




OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/> 25402

To cite this version:

Houert, Pauline . *Sensibilité au parasitisme d'intérieur (cryptosporides, coccidies, giardia, duodenalis) des agnelles filles de béliers résistants ou sensibles aux strongles gastro-intestinaux.* Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2018

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

SENSIBILITÉ AU PARASITISME D'INTÉRIEUR (CRYPTOSPORIDIES, COCCIDIES, GIARDIA DUODENALIS) DES AGNELLES FILLES DE BÉLIERS RÉSISTANTS OU SENSIBLES AUX STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

HOUERT Pauline

Née, le 06 octobre 1990 à PAU (64)

Directeur de thèse : M. Philippe JACQUIET

JURY

PRESIDENT :
M. Antoine BERRY

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEURS :
M. Philippe JACQUIET
M. Fabien CORBIERE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de
TOULOUSE

MEMBRE INVITE :
Mme Corinne VIAL-NOVELLA

Docteur Vétérinaire, Centre Ovin d'Ordiarp (Pyrénées
Atlantique)

REPARTITION DES ENSEIGNANTS PAR GRADE

(Mise à jour : 07/09/2018)

DIRECTRICE : ISABELLE CHMITELIN

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE (6)

Mme	CLAUW Martine	SECTION C.N.E.C.A. N° 8	
M.	CONCORDET Didier		3
M.	DELVERDIER Maxence		7
M.	ENJALBERT Francis		6
M.	PETIT Claude		1
M.	SHELCHER François		8

PROFESSEURS 1° CLASSE (17)

M	BAILLY Jean-Denis		4
M.	BERTAGNOLI Stéphane		1
M.	BERTHELOT Xavier		6
M.	BOUSQUET-MELOU Alain		7
M.	BRUGERE Hubert		10
Mme	CADIERGUES Marie-Christine		8
Mme	CHASTANT-MAILLARD Sylvie		6
M.	DUCOS Alain		6
M.	FOUCRAS Gilles		8
Mme	GAYRARD-TROY Véronique		7
M	GUERIN Jean-Luc		6
Mme	HAGEN-PICARD Nicole		6
M.	JACQUIET Philippe		8
M.	LEFEBVRE Hervé		7
M.	MEYER Gilles		8
M.	SANS Pierre		6
Mme	TRUMEL Catherine		7

PROFESSEURS 2° CLASSE (7)

Mme	BOULLIER Séverine		1
Mme	BOURGES-ABELLA Nathalie		7
M.	GUERRE Philippe		7
Mme	LACROUX Caroline		7
M.	MAILLARD Renaud		8
M	MOGICATO Giovanni		7
Mme	LETRON-RAYMOND Isabelle		7

PROFESSEUR CERTIFIÉ (P.C.E.A.)

Mme	MICHAUD Françoise, Professeur d'Anglais
M.	SEVERAC Benoît, Professeur d'Anglais

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE (11)

M.	BERGONIER Dominique		6
Mme	DIQUELOU Armelle		8
M.	JAEG Jean-Philippe		7
M.	JOUGLAR Jean-Yves		8
M.	LYAZRHI Faouzi		3
M.	MATHON Didier		8
Mme	MEYNADIER Annabelle		6
Mme	PRIYMENKO Nathalie		6
M.	RABOISSON Didier		6
M	VERWAERDE Patrick		8
M.	VOLMER Romain		1

MAITRES DE CONFERENCES classe normale (24)

M.	ASIMUS Erik		8
Mme	BENNIS-BRET Lydie		7
Mme	BIBBAL Delphine		4
Mme	BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle		1
Mme	BOUHSIRA Emilie		8
M	CONCHOU Fabrice		8
M	CORBIERE Fabien		8
M.	CUEVAS RAMOS Gabriel		8
Mme	DANIELS Hélène		1
Mme	DAVID Laure		4
Mlle	DEVIERS Alexandra		7
M.	DOUET Jean-Yves		8
Mme	FERRAN Aude		7
Mme	LALLEMAND Elodie		8
Mme	LAVOUE Rachel		8
M.	LE LOC'H Guillaume		8
M	LIENARD Emmanuel		8
Mme	MILA Hanna		6
Mme	MEYNAUD-COLLARD Patricia		8
M.	NOUVEL Laurent		6
Mme	PALIERNE Sophie		8
Mme	PAUL Mathilde		6
M.	VERGNE Timothée		7
Mme	WARET-SZKUTA Agnès		6

A.E.R.C. (6)

Mme	BLONDEL Margaux		8
M.	CARTIAUX Benjamin		7
M.	COMBARROS-GARCIA Daniel		8
Mme	COSTES Laura		4
M.	GAIDE Nicolas		7
M.	JOUSSERAND Nicolas		8

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUEL (2)

Mme	DORE-BORDE Laura		8
M.	LEYNAUD Vincent		8

REMERCIEMENTS

A notre Jury de thèse,

Monsieur le Professeur Antoine Berry,
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.
Veuillez accepter mes hommages respectueux.

Monsieur le Professeur Philippe Jacquet,
Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Parasitologie et Maladies Parasitaires

Qui m'a confié ce travail et m'a guidé tout le long de son élaboration.
Pour son soutien, son extrême gentillesse et ses précieux conseils.
Qu'il trouve ici le témoignage de mon plus grand respect.

Monsieur le Docteur Vétérinaire Fabien Corbière,
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Pathologie des ruminants

Qui nous a fait l'honneur de participer à ce jury de thèse.
Qu'il trouve ici nos sincères remerciements.

Madame le Docteur Vétérinaire Corinne Vial-Novella,
Docteur Vétérinaire au Centre départemental de l'élevage ovin d'Ordiarp,

Qui a participé à l'élaboration et la réalisation de ce projet.
Pour sa disponibilité et son aide précieuse.
Sincères remerciements.

A l'ensemble des personnes ayant contribué à ce travail,

Monsieur Loïc Favennec,

Médecin biologiste au CNR cryptosporidiose du CHU de Rouen,

Pour son aide précieuse dans la réalisation de ce projet.

Sincères remerciements.

Les techniciens du Centre départemental de l'élevage ovin d'Ordiarp,

Pour leur grande aide dans la réalisation de cette étude.

Sincères remerciements.

A Léa Bordes

Etudiante en thèse d'Université au sein de l'UMR INRA/ENVT 1225 IHAP,

Pour son aide, sa gentillesse et sa bonne humeur permanente.

Sincères remerciements.

Aux éleveurs du Pays Basque

Pour leur participation à cette étude et leur gentillesse.

TABLE DES MATIERES

Liste des enseignants	3
Remerciements	5
Table des matières	7
Table des figures	9
Table des tableaux	11
Liste des abréviations	12
Introduction	13
PARTIE 1 : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	14
1. L'élevage ovin lait	15
1.1. La filière ovin lait en France	15
1.1.1. Trois grands bassins de production	15
1.1.2. La production laitière et sa valorisation	16
1.2. La filière ovin lait dans les Pyrénées-Atlantiques	17
1.2.1. La production laitière	17
1.2.2. Les races de brebis laitières	17
1.2.3. Les systèmes d'élevage	19
1.2.4. Parasitisme au pâturage	21
2. Résistance génétique des ovins aux strongles gastro-intestinaux : une alternative aux traitements anthelminthiques chimiques	21
3. Présentation des cryptosporidies, des coccidies et de <i>Giardia</i> spp.	24
3.1. Biologie, transmission et action pathogène	24
3.1.1. Les cryptosporidies	24
3.1.2. Les coccidies	28
3.1.3. <i>Giardia</i> spp.	34
3.2. Diagnostic	36
3.2.1. Techniques microscopiques	36
3.2.2. Techniques immunologiques	38
3.2.3. Technique de biologie moléculaire	40
3.3. Traitement et prévention	41
3.3.1. Cryptosporidies	41
3.3.2. Coccidies	43
3.3.3. <i>Giardia</i> spp.	45
PARTIE 2 : PARTIE EXPERIMENTALE	47
1. Matériel et méthodes	48
1.1. Choix et caractéristiques des élevages	48
1.2. Pré-requis à cette étude	50

1.3. Réalisation des prélèvements	50
1.3.1. Animaux prélevés	50
1.3.2. Dates de prélèvements	51
1.3.3. Prélèvements et mesures réalisés	51
1.4. Analyse des prélèvements	52
1.4.1. Prélèvements des agnelles à J15 et de leurs mères	53
1.4.2. Prélèvements des agnelles à J30, J60 et J120	55
2. Résultats	57
2.1. <i>Cryptosporidium</i> spp. et <i>Giardia</i> spp.....	57
2.1.1. Test rapide Speed V-Diar 5	57
2.1.2. Examen direct et méthodes de concentration	58
2.1.3. Résultats des PCR et des génotypages	59
2.2. Coccidies	62
2.2.1. Intensités d'excrétion	63
2.2.2. Identification des espèces	68
3. Discussion	75
3.1. Apports de cette étude	75
3.2. Résultats concernant les cryptosporidies et <i>Giardia</i> spp.	75
3.2.1. Un portage latent de <i>Cryptosporidium</i> spp. et de <i>Giardia duodenalis</i>	75
3.2.2. Rôle de la mère dans la contamination des jeunes	76
3.2.3. Identification spécifique et génotypage	77
3.2.4. Effet du caractère résistant/sensible sur l'excrétion de <i>Cryptosporidium</i> spp. et <i>Giardia duodenalis</i>	79
3.3. Résultats concernant les coccidies	79
3.3.1. Prélèvements de J30	79
3.3.2. Prélèvements de J60 et J120	80
3.4. Limites	83
3.4.1. Méthodes de diagnostic	83
3.4.2. Statut des mères	85
3.4.3. Taille de l'échantillon et contexte de portage latent	85
3.4.4. Premiers stades du processus de sélection	85
3.5. Perspectives	86
Conclusion	88
Références bibliographiques	90

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Localisation des exploitations ovines laitières (IDELE, 2011)	15
Figure 2 : Races de brebis élevées dans les Pyrénées-Atlantiques (Les races de Massif, 2014)	18
Figure 3 : Description du fonctionnement des schémas de sélection Manech Tête Rousse et Manech Tête Noire (Buisson, 2012)	19
Figure 4 : Conduite d'un troupeau de brebis laitières dans les Pyrénées-Atlantiques (Genomia, 2011)	21
Figure 5 : Cycle biologique de <i>Cryptosporidium</i> spp. (adapté de Jacquet, cours de parasitologie sur les protozooses des jeunes ruminants, 2014-2015)	26
Figure 6 : Les oocystes de coccidies retrouvés chez les ovins (Eckert <i>et al.</i> , 1995)	29
Figure 7: Cycle biologique des coccidies (adapté de Jacquet, cours de parasitologie sur les coccidioses intestinales des ruminants, 2014-2015)	31
Figure 8 : Nodules dans la muqueuse intestinale d'un chevreau infecté par des coccidies (Chartier and Paraud, 2012)	33
Figure 9 : Cycle biologique de <i>Giardia duodenalis</i> (adapté de Jacquet, cours de parasitologie sur la giardiose à <i>Giardia duodenalis</i> , 2014-2015)	34
Figure 10 : Activité des anticoccidiens selon les phases du cycle (adapté de Jacquet, cours de parasitologie sur les coccidioses intestinales des ruminants, 2014-2015)	44
Figure 11 : Localisation des différents élevages (d'après Google map)	48
Figure 12 : Réalisation du test Speed V-Diar 5®	54
Figure 13 : Lame de Mac Master (VetAgro Sup)	56
Figure 14 : Technique de coproscopie utilisée (d'après Bordes, 2018)	56
Figure 15 : Echelle de détermination de la taille réelle des oocystes d' <i>Eimeria</i> ovines pour l'identification des espèces en microscopie optique (d'après Bordes, 2018)	57
Figure 16 : Intensités d'excrétion d'oocystes de coccidies par gramme de fèces chez les agnelles R et S à J60 et J120 (résultats obtenus sur un ensemble de 41 agnelles R et 27 agnelles S à J60, et 37 agnelles R et 24 agnelles S à J120)	63
Figure 17 : Répartition des intensité d'excrétion d'oocystes de coccidies chez les agnelles R et S à J60, résultats cumulés pour les cinq élevages	64
Figure 18 : Répartition des intensité d'excrétion d'oocystes de coccidies chez les agnelles R et S à J120, résultats cumulés pour les cinq élevages	65
Figure 19 : Moyenne d'oocystes excrétés chez les agnelles R et S à J60 et J120 dans chaque élevage	67
Figure 20 : Proportions d'espèces pathogènes et non pathogènes de coccidies excrétées par les agnelles R et S à J60 et J120	69
Figure 21: Moyenne des proportions d'espèces de coccidies identifiées dans les cinq élevages chez les agnelles R et S à J60 et J120	71

Figure 22: Proportions d'espèces de coccidies identifiées dans les élevages n°1 et 2 chez les agnelles R et S à J60 et J120	72
Figure 23: Proportions d'espèces de coccidies identifiées dans les élevages n°3 et 4 chez les agnelles R et S à J60 et J120	73
Figure 24 : Proportions d'espèces de coccidies identifiées dans l'élevage n°5 chez les agnelles R et S à J60 et J120.....	74

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Les espèces de <i>Cryptosporidium</i> (adapté de Chalmers <i>et al.</i> , 2013)	25
Tableau 2 : Description des oocystes d' <i>Eimeria</i> (Eckert <i>et al.</i> , 1995 ; Australian Society for Parasitology)	30
Tableau 3 : Présentation des caractéristiques des élevages	49
Tableau 4 : Nombre d'agnelles R et S incluses dans l'étude par élevage	51
Tableau 5 : Nombre d'animaux prélevés à J15, J30, J60, J120	52
Tableau 6 : Résultats des examens directs et des méthodes de concentration réalisés sur les matières fécales des agnelles R et S et de leurs mères	58
Tableau 7 : Prévalence des infections à <i>Cryptosporidium</i> spp. chez les agnelles R et S dans chaque élevage	59
Tableau 8 : Spéciation et génotypage des cryptosporidies chez les agnelles et les brebis dans chaque élevage	60
Tableau 9 : Espèces de cryptosporidies identifiées chez les couples mère/fille(s) dans chaque élevage	61
Tableau 10 : Génotypage des <i>Giardia</i> chez les brebis et les agnelles dans chaque élevage	62
Tableau 11 : Moyennes, écarts-types, minimums, médianes et maximums de l'intensité d'excrétion (opg) à J30, J60 et J120 dans chaque élevage	66
Tableau 12 : Proportions d'espèces pathogènes et non pathogènes chez les agnelles R et S à J60 et J120 dans les cinq élevages	70

LISTE DES ABREVIATIONS

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

AOP : Appellation d'Origine Protégée

d : Densité

h^2 : Héritabilité

ha : Hectare

IA : Insémination Artificielle

OPG : Oeuf Par Gramme

PCR : Polymerase Chain Reaction

R : Phénotype résistant

S : Phénotype sensible

SAU : Surface Agricole Utile

INTRODUCTION

Les nématodes gastro-intestinaux représentent l'une des contraintes majeures pour l'élevage des petits ruminants à l'herbe. En effet, ils occasionnent de grandes pertes de production avec en moyenne une diminution de la production laitière ovine de 22% et une baisse de la croissance des agneaux de 15% (Mavrot *et al.*, 2015). Ils impactent ainsi la croissance des agnelles de reproduction et donc leur date de première mise à la reproduction, ce qui handicape l'ensemble de leur carrière productive. La maîtrise de ces parasites est ainsi indispensable et se fait depuis plusieurs dizaines d'années par l'utilisation de molécules chimiques anthelminthiques. Cependant, du fait de leur utilisation massive, de nombreuses résistances se sont développées envers ces molécules dans les troupeaux ovins, dans le monde entier et il a été indispensable de trouver des alternatives aux traitements chimiques. La sélection génétique d'ovins résistants aux strongles gastro-intestinaux s'est alors développée à travers la réalisation de protocoles d'infestation expérimentale avec le nématode *Haemonchus contortus* chez des béliers futurs reproducteurs, et il a ensuite été montré que le caractère résistant ou sensible des béliers était transmis à leurs filles et ce, dans des conditions naturelles d'infestation (Aguerre, 2018).

Ces résultats obtenus en race Manech Tête Rousse sont très encourageants mais soulèvent de nouvelles questions avec notamment une interrogation sur l'effet de cette sélection sur la résistance/sensibilité des agnelles de renouvellement filles de béliers résistants ou sensibles aux strongles digestifs, à d'autres agents pathogènes couramment rencontrés aux cours de leurs premiers mois de vie, mois décisifs pour leur future carrière de brebis.

L'objet de cette thèse est ainsi d'évaluer pour la première fois l'impact de la résistance génétique aux strongles digestifs sur la sensibilité aux affections parasitaires du jeune âge (cryptosporidioses et coccidioses intestinales, giardioses) chez les agnelles Manech Tête Rousse, en vue de renforcer ou, au contraire, de nuancer l'intérêt de cette sélection génétique.

Avant d'essayer de répondre à cette question, il est nécessaire de présenter le contexte actuel de l'élevage ovin en France, ainsi que l'intérêt de la sélection génétique des ovins pour remédier aux problèmes de résistance des strongles gastro-intestinaux aux traitements anthelminthiques. Il est également important de faire une présentation des parasites auxquels peuvent être confrontées les agnelles dans leurs premiers mois de vie (cryptosporidies, coccidies, *Giardia*). Enfin, la dernière partie est consacrée aux résultats expérimentaux concernant la sensibilité/résistance à ces parasites, des agnelles Manech Tête Rousse, filles de béliers résistants ou sensibles aux strongles digestifs.

PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. L'élevage ovin lait

1.1. La filière ovin lait en France

La France est le cinquième producteur de lait de brebis en Europe avec une production totale estimée à 270 millions de litres de lait par an (IDELE, 2011 ; Champion *et al.*, 2013).

En 2015, le cheptel ovin laitier français est composé d'1,2 millions de brebis réparties entre environ 5000 éleveurs (FranceAgriMer, 2015). La production de lait de brebis représente une activité majeure pour les territoires de montagne qu'elle occupe, tant au niveau économique qu'environnemental.

1.1.1. Trois grands bassins de production

On distingue trois bassins traditionnels de production ovine laitière qui concentrent 92% des élevages de brebis laitières : le Rayon de Roquefort dans la zone Sud du Massif Central avec six départements concernés (Aveyron, Tarn, Lozère, Hérault, Gard et Aude), les Pyrénées-Atlantiques et la Corse (*Figure 1*). La production laitière ovine se trouve principalement dans les zones de montagne ou de haute montagne et les brebis sont de races locales : la race Lacaune dans le bassin de Roquefort, les races Manech Tête Noire, Manech Tête Rousse et Basco-Béarnaise en Pays Basque et en Béarn, et la race Corse en Corse (Lagriffoul *et al.*, 2016).

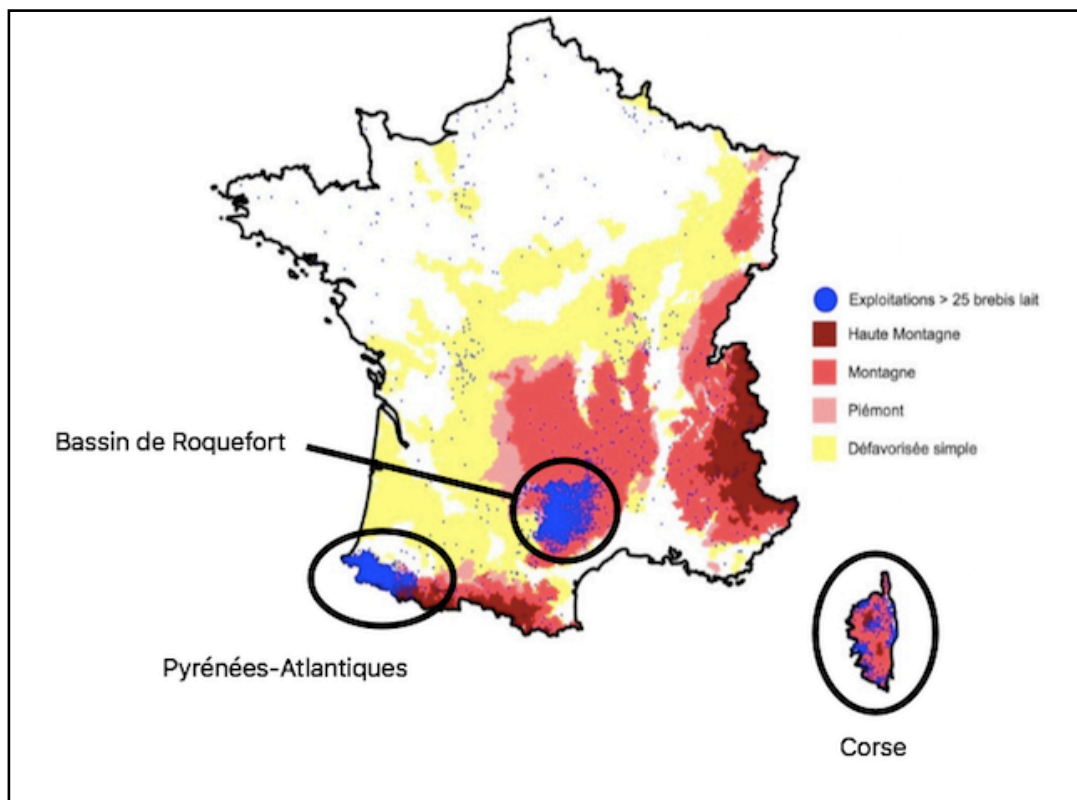


Figure 1 : Localisation des exploitations ovines laitières (IDELE, 2011).

La région Occitanie, issue de la fusion des régions Midi-Pyrénées et Languedoc-Roussillon, est la région produisant le plus de lait de brebis en France : elle concentre 60% du cheptel national, avec plus de 738600 brebis laitières et 203,4 millions de litres de lait produits. Trois départements en particulier, l'Aveyron, le Tarn et la Lozère, détiennent 95% des brebis laitières et produisent 96% de la production régionale (Agri'scopie Occitanie, 2017). Les surfaces exploitées par exploitation sont importantes dans le Rayon de Roquefort par rapport aux autres bassins : entre 50 et 100 ha de SAU (Surface Agricole Utile) en moyenne en 2012, dont 80% de prairies et 20% de céréales (IDELE, 2011). Dans 30% des élevages, les brebis laitières sont associées à un autre atelier (vaches allaitantes majoritairement, brebis allaitantes parfois) (Champion *et al.*, 2013).

Le département des Pyrénées-Atlantiques regroupe plus du tiers du cheptel français (467 000 brebis mères laitières recensées en 2010) et se classe au second rang en terme d'effectifs derrière l'Aveyron. Avec 2 084 élevages, les Pyrénées-Atlantiques regroupent la quasi-totalité du cheptel aquitain et ont produit 61,4 millions de litres de lait en 2016. Ils se situent essentiellement au sud du département, dans le Pays Basque et le Béarn (Bonotaux *et al.*, 2014). Les surfaces sont plus petites que dans le Rayon de Roquefort, avec environ 20-50 ha SAU (90% de prairies et un peu de maïs). Plus des trois quarts des élevages du département pratiquent la transhumance et la plupart des exploitations sont mixtes (vaches allaitantes) (IDELE, 2011 ; Champion *et al.*, 2013).

En Corse, la filière ovine compte 414 exploitations avec environ 85 000 brebis laitières en 2013 et une production d'environ 6 millions de litres par an (ODARC, 2016). L'élevage ovin est la deuxième production animale en terme de nombre d'exploitations, après l'élevage bovin et la plupart des élevages sont spécialisés (seulement 35% des élevages où les brebis sont associées avec une production de vaches allaitantes ou de chèvres) (Champion *et al.*, 2013 ; Agreste, 2013).

Cependant, depuis les années 2000, de plus en plus d'élevages ovins laitiers se développent hors des bassins traditionnels, comme dans les régions Rhône-Alpes et Provence Alpes Côte d'Azur (Champion *et al.*, 2013).

1.1.2. La production laitière et sa valorisation

Dans les exploitations suivies en contrôle laitier, la production laitière brute par brebis s'élève en moyenne à 274 litres par brebis en 166 jours de traite en 2016 (Douguet *et al.*, 2017). Malgré la diminution du nombre d'élevages au cours des 50 dernières années, un fort développement de la production laitière de brebis a été constaté du fait de l'augmentation de la taille moyenne des troupeaux ainsi que de l'augmentation des niveaux de production laitière par brebis (Lagriffoul *et al.*, 2016).

L'essentiel de la production laitière est valorisée sous forme de fromages (pâtes persillées, pressées, molles, fraîches, fromages de lactosérum) et la grande majorité des exploitations produisent sous signe officiel de qualité (Lagriffoul *et al.*, 2016). En effet, 40% des volumes de lait produits sont

utilisés pour produire des fromages sous Appellation d'Origine Protégée (AOP) : le Roquefort dans le Rayon de Roquefort qui représente la deuxième AOP fromagère française derrière le Comté (17482 tonnes), l'Ossau-Iraty dans les Pyrénées-Atlantiques (3478 tonnes), et le Brocciu en Corse (347 tonnes) (Champion *et al.*, 2013 ; Lagriffoul *et al.*, 2016). On constate cependant une diminution de la production depuis les années 2000 pour les fromages Roquefort et Brocciu (respectivement -7% et -31%) alors que la production d'Ossau-Iraty a augmenté de 45%. Cette production sous signes de qualité impose aux éleveurs le respect de cahiers des charges avec notamment l'élevage de races locales, la nécessité d'un certain niveau d'autonomie alimentaire, le recours au pâturage (Champion *et al.*, 2013)...

1.2. La filière ovine lait dans les Pyrénées-Atlantiques

Les Pyrénées-Atlantiques représentent le second bassin national de production de lait de brebis (DRAAF Nouvelle Aquitaine, 2017).

1.2.1. La production laitière

L'élevage ovine laitier participe pour près du quart de la valeur de la production agricole du département. Grâce à l'augmentation du niveau de productivité des brebis, on assiste à une augmentation de la production laitière depuis trois ans malgré une baisse du nombre d'élevages. En 2011, 52,3 millions de litres de lait ont été produits, dont plus de 85% ont été distribués aux industries laitières (le reste du lait produit est transformé directement sur l'exploitation). Ainsi, quasiment tout le lait récolté est transformé en fromagerie ou sur l'exploitation (DRAAF Nouvelle Aquitaine, 2017).

Le département dispose de neuf entreprises pour assurer la collecte et la transformation et de quatre coopératives pour l'affinage et la commercialisation (Chambre d'agriculture des Pyrénées-Atlantiques, 2016).

Le lait de brebis est valorisé essentiellement sous forme de fromages à pâte pressée : l'AOP Ossau-Iraty par exemple, est emblématique de la région, plus de 4000 tonnes ont été produites en 2015 dont 422 tonnes à la ferme. Depuis 10 ans, on assiste également à une augmentation de la production de lait issu de l'agriculture biologique à partir duquel sont produits des yaourts et laits fermentés essentiellement (DRAAF Nouvelle Aquitaine, 2017).

1.2.2. Les races de brebis laitières

Trois races locales de brebis laitières en particulier sont élevées en région basco-béarnaise (Les races de Massif, 2014 ; Douguet *et al.*, 2017) :

- La Basco Béarnaise (*Figure 2*) : essentiellement présente dans la montagne Béarnaise, elle était autrefois utilisée pour sa viande également. C'est une race de format moyen avec des femelles de 60 kg et des mâles de 75 kg environ. Elles possèdent des cornes enroulées en forme de spirale autour des oreilles et une toison frisée formant des mèches. En 2016, d'après les données du Contrôle du Laitier Officiel, ces brebis ont produit chacune environ 205 litres de lait, en 150 jours de traite en moyenne.

- La Manech Tête Noire (*Figure 2*) : cette race est présente dans la montagne Basque essentiellement. Les brebis ont un poids moyen de 60 kg et les béliers autour de 75 kg. Les deux sexes possèdent des cornes et une longue laine blanche qui recouvre le tronc. Les membres et la tête n'ont pas de laine et sont de couleur noire. Elles ont produit 168 litres de lait chacune en moyenne, en 147 jours de traite en 2016.

- La Manech Tête Rousse (*Figure 2*) : race la plus présente dans les élevages du fait d'un potentiel de production supérieur aux autres races ovines (229 litres de lait par brebis en moyenne en 160 jours de traite). Elle est essentiellement élevée en zone de piémont. C'est la plus petite des trois races (60 kg pour les béliers, 45 kg pour les brebis) et elle possède une laine blanche qui forme des mèches. Les membres sont toutefois dépourvus de laine et de couleur rousse et les mâles sont parfois cornus. On retrouve cette race dans les systèmes les plus intensifs.

Ces races semblent être les mieux adaptées à la vie dans les zones montagneuses, ainsi qu'à la pratique de la transhumance.

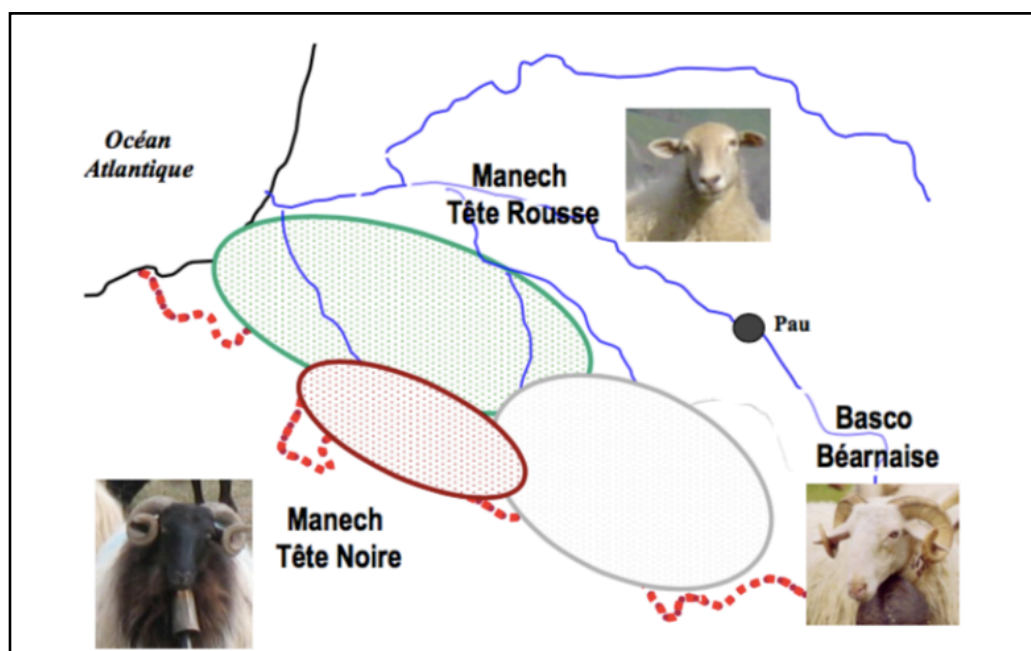


Figure 2 : Races de brebis élevées dans les Pyrénées-Atlantiques (Les races de Massif, 2014)

Ces trois races locales rustiques sont soumises depuis 1975 à un programme de sélection basé sur le contrôle laitier et le testage sur descendance des béliers d'insémination. Le schéma de sélection est de type « pyramidal » avec les éleveurs sélectionneurs qui sont inscrits au Contrôle Laitier Officiel et générateurs du progrès génétique, et les éleveurs non sélectionneurs inscrits au Contrôle Laitier Simplifié et qui bénéficient du progrès génétique (France Génétique Elevage, 2011) (*Figure 3*).

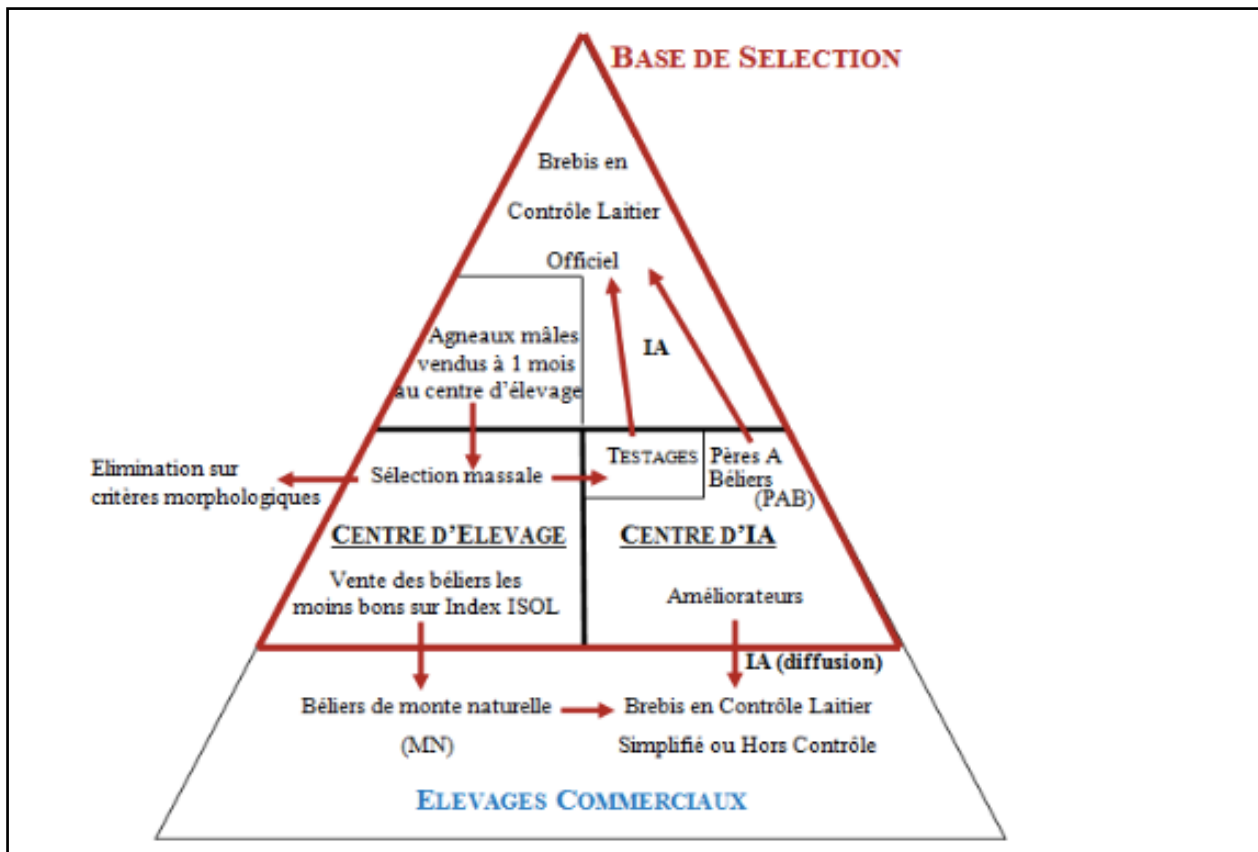


Figure 3 : Description du fonctionnement des schémas de sélection Manech Tête Rousse et Manech Tête Noire (Buisson, 2012)

Les objectifs de cette sélection sont à la fois économiques avec l'amélioration de la production laitière tout en respectant les critères de qualité de la filière, mais également environnementaux avec la valorisation des espaces de haute et moyenne montagne [10]. En effet, le pâturage des brebis permet l'entretien d'espaces où le relief ne permet pas d'autres productions agricoles et également la libération des prairies de l'exploitation afin de préparer les stocks de fourrage pour l'hiver. Près de 100000 ha étaient consacrés à l'estive en 2010 (DRAAF Nouvelle Aquitaine, 2017).

1.2.3. Les systèmes d'élevage

En 2016, les Pyrénées-Atlantiques concentrent 98% des élevages de brebis laitières de la région Nouvelle-Aquitaine. Les troupeaux sont généralement de grande taille (entre 100 à 400 brebis dans 80% des élevages) et les exploitations ont une SAU moyenne de 36 hectares en 2010 (DRAAF Nouvelle Aquitaine, 2017). L'association ovin lait - bovin est très fréquente dans les exploitations du Pays Basque et du Béarn : on retrouve majoritairement des vaches allaitantes (Blonde d'Aquitaine) et plus rarement des vaches laitières (Champion *et al.*, 2013).

La filière ovine laitière des Pyrénées-Atlantiques possède une grande diversité des systèmes d'élevage. D'après l'Institut de l'Élevage, on distingue quatre principaux types de systèmes de production de lait de brebis dans les Pyrénées-Atlantiques (De Boissieu *et al.*, 2012) :

- La petite structure traditionnelle transhumante : c'est un système transhumant mixte ovin lait-bovin viande que l'on trouve essentiellement dans la montagne Basque. La conduite des brebis est traditionnelle avec le premier agnelage à deux ans, et une production laitière plutôt modeste. Du fait du relief important, les surfaces fourragères sont limitées et les estives sont fortement utilisées de fin mai à octobre.

- La structure intermédiaire transhumante : système transhumant mixte ovin lait-bovin viande majoritairement présent en zone de piémont. Les surfaces exploitables sont plus importantes et il est possible de cultiver du maïs grain et du maïs fourrage. Le troupeau est conduit de manière semi-intensive.

- La structure non transhumante : système non transhumant mixte ovin lait-bovin viande, surtout présent sur les coteaux du Pays-Basque. Les brebis (majoritairement de race Manech Tête Rousse) et les surfaces y sont conduites de manière intensive. Le premier agnelage a lieu autour de 15 mois, ce qui permet d'avoir des niveaux de production plus élevés.

- La petite structure transhumante en transformation fromagère fermière : il s'agit d'un système transhumant mixte ovin lait-bovin viande présent dans les montagnes Basques et Béarnaises, caractérisé par une transformation fromagère fermière de tout le lait produit. Cette transformation est plus importante dans le Béarn que dans le Pays Basque, et beaucoup d'éleveurs continuent la traite et fabriquent les fromages en estive.

La production de lait de brebis est saisonnée (*Figure 4*). Les mises-bas se déroulent généralement en novembre-décembre. Les agneaux allaitent pendant un mois avant d'être abattus et vendus sous la dénomination « agneaux de lait » ou exportés vers l'Espagne. La traite débute après le sevrage des agneaux et se termine fin mai pour les éleveurs qui mettent en estive les brebis taries, ou fin août pour ceux qui continuent la traite et fabriquent les fromages en estive (Morin *et al.*, 2004). Beaucoup d'élevages utilisent l'insémination artificielle et les retours en chaleur sont valorisés en monte naturelle. La lutte a lieu en juin pour les brebis adultes en général et en juillet pour les agnelles (Genomia, 2011).

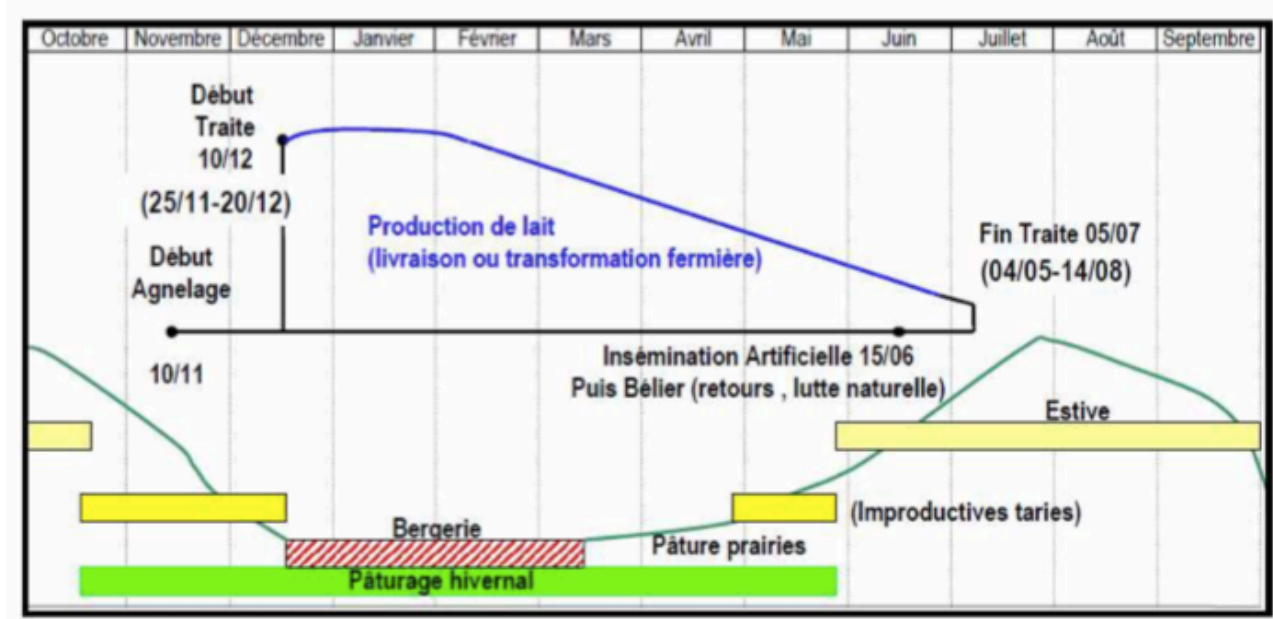


Figure 4 : Conduite d'un troupeau de brebis laitières dans les Pyrénées-Atlantiques (Genomia, 2011)

1.2.4. Parasitisme au pâturage

Les ovins à l'herbe sont exposés à de nombreux parasites (Trématodes, Cestodes, Nématodes, Arthropodes). Parmi les Nématodes, on retrouve notamment les strongles gastro-intestinaux qui représentent un des problèmes majeurs de l'élevage des petits ruminants dans le monde entier, car ils entraînent d'importantes pertes économiques de par le coût des traitements, la mortalité des animaux et les baisses de production (laitière en particulier). Le climat dans les Pyrénées-Atlantiques est principalement de type océanique, avec des hivers doux et pluvieux et des étés frais et relativement humides. Or, ces conditions sont particulièrement favorables à la survie et au développement des strongles gastro-intestinaux. La pression d'infection est donc très élevée dans les pâtures du département favorisant ainsi la contamination des brebis à l'herbe.

2. Résistance génétique des ovins aux strongles gastro-intestinaux : une alternative aux traitements anthelminthiques chimiques

La lutte contre les strongles gastro-intestinaux repose sur l'utilisation d'anthelminthiques (benzimidazoles, lévamisole, lactones macrocycliques, dérivés amino-acétonitriles et salicylanilides). L'efficacité et l'intérêt de ces molécules ont été mis en évidence dans différentes études avec, notamment, une meilleure croissance et une augmentation de la production laitière chez les animaux traités comparé aux animaux non traités (Cringolli *et al.*, 2009 ; Mavrot *et al.*, 2015). Néanmoins, depuis les années 90, les strongles ont développé des résistances envers ces molécules du fait de leur utilisation massive, et ce, à l'échelle mondiale. En France, la résistance aux benzimidazoles est particu-

lièrement importante dans les élevages de petits ruminants (Paraud, 2017). Une étude réalisée en 2014 par Geurden sur des élevages ovins laitiers en France, en Italie et en Grèce a montré par exemple que chacun des dix élevages français inclus dans l'étude (cinq élevages du Pays Basque et cinq élevages du rayon de Roquefort) présentait des résistances aux benzimidazoles (Geurden *et al.*, 2014).

Des stratégies se sont ainsi développées pour faire face à ce problème avec notamment une sélection génétique d'animaux résistants aux strongles digestifs. En France, la sélection se fait dans les centres d'élevage où les jeunes béliers destinés à l'insémination artificielle ou la monte naturelle sont évalués pour leur résistance à ces parasites à travers leurs phénotypes. L'indicateur le plus pertinent pour évaluer la résistance d'un individu est l'intensité d'excrétion d'œufs de parasites dans ses matières fécales. Des protocoles d'infestations expérimentales avec des larves d'*Haemonchus contortus* ont mis en évidence une très grande variabilité individuelle concernant l'intensité d'excrétion d'œufs, permettant de distinguer des animaux résistants et des animaux sensibles. Il a également été montré que l'intensité d'excrétion des œufs est un caractère héritable (Aguerre *et al.*, 2018) et que la corrélation génétique entre les excréments d'œufs mesurés en infestations naturelles et en infestations expérimentales sont élevées (Jacquet *et al.*, 2008 ; Jacquet *et al.*, 2012).

Suite à ces travaux, la question s'est posée si la descendance des béliers considérés comme résistants suite à leur phénotypage en station, excrétaient véritablement moins d'œufs que la descendance des béliers sensibles, et ce dans des conditions naturelles de pâturage. Une étude publiée en 2018 par Aguerre et réalisée dans sept élevages du Pays Basque s'est intéressée à l'impact de la sélection génétique des béliers pour leur résistance aux nématodes gastro-intestinaux chez leur descendance, dans des conditions normales d'élevage. Pour cela, 400 brebis Manech Tête Rousse issues de 103 béliers phénotypés et caractérisés selon leur résistance/sensibilité aux nématodes gastro-intestinaux dans des conditions expérimentales, ont été exposées à des infestations naturelles au pâturage et suivies pendant deux ans. Ces brebis ont été phénotypées trois fois par an et traitées une à trois fois par an (éprinomectine, oxfendazole, doramectine ou moxidectine). Il a alors été mis en évidence une corrélation génétique élevée entre le nombre d'œufs de nématodes par gramme de fèces des béliers infestés expérimentalement et celui de leurs filles infestées naturellement ($h^2=0,56-0,71$) (Aguerre *et al.*, 2018). Ceci suggère que l'on a un déterminisme génétique similaire de la résistance aux strongles digestifs quels que soient le stade physiologique des animaux et l'espèce de nématode (*H. contortus* seulement pour les béliers infestés expérimentalement ; *H. contortus*, *Teladorsagia circumcincta*, *T. colubriformis*, *Cooperia curticei* et *Oesophagostomum venulosum* chez les filles de ces béliers au pâturage). Cette information est très importante car lors d'infestations naturelles, les animaux ne sont pas confrontés qu'à une seule espèce de nématodes comme dans les infestations expérimentales. De plus, cette étude montre également que les brebis de père résistant excrètent souvent entre 30 et 70% moins d'œufs de strongles digestifs que leurs contemporaines filles de père sensible. Ainsi, la sélection et la mise à la reproduction des béliers « résistants » aux nématodes

gastro-intestinaux améliorent également la résistance de leur progéniture dans les conditions naturelles d'infestations au pâturage (Aguerre *et al.*, 2018).

Ces travaux soulèvent maintenant de nouvelles interrogations : est-ce que l'acquisition de cette résistance aux nématodes gastro-intestinaux fragilise les brebis vis à vis d'autres pathogènes ou sont-elles, au contraire, plus résistantes ?

En effet, selon le type de pathogène, la réponse immunitaire des mammifères diffère : une infection virale, bactérienne ou par un protozoaire intracellulaire induit plutôt une réponse immunitaire de type Th1 alors qu'une helminthose entraîne préférentiellement une réponse de type Th2. Une étude publiée en 2006 par Lacroux et conduite sur des agneaux de race Romane (ex INRA 401) a montré qu'une infestation à *H. contortus* déclenche une réponse immunitaire Th2 avec la transcription de gènes codant pour les interleukines 4, 5 et 13 dans les noeuds lymphatiques abomasaux et dans la muqueuse intestinale, ainsi que le fort recrutement d'éosinophiles, de mastocytes et de leucocytes. (Lacroux *et al.*, 2006). Or, une réponse Th1 pouvant inhiber une réponse Th2 et inversement, on peut se demander si la sélection d'animaux plus efficaces dans le développement d'un type de réponse, les rend plus sensible envers des pathogènes induisant un autre type de réponse (Jacquiet *et al.*, 2008).

Traore a montré en 2008 que des agneaux Lacaune mâles issus de lignées résistantes ou sensibles aux infections mammaires à staphylocoques ne présentent pas de différence de résistance à *H. contortus* (Traore *et al.*, 2008). De plus, selon Gill, les réponses immunitaires à des immunisations à l'ovalbumine ou à des antigènes bactériens ne sont pas modifiées chez les animaux résistants à *H. contortus* (Gill *et al.*, 1993). Il semble ainsi que la sélection de la résistance aux nématodes gastro-intestinaux n'influence pas la réponse de ces animaux aux autres pathogènes.

Néanmoins, il faut rester prudent car peu d'études ont été publiées à ce sujet pour le moment.

Cette étude a pour objectif d'évaluer chez les filles de béliers phénotypés comme étant résistants ou sensibles aux strongles gastro-intestinaux, leur résistance ou sensibilité aux autres pathogènes digestifs couramment rencontrés dans les premiers mois de vie (cryptosporidies, coccidies, *Giardia* spp.). De plus, concernant les cryptosporidies, nous nous intéresserons également aux espèces potentiellement portées par les mères des agnelles, afin d'évaluer un rôle des mères dans la contamination de leurs filles.

Toutefois, avant de présenter les résultats de notre étude, nous allons revenir sur les principales caractéristiques biologiques de ces parasites, ainsi que les différentes méthodes de diagnostic mises en œuvre pour les dépister et les traitements possibles.

3. Présentation des cryptosporidies, des coccidies et de *Giardia* spp.

3.1. Biologie, transmission et action pathogène

3.1.1. Les cryptosporidies

Les protozoaires du genre *Cryptosporidium* sont parmi les parasites les plus fréquemment rencontrés dans le système digestif des vertébrés avec une grande variété d'hôtes. Ces parasites sont retrouvés dans le monde entier et sont à l'origine de zoonoses (transmission via l'eau de consommation contaminée essentiellement).

Le premier cas de cryptosporidiose chez les ovins a été décrit dans les années 1970 dans un élevage en Australie. Ce parasite affecte le système digestif des agneaux nouveau-nés et provoque généralement une diarrhée de consistance mayonnaise et de couleur jaune (Mage, 2016). C'est un parasite intracellulaire obligatoire localisé dans les cellules épithéliales de l'intestin grêle. De nombreuses études montrent que la majorité des cas cliniques chez les ovins sont attribués à *Cryptosporidium parvum* (Diaz *et al.*, 2015). L'infection est grave : la mortalité et la morbidité sont très élevées chez les agneaux. Les cryptosporidioses entraînent d'importantes pertes économiques à cause de la mortalité, des retards de croissance engendrés, et des coûts des médicaments et des visites du vétérinaire.

Les espèces de cryptosporidies

Selon la morphologie des oocystes, les données génétiques, et biologiques les hôtes naturels ou expérimentaux et les règles de l'« International Code of Zoological Nomenclature » (ICZN), on distingue à ce jour 26 espèces de *Cryptosporidium* spp. Parmi ces espèces, certaines ont un fort potentiel zoonotique, à savoir *C. parvum* (sous types IIa et IIc notamment) retrouvé chez les souris et les ruminants, *C. meleagridis* porté par les dindons, *C. cuniculus* porté par les lapins, *C. ubiquitum* porté par les ovins et caprins, *C. canis* porté par les chiens et *C. felis* porté par les chats. D'autres espèces peuvent être transmises à l'Homme également mais de façon plus rare (*C. muris* et *C. tyzzeri* chez les souris, *C. andersoni* et *C. bovis* chez les bovins, *C. suis* et *C. scrofarum* chez les cochons, *C. fayeri* chez les kangourous) (Tableau 1) (Chalmer *et al.*, 2013). La plupart des cas de cryptosporidiose humaine sont dus à *C. parvum* et à *C. hominis* (cette dernière espèce étant plutôt une espèce anthropophile mais le passage chez des porcins, bovins, ovins et divers primates a été signalé). Les autres espèces sont essentiellement retrouvées chez les sujets immunodéprimés.

Espèce	Hôtes principaux	Présence chez l'Homme	Localisation(s) de l'infection	Taille des oocystes (μm)
C. muris	Souris	Oui (rarement)	Estomac	8,4x6,2
C. parvum	Souris, ruminants, Homme	Oui	Intestin grêle	4,9x4,4
C. meleagridis	Dindon, Homme	Oui	Intestin	5,2x4,6
C. wrairi	Cochon d'Inde	Non rapporté	Intestin grêle	5,4x4,6
C. felis	Chat	Oui	Intestin grêle	4,6x4,0
C. serpentis	Serpent	Non rapporté	Estomac	6,2x5,3
C. baileyi	Poulet	Non rapporté	Trachée, bourse de Fabricius, cloaque	6,2x4,6
C. varanii	Reptiles	Non rapporté	Estomac	4,8x5,1
C. molnari	Poisson	Non rapporté	Estomac	4,7x4,5
C. galli	Poulet	Non rapporté	Proventricule	8,3x6,3
C. andersoni	Bovin	Oui (rarement)	Caillette	7,4x5,5
C. canis	Chien	Oui	Intestin grêle	5,0x4,7
C. hominis	Homme	Oui	Intestin	4,9x5,2
C. suis	Cochon	Oui (rarement)	Intestin	4,6x4,2
C. scophthalmi	Poisson	Non rapporté	Intestin, estomac	4,4x3,9
C. bovis	Bovin	Oui (2 cas)	Intestin	4,9x4,6
C. fayeri	Kangourou	Oui (rarement)	-	4,9x4,3
C. fragile	Crapaud	Non rapporté	Estomac	6,2x5,5
C. rayane	Bovin	Non rapporté	Intestin	3,7x3,1
C. macropodum	Kangourou	Non rapporté	-	5,4x4,9
C. xiaoi	Mouton, chèvre	Non rapporté	Intestin	3,9x3,4
C. ubiquitum	Mouton, chèvre	Oui	Intestin	5,0x4,6
C. cuniculus	Lapin, Homme	Oui	Intestin	5,9x5,3
C. tyzzeri	Souris	Oui (rarement)	Intestin	4,6x4,2
C. viatorum	Homme	Oui	Intestin	5,3x4,7
C. scrofarum	Porc	Oui (rarement)	Intestin	5,2x4,8

Tableau 1 : les espèces de *Cryptosporidium* (les cases en jaune correspondent aux espèces zoonotiques ; adapté de Chalmers et al., 2013)

Cycle biologique du parasite (Fayer and Xiao, 2007 ; Mage, 2016)

Le cycle biologique de *Cryptosporidium* spp. est représenté dans le schéma ci-dessous (Figure 5).

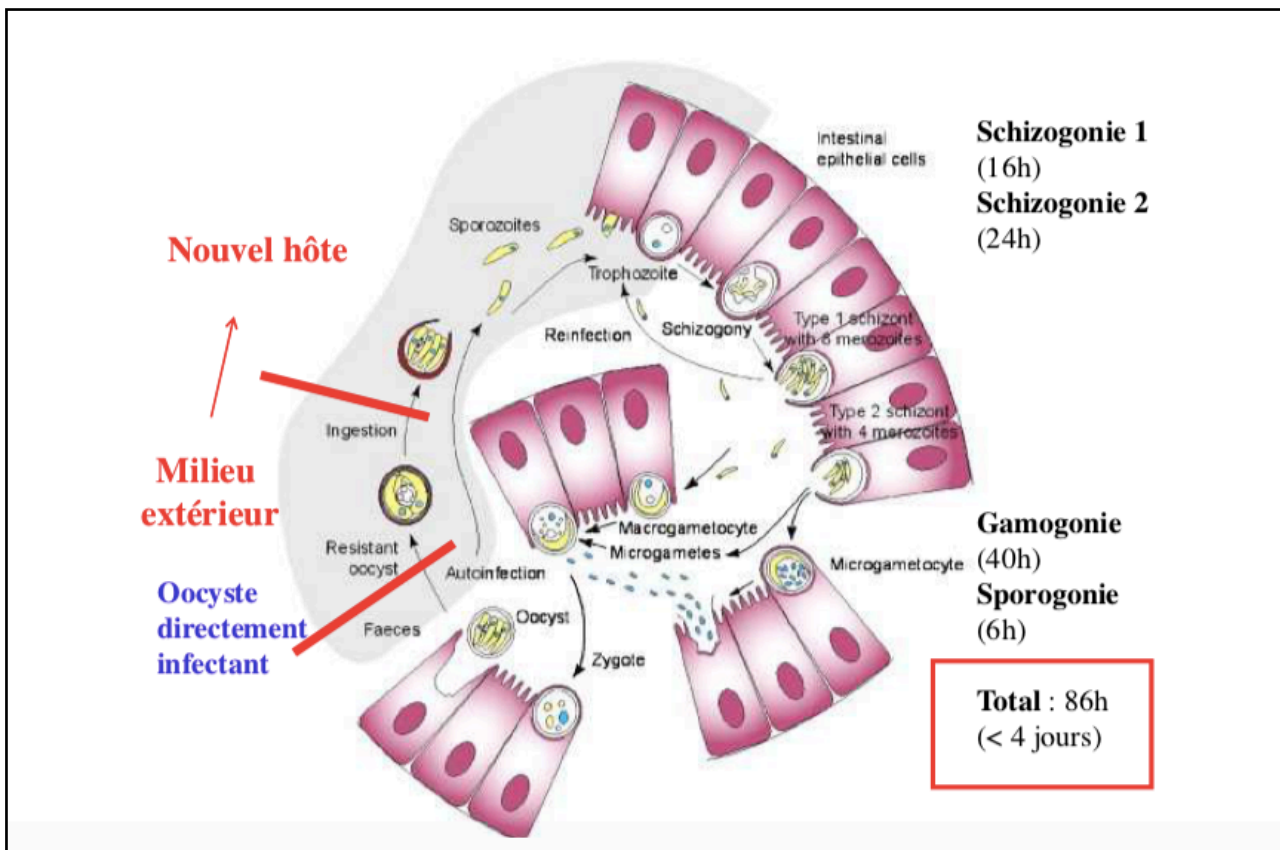


Figure 5 : Cycle biologique de *Cryptosporidium* spp. (adapté de Jacquiet, cours de parasitologie sur les protozooses des jeunes ruminants, 2014-2015)

Le parasite produit chez un premier hôte des oocystes qui sont rejetés dans le milieu extérieur avec les matières fécales. L'excrétion peut être très importante et atteindre 1 à 7 millions d'oocystes par gramme de matières fécales. Ces oocystes contiennent chacun quatre sporozoïtes qui vont être à l'origine d'une nouvelle infection.

La phase endogène commence avec l'ingestion des oocystes par un nouvel hôte. Les sporozoïtes sont alors libérés suite à la rupture de la paroi des oocystes sous l'effet des sucs gastriques. Les sporozoïtes entrent en contact avec la bordure en brosse des cellules épithéliales intestinales et s'y attachent grâce à une glycoprotéine CSL qu'ils expriment à leur surface. Les sporozoïtes pénètrent ensuite dans les cellules épithéliales et sont internalisés dans une vacuole parasitophore provenant de ces cellules épithéliales. Le parasite occupe alors une place très particulière dans la cellule : il est en position intracellulaire mais extra cytoplasmique.

Une phase de multiplication asexuée, encore appelée schizogonie, se produit ensuite et aboutit à la formation de schizontes de type I qui contiennent six ou huit cellules filles appelées mérozoïtes. Ces mérozoïtes infectent ensuite d'autres cellules où ils donnent des schizontes de type II contenant 4 mérozoïtes, qui s'engagent ensuite dans une phase de reproduction sexuée appelée gamétogonie.

Pour cela, les schizozoïtes issus de la deuxième division asexuée se différencient soit en microgamétocytes mâles, soit en macrogamétocytes femelles qui donnent ensuite des microgamètes mâles et macrogamètes femelles. Les microgamètes mâles fécondent ensuite les macrogamètes femelles ce qui donne des zygotes (oocyste immature diploïde). Ces zygotes subissent la sporulation dans le tube digestif de l'hôte, donnant 4 sporozoïtes et aboutissant ainsi à l'oocyste qui sera émis dans la lumière intestinale.

On distingue deux types d'oocystes : les oocystes à paroi épaisse qui sont libérés dans l'environnement via les matières fécales (80% des oocystes) et les oocystes à paroi fine qui vont infecter à nouveau le même hôte (20% des oocystes).

La production des oocystes sporulés est très rapide : elle se fait en 3 à 4 jours seulement après l'infection. Les oocystes excrétés sont directement infectants et sont très résistants dans le milieu extérieur tant qu'ils ne sont pas soumis à de fortes températures ou à la dessiccation : ils peuvent ainsi survivre jusqu'à 6 mois à 20°C, et plus de 1 an à 4-6 °C. Ils sont facilement disséminés dans l'environnement par l'eau principalement (Fayer *et al.*, 2000 ; Mage, 2016).

Transmission

Les oocystes étant excrétés dans les fèces, le mode de transmission principal est le mode fécal-oral (elle peut se faire par inhalation également, mais cela est extrêmement rare). Les ovins adultes peuvent être porteurs asymptomatiques de cryptosporidies et peuvent ainsi servir de réservoir pour les agneaux. Des études mettent en évidence l'augmentation de l'excrétion des oocystes de *C. parvum* autour de la mise-bas chez les petits ruminants, notamment lors de la première semaine post-partum, ce qui pourrait favoriser la contamination de l'environnement et des agneaux (Xiao *et al.*, 1994 ; Ortega-Mora *et al.*, 1999 ; Castro-hermida *et al.*, 2005). Ces derniers s'infectent en léchant la paille, les murs, les râteliers, en tétant leur mère ou en ingérant de l'eau contaminée par des oocystes. Il peut également y avoir une contamination directe suite à un contact entre un animal malade et un animal sain.

L'Homme peut aussi être contaminé par les parasites du genre *Cryptosporidium*. Le premier cas a été décrit en 1976 et dans la grande majorité des infections par ces parasites, l'ingestion d'eau contenant des oocystes est la source de l'infection. Une contamination suite à un contact rapproché avec de jeunes ruminants infectés a souvent été rapportée également (Thomson *et al.*, 2005). Cette zoonose peut avoir de sérieuses conséquences, notamment chez les personnes immunodéprimées.

Signes cliniques

Les agneaux de moins de 30 jours, et plus particulièrement ceux âgés de 5 à 10 jours, sont les plus sensibles à l'infection et la maladie (Foreyt, 1990).

Le principal signe clinique rapporté lors de cryptosporidiose est une diarrhée jaune liquide et malodorante, qui dure généralement entre 2 et 12 jours. D'autres signes cliniques moins spécifiques

comme de l'abattement, de l'anorexie, de la déshydratation, des retards de croissance et des douleurs abdominales peuvent également être observés. De grandes quantités d'oocystes directement

7 8

infectants sont excrétés dans les fèces (jusqu'à 10¹⁰ oocystes/g) ce qui favorise une transmission rapide entre les animaux. D'autres pathogènes sont également souvent retrouvés dans la diarrhée : des virus (rotavirus), des bactéries (colibacilles, salmonelles..) ou même d'autres parasites (*Giardia* spp.) (Thomson *et al.*, 2005). L'évolution vers la guérison ou la mort se fait en quelques jours à peine, et l'évolution vers une phase chronique reste exceptionnelle (Paraud and Chartier, 2012).

Lésions

Le parasite envahit les cellules épithéliales intestinales et entraîne une atrophie des microvillosités et une augmentation de la perméabilité intestinale. Ceci aboutit à une diarrhée par maldigestion et malabsorption. En réaction, le système immunitaire recrute des cellules inflammatoires qui infiltrer les muqueuses intestinales. Ces dernières s'épaississent et sécrètent plus d'acide ce qui résulte également en une diarrhée (Wyatt *et al.*, 2010). Il peut y avoir aussi des facteurs aggravants tels que le stress, les conditions climatiques, les conditions environnementales, des maladies intercurrentes avec d'autres agents entéropathogènes (Paraud and Chartier, 2012). L'infection est plus fréquente dans le jéjunum et l'iléum mais il arrive que le caecum soit atteint notamment lors d'infections sévères (Foreyt, 1990).

A l'histologie, on observe une atrophie des villosités, une dilatation des cryptes de Lieberkühn et l'invasion de la lamina propria par des neutrophiles et des monocytes (Foreyt, 1990).

3.1.2. Les coccidies

La coccidiose intestinale est causée par des protozoaires du genre *Eimeria* qui se multiplient dans les cellules épithéliales intestinales. C'est l'une des maladies parasitaires les plus importantes chez les jeunes ruminants. Les coccidies sont spécifiques à chaque espèce animale. Ce sont des parasites présents fréquemment en élevage et chez les animaux de tout âge mais ils ne génèrent des troubles que lorsqu'ils sont présents en très grande quantité. L'infection est asymptomatique chez les adultes et la maladie n'apparaît chez les agneaux que lorsque les conditions environnementales sont favorables aux parasites. Elle touche surtout les agneaux de 3 semaines à 6 mois. L'intensité de la maladie dépend des espèces qui infectent les animaux (espèces pathogènes *versus* espèces non ou peu pathogènes) mais aussi et surtout de facteurs environnementaux comme les conditions du milieu et la présence de facteurs de stress (sevrage, conditions climatiques, changements alimentaires, transport, surdensité animale...) qui peuvent déclencher des phases cliniques. La coccidiose entraîne d'importantes pertes économiques par les retards de croissance, voire les décès parfois qu'elle engendre chez les agneaux infectés, et par le coût des moyens de prévention mis en place et des trai-

tements (Foreyt, 1990 ; Poncelet, 2008 ; Daignault *et al.*, 2009 ; Mage, 2016 ; Khodakaram-Tafti *et al.*, 2017).

Les espèces de coccidies

On trouve onze espèces d'*Eimeria* chez les ovins parmi lesquelles les plus pathogènes sont *E. cran-dallis* et *E. ovinoidalis*. Devant ces différences de pathogénicité entre espèces, il est important de pouvoir les différencier. Pour cela, différents critères morphologiques et morphométriques sont pris en compte et présentés dans des guidelines européennes (Eckert *et al.*, 1995), tels que la taille et la forme de l'oocyste, la présence ou non d'un micropyle, d'un bouchon polaire... (Figure 6, Tableau 2). Néanmoins, ces critères sont parfois difficiles à observer et apprécier, et l'identification des espèces est finalement souvent opérateur dépendant.

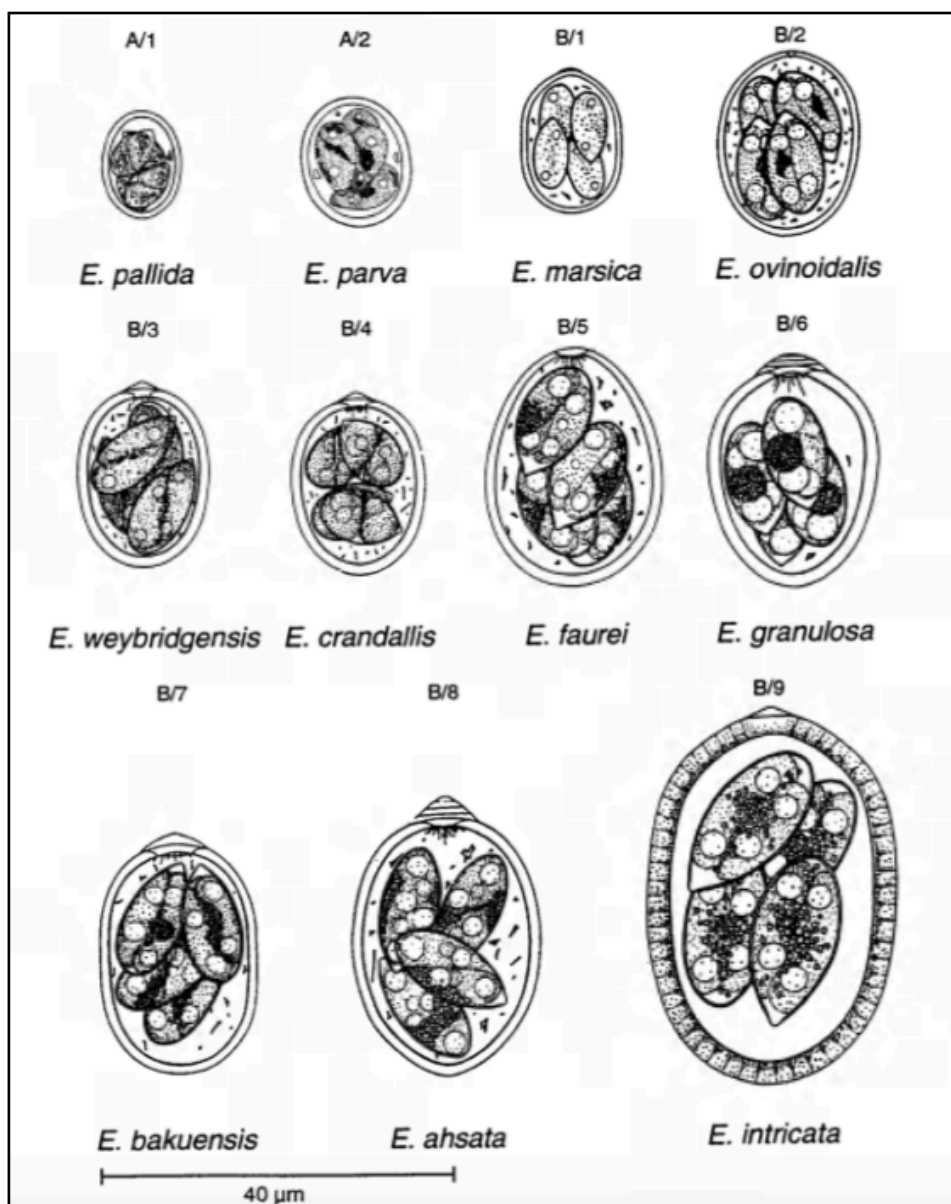


Figure 6 : Les oocystes de coccidies retrouvés chez les ovins (Eckert *et al.*, 1995)

Espèce	Taille (μm)	Description	Localisation principale	Pathogénicité
<i>E. ahsata</i>	33x23	Ovoïde, bouchon polaire, jaune/marron, pas de OR, avec SR	Petit intestin	Basse
<i>E. bakuensis</i>	29x19	Ellipsoïdal, bouchon polaire, jaune/marron pâle, sans OR, avec SR	Petit intestin	Basse
<i>E. crandallis</i>	22x19	Ellipsoïde ou sub-sphérique, avec ou sans bouchon polaire, sporozoïtes grand	Petit et gros intestin	Elevée
<i>E. faurei</i>	32x23	Ovoïde, jaune/marron pâle	Petit et gros intestin	Basse
<i>E. granulosa</i>	29x21	Forme « d'urne », grand bouchon polaire, jaune/marron	Inconnu	Basse
<i>E. intricata</i>	48x34	Ellipsoïde, paroi épaisse et striée, marron	Petit et gros intestin	Basse
<i>E. marsica</i>	19x13	Ellipsoïde, petit micropyle, incolore ou jaune pâle	Inconnu	Basse
<i>E. ovinoidalis</i>	24x20	Ellipsoïde, bouchon polaire non distinct, incolore ou jaune pâle	Petit et gros intestin	Modérée
<i>E. pallida</i>	14x10	Ellipsoïde, paroi mince, incolore ou jaune pâle	Inconnu	Basse
<i>E. parva</i>	17x14	Sphérique à sub-sphérique, incolore	Petit et gros intestin	Basse
<i>E. weybridgensis</i>	24x17	Ellipsoïde ou sub-sphérique, avec ou sans bouchon polaire	Petit intestin	Basse

Tableau 2 : Description des oocystes d'*Eimeria* (Eckert et al., 1995 ; Australian Society for Parasitology)

On retrouve certaines de ces espèces à des moments différents au cours des premières semaines de vie des agneaux. Une étude réalisée en 2004 (Reeg *et al.*, 2005) sur des agneaux dans leurs 100 premiers jours de vie a montré que chaque espèce était identifiée au moins une fois au cours de cette période. Les espèces majoritairement identifiées dans cette étude sont les plus pathogènes, *E. ovi-*

noidalis et le groupe *E. weybridgensis/E. crandallis* (la différenciation de ces deux espèces est difficile), avec un pic d'excrétion à 60 jours de vie. La prévalence des autres espèces par contre augmente de façon plus continue sur cette période mais après 5-8 semaines de vie, les auteurs rapportent globalement une forte baisse des intensités d'excrétion suite au développement de l'immunité. Cette forte prévalence des espèces pathogènes et la diminution globale des intensités d'excrétion a également été rapportée dans d'autres études (Gauly *et al.*, 2001, Barreto de Souza *et al.*, 2015).

Cycle biologique des coccidies (Vandiest, 2009 ; Mage, 2016)

Le cycle biologique des coccidies comprend une phase de développement dans l'hôte et une phase de développement dans le milieu extérieur (*Figure 7*).

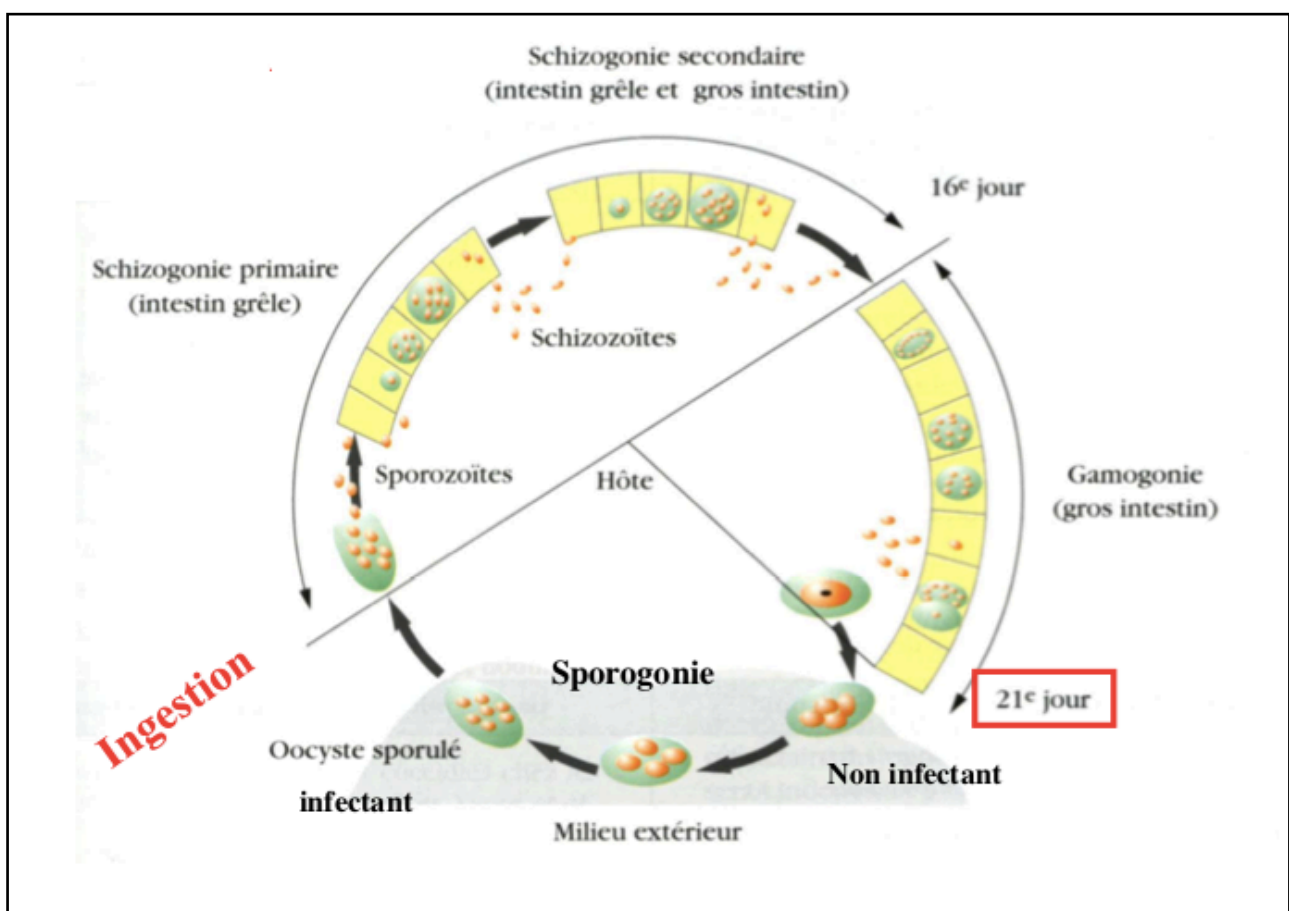


Figure 7: Cycle biologique des coccidies (adapté de Jacquet, cours de parasitologie sur les coccidioses intestinales des ruminants, 2014-2015)

La phase exogène débute par l'excrétion d'oocystes non sporulés dans les fèces par les animaux infectés. Ces oocystes deviennent infectants en 2 à 5 jours selon l'espèce et dans certaines conditions (besoin d'oxygène, température ambiante comprise entre 10 et 32°C avec un optimum entre 20 et 25°C, humidité élevée). Ils ne survivent généralement pas à des températures inférieures à -30°C et supérieures à 40°C, mais ils peuvent rester viables pendant plus d'un an dans des conditions envi-

ronnementales favorables. Dans le milieu extérieur, les oocystes subissent ensuite une phase de maturation appelée sporogonie : l'oocyste sporule en 4 sporocystes qui se divisent chacun en deux sporozoïtes. Les huit sporozoïtes formés constituent les éléments infectants.

La deuxième étape se déroule dans l'hôte, suite à l'ingestion de l'oocyste sporulé et infectant. Sous l'action de la bile et de la trypsine, les sporozoïtes sont libérés dans l'intestin grêle et pénètrent dans les cellules intestinales. Ils débutent alors une phase de multiplication asexuée appelée schizogonie où ils forment des schizozoïtes. Ces derniers envahissent les cellules intestinales où ils continuent de se multiplier, créant ainsi des lésions cellulaires à l'origine des symptômes de la coccidiose. Il y a deux schizogonies successives chez les *Eimeria* de petits ruminants.

L'étape suivante du cycle est une phase de reproduction sexuée dans le gros intestin, où les schizozoïtes vont produire des gamètes mâles et femelles qui vont se féconder et former de nouveaux oocystes. Ils seront enfin rejetés dans le milieu extérieur via les excréments, et un nouveau cycle peut débuter. L'ensemble de la phase endogène du cycle dure 2 à 3 semaines. Ainsi, la maladie en tant que telle ne peut pas survenir avant 15 jours à 3 semaines de vie chez l'agneau puisqu'elle est surtout associée à la phase sexuée du cycle chez l'hôte et notamment à l'expulsion de l'oocyste de la muqueuse intestinale.

Transmission

Les oocystes sont excrétés dans le milieu extérieur et les moutons s'infestent en ingérant de l'eau ou des aliments contaminés, de la litière souillée, ou pour les agneaux, en tétant les trayons contaminés de leur mère. Les adultes assurent la continuité du cycle en excréant les oocystes puis en se ré-infestant régulièrement (Vandiest, 2009 ; Daignault *et al.*, 2009). Les agneaux se contaminent dans les jours voire les heures qui suivent la naissance. La coccidiose-maladie touche surtout les agneaux en bergerie, mais on peut également la trouver sur les agneaux d'herbe suite à la mise à l'herbe, ou durant l'automne et l'été lorsque les agneaux sont sous-alimentés (Mage, 2016).

Signes cliniques et lésions

Les signes cliniques apparaissent habituellement vers l'âge d'un mois. Les adultes ne présentent généralement pas de signes cliniques mais les agneaux sont beaucoup plus sensibles à cette parasitose. Des conditions de stress (sevrage, mise à l'herbe, variations de température...) peuvent favoriser le déclenchement de la maladie (Poncelet, 2008 ; Mage, 2016).

Lorsque l'infection est légère, elle reste subclinique : les agneaux peuvent présenter tout au plus des retards de croissance, un amaigrissement, ainsi qu'une laine terne et rêche.

Lorsque l'exposition est plus importante, la coccidiose devient clinique : les agneaux déclenchent une diarrhée odorante noirâtre ou verdâtre, qui peut parfois être hémorragique. Cette présence de sang est due au développement des coccidies dans la muqueuse intestinale : elles détruisent les cellules épithéliales ce qui découvre le chorion sous-épithélial, soit la couche la plus vascularisée

créant alors des hémorragies. La diarrhée peut aussi être accompagnée de ténésme, et les agneaux souffrent de douleur abdominale. On retrouve souvent des fèces séchés et collés autour de la région anale, sous la queue et à l'intérieur des cuisses des agneaux. Ces derniers perdent aussi l'appétit, se déshydratent et maigrissent. Des diarrhées et des septicémies d'origine bactérienne accompagnent parfois les épisodes de coccidiose. Dans les cas les plus graves, les agneaux présentent des troubles nerveux (excitation, pédalage), et de l'anémie, et la mort peut survenir en 2 à 5 jours (Poncelet, 2008 ; Daignault *et al.*, 2009 ; Vandiest, 2009). La sévérité et l'évolution de la maladie dépend de la quantité d'oocystes ingérés, de l'espèce de coccidies en cause (*E. ovinoidalis* et *E. crandallis* causent les plus gros dommages), des facteurs de stress, des conditions environnementales, de l'âge et du statut immunitaire de l'hôte (Foreyt, 1990). Les agneaux qui en guérissent restent tout de même porteurs et continuent d'excréter de petites quantités d'oocystes dans l'environnement. Passé un an d'âge, on observe beaucoup moins de cas cliniques, l'infestation est plus légère et l'excrétion de coccidies diminue fortement (Mage, 2016).

A l'autopsie, on peut ne pas trouver de lésions du tube digestif et ce même chez les animaux fortement infectés. On observe parfois un amincissement de la paroi intestinale et des macroschizontes qui correspondent à une accumulation de schizozoïtes (*Figure 8*) (Khodaram-Tafti *et al.*, 2017). On observe souvent une entérite catarrhale et congestive au niveau du jéjunum, de l'iléum et du caecum. Elle peut être hémorragique avec du mucus et de la fibrine (Chartier and Paraud, 2012).

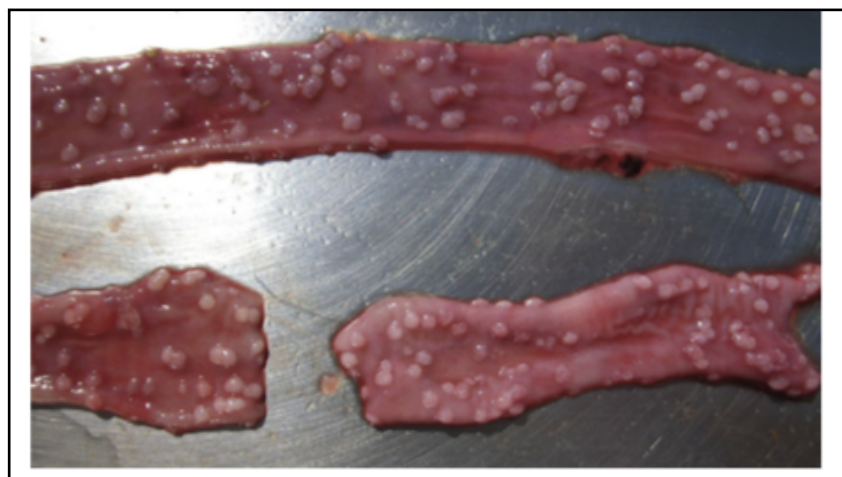


Figure 8 : Nodules dans la muqueuse intestinale d'un chevreau infecté par des coccidies (Chartier and Paraud, 2012)

A l'histologie, dans la majorité des cas, on observe une atrophie des villosités intestinales. Ces lésions sont généralement associées à l'étape de schizogonie. Lors de la formation des gamètes, on assiste plutôt à une destruction des cryptes ou une hyperplasie des cellules intestinales (Khodaram-Tafti *et al.*, 2017).

3.1.3. *Giardia* spp.

Les parasites du genre *Giardia* spp. sont des protozoaires flagellés à localisation digestive qui entraînent des troubles digestifs chez les jeunes mammifères. Ce parasite a été découvert au XVIII^e siècle et on le retrouve chez de nombreux mammifères et dans le monde entier. Cependant, les connaissances sont encore limitées et peu de données sur la prévalence de *Giardia* spp. en élevage ovin ont été recueillies pour le moment (Bareille and Fournier, 2010). La taxonomie du genre *Giardia* spp. est complexe. *Giardia duodenalis*, également appelé *G. intestinalis* ou *G. lamblia*, est fréquent chez les animaux de rente et les kystes excrétés dans les fèces sont résistants dans le milieu extérieur. *G. duodénalis* est génétiquement divisé en sept génotypes différents et seuls les assemblages A et B peuvent être transmis à l'Homme par les animaux, via l'ingestion d'eau ou d'aliments contenant des kystes (Wilson and Hankenson, 2010). Le parasite peut causer des diarrhées sévères notamment chez les enfants et les personnes immunodéprimées. (Robertson, 2009). Chez les ruminants, la giardiose est souvent asymptomatique mais il peut arriver qu'elle devienne subclinique et qu'elle soit à l'origine d'un mauvais état général, de perte de poids et de diarrhée. (Castro-Hermida *et al.*, 2007) C'est ainsi une maladie économiquement importante en élevage du fait de l'impact négatif sur la production et du fait des frais vétérinaires engagés pour les traitements.

Cycle biologique du parasite

Le cycle de *Giardia duodenalis* est monoxène, c'est à dire qu'il ne nécessite qu'un seul hôte (*Figure 9*).

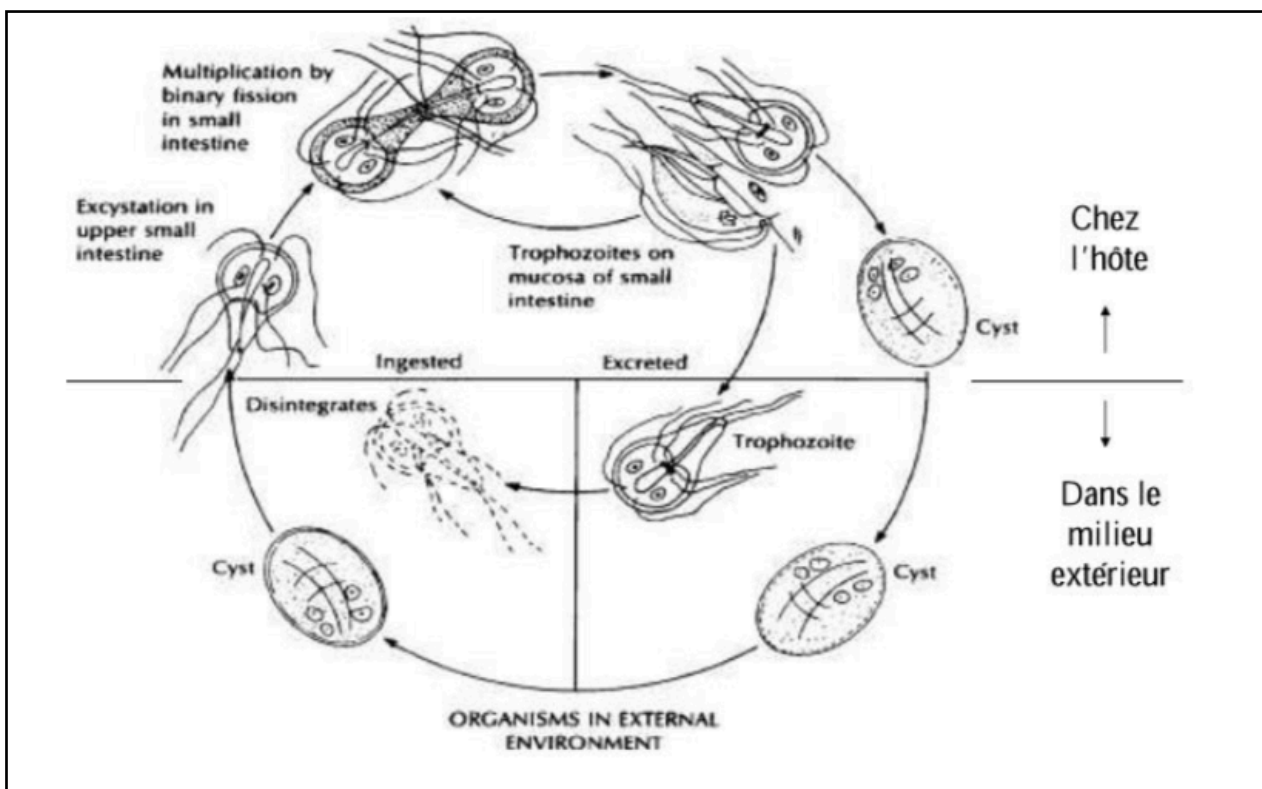


Figure 9 : Cycle biologique de *Giardia duodenalis* (adapté de Jacquet, cours de parasitologie sur la giardiose à *Giardia duodenalis*, 2014-2015)

Ce parasite se multiplie dans la partie antérieure de l'intestin grêle. On le trouve sous deux formes (Bareille and Fournier, 2010 ; Santé Canada Ottawa, 2012) :

- Le trophozoïte : c'est la forme végétative. Il mesure 15 microns de long et est en forme de poire avec l'extrémité antérieure arrondie. Il dispose de quatre paires de flagelles qui lui permettent de se déplacer et de se fixer. Il a deux noyaux et un disque adhésif ventral (cytostome).
- Le kyste : c'est la forme infestante, présente dans l'environnement et ensuite ingérée par l'hôte. Il mesure 8 à 14 microns de long et 7 à 10 microns de large, et possède deux ou quatre noyaux et des organites.

Après avoir été ingéré, le kyste libère 4 trophozoïtes dans l'intestin grêle sous l'action des sucs gastriques. Vient ensuite une phase de multiplication asexuée où les trophozoïtes se divisent par bipartition longitudinale dans les cryptes intestinales. Ils adhèrent ensuite aux villosités et s'enkystent, et peuvent alors être éliminés dans les fèces. Cette excrétion est toutefois intermittente et il peut arriver que les trophozoïtes soient éliminés également mais ils ne sont pas contaminants (Pitel *et al.*, 2003).

Comme pour les cryptosporidies, les kystes de *Giardia* spp. excrétés sont immédiatement infectants. Ils peuvent résister plus de deux mois à l'extérieur à 8°C mais seulement quelques jours à 37°C (Pitel *et al.*, 2003 ; Bareille and Fournier, 2010).

Transmission

Chez les ruminants, la giardiose touche surtout les jeunes animaux, veaux, agneaux et chevreaux. La transmission est fécale-orale. Les jeunes animaux sont la source principale d'infection car ils excrètent de grandes quantités de kystes. Cette excrétion diminue en général après le sevrage mais les adultes peuvent rester porteurs pendant plusieurs mois et excréter de façon intermittente. La contamination permanente de l'environnement est ainsi assurée via les jeunes et les adultes. La transmission aux autres animaux et aux agneaux se fait via l'eau, la nourriture et l'environnement (Castro-Hermida *et al.*, 2007 ; Santé Canada Ottawa, 2012, Constable *et al.*, 2016). La dose infectieuse étant très faible (dix kystes suffisent), l'infection se propage très rapidement au sein du troupeau (O'Handley and Olson, 2006). De plus, comme pour *C. parvum*, il a été montré qu'autour de l'agnelage, on a une forte augmentation de l'excrétion de kystes de *Giardia* spp. avec un pic à 4 semaines post-partum, ce qui favorise la contamination des agneaux (Xiao *et al.*, 1994). Enfin, de mauvaises conditions hygiéniques et sanitaires (humidité importante, surdensité animale...) favorisent cette parasitose (Bareille and Fournier, 2010).

Signes cliniques et lésions

La giardiose est le plus souvent asymptomatique chez les adultes. Les agneaux âgés de 1 à 6 mois sont plus sensibles à la maladie et peuvent exprimer des signes cliniques (Bareille and Fournier, 2010). Ils présentent un mauvais état général, des retards de croissance, et une diarrhée mucoïde

pendant 2 ou 3 jours. Les animaux ne présentent généralement pas de perte d'appétit. Différentes études montrent que les animaux infectés ont des poids de carcasse diminués par rapport aux animaux sains et que la durée d'engraissement est plus longue chez ces animaux (Olson *et al.*, 1995). La giardiose seule entraîne rarement la mort.

Après avoir adhéré aux cellules intestinales, les trophozoïtes libèrent des toxines qui provoquent une atrophie villositaire, une perturbation des canaux ioniques et une diminution de l'activité des enzymes de la bordure en brosse intestinale (lipases, protéases, disaccharidases). Tout ceci aboutit à une diarrhée par malabsorption et maldigestion. La diminution de l'activité des lipases ainsi que l'augmentation de la production de mucus peut expliquer l'aspect mucoïde ou stéatorrhéique de la diarrhée qui est souvent rapporté lors de giardiose (Patton ; Pitel *et al.*, 2003 ; Constable *et al.*, 2016).

A l'autopsie, on ne voit pas de changements macroscopiques en général mais microscopiquement, on peut observer un recrutement de lymphocytes, de plasmocytes et d'éosinophiles dans la muqueuse intestinale associé à une inflammation diffuse sévère à modérée du jéjunum et une atrophie des villosités. A l'histologie, il est possible de détecter les trophozoïtes (Aloisio *et al.*, 2006 ; Constable *et al.*, 2016).

3.2. Diagnostic

Les symptômes rencontrés lors de cryptosporidiose, coccidiose et giardiose ne sont pas caractéristiques. Le diagnostic de certitude par les seuls éléments cliniques n'est donc pas possible et il faut recourir aux méthodes de laboratoire.

Le principal moyen de diagnostic est l'examen des matières fécales, avec la recherche d'oocystes de cryptosporidies et de coccidies, et la recherche de kystes de *Giardia duodenalis* mais aussi, de plus en plus la mise en évidence d'antigènes ou de l'ADN de ces parasites dans les matières fécales. Pour cela, différentes techniques existent : les techniques microscopiques avec la coloration des fèces et les méthodes de concentration (flottation, sédimentation), les techniques immunologiques et les techniques de biologie moléculaire.

3.2.1. Techniques microscopiques

Examen direct des selles

Cet examen est la méthode la plus rapide et la plus simple. Une petite quantité de matières fécales est mélangée à du sérum physiologique et observée entre lame et lamelle au microscope. Cette méthode nécessite ainsi peu d'équipement mais la lecture peut être difficile du fait de la présence de débris fécaux sur la lame.

Examen des selles après coloration

De nombreuses méthodes de coloration des frottis fécaux existent pour la recherche des protozoaires.

La technique de référence pour le diagnostic de la cryptosporidiose, y compris sur selles diarrhéiques, est la coloration de Ziehl-Nielsen modifiée par Henriksen et Polhenz (oocystes colorés en rose sur un fond vert) (Khelef *et al.*, 2002). La coloration de Heine donne également de bons résultats (oocystes réfringents et non colorés sur un fond rouge), et une étude réalisée par Chartier en 2013 montre que sur des échantillons fécaux contenant plus de 10000 oocystes par gramme, la sensibilité atteint 90% avec la coloration de Heine (Chartier *et al.*, 2013).

Pour la recherche de kystes de *Giardia* spp., la coloration de choix est la coloration au lugol où les kystes apparaissent orangés sombres sur fond orange. La coloration de Bailanger ou la méthode MIF (Merthiolate-Iode-Formol) sont également souvent réalisées en laboratoire (VetAgro Sup).

A l'inverse, une étude réalisée en 2012 par Chanudet montre que les techniques sans colorant sont plus sensibles pour détecter les parasites du genre *Eimeria* (Chanudet, 2012).

Ainsi, ce sont des méthodes simples à réaliser et peu coûteuses, qui apportent un résultat qualitatif. Néanmoins, la sensibilité est faible pour les fèces contenant peu d'oocystes ou de kystes et la spécificité peut être altérée par la complexité de la lecture au microscope (Chartier *et al.*, 2002).

Examen des selles après concentration

Technique de flottation

Elle repose sur l'utilisation de solutions dont la densité (d) est supérieure à celle des oocystes de cryptosporidies, de coccidies et des kystes de *Giardia* spp. (d=1,1-1,2), afin de les faire remonter à la surface et de les observer ensuite au microscope. Différents liquides de flottation sont disponibles et ont des densités qui varient de 1,18 à 1,44.

On trouve de nombreuses méthodes dans la littérature, mais il semble que les solutions les plus efficaces pour détecter les oocystes de cryptosporidies soient celles avec du chlorure de sodium saturé (NaCl, d = 1,18-1,2) et la solution de Sheather (sucre saturée, d = 1,27) (Foreyt, 1990 ; Kuczynska and Shelton, 1999). Une étude réalisée par Kuczynska montre que la solution à base de NaCl est efficace pour concentrer les oocystes de *C. parvum* lorsqu'ils sont présents en faible quantité (Kuczynska and Shelton, 1999) mais cette solution est corrosive pour le matériel et forme des cristaux sur la lame. La solution de Sheather réunit la majorité des oocystes à la surface du liquide et permet une bonne purification du surnageant en éliminant les levures et les oocystes dégénérés et non viables (Kar *et al.*, 2011).

Pour *Giardia* spp., il semble préférable d'utiliser une solution de sulfate de zinc (d=1,18) pour réaliser la flottation car les solutions de chlorure de sodium ou de nitrate de sodium ont tendance à dé-

former les oocystes (Broussard, 2003). Néanmoins, l'excrétion étant intermittente, il est recommandé de faire plusieurs prélèvements sur plusieurs jours si une giardiose est fortement suspectée, afin d'éviter les faux-négatifs (Pitel et al., 2003, Patton).

La méthode la plus utilisée pour mettre en évidence les oocystes de coccidies est la technique de flottation avec du chlorure de sodium ($d=1,18-1,2$), avec utilisation d'une cellule de Mac Master pour la quantification des oocystes. En raison d'une grande variabilité individuelle d'excrétion d'oocystes dans un lot d'agneaux, il est recommandé de réaliser une coproscopie sur au moins dix animaux pour avoir une estimation correcte de la moyenne d'œufs excrétés et de l'importance de la coccidiose dans ce lot (Chartier and Paraud 2012 ; Khodakaram-Tafti *et al.*, 2017). Bien que beaucoup d'animaux excrètent des oocystes sans exprimer la maladie, l'observation d'un grand nombre d'oocystes (50000-100000 œufs par gramme (opg)) est fortement évocatrice d'une coccidiose. (Foyre, 1990 ; Khodakaram-Tafti *et al.*, 2017) De plus, étant donné les degrés de pathogénicité différents entre les espèces, il est important de les identifier. La diagnose d'espèce est basée sur la morphologie et la morphométrie des oocystes : taille, forme, présence d'une calotte micropylaire, couleur, aspect de la paroi (Chartier and Paraud, 2012)...

Ces techniques de microscope présentent de nombreux avantages car elles sont peu coûteuses, faciles à réaliser et plus sensibles que la technique des colorations lors de faible positivité. Néanmoins, il faut bien choisir la solution car une solution insuffisamment dense ne fera pas flotter les oocystes ou les kystes, et une solution trop dense au contraire, pourra déformer ces derniers, voire même les lyser (VetAgro Sup). Ces méthodes nécessitent également de bonnes compétences de lecture et sont ainsi opérateur-dépendantes.

Technique de sédimentation

Cette technique permet de séparer les oocystes des débris fécaux en utilisant cette fois-ci une solution de densité inférieure à celle des éléments parasitaires mais supérieure à celle des débris fécaux. C'est une méthode simple et peu coûteuse également, et contrairement à la technique de flottation, il n'y a pas de risque d'abimer les oocystes. Cependant, cette méthode demande plus de temps et de manipulations que la technique de flottation (Kuczynska and Shelton, 1999) et elle est également moins sensible à cause de la présence de nombreux débris fécaux (VetAGro Sup).

3.2.2. Techniques immunologiques

Immunofluorescence

Cette technique repose sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux conjugués à des marqueurs fluorescents et dirigés contre le parasite. Des kits commerciaux existent pour la détection de *Cryptosporidium* spp. et/ou *Giardia* spp., et donnent des résultats en 20-30 minutes (O'Handley and Olson, 2006). La sensibilité et la spécificité sont supérieures à celles des techniques de coloration clas-

siques (Baron *et al.*, 1989), et une étude publiée par Johnston en 2003, montre que cette technique est également plus sensible que les tests ELISA (Johnston *et al.*, 2003). Bien que ce soit une technique rapide, peu onéreuse et permettant de quantifier les résultats, il est nécessaire de disposer d'un microscope à fluorescence pour lire l'immunofluorescence.

Test d'agglutination au latex

Des tests d'agglutination au latex existent pour la détection des cryptosporidies. Cette méthode utilise des microsphères de latex conjuguées avec des anticorps anti-*Cryptosporidium*. Si des antigènes sont présents dans les matières fécales, les microsphères vont s'agglutiner et la densité de la suspension sera modifiée. D'après une étude de Chartier publiée en 2002, la sensibilité et la spécificité de cette technique sont respectivement de 95,1 et 96% chez les caprins (Chartier *et al.*, 2002), et d'après les travaux de Nussbaum, elles sont de 97,9 et 97,4% chez les bovins (Nussbaum *et al.*, 1999). C'est une méthode fiable, rapide (résultats en 20 minutes) et simple à mettre en place mais aucune étude n'a été publiée à ce jour chez les ovins.

ELISA

Différents kits ELISA existent pour le diagnostic de *Cryptosporidium parvum* et de *Giardia duodenalis* dans les fèces.

Concernant la détection de *C. parvum*, les antigènes de surface des oocystes du parasite sont directement reconnus par des anticorps monoclonaux. La spécificité de ces tests est élevée (supérieure à 99% d'après une étude de Johnston (Johnston *et al.*, 2003)), mais concernant la sensibilité, les avis divergent. En effet, certaines études montrent qu'elle est similaire à celle des techniques de coloration (Akam *et al.*, 2003 ; Brook *et al.*, 2007) et d'autres montrent qu'elle est supérieure (Xiao *et al.*, 2007).

Les tests ELISA pour la détection de *Giardia duodenalis* détectent soit les antigènes de la paroi des parasites, soit une protéine particulière (GSA 65) produite par le parasite lorsqu'il se multiplie et émise dans les selles. La plupart des études rapporte une bonne sensibilité et spécificité pour ces tests (Adiss *et al.*, 1999 ; Mizhquiri *et al.*, 2018).

Ainsi, en cas de suspicion de giardiose ou de cryptosporidiose, les tests ELISA sont des techniques faciles à utiliser et fiables, et permettent de confirmer ou d'infirmer rapidement le diagnostic.

Immunochromatographie

Des tests de diagnostic rapide par immunochromatographie sont commercialisés pour le diagnostic de *Cryptosporidium* spp. et *Giardia* spp.. Le principe repose sur l'utilisation de bandelettes sur lesquelles sont fixés des anticorps dirigés contre les antigènes des parasites. Si l'antigène recherché est présent dans les fèces, il se lie avec l'anticorps et cette liaison se traduit par l'apparition d'une ligne colorée (Fayer and Xiao, 2007).

Les différentes études s'accordent à dire que la spécificité de ces tests est élevée mais les résultats concernant la sensibilité varient. En effet, certaines études montrent que la sensibilité est plus faible

que les techniques de microscope classiques (Johnston *et al.*, 2003 ; Chartier *et al.*, 2013 ; Danisova *et al.*, 2017) et d'autres montrent au contraire que la sensibilité est similaire voire plus élevée qu'avec les autres techniques (Chan *et al.*, 2000). Une autre étude réalisée en 2011 a montré que la sensibilité de ces tests variait en fonction du kit utilisé et des espèces recherchées : il semble, par exemple, que la sensibilité dans la détection de *C. parvum* et *C. hominis* soit plus élevée que pour la détection des autres espèces de *Cryptosporidium* spp. (Agnamey *et al.*, 2011).

Le test utilisé dans le cadre de cette étude est le Speed V-Diar 5® commercialisé par Virbac, qui permet la détection et l'identification en 15 minutes des antigènes des oocystes de *Cryptosporidium parvum* et également des antigènes de Coronavirus, de Rotavirus et d'*E. Coli*. Ces agents sont tous responsables de diarrhées chez les agneaux, chevreaux ou veaux nouveau nés. La sensibilité pour *C. parvum* est de 97,2% et la spécificité est de 95% pour ce test, en comparaison aux tests de référence (Elisa, agglutination sur latex, culture bactériologique ou coloration de Ziehl-Nielsen modifiée).

Ces techniques sont ainsi très faciles à réaliser, ne nécessitent pas de matériel sophistiqué et permettent d'avoir un résultat rapide au pied de l'animal (Chartier *et al.*, 2013).

3.2.3. Technique de biologie moléculaire

Les méthodes de PCR (Polymerase Chain Reaction) amplifient l'ADN ou l'ARN des protozoaires, permettant ainsi leur détection. Ces méthodes sont beaucoup plus sensibles et spécifiques que les techniques plus « conventionnelles » de coloration, de concentration et les techniques immunologiques présentées précédemment.

Des PCR peuvent être réalisées sur les échantillons fécaux et permettent, en plus d'établir le diagnostic, d'identifier les espèces et les sous types de *Cryptosporidium* spp. présents, les espèces d'*Eimeria* spp. et l'assemblage de *G. duodenalis* auquel on est confronté. Ceci est particulièrement intéressant pour l'espèce *C. parvum* dont on sait que certains génotypes (IIa et IIc) ont un potentiel zoonotique clairement démontré (Chalmer *et al.*, 2013), ainsi que pour les assemblages zoonotiques A et B de *G. duodenalis* (Wilson and Hankenson, 2010). De même, l'identification précise des espèces d'*Eimeria* spp. est très importante du fait des différences de pathogénicité entre les espèces.

L'amplification d'une région du gène codant la petite sous-unité de l'ARN ribosomal (ARNr 18S) est fréquemment utilisée pour détecter et différencier les espèces de *Cryptosporidium* spp. et de coccidies, et identifier *Giardia duodenalis* et ses différents assemblages. De plus, l'analyse de la séquence d'ADN codant la glycoprotéine de 60 kDa (gp60) est largement utilisée pour le génotypage et le sous-typage de *Cryptosporidium* spp. (Razakandrainibe *et al.*, 2014 ; Khodakaram-Tafti *et al.*, 2017 ; Bordes, 2018).

Cependant, concernant les coccidies, la majorité des études ont été conduites en aviaire et peu ont été menées chez les ruminants à l'heure actuelle. L'application de techniques moléculaires pour la

détection des coccidies reste encore expérimentale et n'est pas utilisée en routine dans les laboratoires vétérinaires, contrairement à *Giardia* spp. et aux cryptosporidies.

Ces techniques de biologie moléculaire présentent les avantages d'être plus sensibles que les autres techniques, permettent d'analyser de nombreux échantillons à la fois, et assurent la réalisation d'analyses génétiques des différentes espèces et génotypes de ces protozoaires. Néanmoins, elles nécessitent un certain temps de manipulation et une technicité des opérateurs.

3.3. Traitement et prévention

3.3.1. Cryptosporidies

Traitement

A l'heure actuelle, aucun traitement spécifique n'existe pour soigner une cryptosporidiose car aucune molécule ne s'est montrée entièrement efficace et ne permet un contrôle total de l'infection dans un élevage de ruminant. En effet, la position particulière du parasite (intracellulaire mais extracytoplasmique dans la cellule hôte) lui confère une protection envers la plupart des composés chimiques.

Seules deux molécules ont donné des résultats intéressants chez les jeunes ruminants jusqu'à présent : le lactate d'halofuginone et le sulfate de paromomycine (Giodinis *et al.*, 2007 ; Paraud and Chartier, 2012 ; Petermann *et al.*, 2014 ; Paraud and Chartier, 2015) :

- Le lactate d'halofuginone : il appartient à la famille des quinazolines et a une activité cryptosporidiostatique : il agit sur les sporozoïtes et mérozoïtes de type I et II. L'administration de 0,1 mg/kg pendant 7 jours en prévention, dès 2 ou 3 jours de vie, permet, en théorie, la réduction de l'excrétion d'oocystes et de la diarrhée sans altérer le gain de poids, et diminue le taux de mortalité. A cette dose, le lactate d'halofuginone semble inhiber le taux de reproduction du parasite et stimule le développement immunitaire de l'agneau. C'est pour le moment la seule molécule autorisée et commercialisée en France sous le nom de HALOCUR® avec l'indication « prévention de la cryptosporidiose », mais l'autorisation de mise sur le marché (AMM) ne concerne que les veaux. Il est néanmoins possible de l'utiliser chez les agneaux et les chevreaux dans le cadre de la cascade. Toutefois il faut respecter un temps d'attente de 13 jours et l'administration doit se faire après la tétée et individuellement, ce qui se révèle très contraignant pour l'éleveur. De plus, une reprise d'excrétion des oocystes à l'arrêt du traitement a été montrée, mettant ainsi en évidence que le traitement préventif apporte une faible immunité à l'animal.

- Le sulfate de paromomycine : c'est un antibiotique de la famille des aminoglycosides. Une dose de 100 mg/kg/j pendant 3 jours ou de 200 mg/kg/j pendant 2 jours, dès l'apparition de la diarrhée, entraîne un arrêt ou au moins une réduction de l'excrétion des oocystes, ainsi que la diminution de la diarrhée et un gain de poids (Viu *et al.*, 1999 ; Paraud and Chartier, 2015). Contrairement

au lactate d'halofuginone, cette molécule ne possède pas l'AMM pour la prévention de la cryptosporidiose mais possède l'AMM pour le traitement des infections gastro-intestinales à *E. coli* chez le veau et le porc (PAROFOR®). Cependant, dans le but de limiter le développement de bactéries résistantes aux antibiotiques, ce médicament ne peut être utilisé dans l'indication « cryptosporidioses » qu'après déclaration auprès de l'Agence nationale du médicament vétérinaire (ANMV) de l'inefficacité du traitement avec le lactate d'halofuginone.

Le lactate d'halofuginone et le sulfate de paromomycine sont les molécules qui ont donné les meilleurs résultats chez les jeunes ruminants. D'autres molécules ont été testées telles que le décoquinate, la lasalocide, l'azythromycine, le nitazoxanide, la cyclodextine... mais ont donné des résultats peu satisfaisants (Paraud and Chartier, 2015).

Une étude publiée en 2014 a montré l'intérêt de l'utilisation d'une nouvelle molécule chez les chevreaux : le chitosan. Les résultats montrent que ce polysaccharide réduit l'excrétion des oocystes et diminue l'intensité de la diarrhée. Le produit testé dans cette étude est commercialisé sous le nom d'OPTISAFE®. C'est un aliment complémentaire diététique recommandé en période néonatale pour diminuer les risques de diarrhée. Les résultats sont encourageants mais la molécule n'a pas encore été testée chez les ovins pour le moment (Paraud and Chartier, 2015).

Etant donné qu'à ce jour, aucune molécule ne donne entière satisfaction, le traitement de la cryptosporidiose est avant tout symptomatique. Il est ainsi similaire à celui d'une diarrhée néonatale classique, basé sur une réhydratation et l'apport d'électrolytes, de nutriments, l'utilisation de pansements digestifs (Paraud and Chartier, 2012)...

Mesures sanitaires et hygiéniques

Les mesures hygiéniques et sanitaires sont très importantes pour prévenir les épisodes de cryptosporidiose et reposent sur deux grands principes : la destruction des oocystes dans l'environnement et la réduction des possibilités de contact avec les oocystes.

Il faut veiller à ce que les agneaux ingèrent suffisamment de colostrum de bonne qualité à la naissance, alloter les agneaux, isoler les animaux malades des animaux sains pour réduire la transmission du parasite, éviter les surdensités d'animaux, maintenir les lieux et les bâtiments propres, nettoyer le matériel et désinfecter les locaux régulièrement (Paraud and Chartier, 2012). Il est important de contrôler l'hygiène des litières, notamment lors de la période d'agnelage.

Comme nous l'avons dit précédemment, les oocystes de *Cryptosporidium* spp. sont très résistants dans le milieu extérieur. La plupart des désinfectants usuels sont inefficaces aux doses classiques : seuls l'ammoniac (5 à 50%), le peroxyde d'hydrogène à 3% et le formol à 10% sont efficaces (Paraud and Chartier, 2012), en laissant un temps de contact de plusieurs heures. Il est ensuite conseillé de faire un vide sanitaire de 15 jours minimum. La désinfection des sols, des murs jusqu'à un mètre de haut et tout le matériel en contact avec les animaux, permet de réduire la pression d'infection du milieu extérieur mais n'empêche pas la recontamination via les animaux porteurs asymptomatiques.

3.3.2. Coccidies

Traitement

En présence d'un diagnostic de coccidiose, il est nécessaire de traiter le plus précocement possible tous les animaux du lot, y compris ceux ne montrant pas encore de signes cliniques. En effet, ces derniers peuvent malgré tout excréter des coccidies et ainsi contaminer l'environnement (Chartier and Paraud, 2012).

Différentes molécules sont commercialisées (Daignault *et al.*, 2009 ; Chartier and Paraud, 2012 ; Mage, 2016) :

- Le diclazuril (VECOXAN®) : c'est un coccidiocide qui agit au niveau de l'intestin grêle et du gros intestin, et donc la fois sur les stades sexués et asexués du cycle du développement du parasite (*Figure 10*). Cette molécule est commercialisée sous la forme d'une suspension buvable qui s'administre en une seule fois par voie orale, à la dose de 1 mg/kg de poids corporel. Suite à cette administration, le cycle du parasite est interrompu et les oocystes ne sont plus excrétés pendant environ deux semaines. L'avantage de ce produit est qu'il n'est pas absorbé au niveau intestinal et présente ainsi un temps d'attente nul, et aucune contre-indication environnementale.

- Le toltrazuril (BAYCOX OVIS®) : c'est un coccidiocide qui agit comme le diclazuril (*Figure 10*) et est commercialisé sous forme de suspension buvable également. Le produit a une rémanence de plus d'un mois ce qui permet l'arrêt de l'excrétion des oocystes pendant un long moment. L'administration est unique par voie orale, mais à la dose de 20 mg/kg de poids vif. Contrairement au diclazuril, un temps d'attente de 42 jours pour les viandes et les abats est à respecter, il faut donc l'administrer tôt dans la vie de l'agneau. Par ailleurs, le toltrazuril présente des contre-indications environnementales (le métabolite principal - le ponazuril - peut pénétrer dans le sol lors de l'épandage de fumier d'animaux traités, et a des effets indésirables sur la croissance et le développement des plantes).

- Le sulfadiméthoxine (METOXYL®) : c'est un sulfamide bactériostatique qui agit sur les dernières étapes du cycle en bloquant la synthèse de l'acide folique (*Figure 10*). Il est commercialisé sous forme de solution buvable et la dose à donner est de 50 à 75 mg/kg/j, pendant 3 à 5 jours. Un temps d'attente de 12 jours est à respecter pour les viandes et les abats. Depuis l'apparition du diclazuril et toltrazuril, ce produit est moins utilisé par les éleveurs car plus contraignant d'utilisation (droguage pendant plusieurs jours consécutifs, contrairement au toltrazuril et au diclazuril où une seule administration suffit).

- L'amprolium : cela a été l'un des premiers anti-coccidiens utilisé mais il ne l'est quasiment plus aujourd'hui car c'est un antagoniste de la vitamine B1 ce qui peut créer des carences en thiamine et ainsi être à l'origine de polyencéphalomalacie (Foreyt, 1990).

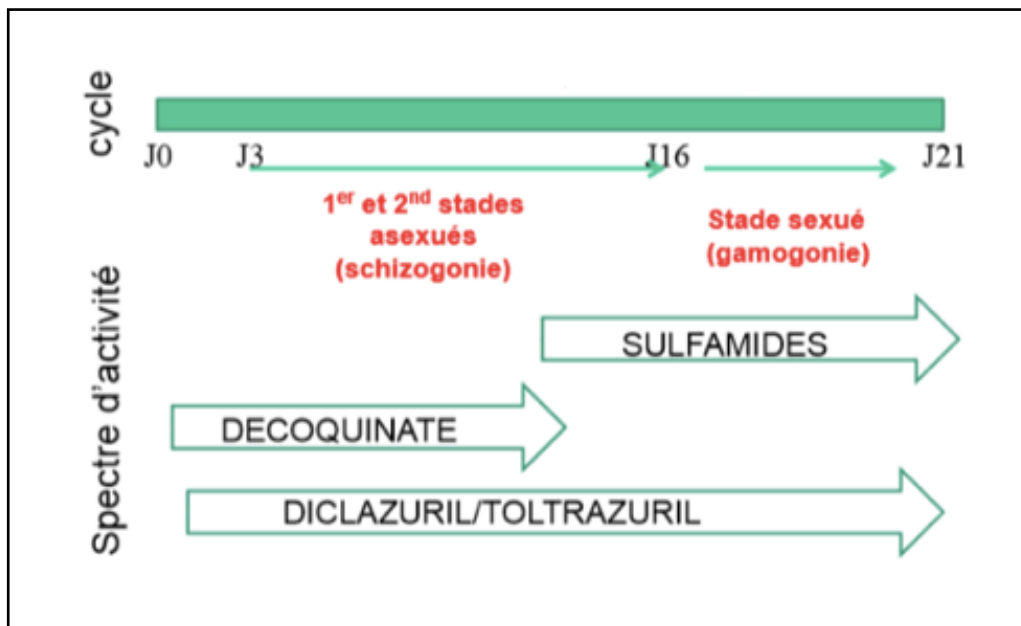


Figure 10 : Activité des anticoccidiens selon les phases du cycle (adapté de Jacquet, cours de parasitologie sur les coccidioses intestinales des ruminants, 2014-2015)

Prévention

La prévention des épisodes de coccidiose repose sur l'utilisation de molécules anticoccidiennes, de bonnes conditions hygiéniques, le contrôle des facteurs de stress, et une bonne alimentation.

Prévention thérapeutique

La prévention thérapeutique peut débuter dès 15 jours d'âge avec des produits incorporés à l'aliment ou administrés par drogage. Il est possible d'utiliser en prévention le décoquinatate mais aussi les mêmes molécules que celles utilisées en curatif (Poncelet, 2008 ; Vandiest, 2009) :

- Le décoquinatate : c'est un coccidiostatique qui agit seulement au niveau de l'intestin grêle, et au début du cycle parasitaire sur les stades précoces (il perturbe le transport des électrons dans les mitochondries) (Figure 10). Il est commercialisé sous forme de pré-mélange médicamenteux qui, pour un effet préventif, doit être donné à la dose de 1 mg/kg par voie orale, pendant 30 jours. Il peut être donné très rapidement après la naissance et, n'étant pas absorbé au niveau intestinal, le temps d'attente est nul.

- Le sulfadiméthoxine : 50 à 75 mg / kg de poids pendant 5 à 7 jours.

- Le toltrazuril et le diclazuril : une seule administration par voie orale, à la même dose qu'en curatif. Beaucoup d'éleveurs traitent de façon préventive leurs agneaux autour de 6 semaines d'âge avec le diclazuril, et recommencent autour des périodes à risque et selon les facteurs de milieu (température, humidité...). Différentes études montrent que ces deux molécules données en prévention diminuent l'excrétion des oocystes dans l'environnement et améliorent également le gain de poids des jeunes (Gjerde and Helle, 1991 ; Alzieu *et al.*, 1999 ; Mundt *et al.*, 2009)

Prévention hygiénique

Il faut éviter que les agneaux ingèrent des oocystes durant les premières semaines de vie, et réduire l'infestation chez les adultes également car ils assurent la multiplication et l'excrétion du parasite. Pour cela, il est important d'assurer des conditions d'élevage optimales : contrôler la température et l'humidité, avoir un bâtiment bien ventilé, éviter les surdensités animales, faire des lots d'animaux en fonction des âges, isoler les animaux malades, bien pailler les litières notamment autour des abreuvoirs qui sont des endroits humides propices à la sporulation des coccidies, nettoyer les abreuvoirs et les auges salis par les déjections (Vandiest, 2009 ; Chartier and Paraud, 2012)...

Les oocystes sont très résistants dans le milieu extérieur et ne peuvent être détruits que par l'eau bouillante ou certains désinfectants chimiques. Lors d'infestation, il est donc nécessaire de désinfecter les bâtiments (notamment les parquets de mise bas et d'engraissement) en pulvérisant de l'eau bouillante à haute pression sur les sols, les murs et les râteliers. L'idéal est de réaliser ce nettoyage également entre la sortie et l'arrivée d'un nouveau lot d'animaux. Des températures supérieures à 30°C pendant au moins 8h ou une humidité inférieure à 25% pendant dix jours, détruisent les oocystes de coccidies. Il est conseillé d'effectuer un vide sanitaire aussi, mais ceci est difficilement faisable en pratique compte tenu de la difficulté à garder un emplacement vide pendant quelque jours dans les bergeries en général (souvent par manque de place).

Il faut aménager des points d'eau faciles à entretenir et faire attention aux zones d'alimentations qui peuvent être souillées par les déjections.

Enfin, des mesures communes à toutes les pathologies sont à appliquer telles qu'une prise correcte de colostrum à la naissance ou une alimentation adéquate (Daignault, 2009 ; Mage, 2016).

3.3.3. *Giardia* spp.

Traitement

A l'heure actuelle, aucun médicament ne possède d'autorisation de mise sur le marché pour le traitement de la giardiose ovine, et il n'y a aucun vaccin de disponible (Bareille and Fournier, 2010 ; O'Handley and Olson, 2006). Lors de giardiose, tous les animaux doivent être traités y compris ceux qui ne présentent pas de signes cliniques car ils représentent tout de même une source d'infection potentielle pour les autres animaux (Merle and Olson, 2002).

Le fenbendazole semble être efficace et une étude de Geurden réalisée en 2011 montre que l'administration de 15 mg/kg/jour par voie orale pendant 3 jours réduit de façon importante l'excrétion des kystes pendant 21 jours (Geurden *et al.*, 2011).

Mesures sanitaires et hygiéniques

Le traitement médical seul ne suffit pas à contrôler l'infection car les animaux se re-infestent très rapidement via l'environnement. Il faut donc associer à ce traitement des mesures hygiéniques. Ces mesures prophylactiques sont les mêmes que pour la plupart des entérites néonatales infectieuses,

c'est à dire une désinfection régulière des locaux et du matériel, enlever régulièrement les fèces, assurer une bonne prise de colostrum aux agneaux (O'Handley and Olson, 2006)...

PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE

1. Matériel et méthodes

1.1. Choix et caractéristiques des élevages

Les cinq élevages qui ont participé à cette étude sont situés dans le Pays Basque (*Figure 11*).

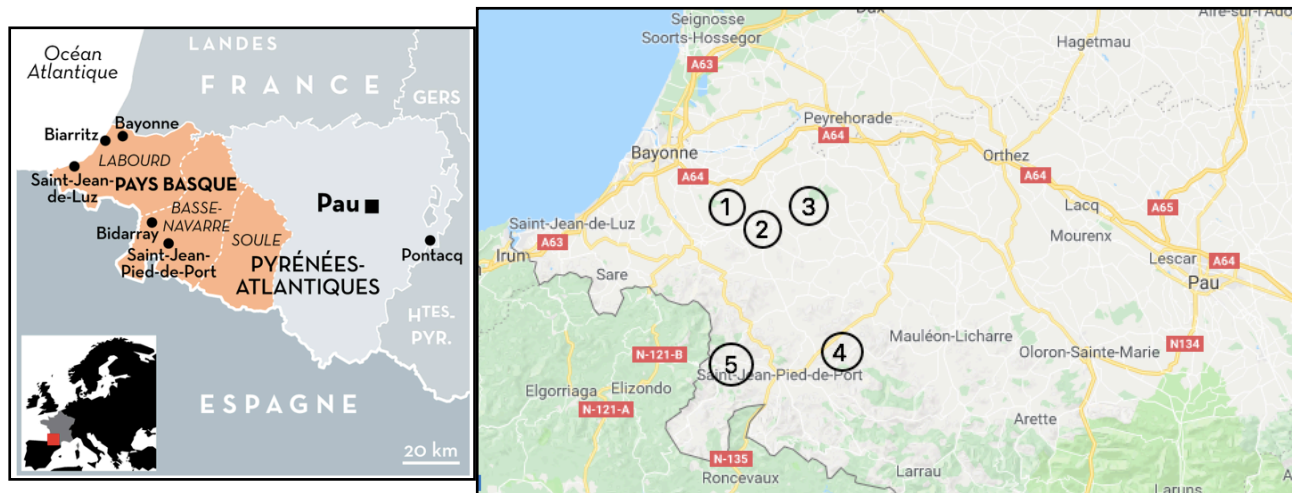


Figure 11 : Localisation des différents élevages (d'après Google map)

Le choix des élevages a pris en compte différents critères :

- Accord de l'éleveur pour participer à cette enquête.
- Inscription au contrôle laitier officiel.
- Insémination artificielle avec les semences des béliers phénotypés de race Manech Tête Rousse du centre ovin d'Ordiarp.
- Nombre d'agnelles suffisant : au moins 7-8 filles issues de béliers résistants et 7-8 filles issues de béliers sensibles de même âge (un élevage ne correspondait pas tout à fait à ces critères car l'éleveur a eu un taux inattendu d'échec des inséminations artificielles).

Les principales caractéristiques de ces cinq élevages sont présentées dans le tableau ci-dessous (*Tableau 3*).

Eleavage	Cheptel	Taux de renouvellement	Pourcentage de brebis mises l'IA et période d'agnelage	Age au sevrage	Traite	Traitements anti-parasitaires
1	426 brebis	25 %	- IA : 81,88% - Novembre à mars	1,5 mois	Fin décembre à fin août	- Agnelles : Vecoxan® (diclazuril) au sevrage, Cestocur® (praziquantel) début mai, Eprinex (éprinomectine) en juin. - Brebis : Zearl® (doramectine) fin septembre, Eprinex® (éprinomectine) mi-avril et avant l'IA en juin.
2	655 brebis	24 %	- IA : 40,97% - Fin novembre à début mai	1 mois	Fin décembre à août	- Agnelles : Vecoxan® (diclazuril) au sevrage, Zearl® (doramectine) en juin. - Brebis : Zearl® (doramectine) et Eprinex® (éprinomectine) en septembre et avril, Cestocur® (praziquantel) en juin.
3	467 brebis	17 %	- IA : 71,95% - Fin novembre à mars	1,5 mois	Fin décembre à fin août	- Agnelles : Vecoxan® (diclazuril) au sevrage. - Brebis : Pas de renseignements.
4	355 brebis	23 %	- IA : 69,42% - Novembre à février	1,5 mois	Mi-décembre à fin août	- Agnelles : Vecoxan® (diclazuril) au sevrage, Cestocur® (praziquantel) en avril, Eprinex® (éprinomectine) en juin. - Brebis : Eprinex® (éprinomectine) en mai, Dectomax® (doramectine) mi-septembre.
5	329 brebis	27 %	- IA : 92,39% - Fin novembre à fin avril	1,5 mois	Mi-décembre à fin juillet	- Agnelles : Vecoxan® (diclazuril) au sevrage, Cestocur® (praziquantel) et Panacur® (fenbendazole) 1 mois après la mise à l'herbe. - Brebis : Eprinex® (éprinomectine) et Dectomax® (doramectine) en juillet, au tarissement et en octobre.

IA : insémination artificielle

Tableau 3 : Présentation des caractéristiques des élevages

On peut noter que tous les élevages traitent leurs agnelles en prévention de la coccidiose avec du diclazuril autour du sevrage.

1.2. Pré-requis à cette étude

Les agnelles choisies pour réaliser cette étude sont toutes des filles de béliers de race Manech Tête Rousse du centre Ovin d'Ordiarp.

Lors de travaux précédents, tous les béliers ont été phénotypés et identifiés comme résistants ou sensibles aux nématodes gastro-intestinaux.

Pour cela, ils ont été infestés expérimentalement avec des larves d'*H. contortus* pendant 4 semaines à deux reprises avec une période de 15 jours sans infestation entre les deux. L'intensité d'excrétion d'œufs et l'hématocrite ont été mesurés à J0 et J28 de chaque infestation et à l'issue de ces mesures un index synthétique reflétant le phénotype résistant ou sensible a été calculé pour chaque bélier. Les béliers ont alors été classés en plusieurs catégories :

- Très résistants (+++), moyennement résistants (++) , légèrement résistants (+).
- Très sensibles (- - -), moyennement sensibles (- -), légèrement sensibles (-).

Les semences de ces béliers ont ensuite été utilisées pour inséminer les brebis dans les cinq élevages de cette étude. Toutefois, aucune information n'est disponible concernant le statut résistant ou sensible des brebis inséminées. C'est pourquoi la semence d'un bélier résistant peut être tout aussi bien utilisée chez une brebis résistante ou une brebis sensible aux nématodes gastro-intestinaux et inversement.

1.3. Réalisation des prélèvements

1.3.1. Animaux prélevés

Initialement, il était prévu de prélever en priorité les agnelles nées de béliers phénotypés comme étant très résistants (+++) et très sensibles (- - -) aux strongles gastro-intestinaux, mais compte tenu du faible nombre d'individus dans ces catégories dans certains élevages, nous avons finalement prélevé également des agnelles nées de béliers moyennement résistants et sensibles (++, - -) et légèrement résistants et sensibles (+,-).

Pour la suite de la présentation, les mentions « agnelles R » et « agnelles S » feront respectivement référence aux filles issues de béliers phénotypés comme étant résistants ou sensibles aux strongles gastro-intestinaux.

Le nombre d'agnelles incluses dans l'étude est présenté dans la tableau suivant (*Tableau 4*).

	Nombre d'agnelles R	Nombre d'agnelles S
Elevage n°1	11	13
Elevage n°2	15	7
Elevage n°3	5	5
Elevage n°4	10	8
Elevage n°5	11	8
Total	52	41

Tableau 4 : Nombre d'agnelles R et S incluses dans l'étude par élevage

Ainsi, 93 agnelles au total ont été incluses dans cette enquête. Néanmoins, tous les animaux initialement prévus n'ont pas pu être suivis sur tout le long de l'étude car certains sont décédés durant cette période (décès de 17 agnelles au total).

Dans le cadre de l'étude de la sensibilité des agnelles aux cryptosporidies, les mères des agnelles ont également été prélevées lors de la première session de prélèvements.

1.3.2. Dates de prélèvements

Les prélèvements se sont déroulés sur cinq mois (de décembre 2017 à avril 2018).

Au départ, trois dates de prélèvements ont été prévues :

- A 10-15 jours de vie des agnelles (J15).
- A 30-40 jours de vie (J30).
- A 60-70 jours de vie (J60).

Toutefois, devant les très faibles excrétions d'oocystes de coccidies enregistrées à J30, une quatrième date a été rajoutée à 120-130 jours de vie (J120).

Ces périodes de prélèvements ont été fixées en concertation avec les éleveurs, en fonction des dates de réalisation des traitements antiparasitaires (anticoccidiens en particulier) afin que ces derniers ne faussent pas les résultats des analyses. Ainsi, dans la mesure du possible, les prélèvements ont été réalisés avant les traitements anticoccidiens. Lorsque cela n'était pas possible, ils ont été réalisés au moins 30 jours après la date de réalisation du dernier traitement anticoccidien.

1.3.3. Prélèvements et mesures réalisés

Matières fécales

Les prélèvements consistent en la récupération manuelle de matières fécales dans le rectum des animaux. Chaque prélèvement est ensuite mis dans un petit sachet plastique transparent et identifié

avec le numéro de l'animal. L'ensemble des sachets est conservé dans une glacière à +4°C le temps du transport jusqu'au laboratoire.

A J15, les agnelles ainsi que leurs mères ont été prélevées alors qu'à J30, J60 et J120, seules les agnelles l'ont été.

Le tableau suivant indique le nombre d'individus prélevés à chaque date. Les animaux ayant un rectum vide au moment du prélèvement ne sont pas comptabilisés (*Tableau 5*).

Elevage	J15		J30	J60	J120
	Agnelles	Brebis	Agnelles		
1	R : 8 S : 12	18	R : 9 S : 10	R : 9 S : 10	R : 8 S : 10
2	R : 13 S : 6	19	R : 14 S : 6	R : 12 S : 3	R : 12 S : 4
3	R : 4 S : 5	9	R : 4 S : 5	R : 5 S : 4	R : 3 S : 2
4	R : 6 S : 7	16	R : 9 S : 6	R : 8 S : 3	R : 8 S : 5
5	R : 11 S : 8	11	R : 11 S : 7	R : 9 S : 4	R : 7 S : 4

Tableau 5 : Nombre d'animaux prélevés à J15, J30, J60, J120

Score de souillure de l'arrière train

Il a également été attribué pour chaque agnelle un score de souillure de l'arrière-train avec comme notation :

- 0 : l'arrière-train ne présente aucune souillure.
- 1 : l'arrière-train est partiellement souillé (uniquement en zone péri-génitale).
- 2 : l'arrière-train est intégralement souillé (zone péri-génitale et membres pelviens).

Néanmoins, ils n'ont été relevés que pour les visites à J15, J30 et une partie des élevages à J60 car les derniers prélèvements ont été réalisés par des personnes différentes qui n'ont pas noté ces scores.

1.4. Analyse des prélèvements

Les prélèvements à J30, J60 et J120 ont été analysés au laboratoire de parasitologie de l'ENVT. Les prélèvements réalisés à J15 sur les agnelles et les brebis ont été analysés à l'ENVT également mais

le reste des matières fécales a ensuite été envoyé au CHU de Rouen (Normandie Université, UNI-ROUEN, EA3800, CNR laboratoire expert Cryptosporidies), où des travaux sur le portage de cryptosporidies chez l'Homme sont notamment réalisés.

1.4.1. Prélèvements des agnelles à J15 et de leurs mères

Recherche de cryptosporidies par immunochromatographie sur bandelettes

Afin d'évaluer la présence de cryptosporidies chez les agnelles à 10-15 jours de vie, des tests rapides Speed V-Diar 5® commercialisés par Virbac ont été utilisés. Ce test est un test immunochromatographique rapide sur bandelette permettant la détection d'antigènes fécaux spécifiques de *Cryptosporidium parvum*, de Coronavirus, de Rotavirus et d'*E. Coli*. Une bandelette test correspond à chacun des agents pathogènes et les quatre bandelettes tests sont regroupées dans un dispositif testeur permettant une recherche combinée.

Dans le cadre de cette étude, les tests n'ont pas été réalisés individuellement pour chaque agnelle mais un test de mélange a été fait par lot d'agnelles R et S. Ainsi, pour chaque élevage, 0,1g de matières fécales ont été prélevés chez chaque agnelle R et ont été mélangés ensemble ; et de la même manière, 0,1g de fèces ont été prélevés chez chaque agnelle S puis mélangés ensemble.

Le mélange obtenu pour chaque lot R ou S est ensuite placé dans le flacon contenant le réactif (étape 1, étapes résumées dans la figure ci-dessous (*Figure 12*)) et l'ensemble est mélangé en retournant plusieurs fois le flacon (étape 2). Le flacon est ensuite placé dans le dispositif testeur et sa base se perforé lorsque l'on referme le dispositif (étape 3), permettant ainsi au mélange réactif/échantillon de s'écouler. Pour chaque bandelette, les particules colorées du conjugué (intégré à la membrane) se lient aux antigènes des agents recherchés éventuellement présents dans l'échantillon. Les complexes conjugués/antigènes ainsi formés migrent par capillarité et sont capturés par les anticorps spécifiques immobilisés sur la membrane. Une bande test de couleur rouge se forme par accumulation de particules colorées. Le mélange continue de migrer jusqu'à l'extrémité de la bandelette où les particules colorées restantes forment une bande de contrôle rouge qui confirme la bonne réalisation du test

Le résultat est lu après 15 minutes de migration (étape 4) :

- Test négatif : seule la bande contrôle apparaît.
- Test positif : apparition de la bande contrôle et de la bande test.

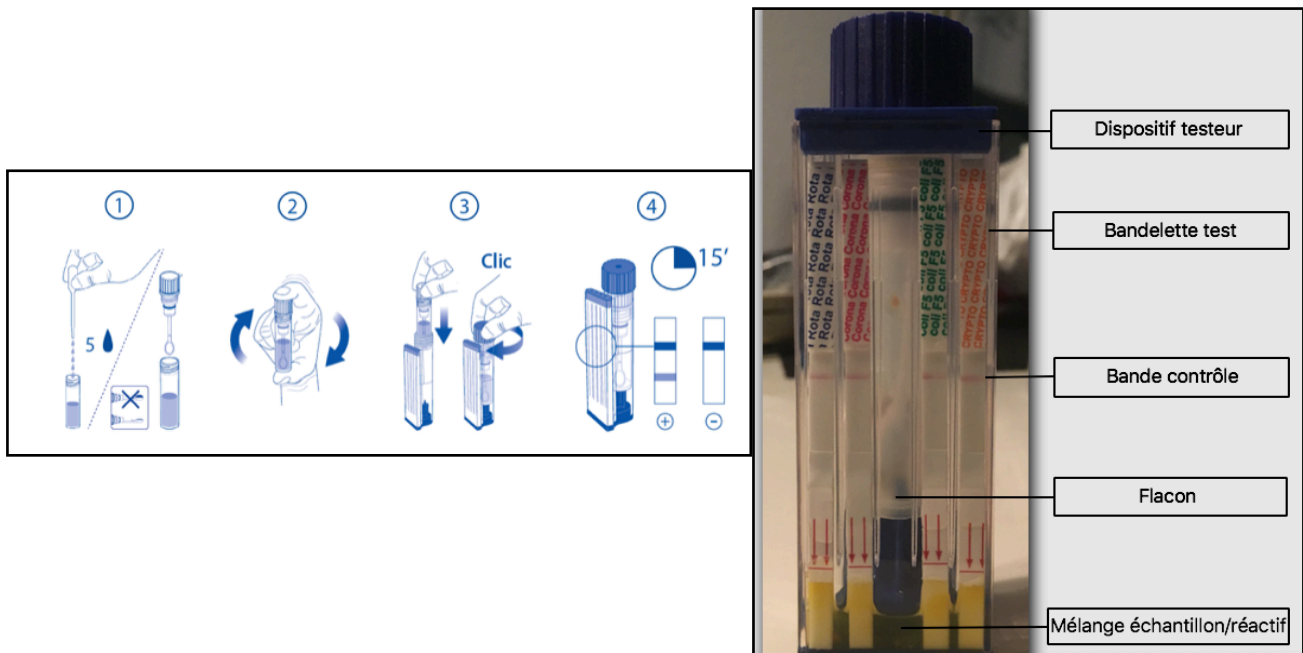


Figure 12 : Réalisation du test Speed V-Diar 5®

Au CHU de Rouen, d'autres analyses dont le protocole est détaillé dans la suite de la présentation sont réalisées sur ces prélèvements.

Examen parasitologique direct des selles

Pour chaque agnelle et chaque brebis, 0,5g de selles sont prélevées et homogénéisées dans un tube avec 1 ml d'eau physiologique. Une goutte de la suspension est déposée sur une lame porte-objet et recouverte d'une lamelle, puis observée au microscope. Au moins 50 champs au grossissement x500 à l'immersion sont observés pour la recherche de protozoaires.

Si l'identification des protozoaires s'avère difficile, une coloration au MIF est réalisée : l'échantillon de fèces est mélangé avec une solution de lugol B, de merthiolate et de formol. L'ensemble est homogénéisé et après une heure au moins d'attente, une goutte du mélange est observée au grossissement x500. Cette coloration permet de mieux visualiser certains éléments d'identification (le cytoplasme est coloré en rouge et les structures nucléaires en rouge sombre ou noir).

Pour une recherche spécifique des cryptosporidies, il est aussi possible d'appliquer la technique de Heine en faisant un étalement sur une lame avec un peu de matières fécales et une goutte de réactif de Kinyoun. Après avoir laissé sécher l'étalement à l'air, une goutte d'huile à immersion est déposée sur la préparation et recouverte d'une lamelle, puis observée au microscope en contraste de phase (x400).

Méthode de concentration selon Bailenger

0,5g de matières fécales de chaque individu sont homogénéisés dans un tube à hémolyse contenant 3 ml de la solution de Bailenger (acétate de sodium, acide acétique, eau distillée). Le tube est en-

suite bouché et homogénéisé au vortex puis repose de 30 secondes à 2 minutes maximum. La préparation est prélevée à l'aide d'une pipette et placée dans un tube conique. Ce tube est ensuite rempli jusqu'en haut avec la solution de Bailenger et de l'éther, puis agité vigoureusement pour obtenir une émulsion. Après centrifugation du mélange à 1000G pendant 4 minutes, le surnageant est retiré et le culot est récupéré et observé entre lame et lamelle au grossissement x100 au départ puis au grossissement x500 à l'immersion pour rechercher les kystes de protozoaires. 50 champs au minimum sont ainsi observés.

PCR quantitative en temps réel

Cette méthode permet la détection et l'identification de *Cryptosporidium* spp.

En premier lieu, l'ADN des échantillons de matières fécales est extrait selon le protocole du kit «Qiagen QIAamp power fecal DNA kit ».

Les réactifs (IQ supermix (Taq polymérase, désoxynucleotides triphosphates (dNTPs), tampon de réaction), amorces, sondes PCR) sont ensuite sortis du congélateur et remis à température ambiante. Le mix PCR est alors réalisé puis homogénéisé et un mélange du mix et de l'ADN à analyser sont déposés sur une plaque PCR à laquelle sont systématiquement rajoutés un témoin négatif et un témoin positif. La plaque est centrifugée pour faire tomber les gouttes au fond des puits, puis introduite dans le thermocycleur CFX 96. Le programme PCR peut alors être lancé. Cette première approche permet de mettre en évidence de l'ADN du genre *Cryptosporidium*, mais aussi de l'ADN des espèces de *C. parvum*, *C. xiaoi.*, *C. ubiquitum* et *C. hominis*.

L'interprétation de la qPCR est réalisée en présence d'un biologiste du CNR habilité.

Le génotype fin de *C. parvum* a également été réalisé au CNR Cryptosporidiose du CHU de Rouen.

1.4.2. Prélèvements des agnelles à J30, J60 et J120

Coproscopie

Les échantillons de matières fécales prélevés à J30, J60 et J120 chez les agnelles sont analysés selon la technique de flottation en cellule de Mac Master modifiée par Raynaud (Raynaud, 1970). Cette méthode permet d'observer les oocystes de coccidies et de *Giardia duodenalis*.

Pour réaliser cet examen, on prélève 1g de matières fécales auquel on ajoute 14 ml d'une solution de flottation (dans notre cas, il s'agit de NaCl à une densité de 1,19). On homogénéise ensuite le mélange à l'aide d'un pilon puis on le filtre trois fois à l'aide d'une petite passoire. On remplit alors chaque compartiment de la lame de Mac Master (*Figure 13*) avec 1 ml de l'échantillon. Cette lame est constituée de deux compartiments d'un volume de 0,15 ml contenant chacun un réseau constitué de 6 bandes de 1,7 mm de largeur.

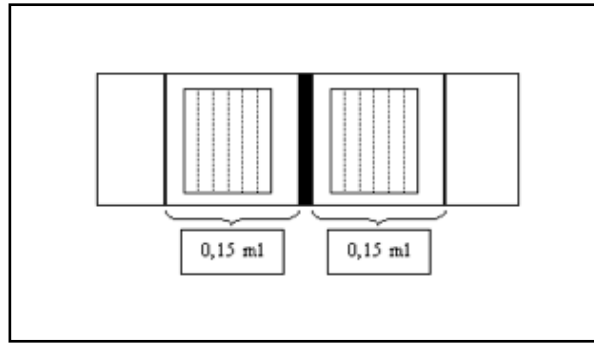


Figure 13 : Lame de Mac Master (VetAgro Sup)

On pose ensuite la lame sur la platine du microscope et on compte les oocystes de coccidies à l'objectif x10 dans toutes les bandes.

Cette méthode permet d'évaluer la quantité d'excrétion d'oocystes par gramme de fèces (opg) en faisant le calcul suivant :

$$\text{—> Opg} = (\text{Nombre d'oocystes totaux dans les deux réseaux}) \times 50$$

Dans un deuxième temps, on réalise l'identification des espèces de coccidies. Pour cela, on remplit complètement un tube à essai avec le reste du mélange filtré et de la solution saturée de chlorure de sodium, puis on pose une lamelle sur le ménisque. On attend alors 15 minutes que les oocystes remontent à la surface. On retire ensuite la lamelle où se sont accumulés les oocystes des parasites par ascension et on la pose sur une lame porte-objet en verre. Cette lame est observée au microscope optique à l'objectif x40 associé à un micromètre oculaire (Figure 14) pour permettre l'identification des espèces à l'aide de la clé de détermination et des schémas des espèces publiés dans Guidelines on techniques in coccidiosis research par Eckert en 1995 (Eckert, 1995).

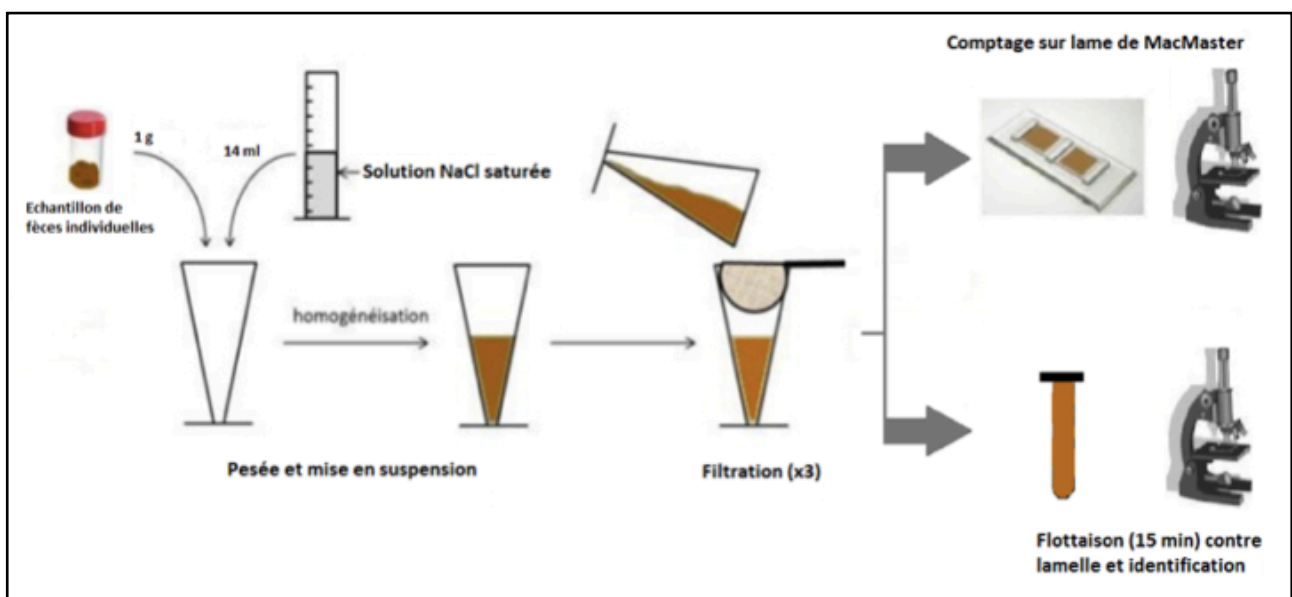


Figure 14 : Technique de coproscopie utilisée

Comme nous l'avons dit précédemment, les espèces sont identifiées selon des critères morphologiques et morphométriques (taille et forme de l'oocyste, la présence ou non d'un micropyle, d'un bouchon polaire (Eckert, 1995)...). Toutefois, ces caractères sont parfois difficiles à apprécier et il peut arriver que les longueurs d'oocystes de différentes espèces se chevauchent, rendant alors l'identification encore plus complexe (Figure 15). Dans le cadre de cette étude nous avons ainsi regroupé certaines espèces que nous ne pouvions pas différencier selon ces seuls critères : *E. pallida* et *E. parva* (noté A1/A2 pour la suite), *E. marsica* et *E. ovinoïdalis* (B1/B2), *E. weybridgensis* et *E. crandallis* (B3/B4), *E. granulosa* et *E. bakuensis* (B6/B7). Les autres espèces, *E. faurei* (B5), *E. ahsata* (B8) et *E. intricata* (B9) ont été plus faciles à identifier individuellement.

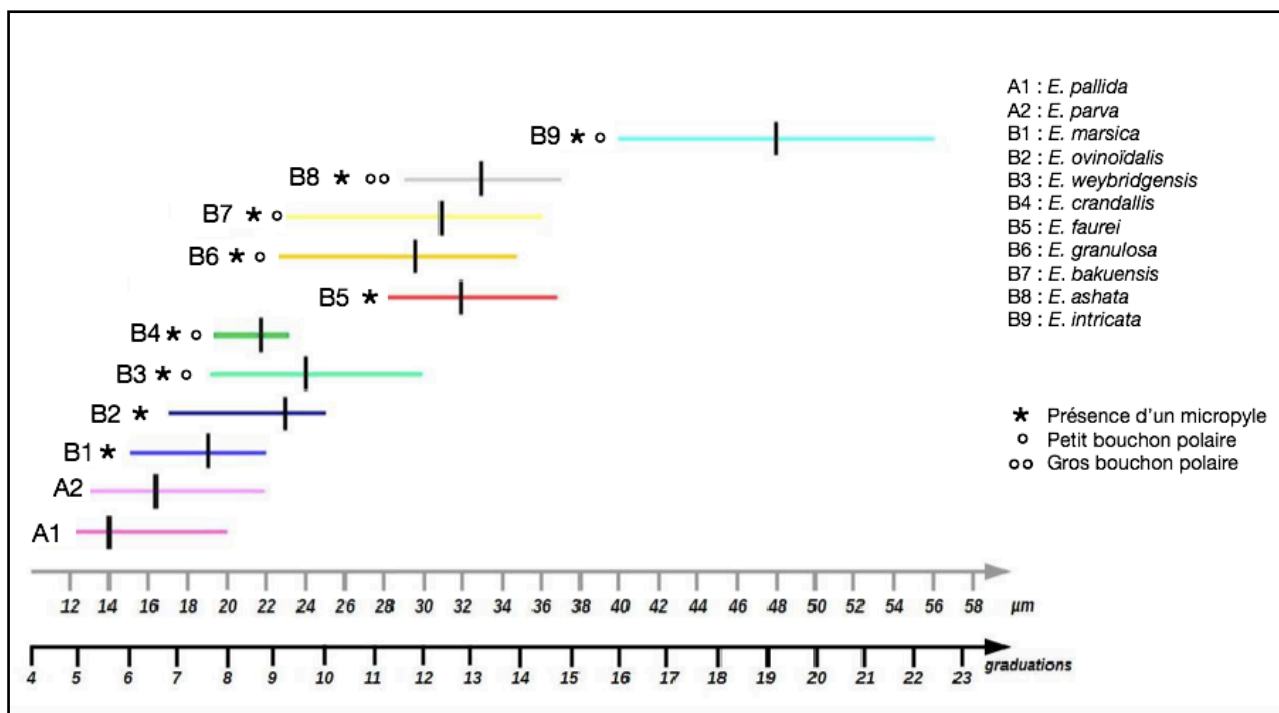


Figure 15 : Echelle de détermination de la taille réelle des oocystes d'*Eimeria ovines* pour l'identification des espèces en microscopie optique (d'après Bordes, 2018)

2. Résultats

2.1. *Cryptosporidium* spp. et *Giardia* spp.

Les cryptosporidies ont été recherchées dans les prélèvements de matières fécales des agnelles à 10-15 jours de vie (J15) ainsi que dans les décès de leurs mères, et *Giardia duodenalis* dans les prélèvements des agnelles à J15, J30, J60 et J120.

2.1.1. Test rapide Speed V-Diar 5

Les tests rapides réalisés sur mélange de fèces d'agnelles filles de béliers résistants d'une part, et sur les fèces d'agnelles filles de béliers sensibles d'autres part, sont revenus négatifs pour la cryptosporidie.

ridiose (et également pour les autres agents recherchés par le test, à savoir les coronavirus, les rotavirus et les *E. coli*) pour chaque lot d'agnelles R et S dans chaque élevage.

2.1.2. Examen direct et méthodes de concentration

Le tableau suivant regroupe les résultats obtenus par l'examen direct et les méthodes de concentration réalisés sur les fèces des agnelles et des brebis (Tableaux 6).

Elevage	Catégorie	Nombre d'animaux examinés	Nombre d'animaux positifs par examen direct		Nombre d'animaux positifs par concentration	
			Cryptosporidies	<i>Giardia</i>	Cryptosporidies	<i>Giardia</i>
1	Agnelles	20	0	0	0	0
	Brebis	18	5 (27,8%)	3 (16,7%)	2 (11,1%)	2 (11,1 %)
2	Agnelles	19	1 (5,3%)	0	1 (5,3%)	0
	Brebis	19	0	1 (5,3%)	2 (10,5%)	2 (10,5%)
3	Agnelles	8	0	0	0	0
	Brebis	9	0	0	0	1 (11,1 %)
4	Agnelles	13	0	0	0	0
	Brebis	17	0	0	2 (11,8%)	0
5	Agnelles	18	0	0	0	0
	Brebis	17	1 (5,9%)	0	0	0

Tableau 6 : Résultats des examens directs et des méthodes de concentration réalisés sur les matières fécales des agnelles R et S et de leurs mères.

On observe que sur les cinq élevages, une seule et même agnelle est positive pour la recherche de cryptosporidies avec les deux méthodes.

Concernant les brebis, un nombre plus important d'échantillons est positif. L'élevage n°1 se démarque des quatre autres élevages avec 27,8% et 16,7% des brebis positives pour la recherche respectivement de cryptosporidies et de *Giardia* spp. par examen direct. 11,1% des brebis y sont également positives pour la recherche de chaque parasite par concentration. Dans l'élevage n°2, deux brebis (soit 10,5% de l'effectif), sont positives pour les cryptosporidies et *Giardia* spp. par concen-

tration et une seule est positive pour *Giardia* spp. lors de l'examen direct des fèces. Les élevages n°3, 4 et 5, ont moins d'échantillons positifs, avec une seule brebis positive pour *Giardia* spp. par concentration dans l'élevage n°3, et une seule positive pour la recherche de cryptosporidies par examen direct dans l'élevage n°5. Enfin, des cryptosporidies ont été mises en évidence par concentration chez deux brebis dans l'élevage n°4.

Ainsi, peu d'échantillons sont positifs pour la recherche de *Cryptosporidium* spp. et *Giardia* spp. avec ces deux méthodes, et on observe une forte différence entre les élevages.

2.1.3. Résultats des PCR et des géotypages

Cryptosporidium spp.

Prévalence des infections

Le tableau suivant indique les prévalences des infections à *Cryptosporidium* spp. chez les brebis et les agnelles R et S détectées par PCR (Tableau 7).

Elevage	Brebis		Agnelles R		Agnelles S	
	Nombre d'animaux examinés	Nombre d'animaux positifs	Nombre d'animaux examinés	Nombre d'animaux positifs	Nombre d'animaux examinés	Nombre d'animaux positifs
1	18	4 (22,2%)	8	5 (62,5%)	12	8 (66,7%)
2	19	2 (10,5%)	13	4 (30,8%)	6	1 (16,7%)
3	9	3 (33,3%)	3	2 (66,7%)	5	2 (40%)
4	17	2 (11,8%)	6	0	7	0
5	17	4 (23,5%)	11	6 (54,5%)	7	7 (100%)
Total	80	15 (18,8%)	41	17 (41,5%)	37	18 (48,5%)

Tableau 7 : Prévalence des infections à *Cryptosporidium* spp. chez les agnelles R et S dans chaque élevage

On observe que dans tous les élevages, au moins une brebis est positive pour *Cryptosporidium* spp. et que la prévalence des PCR positives varie de 10,5% à 33,3%.

On observe également que la prévalence d'infection est assez élevée et équivalente entre les agnelles R et S. En effet, en moyenne, 41,5% des agnelles R et 48,6% des agnelles S sont positives sur l'ensemble des cinq élevages.

L'élevage n°4 se démarque avec aucune agnelle positive pour *Cryptosporidium* spp.

Parmi les élevages positifs, l'élevage n°2 présente la plus faible prévalence d'infection chez les agnelles R et S (respectivement 30,8% et 16,7%).

Hormis les agnelles S dans l'élevage n°3, plus de la moitié des agnelles R et S sont positives dans les élevages n°1, 3 et 5.

Ainsi, on retrouve du portage de cryptosporidies dans chaque élevage chez les brebis et dans quatre élevages sur cinq chez les agnelles, mais la prévalence d'infection est finalement similaire entre les agnelles R et S.

Par ailleurs, la fréquence des PCR positives à *Cryptosporidium* spp. n'est pas significativement différente chez les agnelles R et les agnelles S.

Spéciation et génotypage

Le tableau suivant indique les espèces identifiées par PCR chez les agnelles et les brebis de chaque élevage ainsi que les génotypages réalisés (Tableau 8).

Elevage	Catégorie	Nombre de PCR positives	<i>C. ubiquitum</i>	<i>C. xiaoi</i>	<i>C. parvum</i> et génotypage	<i>C. hominis</i> et génotypage
1	Brebis	4 (22,2%)	-	1	2 : - CpIIaA15G1 - CpIIaA21G2	-
	Agnelles	13 (65%)	-	-	-	-
2	Brebis	2 (10,5%)	-	-	2 : - CpIIaA16G3R1 - CpIIaA13G2R1	-
	Agnelles	5 (26%)	-	-	2	-
3	Brebis	3 (33,3%)	2	-	1	-
	Agnelles	4 (50%)	-	1	-	-
4	Brebis	2 (11,8%)	-	-	1 : CpIIaA24G1	-
	Agnelles	0	-	-	-	-
5	Brebis	2 (11,8%)	-	1	-	-
	Agnelles	13 (72%)	-	-	2 : CpIIaA24G1 (x2)	1 : CpIeA11G3T3

Tableau 8 : Spéciation et génotypage des cryptosporidies chez les agnelles et les brebis dans chaque élevage

Trois espèces ont ainsi été identifiées : *C. ubiquitum* dans un élevage, *C. xiaoi* dans trois élevages et *C. parvum* dans tous les élevages. Lorsque le génotypage de *C. parvum* a été possible, les génotypes zoonotiques ont été retrouvés. *C. parvum* et *C. xiaoi* ont été retrouvés à la fois chez les brebis et chez les agnelles alors que *C. ubiquitum* n'a été identifié que chez les brebis. Chez une agnelle, *C. hominis* a été identifié mais de nouvelles analyses sont en cours pour vérifier que la mise en évidence de ce sous-type ne vienne pas d'une contamination humaine lors de l'extraction de l'ADN.

Ainsi, lorsque les cryptosporidies ont pu être génotypées, on retrouve une majorité de sous-types zoonotiques de *C. parvum*.

Couples mères-agnelles

Les espèces de cryptosporidies identifiées par PCR chez les brebis et leurs filles dans chaque élevage sont regroupées dans le tableau ci-dessous (*Tableau 9*). Le symbole « ? » signifie que la PCR n'a pas été réalisée car l'individu était vide au moment du prélèvement des matières fécales.

Elevage	Espèces de <i>Cryptosporidium</i> spp. identifiées chez les couples mère/fille(s)	
	Chez la brebis	Chez son (ses) agnelle (s)
1	- <i>C. xiaoi</i> - <i>C. parvum</i> - <i>C. parvum</i> - <i>C. spp.</i> - <i>C. spp.</i>	- <i>C. spp.</i> - PCR négative - <i>C. spp.</i> - <i>C. spp.</i> + PCR négative - <i>C. spp.</i>
2	- <i>C. parvum</i> - <i>C. parvum</i> - PCR négative - PCR négative	- <i>C. spp.</i> - <i>C. parvum</i> - <i>C. parvum</i> + <i>C. spp.</i> - <i>C. spp.</i>
3	- <i>C. ubiquitum</i> - <i>C. parvum</i> - <i>C. ubiquitum</i> - PCR négative	- <i>C. spp.</i> - <i>C. spp.</i> - PCR négative - <i>C. xiaoi</i>
4	- <i>C. parvum</i> - <i>C. spp.</i>	- PCR négative - PCR négative
5	- <i>C. spp.</i> - <i>C. spp.</i> - <i>C. spp.</i> - <i>C. xiaoi</i> - <i>C. spp.</i> - ? - ?	- <i>C. spp.</i> - <i>C. spp.</i> - <i>C. spp.</i> - <i>C. spp.</i> + <i>C. spp.</i> - PCR négative - <i>C. parvum</i> - <i>C. hominis</i>

Tableau 9 : Espèces de cryptosporidies identifiées chez les couples mère/fille(s) dans chaque élevage

52% des couples mère/fille ont des PCR positives pour les cryptosporidies chez les agnelles et chez leur mères. Néanmoins, on ne retrouve de façon certaine la même espèce de cryptosporidies, à savoir *C. parvum*, que pour un seul couple. 48% des couples mère/fille, présentent une PCR positive chez l'un et une PCR négative chez l'autre avec une majorité des PCR négatives obtenues chez les agnelles. Lorsqu'un échantillon est positif, dans 60% des cas l'identification précise de l'espèce n'est pas possible.

Ainsi, lorsqu'une brebis présente une PCR positive, sa ou ses filles sont souvent positives également mais, excepté pour un couple, on ne sait pas si ce sont les même espèces.

***Giardia* spp.**

Le tableau suivant montre les résultats des génotypages de *Giardia* réalisés chez les brebis et les agnelles dans chaque élevage (Tableau 10).

Elevage	Brebis	Agnelles
1	3 assemblages E 1 assemblage A	- -
2	1 assemblage E	- -
3	2 assemblages E 2 assemblages A	- -
4	4 assemblages A	- -
5	1 assemblage E 1 assemblage A	- -

Tableau 10 : Génotypage des *Giardia* chez les brebis et les agnelles dans chaque élevage

Aucune PCR n'est revenue positive chez les agnelles.

Chez les brebis, au moins un individu est positif dans chaque élevage et, après génotypage, on retrouve l'assemblage potentiellement zoonotique A (dans quatre élevages sur cinq) et l'assemblage non zoonotique E (dans quatre élevages sur cinq).

2.2. Coccidies

A J30, les résultats sont difficilement analysables et interprétables compte tenu du très grand nombre d'échantillons où le comptage d'oocystes de coccidies s'est révélé nul, et de la très faible intensité d'excrétion chez les quelques agnelles qui excrétaient. Pour ces raisons, nous nous intéresserons surtout aux résultats obtenus à J60 et J120.

2.2.1. Intensités d'excrétion

Le graphique ci-dessous représente les intensités d'excrétion d'oocystes de coccidies par gramme de matières fécales chez les agnelles R et les agnelles S, tout élevages confondus (*Figure 16*).

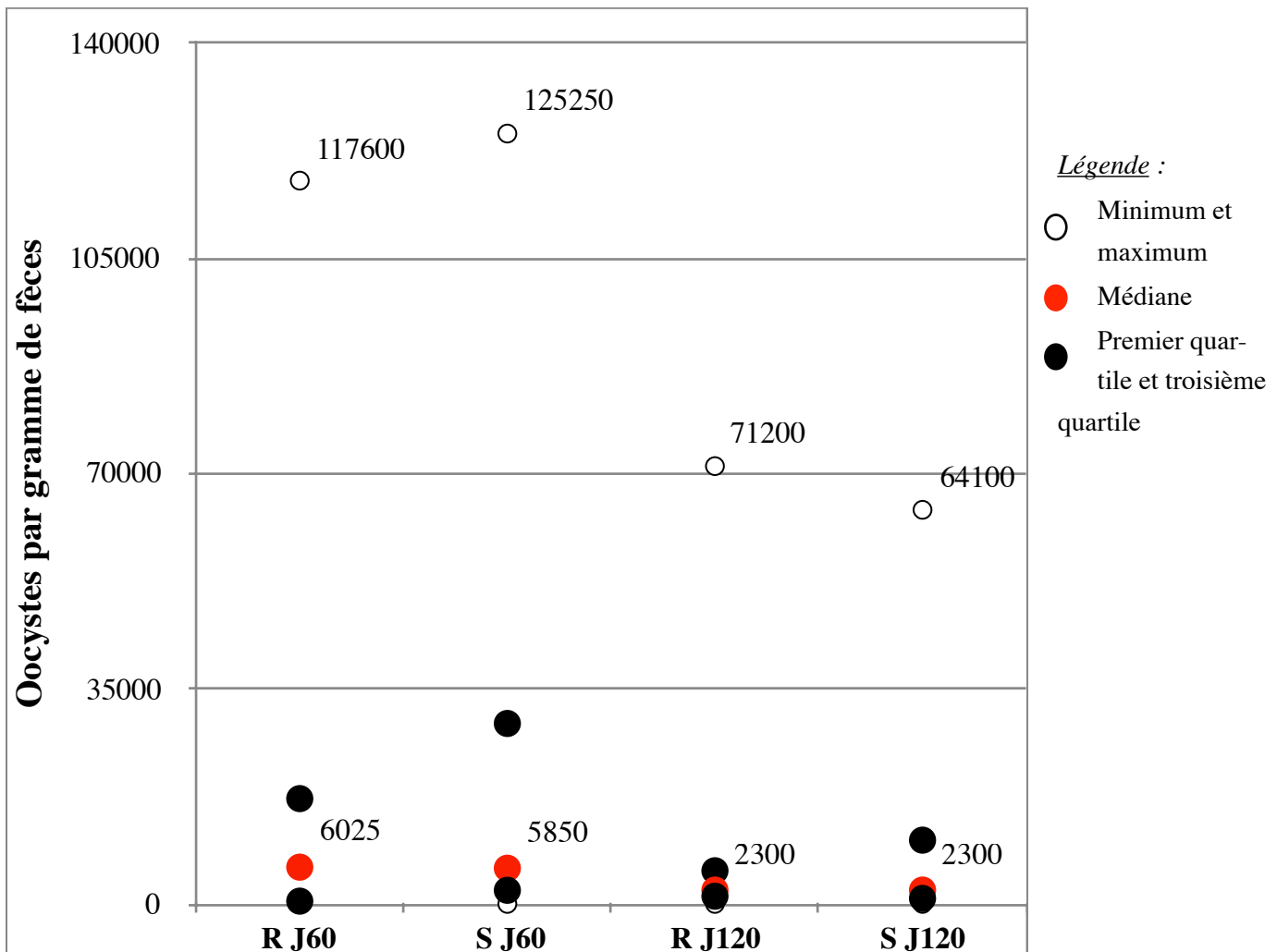


Figure 16 : Intensités d'excrétion d'oocystes de coccidies par gramme de fèces chez les agnelles R et S à J60 et J120 (résultats obtenus sur un ensemble de 41 agnelles R et 27 agnelles S à J60, et 37 agnelles R et 24 agnelles S à J120)

On observe que les médianes d'oocystes excrétés par gramme de matières fécales sont similaires entre les agnelles R et S aux deux dates. On note toutefois une plus grande variabilité dans les valeurs des agnelles S que les agnelles R à J60 et J120 mais la différence d'excrétion entre les deux lots d'agnelles n'est pas significative sur l'ensemble des agnelles de l'étude.

On observe également que l'intensité d'excrétion est globalement plus faible à J120 qu'à J60.

Les graphiques suivants montrent les répartitions des intensités d'excrétion d'oocystes de coccidies chez les agnelles R et S à J60 et J120 sur l'ensemble des cinq élevages (*Figures 17 et 18*).

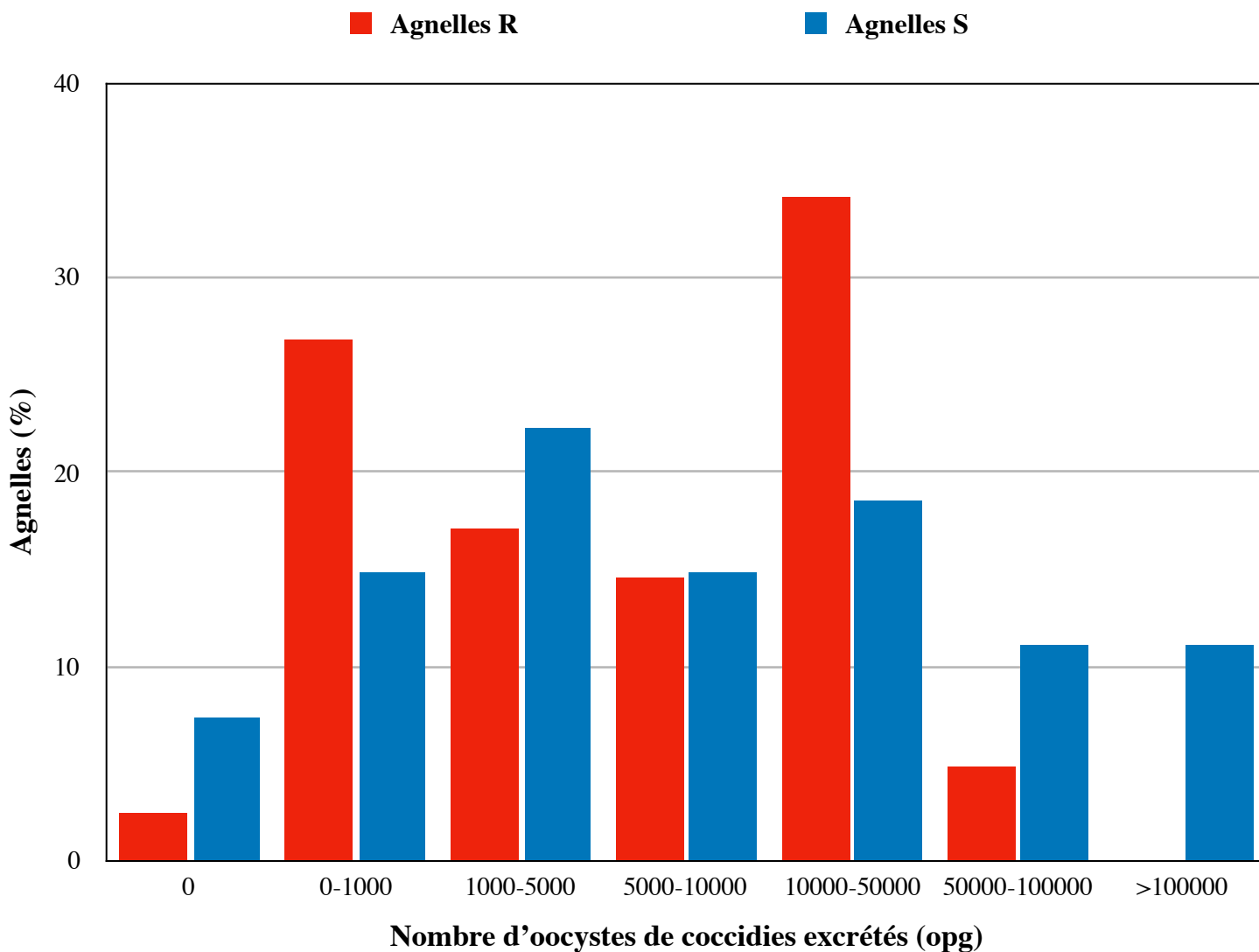


Figure 17 : Répartition des intensités d'excrétion d'oocystes de coccidies chez les agnelles R et S à J60, résultats cumulés pour les cinq élevages

A la lecture de la figure ci-dessus, on n'observe pas de différence importante dans les répartitions des intensités d'excrétion d'oocystes entre les agnelles R et les agnelles S. Si on considère les proportions d'agnelles excrétant plus de 10000 oocystes par gramme de matières fécales, ce qui est souvent admis comme seuil d'excrétion importante, il n'y a pas de différence significative entre agnelles R (39%) et agnelles S (44%). On observe qu'à J60, 26% des agnelles R excrètent entre 0 et 1000 opg et 34% entre 10000 et 50000 opg. Les deux classes d'excrétion les plus représentées chez les agnelles S sont 1000-5000 opg et 10000-50000 opg. On retrouve de très fortes intensités d'excrétion surtout chez les agnelles S. En effet, 11% des agnelles S excrètent entre 50000 et 100000 opg comparé à 4,9% chez les R. De plus, alors que 11% des agnelles S excrètent plus de 100000 opg, aucune agnelle R n'en excrète autant.

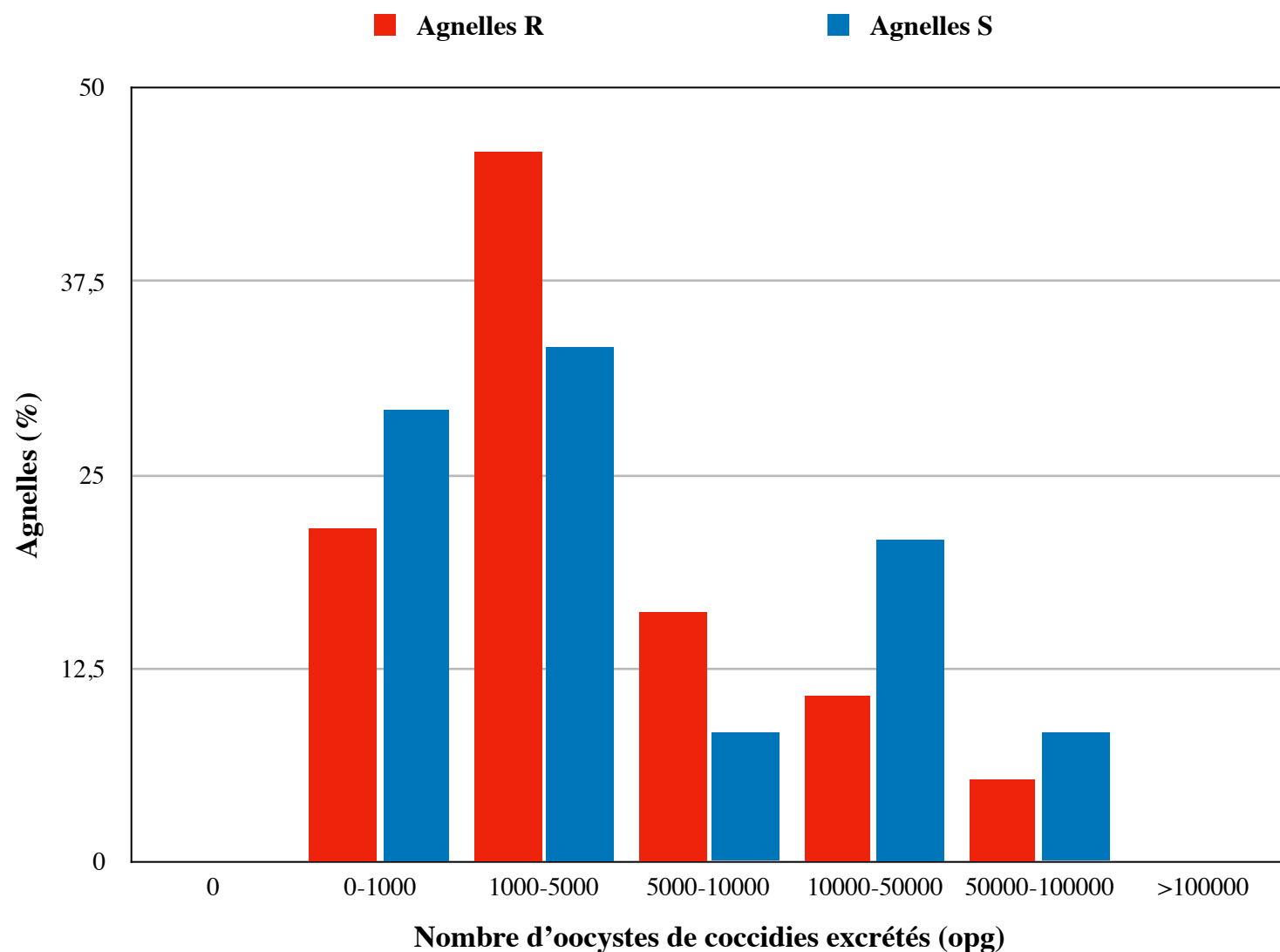


Figure 18 : Répartition des intensité d'excrétion d'oocystes de coccidies chez les agnelles R et S à J120, résultats cumulés pour les cinq élevages

A J120, les agnelles R et S excrètent moins qu'à J60. Presque la moitié des agnelles R et 33% des agnelles S excrètent entre 1000 et 5000 opg. 29% des agnelles R et 21% des agnelles R excrètent entre 0 et 1000 opg. Comme à J60, les fortes intensités d'excrétions se retrouvent surtout chez les agnelles S (20,8% entre 10000 et 50000 opg, 8,3 % entre 50000 et 100000 opg) (Figure 18).

Ainsi, ces résultats confortent ce qui a été observé dans la figure 17 précédente, avec une baisse globale des intensités d'excrétion entre J60 et J120. De plus, on retrouve les fortes intensités d'excrétion (>50000 opg) plutôt chez les agnelles S à J60 et J120.

Le tableau suivant indique le nombre total, la moyenne, l'écart type, la médiane, le minimum et le maximum d'oocystes de coccidies excrétés par gramme de matières fécales chez les agnelles R et S, à chaque date de prélèvements et dans chaque élevage (Tableau II).

Élevage	R/S	Date	Total (opg)	Moyenne	Ecart-type	Médiane	Minimum	Maximum
1	R	J30	2800	350	870,7	0	0	2650
		J60	178150	19794,4	22668,4	8200	200	74400
		J120	30100	3762,5	3365,2	2900	400	10750
	S	J30	800	80	105,4	50	0	350
		J60	352950	35295	40409,6	15800	3500	125250
		J120	33800	1588,9	3367,1	2900	400	11050
2	R	J30	400	28,6	55,8	0	0	150
		J60	227150	18929,2	30839,4	9500	300	117600
		J120	19300	1608,3	853,1	1700	300	3150
	S	J30	50	8,3	18,6	0	0	50
		J60	10250	3416,7	1761,8	2350	2000	5900
		J120	5200	1300	785	1125	400	2550
3	R	J30	200	50	61,2	25	0	150
		J60	87200	17440	18429,6	8050	50	45000
		J120	10100	3366,7	1554,7	3750	1300	5050
	S	J30	150	30	60	0	0	150
		J60	9550	2387,5	2038,8	2425	250	4450
		J120	7500	3750	1650	3750	2100	5400
4	R	J30	0	0	0	0	0	0
		J60	77500	11071,4	18687,2	45	0	53400
		J120	187520	23440	24116,3	14450	50	71200
	S	J30	1050	262,5	454,7	0	0	1050
		J60	16600	5533,3	7330,5	400	300	15900
		J120	151050	30210	27540,7	18200	2250	64100
5	R	J30	50	4,5	14,4	0	0	50
		J60	59750	6638,9	13782,9	500	0	44700
		J120	17550	2507,1	1627,1	2200	750	5250
	S	J30	0	0	0	0	0	0
		J60	269850	67462,5	50953,9	74250	50	121300
		J120	55000	13750	15912,8	6275	1750	40700

Tableau 11 : Moyennes, écarts-types, minimums, médianes et maximums de l'intensité d'excrétion (opg) à J30, J60 et J120 dans chaque élevage

Dans l'élevage n°1, les agnelles R excrètent moins d'oocystes de coccidies que les agnelles S à J60 mais légèrement plus à J120. Dans l'élevage n°5, les agnelles R excrètent moins que les agnelles S à J60 et J120. Les moyennes d'excrétion ainsi que la médiane, le minimum et le maximum sont également plus faibles chez les agnelles R que chez les S à chaque date dans ces deux élevages.

Dans les élevages n°2, 3 et 4, on observe la tendance inverse avec une plus forte intensité d'excrétion et un maximum plus élevé chez les agnelles R. Dans les élevages n°2 et 3, la médiane est également plus élevée chez les agnelles R, mais ceci ne s'observe pas dans l'élevage n°4.

Pour chaque élevage et pour une même date, les minimums d'intensité d'excrétion sont plus faibles chez les agnelles R que chez les agnelles S.

Ainsi, on n'observe pas de tendance particulière concernant l'intensité d'excrétion de coccidies entre les agnelles R et S. En effet, dans deux élevages sur cinq, les agnelles R excrètent moins que les S à chaque date alors que dans les trois autres élevages, les agnelles R excrètent globalement plus que les S.

Le graphique suivant représente l'évolution entre J60 et J120 des moyennes d'excrétions d'oocystes de coccidies chez les agnelles R et S à J60 et J120 dans les différents élevages (Figure 19).

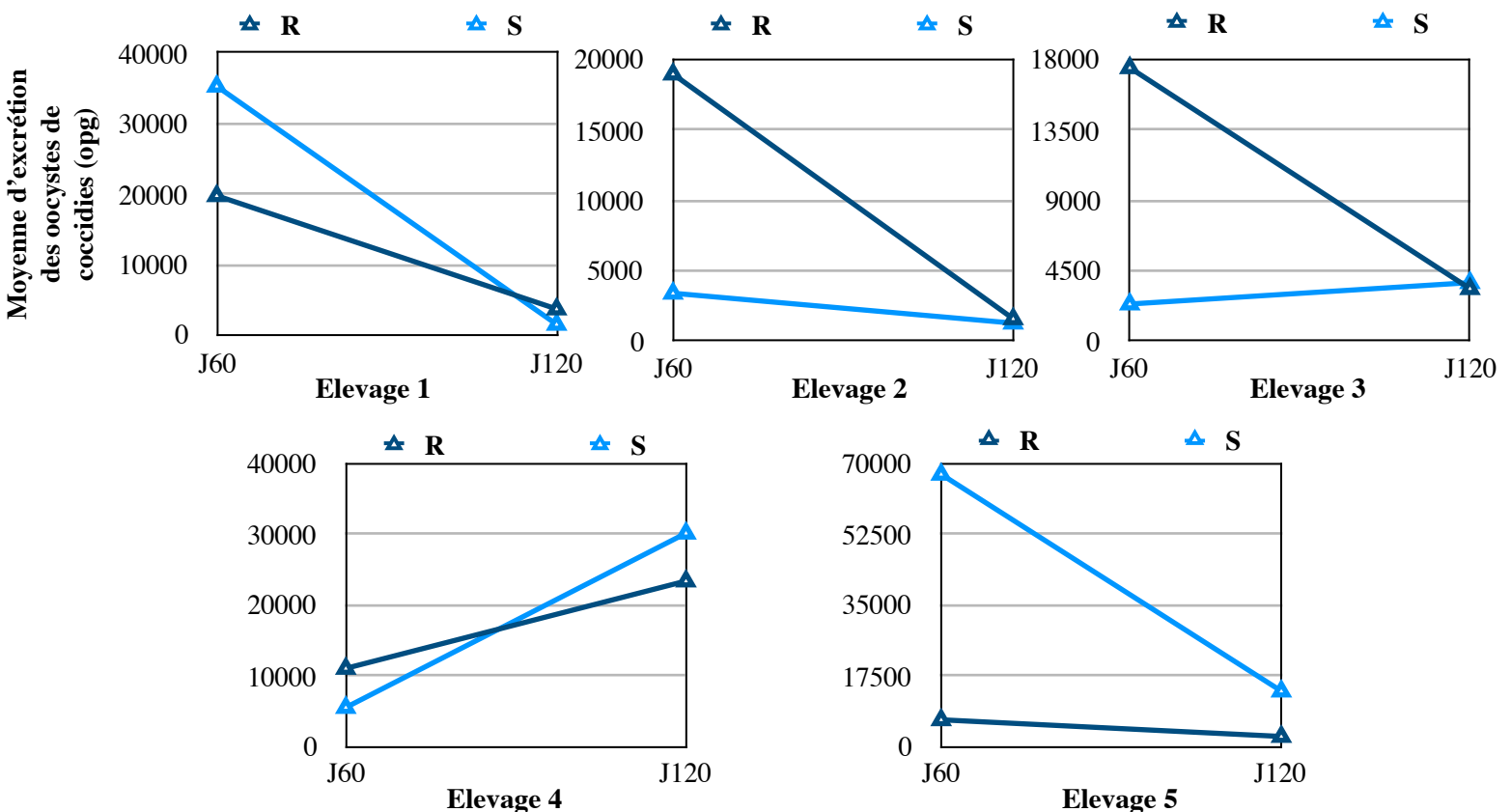


Figure 19 : Moyennes d'oocystes excrétés chez les agnelles R et S à J60 et J120 dans chaque élevage

On observe ainsi que dans les élevages n°1, 2 et 5, l'intensité moyenne d'excrétion d'ocystes de coccidies diminue entre J60 et J120 chez les agnelles R et S. On remarque le phénomène inverse dans l'élevage n°4 avec une forte augmentation de l'excrétion entre les deux dates dans les deux lots d'agnelles.

2.2.2. Identification des espèces

Les différentes espèces de coccidies identifiées sont :

- A1 : *E. pallida*
- A2 : *E. parva*
- B1 : *E. marsica*
- B2 : *E. ovinoïdalis*
- B3 : *E. weybridgensis*
- B4 : *E. crandallis*
- B5 : *E. faurei*
- B6 : *E. granulosa*
- B7 : *E. bakuensis*
- B8 : *E. ashata*
- B9 : *E. intricata*

Espèces pathogènes/non pathogènes

Les espèces considérées comme pathogènes sont *E. ovinoïdalis* (B2) et *E. crandallis* (B4). Néanmoins, la morphologie des ocystes de certaines espèces étant très similaire, il a été impossible d'identifier précisément certaines espèces, et nous avons ainsi regroupé *E. pallida* et *E. parva* (A1/A2), *E. marsica* et *E. ovinoïdalis* (B1/B2), *E. weybridgensis* et *E. crandallis* (B3/B4), *E. granulosa* et *E. bakuensis* (B6/B7).

Ainsi, pour la suite de la présentation, les espèces pathogènes font référence aux groupes B1/B2 et B3/B4, et les non pathogènes font référence aux groupes A1/A2, B5, B6/B7, B8 et B9.

La figure ci-dessous indique les proportions d'espèces pathogènes et non pathogènes de coccidies dans chaque lot d'agnelle à J60 et J120, tous élevages confondus (*Figure 20*).

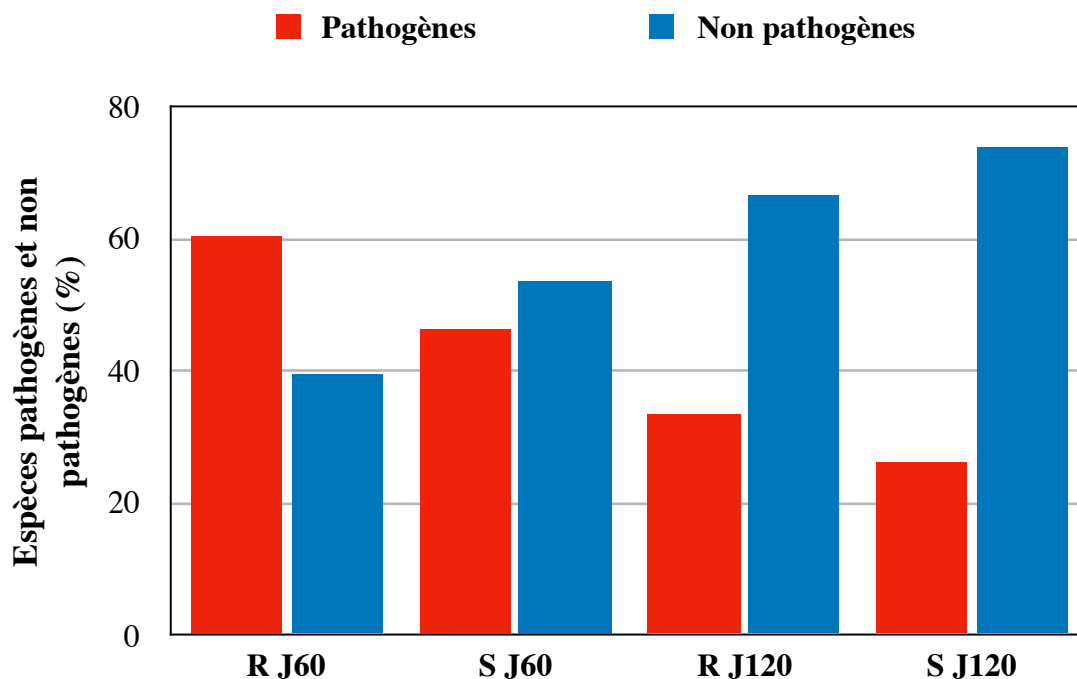


Figure 20 : Proportions d'espèces pathogènes et non pathogènes de coccidies excrétées par les agnelles R et S à J60 et J120

Sur l'ensemble de l'étude, on observe que la proportion des espèces pathogènes est un peu plus importante chez les agnelles R que chez les agnelles S à J60 comme à J120.

Sur les cinq élevages, on remarque aussi qu'à J60, la proportion des espèces pathogènes est 1,5 fois plus importante que celle des espèces non pathogènes chez les agnelles R, alors qu'au même âge, la proportion des espèces non pathogènes chez les agnelles S est 1,1 fois plus importante que les pathogènes. A J120, les agnelles R et S excrètent beaucoup moins d'espèces pathogènes que de non pathogènes (respectivement 2 et 2,8 fois moins).

Ainsi, même si la proportion des espèces pathogènes semble plus importante chez les agnelles R que chez les agnelles S, on remarque que les proportions d'espèces pathogènes diminuent dans les deux lots d'agnelles de J60 à J120.

Le tableau suivant détaille les proportions d'espèces pathogènes et non pathogènes chez les agnelles R et S à 60 et 120 jours de vie dans chaque élevage (*Tableau 12*).

Elevage	Date	R/S	Proportion d'espèces pathogènes	Proportion d'espèces non pathogènes	P-value
1	J60	R	16,5 %	83,5 %	<0,001
		S	45,5 %	54,5 %	
	J120	R	25 %	75 %	<0,001
		S	15,4 %	84,6 %	
2	J60	R	60,7 %	39,3 %	<0,001
		S	30,2 %	69,8 %	
	J120	R	52,8 %	47,2 %	<0,001
		S	40,5 %	59,5 %	
3	J60	R	67,4 %	32,6 %	<0,001
		S	23 %	77 %	
	J120	R	24,1 %	75,9 %	<0,001
		S	35,2 %	64,8 %	
4	J60	R	81,2 %	18,8 %	<0,001
		S	42,5 %	57,5 %	
	J120	R	39 %	61 %	<0,001
		S	19,5 %	80,5 %	
5	J60	R	76,3 %	23,7 %	<0,001
		S	91,3 %	8,7 %	
	J120	R	25,9 %	74,1 %	<0,001
		S	20,2 %	79,8 %	

Tableau 12 : Proportions d'espèces pathogènes et non pathogènes chez les agnelles R et S à J60 et J120 dans les cinq élevages (les cases en couleur correspondent à la catégorie d'agnelles chez qui la proportion d'espèces pathogènes est la plus importante à chaque date)

Globalement, on observe qu'à J60 les agnelles R excrètent plus d'espèces pathogènes que les agnelles S dans 3 élevages sur 5, et dans 4 élevages sur 5 à J120. Cette différence d'excrétion d'espèces pathogènes et non pathogènes entre les agnelles R et S est statistiquement significative dans chaque élevage ($p < 0,001$).

Dans l'élevage n°1, les deux lots d'agnelles excrètent plus d'espèces non pathogènes que de pathogènes à 60 et 120 jours de vie.

Sur l'ensemble des élevages, excepté dans l'élevage n°5 à J60, les agnelles S excrètent majoritairement des espèces non pathogènes à J60 et J120. Dans les élevages n°3 et 4, seules les agnelles R à J60 excrètent plus d'espèces pathogènes que de non pathogènes.

Dans l'élevage n°2, on remarque que les agnelles R excrètent plus d'espèces pathogènes à chaque date de prélèvement, contrairement aux agnelles S.

Enfin l'élevage n°5 montre un schéma encore différent avec une majorité d'espèces pathogènes excrétées chez toutes les agnelles à J60, et l'inverse à J120.

Espèces identifiées

Tous élevages confondus

Le graphique suivant montre les moyennes de proportions d'espèces de coccidies identifiées dans les cinq élevages chez les agnelles R et S à J60 et J120 (*Figure 21*)

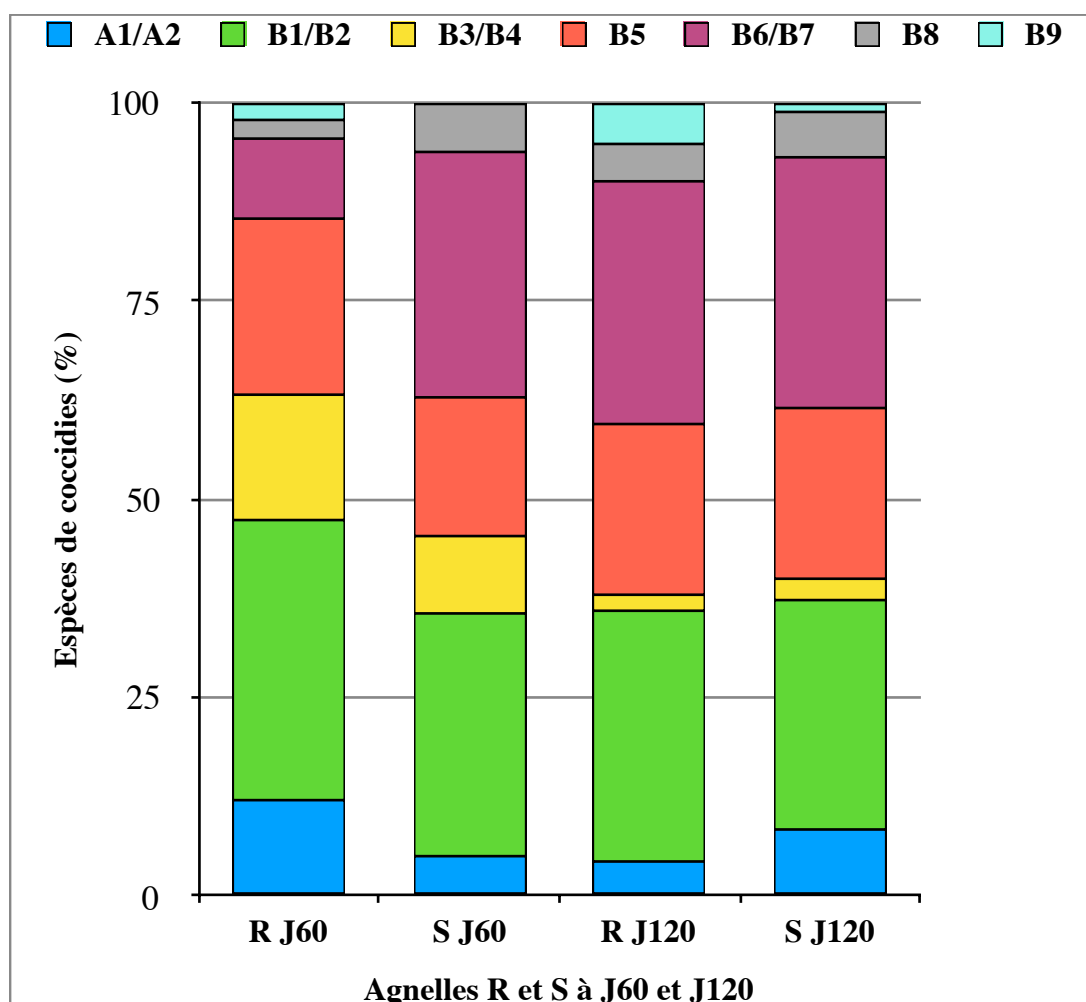


Figure 21: Moyenne des proportions d'espèces de coccidies identifiées dans les cinq élevages chez les agnelles R et S à J60 et J120

La figure ci-dessus (*Figure 21*) montre que sur tous les élevages, pour chaque lot d'agnelles et à chaque date, les espèces majoritairement identifiées sont celles du groupe B1/B2. B6/B7 est le deuxième groupe d'espèces le plus identifié excepté chez les agnelles R à J60 où les coccidies B5 représentent la deuxième espèce majoritaire. Ces dernières sont également fortement représentées chez les agnelles à J120. Enfin, on remarque que les espèces A1/A2, B3/B4, B8 et B9 sont minoritaires. On observe ainsi une grande richesse spécifique avec l'identification de toutes les catégories d'espèces dans chaque élevage.

Les graphiques suivant indiquent les proportions des différentes espèces identifiées chez les agnelles R et S à J60 et 120 dans chaque élevage (*Figures 22, 23, et 24*).

Par élevage

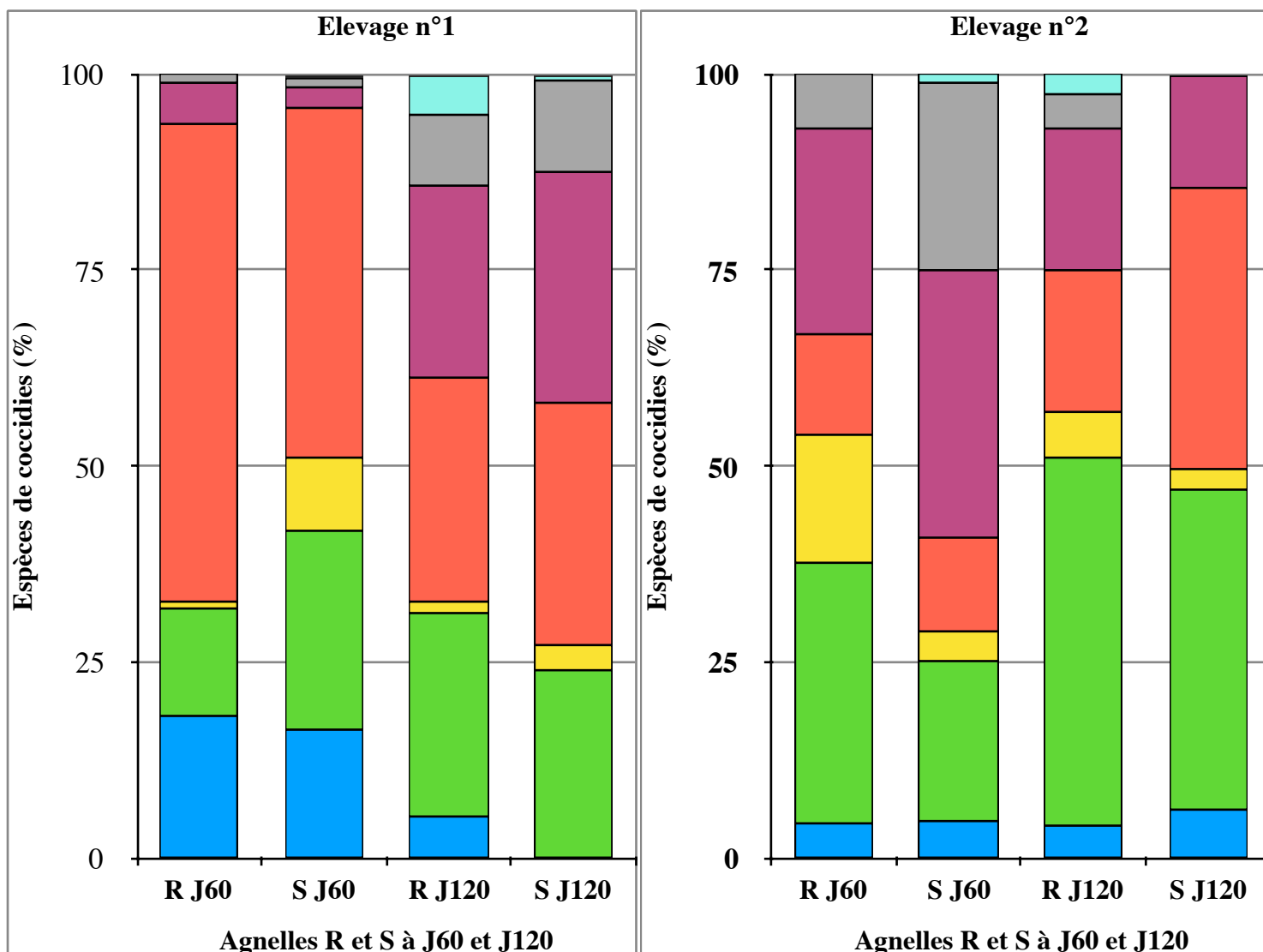
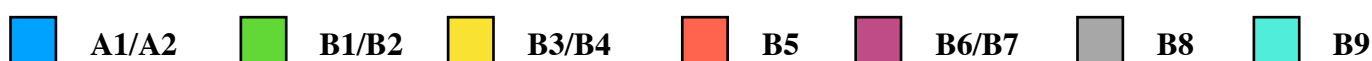


Figure 22: Proportions d'espèces de coccidies identifiées dans les élevages n°1 et 2 chez les agnelles R et S à J60 et J120

Dans l'élevage n°1, on observe entre J60 et J120 une augmentation des proportions de B1/B2 chez les agnelles R mais pas chez les agnelles S, ainsi qu'une augmentation de B6/B7, B8 et B9 chez toutes les agnelles entre J60 et J120. On remarque aussi une diminution des coccidies B5 dans les deux lots d'agnelles entre les deux dates. Au contraire, les espèces A1/A2 diminuent chez les agnelles R et disparaissent chez les agnelles S entre J60 et J120 (*Figure 22*).

Dans l'élevage n°2, on observe également une augmentation des B1/B2 entre J60 et J120 chez les agnelles R et S. On note une légère diminution des B3/B4 chez toutes les agnelles ainsi qu'une baisse des B6/B7 et B8. Les espèces A1/A2 sont stables chez les agnelles R et S, à chaque date (*Figure 22*).

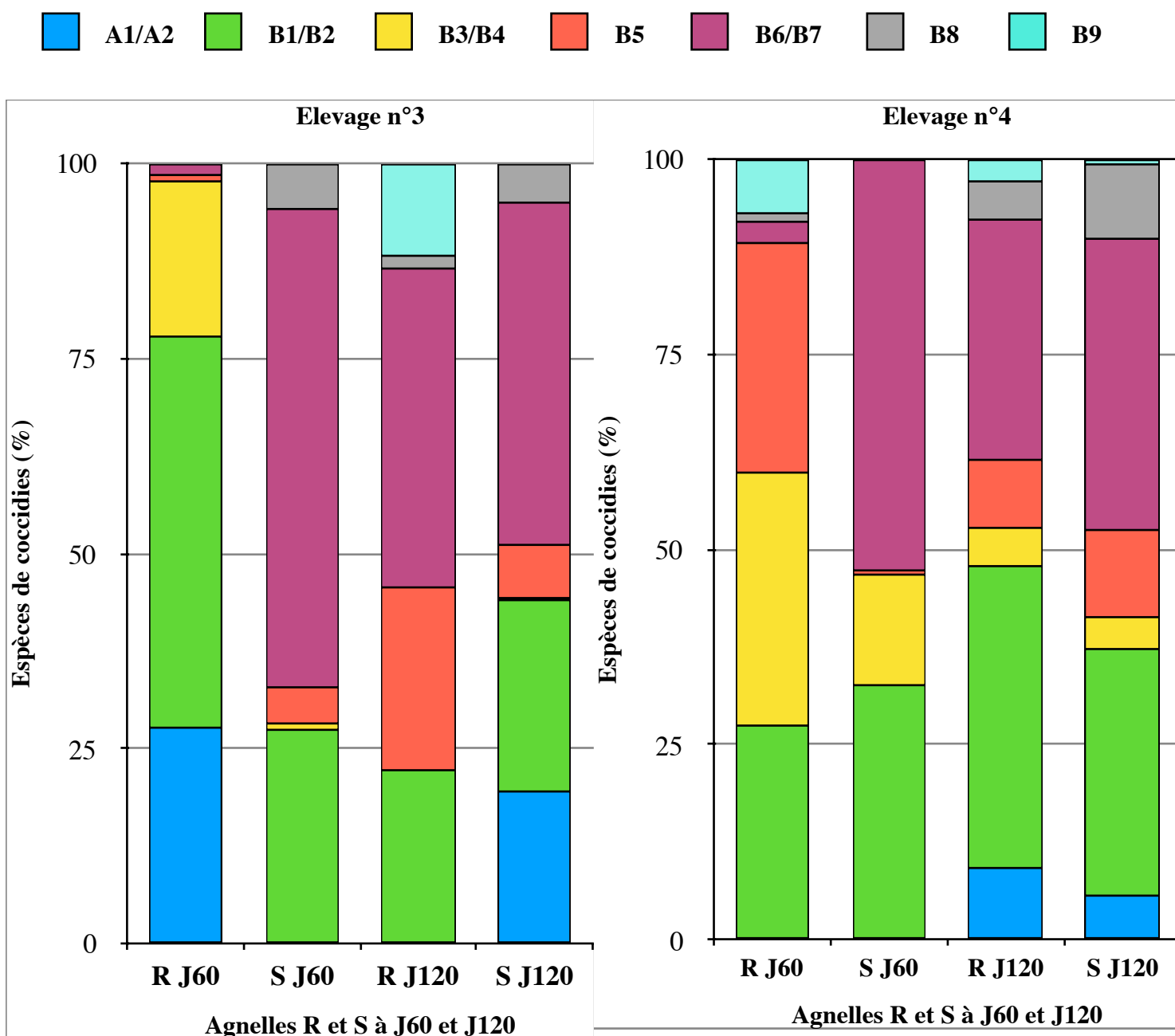


Figure 23: Proportions d'espèces de coccidies identifiées dans les élevages n°3 et 4 chez les agnelles R et S à J60 et J120

Dans l'élevage n°3, on observe une disparition du groupe A1/A2 chez les agnelles R de J60 à J120, et au contraire une apparition de ces espèces chez les agnelles S. On remarque aussi une diminution des B1/B2 chez les agnelles R ainsi qu'une forte augmentation de la proportion des B5, B6/B7, et l'apparition des espèces B8 et B9 (Figure 23).

Dans l'élevage n°4, le graphique montre une diminution des B3/B4 et une apparition des A1/A2 dans les deux lots d'agnelles entre les deux dates de prélèvements. On observe également une diminution des B6/B7 et une augmentation des B5 chez les agnelles S et à l'inverse une augmentation des B6/B7 et une diminution des B5 chez les agnelles R à J120. Les espèces B1/B2 sont stables chez toutes les agnelles (Figure 23).

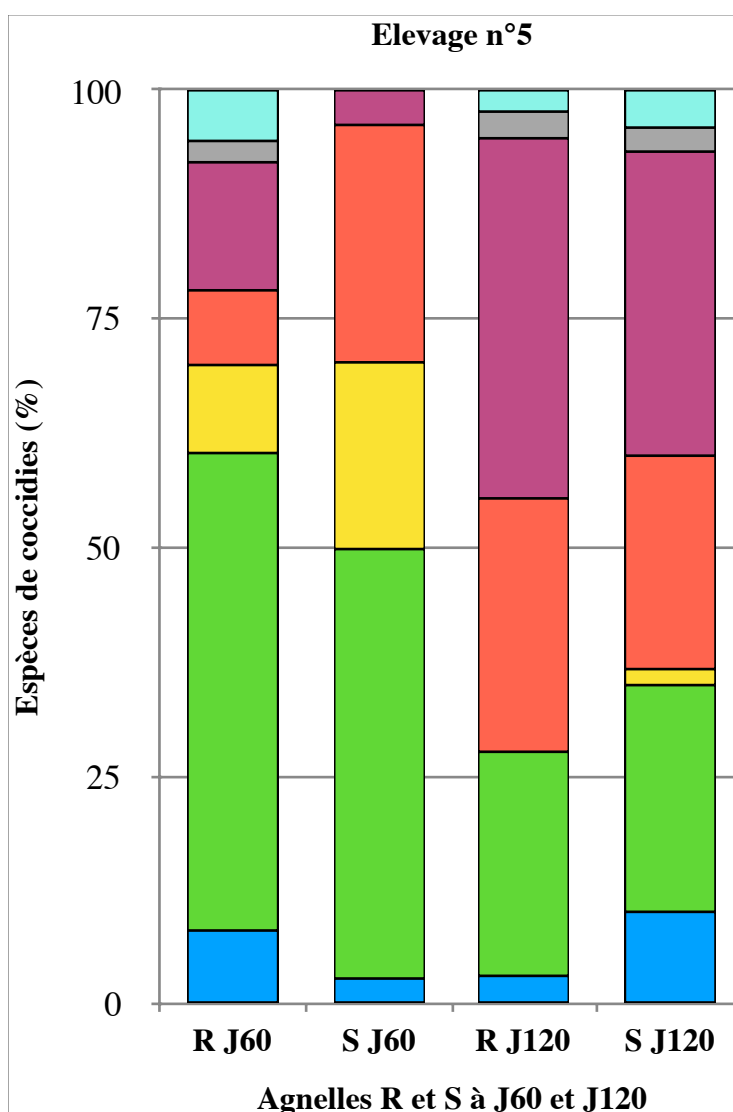


Figure 24 : Proportions d'espèces de coccidies identifiées dans l'élevage n°5 chez les agnelles R et S à J60 et J120

Dans l'élevage n°5, on note une diminution des B1/B2 chez toutes les agnelles de J60 à J120. Les espèces B3/B4 diminuent également chez les S et disparaissent chez les R. A l'inverse, on observe une augmentation des B6/B7 à J120 chez les R et les S, et une augmentation des B5 uniquement chez les agnelles R. On voit une diminution des A1/A2 à J120 chez les agnelles R, et le contraire chez les agnelles S (*Figure 24*).

Finalement, seul l'élevage n°3 montre de grandes différences de proportions d'espèces identifiées entre J60 et J120, les autres élevages présentent finalement des proportions plus homogènes entre les différentes visites.

3. Discussion

3.1. Apports de cette étude

Cette étude est la première à s'intéresser aux conséquences de la sélection d'animaux résistants aux nématodes gastro-intestinaux sur leur sensibilité à des protozoaires du tube digestif. En effet, les travaux d'Aguerre publiés en 2018 sur des ovins de race laitière Manech Tête Rousse ont montré que cette résistance, sélectionnée sur des béliers, était bien transmise à leur descendance (Aguerre, 2018) mais aucune étude n'avait encore été réalisée sur la sensibilité ou la résistance aux autres agents pathogènes digestifs couramment rencontrés lors des premiers mois de vie chez les agneaux issus de béliers résistants ou sensibles aux strongles. Or, ceci est une question fréquemment posée par les éleveurs du Pays Basque, désireux de savoir notamment si leurs agnelles de renouvellement considérées comme résistantes aux strongles gastro-intestinaux ne se retrouveront pas finalement plus sensibles à d'autres parasites (cryptosporidies, coccidies, *Giardia duodenalis*). Ainsi, cette étude conduite dans cinq élevages du Pays Basque apporte les tout premiers éléments de réponse à ces questions.

3.2. Résultats concernant les cryptosporidies et *Giardia spp.*

3.2.1. Un portage latent de *Cryptosporidium spp.* et de *Giardia duodenalis*

Les résultats de cette étude mettent en évidence un portage de *Cryptosporidium spp.* en proportions importantes à la fois chez les brebis (prévalence variant de 10,5% à 33,3%) et chez les agnelles (prévalence de 45%), sans noter d'épisode de cryptosporidiose clinique dans les élevages. Le portage de *Giardia duodenalis* a aussi été mis en évidence mais en quantité bien plus faible et uniquement chez les brebis. Aucun épisode de diarrhée n'a été rapporté par les éleveurs lors des 10-15 premiers jours de vie des agnelles, et globalement les animaux étaient tous en bon état général. De plus, les scores de souillure de l'arrière-train rapportés lors de la première visite étaient majoritairement de 0 (pas de souillure) ou 1 (souillures en zone péri-génitale uniquement), très peu

d'agnelles présentait un arrière-train très souillé. On assiste ainsi à un portage latent de cryptosporidies et de *Giardia duodenalis* dans ces cinq élevages.

3.2.2. Rôle de la mère dans la contamination des jeunes

Un des objectifs de cette étude était d'évaluer l'excrétion de *Cryptosporidium* spp. chez les brebis afin de mettre en évidence un rôle éventuel des mères dans la transmission de la cryptosporidiose à leurs agnelles. En effet, plusieurs études ont montré que les ruminants excrétaient des oocystes de cryptosporidies mais aussi des kystes de *Giardia duodenalis* en quantités plus importantes autour de la mise-bas et pouvaient ainsi contaminer le milieu et donc favoriser la contamination des jeunes. En effet, Xiao et son équipe ont montré que les brebis présentaient un pic d'excrétion d'oocystes de cryptosporidies au moment de l'agnelage (Xiao *et al.*, 1994). De plus, Ortega-Mora a montré en 1999 que l'excrétion d'oocystes de cryptosporidies augmentait également une semaine avant et après l'agnelage chez 14 brebis et que 71% des agneaux nés de ces brebis étaient infectés dans les deux premières semaines de leur vie (Ortega-Mora *et al.*, 1999). Plus récemment, une étude réalisée par Ye en 2013 a confirmé cette augmentation d'excrétion d'oocystes de cryptosporidies une semaine avant la mise-bas avec un pic d'excrétion lors de l'agnelage et une forte contamination des agneaux (Ye *et al.*, 2013).

Dans notre étude, 18,8% des brebis et 45% des agnelles ont présenté des PCR positives à *Cryptosporidium* spp., ce qui est non négligeable. Nous avons voulu suivre les couples mères/agnelles pour savoir si on retrouvait les mêmes espèces chez la mère et sa fille. Cinquante deux pour-cent des couples mère/fille sont revenus positifs en PCR mais l'identification spécifique des cryptosporidies n'a pu être réalisée précisément que pour un seul couple, où la même espèce, *C. parvum.*, a été identifiée chez la mère et sa fille. Contrairement aux autres élevages où les agnelles restent avec leurs mères jusqu'au sevrage à un mois ou un mois et demi, l'élevage n°5 sépare les agnelles de leur mère après ingestion du colostrum pour les faire téter à la louve. Or, malgré cette séparation précoce on retrouve dans la grande majorité des cas des cryptosporidies chez les mères et les filles. Ainsi, bien que l'on n'ait pas pu comparer plus précisément les espèces présentes chez les mères et leurs filles, on remarque que quel que soit le type de contact avec leur mère, les agnelles excrètent pour une grande part d'entre elles des oocystes de cryptosporidies. On peut donc plutôt supposer qu'elles se contaminent majoritairement via des oocystes présents dans l'environnement que directement au contact de leur mère.

L'étude menée par Xiao en 1994 montre également que l'excrétion de *G. duodenalis* chez les brebis augmente deux semaines avant la mise-bas avec un pic lors de la mise-bas et jusqu'à quatre semaines post-partum favorisant alors une forte contamination des agneaux (Xiao, 1994). Or, dans notre cas, aucun prélèvement d'agnelles, alors âgées de 10-15 jours, est revenu positif, alors que dans chaque élevage, au moins une brebis est porteuse de *Giardia* spp.. On pourrait peut-être exclure une potentielle contamination par la mère dans notre cas.

3.2.3. Identification spécifique et génotypage

Cryptosporidies

C. parvum est l'espèce majoritairement identifiée dans cette étude par PCR : on la retrouve dans tous les élevages, que ce soit chez les brebis ou chez les agnelles (6 brebis et 4 agnelles). *C. xiaoi* a ensuite été mis en évidence chez deux brebis et une agnelle et *C. ubiquitum* chez deux brebis uniquement. Ces résultats sont en accord avec d'autres publications qui montrent que les espèces principalement identifiées chez les petits ruminants sont bien *C. parvum*, *C. xiaoi* et *C. ubiquitum* avec une prédominance de *C. parvum* en Europe. En effet, on constate des différences de proportions des différentes espèces selon la région géographique : en Asie, les brebis et agneaux sont majoritairement porteurs de *C. xiaoi* (Ye *et al.*, 2013), en Australie et aux Etats-Unis on retrouve plutôt *C. ubiquitum* (Ryan *et al.*, 2005 ; Elwin and Chalmers, 2008) alors qu'en Europe on identifie surtout *C. parvum* (Diaz *et al.*, 2015 ; Castro-hermida *et al.*, 2011 ; Quilez *et al.*, 2008 ; Mueller-Doblies *et al.*, 2008 ; Tzanidakis *et al.*, 2014). *C. ubiquitum* est également souvent identifié en Europe après *C. parvum* (Diaz *et al.*, 2015 ; Tzanidakis *et al.*, 2014) et est même majoritaire chez les agneaux dans certaines études, notamment en Belgique (Geurden *et al.*, 2008). Hormis une étude réalisée en Pologne où *C. xiaoi* prédomine (Kaupke *et al.*, 2017), cette espèce est généralement minoritaire en Europe par rapport à *C. parvum* et *C. ubiquitum*. Certaines études suggèrent également que l'on a tendance à retrouver essentiellement du *C. parvum* chez les agneaux de moins de un mois et du *C. ubiquitum* chez les animaux plus âgés (Mueller-Doblies *et al.*, 2008 ; Castro-hermida *et al.*, 2011), ce qui est en accord avec nos résultats où *C. ubiquitum* n'a été trouvé que chez les brebis, mais d'autres études sont nécessaires encore pour comprendre ces différences de prévalence des espèces de *Cryptosporidium* spp. selon l'âge des individus.

C. hominis a été identifié chez une agnelle, ce qui est plutôt surprenant. En effet, ce portage est peu rapporté chez les petits ruminants (un agneau de 10 jours en Grande Bretagne d'après Giles et son équipe (Giles *et al.*, 2009), et un agneau de 3 semaines porteur dans l'étude de Kaupke en Pologne (Kaupke *et al.*, 2017)). Ye suggère en 2013 qu'il est possible de retrouver ce parasite chez les brebis dans les systèmes d'exploitation intensifs (Ye *et al.*, 2013). Plus récemment, une étude réalisée en 2018 chez 412 veaux dans toute la France a montré que la prévalence de *C. hominis* était probablement sous-estimée dans les élevages et que cette espèce avait été retrouvée chez un veau infecté par *Cryptosporidium* spp. sur cinq, asymptomatique ou non (Razakandrainibe *et al.*, 2018). Néanmoins, dans notre cas, il faut écarter l'hypothèse d'une contamination lors des manipulations des échantillons. De nouvelles analyses sont en cours afin de confirmer la présence de *C. hominis* chez cette agnelle mais au moment de la rédaction du manuscrit, ce résultat n'est pas encore connu.

Dans notre étude, lorsque le génotypage a pu être réalisé (c'est-à-dire lorsqu'il y avait suffisamment d'ADN pour cela), le sous-type zoonotique de *C. parvum* appartenant à la famille IId a majoritairement été identifié, suivi par le deuxième grand sous-type zoonotique appartenant à la famille IIa.

Ces résultats sont également en accord avec les données trouvées dans la littérature. En effet, dans l'étude réalisée par Tzanidakis en 2014, seul le sous-type IId est mis en évidence (Tzanidakis *et al.*, 2014) et dans l'étude menée par Quilez et son équipe en 2008, 98% des sous-types identifiées appartiennent à la famille IId également, les 2% restant correspondant à la famille IIa (Quilez *et al.*, 2008). A l'inverse, l'étude menée par Diaz en 2015 ne montre que du sous-type IIa (Diaz *et al.*, 2015).

Ainsi, dans notre cas comme dans beaucoup d'études, la présence de sous-types zoonotiques est majoritaire chez *C. parvum* isolé chez l'agneau.

Giardia

Dans notre étude, la prévalence d'infection à *Giardia* spp. est de 18,8% chez les brebis et nulle chez les agnelles quelle que soit la méthode d'analyse employée et à chaque date de prélèvement. Ce résultat chez les agnelles est assez surprenant car la plupart des études montrent un portage de ce parasite chez les jeunes (diarrhéiques ou non) : 37,3% des agneaux positifs dans l'étude de Tzanidakis (Tzanidakis *et al.*, 2014), 25,5% de positifs pour Geurden et son équipe (Geurden *et al.*, 2008), 21% d'agneaux positifs pour Baroudi et ses collaborateurs (Baroudi *et al.*, 2015) Toutefois, hormis un seul agneau qui excréta des kystes à l'âge de 4 jours, Xiao et son équipe rapportent que l'excrétion est très faible jusqu'à l'âge de 15 jours. De même, dans l'étude conduite par Tzanidakis, la forte prévalence d'infection à *G. duodenalis* est présente chez les agneaux âgés de 4 à 8 semaines (Tzanidakis *et al.*, 2014), et une autre étude réalisée en 2016, montre une excrétion absente chez les agneaux jusqu'à 4 semaines d'âge puis une augmentation de cette excrétion jusqu'à l'âge de 6 mois (Al-Dulaimi, 2016). Ainsi, il est possible qu'à l'âge de 10-15 jours, les agnelles de notre étude étaient trop jeunes pour commencer à excréter des oocystes de *Giardia* spp. mais l'absence totale du parasite à J30, J60 et J120 est plus surprenante.

Chez les brebis, l'assemblage zoonotique A a été identifié dans la moitié des cas, et l'assemblage non zoonotique E dans l'autre moitié. La plupart des études ont également montré la prédominance de ces deux génotypes chez les ovins mais avec une forte proportion de l'assemblage E dans la majorité des pays (Geurden *et al.*, 2008 ; Sprong *et al.*, 2009 ; Castro-hermida *et al.*, 2011 ; Jafari *et al.*, 2012 ; Tzanidakis *et al.*, 2014 ; Minetti *et al.*, 2014). L'assemblage zoonotique A est majoritaire dans peu d'études et seulement chez des agneaux de moins de 3 mois (Giangaspero *et al.*, 2005, Baroudi *et al.*, 2015). Baroudi suggère que ces différences de prévalence entre les différents assemblages pourraient être dues aux disparités concernant l'âge des animaux prélevés. En effet, l'assemblage A serait plutôt retrouvé chez les jeunes et le E chez les animaux plus âgés (Baroudi *et al.*, 2015). Néanmoins, dans notre cas, seules les brebis ont eu des résultats positifs et les assemblages A et E ont été retrouvés de la même façon chez les brebis les plus jeunes (un peu plus d'un an) et les plus âgées (six ans).

On trouve ainsi un portage non négligeable de sous-types zoonotiques de *Cryptosporidium* spp. mais aussi d'assemblage zoonotique de *Giardia duodenalis* dans nos élevages ovins du Pays-

Basque, et ces données sont globalement en accord avec celles que l'on trouve dans la littérature. Ces animaux peuvent ainsi représenter une réelle source d'infection pour l'Homme.

3.2.4. Effet du caractère résistant/sensible sur l'excrétion de *Cryptosporidium* spp. et *Giardia duodenalis*

Un des objectifs principaux de cette thèse était d'évaluer si le fait d'avoir un père résistant ou sensible aux strongles gastro-intestinaux fragilisait ou non les agnelles vis à vis d'autres pathogènes digestifs fréquemment rencontrés dans le jeune âge.

N'ayant eu aucun résultat positif concernant *Giardia duodenalis* chez les agnelles à chaque date de prélèvement, il nous est impossible d'émettre d'hypothèses sur l'effet du caractère résistant ou sensible aux strongles digestifs par rapport à ce parasite.

Concernant les cryptosporidies, les tests rapides sur mélange sont tous revenus négatifs et les examens microscopiques ont été peu concluants. La méthode PCR nous a apporté plus d'informations et a montré que la prévalence d'infection à *Cryptosporidium* spp. est plutôt similaire chez les agnelles R et les agnelles S (respectivement 41,5% et 48,5%), la différence de proportion n'étant pas significative. Il semble ainsi que le caractère résistant ou sensible du père ne rende pas leurs filles ni plus sensibles, ni plus résistantes, aux cryptosporidies.

3.3. Résultats concernant les coccidies

3.3.1. Prélèvements de J30

A J30, nous avons observé une très faible excrétion d'oocystes de coccidies chez toutes les agnelles dans les cinq élevages (excrétion variant de 0 à 2800 opg, avec une moyenne de 550 opg). Ceci est plutôt inhabituel car les agneaux naissent dans un environnement généralement contaminé par des oocystes d'*Eimeria* spp. excrétés par leurs mères, et sont donc au contact du parasite dès leur naissance (Catchpole and Gregory, 1985). En effet, de nombreuses études rapportent une augmentation de l'excrétion d'oocystes d'*Eimeria* spp. chez les brebis quelques semaines avant et après l'agnelage (Gonzalez-Mora *et al.*, 1990 ; Carrau *et al.*, 2016). D'après Chartier, l'excrétion d'oocystes chez les agneaux commence ainsi dès l'âge de 15-20 jours et augmente progressivement jusqu'à atteindre un pic autour du sevrage (Chartier and Paraud, 2012). La plupart des études rapportent cette tendance générale. Ainsi, Saratsis et ses collaborateurs ont montré en 2011 que plus de la moitié des 220 agneaux inclus dans l'étude excrétaient des oocystes en quantité non négligeable dès l'âge de 19-21 jours (Saratsis *et al.*, 2011). De même, un pic d'excrétion important est souvent rapporté autour de 30-40 jours (Reeg *et al.*, 2005 ; Kyrianova *et al.*, 2017 ; Bordes, 2018). Bordes rapporte par exemple, une excrétion de 40000 opg en moyenne chez des agneaux et agnelles d'environ 30 jours, à leur arrivée en atelier d'engraissement dans le rayon de Roquefort (Bordes, 2018).

Ainsi, devant la très faible excrétion retrouvée chez les agnelles Manech Tête Rousse de 30-40 jours dans notre étude, nous pouvons proposer quelques hypothèses.

Tout d'abord, nous pouvons exclure un biais opérateur concernant la réalisation des coproscopies, car la majorité des échantillons de cette date a été analysée par deux opérateurs différents.

Etant donné que les éleveurs ont l'habitude de traiter autour du sevrage (30-40 jours), nous pourrions également envisager l'hypothèse qu'un traitement anticoccidien ait été administré dans les jours précédents la réalisation des prélèvements. Mais les dates de visite ont été planifiées avec les éleveurs de telle sorte que les prélèvements ont bien été effectués avant le tout premier traitement anticoccidien.

Comme ce résultat a été retrouvé dans les cinq élevages, on peut se demander si la dynamique des coccidioses dans les exploitations ovines laitières du Pays-Basque est différente de ce qui est rapporté dans la littérature. Il serait alors intéressant de comparer ce résultat avec des analyses coprologiques complémentaires sur des agnelles du même âge dans d'autres élevages de la région, et également de réaliser des coproscopies des brebis autour de l'agnelage afin de voir leur niveau d'excrétion (retrouve-t-on chez la brebis Manech Tête Rousse l'augmentation d'excrétion autour de la mise-bas rapportée dans la plupart des études ?). On pourrait aussi imaginer que les conditions d'élevages soient moins propices au développement des coccidies ou retardent la dynamique des infections coccidiennes chez les agneaux, avec notamment une densité animale plus faible que dans les ateliers d'engraissement par exemple, et donc une pression d'infection moins importante. De plus, la plupart des élevages de notre étude élèvent leurs animaux sur caillebotis ce qui pourrait être moins favorable que la litière à la survie des oocystes et à leur rapide sporulation, mais aussi pourrait limiter l'exposition des jeunes agneaux aux oocystes infectants, une partie de ceux-ci tombant dans la fosse à fumier (Saratsis *et al.*, 2011).

3.3.2. Prélèvements de J60 et J120

Un pic d'excrétion suivi d'une diminution de l'intensité d'excrétion

Après une très faible excrétion à J30, nous avons observé un pic d'excrétion d'oocystes à J60 chez les agnelles R et S, avec une valeur moyenne de 149356 opg dans les matières fécales. Comme nous l'avons dit précédemment, la majorité des études rapportent un pic d'excrétion plus précoce, autour de 30-40 jours de vie, suivi d'une baisse de l'intensité d'excrétion (Reeg *et al.*, 2005 ; Gaulty *et al.*, 2008 ; Da Silva *et al.*, 2011 ; Saratsis *et al.*, 2011 ; Kyrianova *et al.*, 2017 ; Bordes, 2018). Malgré ces comptages élevés d'oocystes dans tous les élevages, aucun épisode de diarrhée n'a été noté par les éleveurs et les agnelles étaient globalement en bon état général. Cette faible incidence clinique en dépit d'une grande quantité d'oocystes excrétée est fréquemment rapporté dans les études (aucun agneau sur 14 en diarrhée dans une étude menée en 2008 par Gaulty, et seulement 18,9% d'échantillons de matières fécales diarrhéiques sur 220 agneaux pour Saratsis et son équipe par exemple (Gaulty *et al.*, 2008 ; Saratsis *et al.*, 2011)). Pout suggère que la présence d'un grand nombre d'oocystes chez les agneaux ne déclenche pas forcément la maladie (Pout, 1973). Cependant, il est pos-

sible que ces infections coccidiennes subcliniques aient tout de même des effets néfastes sur les agneaux avec notamment des retards de croissance. En effet, Reeg et Gauly montrent dans leurs études que la moyenne d'oocystes excrétée et le poids des agneaux sont inversement corrélés, suggérant ainsi qu'une infection importante aurait des conséquences négatives sur les performances des agneaux (Gauly *et al.*, 2004 ; Reeg *et al.*, 2005). Il aurait ainsi pu être intéressant de peser les agnelles de notre étude à chaque visite afin d'évaluer le potentiel impact d'un portage important de coccidies sur leur croissance, mais cela était difficile à réaliser dans des élevages commerciaux.

A J120, nous avons observé dans la majorité des élevages une diminution de l'intensité d'excrétion d'oocystes chez toutes les agnelles, avec une valeur moyenne de 34112 opg. Cette baisse de l'excrétion dans les matières fécales, rapportée également dans la majorité des études, serait due au développement d'une immunité chez les animaux avec l'âge (Reeg *et al.*, 2005 ; Da Silva *et al.*, 2011 ; Kyrianova *et al.*, 2017). Reeg et ses collaborateurs montrent que le taux d'anticorps diminue chez les agneaux au cours de leurs sept premiers jours de vie, ce qui correspond à la disparition des anticorps d'origine maternelle, puis re-augmente fortement après J40, soit peu après le pic d'excrétion d'oocystes observé dans son étude autour de J30 (Reeg *et al.*, 2005), ce qui est ainsi bien en faveur du développement d'une immunité chez les agneaux suite à l'infection. Néanmoins, même s'ils sont plus faibles qu'à J60, les comptages moyens à J120 restent importants dans notre étude (34112 opg en moyenne comparé à des valeurs inférieures à 3000 opg dans la littérature chez des agnelles du même âge (Reeg *et al.*, 2005 ; Da Silva *et al.*, 2017 ; Kyrianova *et al.*, 2017).

Un seul élevage de notre étude (le n°4) a montré une évolution différente avec une plus forte excrétion d'oocystes dans chaque lot d'agnelles à J120 qu'à J60 (excrétion 2,4 fois plus grande à J120 chez les R, et 9 fois plus forte chez les S). En détaillant les comptages individuels, on se rend compte que ceci n'est pas dû à une ou deux agnelles très fortes excrétrices à J120, mais que presque toutes les agnelles excrètent beaucoup plus à J120 qu'à J60. On peut éventuellement se demander si l'exposition au parasite était encore insuffisante à J60 pour stimuler l'immunité et ainsi avoir un déclin de l'excrétion, mais le comptage moyen d'oocystes à cette date était déjà assez élevé et comparable aux autres élevages, suggérant ainsi que les agnelles étaient déjà bien en contact avec les coccidies. Bien que nous ayons 4 agnelles vides sur les 14 prélevées à J60, il semble peu probable que ces agnelles aient pu avoir des comptages d'oocystes assez forts pour que l'on observe finalement une diminution de l'intensité moyenne d'excrétion à J120. Cependant, nous n'avons pas de point à J160 mais si nous l'avions fait, nous aurions peut-être observé une diminution à ce moment-là.

Effet du caractère résistant/sensible sur l'intensité d'excrétion d'oocystes d'*Eimeria* spp.

En considérant les intensités d'excrétion d'oocystes, nous avons observé que les agnelles S excrètent en moyenne plus d'oocystes de coccidies que les agnelles R à J60 et à J120, tous élevages confondus, mais cette différence d'intensité d'excrétion entre les agnelles R et S n'est pas significative. De plus, on ne retrouve pas cette tendance dans chaque élevage lorsqu'on les regarde individuellement. Enfin, même si les fortes intensités d'excrétion sont majoritairement retrouvées chez les

agnelles S, nous ne remarquons pas de différence importante concernant les répartitions des intensités d'excrétion entre les agnelles R et S aux deux dates, tous élevages confondus.

Ainsi, il semble que le caractère résistant ou sensible du père n'ait pas d'influence sur l'intensité d'excrétion d'oocystes de coccidies de leurs filles.

Identification des espèces

Chaque espèce de coccidie (*E. pallida*, *E. parva*, *E. marsica*, *E. ovinoïdalis*, *E. weybridgensis*, *E. crandallis*, *E. faurei*, *E. granulosa*, *E. bakuensis*, *E. ashata*, *E. intricata*) a été identifiée au moins une fois chez les agnelles R et S dans chaque élevage, ce qui montre une grande richesse spécifique dans chaque élevage. De plus, plusieurs espèces différentes ont été identifiées en même temps dans la majorité des prélèvements de matières fécales, suggérant ainsi que les agnelles sont infectées par différentes espèces à la fois. Ces résultats sont en accord avec les données trouvées dans la littérature (Reeg *et al.*, 2005 ; Saratsis *et al.*, 2011 ; Da Silva *et al.*, 2011 ; Bordes, 2018).

A J60 et J120, dans tous les élevages et dans chaque lot d'agnelles R et S, on remarque la prédominance du groupe *E. marsica* et *E. ovinoïdalis* (prévalence moyenne de 31,6%) suivi par le groupe composé de *E. granulosa* et *E. bakuensis* (prévalence de 25,9%) puis par *E. faurei* (prévalence de 20,8%). Les autres espèces (*E. pallida*, *E. parva*, *E. weybridgensis*, *E. crandallis*, *E. ashata*, *E. intricata*) sont minoritaires. La majorité des études rapporte également une forte prévalence de l'espèce pathogénique *E. ovinoïdalis* chez les agneaux jusqu'à 4-6 semaines de vie, et elle est souvent

5

l'espèce à laquelle sont associés les plus hauts comptages d'oocystes (souvent plus de 10 opg pour Saratsis par exemple (Saratsis *et al.*, 2011)). Catchpole suggère en 1976 que la prédominance de cette espèce est liée à sa forte capacité de reproduction comparé aux autres espèces (Catchpole *et al.*, 1976). Ces études montrent aussi que l'excrétion d'*E. ovinoïdalis* est généralement associée à une forte excrétion du groupe *E. weybridgensis/E. crandallis* dont *E. crandallis* est connue pour sa pathogénicité également, mais la prévalence de ces espèces est assez faible dans notre cas (prévalence moyenne de 3,8%) (Gauly *et al.*, 2004 ; Reeg *et al.*, 2005 ; Gauly *et al.*, 2008 ; Da Silva *et al.*, 2011 ; Saratsis *et al.*, 2011 ; Barreto de Souza *et al.*, 2015 ; Kyrianova *et al.*, 2017 ; Bordes, 2018). Reeg en 2005, Da Silva en 2011 et plus récemment Bordes en 2018, montrent que l'on a une succession des espèces dans le temps chez les agneaux avec une prépondérance des espèces pathogènes en début de suivi, puis un déclin de ces espèces au profit d'espèces moins ou pas pathogènes (*E. faurei*, *E. granulosa*, *E. ashata*, *E. bakuensis*, *E. intricata*) (Reeg *et al.*, 2005 ; Da Silva *et al.*, 2011 ; Bordes, 2018). Cependant, dans notre étude, un seul élevage (n°5) semble suivre ce schéma avec une diminution de l'excrétion des groupes pathogènes *E. weybridgensis/E. crandallis* et *E. marsica/E. ovinoïdalis* entre J60 et J120 au profit du groupe moins pathogène composé de *E. granulosa* et *E. bakuensis*. Les autres élevages montrent, certes une diminution du groupe *E. weybridgensis/E. crandallis* et une augmentation de la proportion des espèces non pathogènes entre les deux dates, mais aussi une persistance, voire même une augmentation dans l'élevage n°2, de l'excrétion de *E. marsi-*

ca/*E. ovinoidalis*, ce qui n'est pas rapporté dans la littérature. Toutefois, comme nous l'avons dit précédemment, la dynamique d'excrétion des coccidies dans ces élevages du Pays-Basque semble différente de ce que l'on trouve dans la littérature, avec une faible excrétion à J30 chez nos agnelles, alors que les agneaux montrent déjà un pic d'excrétion à cet âge dans la majorité des études. Peut-être a-t-on ainsi un décalage dans la cinétique d'excrétion des espèces d'*Eimeria* spp. chez nos agnelles, et peut-être observerait-on ce déclin d'*E. ovinoidalis* au profit des espèces non pathogènes si on avait refait des prélèvements à J160 par exemple.

Effet du caractère résistant/sensible sur l'excrétion des différentes espèces d'*Eimeria* spp.

Tout d'abord, nous retrouvons ce que nous avons dit précédemment concernant la cinétique d'excrétion des différentes espèces, avec peu de différences entre les agnelles R et les agnelles S. En effet, on observe globalement une diminution de l'excrétion des espèces pathogènes et l'augmentation des espèces non pathogènes entre J60 et J120, dans chaque lot d'agnelles. La diminution observée des espèces pathogènes correspond au groupe *E. weybridgensis*/*E. crandallis* car la proportion d'*E. marsica*/*E. ovinoidalis* reste stable chez toutes les agnelles aux deux dates. Il semble ainsi que le caractère résistant ou sensible du père n'ait pas d'influence sur l'évolution des espèces de coccidies au cours du temps chez les agnelles.

Nous avons également trouvé que la proportion des espèces pathogènes est un peu plus importante chez les agnelles R que chez les agnelles S à chaque date et tous élevages confondus. De plus, en détaillant élevage par élevage, on observe que les agnelles R excrètent plus d'espèces pathogènes que les agnelles S dans 3 élevages sur 5 à J60, et dans 4 élevages sur 5 à J120, et il a été montré que cette différence d'excrétion d'espèces pathogènes et non pathogènes entre les agnelles R et S est statistiquement significative dans chaque élevage. Ainsi, on peut se demander si la sélection de béliers résistants aurait pour effet de favoriser les espèces pathogènes de coccidies chez leurs filles. Des études complémentaires sont nécessaires pour répondre à cette question.

3.4. Limites

3.4.1. Méthodes de diagnostic

Cryptosporidies et *Giardia* spp.

Dans cette étude, les techniques de diagnostic autres que la PCR ont donné peu de résultats pour les cryptosporidies et *Giardia duodenalis*. En effet, tous les tests rapides V-Diar ont été négatifs, et nous avons eu peu de résultats positifs avec les examens microscopiques des selles. Ces méthodes peuvent manquer de sensibilité d'autant plus que les tests rapides ont été réalisés sur mélange de fèces et qu'à J15, il a parfois été difficile de recueillir des matières fécales en quantités suffisantes pour réaliser ces examens de façon correcte. De plus, les techniques microscopiques sont assez la-

borieuses et nécessitent une certaine expérience de l'opérateur. Cela pourrait par exemple expliquer l'absence de détection de *Giardia duodenalis* chez les agnelles à J30, J60 et J120 où seules des coproscopies ont été réalisées.

On peut également se demander si tous les porteurs de *Cryptosporidium* spp. et de *Giardia duodenalis* sont détectés par la PCR. En effet, cette méthode est certes, beaucoup plus sensible et spécifique que les techniques microscopiques, mais elle n'est pas infaillible. En effet, les matières fécales contiennent des sels biliaires et des complexes de polysaccharides, connus pour être des inhibiteurs de PCR, qui peuvent interférer s'ils persistent dans l'échantillon pendant le processus d'extraction de l'ADN (Bessetti, 2007). De plus, les quantités d'oocystes de *Cryptosporidium* spp. ou de kystes de *Giardia duodenalis* peuvent être en dessous de la limite de détection de la PCR et l'infection peut donc passer inaperçue.

Nous avons pu bénéficier de techniques de diagnostic moléculaire uniquement pour les prélèvements de J15. Il aurait été intéressant de bénéficier de cet outil pour les autres prélèvements et recueillir ainsi plus d'informations concernant les cryptosporidies et *Giardia* spp.. Toutefois, nous n'avons pas de financement spécifique pour les analyses moléculaires, et le CNR laboratoire expert Cryptosporidies de Rouen qui s'intéresse également au portage de *Cryptosporidium* spp. chez les animaux de rente, a accepté d'analyser nos échantillons de J15 gratuitement.

Coccidies

Seules des coproscopies en lame de Mac Master ont été réalisées sur les échantillons de matières fécales pour dépister les oocystes de coccidies. Bien que cela soit la méthode de référence pour évaluer la contamination des animaux par ce parasite, cette méthode présente quelques inconvénients tel le manque de sensibilité et le biais opérateur concernant l'identification des espèces. En effet, les oocystes de certaines espèces se ressemblent beaucoup d'un point de vue morphologique et morphométrique et il est donc parfois difficile de les différencier. Nous avons ainsi dû regrouper *E. ovinoidalis* avec *E. marsica* et *E. weybridgensis* avec *E. crandallis* dans nos résultats d'identification. Ainsi nous avons sûrement compté des espèces non pathogènes (*E. marsica* et *E. weybridgensis*) parmi les espèces pathogènes (*E. ovinoidalis* et *E. crandallis*) ou inversement, faussant ainsi un peu les résultats. Néanmoins, concernant le groupe *E. ovinoidalis/E. marsica*, on retrouve très majoritairement du *E. ovinoidalis* lors de fortes excréctions dans les publications (Reeg *et al.*, 2005 ; Da Silva *et al.* 2011, Kyrianova *et al.*, 2017), ce qui nous donne un peu plus d'assurance pour interpréter nos résultats.

Cette technique de coproscopie est également assez fastidieuse, et l'analyse d'un seul échantillon nécessite facilement 30 minutes entre le comptage des oocystes et l'identification des espèces après flottation. Il est donc difficile d'analyser beaucoup d'échantillons le même jour.

Ainsi, pour ces problèmes de lourdeur de réalisation et de sensibilité, les techniques moléculaires avec notamment la PCR en temps réel présentent un grand intérêt. Il serait intéressant de coupler

l'identification morphologique des oocystes avec l'identification moléculaire dans les prochaines études afin d'avoir des résultats sûrs et précis concernant l'excrétion et l'identification des espèces (Bordes, 2018).

3.4.2. Statut des mères

Une des grandes limites de cette étude est l'absence d'informations concernant les mères des agnelles suivies. En effet, contrairement aux béliers, la résistance des mères aux strongles gastro-intestinaux n'a jamais été évaluée dans cette étude, que ce soit lors d'infestations expérimentales ou en conditions naturelles de pâturage. Or, le statut de résistance ou sensibilité de la mère peut influencer le phénotype observé chez la fille. Il serait ainsi intéressant d'en savoir plus sur le statut des mères afin d'évaluer complètement l'impact de la sélection génétique de la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez la descendance.

3.4.3. Taille de l'échantillon et contexte de portage latent

Nos résultats ont été obtenus sur un faible nombre d'élevages et d'agnelles dans ces élevages. De plus, certaines agnelles sont décédées au cours de l'étude ou étaient vides au moment du prélèvement, générant ainsi un manque d'information. De plus, comme nous l'avons dit précédemment, aucun animal n'a présenté de signes cliniques de cryptosporidiose, giardiose ou coccidiose ce qui fait que nous étions dans un contexte de portage latent. On peut alors se demander si le caractère R ou S du père aurait un autre effet dans un contexte de cryptosporidiose-maladie ou de coccidiose-maladie. Pour répondre à cette question, il serait intéressant de recommencer cette étude en élargissant le nombre d'élevages et en incluant si possible des élevages ayant des problèmes récurrents de cryptosporidiose et de coccidiose. Il serait également possible de réaliser des infections expérimentales d'agnelles issues de béliers R et S avec des oocystes de *C. parvum*, mais la manipulation d'espèces potentiellement zoonotiques doit être réalisée dans un milieu contrôlé et des conditions parfaitement maîtrisées. La Plateforme d'Infectiologie Expérimentale de Tours-Nouzilly (INRA) réalise ce type de manipulations par exemple.

3.4.4. Premiers stades du processus de sélection

Une autre faiblesse de ce projet est que nous sommes au tout début du processus de sélection. En effet, les agnelles que nous avons suivies correspondent à la première génération issue de béliers résistants ou sensibles. Ainsi, il est difficile de savoir si les résultats que nous avons obtenus à ce jour, seront toujours les mêmes dans trois ou quatre générations. Des travaux de sélection pour la résistance aux strongles gastro-intestinaux sont réalisés depuis plus longtemps en race Romane au Domaine INRA de la Sapinière près de Bourges et plusieurs générations d'animaux phénotypés résistants ou sensibles existent déjà. Néanmoins, aucune information concernant la sensibilité ou la résistance à la cryptosporidiose, la giardiose et la coccidiose n'est disponible car aucune étude spécifique sur ces parasites n'a été réalisée. Ainsi, cela serait intéressant d'appliquer notre protocole chez ces animaux et de comparer les résultats avec ceux de notre étude.

3.5. Perspectives

Cette étude est la toute première à s'intéresser aux conséquences de la sélection génétique d'ovins résistants aux strongles gastro-intestinaux vis à vis d'autres pathogènes digestifs fréquents. Au vu des résultats, il semble que le caractère résistant ou sensible du père n'influence pas, ou peu, la réponse des agnelles Manech Tête Rousse aux cryptosporidies, à *Giardia* spp., et aux coccidies. Ce résultat est très intéressant et, s'il est confirmé par d'autres travaux, apporte un nouvel intérêt encore à la sélection d'animaux résistants aux nématodes gastro-intestinaux.

Cependant, comme nous l'avons dit, ces travaux ne sont qu'une première étape : ils ont été réalisés sur un faible nombre d'agnelles et d'élevages, chez une seule race, dans la même région et le même contexte d'élevage (filière laitière), de plus, le suivi des animaux n'a été réalisé que sur trois mois. Dans la continuité de ces travaux, un nouveau projet financé par la région Nouvelle Aquitaine se met en place fin 2018, c'est le « Programme PARALUT » dont l'intitulé complet est « Approche intégrée et nouvelles méthodes de contrôle des strongyloses gastro-intestinales chez les ovins ». Ce projet va fédérer plusieurs partenaires dont l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, à travers l'UMR INRA / ENVT IHAP 1225 et l'UMT Santé des Petits Ruminants, le CDEO (Centre Départemental de l'Elevage Ovin), le CIRPO (Ferme Expérimentale ovine du Mourier), GEODE (Organisme de sélection génétique ovine et de développement) et l'IDELE (Institut de l'Elevage).

Ce programme a différents objectifs. Tout d'abord, il s'agit de continuer le phénotypage des béliers Manech Tête Rousse du CDEO et écarter ceux présentant une forte sensibilité aux strongles gastro-intestinaux, étendre ce protocole aux béliers de la race Basco-Béarnaise présents sur le site et également aux béliers de race Rouge de l'Ouest afin d'évaluer l'universalité de la résistance génétique aux parasites, quel que soit la race ou le système d'élevage.

Ensuite, il est prévu d'évaluer les impacts de la résistance génétique sur des caractères de production et également sur la sensibilité à d'autres maladies dont les cryptosporidioses et coccidioses intestinales, giardioses et strongyloïdoses. Pour cela, cinq élevages recrutés dans la race Manech Tête Rousse, et trois élevages dans la race Rouge de l'Ouest ont été sélectionnés. Dans chaque élevage, deux groupes d'agnelles (issues de père résistant et issues de père sensible) seront créés ou identifiés et des prélèvements de matières fécales seront réalisés entre 7 et 14 jours de vie pour la recherche de cryptosporidies, puis à 30, 60, 90 et 120 jours de vie pour le dépistage des coccidioses, giardioses et strongyloïdoses. Ce protocole est ainsi très similaire à ce qui a été réalisé dans notre étude, mais dans le cadre du programme PARALUT, les échantillons seront analysés par PCR temps réel en plus des coprologies individuelles pour toutes les pathologies recherchées. De plus, ces agnelles seront suivies jusqu'à l'âge de 24 mois, avec des évaluations régulières des infections parasitaires et infectieuses. Concernant les caractères de production, les productions laitières des filles de béliers résistants et de béliers sensibles seront enregistrées en première lactation dans les troupeaux ovin-lait.

Les résultats obtenus dans ce programme viendront ainsi confirmer ou nuancer ceux que nous avons obtenus dans notre étude.

CONCLUSION

Cette étude apporte ainsi les premiers éléments de réponse concernant les capacités de réponse aux infections parasitaires par des protozoaires du tube digestif chez les filles de béliers résistants ou sensibles aux strongles digestifs, et vient également compléter les données disponibles sur l'épidémiologie de *Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp. et *Giardia duodenalis* chez les ovins.

Bien que nous n'ayons pu mettre en évidence de lien mère-fille, nous avons constaté que les brebis et les agnelles excrètent majoritairement l'espèce *C. parvum* et lorsque le génotypage a pu être réalisé, les sous-types zoonotiques appartenant aux familles IIa et IIc ont été identifiés. Ceci confirme ce qui a été rapporté dans beaucoup d'études dans le monde entier, et suggère que, comme les veaux et les chevreaux, les agneaux peuvent aussi être impliqués dans la transmission zoonotique de *C. parvum*. De plus, même si nous n'avons pas eu de résultats concluants chez les agnelles, nous avons observé un portage non négligeable d'assemblage zoonotique de *Giardia duodenalis* chez les brebis. Or, devant les conséquences importantes de ces infections sur la santé humaine, on comprend l'importance de surveiller et de contrôler la présence de ces parasites chez les ruminants.

Cette étude montre également que la sélection génétique des béliers Manech Tête Rousse résistants aux strongles gastro-intestinaux semble avoir peu d'impact sur la réponse de leurs filles envers les protozoaires parasites du tube digestif rencontrés dans leur jeune âge. En effet, nous avons pu voir au cours de ces travaux que le caractère résistant ou sensible du père ne rend pas leurs filles plus sensibles ou plus résistantes aux cryptosporidies et que cela n'a pas d'impact non plus sur l'intensité d'excrétion d'oocystes de coccidies. Cependant, ces résultats plutôt positifs et encourageants sont à nuancer avec la mise en évidence que les agnelles filles de béliers résistants excrètent plus d'espèces pathogènes d'*Eimeria* spp. que les agnelles filles de béliers sensibles. Ce dernier point est assez préoccupant, mais il faut garder à l'esprit que cette étude est la toute première à évaluer les conséquences de la sélection génétique sur les autres parasitoses, et que d'autres études sont nécessaires pour confirmer ou nuancer ces résultats.

Ces résultats rendent donc le programme « PARALUT » d'autant plus important car les capacités de réponse aux infections parasitaires autres que les strongles gastro-intestinaux chez les filles de père résistant sont des éléments essentiels à prendre en compte pour intégrer le caractère de résistance à ces parasites dans les objectifs de sélection.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, Philippe JACQUIET, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Pauline HOUERT** intitulée « **Sensibilité au parasitisme d'intérieur (Cryptosporidies, Coccidies, *Giardia duodenalis*) des agnelles filles de béliers résistants ou sensibles aux strongles gastro-intestinaux** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

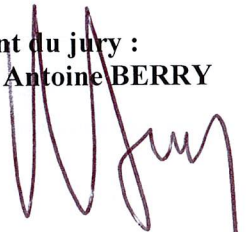
Fait à Toulouse, le 28 Août 2018
Professeur Philippe JACQUIET
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITELIN



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Antoine BERRY



Mlle Pauline HOUERT
a été admis(e) sur concours en : 2013
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 04/07/2017
a validé son année d'approfondissement le : 06/09/2018
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL



Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU

Régine ANDRE-OBRECHT

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADDISS D.G., MATHEWS H.M., STEWART J.M., WAHLQUIST S.P., WILLIAMS R.M., FIN-
TON R.J., SPENCER H.C., JURANEK D.D. Evaluation of a commercially available enzyme-lin-
ked immunosorbent assay for *Giardia lamblia* antigen in stool. 1991. Journal of Clinical Microbio-
logy. Vol. 29, n°6, pp. 1137–1142.
- AGNAMEY P., SARFATI C., PINEL C., RABODONIRIINA N.K., DUTOIT E., GARNAUD C.,
DIOUF M., GARIN J.F., TOTET A., DEROUIN F. Evaluation of Four Commercial Rapid Immuno-
chromatographic Assays for Detection of *Cryptosporidium* Antigens in Stool Samples: a Blind Mul-
ticenter Trial. Journal of clinical microbiology. Avril 2011. Vol. 49, n°4, pp.1605-1607.
- Agreste Données Corse. L'élevage de petits ruminants en Corse. Juillet 2013. Numéro 5. ISSN :
1772-8169.
- AGUERRE S., JACQUIET P., BRODIER H., BOURNAZEL J.P., GRISEZ C., PREVOT F., MI-
CHOT L., FIDELLE F., ASTRUC J.M., MORENO C.R. Resistance to gastrointestinal nematodes
in dairy sheep: Genetic variability and relevance of artificial infection of nucleus rams to select for
resistant ewes on farms. Veterinary Parasitology. Avril 2018. Vol. 256, pp. 16-23.
- AKAM A., KHELEF D., KAIDI R., OTHMANI M.S., ABDU HUSSEIN S., SUTEU E., COZMA
V. Etude comparative entre les techniques classiques de coloration, de flottation et le test ELISA
dans la détection des oocystes de *Cryptosporidium parvum* dans les selles de veaux. Scientia Parasi-
tologica. 2003. Vol. 1, pp. 36-43.
- AL DULAIMI F.H.A. Investigation of *Cryptosporidium* and *Giardia lamblia* infection with trials of
treatment in sheep and goats at the Al-Mashroa district, Babylon province. International Journal of
PharmTech Research. 2016. Vol. 9, n°6, pp.200-209.
- ALOISIO F., FILIPPINI G., ANTENUCCI P., LEPRI E., PEZZOTTI G., CACCIO S.M., POZIO E.
Severe weight loss in lambs infected with *Giardia* duodenal assemblage B. Veterinary parasitology.
2006. Vol. 142, pp. 154-158.
- ALZIEU J.P., MAGE C., MAES L., DE MUELENAERE C. Economic benefits of prophylaxis with
diclazuril against subclinical coccidiosis in lambs reared indoors. The veterinary record. Avril 1999.
Vol 144, n°16, pp.442-444.

BAREILLE S., FOURNIER R. La giardiose ovine. In: Fiches ovines de la SNGTV [En ligne]. Janvier 2010. [Consulté le 18 12 2017]. Disponible à l'adresse : <http://ovine.sngtv.pagesperso-orange.fr/Giardiose.pdf>

BARON E.J., SCHENONE C., TANENBAUM B. Comparison of three methods for detection of *Cryptosporidium* oocysts in a low-prevalence population. *Journal of Clinical Microbiology*. 1989. Vol. 27, n°1, pp. 223-224.

BAROUDI D., HAKEM A., DAHMANI, LYSEN C., ROELLUG D., KHELEF D., XIAO L. Génotypage préliminaire de *Giardia* chez l'agneau en Algérie. Rencontre autour des recherches sur les ruminants. 2015. Vol. 22, pp. 38.

BARRETO DE SOUZA L.E., FERREIRA DA CRUZ J., REZENDE TEIXEIRA NETO M., REGO ALBUQUERQUE G., MELO A., TAPIA D. Epidemiology of *Eimeria* infections in sheep raised extensively in a semiarid region of Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*. 2015. Vol. 24, n°4, pp. 410-415.

BESSETTI J. An introduction to PCR inhibitors. In : Profiles in DNA [En ligne]. Mars 2007. [Consulté le 12 10 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.promega.es/-/media/files/resources/profiles-in-dna/1001/an-introduction-to-pcr-inhibitors.pdf?la=es-es>

BONOTAUX J., GUICHENEY H. La filière ovins lait en Pyrénées-Atlantiques. In : DRAAF Nouvelle Aquitaine [En ligne]. Février 2014. [Consulté le 02 09 2017]. Disponible à l'adresse : https://www.epsilon.insee.fr/jspui/bitstream/1/21116/1/agr_AQ_dos_filiere_ovin_lait.pdf

BORDES L. Diagnostic moléculaire de la coccidiose ovine par PCR en temps réel et protocole d'échantillonnage pour son dépistage précoce en atelier d'engraissement. Master Diagnostic Microbiologique Approches Innovantes. Toulouse, 2018.

BROOK E.J., CHRISTLEY R.M., FRENCH N.P., HART C.A. Detection of *Cryptosporidium* oocysts in fresh and frozen cattle faeces: comparison of three methods. *The society for applied microbiology*. 2007. Vol. 46, pp. 26-31.

BROUSSARD J.D. Optimal fecal assessment. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*. 2003. Vol. 18, n°4, pp. 218-230.

BUISSON D. Sélection génomique des races ovines laitières françaises : analyse des schémas actuels, première modélisation de scénarios génomiques et bilan technico-économique. Mémoire de

fin d'études de diplôme d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences Agronomiques, Agroalimentaires, Horticoles et du Paysage. Agrocampus Ouest CFR Rennes, Septembre 2012.

CARRAU T., PEREZ D., SILVA L.M., MACIAS J., MARTINEZ-CARRASCO C., TAUBERT A., HERMOSILLA C., RUIZ DE YBANEZ R. Postparturient rise in the excretion of *Eimeria* spp. In Manchega dairy sheep. Journal of Veterinary Medicine and Research. 2016. Vol. 3, n°2.

CASTRO-HERMIDA J.A., DELAFOSSE A., PORS I., ARES_MAZAS E., CHARTIER C. *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium parvum* infections in adult goats and their implications for neonatal kids. Veterinary Record. 2005. Vol.157, pp 623-627.

CASTRO-HERMIDA J.A., GARCIA-PRESEDO I., ALMEIDA A., GONZALES-WARLETA, CORREIA DA COSTA J.M, MEZO M. *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in two areas of Galicia (NW Spain). Science of the Total Environment. 2011. Vol. 409, pp. 2451-2459.

CASTRO-HERMIDA J.A, GONZALES-WARTELA M., MEZO M. Natural infection by *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in sheep and goats in Galicia (NW Spain). Small Ruminant Research. 2007. Vol. 72, pp. 96-100.

CATCHPOLE J., GREGORY M.W. Pathogenicity of the coccidium *Eimeria crandallis* in laboratory lambs. International Journal for Parasitology. 1985. Vol. 20, n°7, pp. 849-860.

CATCHPOLE J., NORTON C.C., JOYNER L.P. Experiments with defined multispecific coccidial infections in lambs. Parasitology. 1976. Vol. 72, pp. 137-147.

CHAMPION F., DOCKES A.C., LAGRIFFOUL G., MOTTET A., MORIN E., NEUMEISTER D., PERROT C. Bergers demain en brebis laitières, étude sur la production ovine laitière à l'horizon 2020, éléments de diagnostic et propositions d'actions. IDELE, avril 2013. Collection Résultats. ISBN : 978-2-36343-387-9.

CHAN R., CHEN J., YORK M.K., SETIJONO N., KAPLAN R.L, GRAHAM F., TANOWITZ H.B. Evaluation of a Combination Rapid Immunoassay for Detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* Antigens. Journal of clinical microbiology. Janvier 2000. Vol. 38, n°1, pp. 393-394.

CHANUDET J. Comparaison de différentes colorations pour la mise en évidence des protozoaires dans la coproscopie des ruminants. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Lyon : Université Claude-Bernard, 2012.

CHARTIER C., MALLEREAU-PELLET M.P., MANCASSOLA R., NUSSBAUM D. Détection des oocystes de *Cryptosporidium* dans les fèces de caprins : comparaison entre un test d'agglutination au latex et trois autres techniques conventionnelles. *Veterinary Research*. Avril 2002. Vol. 33, n°2, pp 169-177.

CHARTIER C., PARAUD C. Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. *Small Ruminant Research*. Mars 2012. Vol. 103, pp.84-92.

CHARTIER C., RIEUX A., DELAFOSSE A., LEHEBEL A., PARAUD C. Detection of cryptosporidium oocysts in fresh calf faces : characteristics of two simple tests and evaluation of a semi-quantitative approach. *The Veterinary Journal*. 2013. Vol. 198, pp 148-152.

Chiffres clés BDNI, année 2010. In : Institut de l'Élevage, IDELE [En ligne]. Janvier 2011. [Consulté le 22 08 2017]. Disponible à l'adresse : <http://idele.fr/domaines-techniques/tracabilite-et-certification/tracabilite-des-animaux/publication/idelesolr/recommends/chiffres-cles-bdni-annee-2010.html>.

CONSTABLE P., HINCHCLIFF K.W., DONE S., GRUENBERG W. *Veterinary medicine*. Onzième édition. Saunder Ltd, décembre 2016. ISBN : 9780702070587.

CRINGOLI G., VENEZIANO V., MEZZINO L., MORGOGLIONE M., PENNACHIO S., RINALDI L., SALAMINA V. The effect of moxidectin 0,1% vs ivermectin 0,08% on milk production in sheep naturally infected by gastrointestinal. *BMC Veterinary Research*. 2009. Vol. 5, n°41.

DAIGNAULT A., BOURASSA R., MOREAU J. La diarrhée chez l'agneau : un sujet à « éviter ». In : Symposium ovin. Québec : Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec. 2009. Pp. 1-12. ISBN : 9782764902264.

DA SILVA R.M., FACURY-FILHO E.J., SOUZA M.F., RIBEIRO M.F.B. Natural infection by *Eimeria* spp. in a cohort of lambs raised extensively in Northeast Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*. 2011. Vol. 20, n°2, pp. 134-139.

DE BOISSIEU C., MORIN E., LAPHITZ., DUHART., HAICAGUERRE., MERLIN., DOYHENART., GONZALES. Cas-types ovins lait des Pyrénées Atlantiques. In : Institut de l'Élevage [En ligne]. [Consulté le 20 09 2017]. 2012. Disponible à l'adresse : <http://idele.fr/presse/publication/idelesolr/recommends/cas-types-ovins-lait-des-pyrenees-atlantiques.html>

Description du fonctionnement des schémas de sélection Manech Tête Rousse / Macech Tête Noire. In : Genomia. [En ligne]. Mars 2011. [Consulté le 28 09 2017]. Disponible à l'adresse : <http://>

www.genomia.net/wp-content/uploads/2011/09/genomia_doc1b_description-des-schemas-de-selection-manech_V20110627.pdf

DIAZ P., QUILEZ J., PRIETO A., NAVARRO E., PEREZ-CREO A., FERNANDEZ G., PANADERO R., LOPEZ C., DIEZ-BANOS P., MORRONDO P. *Cryptosporidium* species and subtype analysis in diarrhoeic pre-weaned lambs and goat kids from north-western Spain. *Parasitology Research*. Juillet 2015. Vol. 114, pp. 4099-4015.

DOUGUET M., ASTRUC J.M., THOMAS G. Résultats de Contrôle Laitier, France 2016. IDELE, mars 2017. Collection Résultats. ISBN : 978-2-36343-830-0.

ECKERT J., BRAUN. R, SHIRLEY M.W., COUDERT P. Guidelines on techniques in coccidiosis research. Luxembourg : Commission of the European Communities, 1995. ISBN : 92-827-4970-3.

Eimeria. In : The Australian Society for Parasitology Inc [En ligne]. [Consulté le 18 01 18]. Disponible à l'adresse : <http://parasite.org.au/para-site/text/eimeria-text.html>

Elevage, la filière ovine. In : Les fiches de FranceAgriMer [En ligne]. Montreuil : FranceAgriMer. Février 2015. [Consulté le 22 08 2017]. Disponible à l'adresse : <http://www.franceagrimer.fr/content/download/39015/360587/file/Fiche%20filière%202014%20-%20Viande%20ovine%20-%20FR.pdf>

ELWIN K., CHALMERS R.M. Contemporary identification of previously reported novel *Cryptosporidium* isolates reveals *Cryptosporidium bovis* and the cervine genotype in sheep (*Ovis aries*). *Parasitology Research*. 2008. Vol. 102, pp. 1103–1105.

FAYER R., MORGAN U.M., UPTON S. Epidemiology of *Cryptosporidium* : transmission, detection and identification. *International Journal for Parasitology*. Novembre 2000. Vol. 30, pp. 1305-1322.

FAYER R., XIAO L. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis, Seconde édition. CRC Press. Décembre 2007. ISBN : 978-1420052268

Filière ovins lait. In : DRAAF Nouvelle Aquitaine [En ligne]. Août 2017. [Consulté le 14 09 2017]. Disponible à l'adresse : <http://draaf.nouvelle-aquitaine.agriculture.gouv.fr/>

FOREYT W.J. Coccidiosis and Cryptosporidiosis in Sheep and Goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. Novembre 1990. Vol. 6, pp 655-670.

GAULY M., KRAUTHAHN C., BAUER C., ERHARDT G. Pattern of *Eimeria* oocyst output and repeatability in naturally infected suckling Rhön lambs. Journal of veterinary medicine B, Infectious diseases and veterinary Public Health. Novembre 2001. Vol. 48, n°9, pp.665-673.

GAULY M., REEG J., BAUER C., ERHARDT G. Influence of production systems in lambs on the *Eimeria* oocyst output and weight gain. Small Ruminant Research. 2004. Vol. 55, pp. 159-167.

GEURDEN T., HOSTE H., JACQUIET P., TRAVERSA D., SOTIRAKI S., FRANGIPANE DI REGALBONO A., TZANIDAKIS N., KOSTOPOULOU D., GAILLAC C., PRIVAT S., GIANGASPERO A., ZANARDELLO C., NOE L., VANIMISSETTI B., BARTRAM D. Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in France, Greece and Italy. Veterinary Parasitology. 2014. Pp-59-66.

GEURDEN T., POHLE H., SARRE C., DREESEN L., VERCRUYSSSE J., CLAEREBOU E. The efficacy of a treatment with fenbendazole against an experimental *Giardia duodenalis* infection in lambs. Small Ruminant Research. 2011. Vol. 96, n°211-215.

GEURDEN T., THOMAS P., CASAERT S., VERCRUYSSSE J., CLAEREBOU E. Prevalence and molecular characterisation of *Cryptosporidium* and *Giardia* in lambs and goat kids in Belgium. Veterinary Parasitology. 2008. Vol. 155, pp. 142-145.

GIANGASPERO A., PAOLETTI B., IORIO R., TRAVERSA D. Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* from sheep in central Italy. Parasitology Research. 2005. Vol. 96, pp. 32-37.

GILES M., CHALMERS R., PRITCHARD G., ELWIN K., MUELLER-DOBLIES D., HADLEY-CLIFTON F. *Cryptosporidium hominis* in a goat and a sheep in the UK. Veterinary Record. 2009. Vol. 164, pp. 24-25.

GILL H.S., COLDITZ I.G., WATSON D.L. Immune responsiveness of lambs selected for resistance to haemonchosis. Research in Veterinary Science. 1993. Vol. 54, pp.361-365.

GJERDE B., HELLE O. Chemoprophylaxis of coccidiosis in lambs with a single oral dose of toltrazuril. Veterinary parasitology. 1991. Vol. 38, pp. 97-107.

GIODINIS N.D., PAPADOPOULOS E., PANOUSIS N., PAPAZHARIADOU M., S.Q. LAFI, KARATZIAS H. Effect of halofuginone lactate on treatment and prevention of lamb cryptosporidiosis : an extensive field trial. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 2007. Vol. 30, pp. 578-582.

- GONZALEZ-MORA J., SANCHEZ ALBARRAN A., VAZQUEZ PRATS V. Presence and dynamics of oocysts of some species of *Eimeria* in ewes and lambs during the perinatal period in Huixquilucan, Mexico. Memoria III Congress Nacional de Production Ovina. Tlaxcala. Avril 1990. Pp. 225-228.
- JACQUIET P., LORENZA R. Première sélection sur phénotype de béliers résistants aux strongles gastro-intestinaux. La Semaine Vétérinaire. Mars 2012. N°1488, pp. 43.
- JACQUIET P., BARILLET F, BOUIX J., FRANCOIS D., MORENO C., TEREFE G. La résistance génétique des ovins aux strongles gastro intestinaux. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France. 2009. Vol. 162, n°1, pp. 39-46.
- JAFARI H., JALALI M.H.J, SHAPOURDI M.S.A, HAJIKOLAI M.R.H. Determination of *Giardia duodenalis* genotypes in sheep and goat from Iran. Journal of Parasitic Diseases. Novembre 2012.
- JOHNSTON S.P., BALLARD M.M., BEACH M.J., CAUSER L., WILKINS P. Evaluation of Three Commercial Assays for Detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* Organisms in Fecal Specimens. Journal of clinical microbiology. Février 2003. Vol. 41, n°2, pp. 623-626.
- KAR S., GAWLOWSKA S., DAUGSCHIES A., BANGOURA B. Quantitative comparison of different purification and detection methods for *Cryptosporidium parvum* oocysts. Veterinary Parasitology. 2011. Vol. 177, pp. 366-370.
- KAUPKE A., MICHALSKI M.M., RZEZUTKA A. Diversity of *Cryptosporidium* species occurring in sheep and goat breeds reared in Poland. Parasitology Research. 2017. Vol. 116, pp. 871-879.
- KHELEF D., AKAM A., KAIDI R., ABDU HUSSEIN S., SUTEU E., COZMA V. Evaluation comparative des méthodes de détection de l'oocyste de *Cryptosporidium parvum* dans les selles des veaux. Scientia Parasitologica. 2002. Vol. 1, pp. 22-27.
- KHODAKARAM-TAFTI A., HASHEMNIA M. An overview of intestinal coccidiosis in sheep and goat. Revue de médecine vétérinaire. 2017. Tome 168, vol. : 1-3, pp. 9-20.
- KUCZYNSKA E., SHELTON D.R. Method for detection and enumeration of *Cryptosporidium parvum* oocysts in feces, manures, and soils. Applied and Environmental Microbiology. 1999. Vol. 65, n°7, pp. 2820-2826.

KYRIANOVA I.A., VADLEJCH J., LANGROVA I. Eimeriosis seasonal dynamics patterns at an organic sheep farm in the Czech Republic. *Scientia Agriculturae Bohemica*. 2017. Vol. 48, n°2, pp. 70-75.

LACOUX C., NGUYEN T.H.C, ANDREOLETTI O., PREVOT F., GRISEZ C., BERGEAUD J.P., GRUNER L., BRUNEL J.C., FRANCOIS D., DORCHIES P. *Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongylidae) infection in lambs elicits an unequivocal Th2 immune response. *Veterinary Research*. 2006. Vol. 37, n°4, pp. 607-622.

LAGRIFFOUL G., MORIN E., ASTRUC JM., BOCQUIER F., DE BOISSIEU C., HASSOUN P., LEGARTO J., MARNET PG., POULET JL. et BARILLET F. Panorama de la production de lait de brebis en France et son évolution depuis 50 ans. *Inra Productions Animales*. 2016. Vol. 29, n°1, pp. 7-18.

L'élevage ovin lait. In : *Agri'scopie Occitanie*. Chambre d'agriculture Occitanie [En ligne]. 2017. [Consulté le 02 09 2017]. Disponible à l'adresse : http://www.occitanie.chambre-agriculture.fr/fileadmin/user_upload/Occitanie/076_Inst-Occitanie/Documents/AgriScopie/p34-35-ovin-lait.pdf

Les ovins. In : ODARC Office du développement agricole et rural Corse [En ligne]. [Consulté le 06 09 2017]. 2016. Disponible à l'adresse : <http://www.gustidicorsica.com/fr/15/filiere/les-ovins.html>

Les ovins laitiers. In : *Chambre d'Agriculture des Pyrénées-Atlantiques* [En ligne]. [Consulté le 15 09 2017]. 2016. Disponible à l'adresse : <http://www.pa.chambagri.fr/>

MAGE C. *Maladies parasitaires du mouton*. Troisième édition. Paris : Editions France Agricole, 2016. ISBN : 978-2-85557-434-9.

MAVROT F., HERTZBERG H., TORGERSON P. Effect of gastro-intestinal nematode infection on sheep performance: a systematic review and meta-analysis. *Parasites and vectors*. 2015. Vol. 8, n°557.

MERLE E., OLSON E. *Cryptosporidium* and *Giardia* : Emerging zoonoses. In : *DVM Nexwmagazine*. Juin 2002. [En ligne]. [Consulté le 03/02/18]. Disponible à l'adresse : http://files.dvm360.com/alfresco_images/DVM360//2013/11/19/c1d5d1e4-1c86-4da8-a2a6-fecda37d72eb/article-32676.pdf

Méthode de Mac Master. In : *Coprsocopie parasitaire* [En ligne]. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon. [Consulté le 21/01/18]. Disponible à l'adresse : http://www2.vetagro-sup.fr/etu/copro/sommaire/techniques/analyse/mac_master.htm.

- MINETTI C., TAWEENAN W., HOGG R., FEATHERSTONE C., RANDLE N., LATHAM S.M., WASTLING J.M. Occurrence and diversity of *Giardia duodenalis* assemblages in livestock in the UK. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2014. Vol. 61, pp. 60-67.
- MIZHQUIRI-BARBECHO J., BOWMAN D.D., LIOTTA J.L. Comparative performance of reference laboratory tests and in-clinic tests for *Giardia* in canine feces. *Parasites and Vectors*. 2018. Vol. 11, n°444.
- MORIN E., CASSIGNOL C., FRAYSSE J. La production de lait de brebis en France, diversité des systèmes d'exploitation. IDELE, 2004. Collection résultats. ISBN 2-84148-108-5.
- MUELLER-DOBLIES D., GILES M., ELWIN K., SMITH R.P, CLIFTON-HADLEY F.A., CHALMERS R.M. Distribution of *Cryptosporidium* species in sheep in the UK. *Veterinary Parasitology*. 2008. Vol. 154, pp. 214-219.
- MUNDT H.C., DITTMAR K., DAUGSCHIES A., GRZONKA E., BANGOURA B. Study of the comparative efficacy of toltrazuril and diclazuril against ovine coccidiosis in housed lambs. *Parasitology research*. Août 2009. Vol. 105, pp. 141-150.
- NUSSBAUM D.J., SALORD J.R., DOMINIQUE D., RIMMELE D. Evaluation of quantitative latex agglutination for detection of *Cryptosporidium parvum*, *E. coli* K99, and rotavirus in calf feces. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1999. Vol. 11, pp. 314-318.
- O'HANDLEY R.M., OLSON M.E. Giardiasis and Cryptosporidiosis in Ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2006. Vol. 22, pp. 623-643.
- OLSON M.E., MC ALLISTER T.A., DESELLIERS L., MORCK DW., CHENG K.J., BURET A.G., CERI H. Effects of giardiasis on production in a domestic ruminant (lamb) model. *American Journal of Veterinary Research*. Novembre 1995. Vol. 56, pp. 1470-1474.
- ORTEGA-MORA, L. M., REQUEJO-FERNANDEZ, J. A., PILAR-IZQUIERDO, M., PEREIRA-BUENO, J. Role of adult sheep in transmission of infection by *Cryptosporidium parvum* to lambs: confirmation of periparturient rise. *International Journal for Parasitology*. Juin 1999. Vol. 29, pp. 1261-1268.
- Ovins laitiers des Pyrénées. In : les Races de Massif [En ligne]. 2014. [Consulté le 18 09 2017]. Disponible à l'adresse : <http://www.races-montagnes.com/fr/races/pyrenees-atlantiques/basco-bearnaise.php>.

PARAUD C. La résistance aux anthelminthiques des strongles gastro-intestinaux. ANSES : Les cahiers de la Recherche. Octobre 2017. N°10, pp. 56-58.

PARAUD C., CHARTIER C. Cryptosporidiosis in small ruminants. Small Ruminant Research. 2012. Vol. 103, pp. 93-97.

PARAUD C., CHARTIER C. Cryptosporidiose : quel traitement actuellement chez les ruminants. In : Journées Nationales des Groupements Techniques vétérinaires. 2015. Pp. 265-270.

PATTON S. Overview of giardiasis. In : MSD Manual, Veterinary manual. [En ligne]. [Consulté le 28/01/18]. Disponible à l'adresse : <http://www.msdivetmanual.com/digestive-system/giardiasis-giardia/overview-of-giardiasis>.

PETERMANN J., PARAUD C., PORS I., CHARTIER C. Efficacy of halouginonelactate against experimental cryptosporidiosis in goat neonates. Veterinary Parasitology. Mai 2014. Vol. 202, pp. 326-329.

PITEL, P.H., LEGOUPIL, V., GRAFTIAUX, F., GARGALA, G., BALLEST, J.J., FAVENNEC, L. Diarrhées parasitaires des bovins - Giardiose : une cause émergente d'entérite néonatale en France. Le Point Vétérinaire. Août-Septembre 2003. N°238, pp. 12-13.

PONCELET J.L. Les coccidioses ovines. In: Fiches ovines de la SNGTV [En ligne]. 2008. [Consulté le 17/01/18]. Disponible à l'adresse : <http://ovine.sngtv.pagesperso-orange.fr/coccidiose.pdf>.

POUT D.D. Coccidiosis of lambs. I. Observations on the naturally acquired infection. British Veterinary Journal. 1973. Vol. 129, n°6, pp. 555-567.

QUILEZ J., TORRES E., CHALMERS R.M., HADFIELD S.J., DEL CACHO E., SANCHEZ-ACEDO C. *Cryptosporidium* genotypes and subtypes in lambs and goat kids in Spain. Applied and Environmental Microbiology. Octobre 2008. Vol. 74, n°19, pp. 6026-6031.

RAYNAUD J.P. Etude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le contrôle des infestations parasitaires des bovins, ovins, équins et porcins. Annales de Parasitologie. 1970. Vol. 45, n°3, pp. 321-342.

RAZAKANDRAINIBE R., DIAWARA E.H.I., COSTA D., LE GOLF L., LEMETEIL D., BALLEST J.J., GARGALA G., FAVENNEC L. Common occurrence of *Cryptosporidium hominis* in asymptomatic and symptomatic calves in France. PLOS Neglected Tropical Disease. Mars 2018.

RAZAKANDRAINIBE R., LE GOFF L., GARGALA G., FAVENNEC L. Giardiose et cryptosporidiose : deux parasites à transmission hydrique. Revue Francophone des Laboratoires. Février 2014. N°459, pp. 51-56.

ROBERTSON L.J. *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in sheep and goats: a review of the potential for transmission to humans via environmental contamination. Epidemiology and Infection. 2009. Vol. 137, pp. 913-921.

REEG K.J., GAULY M., BAUER C., MERTENS C., ERHARDT G., ZAHNER H. Coccidial infections in housed lambs: oocyst excretion, antibody levels and genetic influences on the infection. 2005. Veterinary Parasitology. Vol. 127, pp. 209-219.

RYAN U.M., BATH C., ROBERTSON C., READ C., ELLIOT A., McINNES L., TRAUB R., BE-SIER B. Sheep may not be an important zoonotic reservoir for *Cryptosporidium* and *Giardia* parasites. Applied and Environmental Microbiology. 2005. Vol. 71, pp. 4992-4997.

Protozoaires entériques dans l'eau potable : *Giardia* et *Cryptosporidium*. In : Santé Canada Ottawa [En ligne]. Janvier 2012. [Consulté le 05/02/18]. Disponible à l'adresse : <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/sante-environnement-milieu-travail/rapports-publications/qualite-eau/protozoaires-enteriques-giardia-cryptosporidium.html>

SARATSI A., JOACHIM A., ALEXANDROS S., SOTIRAKI S. Lamb coccidiosis dynamics in different dairy production systems. Veterinary Parasitology. 2011. Vol. 181, pp. 131-138.

Sélection des races ovines laitières. In : France Génétique Elevage [En ligne]. [Consulté le 19 09 2017]. Novembre 2011. Disponible à l'adresse : <http://fr.france-genetique-elevage.org/Selection-des-races-ovines.html/>

SPRONG H., CACCIO S., GIESSEN G. Identification of Zoonotic Genotypes of *Giardia duodenalis*. PLOS Neglected Tropical Diseases. 2009. Vol. 1, n°3, pp. 1-12.

Technique de flottation. In : Coproscopie parasitaire [En ligne]. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon. [Consulté le 30 11 2017]. Disponible à l'adresse : <http://www2.vetagro-sup.fr/etu/copro/sommaire/techniques/analyse/flottaison.htm>

THOMSON R.C.A, OLSON M.E., ZHU G., ENOMOTO S. ABRAHAMSEN M.S., HIJAWI N.S. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. In : Advances in Parasitology. Academic Press. Septembre 2005. Vol. 59, pp 78-139. ISBN : 978-0-12-031759-2.

TRAORE I., PFEIFFER H., PREVOT F., GRISEZ C., BERGEAUD J.P., RUPP R., AUREL M.R., FOUCRAS G., JACQUIET P. Effect of genetic selection for mastitis resistance in the Lacaune breed of sheep on the response to *Haemonchus contortus* infection. Proceedings of the Xth European Multicolloquium of Parasitology. 2008. Pp. 88.

TZANIDAKIS N., SOTIRAKI S., CLAEREBOUT E., EHSAN A., VOUTZOURAKIS N., KOSTOPOULOU D., STIJN C., VRECRUYSSSE J, GEURDEN T. Occurrence and molecule characterization of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. In sheep and goats reared under dairy husbandry systems in Greece. Parasite. 2014. Vol. 21, n°45.

VANDIEST P. La coccidiose, filière ovine et caprine. 2009. N° 27, pp. 6-7.

VIU M., QUILEZ J., SANCHEZ-ACEDO C., DEL CACHO A., LOPEZ-BERNAD F. Field trial on the therapeutic efficacy of paromomycin on natural *Cryptosporidium parvum* infection in lambs. Veterinary Parasitology. Mars 2000. Vol. 90, n°3, pp. 163-170.

WILSON J.M, HANKENSON C. Evaluation of an Inhouse Rapid ELISA Test for Detection of *Giardia* in Domestic Sheep (*Ovis aries*). Journal of the American Association for Laboratory Animal Science. Novembre 2010. Vol. 49, n°6, pp. 809-813.

WYATT C.R, RIGGS M.W, FAYER R. Cryptosporidiosis in Neonatal Calves. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. Mars 2010. Vol. 26, pp. 89-103.

XIAO, L., HERD, R. P., MCCLURE, K. E. Periparturient rise in the excretion of *Giardia* sp cysts and *Cryptosporidium parvum* oocysts as a source of infection for lambs. Journal of Parasitology. Février 1994. Vol. 80, n°1, pp. 55-59.

XIAO L., ZHOU L., SANTIN M., YANG W., FAYER R., Distribution of *Cryptosporidium parvum* subtypes in calves in eastern United States. 2007. Parasitology Research. Vol. 100, pp. 701-706.

YE J., XIAO L., WANG Y., WANG L., AMER S., ROELLING D.M., GUO Y., FENG Y. Periparturient transmission of *Cryptosporidium xiaoi* from ewes to lambs. Veterinary Parasitology. 2013. Vol. 197, pp. 627-633.

RESUME

L'émergence mondiale de résistances aux traitements anthelminthiques en élevage ovin a motivé la sélection génétique d'animaux résistants aux strongles gastro-intestinaux, mais on peut se demander si cette sélection fragilise ces animaux envers les autres pathogènes digestifs. Ainsi, des agnelles issues de béliers résistants et des agnelles issues de béliers sensibles ont été prélevées à quatre reprises au cours de l'hiver 2017-2018 dans cinq élevages de race Manech Tête Rousse, et des coprologies individuelles ont été réalisées sur les matières fécales afin d'investiguer la présence de *Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp. et *Giardia duodenalis*. Lors de la première visite, les mères des agnelles ont aussi été prélevées et des PCR ont été réalisées pour objectiver un rôle éventuel des brebis dans la contamination de leurs filles avec *Cryptosporidium* spp. Les principaux résultats de cette étude montrent une faible influence du statut résistant ou sensible du père sur la réponse de leurs filles envers les cryptosporidies et les coccidies. En effet, des différences non significatives entre les agnelles issues de pères résistants et les agnelles issues de pères sensibles ont été montrées concernant la fréquence des PCR positives à *Cryptosporidium* spp. et l'intensité d'excrétion d'ocystes de coccidies. Une différence significative a cependant été mise en évidence concernant l'excrétion d'espèces pathogènes de coccidies entre les agnelles filles de béliers résistants et les agnelles filles de béliers sensibles, suggérant que la sélection d'animaux résistants aux strongles favorise l'émergence des espèces pathogènes de coccidies. Ainsi, bien que ces résultats soient encourageants, il est nécessaire d'explorer ce dernier point par de nouvelles études complémentaires.

ABSTRACT

The worldwide emergences of anthelmintic resistance in sheep breeding have sparked genetic selection for resistance to gastrointestinal nematode, but we may wonder if this selection weaken the animals towards other digestive pathogens. Thus, lambs born to resistant rams and lambs born to susceptible rams were followed four times during winter 2017-2018 in five dairy farms of Manic Tête Rousse breed, and individual fecal flotation were performed on faecal samples to explore the presence of *Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp. and *Giardia duodenalis*. During the first visit, ewes feces were also collected and PCR were performed to assess a potential lamb contamination with *Cryptosporidium* spp. by their mothers. The main results of this study show a low influence of the resistant or susceptible status of rams on the lambs response towards *Cryptosporidium* spp. and *Eimeria* spp. Indeed, we didn't find a significant difference between lambs born to resistant rams and lambs born to susceptible rams regarding the frequency of positive PCR to *Cryptosporidium* spp, and concerning intensity of *Eimeria* oocyst excretion. However, a significant difference was found about excretion of the pathogenic species of *Eimeria* spp. between lambs born to resistant sires and lambs born to susceptible sires, suggesting that the genetic selection for resistance to gastrointestinal nematode favour the emergence of pathogenic species. Thus, although these findings are encouraging, there is a particular need to explore this last point with complementary studies.

