

## Effets de l'ingestion de kéfir sur l'excrétion parasitaire, la croissance et la santé des jeunes ovins

Auteurs : A. Pothin<sup>1</sup>, L. Fortun-Lamothe<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, GenPhyse, Université de Toulouse, INRA, INPT, ENVT, 31326 Castanet Tolosan, France

### 1) Contexte

En élevage ovin et chez les petits ruminants de manière générale, un des problèmes de santé majeur est le parasitisme, notamment les strongle gastro-intestinaux (SGI). En effet, certains SGI tels que *Teladorsagia circumcincta*, *Haemonchus contortus* ou *Trichostrongylus colubriformis* peuvent être responsables de pertes de production importantes (-22% de production laitière et -15% de croissance en ovin allaitant ; Mavrot et al, 2015). Le parasitisme entraîne des pertes économiques importantes principalement dues aux pertes de production et aux coûts des traitements antiparasitaires utilisés par les éleveurs (Moreno-Romieux *et al.*, 2015). Chez les ovins allaitants et en particulier chez les jeunes, les retards de croissance liés au parasitisme sont déterminants à la fois pour la production viande chez les jeunes agneaux destinés à la vente mais aussi pour l'élevage des agnelles de renouvellement. En effet, dès leur plus jeune âge les agneaux peuvent être confrontés au parasitisme, par exemple les coccidies. Les solutions actuellement mises en œuvre pour faire face aux problèmes de coccidiose dans les élevages est le traitement du lot entier, traitement qui peut parfois même être réalisé à titre préventif. Ces traitements sont coûteux pour les éleveurs, par exemple le traitement d'un lot de 100 agneaux à l'aide du Vecoxan s'élève à 130 €. Dans le contexte actuel où le revenu des éleveurs est faible et où des phénomènes de résistance ont été démontrés, les éleveurs sont conscients qu'il est nécessaire de limiter l'usage des intrants médicamenteux afin qu'ils restent efficaces le plus longtemps possible. Il semble donc important de développer des solutions préventives aux problèmes de parasitisme.

Le jeune à la naissance possède un tractus digestif stérile et un système immunitaire très immature. L'ingestion de colostrum dès la naissance permet le transfert de l'immunité passive de la mère vers le jeune à travers les immunoglobulines. Par ailleurs, pour éviter que le système digestif ne soit colonisé à la naissance par les germes pathogènes présents dans l'environnement, il peut être intéressant de l'ensemencer avec microorganismes non pathogènes. Ceux-ci vont alors occuper la niche écologique et empêcher le développement d'agents pathogènes pendant la phase la maturation du microbiote.

Le Kéfir est une boisson issue de la fermentation du lait ou de jus de fruits sucrés. Cette boisson est obtenue à partir de « grains de kéfir » qui sont des amalgames de plusieurs souches de micro-organismes qui agissent en symbiose et qui fermentent les glucides contenues dans le lait (lactose) ou les fruits (fructose). Les grains de Kéfir contiennent généralement 6 à 8 souches différentes, dont des bactéries lactiques et des levures (tels que *Lactobacillus caucasius*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Leuconostoc citreum*, *Saccharomyces kefir*... ). Le kéfir représente ainsi un apport de probiotiques ( $10^8$  bactéries/ml) dont les effets sur la santé ont été étudiés dans de nombreuses études (Ninane et al., 2009). Sa forme liquide, donc buvable, le rend facilement utilisable en élevage. Peu d'études ont été conduites sur l'utilisation du kéfir pour améliorer la santé digestive des petits ruminants. Ataşoğlu et al. (2010) ont étudié l'effet de l'utilisation du kéfir comme probiotique sur les performances des chevreaux (avant et après sevrage) sans mettre en évidence de différence significative sur le poids vif et le gain de poids des animaux. De même, Gas et al. (2011) ont étudié l'effet du kéfir sur l'excrétion parasitaire de coccidies et les performances de chevreaux après le sevrage sans mettre en évidence de différence significative à la fois en termes de poids et d'excrétion parasitaire. Néanmoins, concernant les agneaux aucune étude de ce type n'a encore été menée.

## 2) Objectifs

Les objectifs de cette étude sont d'évaluer l'effet de l'ingestion de kéfir par les jeunes issus d'un troupeau ovin allaitant entre 0 et 75 jours d'âge sur la croissance des animaux (gain de poids), la santé et l'excrétion parasitaire, en particulier aux coccidies.

Pour cela, nous proposons d'étudier les relations entre quantités d'aliment ingérées, GMQ, excrétion parasitaire chez des agneaux recevant ou non du kéfir entre 0 et 75 jours d'âge.

## 3) Matériel et méthodes

### *Animaux*

A la naissance, 62 agneaux issus de 49 brebis de race tarasconnaise ont été répartis en deux lots différant par la prise de Kéfir (lot K, n=31) ou non (Lot T, n=31). La mise en lot tenait compte du poids des animaux (4,7 kg), de la taille de portée (1,4 agneaux) et de la parité de la mère (3ème lactation). Tous les animaux ont été identifiés individuellement et ont subi une désinfection du cordon ombilical.

### *Schéma expérimental*

Les naissances se sont étalées entre J0 et J25 (période expérimentale).

A la naissance, les animaux du lot K ont reçu une injection orale de 5 ml de kéfir (*Nom de la marque, nom du vendeur, Ville*) contenant 5 espèces de bactéries lactiques et 2 espèces de levures pour une concentration totale finale de  $x \cdot 10^8$  bactéries par ml (souche xx, yy, zz...) tandis que les animaux du lot T ont reçu par voie orale 5 ml de sérum physiologique (NaCl 9 g/L).

Entre 0 et 21 jours d'âge, les animaux ont eu un accès libre à de l'argile en poudre (bentonite) qui contenait du kéfir (3 ml/150g d'argile, lot K) ou de l'eau (3 ml/150g d'argile, lot T). La préparation était renouvelée tous les 2 jours.

A partir de J21 et jusqu'à J97 (fin de l'expérimentation) soit entre 21 et 75 jours d'âge pour les animaux, un aliment d'origine commerciale (31% protéines brutes, 0,96 UFL, 115 PDIN, 105 PDIE; SudOuest Aliment, France) était distribué aux deux lots grâce à un nourrisseur. L'aliment était pulvérisé avec du Kéfir (20ml de kéfir/kg d'aliment, lot K) ou de l'eau (20ml d'eau/kg d'aliment, lot T).

### *Mesures et prélèvements*

Les animaux ont été pesés le jour de la naissance (n=12 et 13 dans les lots K et T, respectivement) puis chaque semaine jusqu'à 75 jours d'âge.

L'état de santé des animaux a été évalué chaque semaine par observation de l'état de l'arrière train selon une grille quantitative à 3 valeurs : arrière train propre (score 0), arrière train souillé (score 1) et arrière train très souillé (score 2).

Un prélèvement intra rectal de fèces (5g) a été réalisé sur chaque animal de façon hebdomadaire entre 21 et 75 jours d'âge. Les échantillons ont été stockés au froid (4 à 6°C) jusqu'à leur analyse au Laboratoire Vétérinaire Eaux et Sols du Gers. Le nombre d'œufs par gramme (OPG) pour les coccidies et les strongyloïdes a été évalué grâce au protocole Raynaud modifié en cellule de MacMaster. Ce protocole consiste à délayer les 5g de matières fécales dans 70 ml de sulfate de magnésium ( $MgSO_4$ ) avant d'agiter pendant 5 minutes par agitation magnétique puis de tamiser. Le filtrat obtenu est ensuite homogénéisé, puis tout en continuant l'agitation les deux chambres de la cellule Mac Master sont remplies. Après un temps de repos de 5 minutes qui correspond au temps de flotaison, la cellule est lue. Le nombre d'OPG correspond au nombre d'éléments vus multiplié par 15 (dans le cas du comptage du nombre d'éléments sur la lame entière)

Début du protocole (J0) : 14 décembre 2016  
Fin du protocole (J97) : 21 mars 2017

#### 4) Analyse statistique

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel de statistiques R. La normalité des variables a été vérifiée à l'aide du test de Shapiro–Wilk.

La mortalité ainsi que l'état de santé (état de l'arrière train) ont été analysés grâce à un test du Chi2.

Les données concernant le suivi parasitaire (OPG ont été transformées en  $\log(n+1)$ ). Lorsque la normalité n'a pas pu être obtenue par transformation en  $\log(n+1)$  les données ont été analysées à l'aide des test non paramétriques de Wilcoxon and Kruskal–Wallis.

Une analyse de variance a été réalisée afin d'analyser la croissance des agneaux (poids à J0,7,14, 21, 28, etc.. et GMQ entre 0-7j, 7-14j, 14-21j, etc.. ) avec l'effet lot comme effet principal fixé, le sexe de l'agneau, le numéro de lactation de la mère et la taille de portée comme variables aléatoires et la valeur laitière de la mère comme covariable.

#### 5) Résultats

##### Poids

A la naissance, le poids moyen des agneaux était similaire dans les deux lots (tableau1).

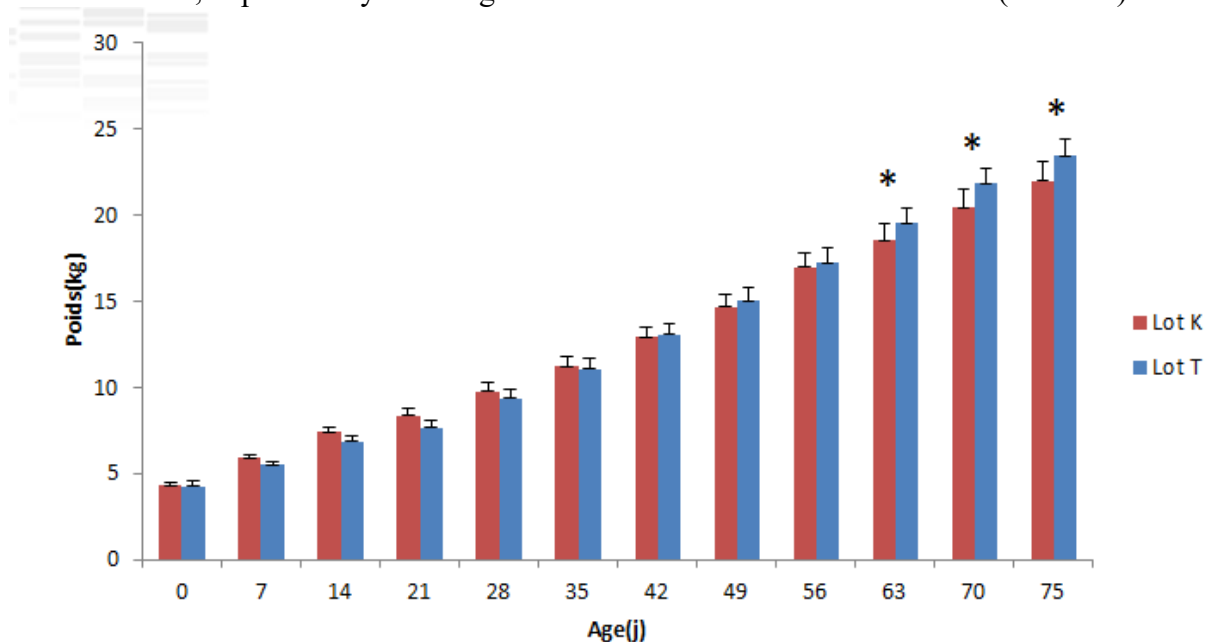


Figure 1: Evolution du poids vif des agneaux

Jusqu'à 35 jours d'âge, le poids des animaux est similaire dans les deux lots ( $P > 0.05$ ). A partir de 42j et jusqu'à 75j, les animaux du lot T ont un poids moyen supérieur à ceux du lot K (+5,3%, +6,8% et +6,7% à 63, 70 et 75 jours d'âge respectivement;  $P < 0.05$ ).

### GMQ

Sur la période 29-35 jours d'âge et la période 35-42 jours d'âge, le GMQ des animaux du lot T est supérieur à celui des animaux du lot K (P=0.04 et P=0.02). Il n'y a pas de différence de GMQ entre les lots sur les autres périodes.

Globalement, sur l'ensemble de la période où les animaux reçoivent de l'aliment solide (entre 21 et 75 jours d'âge), le GMQ des agneaux du lot T est significativement plus élevé que celui des agneaux du lot K (+15,5% ; P=0.02).

**Tableau 1: Effet de l'ingestion de Kéfir sur le poids moyen des animaux**

Age (j)	Poids moyen		P-value « lot »	P-value « valeur laitière »	P-value « taille de portée »	P-value « n° lactation »
	Lot T Effectif <i>n</i>	Lot K Effectif <i>n</i>				
0	4.27±0.26 13	4.28±0.23 12	NS	<0.01	<0.05	NS
7	5.48±0.24 24	5.88±0.22 25	NS	<0.001	<0.001	<0.05
14	6.87±0.33 24	7.39±0.32 25	NS	<0.001	<0.001	NS
21	7.68±0.38 24	8.36±0.41 25	NS	<0.001	<0.01	0.007
28	9.38±0.51 24	9.78±0.47 25	NS	<0.01	<0.01	<0.05
35	11.08±0.57 24	11.23±0.54 25	NS	<0.01	<0.01	<0.05
42	13.07±0.65 24	12.91±0.61 25	NS (0.07)	<0.01	<0.05	<0.05
49	15.04±0.72 23	14.68±0.72 25	NS (0.06)	<0.01	0.05	<0.05
56	17.25±0.83 23	16.96±0.84 25	NS	<0.01	NS	<0.05
63	19.52±0.87 23	18.54±0.95 25	0.05	<0.01	NS	0.05
70	21.83±0.89 23	20.43±1.04 24	0.03	<0.01	NS	<0.05
75	23.46±0.94 23	21.98±1.10 24	0.03	<0.01	NS	<0.05

**Tableau 2: Effet de l'ingestion de Kéfir sur la croissance des agneaux**

GMQ (kg/j)	Lot		P-value lot
	T	K	
Période 0-7j	0.241±0.034	0.217±0.027	NS
Période 7-14j	0.199±0.016	0.215±0.017	NS
Période 14-21j	0.115±0.019	0.138±0.022	NS
Période 7-21j	0.157±0.013	0.177±0.017	NS
Période 21-28j	0.243±0.031	0.203±0.029	NS
Période 28-35j	0.243±0.012a	0.208±0.015b	0.04
Période 35-42j	0.274±0.013a	0.240±0.17b	0.02
Période 42-49j	0.282±0.016	0.252±0.021	NS
Période 49-56j	0.315±0.020	0.294±0.023	NS
Période 56-63j	0.325±0.011	0.272±0.027	NS
Période 63-70j	0.330±0.012	0.281±0.022	NS
Période 70-75j	0.233±0.015	0.222±0.014	NS
Période 21-75j	0.291±0.012	0.252±0.016	0.02

*Consommation aliment*

La consommation d'aliment solide des animaux a été identique dans les deux lots tout au long de la période expérimentale (tableau 3).

**Tableau 3: Effet de l'ingestion de Kéfir sur la consommation**

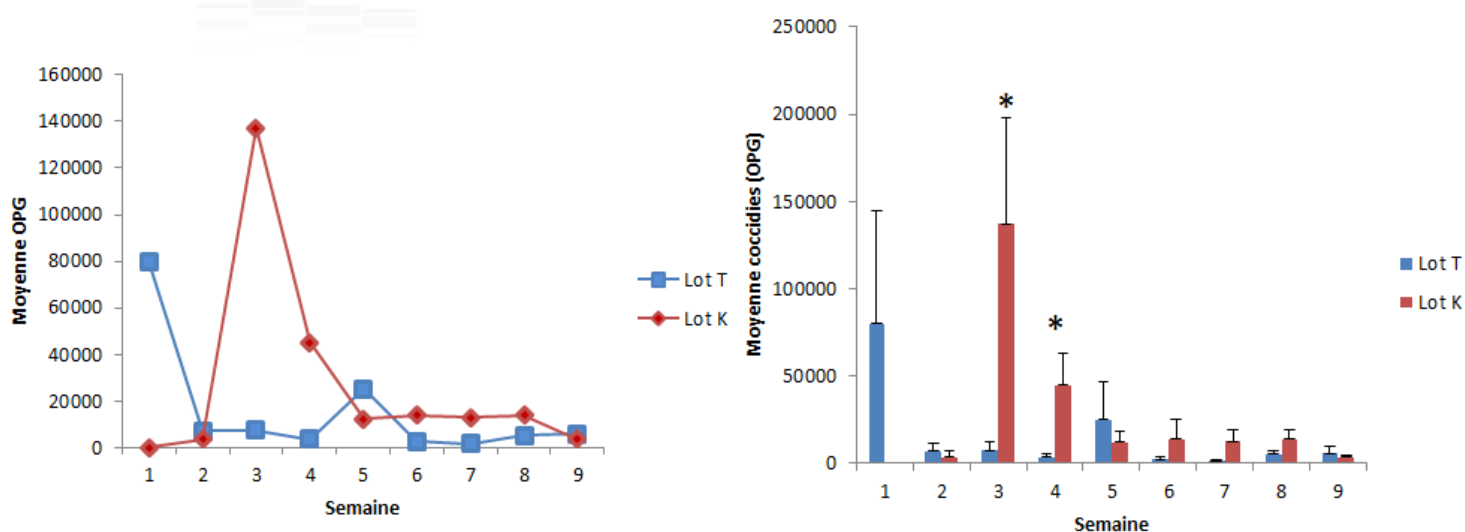
	Lot T	Lot K	P-value lot
Consommation des animaux (kg/j/animal) J21-J41	0.054	0.054	NS
Consommation des animaux (kg/j/animal) J41-J69	0.106	0.089	NS
Consommation des animaux (kg/j/animal) J69-J83	0.582	0.476	NS
Consommation des animaux (kg/j/animal) J83-J97	0.370	0.344	NS

*Excrétion parasitaire*

Sur les deux premières semaines de prélèvement (entre 20 et 27 jours d'âge et entre 27 et 34 jours d'âge), les excréments d'ookystes de coccidies sont similaires entre les lots (Tableau 3). En semaine 3 (entre 34 et 41 jours d'âge) et en semaine 4 (entre 41 et 48 jours d'âge), les animaux du lot T ont une excrétion moyenne d'ookystes coccidiens inférieure à celle du lot K (-46% et -92% respectivement ;  $P < 0.01$  ; Figure 2).

**Tableau 4 : Effet de l'ingestion de Kéfir sur l'excrétion moyenne de coccidies**

Semaine	Excrétion moyenne de coccidies (OPG)		P-value lot
	Lot T	Lot K	
1	80033±64648	171±132	NS
2	7169±4010	3537±3489	NS
3	7446a±5086	137361b±60221	<0.001
4	3502a±2291	44944b±18047	<0.01
5	25045±21738	12267±6458	NS
6	2452±1232	13914±11216	NS
7	1545±576	12742±6390	NS
8	5093±2320	13943±5376	NS
9	5664±3885	3597±1317	NS



**Figure 2 : Comparaison du nombre moyen d'OPG entre le lot T et le lot K**

Concernant l'excrétion de strongyloïdes, l'excrétion est similaire entre les deux lots tout au long de l'expérimentation (tableau 5).

**Tableau 5 : Effet de l'ingestion de Kéfir sur l'excrétion moyenne de strongles**

Semaine	Excrétion moyenne de strongles (OPG)		P-value lot
	Lot T	Lot K	
			NS
1	623±337	401±286	NS
2	4358±4084	1050±905	NS
3	517±262	377±136	NS
4	323±118	368±106	NS
5	336±186	452±184	NS
6	250±94	214±57	NS
7	257±103	219±58	NS
8	180±58	298±79	NS
9	286±95	153±44	NS

### *Etat de l'arrière train*

L'état de l'arrière train des agneaux a été similaire entre les deux lots tout au long de la période expérimentale (score moyen = 0.21, P=NS)

### *Mortalité*

La mortalité a été similaire entre les deux lots tout au long de la période expérimentale : 25,81 % de mortalité dans le lot T (n=8) et 22,58% dans le lot K (n=7 ; NS).

## 6) Eléments de discussion

Afin de capitaliser notre expérience, nous pouvons suggérer quelques points à améliorer concernant l'organisation et le déroulement de l'expérimentation.

### *Organisation*

En amont de l'expérimentation, il semble indispensable d'établir une convention entre le lieu où se déroule l'expérimentation et le commanditaire afin de définir les modalités du partenariat et les éventuelles compensations financières en cas de perte de revenu liée au déroulement de l'expérimentation.

Concernant le matériel, il semble important de prévoir avant le début de la manipulation la liste du matériel nécessaire ainsi que les quantités mais également qui fournira ce matériel.

Concernant l'organisation du travail, en particulier pour l'enregistrement des données et la réalisation des prélèvements/pesées/autres manipulations, le planning doit être établi avant le début de l'expérimentation pour toute la durée du protocole. Pour ce qui est du travail quotidien lié à l'expérimentation et réalisé par le personnel du site où se déroule l'expérimentation, afin que le protocole proposé soit vivable et réalisable, le personnel doit être consulté lors de la construction du protocole. De plus, lors de l'établissement de la convention, il semble important de discuter de la faisabilité de l'expérimentation sur le site expérimental conjointement aux activités habituelles.

### *Déroulement de l'expérimentation*

Les mises-bas se sont déroulées entre le 14 décembre 2016 et le 08 janvier 2017 ce qui correspond à une période de mises bas de 26 jours. L'écart d'âge important entre les premiers animaux nés et les derniers a pu être à l'origine de certains problèmes de santé. En effet, en élevage ovin il est conseillé lors de la constitution d'un lot d'agneau de ne pas excéder 2 à 3 semaines d'écart d'âge entre les animaux les plus âgés et les plus jeunes car en cas de maladies infectieuses ou parasitaires cela favorise les contaminations. Par ailleurs, la période où se sont déroulées les mises bas, n'est pas la période la plus favorable à cause des conditions climatiques difficiles. Dans le cadre d'une future expérimentation, il faudra veiller à ce que l'écart entre les premières et dernières mises bas soit inférieur à 15 jours et essayer de choisir une période plus favorable en termes de températures.

La constitution des lots est une étape décisive dans la qualité d'une expérimentation car elle est un des piliers de la validité des résultats en garantissant notamment qu'il n'existe pas de différences entre les groupes avant l'application du traitement expérimental (et que les différences observées résultent bien des différences de traitements). Nous n'avons pu prendre en compte le poids des agneaux que pour 26 animaux seulement car les autres n'ont pas été pesés. A l'avenir il serait important de prendre les précautions pour obtenir l'ensemble des données nécessaires à la mise en lot. Enfin, il aurait été intéressant de tenir compte également de la valeur laitière des brebis dans les critères de mise en lot car celle-ci influence la croissance des agneaux et une éventuelle différence entre les lots peut venir biaiser l'interprétation des résultats. Dans notre étude, ce paramètre a été pris en compte a posteriori et il existe une différence de valeur laitière entre les brebis des lots T et K à la naissance.

Concernant le logement et les équipements, il aurait été souhaitable que les deux lots soient conduits dans des conditions équivalentes et identiques tout au long de l'expérimentation. Le logement des agneaux des deux lots était identique et les lots étaient bien séparés, néanmoins au sein de la bergerie les deux lots ne sont pas restés au même emplacement tout au long du protocole. Ces changements devraient être évités. Pour les équipements, il aurait fallu s'assurer en amont de l'expérimentation que les deux lots pourraient disposer du même nombre d'abreuvoir ce qui n'était pas le cas (1 abreuvoir mural pour le lot K contre 2 dans le lot T).

Dès les premiers prélèvements de fèces (entre 21 et 27 jours d'âge), les analyses coproscopiques ont révélé la présence de strongyloïdes chez les agneaux. Ces parasites pouvant impacter la croissance des animaux et donc apporter un biais dans l'expérimentation, la décision prise a été de traiter spécifiquement contre ces parasites (traitement sans effet sur les coccidies) les animaux ayant un seuil important d'infestation par les strongyloïdes. Néanmoins durant toute l'expérimentation les strongyloïdes sont restés plus ou moins présents chez les animaux ce qui a pu apporter un biais à l'expérimentation. Il aurait été judicieux avant le début de l'expérimentation de réaliser des analyses coproscopiques chez les brebis et de traiter celles présentant des strongyloïdes.

## Conclusion

Cette expérimentation a permis d'étudier les effets de l'ingestion de kéfir par des agneaux sur la croissance (gain de poids), la santé et l'infestation parasitaire des animaux en particulier aux coccidies. Les résultats n'ont pas mis en évidence d'effet positif de l'ingestion de kéfir sur ces paramètres. Toutefois, plusieurs biais sont intervenus dans la mise en place ou la réalisation de l'essai. Vu les enjeux de la réduction des intrants médicamenteux en élevage et l'intérêt potentiel du kéfir, avec un bon rapport coût/bénéfice/faisabilité potentiel, il semblerait très intéressant de répéter ce travail dans des conditions expérimentales plus satisfaisantes en améliorant le protocole grâce aux acquis de cette expérience. Nous avons par exemple constaté que l'administration du kéfir par injection orale semblait plus satisfaisante que l'administration par le biais de l'aliment puisqu'en début de protocole où le kéfir était distribué chaque semaine par voie orale à chaque animal le poids moyen ainsi que le GMQ des agneaux du lot K sont plus élevés, néanmoins les différences observées ne sont pas statistiquement significatives. Par conséquent, une étude où le kéfir serait distribué exclusivement de cette manière serait intéressante.

## Bibliographie

- Bonnefont M, Canellas A. (2014). Optimisation des outils de diagnostic des strongyloses gastro-intestinales des ovins. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 133 p.
- Mavrot, F., Hertzberg, H., & Torgerson, P. (2015). Effect of gastro-intestinal nematode infection on sheep performance: a systematic review and meta-analysis. *Parasit Vectors*, 8, 557.
- Moreno-Romieux, C., Salle, G., Jacquiet, P., Blanchard, A., Chylinski, C., Cabaret, J., François, D., Saccareau, M., Astruc, J. M., Bambou, J.-C., Mandonnet, N. (2015). La résistance génétique au parasitisme chez les petits ruminants : un enjeu de durabilité pour les productions à l'herbe. 3R Rencontres Recherches Ruminants (p. 11-17).
- Ninane V., Mukandayambaje R., Berben G.(2009). Aliments fonctionnels et kéfir : le point sur la situation réglementaire en Belgique et sur les avancées scientifiques en matière d'évaluation des effets santé du kéfir., Probiotiques, Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement.