

Année 2019

**LES COCCIDIOSES DES LAMAS (*LAMA
GLAMA*) ET ALPAGAS (*VICUGNA PACOS*)
ELEVES EN FRANCE : ENQUETE
EPIDEMIOLOGIQUE ANALYTIQUE DES
INFESTATIONS PAR *EIMERIA SPP***

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le...19.juin.2019

par

Chloé, Lou DEFIVES

Née le 15 février 1995 à Bois-Guillaume (Seine-Maritime)

JURY

Président : Pr. HAMONET

Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres

Directeur : Dr. RISCO-CASTILLO Véronica

Maître de conférence de l'unité de parasitologie, maladies parasitaires, dermatologie à
L'ENVA

Assesseur : Pr. Yves MILLEMAN

Professeur de l'unité pédagogique de pathologie des animaux de production

Liste des membres du corps enseignant



Directeur : Pr Christophe Degueurce
Directeur des formations : Pr Henry Chateau
Directrice de la scolarité et de la vie étudiante : Dr Catherine Colmin
Directeurs honoraires : MM. les Professeurs C. Pilet, B. Toma, A.-L. Parodi, R. Moraillon, J.-P. Cotard, J.-P. Mialot & M. Gogny

Département d'Elevage et de Pathologie des Équidés et des Carnivores (DEPEC)

Chef du département : Pr Grandjean Dominique - **Adjoint** : Pr Blot Stéphane

<p>Unité pédagogique d'anesthésie, réanimation, urgences, soins intensifs</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Fernandez Parra Rocio, Maître de conférences associée - Dr Verwaerde Patrick, Maître de conférences (convention EnvT) <p>Unité pédagogique de clinique équine</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Audigié Fabrice - Dr Bertoni Lélia, Maître de conférences - Dr Bourzac Céline, Chargée d'enseignement contractuelle - Dr Coudry Virginie, Praticien hospitalier - Pr Denoix Jean-Marie - Dr Giraudet Aude, Praticien hospitalier - Dr Herout Valentin, Chargé d'enseignement contractuel - Dr Jacquet Sandrine, Praticien hospitalier - Dr Mespoulhès-Rivière Céline, Praticien hospitalier* - Dr Moiroud Claire, Praticien hospitalier <p>Unité pédagogique de médecine et imagerie médicale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Bencheikroun Ghita, Maître de conférences - Pr Blot Stéphane* - Dr Canonne-Guibert Morgane, Chargée d'enseignement contractuelle - Dr Freiche-Legros Valérie, Praticien hospitalier - Dr Maurey-Guéneq Christelle, Maître de conférences 	<p>Unité pédagogique de médecine de l'élevage et du sport</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Cléro Delphine, Maître de conférences - Dr Fontbonne Alain, Maître de conférences - Pr Grandjean Dominique* - Dr Maenhoudt Cindy, Praticien hospitalier - Dr Nudelmann Nicolas, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pathologie chirurgicale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Fayolle Pascal - Dr Manassero Mathieu, Maître de conférences - Pr Viateau-Duval Véronique* <p>Discipline : cardiologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Chetboul Valérie <p>Discipline : ophtalmologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Chahory Sabine, Maître de conférences <p>Discipline : nouveaux animaux de compagnie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Pignon Charly, Praticien hospitalier
--	--

Département des Productions Animales et de Santé Publique (DPASP)

Chef du département : Pr Millemann Yves - **Adjoint** : Pr Dufour Barbara

<p>Unité pédagogique d'hygiène, qualité et sécurité des aliments</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Augustin Jean-Christophe* - Dr Bolnot François, Maître de conférences - Pr Cartier Vincent <p>Unité pédagogique de maladies réglementées, zoonoses et épidémiologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Crozet Guillaume, Chargé d'enseignement contractuel - Pr Dufour Barbara* - Pr Haddad/Hoang-Xuan Nadia - Dr Rivière Julie, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pathologie des animaux de production</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Adjou Karim - Dr Belbis Guillaume, Maître de conférences* - Dr Delsart Maxime, Maître de conférences associé - Dr Denis Marine, Chargée d'enseignement contractuelle - Pr Millemann Yves - Dr Plassard Vincent, Praticien hospitalier - Dr Ravary-Plumioën Bérangère, Maître de conférences 	<p>Unité pédagogique de reproduction animale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Constant Fabienne, Maître de conférences* - Dr Desbois Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Dr Mauffré Vincent, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de zootechnie, économie rurale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Arné Pascal, Maître de conférences - Pr Bossé Philippe* - Dr De Paula Reis Alline, Maître de conférences - Pr Grimard-Ballif Bénédicte - Dr Leroy-Barassin Isabelle, Maître de conférences - Pr Ponter Andrew - Dr Wolgust Valérie, Praticien hospitalier
--	---

Département des Sciences Biologiques et Pharmaceutiques (DSBP)

Chef du département : Pr Desquilbet Loïc - **Adjoint** : Pr Pilot-Storck Fanny

<p>Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Boissady Emilie, Chargée d'enseignement contractuelle - Pr Chateau Henry - Pr Crevier-Denoix Nathalie - Pr Robert Céline* <p>Unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Boulouis Henri-Jean - Pr Eloit Marc - Dr Lagree Anne-Claire, Maître de conférences - Pr Le Poder Sophie - Dr Le Roux Delphine, Maître de conférences * <p>Unité pédagogique de biochimie, biologie clinique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Bellier Sylvain* - Dr Lagrange Isabelle, Praticien hospitalier - Dr Michaux Jean-Michel, Maître de conférences <p>Unité pédagogique d'histologie, anatomie pathologique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Cordonnier-Lefort Nathalie, Maître de conférences - Pr Fontaine Jean-Jacques - Dr Laloy Eve, Maître de conférences - Dr Reyes-Gomez Edouard, Maître de conférences* <p>Unité pédagogique de management, communication, outils scientifiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme Conan Muriel, Professeur certifié (Anglais) - Pr Desquilbet Loïc, (Biostatistique, Epidémiologie) - Dr Marignac Geneviève, Maître de conférences 	<p>Unité de parasitologie, maladies parasitaires, dermatologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Blaga Radu, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Dr Briand Amaury, Assistant d'Enseignement et de Recherche Contractuel (rattaché au DEPEC) - Dr Cochet-Faivre Noëlle, Praticien hospitalier (rattaché au DEPEC) - Pr Guillot Jacques* - Dr Polack Bruno, Maître de conférences - Dr Risco-Castillo Verónica, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pharmacie et toxicologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Kohlhauser Matthias, Maître de conférences - Dr Perrot Sébastien, Maître de conférences* - Pr Tissier Renaud <p>Unité pédagogique de physiologie, éthologie, génétique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Chevallier Lucie, Maître de conférences (Génétique) - Dr Crépeaux Guillemette, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Gilbert Caroline (Ethologie) - Pr Pilot-Storck Fanny (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Tiret Laurent (Physiologie, Pharmacologie)* <p>Discipline : éducation physique et sportive</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. Philips Pascal, Professeur certifié
---	---

* responsable d'unité pédagogique

Professeurs émérites :

Mmes et MM. : Bénéat Jean-Jacques, Chermette René, Combrisson Hélène, Enriquez Brigitte, Niebauer Gert, Panthier Jean-Jacques, Paragon Bernard.

REMERCIEMENTS

Au Professeur à la faculté de médecine de Créteil,

Pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de thèse.

Hommage respectueux.

Au Docteur RISCO-CASTILLO,

Pour avoir accueilli mon projet avec enthousiasme et pour m'avoir guidée tout au long de l'élaboration de ce travail.

Sincères remerciements.

Au Professeur Yves MILLEMAN,

Pour votre patience, votre relecture attentive, votre disponibilité et votre gentillesse au cours de l'élaboration de ce travail.

Sincères remerciements.

À Mme Guechi,

Pour ses précieuses explications concernant la réalisation des analyses coproscopiques,

Sincères remerciements.

Aux membres de l'AFLA ayant participé,

Pour avoir accepté de prendre part à cette étude et pour le temps qu'ils y ont consacré.

Sincères remerciements.

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES ILLUSTRATIONS	3
LISTE DES TABLEAUX	4
LISTE DES ANNEXES	4
LISTE DES ABRÉVIATIONS	5
INTRODUCTION	7
PREMIÈRE PARTIE :	9
État actuel des connaissances sur les coccidioses des lamas (<i>Lama glama</i>) et alpagas (<i>Vicugna pacos</i>).....	9
1. Définition.....	11
1.1 Histoire et éléments de classification	11
1.2 Les espèces d' <i>Eimeria</i> parasites des petits camélidés	13
1.3 Cycle évolutif	15
1.4 Immunité chez l'hôte	19
2. Épidémiologie des coccidioses.....	24
2.1 Distribution géographique.....	24
2.2 Sources de parasites et causes favorisantes.....	26
3. Étude clinique	28
3.1 Pathogénie.....	28
3.2 Signes cliniques.....	29
3.3 Lésions	30
3.4 Pronostic.....	31
4. Diagnostic des coccidioses.....	32
4.1 Clinique et épidémiologique.....	32
4.2 Techniques de laboratoire.....	33
4.3 Diagnostic différentiel	35
5. Moyens de lutte	38
5.1 Traitement	38
5.2 Prophylaxie	43
CONCLUSION DE LA PREMIÈRE PARTIE	45
DEUXIÈME PARTIE : Étude épidémiologique analytique expérimentale des coccidioses des lamas (<i>Lama glama</i>) et alpagas (<i>Vicugna pacos</i>) en France métropolitaine.	46
1 Introduction.....	47
2 Matériel et méthode	47
2.1 Calcul de la taille d'échantillonnage	47
2.2 Élevages étudiés	48
2.3 Réalisation des prélèvements.....	51

2.4	Analyses coproscopiques.....	52
2.5	Analyse épidémiologique des résultats	56
3	Résultats	57
3.2	Étude épidémiologique descriptive des animaux étudiés	59
3.2	Étude épidémiologique analytique de l'excrétion des petites coccidies	60
3.3	Étude épidémiologique analytique de l'excrétion d' <i>Eimeria macusaniensis</i>	66
4	Discussion	67
4.1	Prise de contact avec les éleveurs, données et prélèvements	67
4.2	Informations recueillies sur les questionnaires	68
4.3	Méthode de MacMaster et manipulations.....	68
4.4	Résultats de l'étude analytique	69
4.5	Perspectives.....	71
CONCLUSION		73
BIBLIOGRAPHIE		74
ANNEXES.....		82

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Photographies d'un lama (A) et d'un alpaga avec son cria (B).....	7
Figure 2 : Taxonomie simplifiée et caractéristiques du genre <i>Eimeria</i>	12
Figure 3 : Cycle évolutif de <i>Eimeria spp.</i> d'après le Département d'Agriculture des États-Unis.....	15
Figure 4 : Schéma de la pénétration d'un sporozoïte d' <i>Eimeria</i> dans une cellule de l'épithélium intestinal.	16
Figure 5 : Macrogamète (flèche rouge) et microgamète (flèche bleue) de <i>Eimeria sp.</i> dans des cellules hôtes (grossissement x100).....	17
Figure 6 : Entérite nécrotique de la partie terminale de l'iléon d'un alpaga âgé de 16 mois, né en Grande-Bretagne	30
Figure 7 : Nombre de lamas et alpagas à inclure dans l'échantillon pour avoir 95 % de chances de détecter des oocystes d' <i>Eimeria</i>	48
Figure 8 : Répartition géographique des éleveurs de lamas et alpagas ayant participé à l'étude (A) comparée à celle de la totalité des éleveurs professionnels membres de l'AFLA (B).	49
Figure 9 : Photographie personnelle de prélèvements reçus au BioPôle d'Alfort.....	52
Figure 10 : Matériel utilisé pour réaliser la suspension de fèces exploitée dans les différentes analyses coproscopiques	53
Figure 11 : Lame de MacMaster identifiée laissée à reposer dix minutes avant la lecture sur un support stable horizontal.	54
Figure 12 : Montage expérimental utilisé pour l'analyse coproscopique qualitative par flottation totale.....	55
Figure 13 : Répartition des petits camélidés de l'échantillon selon leurs caractéristiques....	59
Figure 14 : répartition des petits camélidés de l'échantillon selon leur espèce.....	60
Figure 15 : Boîte à moustache représentant les médianes correspondantes aux séries de données des animaux respectivement âgés de moins de 12 mois strictement et âgé de 12 mois ou plus.	61
Figure 16 : Boîte à moustache représentant les médianes correspondantes aux séries de données respectives des lamas et alpagas	62
Figure 17 : Boîte à moustache représentant les médianes correspondantes aux séries de données des femelles respectivement gestantes et non gestantes.	63
Figure 18 : Boîte à moustache représentant les médianes correspondantes aux séries de données des animaux vivant respectivement dans des élevages où les animaux sont mélangés et dans des élevages où les animaux ne sont pas mélangés.	64
Figure 19 : Boîte à moustache représentant les médianes correspondantes aux séries de données des animaux vivement respectivement à l'extérieur et dans des étables.....	65
Figure 20 : Boîte à moustache représentant les médianes correspondantes aux séries de données d'excrétion d' <i>Eimeria macusaniensis</i> des animaux âgés respectivement de moins de 12 mois et de 12 mois et plus	66
Figure 21 : Schéma représentant la présence du biais de confusion « moins bonnes conditions générales d'élevage » dans notre étude.....	71

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Description de cinq espèces d' <i>Eimeria</i> pathogènes pour les petits camélidés ...	14
Tableau 2 : Durée de sporulation de quatre espèces d' <i>Eimeria</i>	18
Tableau 3 : Durée pré-patente de quatre espèces d' <i>Eimeria</i> des petits camélidés.....	19
Tableau 4 : Rôle des cytokines au cours d'une infestation coccidienne.....	22
Tableau 5 : Prévalence d' <i>Eimeria</i> chez les lamas.....	24
Tableau 6 : Prévalence d' <i>Eimeria</i> chez les alpagas.....	25
Tableau 7 : Molécules coccidiostatiques disponibles en France chez les animaux de production.....	39
Tableau 8 : Molécules coccidiocides disponibles en France chez les animaux de production.....	42
Tableau 9 : Traitements des coccidioses chez les lamas et alpagas proposés dans la littérature.....	42
Tableau 10 : Nombre de lamas et alpagas prélevés par élevage participant à l'étude.....	50
Tableau 11 : Principe actif utilisé comme antiparasitaire dans chaque élevage et dose utilisée.....	58

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : : Questionnaire de renseignements supplémentaires sur l'élevage et les animaux à remplir par les éleveurs.....	80
Annexe 2 : Lettre d'informations complémentaires envoyée aux éleveurs participant à l'étude.....	81

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
AFLA : Association Française des Lamas et Alpagas
CD : Cluster de Différenciation
 CD8+ : cellule présentant un cluster de différenciation 8 à sa surface
 CD4+ : cellule présentant un cluster de différenciation 4 à sa surface
CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène
CSF : *Colony Stimulating Factor* (facteur de croissance hématopoïétique)
d : densité
ELISA : *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (dosage d'immunoabsorption par enzyme liée)
ETEC : Escherichia coli EntéroToxinogène
IFN : Interféron
 IFN α : Interféron alpha
 IFN γ : Interféron gamma
Ig : Immunoglobuline
IL : Interleukine
IM : Intramusculaire
IV : Intraveineux
LT : Lymphocyte T
NK : *Natural Killer* (lymphocyte tueur naturel)
opg : oocystes par gramme de fèces
PCR : *Polymerase Chain Reaction* (Réaction en Chaîne par Polymérase)
PO : Per Os
TCR $\alpha\beta$: Récepteur des cellules T alpha bêta
TGF β : *Tumor Growth Factor* (Facteur de Croissance Tumorale Bêta)
TLAI : Tissu Lymphoïde Associé à l'Intestin
TNF : *Tumor Necrosis Factor* (Facteur de Nécrose Tumorale)
USDA : *United States Department of Agriculture* (Département d'Agriculture des Etats Unis)
SC : Sous-cutané

INTRODUCTION

Les petits camélidés sont des animaux originaires d'Amérique du Sud appartenant à la classe des artiodactyles tylopodes et à la famille des *Camelidae* (Marín *et al.*, 2007). Parmi les 4 espèces connues, le lama (*Lama glama*) et l'alpaga (*Vicugna pacos*) sont 2 espèces domestiquées utilisées traditionnellement pour leur viande, leur laine et comme animaux de bât dans les pays des Andes (Equateur, Pérou, Bolivie, Chili, Argentine) et demeurent des animaux sacrés dans la culture millénaire des peuples andins (Dufour *et al.*, 2014) (Figure 1).

Figure 1 : Photographies d'un lama (A) et d'un alpaga avec son cria (B)

D'après le site de l'élevage des Lamas du Tilloux (« Les lamas et les alpagas - Les Lamas du Tilloux », 2018).



Les alpagas adultes mesurent entre 76 cm et 97 cm au garrot et pèsent entre 60 kg et 80 kg. Les lamas sont nettement plus imposants, pesant entre 120 kg et 200 kg et mesurant entre 102 cm et 127 cm au garrot. Les mâles et les femelles ont approximativement le même poids à l'âge adulte. Les petits des lamas et des alpagas sont appelés crias. Les crias d'alpagas pèsent en moyenne 7 kg à la naissance et les crias de lamas peuvent peser entre 9 kg et 14 kg à la naissance. Les lamas vivent entre 15 et 25 ans en moyenne et les alpagas vivent en moyenne 30 ans (Johnson, 2016).

Ces animaux ont des nombreuses particularités anatomiques, tels que leur démarche qui s'appuie sur la surface plantaire des deux dernières phalanges, ou leur lèvre supérieure fendue. Une autre particularité est leur appareil digestif, car bien qu'ils soient des herbivores brouteurs polygastriques, ils ne possèdent pas les 4 estomacs décrits chez les ruminants, mais seulement 3 compartiments (« Overview of Llamas and Alpacas - Exotic and Laboratory Animals », 2018).

L'intérêt international et l'exportation massive des lamas et alpagas débute dans les années 1980 lors de la découverte, entre autres, du tempérament docile des lamas, de la haute qualité de la fibre d'alpaga et de leur moindre coût d'entretien. Ainsi, à la fin du siècle dernier,

ils ont commencé à être élevés avec succès en Amérique du Nord, en Australie, en Nouvelle-Zélande, en Afrique du Sud, en Chine et dans toute l'Europe. En France, le cheptel national qui compte entre 8000 et 10000 animaux (« Recensement des camélidés en France - Sénat », 2013) augmente de 15% chaque année, et les éleveurs visent une production d'animaux de qualité, tant au niveau de la fibre de leur laine qu'au niveau de leur comportement (Kiesling, 2017)

Cependant, malgré les soins prodigués par les éleveurs, les maladies d'origine parasitaire restent une problématique fréquente dans les élevages de lamas et alpagas. Les parasitoses digestives, en particulier, sont capables de provoquer des pertes économiques directes et indirectes considérables (Ballweber, 2009a ; Fowler, 2010 ; Cebra *et al.*, 2014). Les parasites gastro-intestinaux identifiés chez les lamas et alpagas incluent des nématodes, des trématodes, des cestodes et des protozoaires. Quelques espèces ne sont pas spécifiques des lamas et alpagas et peuvent être transmises entre les petits camélidés et les ruminants. Toutefois, les coccidies sont des protozoaires parasites spécifiques de leur hôte et leur détection témoigne de l'arrivée en Europe de petits camélidés infestés au préalable, avec l'adaptation des coccidies au climat européen et leur entretien dans les élevages (Fayer, 1980).

La coccidiose est une maladie parasitaire à transmission orale-fécale, provoquée lors de la colonisation des cellules épithéliales du tractus digestif des petits camélidés par des protozoaires du genre *Eimeria*. Les signes cliniques varient en fonction de la charge parasitaire et de l'espèce infestante, mais diarrhée, léthargie et perte de poids sont les signes cliniques les plus souvent rapportés chez les jeunes animaux (Lindsay et Todd, 2012). Il existe de nombreuses références bibliographiques provenant d'Amérique du Sud qui décrivent très précisément cette problématique car elle est responsable d'un taux élevé de mortalité (Cebra *et al.*, 2007). Toutefois, l'information disponible sur les coccidioses des petits camélidés en Europe en général, et en France en particulier, reste sommaire et une actualisation des données disponibles est nécessaire.

Dans ce sens, l'objectif de cette thèse est de déterminer la présence et l'importance de la détection des coccidies chez les lamas et alpagas élevés en France. Pour cela, cette thèse se développe en deux parties : la première partie résume l'état actuel des connaissances sur les coccidies et les coccidioses des lamas et alpagas. Ensuite, la deuxième partie abordera la démarche expérimentale utilisée pour la détection et la quantification des coccidies sur des prélèvements obtenus au cours du printemps 2017, ainsi que les résultats conduisant aux conclusions de notre étude.

PREMIÈRE PARTIE :

**État actuel des connaissances sur les coccidioses des lamas
(*Lama glama*) et alpagas (*Vicugna pacos*).**

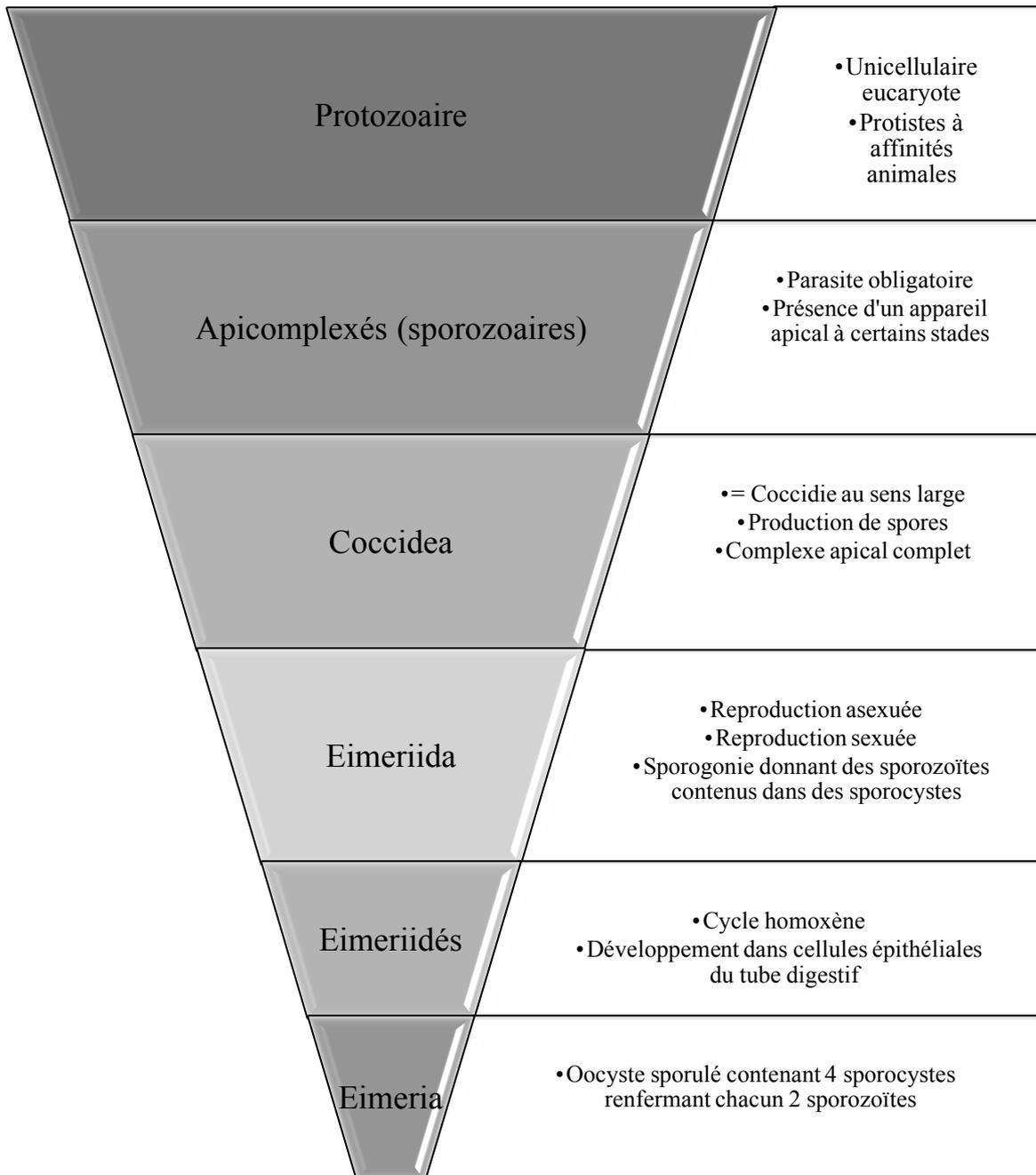
1. Définition

1.1 Histoire et éléments de classification

Les coccidies font partie des parasites les plus importants en santé animale, ils furent les premiers protozoaires décrits comme responsables des troubles digestifs par Hake en 1839. En 1870, Eimer décrit pour la première fois la partie asexuée de leur cycle évolutif (Hake, 1839 ; Eimer, 1870). Toutefois, ce sont sans doute F. Schaudinn et M. Siedlecki au début du XXème siècle qui proposent le cycle évolutif complet des coccidies (Pellérdy, 1965). Les coccidioses dues aux espèces d'*Eimeria* sont des maladies qui provoquent d'importantes pertes économiques chez la volaille, le bétail et d'autres herbivores comme le lapin, et il est presque impossible d'élever ces animaux sans des coccidies.

Au début du siècle dernier, la classification des coccidies dépendait presque exclusivement de leur morphologie et très peu de leur caractéristiques phylogénétiques (Pellérdy, 1965). C'est avec les études d'Adl et son équipe (Adl *et al.*, 2007 ; Adl *et al.*, 2012) qu'une nouvelle classification des coccidies est proposée et fondée sur des relations phylogénétiques robustes, qui montrent que les coccidies du genre *Eimeria* sont des protozoaires qui appartiennent au groupe monophyletique des *Alveolata*, à l'embranchement des *Apicomplexa*, à la classe des *Coccidia*. Elles font partie de la famille des Eimeriidés et du genre *Eimeria* (Figure 2).

Figure 2 : Taxonomie simplifiée et caractéristiques du genre *Eimeria*
 (Bussiéras et Chermette, 1992a ; Ballweber, 2009a)



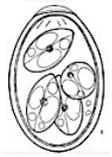
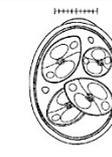
Comme tous les parasites *Apicomplexa*, les coccidies possèdent dans leur stade sporozoaire une extrémité antérieure présentant une ultrastructure très particulière : le complexe apical, qui est constitué des organelles spécialisées qui interviennent dans la pénétration du parasite dans la cellule hôte. Ainsi, les coccidies du genre *Eimeria* ciblent les cellules épithéliales de l'hôte après ingestion d'oocystes sporulés contenant quatre sporocystes qui libéreront chacun deux sporozoïtes (Dubey, 2018a). Les parasites du genre *Eimeria* sont hôte-spécifiques et utilisent un seul hôte pour compléter leur cycle évolutif.

1.2 Les espèces d'*Eimeria* parasites des petits camélidés

Six espèces de coccidies sont retrouvées dans les cas de coccidioses chez les lamas et alpagas : *Eimeria punoensis*, *Eimeria lamae*, *Eimeria alpaca*, *Eimeria macusaniensis*, *Eimeria ivitaensis* et *Eimeria peruviana* (Yakimoff, 1934 ; Guerrero, 1967 ; Guerrero *et al.*, 1971 ; Rickard et Bishop, 1988 ; Schrey *et al.*, 1991a ; Leguía et Casas, 1998 ; Jarvinen, 1999). La première *Eimeria* décrite chez les petits camélidés est *Eimeria peruviana* chez un lama (Yakimoff, 1934 ; Pellérdy, 1965). Chez les alpagas, on retrouve le plus souvent *Eimeria macusaniensis*, *Eimeria lamae*, *Eimeria alpaca* et *Eimeria punoensis* alors que chez les lamas, on retrouve plutôt *Eimeria macusaniensis* et *Eimeria alpaca* (Dubey, 2018b).

Elles sont regroupées classiquement en deux catégories selon la taille de leur oocyste : d'une part, les petites coccidies se réfèrent à *Eimeria punoensis*, *Eimeria lamae*, *Eimeria alpaca*, et *Eimeria peruviana*, d'autre part les grandes coccidies correspondent à *Eimeria macusaniensis* et *Eimeria ivitaensis*. Les oocystes d'*Eimeria macusaniensis* se démarquent par leur très grande taille par rapport à ceux des autres espèces (Tableau 1). Les espèces *Eimeria peruviana* et *Eimeria ivitaensis* sont très peu citées dans la littérature et leur description ne sera pas développée par la suite.

Tableau 1 : Description de cinq espèces d'*Eimeria* pathogènes pour les petits camélidés (Guerrero, 1967 ; Guerrero *et al.*, 1971 ; Rohbeck, S, 2006 ; Ballweber, 2009b ; Twomey *et al.*, 2010)

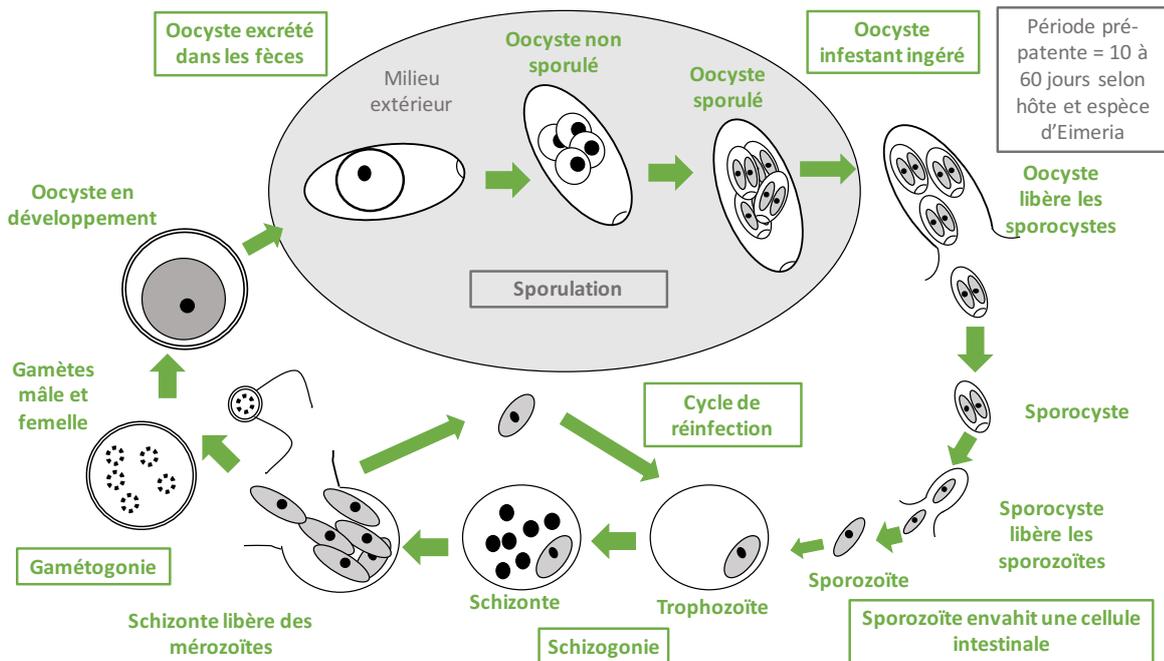
ESPECE	LARGEUR (µm)	HAUTEUR (µm)	REPRESENTATION DE L'OOCYSTE SPORULE	PHOTOGRAPHIE DE L'OOCYSTE NON SPORULE
<i>Eimeria lamae</i>	24,5 ± 4,1	35,6 ± 6,2	 <p>Barre : 10 µm</p>	
<i>Eimeria punoensis</i>	16,4 ± 1	19,9 ± 1,2	 <p>Barre : 10 µm</p>	
<i>Eimeria alpaca</i>	19,6 ± 0,7	24,1 ± 1,2	 <p>Barre : 10µm</p>	
<i>Eimeria ivitaensis</i>	47,9 ± 5,6	84,1 ± 7,9	 <p>Barre : 50 µm</p>	
<i>Eimeria macusaniensis</i>	67,4 ± 3,9	93,6 ± 5,0	 <p>Barre : 50 µm</p>	

1.3 Cycle évolutif

Le développement des coccidies du genre *Eimeria* est une répétition alternée des générations sexuées et asexuées dans un hôte (phase endogène) ou l'environnement (phase exogène), c'est à dire selon un cycle monoxène, et les nombreuses espèces d'*Eimeria* sont spécifiques d'hôte. Chez les petits camélidés, les lamas et les alpagas peuvent être les hôtes définitifs des mêmes espèces de coccidies car ce sont deux espèces très proches au niveau phylogénétique (McKenna, 2006 ; Jarvinen, 2008). Dans ce sens, les espèces d'*Eimeria* des lamas et alpagas se développent en utilisant le même schéma que tous les autres *Eimeria* pour accomplir leur cycle évolutif.

Comme le montre la figure 3, le cycle commence avec l'ingestion d'oocystes infestants qui libéreront des sporocystes contenant des sporozoïtes qui vont envahir les cellules intestinales, migrer vers leur site de développement où ils vont devenir des trophozoïtes. Ces trophozoïtes vont ensuite se transformer en schizontes au cours de la schizogonie. Ces schizontes vont libérer des mérozoïtes qui vont se différencier en gamètes mâles et femelles au cours de la gamétogonie. La fusion entre ces deux gamètes va former un oocyste qui sera excrété dans les fèces.

Figure 3 : Cycle évolutif de *Eimeria* spp. d'après le Département d'Agriculture des États-Unis
(« USDA », 2018)



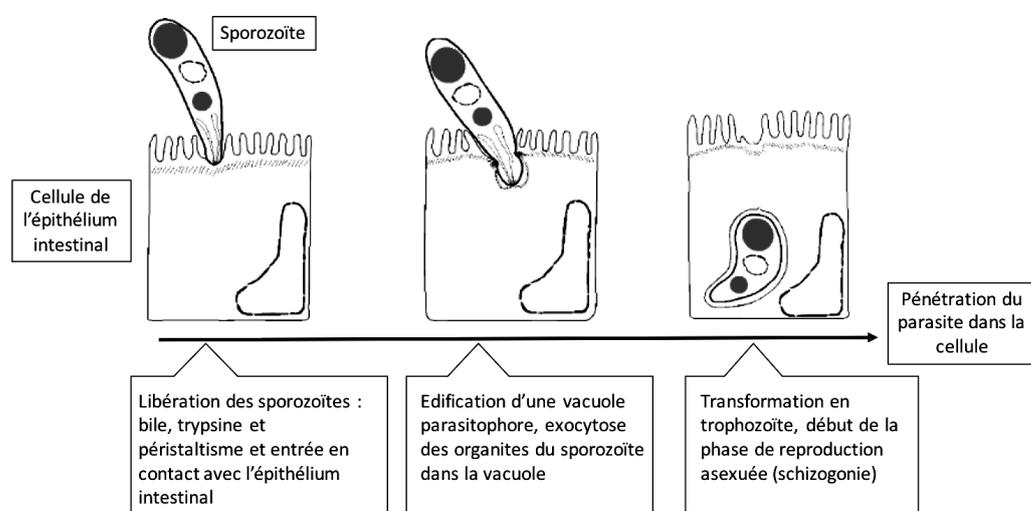
1.3.1 La contamination et la schizogonie

Les animaux se contaminent par voie fécale-orale en ingérant des oocystes sporulés disséminés dans l'environnement. L'oocyste est capable de persister plusieurs mois dans l'environnement (Dauguschies et Najdrowski, 2005). L'oocyste sporulé ingéré libère quatre sporocystes dans la lumière intestinale sous la stimulation du dioxyde de carbone en milieu anaérobie et de la température (Nyberg *et al.*, 1968). Chaque sporocyste libère deux sporozoïtes au niveau de l'intestin grêle sous l'action de la bile et de la trypsine principalement, contenues dans le jus intestinal et sous l'action du péristaltisme (Jackson, 1962 ; Doran et Farr, 1962).

Ces sporozoïtes pénètrent ensuite dans les cellules épithéliales de la muqueuse intestinale sans interruption du plasmalemme. Pour cela, ils utilisent leur source d'énergie qui se trouve sous forme de granules d'amylopectine dans leur cytoplasme (Vetterling et Doran, 1969). Le sporozoïte édifie une vacuole parasitophore dans laquelle se produit l'exocytose des organites du sporozoïte et l'intégration de leur contenu dans la vacuole ou la membrane vacuolaire (Dubremetz, 1990).

Après l'invasion de la cellule hôte, le parasite contenu à l'intérieur de la vacuole parasitophore s'arrondit et se transforme en trophozoïte. Cette forme parasitaire subit de nombreuses divisions nucléaires lors de la reproduction asexuée dénommée schizogonie ce qui donne un schizonte multi-nucléé mesurant entre 10 μm et 100 μm . Avec la maturation des schizontes, les mérozoïtes sont formés et sont ensuite libérés dans la lumière intestinale quand les schizontes éclatent la cellule intestinale hôte. Les mérozoïtes vont alors infecter de nouvelles cellules et former eux-mêmes des schizontes. C'est ce qui est dénommé cycle de réinfection dans la figure 3 (C.H. Gardiner *et al.*, 1988). La pénétration dans la cellule est schématisée en figure 4.

Figure 4 : Schéma de la pénétration d'un sporozoïte d'Eimeria dans une cellule de l'épithélium intestinal.



La schizogonie peut se répéter plusieurs fois chez l'hôte avant le passage à la reproduction sexuée du parasite. Ceci est le cas d'*Eimeria tenella* responsable de la coccidiose aviaire, qui est capable d'engager jusqu'à trois schizogonies consécutives. Le passage obligatoire par un certain nombre de schizogonies aurait un rôle dans la régulation de l'apoptose des cellules infectées. Cependant, cette information est encore inconnue chez les *Eimeria* des petits camélidés.

Chez les petits camélidés, la schizogonie se déroule dans la portion distale du jéjunum pour *Eimeria lamae* (Dubremetz, 1990), tandis qu'elle se déroule au niveau du jéjunum, de l'iléon et du côlon ascendant pour *Eimeria macusaniensis* (Palacios *et al.*, 2006). Cette dernière espèce siège préférentiellement dans les cellules des cryptes intestinales, ce qui inhibe le renouvellement de l'épithélium et provoque des lésions plus graves que celles engendrées par les petites coccidies (Rosadio *et al.*, 2010).

1.3.2 La gamétogonie

Les mérozoïtes libérés lors de la dernière schizogonie peuvent initier une reproduction sexuée en formant des microgamontes et des macrogamontes dans le milieu extracellulaire. Dans le cytoplasme du macrogamonte apparaissent des granulations éosinophiles qui se rassemblent en surface pour former une coque (tout en ménageant un orifice, le micropyle) ce qui constitue le gamète femelle ou macrogamète de grande taille par rapport au gamète mâle, le microgamète (figure 5).

Figure 5 : Macrogamète (flèche rouge) et microgamète (flèche bleue) de *Eimeria sp.* dans des cellules hôtes (grossissement x100).
(« Dr. M. Belanich / Protozoa-and-Bacteria », 2019)



Dans le macrogamonte, de nombreuses divisions nucléaires ont lieu ; les noyaux ainsi formés font saillie à la surface de la cellule et donnent chacun un microgamète. Un des microgamètes pénètre dans un macrogamète (qui se trouve toujours dans une cellule intestinale) par le micropyle. La fécondation donne un zygote diploïde. La rétraction du zygote dans la coque redonne un oocyste typique qui s'élimine avec les fèces vers le milieu extérieur (Bussiéras et Chermette, 1992a).

1.3.3 La sporogonie

La sporulation ou sporogonie se réalise si les conditions sont favorables dans le milieu extérieur (Venkateswara Rao *et al.*, 2015) :

- milieu tempéré (température optimale : 29°C)
- humidité relative basse
- présence d'oxygène, ce qui explique que la sporulation n'ait pas lieu dans le tube digestif mais seulement dans le milieu extérieur et qu'elle ne se produise pas dans des milieux non aérés.

Dans des conditions favorables, à l'intérieur de l'oocyste, le sporonte se divise en 4 sporoblastes qui se transforment chacun en un sporocyste. Le sporocyste est un élément ovoïde avec un petit bouton à un sommet qui correspond au corps de Stieda. Dans le sporocyste, deux sporozoïtes sont présents : ils sont petits, en forme de banane, disposés tête-bêche, avec un complexe apical à l'extrémité antérieure, un noyau central et deux globules réfringents (Pittilo et Ball, 1985 ; Bussiéras et Chermette, 1992a).

L'oocyste ainsi transformé contient donc quatre sporocystes et huit sporozoïtes : il est dit sporulé et est donc infestant. C'est au cours de la sporogonie que s'est produite la méiose, l'oocyste non sporulé est diploïde (Schrey *et al.*, 1991b ; Bussiéras et Chermette, 1992a). Cet oocyste est excrété dans les fèces et ensuite, la sporulation a lieu dans le milieu extérieur. Les durées de sporulation, correspondant au passage de l'oocyste non sporulé excrété à l'oocyste sporulé infestant, pour quatre des cinq espèces pathogènes pour les petits camélidés sont décrites dans le tableau 2.

Tableau 2 : Durée de sporulation de quatre espèces d'*Eimeria* à 23°C dans une solution de dichromate de potassium à 2,5%
(Rickard et Bishop, 1988)

Espèce d' <i>Eimeria</i>	Durée de la sporulation
<i>Eimeria alpaca</i>	92 – 98 heures
<i>Eimeria punoensis</i>	92 – 98 heures
<i>Eimeria lamae</i>	118 heures
<i>Eimeria macusaniensis</i>	290 – 353 heures

Une fois sporulé, l'oocyste reste infestant pendant plusieurs semaines à plusieurs mois voire un an en fonction des conditions dans le milieu extérieur (Barrington *et al.*, 2002).

L'ingestion par voie orale de ces oocystes sporulés initie un nouveau cycle parasitaire au sein de l'hôte définitif (McKenna, 2006 ; Ballweber, 2009b).

Dans certaines conditions cependant, les oocystes d'*Eimeria* peuvent perdre leur viabilité (Marquardt *et al.*, 1960) :

- des radiations solaires pendant une durée de 4 heures ;
- un taux d'humidité relative réduit à moins de 25 %;
- une congélation à une température inférieure à -7°C.

D'autre part, au-delà de 35°C, la sporulation des oocystes non sporulés devient anormale et donc une exposition des oocystes à une température supérieure à 35°C pendant 12 à 24 heures empêche la formation d'oocystes infestants.

1.3.4 Périodes pré-patentes

La période pré-patente est l'intervalle entre l'infestation de l'hôte et la détection des formes parasitaires dans les fèces par des méthodes conventionnelles. La durée de la période pré-patente varie d'une espèce d'*Eimeria* à l'autre (Tableau 3).

Tableau 3 : Durée pré-patente de quatre espèces d'*Eimeria* des petits camélidés
(Cebra *et al.*, 2011)

Espèce d' <i>Eimeria</i>	Durée période pré-patente (jours)
<i>Eimeria lamae</i>	15-16
<i>Eimeria alpaca</i>	16-18
<i>Eimeria punoensis</i>	10
<i>Eimeria macusaniensis</i>	32-58

1.4 Immunité chez l'hôte

Aucune immunité stérilisante ou croisée *in vivo* entre les différentes espèces d'*Eimeria* étudiées dans cette thèse n'a été décrite dans la littérature à ce jour. Donc, l'hôte peut être infesté par différentes espèces d'*Eimeria* successivement et développer des signes cliniques à chaque fois. En effet, beaucoup d'études décrivent des infestations multiples au cours de la vie de l'animal mais aussi des co-infestations par plusieurs espèces d'*Eimeria* en même temps.

Des expositions antérieures aux coccidies permettent l'installation d'une mémoire immunitaire qui se met en place chez l'adulte alors plus résistants aux coccidioses (Whitehead

et Anderson, 2006). Les adultes sont donc capables d'excréter des oocystes d'*Eimeria* dans leurs fèces sans exprimer de signes cliniques (Lopes *et al.*, 2013).

Les données disponibles sur la réponse immunitaire chez l'hôte contre les *Eimeria* qui seront développées dans la suite de ce paragraphe reposent sur l'information recueillie à partir de la littérature disponible sur les coccidioses aviaires et des modèles expérimentaux chez la souris, avec peu d'information disponible chez les ruminants et quasiment inexistante chez les petits camélidés. Ces expérimentations et leurs conclusions qui sont rapportées dans cette thèse proviennent de plusieurs revues dédiées à l'étude de l'immunologie de ces animaux (Lillehoj et Trout, 1996 ; Yun *et al.*, 2000 ; Ahmad *et al.*, 2016).

1.4.1 La réponse immune à médiation cellulaire

La cible principale des *Eimeria* est l'épithélium de la muqueuse intestinale. Il est décrit qu'à la suite d'une infestation coccidienne la réponse à médiation cellulaire aurait un rôle majeur dans la résistance aux coccidioses d'un individu (Lillehoj et Trout, 1993 ; Lillehoj et Trout, 1994). Cette réponse cellulaire serait mise en place grâce au tissu lymphoïde associé à l'intestin (TLAI) qui réagit comme un acteur de première ligne de défense de la surface de la muqueuse. Cela inclut la présence de cellules présentatrices d'antigènes (CPA), de cellules impliquées dans l'immunorégulation (les lymphocytes T régulateurs) et des cellules de type effectrices distinctes de leurs analogues appartenant au système immunitaire systémique (les macrophages associés aux TLAI).

Cependant, une étude a mis en évidence un épitope antigénique orthologue chez les sporozoïtes d'*Eimeria* et les cellules intestinales de l'hôte, ce qui revient à dire qu'il y a un lien évolutif entre les épitopes des sporozoïtes d'*Eimeria* et les épitopes de la cellule intestinale et que leurs séquences génétiques respectives sont homologues, c'est à dire qu'elles descendent d'un même gène ancestral. Cela soulève une question intéressante quant à une stratégie d'échappement d'*Eimeria* au système immunitaire de l'hôte par camouflage (Vervelde *et al.*, 1993). L'intensité de la réponse immunitaire à médiation cellulaire dépend de l'espèce d'*Eimeria* infestante et de son site de développement (Schito *et al.*, 1996).

1.4.1.1 Le rôle des lymphocytes T

Les lymphocytes T jouent un rôle majeur dans la protection contre les coccidioses (McLOUGHLIN, 1969 ; Long et Rose, 1970 ; Lillehoj, 1987 ; Kogut et Eirmann, 1991 ; Isobe et Lillehoj, 1993). Bien que le rôle direct des lymphocytes T CD8+ n'ait pas encore été mis en évidence dans la protection de l'hôte contre les coccidioses, il y aurait des variations dans les sous-populations de LT CD8+, ainsi que dans les récepteurs intestinaux (TCR $\alpha\beta$) lors de l'infestation (Lillehoj et Bacon, 1991 ; Trout et Lillehoj, 1995). Au contraire, il y aurait une augmentation de la production d'oocystes lorsqu'il y a une pénurie en T CD8+ (Lillehoj et Trout, 1996). Enfin l'activation des LT CD8+ peut ne pas avoir de rôle dans la résistance contre les infestations primaires mais elle semblerait être nécessaire lors d'infestations ultérieures.

Les LT CD4+ participent comme médiateurs de la réponse immunitaire en cas d'infestation par *Eimeria* (Rose *et al.*, 1988 ; Rose *et al.*, 1992), grâce à la production des cytokines qui modulent la réponse immunitaire de type cellulaire lors des primo-infestations (Rose *et al.*, 1992). Cette réponse des LT CD4+ semblerait se modifier selon leur localisation intestinale ou l'espèce d'*Eimeria* infestante (Rose *et al.*, 1992 ; Trout et Lillehoj, 1995 ; Lillehoj et Trout, 1996 ; Jeurissen *et al.*, 1996) ce qui complique la compréhension des mécanismes de l'immunité contre les coccidies.

1.4.1.2 Le rôle des macrophages et des cellules Natural Killer (NK)

Les macrophages s'infiltrent dans la muqueuse intestinale lors des coccidioses chez le veau (Taubert *et al.*, 2009) et la volaille (Jeurissen *et al.*, 1996), et jouent un double rôle lors de l'élimination du parasite mais aussi lors de son transport dans l'environnement intestinal (Trout et Lillehoj, 1995). Bien qu'il n'existerait pas de différence significative entre le nombre de sporozoïtes observés dans les macrophages après une primo-infestation et une réinfestation (Vainio et Lassila, 1989), la participation des macrophages est décisive afin d'assurer la transition vers une réponse immunitaire adaptative.

L'intensification de l'activité des cellules NK a lieu pendant le développement des premiers stades d'*Eimeria* (Lillehoj, 1989). Aussi, cette augmentation du niveau d'activité des cellules NK est accompagnée par une augmentation du nombre de LT CD8+ (Lillehoj et Bacon, 1991). Cependant leur rôle dans le contrôle de l'infestation est controversé (Smith *et al.*, 1994).

1.4.1.3 Le rôle des cytokines et des chémokines

La production des cytokines et des chémokines pro- et anti-inflammatoires lors des coccidioses est orchestrée par de nombreuses cellules immunitaires (macrophages, lymphocytes, cellules NK, etc.) mais aussi par l'espèce d'*Eimeria* infestante. Cette production doit maintenir un équilibre qui permettra l'élimination ou au moins le contrôle de l'infestation, sans produire une inflammation qui pourrait se traduire par une nécrose de la muqueuse intestinale.

Le tableau 4 élaboré par Shivaramaiah et son équipe (Shivaramaiah *et al.*, 2014) résume les fonctions des cytokines mises en jeu lors de coccidioses.

Tableau 4 : Rôle des cytokines au cours d'une infestation coccidienne
d'après (Shivaramaiah *et al.*, 2014)

Catégorie fonctionnelle et cytokine	Fonction	Reference
PRO-INFLAMMATOIRE		
IFN- γ	Empêche l'invasion et le développement des stades parasitaires, propriétés adjuvantes	(Yun <i>et al.</i> , 2000 ; Min <i>et al.</i> , 2001 ; Lillehoj <i>et al.</i> , 2004)
IL-1 β	Stimulation des chémokines et des cellules inflammatoires	(Laurent <i>et al.</i> , 2001 ; Rothwell <i>et al.</i> , 2004)
IL-17	Costimulation d'autres cytokines, réponses de la muqueuse	(Lillehoj <i>et al.</i> , 2004)
Facteur TNF-like	Costimulation de l'immunité, taux augmenté pendant 6 jours post-infestation	(Min <i>et al.</i> , 2001 ; Allen et Fetterer, 2002 ; Lillehoj <i>et al.</i> , 2004)
IL-6	Développement de l'immunité acquise	(Lillehoj <i>et al.</i> , 2004)
IL-8	Chémokine qui recrute les LT CD4+ auxiliaires et les macrophages au site d'infestation	(Cornelissen <i>et al.</i> , 2009)
IL-18	Régulation positive de la réponse des LT CD4+ auxiliaires 1, peut-être spécifique de l'espèce d' <i>Eimeria</i>	(Cornelissen <i>et al.</i> , 2009)
DIFFERENCIATION DES LT		
IL-2	Différenciation des lymphocytes B et des cellules NK, propriétés adjuvantes	(Min <i>et al.</i> , 2001 ; Lillehoj <i>et al.</i> , 2004)
REGULATION DES LT		
IL-4, IL-10	Réduction des dégâts tissulaires	(Rothwell <i>et al.</i> , 2004 ; Cornelissen <i>et al.</i> , 2009)
IL-12/IL-15	Régulation des LT CD4+ auxiliaires 1 et de la réponse des LT CD4+ auxiliaires 2 (Yun <i>et al.</i> , 2000 ; Hong <i>et al.</i> , 2006)	(Yun <i>et al.</i> , 2000 ; Hong <i>et al.</i> , 2006)
ANTI-INFLAMMATOIRE		
TGF- β	Réparation de la muqueuse, régulation négative du système immunitaire	(Yun <i>et al.</i> , 2000 ; Lillehoj <i>et al.</i> , 2004)

1.4.2 La réponse immunitaire à médiation humorale

Les anticorps circulants dans le sérum correspondent à différentes classes d'immunoglobulines (Ig) : les IgM, les IgG (IgY chez la volaille) et les IgA (Rose et Long, 1969). Bien que la production d'anticorps ne semble pas protéger contre l'infestation (Speer *et al.*, 1985 ; Augustine et Danforth, 1986 ; Lillehoj, 1987), d'autres études suggèrent qu'une protection au moins partielle existe qui réduirait la sévérité de l'infestation (Rose et Hesketh, 1987 ; Lee *et al.*, 2009).

1.4.3 Le système immunitaire des petits camélidés

Les éléments qui composent le système immunitaire à médiation cellulaire des petits camélidés est très similaire à ceux des autres mammifères ; ainsi, on trouve dans le sang des LT CD4+ (27%), LT CD8+ (16%), des lymphocytes B (31%) et des monocytes (5 à 16%) dans le sang. Cependant, à la différence des ruminants, le pourcentage de lymphocytes B chez les petits camélidés est similaire chez les jeunes et chez les adultes (Davis *et al.*, 2000).

Une autre particularité chez les petits camélidés se trouve dans la composition biochimique des immunoglobulines. Il a été démontré qu'en plus des immunoglobulines classiques à 4 chaînes que possèdent les herbivores (IgM, IgG1, IgA et IgD), les petits camélidés possèdent à raison de 75 % des protéines sériques des IgG comportant uniquement des chaînes lourdes et pas de chaînes légères qu'on appelle les IgG2 et les IgG3. Les IgG2 et les IgG3 ont un poids moléculaire plus faible, ce qui améliore leur distribution dans l'organisme et une meilleure pénétration dans les tissus (Nguyen *et al.*, 1998).

Le cycle évolutif monoxène d'*Eimeria* est commun aux différentes espèces chez les petits camélidés et pour tous les hôtes définitifs potentiels. La contamination des animaux se fait par voie fécale-orale et différentes étapes de reproduction du parasite aboutissent à l'excrétion d'oocytes dans les fèces des animaux infestés. Une fois excrété, et selon les conditions environnementales, l'oocyste sporulé est la forme infestante du parasite. La période pré-patente est variable selon l'espèce d'*Eimeria*.

La réponse immunitaire intestinale médiée par les lymphocytes jouerait un rôle primordial qui permettrait le recrutement et l'activation des cellules spécialisées dans l'élimination du parasite (macrophages, cellules NK) et des cytokines. En particulier, le rôle des LT CD8+ — bien que controversé — pourrait être la clé dans l'établissement d'une mémoire immunologique après la primo-infestation.

2. Épidémiologie des coccidioses

Afin d'estimer les facteurs épidémiologiques des coccidioses chez les lamas et alpagas dans le monde, nous avons choisi des études provenant à la fois d'aires géographiques dont les lamas et les alpagas ne sont pas natifs : Europe, USA et Australie ; mais aussi provenant d'Amérique du Sud où les petits camélidés sont endémiques.

2.1 Distribution géographique

Les quatre espèces d'*Eimeria* des petits camélidés auxquelles cette thèse s'intéresse sont retrouvées chez les lamas et les alpagas. Elles sont retrouvées chez les petits camélidés en Amérique du Sud, en Amérique du Nord, en Europe, au Japon et en Océanie. Les résultats de différentes études réalisées sont présentés dans les tableaux 5 et 6.

Tableau 5 : Prévalence d'*Eimeria* chez les lamas
(Dubey, 2018b)

Aire géographique	Nombre de positifs / Nombre d'analyses (%)	Espèces d' <i>Eimeria</i> retrouvées	Pourcentage par espèce d' <i>Eimeria</i> retrouvée	Référence
Argentine (Jujuy)	233/478 (48,7)	<i>Eimeria macusaniensis</i>	99,9 %	(Cafrune <i>et al.</i> , 2009)
		<i>Eimeria ivitaensis</i>	0,1%	
Argentine (Salta)	17/48 (35,4)	<i>Eimeria macusaniensis</i>	100 %	(Cafrune <i>et al.</i> , 2009)
Argentine (Catamarca)	65/100 (65)	<i>Eimeria macusaniensis</i>	99,9 %	(Cafrune <i>et al.</i> , 2009)
		<i>Eimeria ivitaensis</i>	0,1 %	
Suisse	293/431 (68)	<i>Eimeria macusaniensis</i>		(Hertzberg et Kohler, 2006)
USA (10 états)	36/301 (12)	<i>Eimeria macusaniensis</i>		(Jarvinen, 1999)
USA (Colorado)	76/121 (62,8)	<i>Eimeria alpaca</i>	75 %	(Schrey <i>et al.</i> , 1991b)
		<i>Eimeria lamae</i>	1 %	
		<i>Eimeria sp.</i>	24 %	
USA (Wyoming)	15/23 (65,2)	<i>Eimeria alpaca</i>	56 %	(Schrey <i>et al.</i> , 1991b)
		<i>Eimeria macusaniensis</i>	2 %	
		<i>Eimeria lamae</i>	67 %	
USA (Oregon)	69/189 (37)	<i>Eimeria alpaca</i>	27 %	(Rickard et Bishop, 1988)
		<i>Eimeria macusaniensis</i>	1 %	
		<i>Eimeria punoensis</i>	17 %	
		<i>Eimeria lamae</i>	9 %	
		<i>Eimeria sp.</i>	54 %	
USA (Oregon)	30/50 (60)	<i>Eimeria alpaca</i>	52 %	(Rickard et Bishop, 1988)
		<i>Eimeria punoensis</i>	40 %	
		<i>Eimeria lamae</i>	32 %	

Tableau 6 : Prévalence d'*Eimeria* chez les alpagas
(Dubey, 2018b)

Aire géographique	Nombre de positifs/ Nombre d'analyses (%)	Espèces d' <i>Eimeria</i> retrouvées	Pourcentage de prélèvements contenant l'espèce d' <i>Eimeria</i> retrouvée	Référence
Grande Bretagne	NR ^a	<i>Eimeria ivitaensis</i>	100 %	(Twomey <i>et al.</i> , 2010)
Japon (Kanto)	42/53 (92)	<i>Eimeria lamae</i> <i>Eimeria macusaniensis</i> <i>Eimeria punoensis</i> et/ou <i>alpaca</i>	NR	(Hyuga et Matsumoto, 2015)
Nouvelle Zélande	15/460 (3,2)	<i>Eimeria macusaniensis</i>	100 %	(Rawdon <i>et al.</i> , 2006)
Pérou (Puno)	224/350 (64,3)	<i>Eimeria lamae</i> <i>Eimeria macusaniensis</i> <i>Eimeria punoensis</i> <i>Eimeria alpaca</i> <i>Eimeria ivitaensis</i>	91 % 35 % 78 % 87 % 13 %	(Díaz <i>et al.</i> , 2016)
Pérou (Puno)	418/478 (87,5)	<i>Eimeria lamae</i> <i>Eimeria macusaniensis</i> <i>Eimeria punoensis</i> <i>Eimeria alpaca</i> <i>Eimeria ivitaensis</i>	16 % 25 % 20 % 17 % 6 %	(Rodríguez H. <i>et al.</i> , 2012)
Pérou (Région sud)	145/316 (46,2)	<i>Eimeria macusaniensis</i> Espèce non identifiée	57 % 43 %	(Cordero <i>et al.</i> , 2011)
Pérou (Cuzco)	67/160 (58,1)	<i>Eimeria lamae</i> <i>Eimeria macusaniensis</i> <i>Eimeria punoensis</i> <i>Eimeria alpaca</i>	60 % 50 % 30 % 46 %	(Guerrero, 1967)
Suisse	NR	<i>Eimeria macusaniensis</i>	100 %	(Hertzberg et Kohler, 2006)
USA (Maryland)	14/61 (26,2)	<i>Eimeria alpaca</i> <i>Eimeria punoensis</i>	57 % 43 %	(Trout <i>et al.</i> , 2008)
USA (10 états)	8/115 (7,0)	<i>Eimeria macusaniensis</i>	100 %	(Jarvinen, 1999)

^a Non renseigné

D'autres études se fondant sur d'autres paramètres que la prévalence par espèces sont rapportées ci-dessous. Dans l'état d'Oregon (Etats-Unis), une étude portant sur 45 lamas et alpagas âgés de moins d'un an a montré une prévalence de l'infestation par *Eimeria spp.* de 13 % (Cebra *et al.*, 2003). Une deuxième étude rétrospective entre 1999 et 2004 portant sur 58 cas de diarrhées néonatales chez des lamas et alpagas de moins d'un an a montré une prévalence semblable (12,1 %) (Whitehead et Anderson, 2006). Les prévalences sont très variables entre les études.

En Europe, une étude de la prévalence de l'infestation par *Eimeria* été réalisée en Grande Bretagne (Schock *et al.*, 2007). Cette étude ne précise pas quelle espèce d'*Eimeria* est incriminée. Elle dévoile que la prévalence d'infestation par *Eimeria* chez les alpagas de moins d'un an est de 19%, de 24% chez les plus de 1 an et de 31% chez des animaux d'âge inconnu inclus dans cette étude portant sur 54 alpagas. Par ailleurs, une seconde étude dévoile une prévalence de l'infestation par *Eimeria* à 10,6 % chez les lamas et alpagas élevés sur l'aire géographique représentée par l'Angleterre et le Pays de Galles (Twomey *et al.*, 2014).

En Océanie, une étude descriptive en Australie montre que quatre espèces d'*Eimeria* des petits camélidés sont présentes sur ce territoire : *Eimeria lamae*, *Eimeria alpaca*, *Eimeria punoensis* et *Eimeria macusaniensis* (O'Callaghan MG *et al.*, 1997). Une deuxième étude en Australie portant sur 92 alpagas âgés entre 2 et 16 mois montre que la fréquence d'identification des espèces d'*Eimeria* dans les fèces est de 91,5 % (Gauly et Vaughan, s. d.). Une autre étude descriptive en Nouvelle Zélande répertorie tous les parasites rencontrés chez les animaux terrestres parmi lesquels on retrouve *Eimeria lamae*, *Eimeria alpaca*, *Eimeria punoensis* et *Eimeria macusaniensis* chez les alpagas. Dans cette étude, aucun protozoaire n'est mis en évidence chez les lamas (McKenna, 2009).

Les différentes études citées ci-dessus montrent que chez les lamas les prévalences d'infestation par *Eimeria* sont similaires entre les pays d'origine (35-65 %) et les pays qui importent cet animal (12-68 %). Chez les alpagas, la prévalence d'infestation par *Eimeria* dans les pays d'origine (58-87 %) semble nettement supérieur à celle retrouvée dans les pays qui importent cet animal (7-27 %). En Amérique du Sud, la prévalence d'infestation par *Eimeria* est semblable chez les lamas et les alpagas.

2.2 Sources de parasites et causes favorisantes

Les oocystes non sporulés sont émis par les animaux infestés au préalable dans l'environnement. Tandis que les jeunes animaux infestés et symptomatiques sont capables d'excréter un grand nombre d'oocystes, ce sont souvent les adultes porteurs et faibles excréteurs qui, grâce à leur infestation asymptomatique, passent inaperçus et permettent la dissémination des oocystes. Une fois sporulés dans l'environnement, ils sont alors susceptibles d'être ingérés par un autre animal réceptif qui va à son tour excréter davantage d'oocystes dans l'environnement après une période de développement du cycle du protozoaire au sein de ce nouvel hôte appelée période pré-patente.

En outre, la contamination de l'environnement est souvent associée à une forte densité animale au sein de l'élevage et à un niveau d'hygiène déficient. Il n'y a pas de données dans la littérature décrivant un terrain particulier ou une saison particulière qui serait plus propice à une forte concentration d'oocystes viables dans l'environnement. Cependant, une

augmentation des cas symptomatiques dans un élevage peut être aussi associé à une saisonnalité selon la localisation géographique, avec un risque accru lors des baisses de température en période hivernale des régions tropicales (Rodríguez-Vivas *et al.*, 1996).

Les cas de coccidioses sont souvent associés à une forte densité animale au sein de l'élevage et un niveau d'hygiène bas. La pathogénicité et la sévérité des signes cliniques semblent être liées au nombre d'oocystes sporulés ingérés. Les ré-infestations à partir d'un environnement contaminé peuvent causer une charge parasitaire telle qu'elle entraîne la mort de l'animal (Fowler, M., 1998 ; Whitehead et Anderson, 2006).

La présence et le nombre d'oocystes excrétés dans les fèces tendent à être plus élevés chez les jeunes que chez les adultes (Guerrero *et al.*, 1970 ; Rickard et Bishop, 1988) toutefois, l'expression clinique de la coccidiose peut avoir lieu dans les deux groupes d'animaux (Rosadio et Ameghino, 1994 ; Lenghaus *et al.*, 2004 ; Palacios *et al.*, 2006 ; Chigerwe *et al.*, 2007 ; Schock *et al.*, 2007 ; Cebra *et al.*, 2007 ; Rosadio *et al.*, 2010).

Les cas de coccidioses sont majoritairement répertoriés chez les nouveau-nés et les jeunes, avec des cas de coccidioses chez des animaux de 20 jours d'âge (Cebra *et al.*, 2003). L'apparition aussi précoce de la maladie suggère que les nouveau-nés peuvent s'infester dès les premiers jours de vie dans un environnement contaminé (Foreyt et Lagerquist, 1992). Ainsi, la prévalence de l'infestation par *Eimeria* chez les petits camélidés est plus élevée chez les jeunes (90-100 %) que chez les adultes (40-60 %) (Dubey, 2018b). La pathogénicité et la sévérité des signes cliniques semblent être liées au nombre d'oocystes sporulés ingérés. Les ré-infestations à partir d'un environnement contaminé peuvent causer une charge parasitaire telle qu'elle entraîne la mort de l'animal (Fowler, M., 1998 ; Whitehead et Anderson, 2006).

Les coccidies peuvent aussi avoir une pathogénicité différente en fonction d'éventuelles infestations concomitantes, des conditions environnementales, du stress des animaux lié à l'élevage et/ou au transport et de l'état nutritionnel des animaux (Díaz *et al.*, 2016). Enfin il n'y a pas de différence de probabilité d'infestation selon l'espèce de petit camélidé concernée qui soit décrite dans la littérature.

Les espèces d'*Eimeria* des petits camélidés sont originaires d'Amérique du Sud mais elles sont aussi détectées partout dans le monde malgré les précautions prises à l'importation d'animaux depuis les pays d'origine de l'hôte. Ces parasites se sont adaptés aux différentes conditions environnementales inhérentes aux divers continents où nous les retrouvons aujourd'hui. Les animaux infestés constituent la principale source infestante dans un élevage, en particulier les animaux qui ne présentent pas de signes cliniques : ils excrètent des oocystes infestant dans leurs fèces et contaminent l'environnement, ce qui constitue un risque pour les jeunes animaux de l'élevage qui sont plus sensibles aux coccidioses. De plus, c'est un parasite difficile à éradiquer dans un élevage car les oocystes sporulés sont très résistants dans le milieu extérieur.

3. Étude clinique

3.1 Pathogénie

Bien que la plupart des études récentes soient centrées sur *Eimeria macusaniensis*, toutes les espèces décrites dans cette thèse ont un pouvoir pathogène documenté (Hyuga et Matsumoto, 2015 ; Díaz *et al.*, 2016) et sont impliquées dans les coccidioses des petits camélidés, en elles-mêmes ou associées à d'autres agents infectieux .

Comme décrit auparavant, les causes favorisantes à l'infestation par *Eimeria* sont nombreuses et peuvent être associées directement ou non à l'hôte. Il est bon de noter que les oocystes de coccidies sont souvent détectés dans les flottations réalisées sur des fèces d'animaux cliniquement sains. La plupart des infestations par des coccidies des lamas et alpagas sont décrites comme asymptomatiques et se résolvent d'elles-mêmes (Cheney et Allen, 1989 ; Rickard, 1994).

Il existe toutefois une différence de pathogénicité entre les espèces d'*Eimeria* selon l'hôte et l'espèce d'*Eimeria* considérés. Les jeunes animaux peuvent présenter des signes cliniques de coccidiose quand ils sont infestés par une forte charge en coccidies pendant une période de stress, et deux espèces d'*Eimeria* sont fréquemment associées à de tels signes cliniques : *Eimeria lamae* et *Eimeria macusaniensis* (Leguía, 1991). De plus, des co-infestations avec *Eimeria ivitaensis* et *Eimeria macusaniensis* ont récemment été impliquées dans des cas mortels de coccidioses chez de jeunes alpagas au Pérou (Palacios *et al.*, 2006).

La production d'oocystes crée des lésions hémorragiques et nécrotiques au niveau de l'épithélium de la muqueuse de l'intestin grêle dues à la destruction des cellules épithéliales infestées (C.H. Gardiner *et al.*, 1988) à la suite des étapes de réplication du parasite dans ces cellules. Ces lésions de l'intestin grêle peuvent entraîner des conséquences au niveau systémique, notamment une entérotoxémie due à une infection opportuniste concomitante par des clostridies qui peut s'avérer fatale pour l'animal (Palacios *et al.*, 2005 ; Whitehead et Anderson, 2006).

Les coccidioses constituent un problème principalement dans les élevages d'alpagas dans lesquels les animaux sont confinés mais il y a aussi des épidémies de coccidioses subaiguës à aiguës chez les animaux nés tard dans la saison de reproduction au Pérou (Leguía, 1991). Cela était dû dans cette étude à des infestations par *Eimeria lamae* associé à *Eimeria macusaniensis*. De telles co-infestations sont très pathogènes dans la mesure où *Eimeria lamae* détruit l'épithélium intestinal pendant qu'*Eimeria macusaniensis* détruit les glandes des cryptes intestinales et inhibe la régénération de l'épithélium intestinal. Cela résulte de l'érosion complète de la muqueuse intestinale et à la perte totale de sa fonction, laissant la paroi intestinale exposée à des infections bactériennes ou virales secondaires. Il semble y avoir une forte corrélation dans cette étude entre la coccidiose et l'apparition d'une entérotoxémie bactérienne à clostridies qui entraîne un taux de mortalité de 50 % chez les animaux nouveau-nés au Pérou.

En conclusion, il semblerait qu'*Eimeria macusaniensis* soit l'espèce d'*Eimeria* la plus pathogène pour les petits camélidés (Dubey, 2018b). Toutefois, sa pathogénicité à elle seule a peut-être été surestimée dans la mesure où on retrouve le plus souvent des co-infections lors de coccidioses diagnostiquées chez les petits camélidés (McKenna, 2006).

3.2 Signes cliniques

La manifestation de la maladie va dépendre de (Cebra *et al.*, 2007) :

- l'âge de l'animal infesté : les jeunes sont plus touchés que les adultes ;
- l'espèce de parasite infestant : *Eimeria macusaniensis* semble plus pathogène que les autres espèces ;
- la charge infectieuse : plus le nombre d'oocystes ingérés est élevé, plus l'hôte est susceptible de développer des signes cliniques ;
- l'état de santé de l'animal infesté : un animal présentant un pauvre état général est plus sensible aux coccidioses qu'un animal en bon état général.

Dans la plupart des cas, la coccidiose est asymptomatique et correspond à une primo-infection par une faible quantité de parasites, permettant aux lamas et alpagas de développer une immunité cellulaire (cf 1.4) vis-à-vis de l'espèce de coccidie infestante (Lillehoj et Trout, 1996). C'est également la forme observée lors d'infection d'adultes correctement entretenus. Il y a alors une dissémination d'oocystes dans l'environnement, ce qui augmente la contamination de l'environnement en collectivité (Barrington *et al.*, 2002).

La forme subclinique, pour laquelle les signes cliniques sont de faible intensité par contraste avec ce qui suit où une véritable expression clinique est observée, se manifeste presque exclusivement par des retards de croissance. Il s'agit d'une forme banale se caractérisant par un syndrome entéritique de faible intensité. Un ténesme peut être observé sans prolapsus rectal rapporté dans la littérature. La coccidiose peut aussi se manifester par un simple ramollissement des fèces voire une diarrhée franche évoluant spontanément vers la guérison en quelques jours (Cebra *et al.*, 2003). Cette forme passe donc facilement inaperçue mais peut tout de même être responsable de retard de croissance chez les crias en raison d'une malabsorption des nutriments (Whitehead et Anderson, 2006). Elle touche généralement de jeunes crias bien entretenus en bon état général ayant ingéré une faible quantité d'oocystes.

Dans les formes aiguës, on observe des douleurs abdominales, une léthargie, une anorexie, une déshydratation et un amaigrissement rapide. Une hyperthermie peut également être présente mais celle-ci est généralement associée à la co-infection par un autre agent pathogène. Des troubles nerveux (convulsions, prostrations) peuvent être observés dans de rares cas suraigus (Lenghaus *et al.*, 2004). Il n'est pas rare chez les animaux présentant cette manifestation clinique aiguë de retrouver une infestation concomitante par des ascarides et des coccidies. En effet, l'association d'autres affections, le mauvais état général initial de l'animal et le très jeune âge sont des facteurs aggravant les manifestations cliniques (Rodríguez H. *et al.*, 2012). Des cas de mort subite ont été décrits des suites d'une diarrhée catarrhale plus ou moins hémorragique (Ballweber, 2009b).

Les signes cliniques liés aux infestations par des espèces d'*Eimeria* pathogènes pour les petits camélidés sont en général plus sévères chez les alpagas que chez les lamas (Guerrero, 1967 ; Schrey *et al.*, 1991a).

3.3 Lésions

Les lésions primaires associées à une infestation par les petites coccidies se situent dans l'intestin grêle, par conséquent, on observe rarement du sang en nature dans les fèces (Cheney et Allen, 1989).

Macroscopiquement, on observe une entérite nécrotique sévère au niveau de l'intestin grêle (Figure 6) associée à un œdème et à une congestion de la muqueuse intestinale. On observe également une ulcération de la muqueuse. La perte de l'architecture de l'épithélium de la muqueuse intestinale causée par un grand nombre de coccidies en développement dans cet épithélium évoque fortement que les espèces d'*Eimeria* peuvent causer une discontinuité de la muqueuse intestinale prédisposant à une infection secondaire par des agents infectieux présents dans le tube digestif (Schock *et al.*, 2007).

Figure 6 : Entérite nécrotique de la partie terminale de l'iléon d'un alpage âgé de 16 mois, né en Grande-Bretagne
(Schock *et al.*, 2007)



Lors de l'infestation par *Eimeria macusaniensis* chez les alpagas, on peut observer des lésions de type subaigu à chronique au niveau de l'intestin grêle, caractérisées par une nécrose exfoliative de la muqueuse intestinale, c'est-à-dire un raccourcissement et une fusion des villosités accompagnés d'une exposition complète de la lame basale et de l'érosion de la couche musculaire. On peut observer des macrogamontes enkystés dans la musculaire dans certaines zones et des processus dégénératifs dans d'autres, et le chorion ainsi que la sous-muqueuse présentent une infiltration des cellules inflammatoires. Une hyperhémie marquée est aussi observée dans la zone médiane des villosités, accompagnée d'un œdème modéré à sévère. De plus on observe une hyperplasie des cryptes (Palacios E. *et al.*, 2004).

Dans le cas d'infestations à *Eimeria lamae*, les cellules épithéliales desquament dans la lumière intestinale et les capillaires sanguins dilatés se retrouvent exposés, accolés à la lame basale érodée. Par conséquent, on observe une fuite de cellules inflammatoires et érythrocytaires dans la lumière intestinale également. En général, on peut observer une réponse immunitaire cellulaire modérée autour des cryptes intestinales dans les glandes qui contiennent les formes endogènes de la coccidie infestante. Beaucoup de cellules visibles dans le chorion ne sont pas reconnaissables. Elles peuvent correspondre à des cellules régénératives des cryptes comme cela a été décrit pour d'autres cas d'infestation de veaux par *Eimeria bovis* (Friend et Stockdale, 1980). L'œdème observé dans les différentes couches de la muqueuse intestinale s'explique par l'obstruction mécanique des vaisseaux lymphatiques par les différents stades d'*Eimeria* se développant dans ces structures.

3.4 Pronostic

Le pronostic est généralement favorable et une amélioration, souvent spontanée, est notée en une dizaine de jours dans la grande majorité des cas (Ballweber, 2009a). Lors d'atteinte sévère sur de jeunes crias, des retards de croissance, voire un arrêt total de la croissance peuvent apparaître. Les animaux restent alors définitivement plus petits que leurs congénères (Grund *et al.*, 2018). Cependant, le pronostic reste réservé chez les sujets très jeunes souffrant de malnutrition ou de sous-nutrition et les individus atteints d'autres affections intestinales (quelle qu'elle soit). En ce qui concerne les individus immunodéprimés, le pronostic sera très réservé (Lenghaus *et al.*, 2004 ; Schock *et al.*, 2007 ; Dubey, 2018b).

La gravité des lésions dépend de l'espèce d'*Eimeria* infestante, des caractéristiques de l'hôte et de son environnement. Les jeunes animaux sont plus sensibles aux coccidioses, ainsi que les animaux présentant un déficit nutritionnel, un état de stress et/ou ayant d'autres maladies concomitantes, ainsi que des co-infestations.

Lors de coccidioses, les animaux infestés présentent de la diarrhée, une léthargie, des douleurs abdominales, une anorexie, une déshydratation et un amaigrissement rapide. Le pronostic est généralement bon sauf si l'atteinte est très sévère chez un jeune animal dénutri. Dans les cas de coccidioses sévères, un retard de croissance peut être observé avec une persistance de la diarrhée due à des lésions irréversibles de l'intestin.

Les lésions associées aux coccidioses chez les alpagas incluent la destruction de l'épithélium de la muqueuse intestinale avec la présence abondante de cellules inflammatoires, le tout accompagné d'une hyperplasie glandulaire. Les lésions sont plus sévères au niveau du jéjunum. Enfin, les stades endogènes d'*Eimeria macusaniensis* se trouvent à la fois au niveau de l'intestin grêle et au niveau du côlon ascendant tandis que les petites coccidies se concentrent au niveau de l'intestin grêle uniquement.

4. Diagnostic des coccidioses

4.1 Clinique et épidémiologique

Le diagnostic repose d'une part sur les données cliniques et d'autre part sur les données épidémiologiques (Dowd et Catherine, 2014). On suspectera une coccidiose face à un animal jeune, récemment acheté, provenant d'une collectivité et présentant une diarrhée aiguë avec des fèces avec un aspect modifié non caractéristique ou hémorragique (Johnson *et al.*, 2009), le plus souvent sans atteinte de son état général. Dans le cas de collectivités, on suspectera une coccidiose face à une entérite pouvant être hémorragique, possiblement associée à des retards de croissance, chez des jeunes crias en période de sevrage ou ayant récemment subi un stress (Guerrero, 1967).

Des biopsies d'intestin grêle peuvent être réalisées et révéler les stades parasites intracellulaires au sein des cellules épithéliales de l'intestin grêle (Cebra *et al.*, 2007). En dernier recours, un examen échographique très peu sensible peut révéler une distension locale de l'intestin grêle et un épaississement local de la paroi intestinale, particulièrement au niveau de l'iléum ce qui peut orienter le diagnostic vers une coccidiose (Costarella et Anderson, 1999 ; Cebra *et al.*, 2007 ; Johnson *et al.*, 2009).

À l'autopsie, on observe une détérioration de l'état général de l'animal voire un état de cachexie. Des lésions au niveau de l'appareil digestif sont également notées, en particulier au niveau de l'intestin grêle : un œdème généralisé de la paroi intestinale est régulièrement rapporté, ainsi qu'une hyperhémie généralisée de l'intestin grêle, un contenu intestinal aqueux à mousseux et des défauts de la muqueuse intestinale par perte de substance. Les lésions sont plus amplement décrites en 3.3.

4.2 Techniques de laboratoire

Les signes cliniques, l'épidémiologie et les lésions macroscopiques nous orientent mais ne suffisent pas à établir un diagnostic de certitude. Pour cela il faut effectuer un diagnostic par coproscopie qui permet d'associer les signes cliniques observés à la présence quantifiée d'oocystes de coccidies dans les fèces (Bildfell *et al.*, 2012 ; Wolf *et al.*, 2014). En effet, cet examen permet d'observer au microscope des oocystes concentrés au préalable par des techniques telles que la flottation et la sédimentation, ainsi que de les quantifier en utilisant la méthode de McMaster. Dans les cas où une forte excrétion d'oocystes est suspectée, un examen direct des fèces au microscope peut permettre la confirmation de l'infestation (Bussiéras et Chermette, 1992b ; Johnson *et al.*, 2009 ; Bildfell *et al.*, 2012). Il faut toujours interpréter les résultats de la coproscopie en fonction de la présentation clinique de l'animal. En effet, il arrive que la présence d'oocystes d'*Eimeria* ne soit pas associée à une coccidiose clinique. Un animal présentant des oocystes d'*Eimeria* dans ses fèces sans qu'aucun signe clinique ne soit présent ne sera donc pas considéré comme atteint de coccidiose clinique et ne nécessitera pas nécessairement de traitement (Beugnet, F. *et al.*, 2004). Par ailleurs, aucun seuil d'excrétion d'oocystes en opg n'a été établi chez les petits camélidés au-delà duquel un animal est considéré comme atteint de coccidiose.

Des nouvelles méthodes diagnostiques comme la réaction en chaîne par polymérase (PCR) sur fèces et le séquençage sont actuellement en cours de développement et pourraient aider à mieux distinguer les espèces d'*Eimeria* infestantes (Cebra *et al.*, 2011).

4.2.1 Prélèvement coprologique

Pour avoir des résultats optimaux, il faut limiter les facteurs de variation de l'analyse coproscopique. Pour cela, les fèces doivent être prélevées en quantité suffisante, c'est-à-dire au moins cinq grammes pour une coproscopie simple. Dans le cas contraire, la fiabilité et l'interprétation des analyses peuvent être insuffisantes (Bussiéras et Chermette, 1992b).

De plus, les matières fécales doivent être fraîches (récoltées depuis moins de 48h) et conservées à une température de 4°C avant l'analyse (Beugnet, F. *et al.*, 2004). Dans le cas contraire, la conservation sera mauvaise et les parasites pourront évoluer dans un échantillon conservé plusieurs jours à température ambiante. Cela pourrait entraîner la sporulation des oocystes mais ceux-ci pourraient tout de même être identifiés. Les fèces prélevées au sol présentent un haut risque de contamination par l'environnement, le plus souvent par des acariens et leurs œufs ou par des nématodes libres. Il est donc préférable de les prélever directement dans le rectum ou juste après leur émission, même si cela est moins gênant pour la recherche de coccidies que pour la recherche de strongles.

4.2.2 Méthodes coproscopiques

Pour rechercher l'éventuelle présence d'oocystes de coccidie, trois méthodes sont utilisées : les méthodes qualitatives de concentration par sédimentation et par flottation et la méthode quantitative de McMaster.

La méthode de sédimentation consiste à délayer les matières fécales dans l'eau et de séparer les éléments parasitaires par gravité, en les concentrant dans le culot après centrifugation. Cette technique permet de mettre en évidence tous les éléments parasitaires mais de nombreux débris alimentaires sont également présents, ce qui rend la lecture parfois compliquée et diminue la sensibilité de cette méthode (Beugnet, F. *et al.*, 2004).

À l'inverse, la méthode de flottation qualitative s'effectue en diluant les fèces dans une solution à densité élevée (1,2 à 1,28) appelée le liquide de flottation. Les éléments parasitaires de densité inférieure et seront ainsi concentrés à la surface de la suspension. Cette technique permet de séparer les éléments parasitaires de la majorité des débris alimentaires, qui eux sédimentent, ce qui permet une lecture plus facile. Cependant, la sensibilité de ce test est très variable en fonction de la densité du liquide utilisé et de son effet sur les œufs/oocystes recherchés. Pour les oocystes de coccidies, le sulfate de magnésium à saturation, avec une densité de 1,28 permet une meilleure flottation que le chlorure de sodium à saturation (Beugnet, F. *et al.*, 2004 ; Wolf *et al.*, 2014).

Le principe de la méthode de McMaster est le même que celui de la flottation qualitative mais il convient d'utiliser une dilution précise des matières fécales afin d'estimer la charge parasitaire de l'échantillon. Une fois la dilution effectuée, un volume constant est placé dans la cellule de McMaster. La cellule de McMaster est calibrée : elle est composée de deux grilles dont les limites sont gravées sous la forme d'un carré divisé en colonnes (Bussiéras et Chermette, 1992b ; Beugnet, F. *et al.*, 2004).

4.2.3 Interprétation

L'identification par espèce des oocystes d'*Eimeria* en coproscopie est quasiment impossible sauf pour *Eimeria macusaniensis* dont les oocystes sont significativement plus gros que ceux des petites coccidies. La distinction d'espèce nécessite une coproculture ou une PCR pour identifier les caractéristiques des sporocystes ou les éléments génomiques spécifiques de chaque espèce respectivement (Bussiéras et Chermette, 1992b ; Cebra *et al.*, 2011 ; Dorchies *et al.*, 2012). De plus, sans coloration, la distinction entre les oocystes d'*Eimeria* qui ne réagissent pas aux colorants iodés et les kystes de *Giardia* est difficile et s'appuie uniquement sur la taille respective de ces éléments parasitaires : les oocystes d'*Eimeria* sont en moyenne deux fois plus gros que les kystes de *Giardia*.

D'autre part, l'apparition des signes cliniques peut précéder l'excrétion d'oocytes dans les fèces. Il faudrait donc renouveler les analyses coprologiques 5 à 6 jours plus tard chez un animal ayant une présentation clinique et épidémiologique évocatrice de coccidiose mais ne présentant pas d'oocystes dans ses fèces (Beugnet, F. *et al.*, 2004 ; Cebra et Stang, 2008 ; Bildfell *et al.*, 2012) De plus, même lorsque des oocystes d'*Eimeria* sont identifiés dans les matières fécales d'un lama ou d'un alpa présentant des signes cliniques compatibles avec une coccidiose, il faut confirmer l'absence des autres agents pathogènes pouvant être aussi responsables des signes cliniques similaires à ceux de la coccidiose (Cebra *et al.*, 2003 ; Whitehead et Anderson, 2006).

La quantité d’ocystes excrétés est souvent — mais pas toujours — corrélée à l’intensité des signes cliniques de l’animal atteint (Foreyt et Lagerquist, 1992) mais aucun seuil n’est proposé dans la littérature. Cette quantité est à prendre en compte pour évaluer le risque de contamination de l’environnement. La médecine des lamas et alpagas est majoritairement collective, à l’exception de certains cas particuliers (par exemple animaux de compagnie). Le niveau d’infestation est donc très important pour la décision thérapeutique et un traitement sera généralement envisagé en fonction du niveau d’infestation mis en évidence.

4.3 Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel comprend toutes les causes possibles de diarrhée chez les lamas et alpagas, en particulier chez les crias : les diarrhées de stress, les diarrhées d’origine alimentaire (changement alimentaire brutal, intolérance alimentaire) et les diarrhées mécaniques (corps étrangers, intussusception) ; les entérites infectieuses virales, bactériennes et parasitaires (Foreyt et Lagerquist, 1992).

La possibilité de la co-circulation des plusieurs agents pathogènes responsables de diarrhée chez les crias d’alpagas a été récemment évoquée (Rosadio *et al.*, 2012 ; Rojas *et al.*, 2016), cette information témoigne de l’importance d’arriver au bon diagnostic afin de mettre en place le traitement le plus adapté.

4.3.1 Cryptosporidiose

Cette infestation est produite par des protozoaires du genre *Cryptosporidium*, responsables de zoonoses et qui peuvent provoquer une diarrhée par malabsorption, laquelle peut produire une insuffisance rénale chez les crias avec une diminution de la perfusion rénale et une nécrose tubulaire. Dans certains cas, la diarrhée est sévère et peut s’avérer fatale chez les jeunes animaux et chez les animaux immunodéprimés. Comme pour *Eimeria*, les animaux s’infestent par voie fécale-orale suite à l’ingestion de nourriture et/ou d’eau contaminées par des ocystes (cycle monoxène).

La méthode la plus simple pour obtenir un diagnostic de certitude est d’examiner un étalement de fèces avec une coloration de Ziehl Neelsen modifiée (Bussiéras et Chermette, 1992b). La détection d’ocystes peut être améliorée par les techniques d’immunofluorescence et de dosage immunoenzymatique (ELISA). Récemment, un test ELISA sur sang total a été développé pour détecter les antigènes de *Cryptosporidium* et de *Giardia*. Ce test a une sensibilité de 100% et une spécificité de 97% (« Remel - ProSpecT Products », 2018) et peut être utilisé facilement en pratique. La technique PCR permet de différencier les différentes espèces de *Cryptosporidium* infestantes et d’identifier la source potentielle de l’infestation. Enfin, il existe aussi des tests rapides par immunochromatographie qui permettent obtenir un résultat qualitatif avec des avantages imbattables par rapport à leur facilité d’exécution mais avec une sensibilité et une spécificité à améliorer.

4.3.2 Giardiose

C'est une infestation produite par un protozoaire du genre *Giardia*. Cette infestation est due principalement à l'ingestion d'eau contaminée avec des kystes de *Giardia* et elle est aussi une maladie zoonotique. Cet agent pathogène envahit l'intestin grêle où il provoque une atrophie des villosités aboutissant à une diarrhée par malabsorption. De cette diarrhée résulte une déshydratation et une perte de poids. Les jeunes animaux sont plus sensibles que les adultes. L'analyse coproscopique mettant en évidence les kystes excrétés est la méthode standard de diagnostic des giardiases mais il y a aussi des méthodes rapides immunochromatographiques et ELISA disponibles.

4.3.3 Nématodoses gastrointestinales

Certaines espèces de nématodes sont reconnues comme la cause de diarrhée chez les lamas et alpagas à partir de l'âge de 2 mois. Ces espèces sont relativement spécifiques des lamas et alpagas, d'autres sont communs à plusieurs espèces. Les jeunes animaux sont particulièrement sensibles au parasitisme car ils n'ont pas encore de résistance acquise à ces infestations. Les signes cliniques peuvent inclure un retard de croissance, une perte d'appétit voire une anorexie et une émaciation dans les cas de diarrhée sévère (Fowler, 1998). La méthode diagnostique de choix actuelle est la coproscopie par flottation (Beugnet, F. *et al.*, 2004).

4.3.4 Rotavirose et coronavirose

Les rotavirus et les coronavirus sont des agents pathogènes responsables de diarrhées chez les crias nouveau-nés de lamas et d'alpagas. Les coronavirus sont les plus fréquemment rencontrés chez les crias non sevrés (Mattson, 1994 ; Cebra *et al.*, 2003) et parfois chez les animaux plus âgés. Cependant, il est possible que les animaux infectés ne développent pas des signes cliniques (Puntel *et al.*, 1999)

Les virus peuvent être mis en évidence par des méthodes conventionnelles comme la séroneutralisation, ELISA ou par PCR. Divers vaccins contre les agents pathogènes viraux sont disponibles et s'utilisent par voie orale chez les agneaux et les veaux. Ces vaccins peuvent être utilisés en toute sécurité dans le cadre de la cascade chez les camélidés dans les fermes avec des épidémies de diarrhées virales mais leur efficacité n'est en réalité pas démontrée formellement chez ces espèces.

4.3.5 Colibacillose

Les diarrhées provoquées par des souches entérotoxigènes d'*Escherichia coli* (ETEC) sont souvent observées en combinaison de septicémies chez les crias nouveau-nés âgés de 3 à 7 jours. La diarrhée est souvent profuse et aqueuse, accompagnée d'une léthargie et d'une distension abdominale (DeRoy et Maddox, 2001). On ne connaît pas spécifiquement les facteurs de virulence produits par les ETEC infectant les camélidés bien que la pathogénicité de la maladie est présumée être la même que chez les autres espèces.

De nombreuses méthodes diagnostiques ont été mises en œuvre chez d'autres espèces que les lamas et alpagas afin de détecter les facteurs de virulences exprimés par les souches d'ETEC. Cela comprend des sondes ADN et des PCR. De plus, des tests d'agglutination au latex et des kits ELISA sont disponibles aujourd'hui et permettent de détecter les facteurs de virulence les plus communs impliqués dans les diarrhées chez les nouveau-nés (K88, K99, F41, CS31A et 987P). Les ETEC perdent rapidement les fimbriae en culture microbiologique (et in vitro) et sont difficiles à différencier des *E. coli* commensales de l'intestin.

4.3.6 Salmonellose

Salmonella spp. ne semble pas être une cause fréquente de diarrhée chez les lamas et alpagas (Rulofson *et al.*, 2001 ; Cebra *et al.*, 2003). Toutefois, un cas de septicémie à *Salmonella spp.* a été rapportée chez une femelle lama de 6 ans et chez un cria de lama de 6 jours (Anderson *et al.*, 1995) et une hémoculture faite chez le cria a confirmé la présence de *Salmonella* Typhimurium. Il est important de noter que cette maladie est une zoonose à l'égard de laquelle les éleveurs doivent se montrer particulièrement attentifs.

4.3.7 Entérotoxémie clostridienne

Des souches de *Clostridium perfringens* de type A ont été mises en évidence chez plusieurs lamas et alpagas présentés pour diarrhée (Whitehead et Anderson, 2006). Cependant, on ne sait pas encore si cet agent pathogène joue un rôle primaire ou secondaire dans les diarrhées et mortalité néonatale chez les alpagas

Les toxines clostridiennes peuvent produire une nécrose entérique locale voire généralisée, avec un risque d'absorption systémique. Cette infection peut produire des signes cliniques tels que dépression sévère, coliques, distension abdominale, fièvre et diarrhée hémorragique et fétide. La diarrhée est observée si l'animal survit au moins 12 heures après le début des signes cliniques. Enfin, cette infection peut être concomitante à d'autres infections digestives, et les signes cliniques observés pourraient être le résultat de ces infections avant la dégradation rapide de l'animal.

Malheureusement, le diagnostic pré-mortem n'est que présomptif car le dosage coprologique des toxines camélidés s'est révélé peu sensible.

4.3.8 Diarrhées non infectieuses

Des cas de diarrhée d'origine nutritionnelle chez de jeunes lamas et alpagas incluent des diarrhées causées par un accès soudain et abondant à une pâture de printemps très riche, à un excès de céréales dans la ration ou à une suralimentation lactée chez les animaux nourris au biberon. L'alimentation au biberon avec des lactoreplaceurs ou du lait de chèvre peut aussi produire des diarrhées (Whitehead et Anderson, 2006).

Des cas d'acidose des pré-estomacs ont aussi été rapportés dans une étude (Cebra *et al.*, 1996). Les crias inclus dans cette étude étaient nourris avec une supplémentation par un mélange de céréales composé à parts égales d'orge aplatie, de blé aplati et de maïs concassé.

Les diarrhées induites par les antibiotiques devraient faire partie intégrante du diagnostic différentiel des diarrhées chez les crias avec des antécédents de traitement antibiotique, en particulier si ces antibiotiques ont été administrés par voie orale.

Un cas de shunt porto-systémique a été rapporté chez un cria d'alpaga (Ivany *et al.*, 2002). Ce cria avait eu des épisodes récurrents de diarrhée jusqu'au moment du diagnostic qui a eu lieu quand le cria avait 5 mois. Les auteurs ont déduit que la diarrhée en cas de shunt porto-systémique était due à un métabolisme hépatique anormal des nutriments ou à une croissance bactérienne anormale dans le côlon

La coproscopie est la méthode la plus employée aujourd'hui pour diagnostiquer des coccidioses. Il est préférable de travailler sur de la matière fécale fraîche ou de réaliser les examens dans les quatre jours après prélèvement en conservant l'échantillon à une température de 4°C. Il faut toujours interpréter les résultats de la coproscopie à la lumière des signes cliniques présentés par l'animal car la charge parasitaire n'est pas toujours corrélée au développement d'une coccidiose. De plus, les seuils de charge parasitaire au-delà desquels on considère que l'animal est malade ne sont pas connus. Toutefois, la quantité d'oocystes excrétés dans les fèces reflète le niveau de contamination de l'environnement.

Lors du diagnostic différentiel de la coccidiose chez les lamas et alpagas, il faut prendre en compte notamment les maladies digestives d'origine infectieuse telles que la cryptosporidiose, la giardiose, les nématodoses digestives, les rotaviroses, les coronaviroses, les colibacilloses, les salmonelloses et les entérotoxémies clostridiennes. D'autre part, il existe aussi des cas de diarrhée d'origine non infectieuse, les plus fréquentes étant d'origine nutritionnelle et celles induites par un traitement par des antibiotiques par voie orale. La grande diversité de causes de diarrhée chez les lamas et alpagas met en exergue l'importance de l'examen coproscopique dans le diagnostic des coccidioses.

5. Moyens de lutte

5.1 Traitement

L'approche choisie pour le traitement des coccidioses peut être soit d'utiliser des coccidiostatiques qui empêchent la reproduction des coccidies, soit d'utiliser des coccidiocides qui tuent les coccidies. Les molécules disponibles en France sont présentées dans le tableau 7.

Tableau 7 : Molécules coccidiostatiques disponibles en France chez les animaux de production
(« Index des RCP », 2018)

Molécule	Nom commercial	Fournisseur	Posologie
Amprolium	AMPROLINE®	QALIAN	Volaille : 20 mg/kg pendant 5 à 7 jours PO à diluer dans l'eau de boisson
	COCCIBAL®	SP VETERINARIA	
	COXAPROL®	QALIAN	
	EIMERYL®	GLOBAL VET HEALTH	
	NEMAPROL®	MERIAL	
Sulfadiméthoxine	ACTI-METHOXINE®	LABORATOIRES BIOVE	Bovins, caprins, ovins : 20 à 40 mg/kg pendant 3 jours par voie orale, voie IV, SC ou IM
	AMIDURENE®	LABORATOIRE BIOVE	Lapins, volailles : 50 mg/kg pendant 8 jours PO
	EMERICID®	VIRBAC	Bovins, ovins, caprins, lapins, volailles : 37 à 46,5 mg/kg pendant 5 à 7 jours PO
	METOXYL®	VIRBAC	
	SULFADIMETHOXINE-100®	QALIAN	Lapins, volailles, porcins, ovins, caprins : 40 mg/kg pendant 10 jours PO
	SULFALON®	VIRBAC	Bovins, équins, porcins, volailles, chiens, chats : 20 à 40 mg/kg pendant 3 jours par voie IV ou IM
Decoquate	DECCOX®	ZOETIS	Bovins, ovins : 1 mg/kg pendant 9 semaines PO
	PM14®	DELTA VIT	
	RUMICOX®	CEVA SANTE ANIMALE	
	UCAMIX-V®	QALIAN	

Tableau 7 : Molécules coccidiostatiques disponibles en France chez les animaux de production (suite)
(« Index des RCP », 2018)

Association sulfadiméthoxine / triméthoprime	BIAPRIM®	LABORATOIRE BIARD	Volailles : 18,68 à 37,36 mg/kg de sulfadiméthoxine et 4 à 8 mg/kg de triméthoprime pendant 5 jours PO
	COMPOMIX-V®	QALIAN	Bovins, ovins, porcins, volailles, lapins : 11,6 à 23,2 mg/kg de sulfadiméthoxine et 5 à 10 mg/kg de triméthoprime pendant 6 jours PO
	CORYLAP®	LABORATOIRES BIOVE	Lapins : 37,5 mg/kg de sulfadiméthoxine et 7,5 mg/kg de triméthoprime pendant 5 jours PO
	SULFACYCLINE®	LABORATOIRES BIOVE	Bovins, ovins, caprins, porcins, équins : 12,5 mg/kg de sulfadiméthoxine et 2,7 mg/kg de triméthoprime pendant 3 jours par voie IM ou IV lente
	TRIMEDOXYNE®	MERIAL	Bovins, ovins, caprins, porcins, lapins, volailles : 18,68 à 37,36 mg/kg de sulfadiméthoxine et 4 à 8 mg/kg de triméthoprime pendant 3 à 5 jours PO
	TRIMETHOSULFA-V®	MERIAL	Bovins, ovins, caprins, porcins, lapins, volailles : 18,60 à 27,90 mg/kg de sulfadiméthoxine et 4 à 6 mg/kg de triméthoprime pendant 5 à 10 jours PO
	TRIMETHOX®	CEVA SANTE ANIMALE	Volailles, lapins : 18,68 à 37,36 mg/kg de sulfadiméthoxine et 4 à 8 mg/kg de triméthoprime pendant 5 jours PO
	TRIMETHOSULFA-V®	MERIAL	Bovins, ovins, caprins, porcins, lapins, volailles : 18,60 à 27,90 mg/kg de sulfadiméthoxine et 4 à 6 mg/kg de triméthoprime pendant 5 à 10 jours PO
	TRIMETHOX®	CEVA SANTE ANIMALE	Volailles, lapins : 18,68 à 37,36 mg/kg de sulfadiméthoxine et 4 à 8 mg/kg de triméthoprime pendant 5 jours PO
	TRISULMIX®	MERIAL	Volailles, lapins : 18,68 à 37,36 mg/kg de sulfadiméthoxine et 4 à 8 mg/kg de triméthoprime pendant 5 jours PO

L'amprolium, la sulfadiméthoxine et l'association sulfadiméthoxine / triméthoprime sont des coccidiostatiques. L'amprolium bloque les récepteurs de la thiamine dans la coccidie. La sulfadiméthoxine limite l'entrée de l'acide folique dans la coccidie à l'instar de l'association sulfadiméthoxine / triméthoprime. Le décoquinatate inhibe les transports d'électrons au sein de la chaîne respiratoire dans les mitochondries coccidiennes (Nam *et al.*, 2011) et est administré sous la forme d'aliments médicamenteux. Une fois les récepteurs à la thiamine ou à l'acide folique bloqués, les coccidies sont incapables de continuer à se reproduire (Bossche, 2012).

Une autre considération importante à avoir lorsqu'on utilise des coccidiostatiques dans les cas de coccidioses à *Eimeria macusaniensis* est le fait que les coccidiostatiques ne sont efficaces que sur les premiers stades parasitaires. Étant donnée la durée de la période pré-patente de cette coccidiose, ces stades peuvent ne plus exister au début de l'administration du traitement. Par conséquent, l'emploi d'un coccidiocide dans ce cas peut être préférable. Les coccidiocides ont un effet léthal soit sur les stades sexués soit sur les stades asexués du cycle de développement du parasite, selon l'espèce de coccidies cible.

Deux coccidiocides sont recommandés actuellement dans le traitement des coccidioses cliniques des petits camélidés en Amérique : le ponazuril et le toltrazuril. En France, nous trouvons le toltrazuril et le diclazuril comme étant des coccidiocides chez les ruminants (agneaux, veaux) et chez les porcins. Le ponazuril n'est pas disponible en France (« Index des RCP », 2018)

Le diclazuril est un anticoccidien du groupe des acétonitriles de benzène. Il a une action coccidiocide soit sur les stades sexués soit sur les stades asexués du cycle de développement du parasite selon l'espèce d'*Eimeria*, et interrompt le cycle coccidien et l'excrétion des oocystes pendant environ 2 semaines. Le diclazuril est préconisé chez les agneaux dans la prévention des signes cliniques des coccidioses dues à *Eimeria crandallis* et *Eimeria ovinoivalis*. Chez les veaux, il prévient les signes cliniques des coccidioses dues à *Eimeria bovis* et *Eimeria zuernii* (sensibles au diclazuril).

Le toltrazuril est un dérivé des triazinones. Il est actif contre tous les stades de développement intracellulaire des coccidies : mérogonie (multiplication asexuée) et gamétogonie (phase sexuée) des coccidies du genre *Eimeria* et *Isospora*. (« Index des RCP », 2018). Une liste exhaustive des coccidiocides avec Autorisation de Mise sur Marché (AMM) en France pour les mammifères est présentée dans le tableau 8.

Lors de coccidiose, le toltrazuril présente une longue rémanence, alors que le diclazuril bénéficie d'un temps d'attente nul et d'une absence de contre-indication environnementale. Dans les cas des coccidioses avec des signes cliniques modérés, l'emploi de coccidiostatiques est préférable car ils permettent le développement d'une réponse immunitaire envers l'espèce de coccidie infestante. Cela permet de réduire le risque de coccidioses futures. Dans les cas plus sévères, pour lequel une diminution de la charge infestante et un soulagement immédiats sont recherchés, l'emploi d'un coccidiocide est plus approprié. Toutefois, il faut raisonner l'emploi de toltrazuril afin d'empêcher la création de résistances à ce coccidiocide chez les espèces d'*Eimeria* pathogènes pour les petits camélidés (Stephan *et al.*, 1997).

Tableau 8 : Molécules coccidiocides disponibles en France chez les animaux de production
(« Index des RCP », 2018)

Molécule	Nom commercial	Fournisseur	Posologie
Diclazuril	DIACOX®	CHANELLE PHARMACEUTICAL MANUFACTURING	Veaux, agneaux : 1 mg/kg pendant une seule fois PO
	DICOXAN®	CHANELLE PHARMACEUTICAL MANUFACTURING	
Toltrazuril	BAYCOX BOVIS®	BAYER HEALTHCARE	Veaux : 15 mg/kg une seule fois PO
	BAYCOX OVIS®	BAYER HEALTHCARE	Agneaux : 20 mg/kg une seule fois PO
	CEVAZURIL®	CEVA SANTE ANIMALE	Bovins, porcins : 15 mg/kg une seule fois PO
	CHANOX®	CHANELLE PHARMACEUTICAL MANUFACTURING	Veaux, porcelets, agneaux : 15-20 mg/kg une seule fois PO
	TOLTRANIL®	KRKA	Porcins, ovins : 20 mg/kg une seule fois PO
	TRATOL®	KRKA	
	TOLRACOL®	KRKA	Veaux, porcelets, agneaux : 15-20 mg/kg une seule fois PO

A défaut des études de pharmacocinétique et pharmacodynamiques chez les petits camélidés, l'utilisation des spécialités mentionnées ci-dessus est souvent empirique et en dehors des conditions d'AMM, mais en respectant le principe de la cascade chez les lamas et alpagas. Toutefois, on peut trouver des recommandations dans la littérature concernant le dosage de molécules à administrer (Tableau 9), sans qu'on puisse garantir si les doses d'antiparasitaires utilisées chez les autres herbivores sont suffisantes pour éliminer les parasites chez les camélidés sans risque de provoquer une toxicité du médicament.

Tableau 9 : Traitements des coccidioses chez les lamas et alpagas proposés dans la littérature.

Molécule	Dose (mg/kg)	Voie	Espèce	Étude pharmacocinétique	Étude efficacité	Référence	Commentaire
Décoquinate	0,5	PO	NR	Non	Non	(Cebra <i>et al.</i> , 2014)	Pendant 28 jours. Aliment médicamenteux
Toltrazuril	15-20 5-20	PO	NR	Non	Non	(Ballweber, 2009a)	SID pendant 3 jours
		PO	NR	Non	Non	(Cebra <i>et al.</i> , 2014)	
Ponazuril	20	PO	<i>Lama pacos</i>	Oui	Non	(Prado <i>et al.</i> , 2011)	Une dose, semble sans danger

PO = Per Os ; NR = Non Renseigné

Les antibiotiques ionophores comme le monensin ou la salinomycine sont toxiques pour les camélidés et ne doivent pas être utilisés pour prévenir l'apparition de coccidioses dans ces espèces (Plumlee *et al.*, 1995 ; Al-Wabel, 2012 ; Mousa, 2013). D'autre part, l'emploi d'antibiotiques de cette manière est contraire au principe de l'emploi raisonné des antibiotiques.

La mise en place d'un traitement n'est classiquement recommandé que lorsque le nombre d'oocystes retrouvés dans les fèces est compatible avec l'apparition de signes cliniques chez l'animal. En effet, les agents pathogènes responsables de diarrhées chez les petits camélidés sont très nombreux, donc les anticoccidiens ne sont pas toujours efficaces et employés à mauvais escient, ils peuvent engendrer la sélection de résistances aux anticoccidiens (Stephan *et al.*, 1997 ; Cebra *et al.*, 2003). Toutefois, si la présence d'*Eimeria macusaniensis* est suspectée, la mise en place du traitement est souvent commencée sans se soucier du nombre d'oocystes dans les fèces de l'animal concerné parce que cette espèce peut causer de sérieuses lésions au niveau de l'intestin (Palacios E. *et al.*, 2004 ; Schock *et al.*, 2007). L'ajout d'un anti-inflammatoire peut être recommandé en cas de coccidiose sévère (Johnson *et al.*, 2009).

5.2 Prophylaxie

Dans des conditions naturelles, les coccidies ont tendance à se développer dans des milieux humides et sombres telles que les zones d'accumulation de fumier et de litière qui sont des milieux très propices au développement des coccidies. Afin de limiter le risque d'infestation des animaux par les coccidies, une première mesure consiste en une bonne gestion du fumier : retirer le fumier du lieu de vie des animaux régulièrement permet de supprimer une grande partie de la source infestante.

Une densité animale adaptée et un bon plan d'alimentation sont aussi primordiaux pour permettre aux jeunes animaux de supporter une charge parasitaire plus ou moins importante sans développer de signes cliniques (Cebra *et al.*, 2007). En même temps, la mise en place d'un bilan sanitaire à l'introduction de nouveaux animaux dans l'élevage est primordiale. Un examen coproscopique améliorera la prise en charge et minimisera les risques au reste de l'élevage.

De plus, les crias nouveau-nés et leurs mères doivent être isolés dans des box de maternités propres, secs, préalablement désinfectés et avec une litière abondante confortable pendant au moins 5 à 7 jours post-partum. Ces boxes doivent être localisés dans un bâtiment dédié aux animaux malades (Barrington *et al.*, 2002).

Une bonne hygiène dans l'élevage est aussi un bon moyen de réduire la pression infectieuse (Graat *et al.*, 1998). De nombreux désinfectants sont disponibles dans le commerce pour réduire la pression infectieuse dans les étables. En particulier, les désinfectants à base de crésol se sont montrés capables de tuer les oocystes d'*Eimeria* après avoir laissé le produit agir 2 heures au contact direct des oocystes (Daugochies *et al.*, 2002).

Toutefois, en raison de leur résistance dans le milieu extérieur, l'éradication des coccidies ne peut être envisagée. Dans ces cas, la prophylaxie médicale peut s'avérer parfois

nécessaire en plus d'une prophylaxie sanitaire, en ayant comme objectif de maintenir une population d'oocystes minimale. L'amprolium et le décoquinate sont de bons choix de molécules à utiliser en prophylaxie (Whitehead et Anderson, 2006 ; Johnson *et al.*, 2009). Enfin, il n'existe pas encore de vaccin efficace contre les coccidioses chez les lamas et alpagas mais ils sont en voie de développement chez les volailles (Shivaramaiah *et al.*, 2014).

Le traitement contre les coccidioses inclut l'utilisation d'anticoccidiens avec des propriétés coccidiostatiques ou coccidiocides. Le choix du traitement doit prendre en compte la charge parasitaire, la gravité des signes cliniques et la posologie adaptée selon le principe de la cascade chez le lama et l'alpaga.

Les moyens à mettre en œuvre en premier lieu dans la lutte contre les coccidies sont de bonnes pratiques d'hygiène et d'élevage. Il faut en particulier prendre garde aux animaux les plus à risque (les crias nouveau-nés et les animaux immunodéficients). Aussi, l'administration stratégique d'anticoccidiens est un moyen supplémentaire de contrôle des coccidioses.

CONCLUSION DE LA PREMIÈRE PARTIE

La coccidiose est une maladie digestive provoquée par la colonisation et la destruction de l'épithélium de l'intestin grêle par des protozoaires pathogènes à cycle monoxène. Plusieurs espèces d'*Eimeria* sont capables d'infester les lamas et alpagas avec une virulence variable et la fréquence de détection de ces parasites est aussi variable.

Les mécanismes immunitaires des lamas et alpagas face aux coccidioses sont mal connus, mais il est fort probable que la réponse immunitaire contre les agents pathogènes qui sont intracellulaires soit d'abord à médiation cellulaire puis à médiation humorale, avec une mémoire immunitaire relative et pas d'immunité croisée contre les différentes espèces d'*Eimeria* infestantes.

La coproscopie reste aujourd'hui la méthode de choix pour diagnostiquer les coccidioses. L'efficacité des préparations pharmaceutiques de molécules anticoccidiennes n'a pas été étudiée précisément chez les lamas et alpagas, les mesures de surveillance et les bonnes pratiques d'hygiène en élevage restent les meilleurs moyens de défense contre cette maladie.

DEUXIÈME PARTIE : Étude épidémiologique analytique expérimentale des coccidioses des lamas (*Lama glama*) et alpagas (*Vicugna pacos*) en France métropolitaine.

1 Introduction

Il existe peu d'études en France sur les coccidioses chez les lamas et alpagas. Les données bibliographiques rapportent pourtant une importance réelle de cette maladie dans les élevages à l'étranger y compris dans les pays européens (cf première partie). C'est pour cette raison que l'objectif premier de cette étude est de mettre en évidence des expositions d'intérêts associées à l'excrétion d'œufs d'*Eimeria* dans les fèces des lamas et alpagas en France.

Pour cela, des éleveurs membres de l'Association Française des Lamas et Alpagas (AFLA) ont été recrutés par le biais d'un article que j'ai écrit avec Juliette Loiseaux paru dans le journal biennuel de l'AFLA et qui m'a conduit à présenter mon projet de recherche à une des assemblées générales de cette association à Lyon le 29/01/2017 avec le Dr. Risco-Castillo. Au cours de cette assemblée générale, nous avons défendu les intérêts de cette étude pour les éleveurs de lamas et alpagas dans la gestion sanitaire de leurs élevages.

2 Matériel et méthode

Le laboratoire de parasitologie au sein de la plateforme Biopôle de l'École nationale Vétérinaire d'Alfort situé dans le Biopôle a fourni le matériel nécessaire, ainsi que le protocole nécessaire à la réalisation de cette étude. Cette étude était réalisée au cours du printemps 2017 (les fèces ont été prélevées et envoyées entre mars et juillet 2017). Les prélèvements ont été envoyés par les éleveurs sur la base du volontariat.

2.1 Calcul de la taille d'échantillonnage

Afin de pouvoir calculer l'échantillonnage approximatif à accomplir dans les élevages en France, nous avons utilisé dans un premier temps des données bibliographiques qui indiquent un taux d'animaux excréteurs d'oocystes d'*Eimeria* de 10 % dans des pays tels que le Royaume-Uni (Twomey *et al.*, 2014), où les modèles d'exploitation ressemblent à ceux en France. Ensuite, nous avons utilisé le logiciel EpiInfo® v.7.2.2.6 (Centers for Disease Control and Prevention of USA, CDC) en utilisant la population des petits camélidés en France (lamas et alpagas) dénombrés qui est comprise entre 8000 et 10000 individus (« Recensement des camélidés en France - Sénat », 2013). Nous avons ensuite choisi une fréquence attendue de 10% (prévalence de référence) et une marge d'erreur de 5% qui nous conduit à une taille d'échantillonnage d'au moins 136 individus nécessaires avec un intervalle de confiance de 95% afin de pouvoir extrapoler nos résultats à une prévalence d'au moins 10% sur le totale de la population en France (figure 7).

Figure 7 : Nombre de lamas et alpagas à inclure dans l'échantillon pour avoir 95 % de chances de détecter des oocystes d'*Eimeria*
 (d'après le logiciel EpiInfo® v.7.2.2.6, CDC)

Population survey or descriptive study
 For simple random sampling, leave design effect and clusters equal to 1.

Population size:	9000	Confidence Level	Cluster Size	Total Sample
Expected frequency:	10 %	80%	59	59
Acceptable Margin of Error:	5 %	90%	96	96
		95%	136	136
		97%	166	166
Design effect:	1,0	99%	233	233
		99.9%	374	374
Clusters:	1	99.99%	514	514

2.2 Élevages étudiés

L'engagement des éleveurs participants est révélé par le pourcentage d'animaux prélevés dans chaque élevage, atteignant dans une grande majorité 100 %. D'autre part, ceux qui possédaient un grand nombre d'animaux ne devaient prélever qu'une trentaine d'animaux au maximum choisis au hasard dans l'élevage parce qu'il était impossible d'interpréter plus de 30 prélèvements dans les délais de conservations convenables après prélèvement.

Vingt-cinq élevages membres de l'AFLA ont accepté de participer à l'étude. La répartition des élevages en France est représentée sur la figure 8. Les éleveurs réalisaient eux-mêmes les prélèvements et les envoyaient au Biopôle-Alfort par la Poste dans les 24 heures ayant suivi le prélèvement, à température ambiante. Nous avons collecté les prélèvements de 262 lamas, alpagas et huarizos (croisement entre un lama et un alpaga) provenant de 25 élevages différents (Tableau 10).

Figure 8 : Répartition géographique des éleveurs de lamas et alpagas ayant participé à l'étude (A) comparée à celle de la totalité des éleveurs professionnels membres de l'AFLA (B).

(« Annuaire Pro AFLA », 2019)

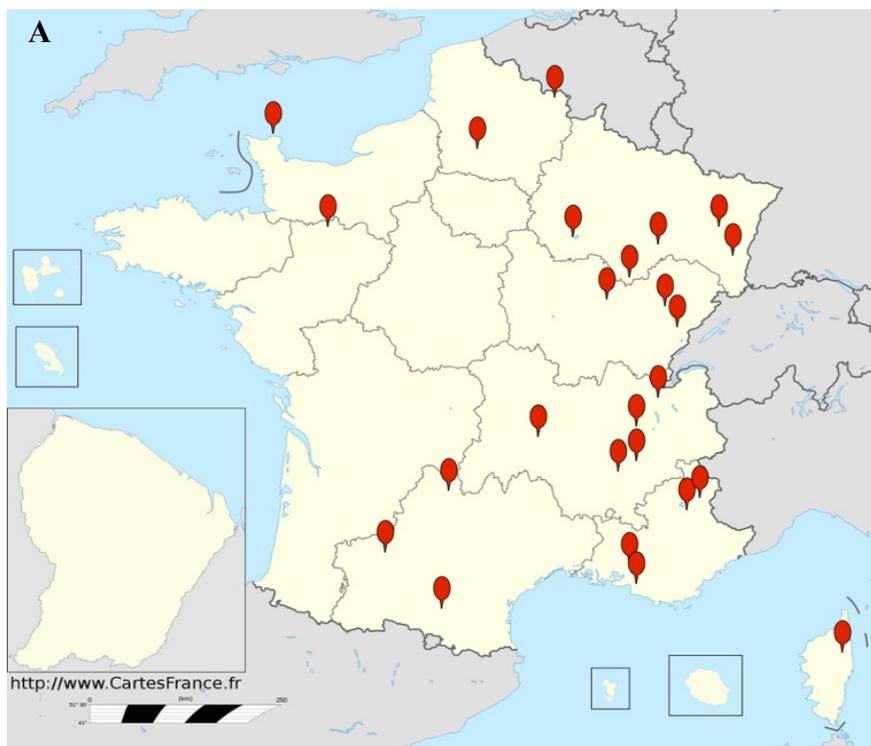


Tableau 10 : Nombre de lamas et alpagas prélevés par élevage participant à l'étude

N° élevage	N° de lamas prélevés / N° de lamas dans l'élevage	N° d'alpagas prélevés / N° d'alpagas dans l'élevage	N° d'animaux prélevés / N° d'animaux dans l'élevage	Taux de prélèvement
1	3 / 5	0 / 0	3 / 5	60 %
2	0 / 0	2 / 2	2 / 2	100 %
3	5 / 5	0 / 0	5 / 5	100 %
4	1 / 8	29 / 73	30 / 81	37 %
5	0 / 0	1 / 4	1 / 4	25 %
6	13 / 47 ^a	4 / 20	19 / 67	28 %
7	0 / 0	3 / 3	3 / 3	100 %
8	2 / 2	4 / 4	6 / 6	100 %
9	5 / 7	2 / 2	7 / 9	78 %
10	11 / 11	0 / 0	11 / 11	100 %
11	1 / 1	12 / 12	13 / 13	100 %
12	1 / 2	0 / 0	1 / 2	50 %
13	0 / 0	6 / 6	6 / 6	100 %
14	4 / 5	4 / 4	8 / 9	89 %
15	0 / 0	1 / 1	1 / 1	100 %
16	11 / 35	0 / 0	11 / 35	31 %
17	14 / 14	2 / 2	16 / 16	100 %
18	5 / 5	0 / 0	5 / 5	100 %
19	5 / 9	2 / 2	7 / 11	64 %
20	19 / 19	1 / 1	20 / 20	100 %
21	2 / 2	19 / 20	21 / 22	95 %
22	11 / 11	0 / 0	11 / 11	100 %
23	22 / 22	0	22 / 22	100 %
24	1 / 2	8 / 10	9 / 12	75 %
25	2 / 10	18 / 70	20 / 80	25 %
Total	138 / 222	114 / 236	252 / 458	55 %

^a 2 prélèvements correspondent à deux huarizos (hybrides lamas/alpagas)

Les éleveurs recevaient en plus du matériel nécessaire à la réalisation des prélèvements une fiche de renseignements à remplir (Annexe 1). Les questions posées nous ont permis d'étudier les différentes expositions auxquelles sont soumis les lamas et les alpagas en France. Ainsi, nous avons classé les données épidémiologiques demandées aux éleveurs selon deux catégories :

1. Paramètres relatifs à l'animal :

- l'âge de l'animal ;
- le sexe de l'animal et si l'animal était castré ;
- l'espèce (lama *versus* alpaga)
- si l'animal était gestant ou pas ;
- si l'animal a des antécédents pathologiques ou pas ;
- si l'animal a déjà fait l'objet de coproscopies.

2. Paramètres relatifs à l'élevage :

- la localisation géographique de l'élevage ;
- le type de relief à l'endroit où se situe l'élevage ;
- le nombre de lamas et/ou d'alpagas présent dans l'élevage ;
- le type d'élevage (exploitation de la laine ou loisir) ;
- la présence d'autres animaux dans l'élevage (bovins, volailles, caprins, ovins, équins) ;
- le type de logement des animaux ;
- la stratégie de vermifugation.

Il était demandé aux éleveurs le nom de l'antiparasitaire interne utilisé (le nom commercial ou la molécule) en tant qu'anthelminthique pour traiter les animaux de l'élevage. Le dosage était demandé sous la forme d'un nombre de doses par rapport aux animaux pour lesquels une préparation pharmaceutique était destinée. Par exemple, un certain médicament pouvait être donné aux animaux à raison de x fois la dose pour les chevaux.

2.3 Réalisation des prélèvements

Les éleveurs ont prélevé leurs animaux selon un protocole (Annexe 2) joint au colis contenant le matériel nécessaire pour les prélèvements à effectuer, fourni par nos soins. Nous avons également envoyé un courrier électronique à tous les éleveurs participant à l'étude dans lequel était fourni un lien vers une vidéo qui montrait la procédure à suivre pour réaliser les prélèvements de fèces qui devaient être collectés directement dans le rectum.

Les prélèvements étaient identifiés par l'éleveur et nous avons attribué à chaque prélèvement un identifiant propre au laboratoire afin de rendre les résultats anonymes (Figure 9).

Figure 9 : Photographie personnelle de prélèvements reçus au BioPôle d'Alfort



2.4 Analyses coproscopiques

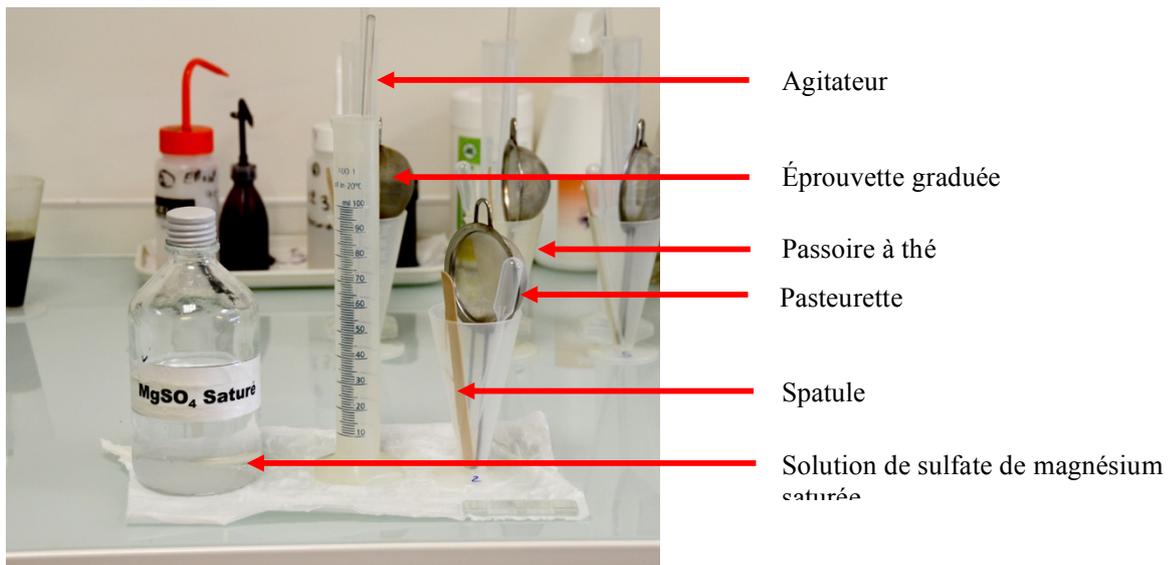
Tous les prélèvements de fèces ont été reçus entre début mars et juillet 2017 par courrier postal. Ils ont été consignés dans le registre d'analyse du Biopôle Alfort. Ils ont été conservés au réfrigérateur (entre 4 et 8 °C) et ont été analysés dans un délai de huit jours après réception.

2.4.1 Préparation du prélèvement

Compte tenu des caractéristiques morphologiques des oocystes de coccidies, nous avons choisi l'analyse coprologique par flottation en solution saturée de sulfate de magnésium (MgSO_4 : $d = 1,28 \text{ g/cm}^3$) pour la concentration des oocystes de coccidies. Cette technique, peu coûteuse, utilise la différence de densité entre les oocystes et la solution ce qui les fait remonter vers la surface. Cette technique permet aussi de réduire la quantité de débris et d'autres structures qui pourraient gêner à la lecture et identification de la préparation. L'analyse qualitative était réalisée à partir d'une suspension de fèces réalisée avec le matériel suivant (Figure 10) :

- prélèvement de fèces (5 grammes dans l'idéal) ;
- solution saturée de MgSO_4 ;
- 1 passoire à thé ;
- compresses tissées
- 1 Pasteurette 1 ml (réf. VWR 612-1734) ;
- 1 agitateur ;
- 1 verre à pied en polypropylène de 100 ml ;
- 1 éprouvette en polypropylène de 100 ml ;
- 1 spatule ;
- essuie-tout, produit désinfectant, balance, marqueur, gants.

Figure 10 : Matériel utilisé pour réaliser la suspension de fèces exploitée dans les différentes analyses coproscopiques



Sur un plan de travail nettoyé et désinfecté au préalable, un volume de matières fécales était déposé dans l'éprouvette et mis en suspension dans 15 volumes de solution saturée de $MgSO_4$. Après filtration à l'aide d'une passoire à thé et des compressees, la suspension filtrée était versée dans le verre à pied.

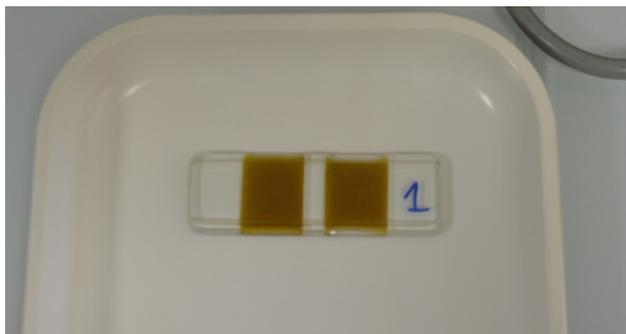
2.4.2 Analyse quantitative par la méthode de MacMaster

Après la suspension du prélèvement fécal dans la solution saturée de $MgSO_4$ nous avons utilisé la technique de Mac Master qui permet la détermination du nombre d'ocystes par gramme de fèces (opg).

Pour ceci, nous avons utilisé la cellule de Mac Master qui est composée de deux compartiments contigus séparés par une cloison, chacun d'entre eux ayant un volume de 0,15 mL. Le plafond de chaque compartiment est divisé en six cellules de 1,7 mm de largeur.

Pour remplir les compartiments de la lame de Mac Master, j'utilisais une Pasteurette et je prélevais à parti d'une suspension fécale homogène en $MgSO_4$. Je remplissais les deux chambres quadrillées de la cellule en évitant la formation de bulles d'air (Figure 11). Je déposais ensuite la cellule ainsi préparée sur un support horizontal et stable et je laissais reposer au moins 10 minutes avant l'observation pour laisser les ocystes remonter contre le verre supérieur de la lame de Mac Master. L'observation de la cellule s'effectuait au microscope à l'objectif x10 (x20 maximum).

Figure 11 : Lame de MacMaster identifiée laissée à reposer dix minutes avant la lecture sur un support stable horizontal.



La méthodologie à suivre pour l'observation au microscope et le dénombrement des oocystes est en regardant à l'intérieur du quadrillage (6 colonnes) de chaque chambre. Chaque oocyste est identifié et compté en utilisant la formule suivante pour déterminer la concentration en opg :

$$\text{OPG} = \frac{N \times \text{VF}}{\text{VC} \times \text{PP}}$$

Avec :

N = moyenne d'oocystes dénombrés dans les deux chambres

VF = volume final de la suspension de fèces dans la solution saturée de MgSO_4 (75 mL)

VC = volume du quadrillage (0,15 mL)

PP = poids du prélèvement (en g)

Donc :

$$\text{OPG} = \frac{N \times 75 \text{ mL}}{0,15 \text{ mL} \times 5 \text{ g}}$$

En résumé, en utilisant 5g de fèces dans 75 mL de solution saturée nous devons multiplier la moyenne des oocystes dénombrés par 100.

2.4.3 Analyse qualitative par flottation totale

L'analyse par flottation totale permettrait de confirmer la présence ou l'absence d'oocystes dans le prélèvement analysé si la concentration est trop faible et la quantification par la méthode de Mac Master n'est plus possible.

J'utilisais la même suspension de fèces que pour l'analyse quantitative par la méthode de MacMaster décrite en II. 3) a. et en plus :

- 1 tube en polypropylène de 15 mL (réf. BD Falcon 352097) ;
- 1 lame ;
- 1 lamelle 22x22 mm.

La flottation de Mc Master et la flottation totale s'effectuaient en même temps. J'utilisais ce qu'il restait dans le verre à pied, je remplissais le tube de 15 mL, disposé sur le portoir, à ras-bord jusqu'à former un ménisque bombant (Figure 12A). Je déposais alors une lamelle sur le tube que je laissais pendant 20 minutes (Figure 12B), avant de retirer la lamelle et de la poser sur une lame. J'observais ensuite cette lame au microscope aux grossissements X10, X20 et X40 voire X100 (avec de l'huile à immersion) pour améliorer l'identification de l'oocyste.

Figure 12 : Montage expérimental utilisé pour l'analyse coproscopique qualitative par flottation totale



A : tube rempli à ras-bord jusqu'à formation d'un ménisque bombant

B : lamelle déposée sur le tube, laissée à reposer vingt minute avant lecture.

La méthode de Mac Master nous permettra la détection d'oocystes à partir d'une charge parasitaire d'au moins 50 opg, tandis que la technique de flottation totale peut s'avérer plus sensible (1-2 opg) en admettant qu'il n'y ait pas de perte d'œufs lors de la manipulation de la lamelle en fin de flottation.

2.5 Analyse épidémiologique des résultats

2.5.1 Tests statistiques utilisés

L'absence de distribution normale des valeurs d'opg d'*Eimeria* nous amène à choisir le test non paramétrique de Mann-Whitney afin de comparer des médianes (Desquilbet, 2017). Pour ce faire, j'ai utilisé le logiciel Microsoft Excel® (v.15.20) pour faire ces calculs. Les individus inclus dans cette étude ne sont pas indépendants entre eux.

Dans cette étude, le risque d'erreur α est fixé à 5 %, ce qui revient à dire que nous considérons que l'hypothèse nulle n'est pas confirmée si la valeur-p est inférieure à α ($p < 0,05$) et donc que la différence entre les groupes confrontés est statistiquement significative.

Nous avons testé des expositions d'intérêt dans cette étude à la lumière de la littérature exposée en première partie. Les hypothèses $H0_x$ que nous allons tester dans cette étude sont :

- $H0_1$: dans la population de lamas et d'alpagas vivant en France, la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les jeunes animaux (âgés de moins de 12 mois strictement) est égale à la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les animaux plus âgés (âgé de 12 mois ou plus) ;
- $H0_2$: dans la population de lamas et d'alpagas vivant en France, la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les lamas est égale à la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les alpagas ;
- $H0_3$: dans la population de lamas et d'alpagas vivant en France, la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les femelles gestantes est égale à la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les femelles non gestantes ;
- $H0_4$: dans la population de lamas et d'alpagas vivant en France, la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les élevages où plusieurs espèces d'animaux vivent mélangés est égale à la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les élevages où il n'y a pas de mélange d'animaux ;
- $H0_5$: dans la population de lamas et d'alpagas vivant en France, la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les élevages où les animaux ne vivent qu'à l'extérieur est égale à la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les élevages où les animaux vivent dans une étable ;

Les autres expositions pour lesquelles nous avons des informations individuelles pour chaque animal (sexe, antécédents médicaux, antécédents de coproscopies, caractéristiques que l'élevage) seront exploitées dans l'étude épidémiologique descriptive.

3 Résultats

Sur les 262 questionnaires que nous avons reçus correspondant aux 25 élevages qui ont participé à l'étude, certaines données relatives à l'élevage ou à l'animal prélevé manquent : sur les 25 élevages recensés, 13 éleveurs n'ont pas renseigné la partie sur les caractéristiques générales de l'élevage et, sur les 262 animaux prélevés, les informations concernant 28 animaux étaient incomplètes.

Parmi les prélèvements envoyés, un groupe composé de 35 alpagas et de 70 lamas représentant 40% (105/262) des animaux de l'étude (figure 13) avait déjà été le sujet de coproscopies avant cette étude et la majorité des éleveurs nous avaient transmis leurs résultats aux feuilles de renseignement. Cependant, les résultats ne décrivaient pas la méthode coprologique utilisée et un seul animal est revenu positif en coccidies alors que 20 % (21/105) de ces animaux se sont révélés positifs dans notre étude.

Concernant les données relevant les protocoles de traitement antiparasitaire interne employés l'information compilée était très hétérogène et difficile à interpréter (tableau 11). Les dosages des différentes préparations pharmaceutiques administrés étaient vagues et impossibles à relier à ce qui est prescrit dans les AMM respectives des médicaments.

Enfin, les réponses à la question concernant les antécédents médicaux des animaux étaient très variables mais en général très vagues et sans action avérée contre les coccidies. Les signes cliniques décrits ne permettaient pas de rattacher les observations en coproscopie à l'état de santé de l'animal. Par exemple, l'animal pouvait être décrit comme maigre au moment de la tonte sans davantage de détails.

Nous avons donc décidé d'écarter ces données lors de notre étude épidémiologique.

Tableau 11 : Principe actif utilisé comme antiparasitaire dans chaque élevage et dose utilisée

N° de l'élevage	Principe actif	Dose
1	Oxfendazole	« 2 fois la dose pour les moutons »
2	Fenbendazole	ND
3	Fenbendazole	« pour 300kg »
4	Moxidectine Ivermectine	ND « 1mL/15kg tous les 8 jours pendant 3 semaines »
5	Ivermectine Fenbendazole	« 2 mL » « Selon le poids »
6	Albendazole Ivermectine	« 2 fois la dose pour les bovins » « 2 fois la dose pour les bovins »
7	Albendazole	ND
8	Vaccin anti clostridien Ivermectine	« 2 mL » ND
9	ND	ND
10	Ivermectine Nétobimin Albendazole	« 2 à 3 fois la dose pour les bovins selon produit »
11	Ivermectine Fenbendazole	« 2 fois la dose pour les bovins » ou « 2 fois le poids de l'animal » « 2 fois la dose pour les bovins »
12	ND	ND
13	Fenbendazole Nétobimin Oxfendazole	ND ND ND
14	ND	ND
15	Fenbendazole	ND
16	Ail	ND
17	Ivermectine Fenbendazole	« 1 mL pour 50kg » « 2mL pour 10 kg »
18	Ivermectine	« 3mL soit 1 mL pour 50 kg »
19	Fenbendazole Praziquantel Albendazole Ivermectine	« 10 mL pour 45 kg sur 5 jours, répété 2 semaines après » « 2 mL pour 10kg une fois » « 8 mL pour 10 kg sur 3 jours » « 1 mL pour 33kg »
20	Closantel Fébantel Pyrantel Moxidectine	ND ND ND ND
21	Fenbendazole Albendazole	ND ND
22	Ivermectine Fenbendazole	ND ND
23	Pyrantel Fenbendazole	« dose multipliée par 2 » « dose multipliée par 2 »
24	Fenbendazole	« 2 fois la dose pour cheval »
25	ND	ND

ND : Non disponible

3.2 Étude épidémiologique descriptive des animaux étudiés

La répartition des animaux de l'échantillon est présentée dans les figures 13 et 14. Les caractères sont présentés sous la forme de questions dans la figure 13. Tous les questionnaires ont été exploités pour obtenir ces figures, les questionnaires pour lesquels certaines informations étaient manquantes sont représentés en gris dans la figure 13. La réponse « oui » au caractère « extérieur » correspond aux animaux élevés uniquement à l'extérieur, sans accès à une étable.

Figure 13 : Répartition des petits camélidés de l'échantillon selon leurs caractéristiques

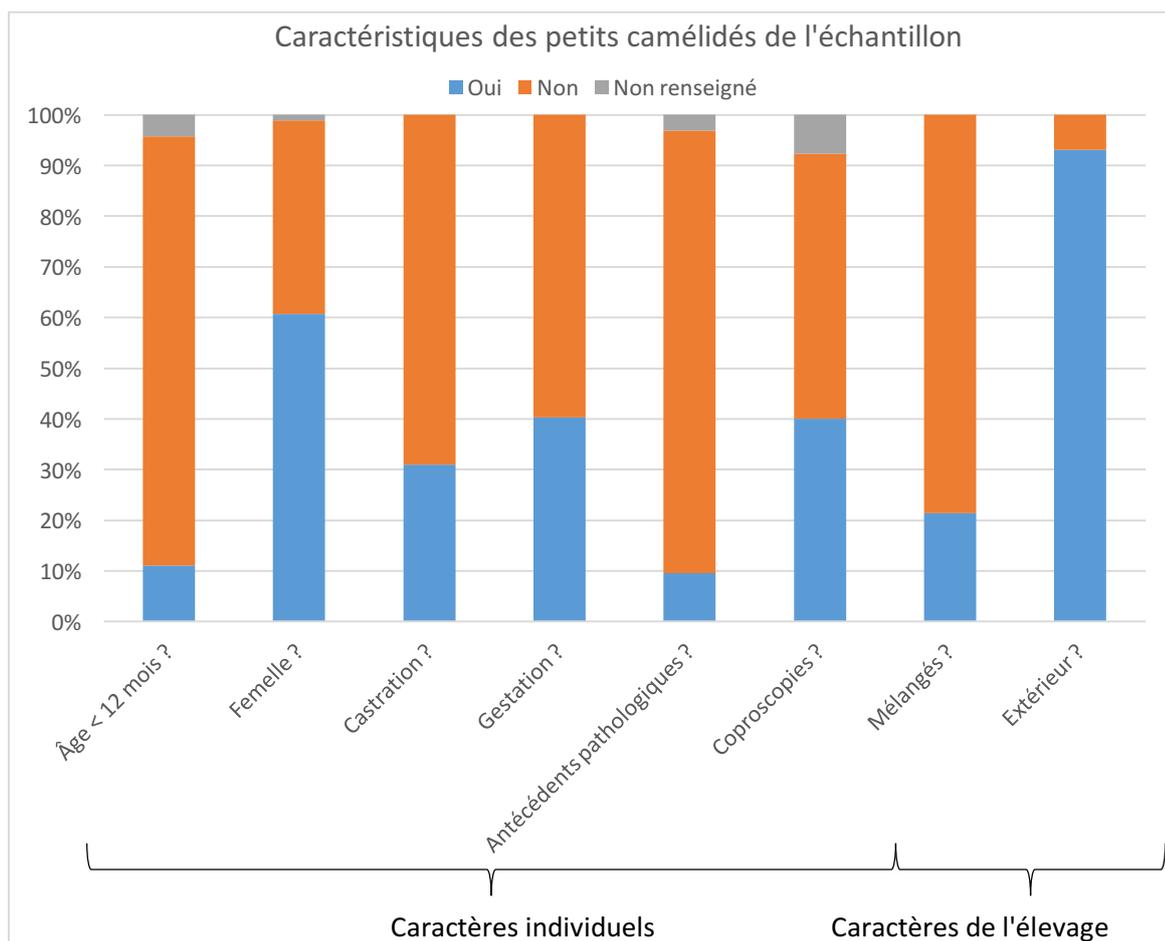
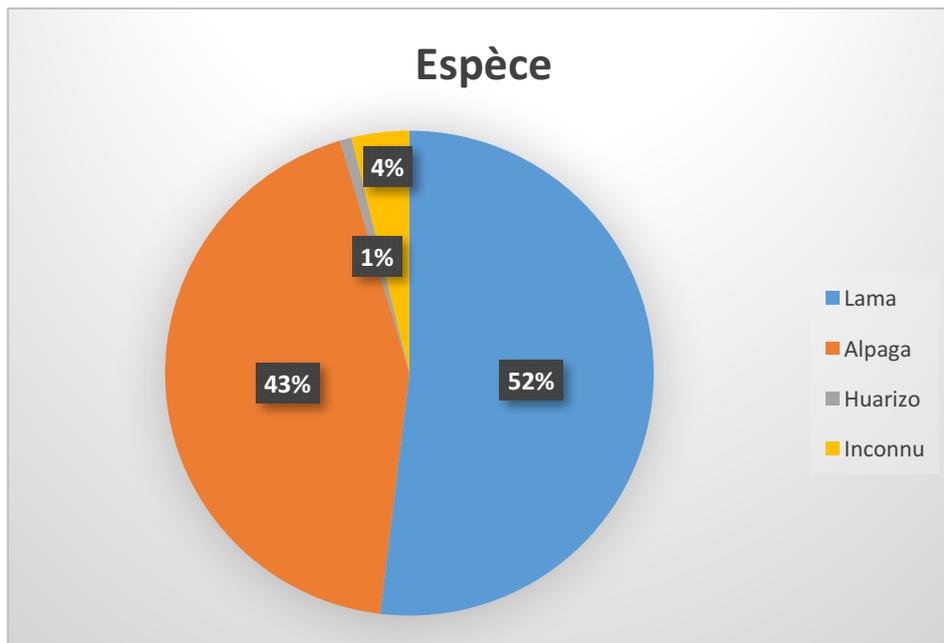


Figure 14 : répartition des petits camélidés de l'échantillon selon leur espèce



L'échantillon de petits camélidés constitué à partir de la population de ces animaux élevés par des membres de l'AFLA se partage presque équitablement entre lamas et alpagas. D'autre part, en ce qui concerne les données qui vont nous intéresser particulièrement par la suite, c'est à dire l'âge des animaux ; le mélange d'animaux au sein de l'exploitation ; l'état de gestation et le type de logement, à l'extérieur ou dans une étable, la répartition des animaux dans l'étude est satisfaisante pour l'étude. Nous nous intéressons particulièrement à ces expositions car elles sont associées dans beaucoup de cas dans la littérature à des cas de coccidiose (Barrington *et al.*, 2002 ; Rawdon *et al.*, 2006 ; McKenna, 2006 ; Cebra *et al.*, 2007 ; Dubey, 2018b).

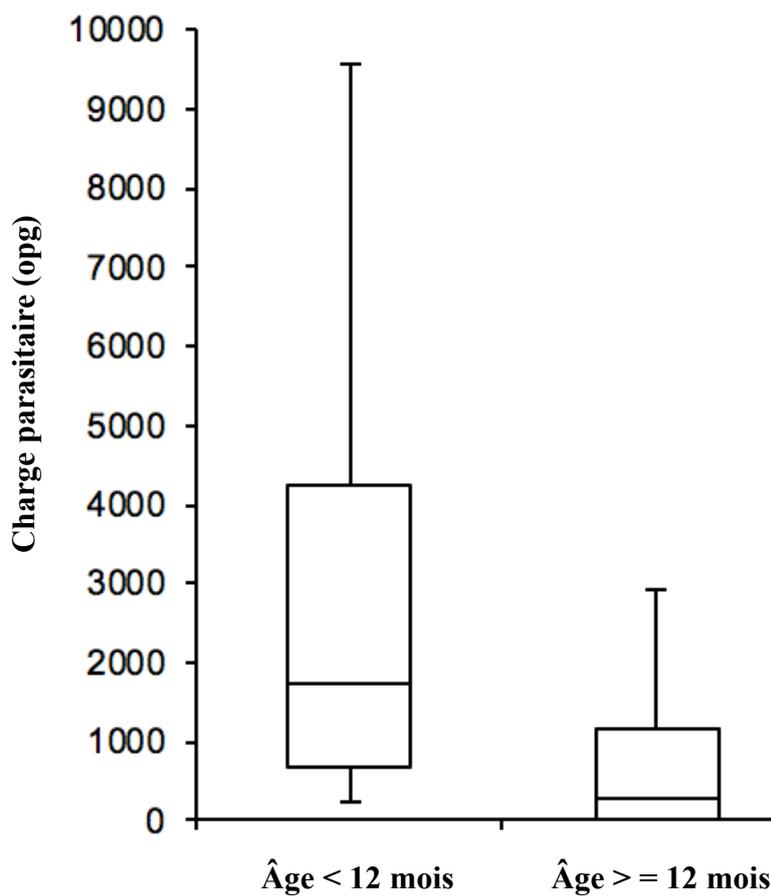
3.2 Étude épidémiologique analytique de l'excrétion des petites coccidies

Nous avons quantifié les oocystes de coccidies de petite taille, qui mesuraient entre 15-25 μm de largeur et 20-35 μm de longueur. Dans la totalité des cas les oocystes observés étaient non sporulés et leur morphologie ne nous permettait pas leur différenciation entre *E. lamae*, *E. alpaca* ou *E. punoensis*. Nous avons ensuite analysé les résultats obtenus selon leurs caractéristiques individuelles ou d'élevage.

3.2.1 Âge des lamas et alpagas

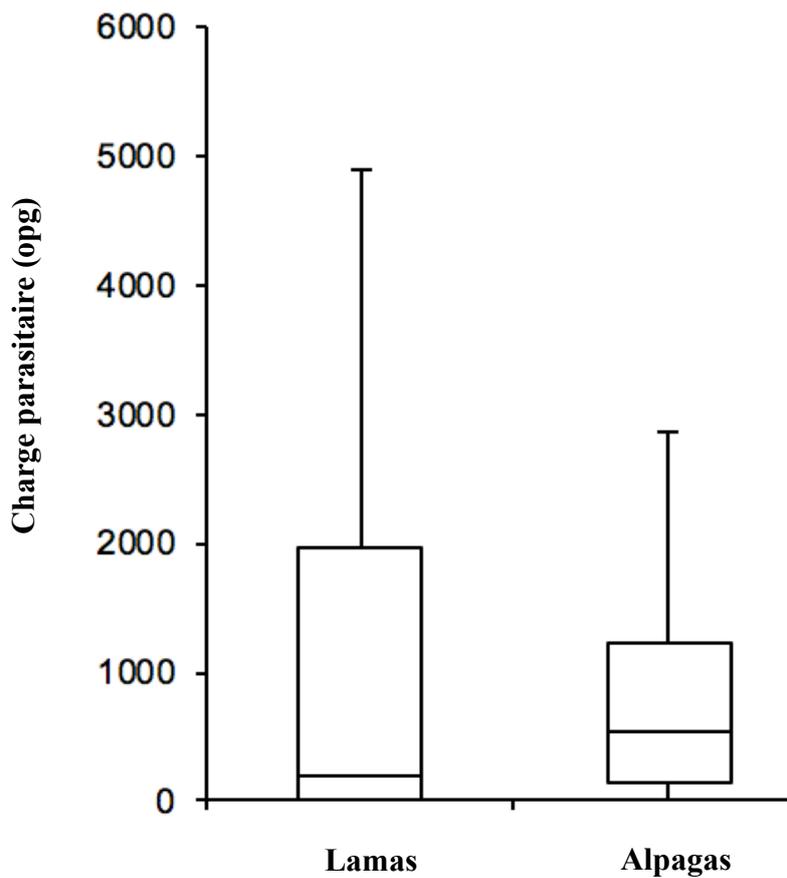
Après comparaison, la médiane de la quantité d’ocystes excrétés parmi les petits camélidés âgés de strictement moins de 12 mois (1750 opg) était significativement différente de la médiane de la quantité d’ocystes excrétés parmi les petits camélidés âgés de 12 mois ou plus (300 opg). Nous avons trouvé une valeur de p égale à $2,54.10^{-6}$ ($p < 0,05$) qui rejette donc H_{01} au risque d’erreur α (Figure 15).

Figure 15 : Boîte à moustache représentant les médianes correspondantes aux séries de données des animaux respectivement âgés de moins de 12 mois strictement et âgé de 12 mois ou plus.



Après comparaison, la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les lamas (200 opg) n'est pas significativement différente de la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les alpagas (550 opg). Nous trouvons une valeur de p égale à 0,152 ($p > 0,05$). On accepte donc H_0 au risque d'erreur β inconnu (Figure 16).

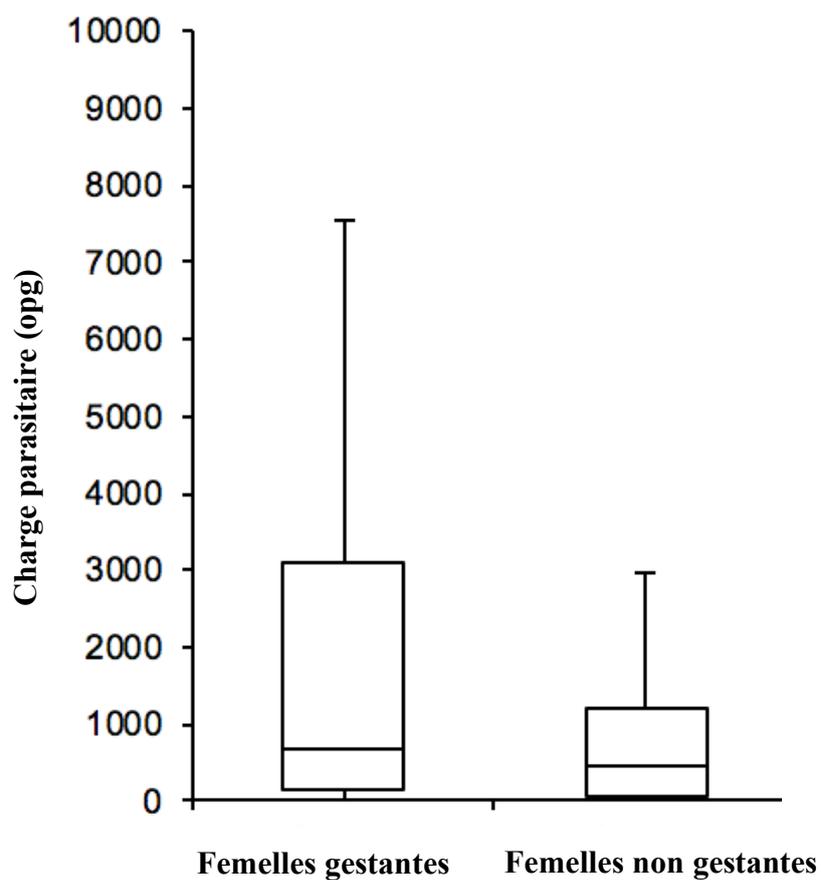
Figure 16 : Boîte à moustache représentant les médianes correspondantes aux séries de données respectives des lamas et alpagas



3.3.1 Gestation

Après comparaison, la médiane de la quantité d’ocystes excrétés parmi les petits camélidés femelles gestantes (675opg) n’est pas significativement différente de la médiane de la quantité d’ocystes excrétés parmi les petits camélidés femelles non gestantes (300 opg). Nous trouvons une valeur de p égale à 0,117 ($p > 0,05$). On accepte donc H_0 au risque d’erreur β inconnu (Figure 17).

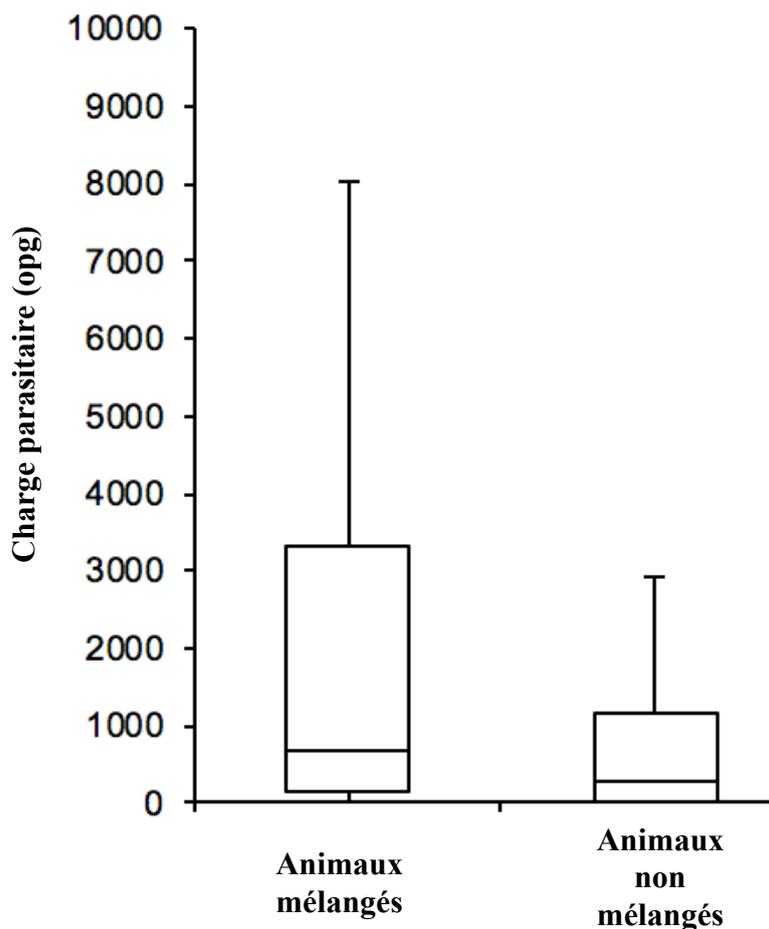
Figure 17 : Boîte à moustache représentant les médianes correspondantes aux séries de données des femelles respectivement gestantes et non gestantes.



3.3.2 Mélange d'animaux

Après comparaison, la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les petits camélidés appartenant à des élevages où différentes espèces d'animaux sont mélangés (700 opg) était significativement différente de la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les petits camélidés appartenant à des élevages où les animaux ne sont pas mélangés (300 opg). Nous avons trouvé une valeur de p égale à $4,57.10^{-2}$ ($p < 0,05$) qui rejette H_0 au risque d'erreur α (Figure 18).

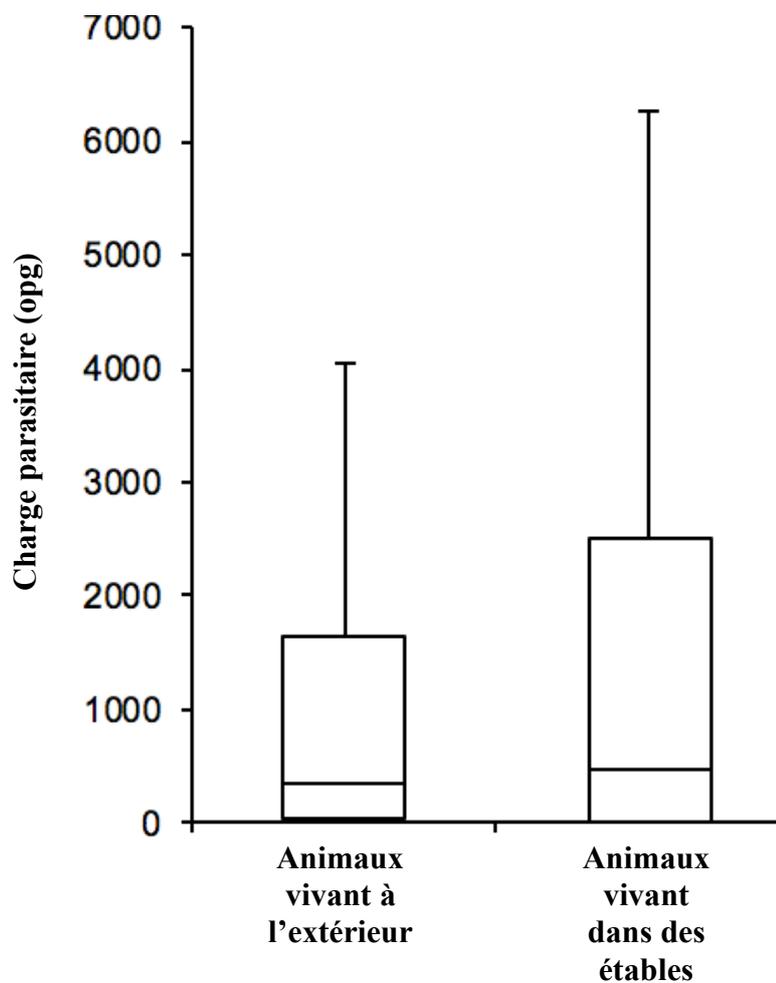
Figure 18 : Boîte à moustache représentant les médianes correspondantes aux séries de données des animaux vivant respectivement dans des élevages où les animaux sont mélangés et dans des élevages où les animaux ne sont pas mélangés.



3.3.3 Type de logement des lamas et alpagas

Après comparaison, la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les petits camélidés vivant à l'extérieur (350 opg) n'est pas significativement différente de la médiane de la quantité d'oocystes excrétés parmi les petits camélidés vivant dans une étable (475 opg). Nous trouvons une valeur de p égale à 0,962 ($p > 0,05$). On accepte donc H_0 au risque d'erreur β inconnu (figure 19).

Figure 19 : Boîte à moustache représentant les médianes correspondantes aux séries de données des animaux vivement respectivement à l'extérieur et dans des étables

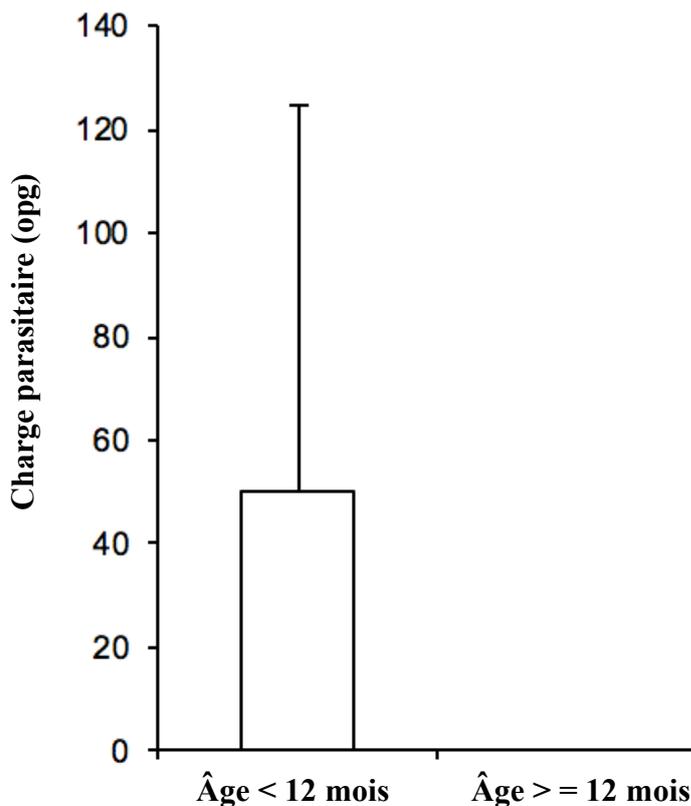


3.3 Étude épidémiologique analytique de l'excrétion d'*Eimeria macusaniensis*

Nous avons quantifié les oocystes de coccidies de grande taille, qui mesuraient 63 à 70 µm de largeur et 88 à 98 µm de longueur. Nous n'avons pas trouvé dans notre échantillon des oocystes appartenant à l'espèce *E. ivitaensis*. Nous avons ensuite analysé les résultats obtenus selon leurs caractéristiques individuelles ou d'élevage.

Malgré le fait que les deux groupes d'âge donnaient les même médianes (0 opg), après analyse statistique, nous avons trouvé que la distribution des valeurs de la quantité d'oocystes excrétés parmi les animaux âgés de strictement moins de 12 mois était significativement différente de la distribution des valeurs de la quantité d'oocystes excrétés parmi les animaux âgés de 12 mois ou plus (figure 18), avec une valeur de p égale à $3,47.10^{-5}$ ($p < 0,05$). On rejette donc H_0 au risque d'erreur α . Dans l'échantillon, la valeur du troisième quartile de la série de valeurs de la quantité d'oocystes excrétés parmi les animaux âgés de strictement moins de 12 mois (50 opg) était supérieur à celui des animaux âgés de 12 mois ou plus (0 opg) (Figure 20).

Figure 20 : Boîte à moustache représentant les médianes correspondantes aux séries de données d'excrétion d'*Eimeria macusaniensis* des animaux âgés respectivement de moins de 12 mois et de 12 mois et plus



Pour les variables « Espèce de petit camélidé », « Gestation », « Mélange d'animaux » et « Type de logement », nous n'avons pas trouvé de différence significative entre les groupes d'animaux concernant l'excrétion d'oocystes d'*Eimeria macusaniensis*, ce qui nous amène à accepter les hypothèses nulles au risque d'erreur β inconnu, avec des valeurs de $p > 0,05$ ($p = 0,625$; $p = 0,967$; $p = 0,216$ et $p = 0,186$ respectivement). Par conséquent, nous avons décidé de ne pas représenter leurs distributions.

Dans notre étude, nous avons réussi à collecter un grand nombre de prélèvements grâce à une bonne communication et surtout à l'intérêt des éleveurs. Ainsi nous avons détecté des charges parasitaires relativement faibles qui sembleraient correspondre à une charge parasitaire cohérente avec le type d'élevage et les soins prodigués par les éleveurs.

Nous avons observé que l'âge (animaux de moins de 12 mois), et l'élevage mixte avec d'autres espèces de bétail, pourraient être des facteurs associés à une détection de charges fécales plus élevées d'oocystes de petites coccidies (*Eimeria lamae*, *Eimeria alpaca* et *Eimeria punoensis*). Dans le cas d'*Eimeria macusaniensis*, seul l'âge semblerait jouer un rôle dans la prévalence d'excrétion de ses oocystes.

4 Discussion

Nous avons atteint des objectifs satisfaisants au cours de cette étude qui nous a permis de mettre en évidence des associations statistiques entre l'âge des animaux et l'excrétion d'oocystes de coccidies par exemple. Cependant, quelques aléas non maîtrisables ont interféré dans cette étude et nous allons les développer dans cette partie. Nous étudierons les limites de cette étude tant au niveau de la constitution de l'échantillon qu'au niveau des résultats obtenus.

4.1 Prise de contact avec les éleveurs, données et prélèvements

Nous avons réussi à intéresser 25 éleveurs à notre étude, ce qui est mieux qu'une autre étude réalisée en France cherchant à répertorier les parasites gastro-intestinaux des lamas et alpagas en France (Ollagnier, 2007). Nous n'avons sélectionné dans notre étude que des éleveurs de lamas et alpagas, professionnels et non professionnels, membres de l'AFLA. Nous avons fait cela car cette association était très motivée par cette étude et nous a permis d'entrer en contact avec des éleveurs. D'autre part, cette organisation nous a laissé la parole au cours de l'une de ses assemblées générales afin que nous puissions présenter notre projet d'étude et ceci a aidé au rapprochement avec les éleveurs et vice-versa.

4.2 Informations recueillies sur les questionnaires

Les questions portant sur la stratégie antiparasitaire de l'élevage en termes de traitements médicamenteux contre les parasites étaient trop vagues, donc les réponses se sont trouvées inexploitable. Toutefois, j'ai remarqué une grande diversité de protocoles chez les différents éleveurs de petits camélidés en France, ce qui est probablement lié à la faible documentation disponible en la matière chez ces espèces. Il serait intéressant de centraliser les données concernant les traitements antiparasitaires réalisés chez ces animaux afin d'établir un protocole universel adapté contre les coccidioses chez les petits camélidés selon le risque par exploitation.

Concernant les animaux, il manque une dizaine de données sur l'âge des animaux. De plus, les éleveurs avaient peu de renseignements sur les animaux qui venaient d'arriver dans leur élevage. Ces informations reflètent une photographie à un temps bien précis de l'élevage et non pas des données absolues sur l'élevage toute l'année. Par exemple, beaucoup d'éleveurs vermifugent aujourd'hui à la suite d'une coproscopie de contrôle au moment de la tonte et les molécules et dosages utilisés varient sur un même animal en fonction des résultats de la coproscopie, sans pour autant prendre des mesures spécifiques contre les coccidies.

4.3 Méthode de MacMaster et manipulations

La technique de coproscopie par flottation est recommandée pour détecter les oocystes d'*Eimeria*, toutefois, les oocystes d'*E. macusaniensis* sont de grande taille, lourds et peuvent ne pas être détectés si le temps de flottation est court ou s'il n'y a pas eu de concentration. De plus, la production d'oocystes en cas d'infestation par *E. macusaniensis* est faible : la production est estimée à moins de 100 oocystes dans la première semaine patente (Cebra *et al.*, 2007). Donc une coproscopie réalisée de manière ponctuelle va difficilement mettre en évidence *Eimeria macusaniensis*, même chez un animal présentant des signes cliniques. Si l'intervention d'*Eimeria macusaniensis* est suspectée, il faut faire plusieurs coproscopies sur une période de quelques semaines en concentrant les œufs potentiels par centrifugation et une solution de flottation saturée est recommandée. Ce protocole n'était pas envisageable dans notre étude par manque de temps et par la complexité d'un tel protocole à imposer aux éleveurs qui n'étaient pas tous familiers avec ce type de prélèvements.

Près de la moitié des prélèvements (107/262 soit 40,8 %) ont été analysés après congélation et non pas sur fèces fraîches si ces derniers ne pouvaient être analysés dans les 72h suivant réception au Biopôle. Beaucoup de prélèvements étaient reçus en même temps et il n'était pas possible de tous les analyser dans un délai optimal de conservation des oocystes, il a donc été choisi de congeler ces prélèvements afin de les conserver plus longtemps en préservant les oocystes. Les oocystes d'*Eimeria* peuvent survivre à la congélation, même à des températures extrêmes si celle-ci est faite progressivement (Norton et Joyner, 1968 ; Doran, 1969). Nous avons congelé progressivement ces prélèvements jusqu'à une température de -24°C puis nous les avons décongelés progressivement au réfrigérateur pendant plusieurs heures avant analyse à 4°C. Les oocystes d'*Eimeria* observés étaient préservés.

Nous n'avons pas cherché à faire la distinction entre les différentes espèces d'*Eimeria* de petite taille car les charges parasitaires restaient faibles et leur pouvoir pathogène est moindre par rapport à *Eimeria macusaniensis* (McKenna, 2006).

Cette étude nous permet d'affirmer qu'*Eimeria spp.* des petits camélidés est bien installée au sein des élevages français de petits camélidés et ce dans plusieurs régions. Ces parasites se sont bien adaptés aux différents environnements en France. Cette information contredit celle que l'on trouve dans une étude réalisée en France en 1988 qui n'a pas identifié de coccidies dans les fèces prélevés sur 7 animaux en France (Gerard, 1988) mais elle va dans le même sens que l'étude menée en 2006 recensant les parasites digestifs des petits camélidés en France portant sur 36 prélèvements dont 6% comportaient des oocystes de coccidies (Ollagnier, 2007).

4.4 Résultats de l'étude analytique

Les questions initiales auxquelles les éleveurs ayant participé à l'étude espéraient une réponse étaient : « Quand faut-il traiter ? Quels sont les facteurs de risque de coccidiose ? ». Je n'ai pas pu répondre à ces questions avec cette étude avec précision car je n'ai pas de méthode de référence dans la littérature expliquant à partir de quelle charge parasitaire en coccidies on considère qu'un animal est forcément malade. En effet, nous ne connaissons pas le seuil d'excrétion d'oocystes à partir duquel on considère qu'un animal est atteint de coccidiose grâce auquel nous aurions pu établir une courbe ROC de cette maladie et déterminer à partir de cette courbe la prévalence de cette maladie en France.

De plus, nous n'avions pas de réel cas de coccidiose attesté par des signes cliniques documentés, donc nous ne pouvions parler que de risque d'excrétion plus forte chez un groupe d'animaux par rapport à un autre et non pas de facteur de risque de coccidiose. Les fèces reçues étaient de consistance et de couleur normale dans la plupart des cas. Une dizaine de prélèvements étaient plus mous que les autres mais cela ne constituait pas une certitude d'anormalité, car la mise à l'herbe au printemps 2016 et le transport ont pu avoir un effet sur leur aspect.

Notre étude porte à dire que les jeunes animaux excrètent davantage que les adultes, mais que ces derniers excrètent également des oocystes (donc ils sont possiblement contaminants) d'où la nécessité de protéger les jeunes animaux en limitant le mélange entre les adultes et les jeunes.

Les animaux de l'étude ne sont pas indépendants les uns des autres, il faut donc prendre les résultats d'association avec précaution. En effet, notamment concernant l'exposition « mélange d'animaux au sein de l'élevage », plusieurs animaux provenant des mêmes élevages ont été pris en compte. Une analyse par région qui aurait permis de nous affranchir de ce problème n'était pas pertinente étant donnée la faible couverture de chaque zone par les prélèvements collectés.

Nous avons pu mettre en évidence des expositions d'intérêt associées à l'excrétion d'oocystes de coccidies mais nous n'avons pas pu établir de lien de causalité. Nous nous

sommes restreints à faire de l'inférence statistique et non causale. En effet, de nombreux biais d'association sont à considérer dans notre étude.

4.4.1 Biais de classement

Le protocole systématisé de réalisation des coproscopies a été réalisé de telle sorte que les erreurs de classement (dire qu'un animal est excréteur d'oocystes alors qu'il ne l'est pas) soient négligeables. En effet, les cellules de Mac Master étaient relues par un observateur expérimenté et si un doute persistait, les lames de flottation totales levaient ce doute. Toutefois, l'excrétion des oocytes des coccidies, notamment pour *Eimeria macusaniensis*, est intermittente. Nous avons donc pu considérer qu'un animal n'était pas excréteur d'oocystes d'*Eimeria macusaniensis* dans l'élevage alors qu'en fait il l'était mais ce n'était pas observable dans le prélèvement analysé.

En ce qui concerne les expositions d'intérêt, évaluées avant le statut excréteur ou non excréteur des animaux, l'âge des animaux, le type de logement (à l'extérieur ou en étable) et l'espèce ne présentent aucune erreur de classement. Quand les éleveurs ne savaient pas répondre à ces questions, ils ne donnaient aucune information ce qui est pris en compte dans les analyses statistiques. En revanche, en ce qui concerne l'état de gestation, il y a une erreur qui est commise de façon indépendante du statut excréteur ou non excréteur de l'animal. En effet, les éleveurs nous donnaient le dernier résultat de diagnostic de gestation effectué sur l'animal mais celui-ci pouvait avoir avorté entre le moment où l'état de gestation a été mis en évidence et la réalisation du prélèvement. D'autre part, quand la femelle a été mise à la reproduction, beaucoup d'éleveurs ont attesté que l'animal était gravide sans contrôle donc sans certitude.

Enfin, en ce qui concerne l'exposition « mélange d'animaux au sein de l'exploitation », le nombre d'animaux exposés est très certainement sous-estimé dans la population cible et malgré l'association significative retrouvée dans notre échantillon, il n'y a pas de risque de transmission d'*Eimeria* entre les différentes espèces de bétail en dehors des petits camélidés.

4.4.2 Biais de sélection

Si on compare la répartition des éleveurs ayant participé à notre étude (cf figure 5) à la répartition des éleveurs de lamas et alpagas en France membres de l'AFLA (annexe 3), nous remarquons que la majorité des prélèvements que nous avons reçus proviennent de l'Est de la France. Or, le climat est très changeant en France en fonction de l'endroit où l'on se trouve. Le climat continental est donc surreprésenté dans notre étude par rapport au climat océanique par exemple. Si le climat océanique est plus favorable au développement de coccidies, ce qui est très probable, alors l'excrétion d'oocystes de coccidies est sous-estimée dans notre échantillon.

Ce biais est issu de la non comparabilité de deux groupes d'individus sur une exposition associée à la maladie. Par exemple, les deux groupes d'individus provenant respectivement d'exploitations où les animaux sont mélangés et ceux provenant d'exploitations où les animaux ne sont pas mélangés ne sont pas comparables, ce qui crée un facteur de confusion qui n'a pas été pris en compte dans le calcul d'association et qui empêche donc de faire de l'inférence causale (figure 21). L'exposition « moins bonnes conditions générales d'élevage » est associée à l'exposition « mélange d'animaux dans l'élevage » sans en être une conséquence directe et à l'excrétion d'oocystes de coccidies sans en être une conséquence directe. C'est donc un facteur de confusion (Loïc Desquilbet, 2018).

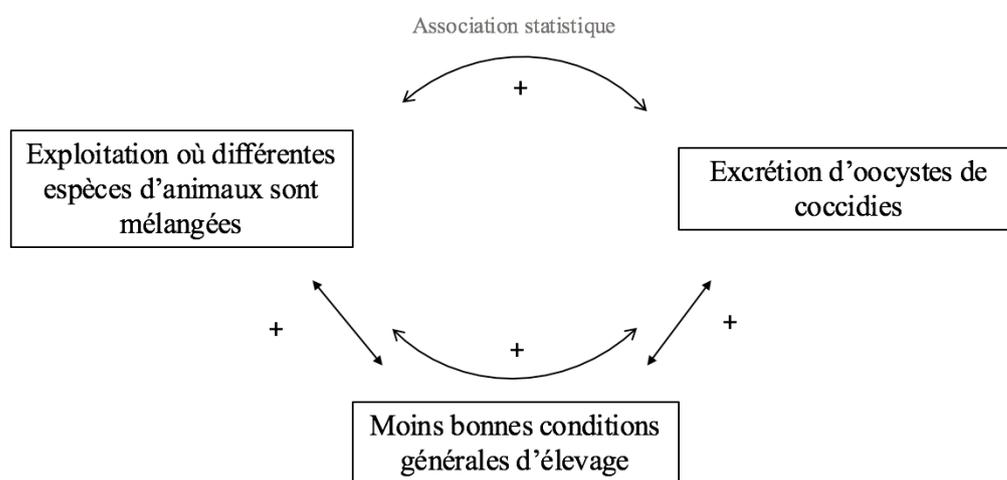


Figure 21 : Schéma représentant la présence du biais de confusion « moins bonnes conditions générales d'élevage » dans notre étude

4.5 Perspectives

Les coccidioses chez les lamas et alpagas restent encore peu connues en France mais dans certains pays, elles peuvent être responsables d'un taux de mortalité considérable chez les jeunes animaux. Il reste beaucoup à apprendre et à faire pour organiser une lutte collective contre cette maladie.

Afin de mieux cerner la situation des différentes zones géographiques en France vis-à-vis des coccidioses des lamas et alpagas et de mieux connaître le risque à l'introduction de tout petits camélidés quelle que soit sa provenance géographique, il serait intéressant d'établir une carte du niveau de risque de coccidiose des petits camélidés en fonction de certains paramètres tels que les taux de prévalence et d'incidence annuelle de l'excrétion de coccidies ainsi que leur évolution, les méthodes de surveillance mises en place, etc. Cela nécessiterait de mener des études épidémiologiques fondées sur des sondages coprologiques harmonisés au sein d'échantillons définis.

De telles études devraient aussi s'abstraire de certains biais inévitables dans la nôtre, tels que le défaut de répartition des élevages participant à notre étude en France et le biais de classement sur l'excrétion d'oocystes d'*Eimeria macusaniensis*. Le problème est que détecter des oocystes n'est pas synonyme de coccidiose car il n'y a pas de valeur seuil à partir de laquelle on considère qu'un individu est malade ou simplement excréteur, contrairement aux coccidioses bovines pour lesquelles il existe des grilles qui suggèrent que les infestations sont faibles à partir d'une excrétion d'oocyste de 1000 opg, moyennes entre 10 000 opg et 200 000 opg et fortes si l'excrétion d'oocystes dépasse 200 000 opg (Anonyme, 2016). Pour *Eimeria macusaniensis*, la détection seule du parasite (comme pour *Eimeria zuernii* ou *Eimeria bovis* chez les veaux) est un signal de risque (Philippe *et al.*, 2014).

En résumé, les coproscopies seules ne sont pas suffisantes pour éviter les coccidioses, mais une évaluation du cheptel et une interprétation des signes cliniques et paramètres zootechniques (surtout chez les jeunes) doivent être prises en compte. Cette évolution dans la surveillance collective de la maladie a été demandée par plusieurs éleveurs participant à notre étude. En complément, la responsable de l'organisation sanitaire au sein de l'AFLA m'a déclarée être intéressée par davantage d'échanges entre vétérinaires et éleveurs sur les parasitoses en général et en particulier sur les coccidioses, notamment concernant les plans de lutte mis en place, leur efficacité et les moyens de financement mis en œuvre. Ici le constat est rassurant car les charges parasitaires mises en évidence dans cette étude sont faibles.

Au sein des efforts de communication sur la coccidiose des petits camélidés, un volet pourrait être dédié à la formation : formation des éleveurs pour leur expliquer la maladie, comment la suspecter et que faire face à un animal infesté ; formation auprès des vétérinaires pour les sensibiliser aux signes cliniques de la maladie, les aider à l'inclure à bon escient dans leurs diagnostics différentiels, mais aussi à savoir quel examen complémentaire demander et quand et enfin comment informer l'éleveur sur la maladie si elle apparaît dans son cheptel.

En complément des résultats de cette étude, il serait également intéressant d'en mener une seconde, auprès des vétérinaires praticiens dans toute la France, de manière notamment à affiner nos résultats en matière d'extension géographique de la coccidiose des petits camélidés. La réalisation de coproscopies de surveillance du cheptel (par groupes d'âge par exemple) pourrait être intéressante, d'autant plus si elles sont centralisées dans un même laboratoire afin que la technique de coproscopie soit systématisée et que le manipulateur reste le même.

Dans la présente étude, nous avons analysé la prévalence d'excrétion d'oocystes de coccidies en France. Dans la continuité de ce travail, il convient de s'interroger sur l'apparition réelle de signes cliniques chez les animaux excréteurs afin de savoir si la mise en place d'un traitement antiparasitaire est requise ou non et de quel traitement il s'agit. Certains éleveurs participant à cette étude ont soulevé cette question au cours de l'assemblée générale de l'AFLA en janvier 2017. Cette question démontre une méconnaissance de cette maladie en France tant par les éleveurs que par les vétérinaires chez les petits camélidés et une nécessité d'harmoniser les traitements mis en place en France afin d'évaluer objectivement leur efficacité contre les coccidioses. Il serait aussi intéressant d'étudier la question du coût que ces traitements représentent et des bénéfices qu'ils apportent.

CONCLUSION

L'objectif de cette étude était de déterminer d'une part la proportion d'animaux excréteurs de coccidies parmi les lamas et alpagas en France et de quelles espèces d'*Eimeria* il s'agissait, d'autre part de mettre en évidence des expositions qui seraient associées au sein des élevages de lamas et alpagas en France à une plus forte excrétion d'oocystes de coccidies. Pour ce faire, nous nous sommes appuyés sur les formulaires de renseignements complétés par les éleveurs et nous avons réalisé des coproscopies par la méthode de Mac Master et par flottation totale sur les prélèvements envoyés par les éleveurs au laboratoire de parasitologie du Biopôle d'Alfort.

Les résultats mettent en évidence une forte prévalence de l'excrétion d'oocystes de petites coccidies par les petits camélidés élevés en France (70,5 % des animaux excréteurs) mais des charges parasitaires faibles ou modérées (0 - 500 opg en moyenne). Une association entre les charges parasitaires en fonction de l'âge des animaux était repérée, avec une probabilité plus importante d'excrétion d'oocystes chez des jeunes animaux (moins de 12 mois).

Malgré le risque d'une perte de sensibilité inhérente à notre étude, nous avons pu constater la présence d'oocystes d'*Eimeria macusaniensis* dans certains élevages. Bien qu'on n'ait identifié que de faibles charges parasitaires (0 - 150 opg en moyenne), on a réussi à trouver une association statistique entre le taux d'excrétion et l'âge de l'animal, les animaux âgés de moins de 12 mois se trouvant plus excréteurs d'oocystes de coccidies que les animaux âgés de plus de 12 mois.

Nous n'avons pas pu mettre en évidence d'association entre l'excrétion d'oocystes de coccidies et l'état de gestation, le type de logement, l'espèce de l'animal (lama ou alpaga) contrairement à d'autres études citées dans ce travail. Le fait d'avoir fait les prélèvements au printemps de l'année 2016 (entre les mois de février et mai) aurait pu réduire l'exposition des animaux de l'étude aux coccidies dans l'environnement (mise à l'herbe récente).

La pratique de surveillance par coproscopie et évaluation de l'état général de l'animal après la tonte, mise en place par certains éleveurs, est une pratique à encourager. Ce système permet de prendre précocement des mesures d'hygiène optimales et d'adapter au besoin les protocoles thérapeutiques dans les élevages de petits camélidés contaminés. Ces protocoles thérapeutiques ont par ailleurs besoin d'une harmonisation.

BIBLIOGRAPHIE

- ADL S.M., LEANDER B.S., SIMPSON A.G.B., *et al.* (2007) Diversity, Nomenclature, and Taxonomy of Protists. *Syst. Biol.* 56(4), 684-689
- ADL S.M., SIMPSON A.G.B., LANE C.E., *et al.* (2012) The Revised Classification of Eukaryotes. *J. Eukaryot. Microbiol.* 59(5), 429-514
- AHMAD T.A., EL-SAYED B.A., EL-SAYED L.H. (2016) Development of immunization trials against *Eimeria* spp. *Trials Vaccinol.* 5, 38-47
- ALLEN P.C., FETTERER R.H. (2002) Recent Advances in Biology and Immunobiology of *Eimeria* Species and in Diagnosis and Control of Infection with These Coccidian Parasites of Poultry. *Clin. Microbiol. Rev.* 15(1), 58-65
- AL-WABEL N.A. (2012) Sensitivity and fatality of salinomycin to saudi dromedary camels: A pilot study. *J. Camel Pract. Res.* 19(1), 57-64
- ANDERSON N.V., ANDERSON D.E., LEIPOLD H.W., *et al.* (1995) Septicemic salmonellosis in two llamas. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 206(1), 75-76
- Annuaire Pro AFLA (2019) . In Google My Maps. [<https://www.google.com/maps/d/viewer?mid=1WdA9v6O4YqNblLkoR-9PIRE-fk0&hl=fr>] (consulté le 09/01/2019).
- Anonyme (2016) Grille d'interprétation des résultats de coproscopie chez les bovins. Laboratoire départemental d'analyse du Tarn
- AUGUSTINE P.C., DANFORTH H.D. (1986) A Study of the Dynamics of the Invasion of Immunized Birds by *Eimeria* Sporozoites. *Avian Dis.* 30(2), 347-351
- AURIS BELLIDO E., SANTIAGO CAHUANA B. (2013) Agentes parasitarios que causan diarreas en crías (5-90 días) de alpacas (*Lama pacos*) en la comunidad campesina de Pilpichaca. *Univ. Nac. Huancavelica*
- BALLWEBER L.R. (2009a) Ecto- and Endoparasites of New World Camelids. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract., Alpaca and Llama Health Management* 25(2), 295-310
- BALLWEBER L.R. (2009b) Ecto- and Endoparasites of New World Camelids. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract., Alpaca and Llama Health Management* 25(2), 295-310
- BARRINGTON G.M., GAY J.M., EVERMANN J.F. (2002) Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 18(1), 7-34
- Beugnet, F., Polack, B., Dang, H. (2004) Atlas de coproscopie. Clichy, Kalianxis
- BILDFELL R.J., LÖHR C.V., TORNQUIST S.J. (2012) Diagnostic sampling and gross pathology of New World camelids. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 28(3), 577-591
- BOSSCHE H.V. den (2012) Comparative Biochemistry of Parasites. Elsevier
- BUSSIÉRAS J., CHERMETTE R. (1992a) Abrégé de Parasitologie vétérinaire: Fascicule II: Protozoologie vétérinaire. *Maison Alfort ENValfort Ed. Par Serv. Parasitol.-P*
- BUSSIÉRAS J., CHERMETTE R. (1992b) Fascicule I: Parasitologie générale. *Abr. Parasitol. Vét. Ed. Alfort*
- CAFRUNE M.M., MARÍN R.E., RIGALT F.A., ROMERO S.R., AGUIRRE D.H. (2009) Prevalence of *Eimeria macusaniensis* and *Eimeria ivitaensis* in South American camelids of Northwest Argentina. *Vet. Parasitol.* 162(3), 338-341
- CEBRA C.K., CEBRA M.L., GARRY F.B., BELKNAP E.B. (1996) Forestomach acidosis

- in six New World camelids. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 208(6), 901-904
- CEBRA C.K., MATTSON D.E., BAKER R.J., SONN R.J., DEARING P.L. (2003) Potential pathogens in feces from unweaned llamas and alpacas with diarrhea. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 223(12), 1806-1808
- CEBRA C.K., VALENTINE B.A., SCHLIPF J.W., *et al.* (2007) *Eimeria macusaniensis* infection in 15 llamas and 34 alpacas. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 230(1), 94-100
- CEBRA C.K., STANG B.V., SMITH C.C. (2011) Development of a nested polymerase chain reaction assay for the detection of *Eimeria macusaniensis* in camelid feces. *Am. J. Vet. Res.* 73(1), 13-18
- Cebra, Anderson, G., Tibary, A., Van Saun, R., Johnson, L.W. (2014) Parasitic gastroenteritis. In *Llama and Alpaca Care. Medicine, Surgery, Reproduction, Nutrition, and Health Care*. St. Louis, MO, USA, Saunders Elsevier, pp 501-512
- CEBRA C.K., STANG B.V. (2008) Comparison of methods to detect gastrointestinal parasites in llamas and alpacas. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 232(5), 733-741
- C.H. Gardiner, R. Payer, J.P. Dubey (1988) Atlas of Protozoan Parasites in Animal Tissues. In *An Atlas of Protozoan Parasites in Animal Tissues, Agriculture Handbook*. Department of Agriculture, pp 20-30
- CHENEY J.M., ALLEN G.T. (1989) Parasitism in llamas. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 5(1), 217-225
- CHIGERWE M., MIDDLETON J.R., WILLIAMS F., TYLER J.W., KREEGER J.M. (2007) Atypical Coccidiosis in South American Camelids. *J. Vet. Diagn. Invest.* 19(1), 122-125
- CORDERO A., HUANCA W., DÍAZ P., *et al.* (2011) Infection by gastrointestinal parasites in alpacas (*Lama pacos*) from Southern Peru. In *Proceedings of the XII Congreso Iberico de Parasitologia SOCEPA*. pp 5-8
- CORNELISSEN J.B.W.J., SWINKELS W.J.C., BOERSMA W.A., REBEL J.M.J. (2009) Host response to simultaneous infections with *Eimeria acervulina*, *maxima* and *tenella*: A cumulation of single responses. *Vet. Parasitol.* 162(1), 58-66
- COSTARELLA C.E., ANDERSON D.E. (1999) Ileoceocolic intussusception in a one-month-old llama. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214(11), 1672-3, 1640
- DAUGSCHIES A., BÖSE R., MARX J., TEICH K., FRIEDHOFF K.T. (2002) Development and application of a standardized assay for chemical disinfection of coccidia oocysts. *Vet. Parasitol.* 103(4), 299-308
- DAUGSCHIES A., NAJDROWSKI M. (2005) Eimeriosis in Cattle: Current Understanding. *J. Vet. Med. Ser. B* 52(10), 417-427
- DEBROY C., MADDOX C.W. (2001) Identification of virulence attributes of gastrointestinal *Escherichia coli* isolates of veterinary significance. *Anim. Health Res. Rev.* 2(2), 129-140
- Desquilbet (2017) Bases en biostatistiques. Polycopié. École nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité de Compétence Culture et Outils Scientifiques.
- DÍAZ P., PANADERO R., LÓPEZ R., *et al.* (2016) Prevalence and risk factors associated to *Eimeria* spp. infection in unweaned alpacas (*Vicugna pacos*) from Southern Peru. *Acta Parasitol.* 61(1), 74-78
- DORAN D.J. (1969) Cultivation and freezing of poultry coccidia. *Brno Acta Univ Agr Fac Vet*
- DORAN D.J., FARR M.M. (1962) Excystation of the Poultry Coccidium, *Eimeria acervulina*. *J. Protozool.* 9(2), 154-161

- DORCHIES P., DUNCAN J., LOSSON B., ALZIEU J.P. (2012) Parasitologie clinique des bovins. Med'Com
- DOWD O., CATHERINE M. (2014) Diseases of New World Camelids. [<http://belanich.pbworks.com/w/page/13055422/Protozoa-and-Bacteria>] (consulté le 02/03/2019).
- DUBEY J.P. (2018a) A review of coccidiosis in South American camelids. *Parasitol. Res.* , 1–15
- DUBEY J.P. (2018b) A review of coccidiosis in South American camelids. *Parasitol. Res.* 117(7), 1999–2013
- DUBREMETZ J.F. (1990) Caractéristiques communes de l'invasion de la cellule-hôte par les sporozoaires. *Ann. Parasitol. Hum. Comparée* 65, 23-25
- DUFOUR E., GOEPFERT N., GUTIÉRREZ LÉON B., *et al.* (2014) Pastoralism in Northern Peru during Pre-Hispanic Times: Insights from the Mochica Period (100–800 AD) Based on Stable Isotopic Analysis of Domestic Camelids. *PLoS ONE* 9(1)
- EIMER T. (1870) Ueber die ei- oder kugelförmigen sogenannten Psorospermien der Wirbelthiere ... A. Stuber
- ESTEBAN L., THOMPSON J. (1988) The Digestive System of New World Camelids - Common Digestive Diseases of Llamas. *Iowa State Univ. Vet.* 50(2)
- FAYER R. (1980) Epidemiology of protozoan infections: The coccidia. *Vet. Parasitol.* 6(1), 75-103
- FOREYT W.J., LAGERQUIST J. (1992) Experimental Infections of *Eimeria alpaca* and *Eimeria punoensis* in Llamas (*Lama glama*). *J. Parasitol.* 78(5), 906-909
- FOWLER M.E. (1998) *Medicine and surgery of South American camelids: llama, alpaca, vicuna, guanaco*, 2nd ed. Iowa, Iowa State University Press.
- Fowler (2010) Parasites. *In Medicine and Surgery of Camelids*, 3rd ed. Ames, IA, USA, Wiley-Blackwell, pp 231-271
- Fowler, M. (1998) *Medicine and surgery of South American camelids: llama, alpaca, vicuña, guanaco.*, 2nd ed. USA, Iowa State University Press
- FRIEND S.C., STOCKDALE P.H. (1980) Experimental *Eimeria bovis* infection in calves: a histopathological study. *Can. J. Comp. Med.* 44(2), 129
- GAULY M., VAUGHAN J. (s. d.) ENDOPARASITE INFECTIONS IN ALPACAS (LAMA PACOS) IN RELATION TO THEIR GENETIC BACKGROUND.
- GERARD B. (1988) Les camélidés sud-américains du genre *Lama* et leur faune parasitaire
- GRAAT E.A.M., VAN DER KOOIJ E., FRANKENA K., *et al.* (1998) Quantifying risk factors of coccidiosis in broilers using on-farm data based on a veterinary practice. *Prev. Vet. Med.* 33(1), 297-308
- GRUND S., VOGEL M., MÜLLING C.K.W. (2018) Morphometric evaluation of the growth of Alpacas (*Vicugna pacos*) from birth to 36 months of age. *Small Rumin. Res.* 166, 61-65
- GUERRERO C.A. (1967) Coccidia (Protozoa: Eimeriidae) of the Alpaca *Lama pacos**. *J. Protozool.* 14(4), 613-616
- GUERRERO C.A., ALVA J., LEGUÍA G., BAZALAR H. (1970) Prevalencia de coccidias (Protozoa: Eimeriidae) en alpacas, *Lama pacos*. *Bol Ext IVITA* 4, 84–90
- GUERRERO C.A., HERNANDEZ J., BAZALAR H., ALVA J. (1971) *Eimeria macusaniensis* n. sp. (Protozoa: Eimeriidae) of the Alpaca *Lama pacos*. *J. Protozool.* 18(1), 162-163
- HAKE T.G. (1839) *A Treatise on Varicose Capillaries, as Constituting the Structure of*

Carcinoma of the Hepatic Ducts, and Developing the Law and Treatment of Morbid Growths, with an Account of a New Form of the Pus Globule, by Thomas Gordon Hake,... Taylor and Walton

HERTZBERG H., KOHLER L. (2006) Prevalence and significance of gastrointestinal helminths and protozoa in South American Camelids in Switzerland. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 119(7-8), 291-294

HONG Y.H., LILLEHOJ H.S., LEE S.H., DALLOUL R.A., LILLEHOJ E.P. (2006) Analysis of chicken cytokine and chemokine gene expression following *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella* infections. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 114(3), 209-223

HYUGA A., MATSUMOTO J. (2015) A survey of gastrointestinal parasites of alpacas (*Vicugna pacos*) raised in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* , 15-0546

Index des RCP (2018) . [<http://www.ircp.anmv.anses.fr/>] (consulté le 30/10/2018).

ISOBE T., LILLEHOJ H.S. (1993) Dexamethasone suppresses T cell-mediated immunity and enhances disease susceptibility to *Eimeria mivati* infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 39(4), 431-446

IVANY J.M., ANDERSON D.E., BIRCHARD S.J., MATTOON J.R., NEUBERT B.G. (2002) Portosystemic shunt in an alpaca cria. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 220(11), 1696-1699

JACKSON A.R.B. (1962) Excystation of *Eimeria Arloingi* (Marotel, 1905): Stimuli from the Host Sheep. *Nature* 194(4831), 847-849

JARVINEN J.A. (1999) Prevalence of *Eimeria macusaniensis* (Apicomplexa: Eimeriidae) in Midwestern Lama spp. *J. Parasitol.* 85(2), 373-376

JARVINEN J.A. (2008) Infection of Llamas with Stored *Eimeria macusaniensis* Oocysts Obtained From Guanaco and Alpaca Feces. *J. Parasitol.* 94(4), 969-972

JEURISSEN S.H.M., JANSE E.M., VERMEULEN A.N., VERVELDE L. (1996) *Eimeria tenella* infections in chickens: aspects of host-parasite: interaction. *Vet. Immunol. Immunopathol., Proceedings of the International Veterinary Immunology Symposium* 54(1), 231-238

JOHNSON A.L., STEWART J.E., PERKINS G.A. (2009) Diagnosis and treatment of *Eimeria macusaniensis* in an adult alpaca with signs of colic. *Vet. J.* 179(3), 465-467

Johnson (2016) Overview of Llamas and Alpacas. *In Veterinary Manual.* [<https://www.msddvetmanual.com/exotic-and-laboratory-animals/llamas-and-alpacas/overview-of-llamas-and-alpacas>] (consulté le 16/02/2019).

Kiesling (2017) THE CAMELID REGISTRY LAREU: WHAT ARE WE BREEDING IN EUROPE? *In 7th European Symposium on South American Camelids and 3rd European Meeting on Fibre Animals*, Assisi, Italy

KOGUT M.H., EIRMAN L. (1991) The effect of cyclosporin a on the development of *Eimeria* in non-specific hosts. *Int. J. Parasitol.* 21(8), 979-983

LAURENT F., MANCASSOLA R., LACROIX S., MENEZES R., NACIRI M. (2001) Analysis of Chicken Mucosal Immune Response to *Eimeria tenella* and *Eimeria maxima* Infection by Quantitative Reverse Transcription-PCR. *Infect. Immun.* 69(4), 2527-2534

LEE S.H., LILLEHOJ H.S., PARK D.W., *et al.* (2009) Induction of passive immunity in broiler chickens against *Eimeria acervulina* by hyperimmune egg yolk immunoglobulin Y. *Poult. Sci.* 88(3), 562-566

LEGUÍA G. (1991) The epidemiology and economic impact of llama parasites. *Parasitol. Today* 7(2), 54-56

LEGUÍA G., CASAS E. (1998) *Eimeria ivitaensis* (Protozoa: Eimeridae) en alpacas Lama

- pacos. *Rev Parasitol* 13, 59–61
- LENGHAUS C., O'CALLAGHAN M., ROGERS C. (2004) Coccidiosis and sudden death in an adult alpaca (*Lama pacos*). *Aust. Vet. J.* 82(11), 711-712
- Les lamas et les alpagas - Les Lamas du Tilloux (2018) . [<http://boutique-lamasdutilloux.fr/fr/content/7-les-lamas-et-les-alpagas>] (consulté le 30/10/2018).
- LILLEHOJ H.S. (1987) Effects of immunosuppression on avian coccidiosis: cyclosporin A but not hormonal bursectomy abrogates host protective immunity. *Infect. Immun.* 55(7), 1616-1621
- LILLEHOJ H.S. (1989) Intestinal intraepithelial and splenic natural killer cell responses to eimerian infections in inbred chickens. *Infect. Immun.* 57(7), 1879-1884
- LILLEHOJ H.S., MIN W., DALLOUL R.A. (2004) Recent progress on the cytokine regulation of intestinal immune responses to *Eimeria*. *Poult. Sci.* 83(4), 611-623
- LILLEHOJ H.S., BACON L.D. (1991) Increase of Intestinal Intraepithelial Lymphocytes Expressing CD8 Antigen Following Challenge Infection with *Eimeria acervulina*. *Avian Dis.* 35(2), 294-301
- LILLEHOJ H.S., TROUT J.M. (1993) Coccidia: A review of recent advances on immunity and vaccine development. *Avian Pathol.* 22(1), 3-31
- LILLEHOJ H.S., TROUT J.M. (1994) CD8+ T cell-coccidia interactions. *Parasitol. Today* 10(1), 10-14
- LILLEHOJ H.S., TROUT J.M. (1996) Avian gut-associated lymphoid tissues and intestinal immune responses to *Eimeria* parasites. *Clin. Microbiol. Rev.* 9(3), 349-360
- Lindsay, Todd (2012) Chapitre 2 : Coccidia of Mammals. In *Parasitic Protozoa*, Academic Press Inc (2nd ed). ed. California, Academic Press, pp 89-126
- Loïc Desquilbet (2018) Épidémiologie en recherche clinique. Polycopié. École nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité de Compétence Culture et Outils Scientifiques.
- LONG P.L., ROSE M.E. (1970) Extended schizogony of *Eimeria mivati* in betamethasone-treated chickens. *Parasitology* 60(1), 147-155
- LOPES W.D.Z., BORGES F. de A., FAIOLLA T. de P., *et al.* (2013) *Eimeria* species in young and adult sheep raised under intensive and / or semi-intensive systems of a herd from Umuarama city, Parana State, Brazil. *Ciênc. Rural* 43(11), 2031-2036
- MARÍN J.C., ZAPATA B., GONZALEZ B.A., *et al.* (2007) Systematics, taxonomy and domestication of alpaca and llama: new chromosomal and molecular evidence. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 80(2), 121-140
- MARQUARDT W.C., SENGER C.M., SEGHETTI L. (1960) The Effect of Physical and Chemical Agents on the Oocyst of *Eimeria zurnii* (Protozoa, Coccidia)*. *J. Protozool.* 7(2), 186-189
- MATTSON D.E. (1994) Viral diseases. Update on llamas medicine. *Vet Clin North Am Food Anim Pr.* 10, 345-351
- MCKENNA P.B. (2006) *Eimeria macusaniensis* in camelids—a brief review. *Surveillance* 33(4), 8-10
- MCKENNA P.B. (2009) An updated checklist of helminth and protozoan parasites of terrestrial mammals in New Zealand. *N. Z. J. Zool.* 36(2), 89-113
- MCLOUGHLIN D.K. (1969) The Influence of Dexamethasone on Attempts to Transmit *Eimeria meleagridis* to Chickens and *E. tenella* to Turkeys. *J. Protozool.* 16(1), 145-148
- MIN W., LILLEHOJ H.S., BURNSIDE J., *et al.* (2001) Adjuvant effects of IL-1 β , IL-2, IL-8, IL-15, IFN- α , IFN- γ TGF- β 4 and lymphotactin on DNA vaccination against *Eimeria*

- acervulina. *Vaccine* 20(1), 267-274
- MOUSA S.A. (2013) Monensin Toxicosis in Camels Reared in Egypt: Updating Clinical and Clinicopathological Investigations. *J. Anim. Sci. Adv.* 3(10), 551-558
- NAM T., MCNAMARA C.W., BOPP S., *et al.* (2011) A Chemical Genomic Analysis of Decoquinate, a Plasmodium falciparum Cytochrome b Inhibitor. *ACS Chem. Biol.* 6(11), 1214-1222
- NORTON C.C., JOYNER L.P. (1968) The Freeze Preservation of Coccidia. *Res. Vet. Sci.* 9(6), 598-600
- NYBERG P.A., BAUER D.H., KNAPP S.E. (1968) Carbon Dioxide as the Initial Stimulus for Excystation of Eimeria tenella Oocysts*. *J. Protozool.* 15(1), 144-148
- O'Callaghan MG, Carmichael IH, Allen JG (1997) Eimeria species of alpacas (Lama pacos) in southern Australia. *In Proceedings of the 33rd annual scientific meeting*, Australia, Australian Society for Parasitology
- OLLAGNIER C. (2007) Recensement des parasites digestifs des petits camélidés (genre Llama) en France. PhD Thesis. thèse docteur vétérinaire. École Nationale Vétérinaire de Lyon. 95p
- PALACIOS E., PERALES C., CHAVERA C., LÓPEZ U. (2005) Caracterización anatómo-histopatológica de enteropatías causantes de mortalidad en crías de alpaca. *Rev. Investig. Vet. Perú* 16(1), 34-40
- PALACIOS C., PERALES R., CHAVERA A., *et al.* (2006) Eimeria macusaniensis and Eimeria ivitaensis co-infection in fatal cases of diarrhoea in young alpacas (Lama pacos) in Peru. *Vet. Rec.* 158, 344-5
- PALACIOS E. C., TABACCHI N. L., CHAVERA C. A., *et al.* (2004) Eimeriosis en crías de alpacas: estudio anatómo histopatológico. *Rev. Investig. Vet. Perú* 15(2), 174-178
- PELLÉRDY L.P. (1965) Coccidia and coccidiosis. Budapest, Akadémiai Kiadó
- PHILIPPE P., ALZIEU J.P., TAYLOR M.A., DORCHIES Ph. (2014) Comparative efficacy of diclazuril (Vecoxan®) and toltrazuril (Baycox bovis®) against natural infections of Eimeria bovis and Eimeria zuernii in French calves. *Vet. Parasitol.* 206(3), 129-137
- PITTILO R.M., BALL S.J. (1985) Ultrastructural observations on the sporogony of Eimeria maxima. *Int. J. Parasitol.* 15(6), 617-620
- PLUMLEE K.H., JOHNSON B., GALEY F.D. (1995) Acute salinomycin toxicosis of pigs. *J. Vet. Diagn. Investig. Off. Publ. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagn. Inc* 7(3), 419
- PRADO M.E., RYMAN J.T., BOILEAU M.J., MARTIN-JIMENEZ T., MEIBOHM B. (2011) Pharmacokinetics of ponazuril after oral administration to healthy llamas (Lama glama). *Am. J. Vet. Res.* 72(10), 1386-1389
- PUNTEL M., FONDEVILA N.A., VIERA J.B., *et al.* (1999) Serological Survey of Viral Antibodies in Llamas (Lama glama) in Argentina. *J. Vet. Med. Ser. B* 46(3), 157-162
- RAWDON T., MCFADDEN A., KING C., MITCHELL V., HOWELL M. (2006) Clinical findings and risk factors associated with the first report of Eimeria macusaniensis in New Zealand alpacas. *Surveillance* 33(4), 11-14
- Recensement des camélidés en France - Sénat (2013) .
[<http://www.senat.fr/questions/base/2013/qSEQ13050480S.html>] (consulté le 05/05/2019).
- Remel - ProSpecT Products (2018) .
[<http://www.remel.com/Promotions/Parasitology/ProSpecTProducts.aspx>] (consulté le 04/11/2018).
- RICKARD L.G. (1994) Update on llama medicine. *Parasites. Vet. Clin. North Am. Food*

Anim. Pract. 10(2), 239-247

RICKARD L.G., BISHOP J.K. (1988) Prevalence of *Eimeria* spp. (Apicomplexa: Eimeriidae) in Oregon Llamas. *J. Protozool.* 35(3), 335-336

RODRÍGUEZ H. A., CASAS A. E., LUNA E. L., *et al.* (2012) Eimeriosis en crías de alpacas: prevalencia y factores de riesgo. *Rev. Investig. Vet. Perú* 23(3), 289-298

RODRÍGUEZ-VIVAS R.I., DOMÍNGUEZ-ALPIZAR J.L., TORRES-ACOSTA J.F. (1996) Epidemiological factors associated to bovine coccidiosis in calves (*Bos indicus*) in a sub-humid tropical climate. *Rev Biomed* 7, 211-218

Rohbeck, S (2006) Parasitosen des Verdauungstrakts und der Atemwege bei Neuweltkameliden: Untersuchungen zu ihrer Epidemiologie und Bekämpfung in einer südhessischen Herde sowie zur Biologie von *Eimeria macusaniensis* Justus-Liebig-Universität Gießen

ROJAS M., MANCHEGO A., ROCHA C.B., *et al.* (2016) Outbreak of diarrhea among preweaning alpacas (*Vicugna pacos*) in the southern Peruvian highland. *J. Infect. Dev. Ctries.* 10(03), 269-274

ROSADIO R., LONDOÑE P., PÉREZ D., *et al.* (2010) *Eimeria macusaniensis* associated lesions in neonate alpacas dying from enterotoxemia. *Vet. Parasitol.* 168(1), 116-120

ROSADIO R., MATURRANO L., PÉREZ D., LUNA E. (2012) El complejo entérico neonatal en alpacas andinas. *Rev. Investig. Vet. Perú* 23(3), 261-271

ROSADIO R.H., AMEGHINO E.F. (Departamento de S.A. y S.P. (1994) Coccidial infections in neonatal Peruvian alpacas. *Vet. Rec. U. K.*

ROSE M.E., JOYSEY H.S., HESKETH P., GRENCIS R.K., WAKELIN D. (1988) Mediation of immunity to *Eimeria vermiformis* in mice by L3T4+ T cells. *Infect. Immun.* 56(7), 1760-1765

ROSE M.E., HESKETH P., WAKELIN D. (1992) Immune control of murine coccidiosis: CD4+ and CD8+ T lymphocytes contribute differentially in resistance to primary and secondary infections. *Parasitology* 105(3), 349-354

ROSE M.E., HESKETH P. (1987) *Eimeria tenella*: Effects of immunity on sporozoites within the lumen of the small intestine. *Exp. Parasitol.* 63(3), 337-344

ROSE M.E., LONG P.L. (1969) Immunity to coccidiosis: Gut permeability changes in response to sporozoite invasion. *Experientia* 25(2), 183-184

ROTHWELL L., YOUNG J.R., ZOOROB R., *et al.* (2004) Cloning and Characterization of Chicken IL-10 and Its Role in the Immune Response to *Eimeria maxima*. *J. Immunol.* 173(4), 2675-2682

RULOFSON F.C., ATWILL E.R., HOLMBERG C.A. (2001) Fecal shedding of *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium parvum*, *Salmonella* organisms, and *Escherichia coli* O157:H7 from llamas in California. *Am. J. Vet. Res.* 62(4), 637-642

SCHITO M.L., BARTA J.R., CHOBOTAR B. (1996) Comparison of Four Murine *Eimeria* Species in Immunocompetent and Immunodeficient Mice. *J. Parasitol.* 82(2), 255-262

SCHOCK A., BIDEWELL C.A., DUFF J.P., SCHOLE S.F., HIGGINS R.J. (2007) Coccidiosis in British alpacas (*Vicugna pacos*). *Vet. Rec.* 160(23), 805-806

SCHREY C.F., ABBOTT T.A., ANN STEWART V., MARQUARDT W.C. (1991a) Coccidia of the llama, *Lama glama*, in Colorado and Wyoming. *Vet. Parasitol.* 40(1), 21-28

SCHREY C.F., ABBOTT T.A., ANN STEWART V., MARQUARDT W.C. (1991b) Coccidia of the llama, *Lama glama*, in Colorado and Wyoming. *Vet. Parasitol.* 40(1), 21-28

SHIVARAMAIAH C., BARTA J.R., HERNANDEZ-VELASCO X., TÉLLEZ G., HARGIS

- B. (2014) Coccidiosis: recent advancements in the immunobiology of *Eimeria* species, preventive measures, and the importance of vaccination as a control tool against these Apicomplexan parasites. *Vet Med* 5(5), 23–34
- SMITH A.L., ROSE M.E., WAKELIN D. (1994) The role of natural killer cells in resistance to coccidiosis: investigations in a murine model. *Clin. Exp. Immunol.* 97(2), 273-279
- SPEER C.A., WONG R.B., BLIXT J.A., SCHENKEL R.H. (1985) Capping of Immune Complexes by Sporozoites of *Eimeria tenella*. *J. Parasitol.* 71(1), 33-42
- STEPHAN B., ROMMEL M., DAUGSCHIES A., HABERKORN A. (1997) Studies of resistance to anticoccidials in *Eimeria* field isolates and pure *Eimeria* strains. *Vet. Parasitol.* 69(1), 19-29
- TAUBERT A., BEHRENDT J.H., SÜHWOLD A., ZAHNER H., HERMOSILLA C. (2009) Monocyte- and macrophage-mediated immune reactions against *Eimeria bovis*. *Vet. Parasitol.* 164(2), 141-153
- TROUT J.M., SANTÍN M., FAYER R. (2008) Detection of Assemblage A, *Giardia duodenalis* and *Eimeria* spp. in alpacas on two Maryland farms. *Vet. Parasitol.* 153(3-4), 203–208
- TROUT J.M., LILLEHOJ H.S. (1995) *Eimeria acervulina* Infection: Evidence for the Involvement of CD8+ T Lymphocytes in Sporozoite Transport and Host Protection. *Poult. Sci.* 74(7), 1117-1125
- TWOMEY D.F., ALLEN K., BELL S., EVANS C., THOMAS S. (2010) *Eimeria ivitaensis* in British alpacas. *Vet. Rec.* 167(20), 797-798
- TWOMEY D.F., WU G., NICHOLSON R., WATSON E.N., FOSTER A.P. (2014) Review of laboratory submissions from New World camelids in England and Wales (2000–2011). *Vet. J.* 200(1), 51-59
- USDA (2018) . [<https://www.usda.gov/>] (consulté le 26/10/2018).
- VAINIO O. (Basel I. for I., LASSILA O. (1989) Chicken T cells: differentiation antigens and cell-cell interactions. *Crit. Rev. Poult. Biol. USA*
- VENKATESWARA RAO P., RAMAN M., GOMATHINAYAGAM S. (2015) Sporulation dynamics of poultry *Eimeria* oocysts in Chennai. *J. Parasit. Dis.* 39(4), 689-692
- VERVELDE L., VERMEULEN A.N., JEURISSEN S.H. (1993) Common epitopes on *Eimeria tenella* sporozoites and cecal epithelium of chickens. *Infect. Immun.* 61(10), 4504-4506
- VETTERLING J.M., DORAN D.J. (1969) Storage Polysaccharide in Coccidial Sporozites after Excystation and Penetration of Cells. *J. Protozool.* 16(4), 772-775
- WHITEHEAD C.E., ANDERSON D.E. (2006) Neonatal diarrhea in llamas and alpacas. *Small Rumin. Res., Special Issue: South American Camelids* 61(2), 207-215
- WOLF D., VRHOVEC M.G., FAILING K., *et al.* (2014) Diagnosis of gastrointestinal parasites in reptiles: comparison of two coprological methods. *Acta Vet. Scand.* 56(1), 44
- YAKIMOFF W.L. (1934) Two New Species of Coccidia: *Eimeria triffitt* n.sp. of The Eland (*Orias canna*), and *Eimeria peruviana* n.sp. of the Llama (*Lama glama*). *Parasitology* 26(4), 510-511
- YUN C.H., LILLEHOJ H.S., LILLEHOJ E.P. (2000) Intestinal immune responses to coccidiosis. *Dev. Comp. Immunol.* 24(2), 303-324

ANNEXES

Annexe 1 : Questionnaire de renseignements supplémentaires sur l'élevage et les animaux à remplir par les éleveurs.

L'éleveur devait fournir une feuille remplie par animal.

N° -2017

Elevage des petits camélidés et parasitisme en France : Questionnaire de renseignement

Ce questionnaire vise à obtenir une analyse fine des données récoltées. *Nous vous remercions par avance de l'attention que vous portez à cette étude.*

Eleveur (NOM et Prénom) :	Adresse mél :
Adresse :	

II. ANIMAL (à remplir pour chaque prélèvement)	
<p>1. Nom et numéro d'identification :</p> <p>2. Age :</p> <p>3. Sexe : <input type="checkbox"/> Male <input type="checkbox"/> Castré <input type="checkbox"/> Femelle gestante <input type="checkbox"/> Femelle non gestante</p> <p>4. Est-ce que cet animal a présenté des maladies au cours de la dernière année ? <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui, Précisez la/ les maladie(s) :</p> <p>5. Cet animal a-t-il déjà fait l'objet de coproscopie ? <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui (serait-il possible de joindre les résultats ?)</p> <p>6. Cet animal a-t-il déjà eu des problèmes cutanés ? <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui (serait-il possible de joindre les résultats ?)</p> <p>7. Quelles régions cutanées ont été prélevées ? <input type="checkbox"/> Axillaire <input type="checkbox"/> Inguinale <input type="checkbox"/> Oreille <input type="checkbox"/> Autre :</p>	<p>Si oui, les espèces présentes pâturent : <input type="checkbox"/> En même temps que les petits camélidés <input type="checkbox"/> Pas en même temps et à plus de 3 mois d'intervalle.</p> <p>6. En hiver, les petits camélidés résident : <input type="checkbox"/> A l'extérieur <input type="checkbox"/> Dans une étable réservée à eux seuls <input type="checkbox"/> Dans une étable avec d'autres ruminants (précisez) :</p> <p>7. Combien de fois par an vermifugez-vous vos petits camélidés : <input type="checkbox"/> 1 fois <input type="checkbox"/> 2 fois <input type="checkbox"/> Plus (précisez) :</p> <p>8. Quel vermifuge (nom du produit) avez-vous utilisé ? <input type="checkbox"/> fois la dose conseillée pour les bovins <input type="checkbox"/> fois la dose utilisée pour les moutons</p> <p>9. Le choix du vermifuge a été fait : <input type="checkbox"/> Selon les résultats d'une coproscopie <input type="checkbox"/> Pour avoir un spectre le plus large possible</p> <p>10. Avez-vous observé des lésions cutanées sur vos animaux les 3 dernières années ? <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui (précisez l'espèce affectée) :</p> <p>Si oui, avaient-elles été diagnostiquées ? <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui (précisez le diagnostic) :</p> <p>11. Quel traitement (nom du produit) avez-vous utilisé ? Avez-vous confirmé la guérison après le traitement ? <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui</p>

I. ELEVAGE (à remplir une seule fois par élevage)
<p>1. Dans quel département se situe votre élevage :</p> <p>2. Quel est le type de relief : <input type="checkbox"/> Montagne <input type="checkbox"/> Plaine <input type="checkbox"/> Autre (précisez) :</p> <p>3. Combien de petits camélidés possédez-vous ? Complétez par un chiffre : <input type="checkbox"/> Lama(s) <input type="checkbox"/> Alpaga(s)</p> <p>4. Dans quel but élevez-vous des petits camélidés : <input type="checkbox"/> Loisir <input type="checkbox"/> Laine <input type="checkbox"/> Reproduction <input type="checkbox"/> Autre (précisez) :</p> <p>5. Y a-t-il d'autres animaux présents sur le site d'élevage ? <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui (précisez) :</p>

Laboratoire de Parasitologie et Mycologie (Biopôle), Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
7 Avenue du Général de Gaulle – 94704 Maisons Alfort cedex



FICHE EXPLICATIVE

Tout d'abord nous tenons à vous remercier pour votre participation à cette étude.

Vous trouverez dans votre colis le matériel nécessaire pour la réalisation des prélèvements et une fiche de renseignements à nous retourner complétée avec les échantillons. Une vidéo explicative vous est également envoyée par mail détaillant la méthode de prélèvement et de conditionnement des échantillons pour nous les envoyer.

- 1- Afin que nous puissions interpréter les données vous devez impérativement remplir une fiche de renseignement par prélèvement effectué, soit une fiche par animal (appelée questionnaire de renseignement). Merci de la compléter avec soin.
- 2- Prélèvement de fèces (pot avec le capuchon BLANC) : prélevez la matière fécale directement dans le rectum à l'aide d'un gant ou d'un sac plastique propre et déposez-la dans le pot. Il faut remplir le pot jusqu'à la moitié environs. Refermez ensuite le pot et identifiez-le. Conservez les pots au réfrigérateur et faites-les nous parvenir le plus rapidement possible
- 3- Raclage cutané (pot avec le capuchon ROUGE) : ce prélèvement sera fait sur les animaux qui présentent des lésions cutanées qui font penser à la gale. A l'aide d'une lame de scalpel, grattez la peau jusqu'à la rosée sanguine (regardez la vidéo pour plus de précisions) et déposez tout le matériel récupéré dans un deuxième pot. Il faut réaliser les raclages cutanés à 3 localisations différentes ou vous observez des lésions cutanées (par exemple, plis axillaires, plis inguinaux, oreilles...). Le matériel récupéré lors de ces raclages (croûtes) et la lame doivent être mis dans le même pot. Refermez le pot et identifiez-le. N'oubliez pas de bien indiquer les zones raclées sur la fiche de l'animal.

IDENTIFIEZ TOUS LES POTS AVEC PRELEVEMENT, des étiquettes collantes sont mises à votre disposition afin d'identifier les pots.

Veillez nous retourner les prélèvements à l'adresse suivante :

LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE – MYCOLOGIE
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT
7, avenue du général De Gaulle
94704 Maisons-Alfort

LES COCCIDIOSES DES LAMAS (*LAMA GLAMA*) ET ALPAGAS (*VICUGNA PACOS*) ELEVES EN FRANCE : ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE ANALYTIQUE DES INFECTIONS PAR *EIMERIA SPP.*

NOM et Prénom : DEFIVES Chloé

Résumé :

Les coccidioses des lamas et alpagas sont des parasitoses digestives qui peuvent se produire après l'ingestion d'une ou plusieurs espèces du genre *Eimeria*. Les jeunes animaux peuvent développer des formes sub-cliniques qui auront des conséquences zootechniques, ou des formes cliniques qui peuvent s'avérer mortelles. La réponse immunitaire mise en place suite aux infections précoces pourrait parfois favoriser l'établissement d'une immunité protectrice contre l'expression de la maladie. Malheureusement, l'impact de cette infestation dans les élevages de lamas et alpagas en France est méconnu. L'objectif de cette étude était de déterminer d'une part la présence des différentes espèces d'*Eimeria* excrétées par les lamas et alpagas en France et la proportion d'animaux excréteurs ainsi que la quantité d'oocystes excrétés et, d'autre part, de mettre en évidence des facteurs qui seraient associés au sein des élevages de lamas et alpagas en France à une plus forte excrétion d'oocystes de ses coccidies. Cette étude a rassemblé des prélèvements fécaux et des données épidémiologiques de 262 lamas, alpagas et huarizos provenant de 25 élevages de toute la France. La présence d'oocystes d'*Eimeria sp.* était confirmée dans 70,5 % des animaux, mais la quantité d'oocystes excrétés s'est avérée faible (entre 100 et 1000 opg) pour 56% d'entre eux. L'excrétion d'oocystes semble être plus élevée chez les petits camélidés de moins de 12 mois, quelle que soit l'espèce d'*Eimeria* étudiée ($p < 0.05$). Aucune autre association statistique n'était confirmée entre la présence d'oocystes et le sexe, l'espèce animale, l'origine, la gestation, les antécédents pathologiques, le type d'élevage ou le protocole antiparasitaire. Ce travail a mis en évidence la présence des coccidies dans tous les élevages enquêtés, ainsi que le besoin d'établir des recommandations pour la lutte contre les coccidioses et/ou leur prévention dans les troupeaux des lamas et alpagas en France.

Mots clés : ÉPIDÉMIOLOGIE, PARASITOLOGIE, PARASITOSE, COCCIDIOSE, COCCIDIE, EIMERIA, ANIMAL DE RENTE, CAMÉLIDÉ, LAMA, ALAPAGA.

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Dr. Véronica RISCO-CASTILLO

Assesseur : Pr. Yves MILLEMANN

COCCIDIOSIS IN LLAMAS (*LAMA GLAMA*) AND ALPACAS (*VICUGNA PACOS*) RAISED IN FRANCE : ANALYTICAL EPIDEMIOLOGICAL SURVEY OF *EIMERIA SPP.* INFECTIONS

SURNAME and Given name: DEFIVES Chloé

Summary:

Coccidiosis in llamas and alpacas are digestive parasitic diseases produced after ingestion of one or several *Eimeria* species. Young animals may develop subclinical forms that involve production losses or acute clinical forms that can be fatal. The immune response established after early infection could help to bring up protective immunity against clinical disease. Unfortunately, the impact of these coccidial infections in French llamas and alpacas farms is unknown. The objective of this study is to determine and quantify the presence of different *Eimeria* species able to infect llamas and alpacas in herds of France, to estimate the proportion of shedders and to identify the variables associated to the presence and shedding of coccidia. This study gathered faecal samples and epidemiological data from 262 animals (llamas, alpacas and huarizos) from 25 French farms. The presence of *Eimeria sp.* oocysts was confirmed in 70.5% of animals, but the amount of shed oocysts remained low (between 100 and 1000 opg) for 56% of those animals. Oocyst shedding seemed higher among small camelids younger than 12 months old, no matter the *Eimeria* species analysed ($p < 0.05$). No statistical association was found between the presence of oocysts and sex, animal species, origin, pregnancy, clinical history, type of farming or parasitocidal protocols. This work has confirmed the presence of coccidia in all the farms surveyed, and highlights the need to propose recommendations for the control and prevention of coccidiosis in French llamas and alpacas herds.

Keywords : EPIDEMIOLOGY, PARASITOLOGY, PARASITOSIS, COCCIDIOSIS, COCCIDIA, EIMERIA, PRODUCTION ANIMAL, CAMELID, LLAMA, ALPACA.

Jury :

President : Pr.

Director : Dr. Véronica RISCO-CASTILLO

Assessor : Pr. Yves MILLEMANN