences en hémoparasitoses.

Cette absence de consensus brouille les messages reçus par les éleveurs, ce qui peut également entraîner leur manque d'adhésion aux actions mises en place par le GDS.

Enfin, la succession d'études et de programmes de lutte contre les maladies sanguines et leurs vecteurs, sans qu'un cap à moyen-long terme n'ait été défini, semble être à l'origine d'un manque d'adhésion d'une partie des partenaires aux programmes mis en place par le GDS.

Dans ce cadre, il pourrait être intéressant de mettre en place des **espaces de discussions** pour que tous les intervenants de la filière (éleveurs, représentants des structures agricoles, les services techniques, les services vétérinaires, les vétérinaires, la recherche...) puissent exposer leur point de vue afin de définir collectivement des objectifs à court, moyen et long termes sur lesquels viendraient se structurer les programmes de recherche et les moyens de lutte à mettre en œuvre. Cela permettrait de s'entendre sur les messages à diffuser et sur les moyens à mettre en œuvre pour y arriver, qu'il s'agisse de la gestion des tiques, des stomoxes et des hémoparasitoses. L'objectif est bien de délivrer un message clair, unique et intelligible par l'éleveur.

2. 'Etats Généraux'

Si cet espace de discussion semble compliqué à mettre en place, ils pourraient être dans un premier temps remplacé par l'organisation d'une ou plusieurs journées dédiées à ces questions sous forme « d'**Etats Généraux des hémoparasitoses et de leurs vecteurs** ». Ils permettraient de créer un focus ponctuel sur ces problèmes en mobilisant tous les acteurs locaux, et en faisant éventuellement intervenir des experts extérieurs. L'objectif de ces Etats Généraux serait d'aboutir à la rédaction d'une feuille de route validée par tous des actions à mener à court, moyen et long termes.

3. Visites d'élevage dédiées aux tiques

A l'échelle de l'éleveur, il pourrait être intéressant – dans les élevages demandeurs ou rencontrant des problèmes – de mettre en place une **visite conjointe** entre le vétérinaire sanitaire, les techniciens de l'exploitation, et le GDS. Cette visite, annuelle dans un premier temps, permettrait de définir avec l'éleveur et l'ensemble des personnes intervenant dans son élevage, les protocoles de gestion des hémoparasitoses et de leurs vecteurs avec un message commun validé par tous. Ces visites permettraient de mettre à plat les objectifs personnels et professionnels de l'éleveur, les moyens dont il dispose, les difficultés qu'il rencontre et de mettre en place une véritable approche intégrée des problèmes allant de la gestion de la ressource fourragère à l'utilisation des produits vétérinaires en passant par le développement des outils d'une lutte intégrée, et ce, validée par tous. Elles permettent enfin de créer du lien entre les personnes intervenant dans les élevages.

Le GDS, structure d'éleveurs et organisme à vocation sanitaire, semble être l'interlocuteur privilégié pour la mise en place de ces actions.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La possibilité de maintenir durablement des races sensibles à la tique (Limousin, Charolais, Blonde d'Aquitaine, Prim'Holstein...) à la Réunion passe par la nécessité de préserver l'efficacité des acaricides et donc de mettre en place l'ensemble des mesures alternatives pour diminuer leur utilisation.

La mise en place des mesures autres que chimique est toujours difficile tant que ces produits semblent être efficaces. En effet un traitement chimique représente une solution simple et rapide à mettre en œuvre avec des résultats observables le jour même alors que les autres mesures sont plus contraignantes avec des résultats différés dans le temps. La première mesure consiste donc à mettre en place les tests de résistance pour évaluer l'efficacité de ces produits et commencer à alerter les éleveurs si un début de résistance est observé.

Mais dans ce cadre, il est d'ores et déjà important de développer les méthodes de lutte présentées dans ce document pour qu'elles soient disponibles auprès des éleveurs voulant diminuer l'usage des acaricides chimiques. Le recours aux méthodes alternatives aux traitements chimiques s'imposera à moyen ou long terme, soit dans le cadre du développement inéluctable des résistances, soit sous la pression du consommateur et/ou du législateur demandeur d'une production ayant recours à un usage de plus en plus limité aux produits chimiques.

Face à l'ensemble des actions à mettre en œuvre (développement de la lutte agronomique dans les élevages, étude pour déterminer les paramètres biologiques de développement des tiques dans les pâturages, mise en place des tests de résistance...), il semble important de remobiliser les techniciens ruminants du GDS sur ces questions voire qu'un technicien puisse être positionné sur cette problématique « tique » en appui au vétérinaire responsable de ce programme. La mise en place d'un programme de lutte intégrée contre les tiques ne pourra ainsi se faire sans une volonté et un engagement fort du GDS avec la définition et la mise en œuvre des moyens techniques et humains pour y arriver.

Mais avant tout, il est essentiel que l'ensemble des partenaires intervenant dans les élevages s'accordent sur les orientations à donner aux programmes de recherche et développement pour avoir une stratégie à court, moyen et long termes sur les actions à mettre en œuvre afin d'accompagner les éleveurs réunionnais dans la gestion des hémoparasitoses et de leurs vecteurs.



ANNEXES

Annexe 1 : protocole du test de résistance des tiques à la Deltaméthrine

Annexe 2 : protocole du test de résistance des tiques à l'Amitraz

Annexe 3 : protocole du test de résistance des tiques aux Lactones Macrocycliques (Avermectines...)

**Test de résistance des tiques à la Deltaméthrine
(Larval Packet Test)**

Validé par : T. HUE

Emis le 29 septembre 2017

Nombre de pages : 7

1. Préparation de la gamme de dilution mère (Deltaméthrine dans l'huile d'olive)

➤ **Matériel nécessaire :**

- 1 seringue de 20 ml
- 1 seringue de 1 ml
- 10 seringues de 50 ml
- 10 barreaux magnétiques
- 10 grands flacons
- 1 bécher de 50 ml pour le Butox
- 1 bécher de 200 ml pour l'huile d'olive
- 1 agitateur magnétique

➤ **Acaricide utilisé :**

- Mettre des gants propres
- Contrôler l'aspect de l'acaricide avant l'utilisation
- Bien agiter le bidon de Butox
- Mettre environ 15 ml de Butox dans un petit bécher de 50 ml à l'aide d'une seringue de 20 ml. Cette opération sera réalisée sur un plateau à l'écart afin de ne pas contaminer l'ensemble du matériel avec du Butox.
- Une fois les préparations effectuées, jeter le Butox restant du bécher dans un bidon blanc prévue à cet effet.
- **Ne pas remettre le Butox restant dans le bidon d'origine.**
- Jeter les gants.

Le bidon de Butox peut-être utilisé pendant 6 mois après ouverture. Noter la date d'ouverture du produit directement sur le bidon.

Pour une population de tiques sensibles faire une gamme allant de 0,025 g/l à 1,6 g/l.

Pour une confirmation de résistance faire une gamme allant de 0,025 g/l à 12,8 g/l.

➤ **Mode opératoire**

Préparer 10 flacons en les numérotant (ou en mettant la concentration d'acaricide correspondant)

Remplir le premier flacon avec 37,2 ml d'huile d'olive et les 9 autres flacons avec 25 ml d'huile d'olive.

- Solution à 12,8 g/l : rajouter 12,8 ml de Butox au 37,2 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 10 min.
- Solution à 6,4 g/l : prélever 25 ml de la solution à 12,8 g/l et les rajouter au 25 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 10 min.
- Solution à 3,2 g/l : prélever 25 ml de la solution à 6,4 g/l et les rajouter au 25 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 10 min.
- Solution à 1,6 g/l : prélever 25 ml de la solution à 3,2 g/l et les rajouter au 25 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 10 min.
- Solution à 0,8 g/l : prélever 25 ml de la solution à 1,6 g/l et les rajouter au 25 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 10 min.
- Solution à 0,4 g/l : prélever 25 ml de la solution à 0,8 g/l et les rajouter au 25 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 10 min.
- Solution à 0,2 g/l : prélever 25 ml de la solution à 0,4 g/l et les rajouter au 25 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 10 min.
- Solution à 0,1 g/l : prélever 25 ml de la solution à 0,2 g/l et les rajouter au 25 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 10 min.
- Solution à 0,05 g/l : prélever 25 ml de la solution à 0,1 g/l et les rajouter au 25 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 5 min.
- Solution à 0,025 g/l : prélever 25 ml de la solution à 0,05 g/l et les rajouter au 25 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 5 min.

Remarque :

Les premiers flacons 12,8 g/l jusqu'à 0,1 g/l seront agités pendant **10 min**. Les suivants moins visqueux le seront pendant **5 min**.

Cette opération doit se faire sous la hotte.

2. Préparation de la gamme de dilution pour la réalisation d'un test – **Le jour du test.**

➤ **Matériel nécessaire**

- Un bécher 100 ml séché pour mettre l'acétone (et réservé à cet usage) avec le couvercle d'une petite boîte de pétri en verre pour le fermer
- 11 petits flacons dit bijou avec bouchons étiquetés selon la gamme de concentrations qu'on veut utiliser
- 1 micropipette réglée à 1 ml
- 11 cônes jetables
- 1 paire de gants
- Un stylo noir effaçable à l'alcool (petit marqueur type Zebra Pen)

➤ **Mode opératoire**

Sous la hotte on prélève pour chaque concentration, avec la pipette, 1 ml de solution mère pour 2 ml d'acétone, dans chaque flacon dit bijou selon le nombre de tests à réaliser.

- 1 ml de Butox pour 2 ml d'acétone pour une souche à tester
- 2 ml de Butox pour 4 ml d'acétone pour 2 souches à tester...

3. Imprégnation des papiers :

➤ **Matériel nécessaire :**

- 3 paires de gants.
- 1 grande boîte de pétri (pour disposer les 22 papiers Whatman)
- 1 grande boîte de pétri (pour disposer les 11 cônes)
- 1 micropipette réglée à 0.67 ml
- 11 cônes jetables
- 22 papiers Whatman
- 22 pinces métalliques
- 1 stylo noir effaçable à l'alcool (petit marqueur type zébra Pen)

➤ **Mode opératoire**

NB. Toute cette étape sera faite **sous la hotte**.

Afin d'éviter de contaminer, par des dépôts d'acaricides, l'ensemble du matériel lors de manipulations successives, prévoir le nombre exact de papiers, cônes et pinces nécessaires au test. On manipulera les papiers filtres imprégnés avec les pinces métalliques et non avec les doigts et **on travaillera avec des solutions de concentrations de plus en plus élevées en commençant par le témoin pour éviter les contaminations des papiers filtres.**

Avant de prélever les 0.67 ml des différentes concentrations de la gamme, les flacons seront agités pendant au moins 2 min.

- Préparation des papiers imprégnés :
 - Sur chaque pince métallique noter la concentration du papier correspondant au stylo noir effaçable (ou directement sur le papier à l'aide d'un crayon de bois).
 - Prélever **0.67 ml de solution** avec la micropipette.
 - Imprégner chaque papier doucement, sans faire d'amas de liquide sinon la solution traverse le nylon.
 - Imprégner 2 papiers par concentration.
 - Suspendre les papiers à l'aide de pinces métalliques sous la hotte. Chaque série de papiers (imprégnés à une concentration donnée d'acaricide) sera disposée sur une tige différente.

Une fois l'opération terminée, les papiers sont mis à sécher 1 heure sous la hotte.

4. Confection des pochettes et imprégnation de larves

➤ Matériel nécessaire

- 44 barrettes vertes (2 par pochette)
- 22 pinces métalliques
- 3 plateaux par test
- 1 petit plateau creuse rempli d'eau très chaude savonneuse
- 2 petits flacons pour disposer les tubes de larves
- 1 petite bassine remplie d'eau très chaude savonneuse
- 22 pinceaux (réservés à l'usage du Butox)
- Des larves âgées de 12 à 16 jours
- 2 paires de gants

➤ Mode opératoire

Des pochettes sont réalisées en repliant les papiers en deux et en plaçant les barrettes de chaque côté. On procède en commençant par les 2 papiers témoin puis en remontant des plus faibles concentrations (0,025 g/l) jusqu'aux plus fortes (12,8 g/l). Les pochettes seront disposées sur les plateaux accompagnées de leur pince d'origine pour les fermer une fois remplies. Une fois les pochettes préparées, changez de paire de gants.

- Les tubes de larves seront placés dans les petits flacons eux-mêmes disposés sur un plateau rempli d'eau savonneuse tiède.
- Ouvrir un tube de larves et attendre que les larves montent d'elles-mêmes en haut du tube pour les prélever.
- Prélever environ **100 larves** à l'aide d'un pinceau et les déposer dans chaque pochette. Refermer avec la pince métallique correspondante.
- **Changer de pinceaux pour chaque papier.** Une fois que le pinceau aura été en contact avec le papier imprégné d'acaricide, ne pas le remettre en contact avec les larves des tubes et le jeter dans la bassine d'eau savonneuse chaude.
- Faire de même avec les 2 pochettes pour chaque concentration.
- Lorsque le remplissage des pochettes est terminé, mettre les tubes de larves ouverts dans la bassine d'eau savonneuse chaude.
- Mettre les plateaux dans la chambre à tests en indiquant sur chaque plateau le nom de la population testée, le jour et l'heure à laquelle le test devra être lu.

5. Lecture du test

La lecture du test se fera le lendemain 24 heures après la mise en pochette.

➤ **Matériel nécessaire**

- Une loupe
- Une plaque chauffante
- 1 petit pinceau
- 1 bassine d'eau très chaude savonneuse pour tremper les barrettes plastiques
- 1 bassine d'eau très chaude savonneuse pour tremper les papiers Whatman
- Du papier absorbant
- Un compteur à main

➤ **Mode opératoire**

- Commencer par les 2 pochettes témoin, puis continuer vers les concentrations les plus fortes.
- Ouvrir la pochette et la positionner sur la plaque chauffante.
- Compter et noter **le nombre de larves en vie (capable de se déplacer)** en les retirant à l'aide du pinceau. Ces larves vivantes seront plongées dans l'eau très chaude savonneuse. Le pinceau sera essuyé sur le papier absorbant.
- Compter et noter le nombre de larves mortes restantes sur le papier.
- Mettre les barrettes, les pinces et les pinceaux en plastique à part dans une bassine d'eau très chaude savonneuse.
- Mettre les papiers Whatman à part dans une bassine d'eau très chaude savonneuse.
- Tremper les pinces métalliques dans l'acétone.
- Laver le pinceau avec du produit vaisselle à part.

Saisir les résultats sur Polo Plus

6. Interprétation des résultats

L'analyse des résultats par le logiciel Polo va calculer la Dose Létale 50 (DL50). Pour savoir si la souche testée est sensible, tolérante ou résistante à la deltaméthrine, il faut rapporter cette DL50 à une DL50 d'une souche de référence. Cette souche peut être une souche de référence internationale ou être prise parmi les souches de tiques de la Réunion dont la DL50 est la plus faible.

Le ratio entre les deux DL50 va permettre de calculer un Facteur de Résistance (FR).

Si :

- $FR < 3$: la souche est considérée comme sensible
- $3 < FR < 5$: la souche est considérée comme tolérante
- $FR > 5$: la souche est considérée comme résistante

**Test de résistance des tiques à l'Amitraz
(Larval Packet Test)**

Validé par : T. HUE

Emis le 16 mai 2016

Nombre de pages : 7 + 1

1. Préparation de la gamme dans l'huile pour la réalisation de 12 tests :
(voir tableau en annexe pour la réalisation d'un moins grand nombre de tests avec la même gamme)

➤ **Matériel nécessaire :**

- 3 seringues de 5 ml
- 1 seringue de 10 ml
- 1 seringue de 20 ml
- 11 grands flacons en verre
- 11 petits flacons en verre
- 1 bécher de 50 ml pour l'acétone
- 1 bécher de 200 ml pour l'huile d'olive
- 1 bécher de 50 ml pour le Taktic
- 11 barreaux magnétiques
- 1 agitateur magnétique
- 3 plateaux
- 25 ml d'acétone
- 150 ml d'huile d'olive vierge (toujours prendre la même marque)
- 3 ml de Taktic

➤ **Acaricide utilisé :**

Taktic solution à 12.5 % (125 g d'amitraz par litre de Taktic).

- Mettre des gants propres.
- Contrôler l'aspect de l'acaricide avant utilisation.
- Bien agiter le bidon de Taktic.
- Mettre dans un petit bécher un peu de Taktic (environ 3 ml) à l'aide d'une seringue de 10 ml. Cette opération sera réalisée sur un plateau à l'écart afin de ne pas contaminer l'ensemble du matériel avec du Taktic.

- Jeter le Taktic restant du bécher dans une bouteille prévue   cet effet.
- Ne pas remettre le Taktic restant dans le bidon d'origine.
- Jeter les gants.

Remarque : le bécher ayant servi à mettre le **Taktic sera lavé en dernier et séparément** dans une bassine prévue   cet effet à l'aide d'un **chiffon jetable**.

Le bidon de Taktic peut être utilisé pendant 6 mois après ouverture. Noter la date d'ouverture du produit directement sur le bidon.

➤ **Mode opératoire :**

Préparer 10 flacons en inscrivant sur chaque flacon la concentration d'acaricide correspondante (1%, 0.5 %, 0.25 %, 0.125 %, 0.0625 %, 0.031 %, 0.016 %, 0.008 %, 0.004 %, 0.002 %).

Remplir le premier flacon avec 23 ml d'huile d'olive et les 9 autres flacons avec 12.5 ml d'huile d'olive (  l'aide de la seringue de 20 ml).

- Solution mère à 1% : rajouter **2 ml de Taktic** au 23 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 10 min.
- Solution mère à 0,5% : Prélever 12.5 ml de solution à 1% et les rajouter au 12,5 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 10 min.
- Solution mère à 0,25% : Prélever 12.5 ml de solution à 0,5% et les rajouter au 12,5 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 10 min.
- Solution mère à 0,125% : Prélever 12.5 ml de solution à 0,25% et les rajouter au 12,5 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 6-7 min.
- Solution mère à 0,0625% : Prélever 12.5 ml de solution à 0,125% et les rajouter au 12,5 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 6-7 min.
- Solution mère à 0,031% : Prélever 12.5 ml de solution à 0,0625% et les rajouter au 12,5 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 6-7 min.
- Solution mère à 0,016% : Prélever 12.5 ml de solution à 0,031% et les rajouter au 12,5 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 6-7 min.
- Solution mère à 0,008% : Prélever 12.5 ml de solution à 0,016% et les rajouter au 12,5 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 6-7 min.
- Solution mère à 0,004% : Prélever 12.5 ml de solution à 0,008% et les rajouter au 12,5 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 6-7 min.
- Solution mère à 0,002% : Prélever 12.5 ml de solution à 0,004% et les rajouter au 12,5 ml d'huile d'olive. Mélanger pendant 6-7 min.

Remarque :

Les premiers flacons sont agités pendant 10 min et les suivants le sont pendant 6 à 7 min car ils sont moins visqueux.

2. Préparation de la gamme de dilution pour la réalisation d'un test – **Le jour du test.**

- Ajout de l'acétone :
 - Si le test est réalisé le jour même, l'ajout d'acétone dans les flacons peut se faire à la suite de la préparation de la gamme.
 - Si le test est prévu pour plus tard, la gamme peut être conservée un mois et l'acétone sera ajoutée le jour d'utilisation de la gamme. Les flacons seront alors conservés à l'abri de la lumière et la date de préparation de la gamme sera notée sur le plateau.

NB. Cette opération doit se faire **sous la hotte.**

➤ Matériel nécessaire

- Un bécher 100 ml séché pour mettre l'acétone (et réservé à cet usage) avec le couvercle d'une petite boîte de pétri en verre pour le fermer
- 11 petits flacons dit bijou avec bouchons étiquetés selon la gamme de concentrations qu'on veut utiliser
- 1 micropipette réglée à 1 ml
- 11 cônes jetables
- 1 paire de gants
- Un stylo noir effaçable à l'alcool (petit marqueur type Zebra Pen)

➤ Mode opératoire

Sous la hotte :

- Mettre 2 ml d'acétone dans 11 petits flacons identifiés avec les différentes concentrations (Témoin, 0.002 %, 0.004 %, 0.008 %, 0.016 %, 0.031 %, 0.0625 %, 0.125 %, 0.25 %, 0.5 %, 1%).
- Pour le témoin, ajouter 1 ml d'huile d'olive.
- Ajouter 1 ml de chaque solution préalablement préparées dans les flacons correspondant aux concentrations.
- Agiter manuellement chaque flacon quelques instants.

3. Imprégnation des papiers :

➤ Matériel nécessaire :

- 1 paire de gants
- 2 boîtes de pétri (pour disposer les papiers et les cônes ainsi que pour l'imprégnation)
- 1 micropipette réglée à 0.67 ml
- 11 cônes jetables
- 3 x 11 papiers de nylon découpés 75 x 85 mm (3 papiers par concentration)
- 3 x 11 pinces métalliques
- Un stylo noir effaçable à l'alcool (petit marqueur type Zebra Pen)

➤ Mode opératoire :

NB. Toute cette étape sera faite **sous la hotte**.

Afin d'éviter de contaminer par des dépôts d'acaricides l'ensemble du matériel lors de manipulations successives, prévoir le nombre exact de papiers, cônes et pinces nécessaires au test. On manipulera les papiers filtres imprégnés avec les pinces métalliques et non avec les doigts et **on travaillera avec des solutions de concentrations de plus en plus élevées en commençant par le témoin pour éviter les contaminations des papiers filtres**.

Avant de prélever les 0.67 ml des différentes concentrations de la gamme, les flacons seront agités pendant au moins 2 min.

- Préparation des papiers imprégnés :
 - Sur chaque pince métallique noter la concentration du papier correspondant au stylo noir effaçable (ou directement sur le papier à l'aide d'un crayon de bois).
 - Prélever **0.67 ml de solution** avec la micropipette.
 - Imprégner chaque papier doucement, sans faire d'amas de liquide sinon la solution traverse le nylon.
 - Imprégner 3 papiers par concentration.
 - Suspendre les papiers à l'aide de pinces métalliques sous la hotte. Chaque série de papiers (imprégnés à une concentration donnée d'acaricide) sera disposée sur une tige différente.

Une fois l'opération terminée, les papiers sont mis à sécher 2 heures sous la hotte.

Remarque : les flacons de la gamme seront correctement fermés et rangés à l'abri de la lumière pour une éventuelle utilisation postérieure.

4. Confection des pochettes et imprégnation de larves

➤ Matériel nécessaire :

- 66 barrettes en plastique noir (2 par pochette)
- 33 pinces métalliques
- 3 plateaux par test
- 1 petit plateau rempli d'eau tiède savonneuse
- 2 petits flacons en verre pour disposer les tubes de larves
- 1 bassine remplie d'eau savonneuse très chaude
- 33 pinceaux (réservés à l'usage du Tactic)
- Au moins 2 tubes de larves âgées de 12 à 16 jours.
- 2 paires de gants.

➤ Mode opératoire :

Des pochettes sont réalisées en repliant les papiers en deux et en plaçant les barrettes de chaque coté. On procède en commençant par les 2 papiers témoin puis en remontant **des plus faibles concentrations (0.002 %) aux plus fortes (1%)**. Une fois les pochettes préparées, changez de paire de gants.

- Confection des pochettes :
 - Les pochettes seront disposées sur les plateaux accompagnées de leur pince d'origine pour les fermer une fois remplies.
 - Une fois les pochettes réalisées, changer de gants et remplir de larves.
 - Les tubes de larves seront placés dans les petits flacons eux-mêmes disposés sur un plateau rempli d'eau savonneuse tiède.
 - Ouvrir un tube de larves et attendre que les larves montent d'elles-mêmes en haut du tube pour les prélever.
 - Prélever environ **100 larves** à l'aide d'un pinceau et les déposer dans la pochette. Refermer avec la pince métallique correspondante.
 - **Changer de pinceaux pour chaque papier.** Une fois que le pinceau aura été en contact avec le papier imprégné d'acaricide, ne pas le remettre en contact avec les larves des tubes et le jeter dans la bassine d'eau savonneuse chaude.
 - Faire de même avec les 3 pochettes pour chaque concentration.
 - Lorsque le remplissage des pochettes est terminé, mettre les tubes de larves ouverts dans la bassine d'eau savonneuse chaude.
 - Mettre les plateaux dans la chambre à test (27°C, 80% RH) en indiquant sur chaque plateau le nom de la population testée, le jour et l'heure à laquelle le test devra être lu.

5. Lecture du test

La lecture du test se fera le lendemain 24 heures après la mise en pochette.

➤ **Matériel nécessaire :**

- Une loupe
- Une plaque chauffante
- 1 petit pinceau
- 1 bassine d'eau très chaude savonneuse pour tremper les barrettes plastiques
- 1 bassine d'eau très chaude savonneuse pour tremper les papiers Nylon
- Du papier absorbant
- Un compteur à main

➤ **Mode opératoire :**

- Commencer par les 2 pochettes témoin puis continuer vers les plus fortes concentrations.
- Ouvrir la pochette et la positionner sur la plaque chauffante.
- Compter et noter le **nombre de larves en vie (capable de se déplacer)** en les retirant à l'aide d'un pinceau. Ces larves vivantes seront plongées dans l'eau chaude savonneuse. Le pinceau sera essuyé sur le papier absorbant. Noter également la concentration correspondante.
- Compter et noter le nombre de larves mortes restantes sur le papier.
- Mettre les barrettes en plastique et le pinceau dans une bassine d'eau chaude savonneuse.
- Mettre les papiers Nylon à part dans une bassine d'eau très chaude savonneuse.
- Tremper les pinces métalliques dans l'acétone.
- Répéter le comptage pour chaque papier.

Saisir les résultats sur Polo Plus

6. Interprétation des résultats

- Critères actuellement utilisés localement pour la caractérisation de la résistance à l'amtiaz d'une souche (Petermann et al., 2016):
 - Souche susceptible : DL 99 < 0.1% ou 1.0g/l
 - Souche tolérante : DL 99 comprise entre 0.1 et 0.2% ou 1.0 et 2.0g/l
 - Souche résistante : DL 99 > 0.2% ou 2.0g/l
- Critères pouvant être utilisés localement pour la caractérisation d'une souche résistante (Ducornez et al., 2005):
 - DL90 calculée \geq dilution à 0.040% d'amtiaz,
 - Pente de la droite de régression < 2
 - Pourcentage de mortalité < 95% pour la dilution à 0.03% d'amtiaz,

NB. Ces critères ne peuvent pas être appliqués de manière systématique car des populations sensibles pourraient correspondre à ces critères.

- Autres critères pouvant être utilisés localement (Nicolas Barré, 54th Annual Meeting of the Entomological Society of America, 2006) :
 - Souche susceptible : DL 99 < 0.1% et absence de larve vivantes à la dose discriminante de 0.03%
 - Souche tolérante : DL 99 comprise entre 0.1 et 0.2% et/ou larves vivantes à la dose discriminante de 0.03%
 - Souche résistante : DL 99 > 0.2% et larves vivantes à la dose discriminante de 0.03%

Annexe : Composition de la gamme de dilutions en fonction du nombre de tests à réaliser.

(Pour chaque dilution, on mélangera 1 ml de la solution à 2 ml d'acétone, puis on utilisera 3 x 0.67 ml de ce mélange pour imbiber les papiers)

Nombre de tests à réaliser		12			4			2		
Solution n°	Dilutions (%)	Huile	Tactic	Solution n-1	Huile	Tactic	Solution n-1	Huile	Tactic	Solution n-1
1	1.0000	23	2	0	9.2	0.8	0	4.6	0.4	0
2	0.5000	12.5	0	12.5	4.6	0	4.6	2.3	0	2.3
3	0.2500	12.5	0	12.5	4.6	0	4.6	2.3	0	2.3
4	0.1250	12.5	0	12.5	4.6	0	4.6	2.3	0	2.3
5	0.0625	12.5	0	12.5	4.6	0	4.6	2.3	0	2.3
6	0.0310	12.5	0	12.5	4.6	0	4.6	2.3	0	2.3
7	0.0160	12.5	0	12.5	4.6	0	4.6	2.3	0	2.3
8	0.0080	12.5	0	12.5	4.6	0	4.6	2.3	0	2.3
9	0.0040	12.5	0	12.5	4.6	0	4.6	2.3	0	2.3
10	0.0020	12.5	0	12.5	4.6	0	4.6	2.3	0	2.3

Test de résistance des tiques aux Lactones Macrocycliques Exemple de la Cydectine (Larval Immersion Test)

Validé par : T. HUE

Emis le 13 septembre 2017

Nombre de pages : 6

1. Préparation de la gamme de dilution

➤ Matériel nécessaire :

- Alcool absolu
- Triton-X
- Cydectine à 1%
- 1 bécher de 50 ml pour l'alcool
- 1 bécher de 50 ml pour le Triton-X
- 1 bécher pour mettre le mélange alcool / Triton-X avec un barreau aimanté
- Un agitateur magnétique
- Un vortex
- 10 tubes Eppendorf de 2 ml
- Une pipette de 30 ml
- Une seringue de 1 ml
- Une micropipette de 1000 µl
- Une micropipette de 100 µl
- (si possible une micropipette de 200µl)
- Des cônes de 1000 µl
- Des cônes de 100 µl (si possible de 200µl)
- Un feutre
- Du scotch

➤ Acaricide utilisé :

Cydectine 1% Solution injectable (10 mg de Moxidectine par 1 ml).

- Mettre des gants propres.
- Contrôler l'aspect de l'acaricide avant utilisation.
- Bien agiter le flacon de Cydectine 1%.
- Mettre dans un petit bécher un peu de Cydectine (environ 1 ml).
- Jeter la Cydectine restante dans une bouteille prévue à cet effet.
- Ne pas remettre la Cydectine dans le flacon d'origine.

- Jeter les gants.

➤ **Mode opératoire**

- Dans le bécher de 50 ml, préparer une **solution à 2%** de Triton-X 100 dans de l'éthanol absolu à 100% (**Eth-TX 2%**) : 0.8 ml de Triton-X + 39.2 ml d'éthanol 100%.
- Dans un tube Eppendorf, préparer la **Solution Mère (SM)** à 0.2% : 400 µl de Cydectine 1% + 1600 µl de Eth-TX 2%

Préparer 7 tubes Eppendorf en les numérotant, ou en mettant la concentration d'acaricide correspondante (0.01 %, 0.015%, 0.02 %, 0.025 %, 0.03 %, 0.035 %, 0.04%).

Préparer les Solutions Stock (SS) (à 0.01 %, 0.015%, 0.02 %, 0.025 %, 0.03 %, 0.035 %, et 0.04%) en diluant la solution mère de Cydectine 1% dans de l'Eth-TX 2% :

- Solution Stock à 0.04% : 200 µL de SM (0.2 %) + 800 µL d'Eth-TX 2%
- Solution Stock à 0.035% : 175 µL de SM (0.2 %) + 825 µL d'Eth-TX 2%
- Solution Stock à 0.03% : 150 µL de SM (0.2 %) + 850 µL d'Eth-TX 2%
- Solution Stock à 0.025% : 125 µL de SM (0.2 %) + 875 µL d'Eth-TX 2%
- Solution Stock à 0.02% : 100 µL de SM (0.2 %) + 900 µL d'Eth-TX 2%
- Solution Stock à 0.015% : 75 µL de SM (0.2 %) + 925 µL d'Eth-TX 2%
- Solution Stock à 0.01% : 50 µL de SM (0.2 %) + 950 µL d'Eth-TX 2%

Ces solutions stocks (SS) peuvent être conservées au congélateur (-20°C) pour une utilisation ultérieure.

De l'Eth-TX 2% est également conservé pour servir de témoin négatif lors des tests.

2. Préparation de la gamme de dilution pour la réalisation d'un test – **Le jour du test**

➤ **Matériel nécessaire**

- 21 tubes Eppendorf
- Eau distillée : 25 ml
- 1 bécher de 50 ml pour l'eau distillée
- Un agitateur tridimensionnel
- Une micropipette de 1000 µl
- Une micropipette de 100 µl
- Des cônes de 1000 µl
- Des cônes de 100 µl
- Un feutre

➤ **Mode opératoire**

Préparer 3 séries de 7 tubes Eppendorf (1.5 mL) avec 990 µL d'eau distillée en les numérotant ou en inscrivant les concentrations correspondantes (0.0001 %,0.00015 %,0.0002 %,0.00025 %,0.0003 %,0.00035 %,0.0004 %).

Remplir chaque tube avec 990 µL d'eau distillée puis ajouter 10 µL de chaque solution stock (SS) afin d'obtenir les concentrations ci-dessous :

- Solution à 0.0001 % : 10 µL SS 0.01 % + 990 µL d'eau distillée
- Solution à 0.00015 % : 10 µL SS 0.015 % + 990 µL d'eau distillée
- Solution à 0.0002 % : 10 µL SS 0.02 % + 990 µL d'eau distillée
- Solution à 0.00025 % : 10 µL SS 0.025 % + 990 µL d'eau distillée
- Solution à 0.0003 % : 10 µL SS 0.03 % + 990 µL d'eau distillée
- Solution à 0.00035 % : 10 µL SS 0.035 % + 990 µL d'eau distillée
- Solution à 0.0004 % : 10 µL SS 0.04 % + 990 µL d'eau distillée

La solution de contrôle (témoin négatif) est préparée comme suit :

- Témoin négatif : 10 µL d'Eth-TX 2% + 990 µL d'eau distillée

3. Mise en immersion des larves

Ajouter environ 100 larves dans chaque tube. Mélanger vigoureusement pendant quelques secondes puis calmement pendant 10 min à l'aide de l'agitateur tridimensionnel.

4. Confection des pochettes et disposition des larves dans les pochettes

➤ **Matériel nécessaire :**

- 48 barrettes en plastique (2 par pochette)
- 3 x 8 pinces métalliques
- 3 x 8 papiers de nylon découpés 75 x 85 mm (3 papiers par concentration)
- 3 plateaux en plastique
- 8 pinceaux
- Papier absorbant
- Un stylo noir effaçable à l'alcool

➤ **Mode opératoire :**

Des pochettes sont réalisées en repliant les papiers en deux et en plaçant les barrettes de chaque côté.

Sur les pinces métalliques, noter les concentrations correspondantes aux dilutions (0.0001 %, 0.00015 %, 0.0002 %, 0.00025 %, 0.0003 %, 0.00035 %, 0.0004 %), à raison de 3 pinces par dilution.

Après la phase d'immersion, transférer les larves sur un papier absorbant afin de les sécher. Puis les mettre dans des enveloppes identifiées avec l'aide des pinceaux en utilisant un pinceau par concentration. Fermer les enveloppes avec les pinces correspondantes et les disposer sur les plateaux.

Mettre les plateaux dans la chambre à test (27°C, 80% RH) en indiquant sur chaque plateau le nom de la population testée, le jour et l'heure à laquelle le test devra être lu.

5. Lecture du test

La lecture du test se fera le lendemain 24 heures après la mise en pochette.

➤ **Matériel nécessaire :**

- Une loupe
- Une plaque chauffante
- 1 petit pinceau
- 1 bassine d'eau très chaude savonneuse pour tremper les barrettes plastiques
- 1 bassine d'eau très chaude savonneuse pour tremper les papiers Nylon
- Du papier absorbant
- Un compteur à main

➤ **Mode opératoire :**

- Commencer par les 2 pochettes témoin puis continuer vers les plus fortes concentrations.
- Ouvrir la pochette et la positionner sur la plaque chauffante.
- Compter et noter le **nombre de larves en vie (capable de se déplacer)** en les retirant à l'aide d'un pinceau. Ces larves vivantes seront plongées dans l'eau chaude savonneuse. Le pinceau sera essuyé sur le papier absorbant. Noter également la concentration correspondante.
- Compter et noter le nombre de larves mortes restantes sur le papier.
- Mettre les barrettes en plastique et le pinceau dans une bassine d'eau chaude savonneuse.
- Mettre les papiers Nylon à part dans une bassine d'eau très chaude savonneuse.
- Tremper les pinces métalliques dans l'acétone.
- Répéter le comptage pour chaque papier.

Saisir les résultats sur Polo Plus

6. Interprétation des résultats

Il n'existe aucun paramètre défini pour caractériser une souche résistante aux Lactones Macrocycliques. En Nouvelle-Calédonie où cette famille est peu utilisée, nous faisons le ratio entre la DL50 de la souche testée et la DL50 la plus faible parmi les souches déjà testées.

Pour l'instant ce ratio est généralement compris entre 1 et 3 et n'a jamais dépassé 5.

Le suivi de ce ratio permettra d'observer l'émergence d'une résistance s'il venait à augmenter.