

Université de Montréal

Prévalence et facteurs de risque de la paratuberculose ovine au Québec

*Par*

William Donnelly

Département de pathologie et microbiologie

Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire  
en vue de l'obtention du grade de *Maîtrise ès sciences* (M. Sc.)  
en sciences vétérinaires, option épidémiologie

Décembre 2022

© William Donnelly, 2022

Université de Montréal

Département de pathologie et microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire

---

*Ce mémoire intitulé*

**Prévalence et facteurs de risque de la paratuberculose ovine au Québec**

*Présenté par*

**William Donnelly**

*A été évalué par un jury composé des personnes suivantes*

**Mohamed Rhouma**

Président-rapporteur

**Julie Arsenault**

Directrice de recherche

**Sébastien Buczinski**

Codirecteur

**Juan Carlos Arango Sabogal**

Membre du jury

## Résumé

La paratuberculose est une maladie entérique incurable causée par la bactérie *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) endémique dans la plupart des régions du monde. Cette affection ciblant les ruminants est responsable d'importantes pertes économiques dans les productions animales et son contrôle est particulièrement difficile. L'ingestion de matières contaminées (fèces, lait et colostrum) est considérée comme la voie principale de transmission. La situation épidémiologique de la paratuberculose dans les troupeaux ovins du Québec demeure inconnue. Ce projet visait à évaluer la prévalence de MAP et à caractériser les facteurs de risque associés aux statuts positifs des ovins du Québec. Au total, 2942 brebis provenant de 70 fermes ovines, dont 10 productions laitières et 60 productions de boucherie, ont été échantillonnées dans le cadre de ce projet entre février 2020 et mars 2022. La prévalence réelle des moutons positifs dans la province a été estimée à 8.3% (IC 95% 4.7-14.1%) alors que la prévalence apparente de troupeaux positifs a été estimée à 29.9% (IC 95% 25.7-34.1%). L'analyse multivariée des facteurs de risque a permis d'identifier la présence de signes cliniques comme facteur de risque à un statut positif individuel (RC = 3.0; IC 95% 1.3-7.4) et l'utilisation d'un logiciel de régie pour les données de santé des animaux comme un facteur protecteur à un statut de troupeau positif (RC = 0.1; IC 95% 0.0-0.6). Les résultats de cette étude permettront l'exploration de mesures de contrôle de l'infection dans les troupeaux ovins de la province.

**Mots-clés :** *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, paratuberculose, ovin, mouton, prévalence, facteur de risque, Québec, Canada

## Abstract

Paratuberculosis is an incurable enteric disease caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), which is endemic in most parts of the world. This disease affecting ruminants is responsible for significant economic losses in livestock production and is particularly difficult to control. Ingestion of contaminated material (e.g., faeces, milk, colostrum) is considered the main route of transmission of MAP. The epidemiological situation of paratuberculosis in Quebec sheep flocks remains unknown. Hence, the purpose of this project was to evaluate the prevalence of MAP as well as to characterize the risk factors associated with positive status within Quebec sheep. A total of 2942 ewes from 70 sheep farms, including 10 dairy and 60 meat farms, were sampled between March 2020 and March 2022. The true prevalence of positive sheep in the province was estimated at 8.3% (IC 95% 4.7-14.1%) while the apparent prevalence of positive flocks was estimated at 29.9% (95% IC 25.7-34.1%). Multivariable analysis of risk factors identified the presence of clinical signs as risk factor for a positive ewe status (OR = 3.0; 95% CI 1.3-7.4) and the use of animal health data management software as a protective factor for positive flock status (OR = 0.1; 95% CI 0.0-0.6). The results of this study will enable the implementation of MAP-tailored infection control measures in the province's sheep flocks.

**Keywords :** *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, Paratuberculosis, Johne's disease, Sheep, Ovine, Prevalence, Risk factors, Quebec, Canada

# Table des matières

Résumé .....	3
Abstract .....	4
Table des matières .....	5
Liste des tableaux.....	9
Liste des figures .....	10
Liste des sigles et abréviations .....	11
Remerciements .....	13
Introduction .....	14
1. Revue de littérature .....	16
1.1. Agent étiologique .....	16
1.1.1. Souches .....	16
1.1.2. Résistance.....	18
1.2. Épidémiologie.....	19
1.2.1. Hôtes et réservoirs.....	19
1.2.2. Transmission.....	20
1.2.2.1. Fèces.....	20
1.2.2.2. in utero .....	21
1.2.2.3. Lait et colostrum .....	21
1.2.2.4. Semence .....	21
1.2.3. Acquisition de l'infection.....	22
1.2.4. Développement de la maladie .....	23
1.2.4.1. Types de lésions.....	23
1.2.4.2. Réponse immunitaire.....	24
1.2.4.3. Résistance et résilience à MAP.....	25
1.2.5. Phase clinique .....	26
1.2.6. Facteurs de risque.....	27
1.2.6.1. Facteurs de risque individuels pour l'infection .....	27

1.2.6.1.1.	Âge .....	27
1.2.6.2.	Facteurs de risque individuels pour l'excrétion .....	28
1.2.6.2.1.	Races .....	28
1.2.6.2.2.	Signes cliniques .....	30
1.2.6.3.	Facteurs de risque d'infection du troupeau .....	31
1.2.6.3.1.	Introduction des animaux .....	31
1.2.6.3.2.	Pratiques de remplacement des animaux .....	31
1.2.6.3.3.	Contacts avec d'autres ruminants d'élevage .....	32
1.2.6.3.4.	Contacts avec la faune .....	33
1.2.6.4.	Facteurs de risque de transmission à l'intérieur d'un troupeau .....	33
1.2.6.4.1.	Pratiques d'agnelages .....	33
1.2.6.4.2.	Conditions sanitaires et de santé .....	34
1.2.6.4.3.	Pratiques d'alimentation et source des fourrages .....	34
1.2.6.4.4.	Pratiques de pâturage .....	34
1.2.6.4.5.	Pratiques de réforme .....	35
1.2.6.4.6.	Taille du troupeau .....	35
1.2.6.4.7.	Densité de l'élevage .....	36
1.2.6.4.8.	Contacts avec le fumier .....	36
1.2.6.4.9.	Caractéristiques du producteur .....	36
1.2.6.4.10.	Utilisation d'antiparasitaires .....	37
1.2.6.4.11.	Utilisation de fertilisants .....	37
1.2.6.5.	Autres facteurs de risque .....	38
1.2.6.5.1.	Saison .....	38
1.2.6.5.2.	Type de sols .....	38
1.2.6.6.	Bovins .....	39
1.3.	Diagnostic de la paratuberculose .....	40
1.3.1.	Tests directs .....	40
1.3.1.1.	Histopathologie .....	40
1.3.1.2.	Culture .....	41

1.3.1.3.	PCR.....	43
1.3.1.4.	Amplification par phages .....	46
1.3.2.	Tests indirects.....	47
1.3.2.1.	Test de fixation du complément (CFT).....	47
1.3.2.2.	Immunodiffusion sur gel (AGID).....	47
1.3.2.3.	Biomarqueurs .....	48
1.3.2.4.	IFN- $\gamma$ .....	48
1.3.2.5.	Dosage d'immunoabsorption par enzyme liée (ELISA).....	49
1.3.3.	Échantillons composites.....	53
1.3.4.	Stratégies de dépistage.....	54
1.4.	Situation à travers le monde .....	56
1.4.1.	Au Canada.....	56
1.4.2.	Au Québec .....	56
1.5.	Impacts économiques de la maladie .....	61
1.5.1.	Perte de poids.....	61
1.5.2.	Diminution de la production laitière .....	62
1.5.3.	Diminution de la fertilité .....	62
1.5.4.	Mortalité attribuable à MAP .....	63
1.6.	Surveillance et contrôle de l'infection .....	63
1.6.1.	Programme de contrôle .....	64
1.6.2.	Vaccination .....	66
2.	Article .....	68
3.	Discussion générale.....	91
3.1.	Retour sur les résultats .....	91
3.2.	Limites du projet.....	93
3.2.1.	Échantillonnage .....	93
3.2.2.	Validité des pratiques et données de troupeau rapportées.....	94
3.2.3.	Limites des tests diagnostiques.....	96
3.3.	Perspectives futures .....	97

4. Conclusion .....	99
Bibliographie .....	100
Annexe 1 – Formulaire d’information et consentement .....	119
Annexe 2 – Fiche de prélèvement .....	126
Annexe 3 – Questionnaire sur les caractéristiques de troupeau et pratiques de régie .....	130



## Liste des tableaux

### Revue de littérature

1. Synthèse des études évaluant les performances de la qPCR fécale pour la détection de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*.....51
2. Synthèse des études évaluant les performances de l'ELISA sérique pour la détection de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*.....52
3. Synthèse des articles sur la prévalence de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* dans les troupeaux ovins à travers le monde.....58

### Article

- Table 1.** Univariable logistic regression modeling the associations between ewe's characteristics with the outcome positive qPCR result collected from 805 ewes in 19 positive flocks in Quebec, Canada between 2020-2022. ....85
- Table 2.** Descriptive statistics and odds ratios from univariable logistic regression modeling the associations between Quebec's flock characteristics or practices with the herd positivity as outcome in 70 sheep flocks in Quebec, Canada between 2020-2022. ....86
- Table 3.** Estimated apparent and true prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* determined using fecal qPCR in 2808 randomly sampled ewes from 70 ovine flocks in Québec, Canada between 2020-2022. Estimates were adjusted for clustering by flock and stratified by production type. ....88
- Table 4.** Descriptive statistics for participant recruitment divided by production type in Quebec, Canada between 2020-2022.....90

# Liste des figures

## Article

**Figure 1.** Distribution of farms by their within-farm apparent prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* determined using fecal qPCR in 70 flocks in Québec, Canada between 2020-2022. ....89

## Liste des sigles et abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGID : *Agar Gel Immunodiffusion test* (Test d'immunodiffusion sur gel)

CFT : *Complement fixation test* (Test de fixation du complément)

CFU : *Colony-forming unit*

CI : *Confidence intervals* (Intervalles de confiance)

DMI : Dose minimale infectante

ELISA : *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (Méthode de dosage immunoenzymatique)

FAP : Protéine d'attachement à la fibronectine

FCUL : *Fecal culture* (Culture fécale)

FPCR : *Fecal Polymerase Chain Reaction* (Réaction en chaîne par polymérase fécale)

FqPCR : *Fecal quantitative Polymerase Chain Reaction* (Réaction en chaîne par polymérase quantitative fécale)

HEY : Herrold's egg yolk medium

HPC : hexadécylpyridinium

IC : Intervalles de confiance

IFN- $\gamma$  : Interféron gamma

kg : kilogramme

m : mètre

MAP : *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

MAPAQ : Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec

MJ : Mycobactine J

mL : Millilitre

PCR : *Polymerase Chain Reaction* (Réaction de polymérisation en chaîne)

ppm : partie par million

qPCR : *Quantitative Polymerase Chain Reaction* (Réaction de polymérisation en chaîne quantitative)

RC : Rapport de cote

RR : Risque relatif

Test ZN : Test Ziehl-Neelsen

Th1 : *T helper 1 cell*

Th2 : *T helper 2 cell*

\$ US : Dollar américain

## Remerciements

Ce travail n'aurait pu se réaliser sans le temps et l'engagement des producteurs ovins participants. Je tiens à remercier tous ceux et celles m'ayant accompagné dans mes visites de ferme : Maryse Lauriault-Lagacé, Béatrice Dion-Desroches, Charlotte Hélie, Jean-Philippe Pelletier, Hélène Richard, Chanel Belisle, Margot Paquet, Charlotte Nury, Schlasiva Cenatus, Amély Grandmont, Emmie Ouellet, Ève-Marie Lavallée-Bourget et Marie-Claude L'italien. Merci pour votre disponibilité et pour m'avoir tenu compagnie pour ces innombrables heures de route.

Je remercie sincèrement toute l'équipe du laboratoire de santé animale du MAPAQ pour avoir analysé les milliers d'échantillons soumis au courant de ce projet. Je remercie également Mélanie Trudel et Marie-Claude Biédron-Godbout pour l'appui apporté au recrutement des producteurs.

J'aimerais exprimer ma reconnaissance à Gaston Rioux, Catherine Element-Boulianne, Marie-Soleil Nadeau et Olivia Labrecque pour leurs conseils durant les différentes étapes de ce projet.

Je remercie Anne Leboeuf pour l'aide apportée dans les moments les plus cruciaux du projet ainsi que Sébastien Buczinski pour son appui et pour ses suggestions toujours avisées.

Finalement, je tiens à remercier ma directrice, Julie Arsenault. Ce travail représente davantage le fruit de son soutien, de sa patience, de son dévouement de même que la confiance inébranlable témoignée à mon égard malgré les difficultés rencontrées dans ce projet. Je n'aurais su imaginer une meilleure supervision. Parmi toutes les probabilités de cet ouvrage, c'est elle qui fut ma plus grande chance.

## Introduction

*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) est l'agent causal de la paratuberculose, une maladie débilitante des ruminants. Celle-ci est responsable de pertes économiques importantes et est considérée endémique dans toutes les régions du monde, exception faite de la Norvège et de la Suède (Whittington et coll., 2019). Dans les troupeaux ovins, l'infection est principalement transmise via l'ingestion de fèces contaminées, par l'ingestion de colostrum ou de lait, et par la voie utérine. Le stade clinique de la maladie est généralement atteint plusieurs années après la contamination initiale de l'animal. Les ruminants infectés en bas âge sont plus susceptibles à une progression clinique que les animaux adultes (McGregor et coll., 2012). Les principaux signes cliniques observés sont une émaciation progressive, une intolérance à l'effort, le tout accompagné de fèces molles (Windsor, 2015).

Le contrôle de l'infection est particulièrement complexe; la maladie est incurable et son développement lent laisse place à une transmission insidieuse au sein des troupeaux (Gautam, Ridler, et coll., 2018). L'identification des animaux infectieux est difficile puisque les tests diagnostiques disponibles possèdent une très faible sensibilité (Mathevon et coll., 2019). De plus, l'excrétion de l'agent pathogène est intermittente, ce qui empêche certaines stratégies de contrôle telles que la détection et réforme (Whittington et coll., 2000; Whittington & Sergeant, 2001). La vaccination permet de limiter les impacts cliniques de la maladie et est économiquement viable pour les productions ovines (Dhand et coll., 2016; Windsor et coll., 2014). Toutefois, aucun vaccin contre la paratuberculose n'est présentement homologué au Canada

La prévalence de MAP dans les troupeaux ovins du Québec demeure largement inconnue. En effet, une seule étude, réalisée en 2003, a estimé la prévalence de la maladie chez des moutons réformés à 3% (Arsenault et coll., 2003). En Ontario, une prévalence de 66.8% des troupeaux et 48.3% des moutons qui étaient estimés infectés (Bauman, Jones-Bitton, Menzies, et coll., 2016). Bien que les facteurs de risque à l'introduction et la transmission de l'infection dans les troupeaux

de bovins laitiers du Québec aient été décrits (Puerto-Parada et coll., 2018), ceux-ci restent à être identifiés chez les ovins.

La bactérie semble également jouer un rôle dans le développement de la maladie de Crohn chez l'humain, posant ainsi un risque important pour la santé publique (Agrawal et coll., 2020). La contamination possible des aliments destinés à la consommation humaine devient donc une préoccupation majeure compte tenu de l'isolement précédemment rapporté du pathogène viable dans plusieurs de ces aliments (Hosseiniporgham et coll., 2020; Meadus et coll., 2008; Pagliasso et coll., 2021).

Ce projet vise donc à estimer la prévalence de MAP dans les troupeaux ovins commerciaux du Québec ainsi qu'à identifier les facteurs de risque associés à la positivité des animaux et des troupeaux. L'obtention d'une estimation de la prévalence informera les différents acteurs de la production ovine de l'impact potentiel de l'infection et permettra de guider la mise en place de mesures de contrôle de cette infection. De surcroît, de nouvelles recommandations pourront directement être extraites des facteurs de risque établis et soutiendront les producteurs ovins dans leur quête de réduction des risques à l'infection.

# 1. Revue de littérature

## 1.1. Agent étiologique

*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) est l'agent étiologique de la paratuberculose, également appelé Johnes's disease, nom obtenu suite à la caractérisation de l'agent chez une vache atteinte d'entérite chronique en 1895 par le vétérinaire allemand Dr H. A. Johnes et le scientifique américain Dr L. Frothingham. L'analyse génétique de MAP indique qu'il aurait évolué d'une souche de *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* (Alexander et coll., 2009).

Faisant partie du genre des *Mycobacterium*, cette bactérie possède donc l'enveloppe caractéristique du genre des mycobactéries composée de 3 couches : une membrane plasmique, une paroi cellulaire et une capsule ainsi que l'arrangement unique de composés lipidiques et glucidiques (Bannantine et coll., 2017). Le pathogène *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* est un bacille Gram positif, immobile, aérobique et à croissance lente. MAP est également acido-alcool-résistant ce qui facilite son identification en histopathologie.

### 1.1.1. Souches

Plusieurs souches de MAP ont été identifiées jusqu'à présent. À l'aide d'analyses d'enzyme de restriction et d'hybridation d'ADN, MAP a pu être catégorisé en 2 grandes lignées, soit la souche *Sheep* (S) et la souche *Cattle* (C), nommées selon l'hôte où ils furent isolés (Collins et coll., 1990). Il était dès lors considéré que chaque souche était spécifique à son hôte. Plusieurs études ont plus tard démontré la capacité de transmission des souches à d'autres espèces de ruminants, brisant donc le dogme établi (Moloney & Whittington, 2008; Stevenson et coll., 2009). En exemple, la souche S fut isolée à maintes reprises chez les bovins, les cervidés ainsi que chez les camélidés (Cristobal Verdugo et coll., 2014). Ainsi, la souche S fut renommée souche I et la souche C fut renommée la souche II afin de refléter le changement de paradigme. Plusieurs études ont par la suite démontré la capacité de la souche I à causer chez les bovins autant des lésions que des signes cliniques (Fernandez et coll., 2014; Taylor, 1953) de même que l'établissement



d'infections chez les cerfs lorsque ceux-ci étaient infectés de façon expérimentale (O'Brien et coll., 2006). Afin de demeurer conforme à la nouvelle nomenclature, ce mémoire utilisera Souche I en référence à la souche S (Sheep) et Souche II pour la souche C (Cattle).

L'avancée des techniques génomiques a contribué à la caractérisation de la phylogénie des souches de MAP. Suivant le typage du fragment génique IS1311 d'échantillons provenant de bisons, la souche B fut identifiée comme une nouvelle lignée de MAP (Whittington et coll., 2001). Plus tard, une souche considérée comme intermédiaire entre la souche I et la souche II fut identifiée à partir d'isolats caprins et classifiée comme souche III (de Juan et coll., 2005). Ce n'est que dernièrement que l'exploration génétique des différentes souches à l'aide du séquençage des génomes complets a permis de classer la souche B comme étant en réalité une lignée de la souche II et la souche III comme lignée de la souche I (Bryant et coll., 2016). L'analyse d'échantillons de MAP isolés chez des chameaux a révélé une lignée additionnelle du type II (Ghosh et coll., 2012).

Malgré la croissance globalement lente de MAP comparativement à d'autres bactéries, chaque souche possède une croissance qui lui est propre. La culture de la souche I (*Sheep*) à partir d'échantillons cliniques est très longue, soit de 16 à 52 semaines, alors que la culture de la souche II (*Cattle*) se limite généralement à 4 à 6 semaines (Stevenson, 2015). Cette différence dans leur vitesse de croissance doit être considérée dans l'interprétation des nombreuses études réalisées au tournant du siècle, alors que la culture était la technique de choix pour le diagnostic de l'agent pathogène, ce qui a pu favoriser la détection des souches II au détriment des souches I. En outre, le milieu de culture favorisant la croissance des souches I n'a été développé qu'en 1998 (Whittington et coll., 1999). Il est à noter que le type de milieu de culture utilisé pour l'isolement de MAP impacte les caractéristiques de croissance de même que le phénotype de la souche isolée (Whittington et coll., 2011).

Une étude réalisée au Québec en 2019 a démontré en génotypant 20 isolats obtenus chez des moutons et 10 isolats de chèvres, la présence de la souche II (*Cattle*) dans 60.0% (3/5) des fermes ovines et 100.0% (8/8) fermes caprines étudiées (Sohal et coll., 2019). À l'opposé des chèvres où une seule ferme possédait plusieurs souches, plus de la moitié des fermes ovines possédaient la

souche I et la souche II. De surcroît, les isolats ovins étudiés démontraient une grande diversité de génotypes, menant les auteurs à suggérer que plusieurs sources auraient contribué à établir l'infection dans ces fermes.

La diversité génétique de MAP se traduit également par d'importantes différences dans la virulence de chaque souche. En infectant expérimentalement 24 agneaux avec la souche I et la souche II et en observant les lésions au jour 150 et au jour 390 suivant l'infection, Fernandez et coll. (2014) ont démontré que la souche II engendrait des lésions plus sévères au jour 150, lorsque comparée aux lésions de la souche I. Néanmoins, ces lésions semblaient régresser au jour 390 alors que les lésions causées par la souche I demeuraient constantes. Les lésions causées par l'inoculation de la souche I à des agneaux semblent évoluer de lésions focales et persistantes vers des lésions plus diffuses, hypothèse également supportée par les travaux de Begg et coll. (2010).

### **1.1.2. Résistance**

*M. avium* subs. *paratuberculosis* possède une résistance importante aux variations de son environnement. Whittington et coll. (2004) ont démontré que des échantillons de fèces ( $10^6$  bactéries/g) pouvaient demeurer positifs pour MAP en culture jusqu'à un maximum de 55 semaines après une exposition extérieure totalement à l'ombre. Lorsque des échantillons de fèces à concentration similaire de MAP ont été exposés à 70% d'ombre, une survie jusqu'à un maximum de 16 semaines a pu être observée pour la souche I (Eppleston et coll., 2014). Les résultats de ces études suggèrent donc une survie substantielle de l'agent pathogène dans l'environnement. Il est à noter toutefois que ces deux études ont été réalisées en sol australien et qu'il est possible que la survie environnementale soit différente au Québec.

MAP possède également une survie importante dans l'eau. Dans un échantillon d'eau contaminée avec des fèces à une concentration finale de  $2.2 \times 10^6$  cellules de MAP viables/litre, l'agent pathogène pouvait survivre jusqu'à 48 semaines lorsque l'eau était exposée à un environnement ombragé à 70% et 36 semaines, lorsque complètement exposée au soleil (Whittington et coll., 2005).

Khare et coll. (2008) ont également démontré que la congélation à -70 °C jusqu'à 3 mois de MAP ne semble pas affecter sa survie.

L'utilisation de désinfectants a une efficacité très variable contre MAP (Stabel et coll., 2020). La bactérie possède une résistance contre les désinfectants à base de chlore, les bactéries dans une culture en suspension pouvant survivre à 3 traitements de 30 min à des concentrations allant jusqu'à 100 ppm de chlore. Une certaine résistance à l'acide peracétique est également observée après 1 traitement de 30 minutes à concentration faible (< 0.1 %) (Kralik et coll., 2014).

Plusieurs études ont également démontré la capacité de MAP à survivre à la pasteurisation du lait, autant bovin qu'ovin. Malgré une réduction significative du nombre de bactéries viables après la pasteurisation (McDonald et coll., 2005), une sous-population semble résistante au traitement thermique (Hosseiniporgham et coll., 2022). Suite à une revue systématique évaluant les différents risques de contamination des produits de consommation par MAP, Eltholth et coll. (2009) ont déterminé que la pasteurisation était insuffisante pour assurer une inactivation de l'agent pathogène et que la survie de ce dernier semblait liée à sa concentration initiale dans l'échantillon. Des bactéries viables de MAP ont aussi été détectées dans des échantillons de lait provenant de cartons de lait disponibles pour la vente au détail (Ellingson et coll., 2005; Gerrard et coll., 2018).

## **1.2. Épidémiologie**

### **1.2.1. Hôtes et réservoirs**

La paratuberculose affecte principalement les ruminants domestiques et sauvages (bovins, ovins, caprins, cervidés et bisons) (Whittington et coll., 2019). Néanmoins, elle a également été rapportée chez d'autres espèces, notamment chez les camélidés (Alluwaimi, 2015) où MAP cause des lésions et signes cliniques similaires aux bovins ainsi que chez *Oryctolagus cuniculus*, un lapin natif d'Europe où les lésions caractéristiques ont été décrites dans divers tissus intestinaux (Greig et coll., 1999; Maio et coll., 2011).

L'agent causal a été isolé chez de multiples autres espèces non ruminantes, incluant des invertébrés; toutefois, celles-ci ne possèdent généralement pas de lésions caractéristiques à

l'exception d'*O. cuniculus* telles que mentionnées précédemment (Carta et coll., 2013). Il est également important de noter que l'ADN de MAP a été retrouvé chez une multitude d'espèces autres que les ruminants et camélidés dans un zoo allemand (Munster et coll., 2013). Ainsi, à la suite de plusieurs cas cliniques chez des moutons et chez un alpaga, le *Rhein Nature Zoo* a procédé au dépistage par PCR à l'aide d'échantillons composites fécaux. L'ADN de MAP fut détecté chez des équins, des rongeurs, des oiseaux ainsi que chez des primates. À l'instar du zoo allemand, l'agent pathogène a été identifié chez des Oryx algazelle (*Oryx dammah*), des girafes (*Giraffa camelopardalis*) ainsi que des gnous bleus (*Connochaetes taurinus*) dans un zoo de Mexico (Hernández-Reyes et coll., 2022).

## **1.2.2. Transmission**

### **1.2.2.1. Fèces**

La transmission de MAP est possible via plusieurs voies; toutefois, l'ingestion de matières contaminées par des fèces provenant d'animaux infectés est généralement considérée comme la voie de transmission principale de la bactérie (Windsor, 2015).

L'excrétion de la bactérie dans les matières fécales semble varier grandement entre les animaux provenant du même environnement et est corrélée avec le stade clinique de l'animal, nous permettant ainsi d'observer une augmentation de la concentration de MAP par gramme de fèces lorsque l'animal évolue en phase clinique (Begg et coll., 2017). Il a été décrit à maintes reprises que cette excrétion est souvent intermittente, même chez les animaux en phase clinique de la maladie (Begg et coll., 2010; Whittington et coll., 2000).

En utilisant des brebis âgées de 2 ans et plus provenant d'une ferme ayant des cas de paratuberculose, Whittington et coll. (2000) ont démontré une excrétion moyenne de  $8.4 \times 10^{10}$  bactéries viables par brebis. À noter que puisque cette étude utilisait des échantillons composites de fèces, l'excrétion moyenne se doit d'être interprétée en tenant compte de la présence d'animaux en phase clinique dans la population source. (Reddacliff et coll., 2006).

#### 1.2.2.2. *in utero*

Lambeth et coll. (2004) ont été les premiers à démontrer que la transmission verticale de MAP chez les ovins est possible. En effet, à partir de deux fermes ayant une forte prévalence de paratuberculose, les auteurs ont sélectionné 142 brebis, 3.5% étant des cas cliniques et 38% des cas sous-cliniques. Ils ont isolé des bactéries viables de MAP dans les tissus de 5 des fœtus. Bien que le risque d'infection des fœtus soit relativement faible, 5 des 6 fœtus provenant des brebis en phase clinique étaient infectés, suggérant une relation étroite entre le statut clinique de la mère et le risque de transmission verticale.

Cette voie de transmission est supportée par Verin et coll. (2016) suite à l'observation de MAP dans les tissus intestinaux et les ganglions mésentériques d'agneaux nés de brebis positives, mais allaités artificiellement.

La transmission *in utero* est également présente chez d'autres ruminants, notamment les bovins et d'autres cervidés (Whittington & Windsor, 2009).

#### 1.2.2.3. Lait et colostrum

L'acquisition de l'infection lors de l'ingestion de lait de brebis infectées constitue une autre voie de transmission reconnue, bien que considérée moins fréquente que la voie fécale orale. La présence d'ADN de MAP dans le lait de brebis ne démontrant aucun signe clinique suggère que cette voie d'excrétion n'est pas exclusive à la phase clinique (Nebbia et coll., 2006; Verin et coll., 2016). Tel que mentionné précédemment, Verin et coll. (2016) ont pu démontrer l'acquisition de l'infection par la bactérie chez des agneaux nés de mères négatives et nourris artificiellement à partir de lait et colostrum de mères positives.

Dernièrement, dans le cadre d'une étude italienne comprenant 73 troupeaux positifs, jusqu'à 45.2% des échantillons de laits récoltés étaient positifs à la qPCR (Hosseiniporgham et coll., 2020). Une certaine saisonnalité était présente où la positivité des échantillons culminait au printemps.

#### 1.2.2.4. Semence

Contrairement aux bovins, très peu d'informations sont disponibles sur le potentiel de transmission de MAP par la semence des béliers. La présence de MAP viables dans des cultures

faites à partir de la semence et des tissus reproducteurs de béliers atteints de paratuberculose a été rapportée pour la première fois par Eppleston and Whittington (2001). Ce n'est que près de deux décennies plus tard que Velazquez-Morales et coll. (2019) ont détecté, à l'aide d'une PCR nichée IS900, la présence de l'ADN de MAP dans les mêmes sites chez des béliers en phase clinique de la maladie.

L'importance de cette voie dans la transmission globale de l'infection est toutefois mal définie.

### **1.2.3. Acquisition de l'infection**

Comme décrit dans la section 2, la voie féco-orale est présumée être la voie principale de transmission de MAP.

Suite à l'ingestion de matières contaminées avec du MAP, l'agent pathogène se localisera dans l'iléon de l'animal. Durant le passage dans celui-ci, il aura activé sa protéine d'attachement à la fibronectine (FAP) lui permettant alors de s'attacher à la surface apicale des cellules M des plaques de Peyer. La bactérie sera alors endocytée et traversera vers la sous-muqueuse. À l'intérieur de cette sous-muqueuse, la bactérie sera phagocytée par les macrophages. Il a été rapporté que l'invasion initiale des cellules M se déroulait très rapidement ( $< 1\text{h}$ ) (Ponnusamy et coll., 2013) et que les étapes jusqu'à l'invasion des macrophages pouvaient durer quelques minutes à quelques heures (Abendaño et coll., 2014).

La dose minimale infectante (DMI) n'est pas encore clairement établie. Toutefois, plusieurs études ayant infecté expérimentalement des animaux ont pu fournir des estimations. Delgado et coll. (2012) ont reproduit l'infection intestinale suite à l'inoculation artificielle d'agneaux et de brebis avec des doses aussi petites que  $1.2 \times 10^3$  MAP/mL ou 100 CFU/mL. Toutefois, des lésions compatibles à MAP n'étaient observées qu'avec l'utilisation d'une dose plus élevée à  $3.0 \times 10^8$  MAP/mL ou  $4.0 \times 10^6$  CFU/mL. De façon similaire, Begg et coll. (2010) ont réussi à établir une infection intestinale en administrant à multiples reprises des inoculums contenant entre  $10^7$  à  $10^8$  cellules viables. Cette dose est compatible avec les résultats rapportés par d'autres études (Reddacliff & Whittington, 2003; Whittington et coll., 2000). Il est également important de considérer que bien que ces doses aient eu la capacité d'établir une infection intestinale, les études présentées n'ont observé les animaux que pour une courte période ( $< 14$  semaines).

## 1.2.4. Développement de la maladie

### 1.2.4.1. Types de lésions

Les lésions intestinales associées à la paratuberculose sont généralement classées en 3 types suivant une échelle développée par Perez et coll. (1996).

Les lésions de type 1 et de type 2 sont similaires et correspondent à des lésions mineures circonscrites en granulomes (Perez et coll., 1996). Contrairement aux lésions de types 1 qui se retrouvent uniquement dans les plaques de Payer, les lésions de types 2 comportent également des granulomes dans la muqueuse à proximité (Clarke & Little, 1996).

Les lésions de types 3 sont quant à elles sous-divisées en 3 sous-catégories : 3a, 3b et 3c (Perez et coll., 1996). Les lésions 3a se caractérisent par leur nature multifocale ainsi que par la présence de peu de bacilles acido-alcool-résistants au sein de celles-ci. Les lésions démontrant cette rareté de bacilles sont décrites comme paucibacillaires, en opposition aux lésions multibacillaires. Il est convenu que bien que les lésions 3a ne soient pas considérées comme une composante de la phase clinique de la maladie, celles-ci amènent néanmoins d'importants changements dans la structure de l'iléon et sont précurseurs de lésions plus avancées. Ces dernières sont les lésions 3b et 3c, toutes deux faisant partie de la phase clinique de la maladie. Même si elles partagent la même structure diffuse, les lésions 3b et 3c ont des caractéristiques qui leur sont propres. À l'instar des lésions 3a, les lésions 3c sont paucibacillaires, alors que les lésions 3b sont-elles multibacillaires (Clarke & Little, 1996). Elles se différencient de par la composition cellulaire de leur granulome étant majoritairement des macrophages et des cellules épithéliales pour les lésions 3b (Preziuso et coll., 2012), alors que les granulomes des lésions 3c comportent davantage de lymphocytes et de cellules T (Preziuso et coll., 2012; Smeed et coll., 2008). En dépit de leur appartenance commune à la phase clinique, les lésions 3b sont associées avec une excrétion plus importante (Kawaji et coll., 2011) et plus soutenue (Begg et coll., 2010) de l'agent pathogène. Une étude néo-zélandaise a estimé l'excrétion à  $2.4 \times 10^6$  bactéries/jour pour les lésions paucibacillaires et  $10^{11}$  pour les lésions multibacillaires (Marquetoux et coll., 2018). Similairement, la dissémination de la bactérie à d'autres organes, notamment le foie, semble être

légèrement plus fréquente lorsque l'animal possède des lésions 3b que des lésions 3c (Smith et coll., 2014).

Comme décrit plus haut, autant les lésions 3b que les lésions 3c ont été retrouvées chez des moutons démontrant des signes cliniques de la paratuberculose (Dennis et coll., 2011). Toutefois, il semblerait que les lésions 3b soient plus fréquemment observées chez ceux-ci et que ce type de lésion soit irréversible contrairement aux lésions 3c (Dennis et coll., 2011).

#### 1.2.4.2. Réponse immunitaire

Il a longtemps été considéré que le profil de la réponse immunitaire à MAP d'un animal déterminait la progression de sa maladie (Gillan et coll., 2010). Plusieurs études ont associé les lésions paucibacillaires à une production forte et rapide d'IFN- $\gamma$  et à une augmentation de cellules T CD4+ après stimulation. À l'opposé, les lésions multibacillaires étaient associées à une réponse dominée par une production d'anticorps spécifiques et l'absence d'une réponse cellulaire (Dennis et coll., 2011; Gillan et coll., 2010). L'hypothèse partagée, appelée « classical switching », était donc que la progression vers le stade clinique de la maladie était engendrée par une transition en une réponse immunitaire majoritairement cellulaire (Th1) à une réponse humorale (Th2). Pour ce qui est des ovins asymptomatiques, leur réponse immunitaire était largement comparable à celle des animaux non infectés à l'exception de la présence d'anticorps spécifiques à MAP et de l'induction de cellules T CD25+ dans les ganglions lymphatiques périphériques du jéjunum, lorsque stimulés avec un antigène dérivé de MAP (Gillan et coll., 2010).

Ce dogme a été remis en question par l'étude de Begg et coll. (2011), où les auteurs ont examiné la progression de la réponse immunitaire sur 19 mois d'agneaux inoculés oralement ( $n = 79$ ) avec MAP. Bien que le profil dit « classical switching » était bien présent, celui-ci ne constituait qu'une minorité des agneaux (39%). En opposition, la moitié des agneaux possédaient une combinaison de production d'anticorps spécifiques et d'IFN- $\gamma$  dès les premiers mois de l'infection.

Il a également été démontré que les moutons n'ayant qu'une induction d'IFN- $\gamma$  sans production significative d'anticorps spécifiques semblaient avoir produit une réponse immunitaire plus efficace à l'infection, n'ayant que des lésions focales légères (Begg et coll., 2011). Néanmoins, les



auteurs admettent la possibilité d'une éventuelle progression en sévérité étant donné que tous les animaux étaient euthanasiés à 19 mois.

Chez les moutons où d'importantes lésions multibacillaires étaient présentes en nécropsie, la capacité de production d'IFN- $\gamma$  était réduite lorsque le sang de ceux-ci était stimulé à l'aide d'antigènes de MAP ainsi que d'antigènes non spécifiques (Begg et coll., 2011). Ceci suggère que la réponse immunitaire innée des animaux développant ces lésions pourrait être affectée.

L'importance d'une augmentation rapide de l'expression d'IFN- $\gamma$  dans le développement d'une réponse immunitaire cellulaire efficace permettant de limiter les lésions à des lésions focales (Type I) est soutenue par les travaux de Delgado et coll. (2012). En effet, en inoculant des agneaux et des brebis avec une dose élevée de MAP ( $3.0 \times 10^8$  MAP/mL), ceux-ci ont démontré que l'augmentation de l'IFN- $\gamma$  spécifique à MAP était beaucoup plus prompte chez les brebis que chez les agneaux. De la même façon, seulement les brebis démontraient une augmentation de l'IFN- $\gamma$  non spécifique significative. Les lésions des agneaux étaient majoritairement multifocales (type II) alors que celles des brebis étaient presque toutes focales (type I).

Il a également été démontré que la réponse immunitaire pouvait être dépendante de la souche rencontrée (Fernandez et coll., 2014). Alors que la plupart des études utilisent la souche I comme souche pour l'inoculation, la réponse immunitaire ainsi que les lésions observées lors d'une exposition à la souche II semblent être distinctes de ce qui a été rapporté précédemment, suggérant ainsi une évolution propre à chaque souche (Fernandez et coll., 2014).

#### 1.2.4.3. Résistance et résilience à MAP

Plusieurs études évaluant la progression clinique de la maladie suivant l'exposition, naturelle ou non, à l'agent pathogène ont observé un sous-groupe d'animaux invariablement négatifs aux différents tests (Dennis et coll., 2011). Ces résultats suggèrent l'existence d'une résistance à l'infection.

Également, il a été démontré qu'une certaine proportion des moutons inoculés expérimentalement étaient résilients à la maladie. Après avoir développé des lésions

paucibacillaires dans l'étude longitudinale de Dennis et coll. (2011), 13% avaient la capacité de complètement résoudre leurs lésions dans les 12 mois suivants.

### **1.2.5. Phase clinique**

La phase clinique de la maladie chez les ovins est caractérisée par une perte de poids, une hypoprotéinémie, et des œdèmes sous-glossien (Sweeney, 2011). Ces signes cliniques résultent principalement du fort épaissement de la paroi intestinale causé par l'accumulation des lésions de type 3b et 3c empêchant ainsi l'absorption adéquate des nutriments. Telles que décrites plus haut, ces lésions créent des infiltrations cellulaires pouvant aller jusqu'à la sous-muqueuse intestinale (Clarke & Little, 1996). Des lésions macroscopiques 3b et 3c sont clairement observables en nécropsie chez les animaux en phase clinique (Perez et coll., 1996). Subséquemment, la capacité d'absorption du petit intestin, endroit où sont concentrées les lésions, sera altérée, puisque ces infiltrations mèneront à l'épaississement de la sous-muqueuse et à l'atrophie des villosités (Marquetoux et coll., 2018).

La progression de l'infection jusqu'à la phase clinique a été examinée par plusieurs études. Dans l'étude de Dennis et coll. (2011), des agneaux de 9-10 mois étaient exposés à un pâturage contaminé par des moutons infectés. À la fin de la période de suivi de 3 ans, 15.6% de ces agneaux avaient progressé en phase clinique. Dans une étude similaire, en examinant les lésions intestinales sur une période de 2.5 ans, McGregor et coll. (2012) ont apporté une progression vers les lésions 3a et 3b chez 6.7% d'agneaux ayant pâturé pendant 102 jours avec des moutons excréant l'agent pathogène. Dans une autre étude, 29% des agneaux inoculés expérimentalement à l'âge de 3-4 mois possédaient des lésions multibacillaires 12 mois plus tard (de Silva et coll., 2013).

Le délai entre l'infection initiale et l'excrétion de l'agent pathogène dans les fèces semble varier selon l'âge auquel l'animal a été exposé. L'excrétion a pu être observée à partir de 6 mois après l'inoculation lorsqu'exposé en tant qu'agnelles (5-6 mois), 11 mois après l'inoculation lorsqu'exposé en tant que brebis adultes ( $\approx$  5 ans), et de 18 mois après l'inoculation lorsqu'exposé en tant que jeunes brebis (2.5 ans) (McGregor et coll., 2012). Toutefois, la médiane de temps entre

exposition et excrétion était de 11 mois lorsque les animaux étaient exposés en tant qu'agneaux (McGregor et coll., 2012).

### **1.2.6. Facteurs de risque**

La section suivante se concentre sur les différentes caractéristiques individuelles des animaux ainsi que les pratiques de régie considérées étant des facteurs de risque ou de protection à l'infection individuelle et de troupeau. Celle-ci débute en listant en détail les facteurs de risques rapportés chez les ovins sans aucune restriction géographique pour finalement se terminer par un survol des études canadiennes réalisées chez les bovins.

#### **1.2.6.1. Facteurs de risque individuels pour l'infection**

##### *1.2.6.1.1. Âge*

L'âge d'exposition des animaux à MAP a été rapporté comme étant un facteur de risque important dans le développement de la maladie.

Dans le cadre d'une étude expérimentale, McGregor et coll. (2012) ont évalué l'effet de l'âge d'exposition et de la dose utilisée sur l'évolution de l'excrétion de la bactérie, de la mortalité et des lésions observées. Les cotes d'excrétion de MAP étaient plus élevées chez les agneaux exposés à  $\approx$ 5-6 mois (RC = 7.1; IC 95% 2.4–21.1) comparativement à une exposition chez des animaux adultes de 5 ans. Des résultats similaires ont été observés pour les animaux exposés alors qu'ils étaient jeunes (2.5 ans) (RC = 5.2; IC 95% 1.7–15.6). Une exposition à MAP entre 5 et 6 mois d'âge était également associée au développement de lésions sévères (RC = 3.4; IC 95% 1.4–8.1) lorsque comparés à ceux exposés adultes et à une hausse de la mortalité attribuée à la paratuberculose (RC = 5.4; IC 95% 1.0–28.2) lorsque comparée aux moutons exposés jeunes (2.5 ans) et adultes ( $\approx$  5 ans).

En complément à l'âge d'exposition des animaux, d'autres études ont rapporté une association significative entre l'âge des animaux et la probabilité d'un résultat positif aux tests diagnostiques. Dans l'étude de Dhand et coll. (2016), l'appartenance des moutons aux cohortes plus âgées (5 ans vs 3 ans) étaient associées à une culture positive d'un échantillon composite de fèces (RC = 1.7; IC 95% 1.2–2.4). Ces résultats illustrent parfaitement la nature chronique de la maladie où

l'excrétion de la bactérie dans les fèces semble augmenter avec l'âge de l'animal. Une étude réalisée en Jordanie a identifié une séroprévalence statistiquement plus haute chez les moutons de plus de 5 ans ( $p < 0.05$ ) comparativement aux moutons de moins de 5 ans (Al-Majali et coll., 2008). Des résultats similaires ont été obtenus par Bhat et coll. (2020) où la séroprévalence des animaux étudiés de plus de 3 ans était significativement plus élevée que ceux de moins de 3 ans (50.0% vs 37.0%).

En opposition, l'étude de plus de 26 000 petits ruminants (16 903 moutons et 9369 chèvres) en Italie a identifié une association entre le jeune âge de ces petits ruminants et la séropositivité à MAP ( $p < 0.01$ ), les animaux âgés entre 6 mois et 1 an ayant des cotes plus élevées que les animaux plus vieux (RC = 2.3; IC 95% 1.9–2.9) (Iarussi et coll., 2019). Un constat similaire a été fait en Tunisie où les brebis de moins de 3 ans étaient significativement plus séropositives ( $p = 0.04$ ) que les brebis de plus de 3 ans (Khamassi Khbou et coll., 2020).

#### 1.2.6.2. Facteurs de risque individuels pour l'excrétion

##### 1.2.6.2.1. Races

Comme certaines affections des ovins telles que la tremblante ont pu être maîtrisées en utilisant la résistance conférée par un génotype, il est intéressant d'évaluer s'il existe des inégalités quant à la susceptibilité à MAP entre les races (Groschup et coll., 2007).

Une étude a observé l'influence de la race des animaux sur l'acquisition de l'infection et le développement de la maladie. En comparant des moutons de race Mérinos, Border Leicester, Poll Dorset et du croisement Suffolk/Mérinos, Begg et coll. (2017) ont conclu que bien qu'aucune différence significative n'existât en ce qui a trait au risque d'acquisition de l'infection, certaines races étaient plus résilientes au développement de la forme clinique de la maladie (Border Leicester RR = 0.3; IC 95% 0.1–0.8 et Poll Dorset RR = 0.3; IC 95% 0.1–0.7). Toutefois, les auteurs soumettent l'hypothèse que la différence observée n'est possiblement pas causée par une susceptibilité plus grande chez certaines races, mais plutôt à un développement plus rapide de la maladie chez celles-ci, considérant donc qu'il est possible que cette disparité ait disparu si l'étude avait été poursuivie au-delà des 14 mois prévus (Begg et coll., 2017).

Une étude rétrospective utilisant les données provenant de l'observation histopathologique post-mortem de plus de 3600 brebis a rapporté une disparité entre les races dans l'incidence de paratuberculose, diagnostiquée par la présence d'entérite granulomateuse accompagnée des bactéries acido-alcool-résistantes (Morris et coll., 2006). Lorsque les brebis de race Romney étaient comparées aux brebis Australian Superfine Merinos, la différence entre l'incidence de la paratuberculose était significative (3.5% vs 5.2%). Similairement, l'âge des brebis de race Romney dont le décès est attribuable à la paratuberculose était significativement plus bas que pour les brebis de race Australian Superfine Merinos (3.5 vs 3.9 ans). Ces résultats concordent avec une autre étude australienne où les cotes d'observer des pertes causées par MAP (RC = 2.2; IC 95% 1.1–4.4) des fermes ayant un troupeau à prédominance Fine Merinos étaient plus élevées que celles des autres races (Lugton, 2004). Une plus grande susceptibilité de la race Mérinos est appuyée par les résultats d'une étude économique néo-zélandaise (Gautam, Anderson, et coll., 2018). Basé sur une simulation stochastique, le taux de mortalité attribuable à la paratuberculose était presque 3 fois plus élevé dans les troupeaux de laine fine, majoritairement Mérinos, que les autres. La validité des conclusions de cette étude demeure limitée étant donné que la plupart des fermes participantes à cette étude étaient des troupeaux producteurs de laine à très forte majorité Mérinos.

La race de l'animal semble jouer un rôle dans sa réponse immunitaire face à l'infection (Begg et coll., 2017). Après inoculation, les moutons de croisement Suffolk blanc/Mérinos possédaient un niveau d'anticorps spécifique à MAP significative plus bas que les moutons de race Mérinos, Poll Dorset, et Border Leicester ( $p < 0.05$ ). L'IFN- $\gamma$  spécifique à MAP était également significativement plus bas pour les moutons Suffolk/Mérinos ( $p < 0.05$ ) comparativement aux autres races alors qu'il était plus élevé pour les moutons Border Leicester lorsque comparé aux Suffolk/Mérinos ( $p < 0.01$ ). Iarussi et coll. (2019) ont quant à eux pu démontrer que les ovins et caprins de races pures étaient significativement plus souvent séropositifs que ceux races hybrides (RC = 2.0; IC 95% 1.8–2.2). À noter toutefois que l'analyse a été réalisée en combinant la séroprévalence des chèvres et des moutons. Ainsi, il est donc possible que cette conclusion ne s'applique pas spécifiquement aux moutons.

En somme, la race des brebis semble définitivement être associée au risque d'infection par MAP ou de développement de la paratuberculose. Toutefois, bien que certaines caractéristiques des races puissent expliquer cette différence, il est également fort possible que cette variable agisse uniquement en tant que variable de substitution pour les différences liées aux pratiques de régie telle que le taux de remplacement des animaux (Lugton, 2004). Cette hypothèse est d'ailleurs supportée par les résultats de Coelho et coll. (2010) où ceux-ci ont associé les races locales (en opposition à des races importées) à une prévalence plus élevée dans les troupeaux.

#### *1.2.6.2.2. Signes cliniques*

Tel que l'on pourrait s'y attendre, les moutons présentant des signes cliniques de la maladie semblent être plus à risque d'être positif à MAP. La présence de diarrhée ainsi que l'observation de signes cliniques par un vétérinaire étaient toutes deux significativement associées à un plus grand risque de séropositivité (Coelho et coll., 2007; Selim et coll., 2021).

Sans surprise, un faible état de chair était un facteur de risque dans quelques études. Une étude indienne a rapporté l'émaciation des animaux comme facteur de risque d'être séropositif (RC = 2.8; IC 95% 1.8–4.4) (Bhat et coll., 2020). Dans l'étude de Dhand et coll. (2007), les brebis ayant un état de chair dans la moyenne ou plus maigre possédaient une prévalence significativement plus élevée que les autres. La direction de la relation demeure floue; bien que l'amaigrissement chronique fasse partie des signes cliniques de la paratuberculose, les auteurs mentionnent qu'il est possible qu'une nutrition inadéquate et/ou un stress accru puissent prédisposer à l'infection (Dhand et coll., 2007).

En opposition, l'association entre un faible état de chair et la séropositivité des animaux n'a pas été observée dans l'étude allemande de Stau et coll. (2012). Toutefois, il est possible que cette association n'ait pu être décrite en raison de la méthode d'échantillonnage choisie. Pour chaque troupeau, seulement les 10 moutons ayant le plus faible état de chair étaient choisis sans considération à la taille du troupeau.

### 1.2.6.3. Facteurs de risque d'infection du troupeau

#### 1.2.6.3.1. Introduction des animaux

L'introduction d'animaux provenant d'autres fermes semble jouer un rôle important dans l'introduction et la transmission de MAP entre les fermes.

Dans le cadre de leur étude longitudinale sur la vaccination dans les troupeaux ovins d'Australie, Dhand et coll. (2021) ont démontré une association positive entre l'introduction de béliers d'un plus grand nombre de sources (moyenne de 3.1 sources comparativement à une moyenne 2.3 sources) et le statut positif des troupeaux (RC = 1.6; IC 95% 1.1–2.5). Cette étude se déroulant sur plus d'une décennie avait également rapporté en 2014 une association entre un statut de pool positif et l'introduction d'animaux provenant de l'extérieur (RC = 3.3; IC 95% 1.4–7.3) (Windsor et coll., 2014). Cette association était également significative dans l'étude de Al-Majali et coll. (2008) (RC = 1.9; IC 95% 1.1–3.6).

La contribution importante de l'introduction d'animaux dans la transmission de MAP est supportée par l'analyse de réseau et de souche réalisée en Nouvelle-Zélande par Marquetoux et coll. (2016). Les mouvements d'animaux entre les fermes étaient le contributeur majeur dans la transmission inter-ferme de MAP.

#### 1.2.6.3.2. Pratiques de remplacement des animaux

De façon complémentaire à l'introduction de nouveaux animaux dans le troupeau, la méthode de remplacement des animaux du troupeau a un effet important sur le risque d'introduction de MAP.

Le fait de produire ses propres animaux de remplacement a été rapporté comme un facteur protecteur (RC = 0.1; IC 95% 0.0–0.9) par Bhat et coll. (2020) lorsque ceux-ci ont examiné la séroprévalence des troupeaux ovins dans la région du Cachemire en Inde. Un même résultat a été reproduit par Iarussi et coll. (2019), où le rapport de cote pour l'autoproduction des remplacements était de 0.5 (IC 95% 0.4–0.8). Cette trouvaille est en lien avec la notion d'achat puisque par définition, un troupeau ne produisant pas d'animaux de remplacement doit s'en procurer pour compenser les réformes (Morales-Pablos et coll., 2020).

#### *1.2.6.3.3. Contacts avec d'autres ruminants d'élevage*

Puisque MAP possède la capacité d'infecter plusieurs espèces de ruminants, il est donc possible que les contacts directs ou indirects entre les moutons d'un élevage et d'autres ruminants recèlent une voie importante d'introduction et de transmission de la maladie.

Dans l'étude australienne de Dhand et coll. (2007), le fait d'utiliser un chemin vers le pâturage partagé avec d'autres élevages était considéré un facteur de risque à l'obtention d'un pool de fèces positif (RC = 1.8; IC 95% 1.0–3.2). Plus tard, le même groupe de recherche a identifié le déplacement d'un troupeau sur une route partagée comme facteur de risque à un pool de fèces positif (RC = 4.4; IC 95% 1.3–14.4) en étudiant les effets résultant de la vaccination de troupeaux positifs pendant 5 ans (Windsor et coll., 2014). De surcroît, lorsque cette équipe fit l'évaluation des facteurs influençant la protection offerte par la vaccination, ils identifièrent le fait d'avoir un grand nombre de voisins possédant un élevage ovin comme un autre facteur de risque à un statut de troupeau positif (RC = 1.3; IC 95% 1.0–1.6) (Dhand et coll., 2021). Les participants de l'étude ont d'ailleurs fait mention de failles dans les clôtures séparant les élevages, expliquant ainsi la potentielle transmission de l'agent pathogène. La transhumance des animaux constituait aussi un facteur de risque pour une séropositivité à l'échelle du troupeau dans l'étude de Bhat et coll. (2020) (RC = 7.8; IC 95% 1.6–51.5).

À l'instar des Australiens, la présence de clôtures dans la ferme délimitant la propriété a été soulignée dans l'étude espagnole de Jimenez-Martin et coll. (2022) comme un facteur protecteur de l'exposition d'un troupeau à MAP (RC = 0.5; IC 95% 0.3–0.8).

La fréquentation d'un pâturage par plusieurs espèces différentes semble jouer un rôle dans la transmission. Ceci est reflété dans les résultats obtenus par Bhat et coll. (2020) où le partage du pâturage entre un élevage ovin et des bovins constituait un facteur de risque d'être séropositif (RC = 7.2; IC 95% 1.1–48.5). À l'instar des bovins, une étude réalisée au Mexique a observé une association entre le partage du pâturage avec d'autres troupeaux ovins et un statut de troupeau positif à MAP (RC = 3.5; IC 95% 1.2–9.1) (Morales-Pablos et coll., 2020).

En opposition, les analyses de Iarussi et coll. (2019) n'ont pas identifié le co-pâturage avec des bovins ou d'autres troupeaux ovins comme facteur de risque à un statut de troupeau positif.



Toutefois, les auteurs ont identifié deux autres facteurs de risque à un statut positif soit la présence d'autres espèces d'animaux dans les élevages de moins de 30 têtes (RC = 2.3; IC 95% 1.2–4.3) ainsi que dans les fermes mixtes ovines et caprines (RC = 2.6; IC 95% 1.2–5.5).

#### *1.2.6.3.4. Contacts avec la faune*

Comme il a été démontré à plusieurs reprises qu'une multitude d'espèces sauvages sont susceptibles à l'infection par MAP, il peut être important d'évaluer les associations possibles résultant des contacts entre la faune sauvage et les troupeaux ovins.

Deux études ont rapporté une association significative entre les contacts avec la faune et une séroprévalence plus élevée. La présence d'animaux sauvages, incluant des cerfs, dans le pâturage a été identifiée comme étant un facteur de risque en Inde par Bhat et coll. (2020) (RC = 9.8; IC 95% 1.4–68.4) ainsi qu'en Italie par Iarussi et coll. (2019) (RC = 1.9; IC 95% 1.3–2.8).

Toutefois, l'étude australienne de Dhand et coll. (2007) n'a, pour sa part, révélé aucune association significative entre la présence de faunes sauvages (excluant lapins et kangourous) et une prévalence plus élevée.

#### *1.2.6.4. Facteurs de risque de transmission à l'intérieur d'un troupeau*

##### *1.2.6.4.1. Pratiques d'agnelages*

La densité des animaux lors de l'agnelage semble également jouer un rôle significatif dans l'acquisition de l'infection. En utilisant des cultures d'échantillons composites de fèces, Dhand et coll. (2007) ont identifié une densité, comprenant les brebis et agneaux, de plus de 14 têtes/hectare dans les enclos d'agnelage comme facteur de risque pour l'obtention d'un pool positif à la culture (RC = 2.3; IC 95% 1.3–4.2).

De même, d'autres pratiques d'agnelages étaient des facteurs protecteurs contre un statut positif tels que le fait de posséder des parcs spécifiquement réservés à l'agnelage (RC = 0.2; IC 95% 0.1–0.3) et le fait de séparer les animaux qui seront utilisés pour le remplacement des animaux destinés à la vente (RC = 0.5; IC 95% 0.3–0.8) (Iarussi et coll., 2019).

La capacité d'un producteur à associer les agneaux à leur mère était un facteur protégeant contre une séropositivité de troupeau (Iarussi et coll., 2019).

#### *1.2.6.4.2. Conditions sanitaires et de santé*

Compte tenu de la survie importante de MAP dans l'environnement, il est judicieux d'évaluer l'effet des conditions sanitaires de l'élevage sur la prévalence et le statut à MAP.

Iarussi et coll. (2019) ont identifié comme facteurs de risque à la séropositivité du troupeau trois pratiques relatives aux conditions sanitaires des élevages. Premièrement, le fait d'utiliser de la litière accumulée dans la bergerie était associé à une séropositivité niveau troupeau plus élevée (RC = 5.3; IC 95% 3.4–8.1). Le fait d'avoir des brebis allaitantes avec les trayons sales était aussi un facteur de risque rapporté par les auteurs (RC = 0.2; IC 95% 0.1–0.3) et appuyé par une autre étude transversale réalisée au Mexique, bien que celle-ci n'ait qu'une très petite taille d'échantillon et que les rapports de cotes n'aient pas été rapportés (Mejia-Martinez et coll., 2017). De même, la présence d'eau stagnante dans la bergerie semblait également prédisposer les animaux à un statut de troupeau positif à la sérologie (RC = 2.7; IC 95% 1.8–4.0) (Iarussi et coll., 2019).

La séparation des animaux malades du reste du troupeau protégeait les troupeaux d'un statut positif dans l'étude de Bhat et coll. (2020) (RC = 0.1; IC 95% 0.0–0.5) et de Iarussi et coll. (2019) (RC = 0.6; IC 95% 0.4–0.9).

#### *1.2.6.4.3. Pratiques d'alimentation et source des fourrages*

L'utilisation d'une auge pour alimenter les animaux était associée à une prévalence plus basse lorsque comparé aux troupeaux où le fourrage était donné au sol (Dhand et coll., 2021). De surcroît, l'utilisation de fourrage provenant d'une terre amendée à l'aide de fumier/eaux usées constituait un facteur de risque pour un statut de troupeau sérologique positif dans une étude italienne (RC = 2.2; IC 95% 1.4–3.6) (Iarussi et coll., 2019).

#### *1.2.6.4.4. Pratiques de pâturage*

Le pâturage étant une partie intégrante du plan d'alimentation de plusieurs producteurs ovins, il est dès lors important d'évaluer les risques de transmission de l'infection liés à celui-ci.

Une étude tunisienne a rapporté que les animaux ayant accès au pâturage avaient des cotes d'être séropositif à MAP plus bas que ceux n'en effectuant pas (RC = 0.2; IC 95% 0.1–0.8) (Khamassi Khbou et coll., 2020).

La rotation du pâturage semble influencer l'exposition des animaux à des fèces contaminés par MAP. Le fait de faire pâturer les animaux sur la même parcelle, en opposition à une rotation des parcelles, est un facteur de risque à un statut de troupeau positif (RC = 3.0; IC 95% 2.0–4.3) (Iarussi et coll., 2019).

#### *1.2.6.4.5. Pratiques de réforme*

La sortie rapide des animaux en phase clinique du troupeau permettrait de réduire l'exposition à MAP des animaux non infectés, réduisant par conséquent la transmission intra-troupeau.

À ce titre, les auteurs de l'étude longitudinale australienne sur les effets de la vaccination dans les troupeaux atteints ont identifié la réforme des animaux maigres et la vente des groupes moins performants comme un facteur de risque à une prévalence plus élevée (Dhand et coll., 2007). Néanmoins, les auteurs considèrent cette pratique comme une stratégie de contrôle en réponse à une prévalence élevée du troupeau, hypothèse supportée par d'autres études antérieures (Lugton, 2004).

#### *1.2.6.4.6. Taille du troupeau*

Il n'existe présentement aucun consensus sur l'effet de la taille des troupeaux ovins sur la prévalence de la paratuberculose. Les variations observées entre les différentes tailles pourraient davantage être attribuées à la différence entre les régions d'élevage qui, elles-mêmes, varient considérablement selon la région étudiée. Également, la taille du troupeau pourrait agir en tant que variable confondante pour la densité des animaux (Coelho et coll., 2007).

Malgré cela, il semble y avoir une association entre une grande taille de troupeau et la séropositivité des animaux (Bhat et coll., 2020; Morales-Pablos et coll., 2020). L'étude de Coelho et coll. (2010) se retrouve à être l'exception où les troupeaux de 30 à 60 têtes avaient des cotes d'être séropositif plus élevées (RC = 2.1; IC 95% 1.3–3.4) comparativement aux troupeaux de moins de 30 têtes et plus de 60 têtes.

#### 1.2.6.4.7. Densité de l'élevage

En faisant pâturer des moutons négatifs à MAP avec des moutons excréteur la bactérie, l'étude de McGregor et coll. (2012) a mis en évidence la relation entre le degré d'exposition à la bactérie et le risque d'infection et de mortalité des ovins. Pour des moutons négatifs, le fait de pâturer en haute densité avec des excréteurs (0.7 mouton/hectare) était un facteur de risque pour devenir infectieux (RR = 3.4; IC 95% 1.3–9.0) et pour la mortalité (RR = 18.6; IC 95% 2.2–154.9) comparativement aux densités plus faibles (0.1 mouton/hectare). Ces résultats soutiennent l'hypothèse que la densité et donc la dose à laquelle les animaux sont exposés influencent grandement le cours de l'infection.

L'effet de la densité sur les cotes d'infection a également été rapporté par Dhand et coll. (2007) où une association entre une haute densité d'ovins dans les enclos d'agnelages et le risque d'obtenir un pool fécal positif a été observée (RC = 2.3; IC 95% 1.3–4.2).

#### 1.2.6.4.8. Contacts avec le fumier

Comme la transmission est directement liée à l'excrétion du pathogène dans les fèces, toutes les pratiques pouvant avoir un impact sur les contacts des animaux susceptibles avec le fumier provenant d'individus infectés sont particulièrement importantes.

Dans l'étude de Coelho et coll. (2010), les auteurs ont pu observer une association entre la séropositivité des animaux et le fait d'avoir accès à l'endroit où le fumier était entreposé sur la ferme (RC = 2.2; IC 95% 1.4–3.7).

Comme décrit dans la section *Conditions sanitaires*, l'utilisation de litière accumulée et de fourrage amendé de fumier/eaux usées étaient aussi significativement associées au fait d'être séropositif.

#### 1.2.6.4.9. Caractéristiques du producteur

Plusieurs caractéristiques propres au producteur responsable de l'élevage influençaient la séropositivité des animaux du troupeau. Avoir moins de 50 ans (RC = 0.5; IC 95% 0.3–0.9) était un facteur protecteur, alors que détenir un niveau d'éducation inférieur à un diplôme d'étude

secondaire (RC = 2.3; IC 95% 1.2–4.4) était un facteur de risque pour une séropositivité à l'échelle du troupeau (Iarussi et coll., 2019).

#### *1.2.6.4.10. Utilisation d'antiparasitaires*

Bien que la dynamique immunitaire d'une infection à MAP ne soit pas encore clairement élucidée, il n'en reste que la réponse Th2 a précédemment été associée à un mauvais contrôle du MAP et à la présence de lésions multibacillaires (Begg et coll., 2011). Ainsi, comme les helminthes génèrent une réponse immunitaire de type Th2 tout en limitant la réponse Th1, une co-infection parasitaire peut contribuer à l'évolution clinique d'une infection à MAP. De ce fait, un contrôle inadéquat du parasitisme pourrait exacerber la transmission de MAP à l'intérieur d'un troupeau.

Étonnamment, l'étude portugaise de Coelho et coll. (2010) a observé une association entre l'utilisation unique d'ivermectine et une séroprévalence plus élevée dans l'élevage (RC = 5.6; IC 95% 1.9–17.0). De plus, l'utilisation d'une combinaison d'albendazole (RC = 3.9; IC 95% 1.7–8.9) ou d'une combinaison de closantel et mebendazole comme traitement antiparasitaire (RC = 2.8; IC 95% 1.1–7.1) étaient associés à une séroprévalence de MAP plus élevée comparativement à un traitement basé sur une combinaison d'ivermectine.

Ces résultats contre-intuitifs sont expliqués par les auteurs comme étant la conséquence d'un traitement inefficace couplé au développement d'une résistance à celui-ci. De plus, il est possible que ce facteur soit confondu avec l'accès des animaux au pâturage de même qu'un état de chair général des animaux plus faibles, deux variables non rapportées par l'étude.

#### *1.2.6.4.11. Utilisation de fertilisants*

Étrangement, il a été rapporté en Australie par Dhand et coll. (2007) que l'application fréquente de fertilisants riches en superphosphate était un facteur de risque pour l'obtention d'un échantillon composite de fèces positif en culture (RC = 5.0; IC 95% 2.5–14.3) ainsi que pour l'obtention d'une plus grande concentration de bactéries dans les échantillons composites (quantité non précisée par les auteurs). Comme cette association a précédemment été rapportée comme non significative par Lugton (2004), les auteurs de cette étude ont émis l'hypothèse que

l'association émerge de la nécessité d'utiliser plus fréquemment ce type de fertilisant afin de palier à la pression subie par le pâturage, pression exacerbée par une grande densité d'animaux. De surcroît, l'utilisation d'autres types de fertilisant était un facteur protecteur dans l'étude. Ceci n'a rien d'étonnant puisque les fertilisants alternatifs sont très souvent utilisés lorsque les producteurs décident d'ensemencer leurs pâturages. Or, durant et après l'ensemencement, le pâturage se doit d'être exempt d'animaux. Ainsi donc, l'absence prolongée des animaux peut aider à réduire la concentration de l'agent pathogène au sol et par le fait même de la transmission dans l'élevage.

#### 1.2.6.5. Autres facteurs de risque

##### *1.2.6.5.1. Saison*

Le risque d'acquisition de l'infection semble être modulé en fonction des saisons. Ces facteurs de risque sont présentés ci-dessous et les saisons mentionnées ont été considérées en fonction de leur hémisphère respectif.

Une étude australienne a rapporté que les cotes d'un résultat positif en échantillon composite de fèces étaient plus élevées pour les agneaux nés en hiver comparativement aux agneaux nés au printemps ou en automne (RC = 0.5; IC 95% 0.3–0.9) (Dhand et coll., 2007).

Dans l'étude de Selim et coll. (2021) réalisée en Égypte, la séroprévalence variait selon les saisons et elle était significativement plus élevée au printemps et en été.

Il a également été rapporté que la saison choisie pour la réforme des animaux influençait la séroprévalence observée. Le fait de réformer une partie du troupeau au printemps et en été était associé à une séroprévalence plus élevée de MAP (RC = 2.2; IC 95% 1.4–3.3) comparativement à une réforme à l'automne/hiver (Coelho et coll., 2010).

##### *1.2.6.5.2. Type de sols*

Étonnamment, le type de sol utilisé pour l'élevage ovin ainsi que pour le pâturage semble jouer un rôle dans la transmission de la paratuberculose.

Dans l'étude australienne de Dhand et coll. (2009), un sol plus riche en carbone et argileux était associé à une prévalence plus élevée alors qu'un pâturage où le sol était plus sablonneux et riche en azote était associé à une prévalence plus faible. Les auteurs suggèrent que cette différence pourrait être en partie expliquée par la rétention de l'agent pathogène à la surface de sols argileux. Conséquemment, les animaux se trouveraient plus fréquemment en contact avec ce dernier dans ce type de sol.

De la même région, Lugton (2004) avait associé une altitude élevée (> 750m) pour la ferme au risque d'enregistrer des pertes liées à la paratuberculose (RC = 3.0; IC 95% 1.3–6.9).

En Espagne, le type de sol sur lequel est élevé le troupeau était un prédicteur significatif d'un statut de troupeau positif (Reviriego et coll., 2000). Malheureusement, aucune estimation des rapports de cotes entre les différents types de sols n'a pu être obtenue par les auteurs.

#### 1.2.6.6. Bovins

Comparativement aux bovins laitiers, très peu d'études examinant les facteurs de risque de la paratuberculose ont été réalisées chez les ovins. Puisqu'une bonne partie des connaissances de la maladie chez les ovins sont des inférences directes de ce qui a été observé chez les bovins, notamment la dynamique immunitaire de l'infection et l'excrétion du pathogène, il est alors judicieux d'explorer les facteurs de risque rapportés chez ceux-ci.

Deux articles effectuant une courte revue du sujet ont détaillé les différents facteurs liés à l'introduction et la transmission dans les troupeaux bovins laitiers (Doré et coll., 2012; Rangel et coll., 2015).

Tout d'abord, il semble y avoir un lien clair entre la propreté des lieux de vêlage et le risque d'infection des veaux. Les pratiques telles que le nettoyage des trayons ainsi qu'une densité plus faible d'animaux dans les parcs d'élevage ont été rapportées par plusieurs études comme ayant un effet protecteur contre l'infection (Doré et coll., 2012). Ces résultats semblent donc supporter la susceptibilité accrue des veaux et l'importance de limiter leurs contacts avec du fumier contaminé.

De façon similaire à ce qui a été mentionné dans les sections précédentes, l'introduction dans l'élevage d'animaux provenant de sources extérieures augmente le risque d'introduction de MAP dans le troupeau (Rangel et coll., 2015). Également, la faune sauvage semble être en partie responsable de l'introduction, bien que la part de cette contribution soit toujours inconnue.

En outre, l'étude de Puerto-Parada et coll. (2018) réalisée chez les vaches laitières du Québec a été en mesure d'identifier le remplacement de plus de 4% des animaux comme un facteur de risque associé au statut positif du troupeau (RC = 5.4; IC 95% 1.2–24.0).

### **1.3. Diagnostic de la paratuberculose**

Le diagnostic antemortem de la paratuberculose est un défi à cause de l'absence d'un test diagnostique fiable et peu coûteux. La détection de l'infection peut être faite par plusieurs différentes techniques, le choix étant déterminé selon la capacité financière et logistique. Les tests diagnostiques sont classés en 2 catégories : les tests directs, détectant la présence du pathogène, et les tests indirects, détectant une réponse immunitaire de l'hôte.

#### **1.3.1. Tests directs**

##### 1.3.1.1. Histopathologie

*Mycobacterium avium* subs. *paratuberculosis* peut être visualisé en microscopie à l'aide de différentes techniques de coloration. La plus utilisée est la coloration au Ziehl-Neelsen (test ZN), permettant l'identification des bactéries acido-alcoolo-résistantes, telles que MAP (Weber et coll., 2009). Cette coloration est appliquée sur des biopsies ou nécropsies de tissus pouvant contenir MAP; généralement, des biopsies de l'iléon distal ainsi que des ganglions mésentériques sont utilisées pour réaliser ce test.

Puisque l'utilisation du test ZN était très répandue dans le passé, Weber et coll. (2009) ont comparé ses performances avec l'ELISA en utilisant le sérum provenant de bovins. Les auteurs ont réalisé des analyses bayésiennes à partir des résultats de tests d'échantillons de fèces (ZN-test) et de sérum (ELISA) de 892 vaches en phase clinique soumis par des praticiens combinés aux données de performance de tests rapportés dans des études précédentes. La sensibilité



obtenue variait entre 36.5% et 49.8% selon l'information préalable fournie au modèle. La spécificité du test, quant à elle, était de plus de 95%.

Cette technique est fréquemment utilisée afin d'aider le diagnostic en nécropsie ainsi qu'en recherche afin d'évaluer les performances de test en fonction de la classification des lésions observées chez l'animal (Arsenault et coll., 2019). Toutefois, elle tend à être remplacée par d'autres techniques moléculaires moins laborieuses et ayant des performances supérieures (Weber et coll., 2009).

#### 1.3.1.2. Culture

Considérée historiquement comme le test de référence, la détection de MAP en culture est une technique toujours utilisée de nos jours, notamment dans certaines régions du monde où l'équipement et l'expertise requis par les autres techniques empêchent leur utilisation.

Concrètement, un échantillon pouvant contenir MAP (tissus intestinaux, fèces, ou lait) est mis en culture dans un milieu approprié. Suite à l'inoculation, le milieu de culture est incubé pendant plusieurs mois pour permettre la croissance de l'agent pathogène. MAP est alors identifié à l'aide des méthodes phénotypiques et/ou génotypiques par la suite.

La culture de MAP a subi d'importantes améliorations façonnées par les découvertes sur la nature de MAP. Les milieux de cultures utilisés de nos jours sont généralement supplémentés de jaune d'œufs et de mycobactine J. L'étude de l'agent pathogène a révélé la perte de la capacité à sécréter des mycobactines (Wang et coll., 2016), un type de sidérophore essentiel à l'acquisition du fer particulièrement importante chez les agents pathogènes intracellulaires (Schnappinger et coll., 2003). Afin d'augmenter la sensibilité obtenue, des milieux de cultures radiométriques ont été développés tels que les milieux BACTEC™ 12B (Whittington et coll., 1999). Ceux-ci ont par la suite été remplacés par une détection basée sur la fluorescence dans le but de minimiser l'exposition à la radioactivité (Kawaji et coll., 2014).

Malheureusement, la culture de MAP possède d'importants désavantages liés à la croissance lente de l'agent pathogène; une culture de la souche II peut prendre de 4 à 6 semaines avant de démontrer une croissance visible, alors que la souche I prend entre 16 à 52 semaines (Stevenson,

2015). Également, la souche I ne peut croître en culture sans qu'un mélange de jaune d'œuf et de mycobactine J y soit ajouté (Whittington, 2009). L'utilisation d'un milieu de culture liquide en opposition à un milieu solide écourte l'incubation nécessaire, est plus sensible, et permet de supporter la croissance d'une plus grande variété de souches, dont la souche I (Plain et coll., 2015) alors que l'utilisation d'un milieu de culture solide est généralement moins chère, requiert moins d'équipement et permet une identification plus simple des colonies (Behr et coll., 2020). Il a été rapporté que seulement certaines souches I d'Espagne avaient la capacité de croître sur un milieu de culture HEY + MJ (Herrold's egg yolk medium avec mycobactine J) alors que la plupart des souches I australiennes en étaient incapables (Whittington et coll., 2011).

Afin de parvenir à isoler MAP, le milieu de culture doit être décontaminé, ordinairement complétée avec une faible concentration de chlorure d'hexadécylpyridinium (HPC) ou un mélange d'antibiotiques, pour réduire la charge de bactéries ayant une croissance plus rapide.

Les performances rapportées de la culture bactérienne varient entre les différentes études, mais sont inférieures à l'ELISA et à la PCR. La sensibilité fluctue selon le stade clinique de l'animal, allant de < 20% pour les animaux aléatoirement choisis (Bauman, Jones-Bitton, Jansen, et coll., 2016; Kostoulas, Leontides, Enoe, et coll., 2006) à 32.2% pour les moutons ayant des signes cliniques (Elsohaby et coll., 2022). Les spécificités estimées sont beaucoup plus constantes variant de 97 à 99% (Bauman, Jones-Bitton, Jansen, et coll., 2016; Elsohaby et coll., 2022; Kostoulas, Leontides, Enoe, et coll., 2006). Il a déjà été rapporté que la performance de la culture diffère entre les espèces de ruminants, étant plus faible chez les ovins que les caprins (Bauman, Jones-Bitton, Jansen, et coll., 2016). Il est recommandé de confirmer l'identité des colonies isolées à l'aide d'un test PCR afin d'éviter de considérer toute croissance sur média comme un résultat positif.

En raison des coûts élevés, du grand nombre de manipulations, des performances comparativement faibles, et de façon plus importante, du délai d'attente de plusieurs mois, cette technique diagnostique est peu pratique dans un contexte clinique. Néanmoins, celle-ci demeure couramment utilisée en recherche, notamment lors de la comparaison de tests puisqu'elle a retenu sa qualité de test de référence pour plusieurs.

### 1.3.1.3. PCR

L'ADN de MAP peut être détecté via la réaction en chaîne par polymérase (PCR). Cette technique peut être utilisée afin de dépister l'agent pathogène dans une pléthore de matrices, tel que le sérum, les fèces, le lait et même à partir de divers tissus.

Premièrement, les cellules de MAP présentes dans l'échantillon sont lysées afin de rendre disponible l'ADN. Cette lyse peut être accomplie soit par le chauffage, par une lyse chimique, notamment une lyse guanine, ou par une lyse physique en ajoutant des billes zircone ou silice à l'échantillon et en agitant très rapidement le tout (Bead-beating) (Chui et coll., 2004; Khare et coll., 2004; Leite et coll., 2013; Zhang & Zhang, 2011). Suite à cette étape, appelée extraction, l'ADN devient alors facilement accessible. À l'aide de la polymérase et de différents acides ribonucléiques, l'ADN peut être dupliqué lorsqu'exposé à des cycles de changement de température. Cette étape est nommée l'amplification de l'ADN. L'ajout de sondes fluorescentes à l'étape d'amplification permet d'obtenir une courbe d'amplification et donc de transformer la PCR en quantitative PCR (qPCR).

La présence d'une grande quantité d'inhibiteurs, tels que l'hème, les sels biliaires, les hydrates de carbone complexes et certains éléments végétaux, dans les fèces (Christopher-Hennings et coll., 2003; Kawaji et coll., 2007) combinée à la paroi cellulaire unique de MAP rendent difficile l'extraction d'une grande quantité d'ADN (Leite et coll., 2013). Plusieurs modifications de l'étape d'extraction ont été apportées dans le but de maximiser la quantité d'ADN pouvant être extrait de la matrice. Comme mentionné dans la section *Pathogénicité*, le statut clinique de l'animal échantillonné détermine étroitement la quantité d'ADN présents dans l'échantillon. Pour les échantillons de fèces, l'utilisation d'une plus grande quantité de fèces dans l'étape d'homogénéisation précédant la sélection d'un sous-échantillon pour analyse a été rapportée comme générant une sensibilité supérieure, potentiellement expliquée par la tendance des bactéries de se tenir en amas (Christopher-Hennings et coll., 2003). Ce résultat a été reproduit par Plain et coll. (2014). Outre ces facteurs, la microfiltration, la concentration et l'isolation à l'aide de billes magnétiques ont toutes été reconnues comme capables d'augmenter la sensibilité de la détection (Plain et coll., 2014; Sting et coll., 2014).

Un dissensus existe quant aux choix de la cible des amorces pour ce test. Même si IS900 est le gène cible le plus populaire (Plain et coll., 2014), de nombreux chercheurs s'inquiètent du fait que cette cible pourrait engendrer de faux positifs puisque celle-ci a été découverte dans d'autres mycobactéries (Cousins et coll., 1999; Englund et coll., 2002). Afin de pallier cette éventualité, ces derniers utilisent des amorces ciblant le gène *hspX*, gène présentement considéré comme unique au génome de MAP (Ellingson et coll., 1998). Néanmoins, la présence de 14-20 copies de IS900 (Möbius et coll., 2008) comparativement à une seule copie pour *hspX* (Ellingson et coll., 1998) motive l'utilisation du IS900 afin d'améliorer la sensibilité (Arsenault et coll., 2019) et le seuil de détection de l'analyse. Dans le but de remédier à la présence de IS900 chez d'autres mycobactéries, les amorces utilisées ont été optimisées en choisissant une séquence unique à 100% à MAP et en augmentant la température de l'étape d'hybridation et de polymérisation à 68°C (Kawaji et coll., 2007), ainsi qu'en optimisant la concentration choisie (Plain et coll., 2014). D'autres cibles telles que IS*Mav2*, IS*Map02* et F57 ont été étudiées (Poupart et coll., 1993; Stabel & Bannantine, 2005; Strommenger et coll., 2001), mais ces dernières sont moins fréquemment utilisées puisqu'elles causent une perte de sensibilité (Kawaji et coll., 2007; Möbius et coll., 2008).

L'utilisation du test PCR pour le diagnostic de l'infection par MAP apporte toutefois des défis qui lui sont uniques. Premièrement, l'ADN de MAP peut être présent, que les bactéries soient viables ou non dans l'échantillon soumis. Dès lors, l'obtention d'un résultat positif ne permet pas de conclure à une infection active l'excrétion passive ayant été décrite à multiples reprises.

Suite au développement d'un protocole rapide et robuste, l'utilisation de la qPCR sur fèces est rapidement devenue l'une des techniques de diagnostic les plus utilisées (Plain et coll., 2014). Un des grands avantages de cette technique est la facilité d'obtention de l'échantillon. Il est relativement ardu de déterminer les performances exactes du test comme les études comparatives diffèrent considérablement dans leur choix de population source, leur technique d'extraction ainsi que les tests utilisés comme références. Néanmoins, il est possible d'observer certaines tendances. Un tableau synthèse (Tableau 1) couvrant les performances précédemment rapportées dans la littérature est disponible ci-dessous.

Tout d'abord, la sensibilité du test semble grandement influencée par le stade clinique et l'âge de l'animal étudié. La sensibilité obtenue d'une qPCR fécale ciblant *IS900* en utilisant des brebis réformées était estimée à 84% (Arsenault et coll., 2019) alors que celle-ci était seulement de 47.5% lorsque les brebis étaient spécifiquement sélectionnées pour représenter la phase sous-clinique (Mathevon et coll., 2017). Cette disparité peut être expliquée par une différence dans la proportion des animaux en stade clinique de la maladie. Dans la première étude, 16% des brebis positives à la culture de tissus avaient des lésions compatibles à la paratuberculose. Ceci combiné avec le fait que 81% des brebis avaient un état de chair égal ou inférieur à 2.5 suggèrent que certaines d'entre elles étaient dans un stade plutôt avancé de la maladie. À l'opposé, l'étude de Mathevon et coll. (2017) excluait systématiquement tout animal démontrant des signes cliniques compatibles. Similairement, la sensibilité de la qPCR fécale ciblant *hspX* a été estimée à 42.6% chez des brebis laitières sélectionnées aléatoirement (Bauman, Jones-Bitton, Jansen, et coll., 2016). Ces résultats suggèrent un changement important de la sensibilité du test lorsque celui-ci est utilisé chez des animaux susceptibles d'être en phase clinique et concordent avec l'évolution suggérée de la maladie où l'excrétion augmente significativement lorsque l'animal transite en phase clinique.

La spécificité du test qPCR semble être beaucoup plus conservée malgré les importantes variations des protocoles. Celle-ci varie entre 93% (Arsenault et coll., 2019) et 99% (Mathevon et coll., 2017). Comme précédemment mentionné, certains craignent une réaction croisée avec d'autres mycobactéries lorsque *IS900* est utilisé, engendrant ainsi plusieurs faux positifs. Toutefois, la séquence maintenant utilisée semble être unique à MAP, car aucune autre mycobactérie n'a démontré une amplification dans deux études (Kawaji et coll., 2007; Plain et coll., 2014). Il est donc plus probable que l'absence de spécificité parfaite soit davantage due au transport passif de l'agent pathogène (Mathevon et coll., 2017).

La PCR est également souvent utilisée à des fins de confirmation, notamment à la suite d'une croissance sur culture, d'histopathologie ou même d'amplification par phages.

#### 1.3.1.4. Amplification par phages

Une nouvelle technique émergente dans le diagnostic de MAP est l'amplification par phages. Cette méthode tire profit de la capacité des phages à infecter certains pathogènes afin de déterminer non seulement la présence de ceux-ci, mais également leur viabilité. L'un des premiers phages à avoir été séquencé, le D29, fait partie du test d'amplification par phage visant les mycobactéries (Dedrick et coll., 2017; Ford et coll., 1998).

Concrètement, le mycophage D29 est d'abord ajouté à une matrice suspectée de contenir MAP (van der Merwe et coll., 2014). Si MAP est réellement présent, le phage pourra infecter et se répliquer à l'intérieur de la bactérie à l'aide des ribosomes bactériens. Une étape de désinfection avec un virucide est alors faite afin de détruire les phages présents dans l'environnement extracellulaire. Si MAP était présent dans l'échantillon biologique, des phages seront présents à l'intérieur de l'agent pathogène et auront donc été protégés du traitement antiviral permettant ainsi l'amplification. Des cellules susceptibles au phage sont alors ajoutées afin de permettre une réplification exponentielle de ce dernier. La confirmation de l'amplification peut alors se faire par deux méthodes. La première consiste en l'observation d'une zone de lyse dans la culture. Alternativement, une PCR ciblant une section du génome du phage peut être utilisée.

L'utilisation de l'amplification par phages permet d'allier les avantages de la qPCR et de la culture présentés précédemment. À l'instar de la culture, un résultat positif obtenu par cette technique permet de conclure à la présence de MAP viables dans l'échantillon puisque la réplification intracellulaire du phage nécessite la présence de machinerie fonctionnelle dans la cellule hôte. De surcroît, l'amplification par phage ne prend généralement que quelques heures à réaliser (Hosseiniporgham et coll., 2022), contrairement à la culture du pathogène qui, elle, peut prendre plusieurs mois. Par ailleurs, le phage D29 infectant une variété de mycobactéries (Rybniker et coll., 2006), une étape de confirmation doit être réalisée afin de déterminer l'identité de la mycobactérie en question. Pour MAP, cette étape consiste très souvent en un qPCR IS900 (Foddai & Grant, 2020).

Néanmoins, l'amplification par phage est relativement nouvelle et quoiqu'elle démontre des résultats théoriques intéressants, notamment un seuil de détection analytique potentiellement

plus bas que celui de la qPCR (Hosseiniporgham et coll., 2022), son potentiel pratique demeure, pour l'instant, limité à la détermination de bactéries viables en recherche (Beinhauerova & Slana, 2021). Celle-ci pourrait devenir plus populaire afin d'évaluer le potentiel de transmission dans les produits destinés à la consommation humaine, une préoccupation grandissante engendrée par le lien établi en MAP et la maladie de Crohn (Botsaris et coll., 2016).

### **1.3.2. Tests indirects**

#### **1.3.2.1. Test de fixation du complément (CFT)**

Le test de fixation du complément est une technique visant la détermination de la présence d'anticorps spécifique à MAP avec une observation visuelle. En chauffant le sérum de l'animal d'intérêt, une dénaturation des protéines du complément sera réalisée tout en conservant les protéines d'anticorps intactes. Une concentration connue de protéines du complément sera alors ajoutée au sérum traité en plus d'antigènes de MAP. Si des anticorps spécifiques aux antigènes sont présents dans le sérum, les protéines de complément ajoutées seront alors consommées. La déplétion du complément est alors vérifiée en ajoutant des globules rouges ainsi que des anticorps réactifs. Si des protéines du complément sont toujours présentes dans le sérum, les globules rouges seront alors lysés, colorant ainsi notre sérum. Dans le cas contraire, aucun changement de couleur ne sera observé.

Le développement de nouveaux tests ELISA ayant une performance supérieure a rendu le test obsolète (Kalis et coll., 2002).

#### **1.3.2.2. Immunodiffusion sur gel (AGID)**

Similairement au test de fixation du complément, l'immunodiffusion sur gel (AGID) est une technique obsolète permettant de visualiser l'interaction entre des antigènes de MAP et des anticorps spécifiques à MAP. Le sérum à tester est placé dans un des puits, et les antigènes de MAP dans un autre à proximité. Une diffusion des antigènes ainsi que des anticorps dans les puits est observée jusqu'à ce que ceux-ci se rencontrent et se lient pour former une bande visible à équidistance entre les deux puits (Whittington et coll., 2003).

Étant peu sensible, cette technique fut remplacée par l'ELISA (Gumber et coll., 2006)

### 1.3.2.3. Biomarqueurs

Les avancées en protéomique et en transcriptomique ont mené à plusieurs études explorant les changements de l'expression des gènes suite à une exposition ou une infection à MAP. Chez les ovins, 2 études provenant du même groupe de recherche australien ont investigué ces changements au niveau des protéines (Zhong et coll., 2011) et du transcriptome (Purdie et coll., 2019).

Il pourrait être intéressant d'utiliser un changement connu, surtout si celui-ci est spécifique à l'exposition à MAP, comme un indicateur d'infection, appelé biomarqueur. Cette approche a un potentiel important compte tenu de la difficulté des tests présentement disponible à détecter l'infection chez les animaux en phase sous-clinique. Néanmoins, cette technique demande du perfectionnement et n'est pas encore applicable en contexte clinique.

Pour le lecteur désirant connaître les changements suivant l'exposition/infection à MAP rapportés jusqu'à présent, une revue récente couvre le sujet chez les petits ruminants en plus de détails (Fiorentina et coll., 2021).

### 1.3.2.4. IFN- $\gamma$

En utilisant la réponse immunitaire cellulaire suite à l'exposition à MAP, la production d'interféron- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) a été utilisée comme biomarqueur dans de nombreuses études cherchant à développer de nouvelles techniques de détection.

La démonstration de l'induction d'IFN- $\gamma$  suivant l'exposition à MAP dans le cadre d'inoculations expérimentales a stimulé son utilisation comme biomarqueur (Stabel, 2006). Contrairement aux techniques de détections actuellement utilisées, plusieurs croyaient que l'IFN- $\gamma$  pourrait offrir un potentiel de détection plus rapide compte tenu de la dynamique immunitaire présentée précédemment (Hughes et coll., 2013). Ce test s'appuie sur le principe qu'un animal précédemment exposé à MAP aura une induction d'IFN- $\gamma$  plus grande qu'un animal non exposé lorsque ceux-ci sont stimulés à l'aide d'un antigène de MAP.

Malheureusement, les performances de ce test sont toujours largement inconnues, puisque les résultats rapportés varient grandement, notamment chez les ovins (Begg et coll., 2010; Nielsen



& Toft, 2008). De plus, la dynamique de la réponse immunitaire à MAP a récemment été remise en question, ajoutant ainsi des doutes quant au gain en rapidité envisagé (Begg et coll., 2011).

#### 1.3.2.5. Dosage d'immunoabsorption par enzyme liée (ELISA)

Similairement aux techniques basées sur la réponse immunitaire, l'ELISA se sert de l'interaction entre une matrice contenant des anticorps spécifiques et des antigènes (ThermoFisher, 2022).

L'ELISA est très attrayante comme technique diagnostique. Elle utilise des produits généralement peu dispendieux et permet de tester un grand nombre d'échantillons au même moment. De plus, les dernières années ont apporté une automatisation d'un grand nombre d'étapes, accélérant ainsi le traitement et limitant les coûts. De surcroît, la quantité d'échantillons nécessaire à la réaction est très petite, permettant ainsi la réalisation de plusieurs tests diagnostiques à partir d'un seul échantillon.

L'interprétation des résultats doit se faire en considérant le fonctionnement du test et les connaissances biologiques. Comme celui-ci détecte la présence d'anticorps, l'obtention d'un résultat positif nous permet uniquement de conclure que l'animal testé a été exposé à une dose suffisante de MAP pour développer une réaction immunitaire contre celui-ci. Il vaut donc mieux éviter de conclure à une infection active. C'est d'autant plus vrai puisque les travaux de de Silva et coll. (2018) ont démontré qu'il est possible pour une brebis d'avoir une réponse immunitaire aux antigènes sans être pour autant infectée.

Il est également possible que l'obtention d'un faux positif soit causée par la spécificité imparfaite des tests utilisés et par la possibilité de réaction croisée avec les anticorps contre d'autres mycobactéries (Collins et coll., 2005; McKenna et coll., 2005; Wells et coll., 2006).

Les performances de l'ELISA sont dépendantes de la matrice utilisée. Pour l'ELISA sérique, la sensibilité observée varie entre  $\approx$  15% à 50% alors que la spécificité est quasi parfaite à 95-100% (Tableau 2). L'ELISA sur un échantillon de lait individuel possède quant à lui une sensibilité estimée à 45-50% et une spécificité entre 90-95% (Angelidou et coll., 2016).

La performance des tests ELISA semble également être influencée par l'état clinique de l'animal échantillonné. Dans l'étude de Gumber et coll. (2006), la sensibilité de l'ELISA sérique était plus

élevée chez les animaux ayant des lésions multibacillaires comparativement aux animaux ayant des lésions paucibacillaires. La différence de sensibilité était plus minime dans l'étude de Gurung et coll. (2015) où la sensibilité était de 27.9% (IC 95% 14.7-45.7%) lors de lésions paucibacillaires et 35.0% (IC 95% 18.1-56.7%) lors de lésions multibacillaires. C'est dans le cas des lésions mineures (type 1 et 2) que la sensibilité déclinait beaucoup, estimée à 5.9% (IC 95% 1.0-26.9%). Un tableau synthèse (Tableau 2) couvrant les performances précédemment rapportées de l'ELISA sérique dans la littérature est disponible ci-dessous.

Il a aussi été suggéré dans plusieurs publications que l'ELISA sérique possédait une sensibilité supérieure chez les caprins que chez les ovins, écart expliqué par une séroconversion plus rapide et fréquente chez ces premiers (Kostoulas, Leontides, Enoe, et coll., 2006; Stewart et coll., 2006). Pourtant, les résultats de l'étude de Bauman et coll. (2019) contredisent ceci en estimant une sensibilité équivalente entre les espèces, mais une spécificité plus faible chez les moutons.

**1. Synthèse des études évaluant les performances de la qPCR fécale pour la détection de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis***

Condition <sup>1</sup>	Population source	Nb éch. <sup>2</sup>	Méthode	Test de référence	Se <sup>3</sup> (%)	Sp <sup>3</sup> (%)	Référence
A	Brebis réformées provenant de troupeaux avec ou sans historique de PTB	77 (7)	ZR fecal DNA extraction system + In-house qPCR IS900	Culture de tissus intestinaux	84 (59–97)	93 (78–99)	(Arsenault et coll., 2019)
A	Brebis réformées provenant de troupeaux avec ou sans historique de PTB	77 (7)	Tetracore DNA extraction + Tetracore MAP DNA test kit ( <i>hspX</i> )	Culture de tissus intestinaux	52-63 <sup>a</sup> (27-35, 76-87)	87-93 <sup>a</sup> (69-75, 96-99)	(Arsenault et coll., 2019)
I	Brebis de 2-3 ans sans signe clinique provenant de troupeaux non-vaccinés avec historique de PTB et sans introduction de brebis dans les 4 dernières années	1197 (14)	ADIAFILTER concentration + bead-beating + ADIAVET™ PARATB REAL TIME (IS900 qPCR)	Classe latente Bayésienne pour 3 tests (FqPCR & 2 ELISA)	47.5 <sup>b</sup>	99.0 <sup>b</sup>	(Mathevon et coll., 2017)
X	Brebis laitières (>2 ans) en lactation pour plus de 3 jours	400 (21)	Tetracore Two Gram MAP Extraction and Mini Beadbeater protocols + Tetracore VetAlert™ Johne's Real-Time PCR ( <i>hspX</i> )	Classe latente Bayésienne avec culture fèces	42.6 (28.8–63.3)	97.8 (93.0–99.9)	(Bauman, Jones-Bitton, Jansen, et coll., 2016)
X	Chevrettes laitières (>2 ans) en lactation pour plus de 3 jours	580 (29)	Tetracore Two Gram MAP Extraction and Mini Beadbeater protocols + Tetracore VetAlert™ Johne's Real-Time PCR ( <i>hspX</i> )	Classe latente Bayésienne avec culture fèces	31.9 (22.4–43.1)	93.3 (89.0–97.1)	(Bauman, Jones-Bitton, Jansen, et coll., 2016)
X	Moutons majoritairement adultes provenant de troupeaux avec prévalence variable et effectuant pâturage	596 (16)	Bead-beating et purification magnétique + In-house qPCR IS900	Culture de fèces	83.8 (75.6–90.1)	98.9 (93.9–100.0)	(Plain et coll., 2014)

<sup>1</sup> A : Affecté; X : Infectieux; I : Infecté

<sup>2</sup> Nombre d'échantillons et nombre de troupeaux entre parenthèses

<sup>3</sup> Valeur estimée de performance avec intervalle de confiance 95% ou intervalle de crédibilité (lors d'analyses Bayésiennes) entre parenthèses

a Selon la classification des cas suspects (Ct>38)

b Selon modèle avec une dépendance par paire entre l'ELISA A et l'ELISA B pour la sensibilité et une dépendance par paire entre les 3 tests pour la spécificité

## 2. Synthèse des études évaluant les performances de l'ELISA sérique pour la détection de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

Condition <sup>1</sup>	Population source	Nb éch. <sup>2</sup>	Méthode	Test de référence	Se <sup>3</sup> (%)	Sp <sup>3</sup> (%)	Référence
A	Brebis réformées provenant de troupeaux avec ou sans historique de PTB	77 (7)	MAP Ab test kit, IDEXX	Culture de tissus intestinaux	14 (2–41)	100 (88–100)	(Arsenault et coll., 2019)
I	Brebis de 2-3 ans sans signe clinique provenant de troupeaux non-vaccinés avec historique de PTB et sans introduction de brebis dans les 4 dernières années	1197 (14)	ID Screen Paratuberculosis Indirect, IDVet	Classe latente Bayésienne pour 3 tests (FqPCR & 2 ELISA)	17.9 (11.4–25.6) <sup>a</sup>	94.8 (93.1–96.3) <sup>a</sup>	(Mathevon et coll., 2017)
I	Brebis de 2-3 ans sans signe clinique provenant de troupeaux non-vaccinés avec historique de PTB et sans introduction de brebis dans les 4 dernières années	1197 (14)	IDEXX Paratuberculosis Screening kit, IDEXX	Classe latente Bayésienne pour 3 tests (FqPCR & 2 ELISA)	17.4 (10.6–25.9) <sup>a</sup>	94.0 (92.2–95.7) <sup>a</sup>	(Mathevon et coll., 2017)
I	Brebis de 1-5 an provenant d'un troupeau non-vacciné avec historique de PTB	432 (1) <sup>c</sup>	IDEXX Paratuberculosis Screening kit, IDEXX	Bayésienne mixte pour prédire ELISA lait/sérum selon stade lactation	46-49 (27-32, 67-75) <sup>b</sup>	93-95 (86-90, 97-98) <sup>b</sup>	(Angelidou et coll., 2016)
I	Brebis provenant de différentes études	1158 <sup>d</sup>	IDEXX Paratuberculosis Screening kit, IDEXX	Sérums de brebis dont le statut est connu	36.4 (25.8–48.4)	99.8 (99.5–100.0)	(Gurung et coll., 2015)
I	Brebis provenant de différentes études	1158 <sup>d</sup>	In-house 316v ELISA	Sérums de brebis dont le statut est connu	23.0 (15.1–35.8)	99.8 (99.3–99.9)	(Gurung et coll., 2015)
I	Chevrettes de 1-8 an provenant d'un troupeau non-vacciné avec historique de PTB	1268 <sup>e</sup>	Indirect IDEXX Pourquier ELISA	Bayésienne mixte pour prédire ELISA lait/sérum selon stade lactation	54-74 (30-50, 77-92)	100 (99, 100)	(Angelidou et coll., 2014)
A	Brebis avec lésions provenant de fermes avec historique de PTB	27	Pourquier commercial ELISA	Évaluation histologique des lésions intestinales	77.7	N/A	(Sonawane & Tripathi, 2013)

<sup>1</sup> A : Affecté; X : Infectieux; I : Infecté

<sup>2</sup> Nombre d'échantillons et nombre de troupeaux entre parenthèses

<sup>3</sup> Valeur estimée de performance avec intervalle de confiance 95% entre parenthèses

a Selon modèle avec une dépendance par paire entre l'ELISA A et l'ELISA B pour la sensibilité et une dépendance par paire entre les 3 tests pour la spécificité

b Selon le seuil choisi en fonction du stade de lactation de la brebis

c 432 échantillons de sérum provenant de 108 brebis échantillonnées à 4 occasions

d 1092 sérums connus provenant de brebis connues négatives (Sp) et 66 sérums provenant de brebis ayant culture de tissus ou histopathologie positive (Se)

e 1268 échantillons de sérum provenant d'un nombre inconnu de brebis (<300 chevrettes)

### 1.3.3. Échantillons composites

L'utilisation d'échantillons composites pour le diagnostic d'une infection à MAP peut s'avérer être une stratégie avantageuse et économique pour établir le statut infectieux d'un troupeau.

Plusieurs études ont tenté d'évaluer les performances de tests diagnostiques lorsque des échantillons composites étaient utilisés. Toutefois, celles-ci souffrent des mêmes variations dans les caractéristiques de la population source et de protocole complexifiant l'établissement d'un portrait clair.

En ce qui concerne les échantillons composites de fèces soumis à un test qPCR, la capacité de détection est étroitement liée avec le niveau d'excrétion des animaux composant le pool. Tel que présenté dans la section sur les types de lésions, un animal en phase clinique ayant des lésions multibacillaires excrétera des quantités dépassant de plusieurs ordres de grandeur l'excrétion d'un animal ayant des lésions paucibacillaires. Ainsi, la présence d'animaux en phase clinique avancée dans l'échantillon composite influencera considérablement le résultat obtenu et par le fait même la prévalence estimée du troupeau à partir de ces échantillons (Mathevon et coll., 2019). À l'opposé, lorsque cet animal n'est que faiblement excréteur, la capacité de détection du test diminue proportionnellement à l'augmentation de la taille du pool. Dans les troupeaux ayant une faible prévalence et où seulement 50 animaux sont testés à l'aide de 10 pools de 5 échantillons ou 5 pools de 10 échantillons, la sensibilité de détection au niveau du troupeau obtenue allait de 39% à 75% pour des prévalences respectives de 1% et 5% (Mathevon et coll., 2019). Dans ces mêmes troupeaux, l'utilisation de pools plus petits (5 échantillons) permet d'obtenir un gain de sensibilité allant de 4.5% à 17.2% lorsque comparée à des pools plus gros (10 ou 20 échantillons), mais engendrera inévitablement des coûts d'analyse plus élevés (Mathevon et coll., 2019).

La même étude a évalué l'utilisation du test ELISA à partir d'un échantillon composite de sérum (Mathevon et coll., 2019). Bien que la sensibilité de détection à l'échelle du troupeau fût bien supérieure à celle de la qPCR, les auteurs soutiennent que celle-ci est au détriment de la spécificité. Avec un risque de faux positifs variant entre 37.6% et 91.8% chez les troupeaux considérés exempts de la maladie, cette stratégie est donc à éviter.

Bauman et coll. (2019) ont tenté d'utiliser le lait provenant du réservoir de fermes laitières ovines et caprines comme matrice pour un test commercial ELISA et un test qPCR. La sensibilité du test PCR variait considérablement entre les fermes caprines (0%) et ovines (25%), alors que la spécificité du test était parfaite chez les deux espèces. Pour ce qui est de l'ELISA, la valeur prédictive positive relativement élevée autant chez les moutons que les chèvres suggère que l'utilisation de l'ELISA à partir de lait provenant de réservoir peut constituer une stratégie intéressante afin de dépister facilement et à peu de coûts les fermes potentiellement positives.

#### **1.3.4. Stratégies de dépistage**

Dans le cas où un test antemortem doit être fait dans un troupeau où une très faible prévalence est attendue, l'utilisation du qPCR sur des fèces est à privilégier. Non seulement la sensibilité du test semble plus élevée qu'un ELISA sur sérum (quoique très dépendant de la procédure d'extraction et d'amplification), il a également été suggéré à maintes reprises que la spécificité imparfaite du test était davantage un produit du phénomène d'excrétion passive de la bactérie (Mathevon et coll., 2017). Cette hypothèse est supportée par l'absence de réaction croisée avec d'autres mycobactéries des nouvelles amorces d'IS900 présentée précédemment.

Plusieurs stratégies de dépistage visant à maximiser les performances, tout en maintenant un coût abordable, ont été étudiées, notamment chez les bovins (Kawaji et coll., 2020; Sergeant et coll., 2019). Une des difficultés majeures rencontrées lors de leur élaboration est l'absence de complémentarité provoqué par l'indépendance entre le test qPCR et l'ELISA (Juste et coll., 2005; Mathevon et coll., 2017). Ce dépistage distinct n'est pas étonnant considérant le fonctionnement biologique différent de ces tests. Cette hypothèse d'indépendance conditionnelle est supportée par le modèle choisi par Mathevon et coll. (2017) où la sensibilité était conditionnellement indépendante alors que la spécificité, elle, était dépendante.

Afin de minimiser les coûts liés au dépistage, il est judicieux de combiner deux tests imparfaits en utilisant un premier test peu coûteux et rapide avant de retester les échantillons positifs avec un deuxième test. L'utilisation de 2 tests diagnostiques en série permet d'augmenter la spécificité au détriment de la sensibilité (Dohoo et coll., 2014). Malheureusement, la qPCR et l'ELISA

possèdent tous deux une sensibilité relativement faible. La sensibilité de l'utilisation des tests en série a été évaluée par Mathevon et coll. (2017) qui ont obtenu 8.7% (IC 95% : 3.8–15.8).

Donc, il pourrait être intéressant d'utiliser les tests qPCR et ELISA en parallèle, maximisant ainsi notre sensibilité. Toutefois, cette approche augmente significativement les coûts de diagnostics, puisque deux tests peuvent être nécessaires pour chaque échantillon soumis. Cette stratégie demeure attrayante pour ceux cherchant à atteindre un maximum de sensibilité, comme pourrait le vouloir un clinicien désirant confirmer le statut infectieux d'un animal acheté avant son introduction dans un troupeau non infecté.

Bien que les tests antemortem permettent la détection des animaux en phase sous-clinique, notamment les infectieux, il peut être désirable de réaliser des tests diagnostiques tels que la qPCR sur les tissus lors de la réforme d'animaux. De cette manière, une évaluation de la circulation de l'agent pathogène dans le troupeau peut être faite et peut aiguiller le praticien. C'est d'ailleurs ce qu'ont tenté d'évaluer Ly et coll. (2021). Une combinaison d'une sélection aléatoire des moutons réformés avec une sélection ciblée de ceux présentant des lésions amenait à une sensibilité à l'échelle du troupeau de 86% avec 25 moutons testés et croissant rapidement avec le nombre de moutons testés pour atteindre 100% à 150 moutons échantillonnés. Cependant, la sélection aléatoire d'un grand nombre d'animaux réformés provenant d'une même ferme, méthode utilisée présentement en Australie, n'est possiblement pas applicable à la réalité québécoise puisque les cheptels ovins sont considérablement plus petits; la taille moyenne des troupeaux ovins de l'Australie varie en effet entre 1000 à 3000 têtes selon les états alors que la taille moyenne des troupeaux du Québec est de 151 têtes pour les troupeaux laitiers et de 262 têtes pour les troupeaux de boucheries (Links et coll., 2021; Russell Pattinson et coll., 2015).

## 1.4. Situation à travers le monde

Cette section vise à recenser la prévalence de la paratuberculose dans les différentes régions du monde. Comme la régie des ovins est souvent spécifique à chaque région, seules les études réalisées au Canada ont été détaillées. Les autres études estimant la prévalence dans les élevages ovins des autres pays sont résumées au Tableau 3.

À noter qu'il est très difficile de comparer la prévalence entre les pays puisque les estimations ont été obtenues à l'aide de tests diagnostiques vastement différents et dont les performances ne sont que rarement évaluées pour la population étudiée (Barkema et coll., 2018).

### 1.4.1. Au Canada

Dans le reste du Canada, une étude ontarienne a récemment été publiée, celle-ci examinant la prévalence de MAP dans les troupeaux laitiers des petits ruminants. En utilisant une analyse bayésienne à classe latente sur les résultats obtenus à l'aide d'ELISA sur le sérum ainsi que des cultures et PCR sur fèces, les auteurs ont rapporté une prévalence de brebis infectées estimée à 48.3% (IC 95% 27.6–74.3%) pour les fermes laitières ovines ainsi qu'une prévalence de troupeaux infectés de 66.8% (IC 95% 41.6–91.4%) (Bauman, Jones-Bitton, Menzies, et coll., 2016).

En Alberta, aucune étude publiée à ce jour n'a spécifiquement estimé la prévalence dans les troupeaux ovins. Néanmoins, l'étude de Forde et coll. (2012) a rapporté un cas clinique de paratuberculose chez un bélier sauvage mouflon d'Amérique (*Ovis canadensis canadensis*). Après avoir testé les fèces obtenues de deux autres populations de mouflons d'Amérique sauvages, les auteurs ont détecté 3 autres animaux positifs suggérant ainsi la circulation de MAP au sein de la faune de ruminants de l'Alberta.

### 1.4.2. Au Québec

Au Québec, une seule étude a examiné la prévalence de la paratuberculose chez les ovins. Celle-ci a échantillonné des moutons envoyés à l'abattoir de façon systématique. Le diagnostic de paratuberculose était effectué par un pathologiste lors de l'observation de lésions caractéristiques de la maladie. Une prévalence de 3% (IC 95% 2–5%) a été estimée (Arsenault et coll., 2003).



Les mêmes auteurs ont évalué la prévalence de MAP dans les troupeaux caprins de la province. En utilisant une combinaison du test ELISA et d'un test PCR, les auteurs ont observé un risque de positivité à 8% pour l'ELISA, 17% pour les résultats PCR, et 19% lorsque les résultats des deux tests étaient combinés (Arsenault, 2017).

### 3. Synthèse des articles sur la prévalence de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* dans les troupeaux ovins à travers le monde

Région	Pays	Échantillons		Particularité troupeaux	Test diagnostique	Prévalence		Référence
		Nb têtes	Nb troupeaux			Animal	Troupeau	
Afrique	Afrique du Sud	N/A	N/A	N/A	N/A	1-10%	N/A	(Whittington et coll., 2019)
	Égypte	370	82	Troupeaux ≥ 10 têtes, ≥ 1 an, non-vaccinés.	ELISA commercial FPCR FCUL	5.2-18.2% (IC 95% 1.1–29.5%)	Inconnu	(Elsohaby et coll., 2022)
		370	Inconnu	Moutons > 1 an avec signes cliniques	ELISA commercial	7.8% <sup>1</sup>	Inconnu	(Selim et coll., 2021)
		88	3	Historique de MAP	ELISA commercial	46.6% <sup>1</sup>	N/A	(Fawzy et coll., 2013)
	Tunisie	338	15	Brebis > 1 an	ELISA commercial	3.3% <sup>1</sup> (IC 95% 1.8–5.7%)	40.0% <sup>1</sup>	(Khamassi Khbou et coll., 2020)
Amériques	Brésil	392	46	Asymptomatiques	ELISA commercial	53.0% (IC 95% 21.5–84.5%)	95.7%	(Medeiros et coll., 2012)
	Colombie	N/A	N/A	N/A	N/A	5-10%	<1%	(Whittington et coll., 2019)
		456	24	Moutons > 1 an	ELISA commercial	8.0% (IC 95% 5.5–10.5%)	70.0% (IC 95% 51.2–90.0%)	(Correa-Valencia et coll., 2018)
	Mexique	N/A	N/A	N/A	N/A	10-15%	N/A	(Whittington et coll., 2019)
		2415	16	Historique de signes cliniques compatibles	In-House ELISA	51.3% <sup>1</sup> (IC 95% 32.7–62.3%)	100% <sup>1</sup>	(Gabriel et coll., 2021)
		1178	43	Moutons > 6 mois	AGID	7.5% (IC 95% 6.0–9.0%)	53.5% <sup>1</sup>	(Morales-Pablos et coll., 2020)
		368	38	Moutons > 2 ans	ELISA commercial	Inconnu	28.9% (IC 95% 14.5–43.4%)	(Mejia-Martinez et coll., 2017)
211	32	Asymptomatiques	AGID	Inconnu	7.58% <sup>1</sup>	(Moron-Cedillo et coll., 2013)		
Asie	Chine	472	13	Moutons > 6 mois	ELISA commercial	18% <sup>1</sup>	100% <sup>1</sup>	(Yu et coll., 2022)
		4434 <sup>2</sup>	Inconnu	Aucune vaccination	ELISA commercial	7.60% <sup>1</sup>	Inconnu	(Zhao et coll., 2021)
		2187	Inconnu	Aucune vaccination	ELISA commercial	11.29% <sup>1</sup>	100% <sup>1</sup>	(Ma et coll., 2019)
	Inde	1074	Abattoir	1034 mâles en faible état de chair 40 moutons normaux	ELISA commercial FPCR ZN	9.25%	Inconnu	(VinodhKumar et coll., 2013)
		450	25	Inconnu	In-house ELISA	73.8 % (IC 95% 71.8–75.9%)	68.0% (IC 95% 72.0–88.0%)	(Bhat et coll., 2020)
		N/A	N/A	N/A	N/A	20-40%	N/A	(Whittington et coll., 2019)

<sup>1</sup> Prévalence apparente et non corrigée pour les performances de tests

<sup>2</sup> Troupeaux mixtes moutons/chèvres. Nombre par espèce inconnu.

Région	Pays	Échantillons		Particularité troupeaux	Test diagnostique	Prévalence		Référence	
		Nb têtes	Nb troupeaux			Animal	Troupeau		
Asie	Japon	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	<1%	(Whittington et coll., 2019)	
		267	14	Moutons > 1 an	AGID	0% <sup>1</sup>	0% <sup>1</sup>	(Giangasero et coll., 2013)	
	Népal	N/A	N/A	N/A	N/A	1-10%	N/A	(Whittington et coll., 2019)	
	Thaïlande	N/A	N/A	N/A	N/A	<1%	<1%	(Whittington et coll., 2019)	
Europe	Allemagne	1473	150	10 animaux/troupeau avec faible état de chair	ELISA commercial	14%	65%	(Stau et coll., 2012)	
	Espagne	2266	83	Aucune vaccination	In-house ELISA	8.4% (IC 95% 6.9–10.1%)	66.3% (IC 95% 56.1–76.4%)	(Jimenez-Martin et coll., 2022)	
		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	1-5%	20-40%	(Whittington et coll., 2019)
	France	1197	14	Brebis de boucherie, aucune vaccination, animaux sans signes cliniques	ELISA commercial FPCR	0.01-57.3% <sup>2</sup>	N/A	(Mathevon et coll., 2017)	
		N/A	N/A	N/A	N/A	5-10%	1-10%	(Whittington et coll., 2019)	
	Grèce	N/A	N/A	N/A	N/A	10-15%	10-20%	(Whittington et coll., 2019)	
		108	1	Brebis laitières non vaccinées Troupeaux avec historique de MAP	ELISA commercial	6% (IC 95% 6–12%)	N/A	(Angelidou et coll., 2016)	
	Islande	N/A	N/A	N/A	N/A	25%	INCONNU	(Fridriksdottir et coll., 2000)	
	Italie	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	1-5%	>40%	(Whittington et coll., 2019)
		16 903	256	N/A	ELISA commercial	1.6% (IC 95% 0.2–2.4%)	48.6% (IC 95% 41.1–57.7 %)	(Iarussi et coll., 2019)	
		524	1	Troupeaux ayant animaux symptomatiques	AGID	≈2.5% <sup>1</sup>	N/A	(Galiero et coll., 2015)	
		2086	38	Brebis laitière >2 ans en lactation	ELISA commercial	15.1% (IC 95% 7.8–22.4%)	73.7% <sup>1</sup> (IC 95% 59.0–88.3%)	(Anna Rita et coll., 2011)	
	Norvège	N/A	N/A	N/A	N/A	0%	<1%	(Whittington et coll., 2019)	
	Portugal	150	3900	N/A	ELISA commercial	3.7% (IC 95% 3.1–4.3%)	46.7% (IC 95% 38.5–55.0%)	(Coelho et coll., 2007)	
	Royaume-Uni	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	1-10%	(Whittington et coll., 2019)	

<sup>1</sup> Prévalence apparente et non corrigée pour les performances de tests

<sup>2</sup> Prévalence réelle variable entre les sous-populations (très faible risque, faible risque, risque modéré/élevé, risque très élevé) utilisés dans la construction du modèle

Région	Pays	Échantillons		Particularité troupeaux	Test diagnostique	Prévalence		Référence
		Nb têtes	Nb troupeaux			Animal	Troupeau	
Moyen-Orient	Arabie Saoudite	492	Inconnu	Troupeaux, abattoir, clinique vétérinaire	Sérum ELISA commercial	11.1% <sup>1</sup>	Inconnu	(Shabana & Aljohani, 2020)
		123	Inconnu	Troupeaux, abattoir, clinique vétérinaire	Lait ELISA commercial	13.8% <sup>1</sup>	Inconnu	(Shabana & Aljohani, 2020)
		220	8	Animaux >2 ans	ELISA commerciale	19.5% <sup>1</sup>	61.3% <sup>1</sup>	(Elsobaby et coll., 2021)
	Chypre	3429	45	Troupeaux laitiers, animaux >2 ans, jamais vaccinés	Sérum ELISA commercial	15.0%	60.8% (IC 95% 42.3-78.8%)	(Liapi et coll., 2011)
	Iran	568	Inconnu	Animaux >6 mois	ELISA commerciale	15.4% (IC 95% 12.6-16.6%)	Inconnu	(Borujeni et coll., 2021)
	Jordanie	220	20	Moutons 8 à 24 mois, aucun signe clinique	Lésions en histopathologie	≈50% <sup>1</sup>	Inconnu	(Hailat et coll., 2010)
	Turquie	450	26	Troupeaux >100 têtes, suspectés de paratuberculose animaux de plus 2 ans	ELISA commercial	8.3% (IC 95% 4.7-11.8%)	90% (IC 95% 59.8-120.1%)	(Buyuk et coll., 2014)
Océanie		N/A	N/A	N/A	N/A	10-15%	1-10%	(Whittington et coll., 2019)
	Australie	16800	12	Troupeaux >500 brebis, positif à MAP, vaccination depuis 2002	Culture de pool de fèces	0.12% <sup>1</sup>	37.5%	(Dhand et coll., 2016)
	Nouvelle-Zélande	N/A	N/A	N/A	N/A	<1%	>40%	(Whittington et coll., 2019)
		Inconnu	Inconnu	Inconnu	Inconnu	76% (IC 95% 70-81%)	Inconnu	(C. Verdugo et coll., 2014)

<sup>1</sup> Prévalence apparente et non corrigée pour les performances de tests

## **1.5. Impacts économiques de la maladie**

Le développement de la paratuberculose au sein d'un troupeau ovin engendre des pertes de productivités importantes pour les producteurs. Cette perte de rentabilité est entraînée par les facteurs suivants: la perte de poids chez les animaux infectés, la diminution de la production laitière et de la prolificité. La réforme précoce des animaux infectés a également été rapportée chez les bovins et est donc suspectée chez les ovins (Whittington et coll., 2019).

À l'aide d'une simulation stochastique, une étude néo-zélandaise a estimé les pertes causées par MAP à 3.7 \$ US par brebis pour les races productrices de laine et 1.2 \$ US pour les autres races (Gautam, Anderson, et coll., 2018). Similairement, une étude italienne a tenté d'identifier l'impact d'une infection à MAP sur la rentabilité des fermes (Sardaro et coll., 2017). La réduction des profits observée par un troupeau positif était largement causée par une augmentation des frais d'alimentation (variation de 75.0%), des frais vétérinaires (variation de 65.6%), des frais de main-d'œuvre (variation de 59.9%) et des frais liés aux semences et aux fertilisants.

### **1.5.1. Perte de poids**

Comme décrits précédemment, les animaux infectés par MAP subiront des changements physiologiques importants de leur système gastro-intestinal. Lors de l'atteinte du stade avancé de la maladie, l'animal fera face à une malabsorption importante, menant notamment à une perte de poids graduelle. En suivant une cohorte de 83 moutons naturellement infectés sur une période de 3 ans, McGregor et coll. (2015) ont réussi à démontrer une réduction significative du poids (jusqu'à 5 kg), détectable dès 21 mois, des animaux infectés présentant des lésions multibacillaires. Les auteurs ont également remarqué qu'une « perte de poids », caractérisée par une différence significative entre les animaux infectés comparés aux animaux non infectés, a pu être observée de façon objective avant même que celle-ci devienne visuellement identifiable. Ce résultat supporte l'hypothèse avancée par d'autres auteurs que la phase sous-clinique de la maladie limiterait le potentiel de croissance des animaux, particulièrement lorsque ceux-ci sont infectés en bas âge (Morris et coll., 2006). Ce plafond à la croissance se produirait donc même en l'absence de signes cliniques facilement identifiable pour un producteur, telle qu'une perte de poids (Morris et coll., 2006). Il devient donc difficile pour un producteur de discerner l'impact de

l'infection d'autres facteurs pouvant limiter la croissance tels que la composition génétique, la présence de parasites et autres maladies concomitantes ou encore l'alimentation de l'animal.

### **1.5.2. Diminution de la production laitière**

Au mieux de mes connaissances, aucune étude traitant de l'effet d'une infection par MAP sur la production laitière ovine n'a été réalisée jusqu'à maintenant. Toutefois, ces effets ont été grandement étudiés chez les bovins. Une méta-analyse de 15 articles sur le sujet a d'ailleurs été publiée par McAloon et coll. (2016). D'après celle-ci, un statut positif à MAP serait associé à une diminution de 1.9 kg de lait/vache par jour (IC 95% 2.3–1.4) ce qui équivaut à une réduction d'environ 6% de la production totale de lait. Toutefois, il est mentionné qu'il reste difficile d'obtenir une estimation fiable due à la disparité des méthodes diagnostiques ainsi que de la définition de cas. Également, les auteurs laissent entendre qu'un biais de réforme important pourrait être présent causé par la réforme des animaux ayant les productions lactières les plus faibles.

L'impact d'une infection par MAP sur la production laitière a été le sujet de plusieurs débats. Il est maintenant généralement reconnu que les animaux excréant peu la bactérie possèdent une production laitière accrue et que les animaux fortement excréteurs ont une production laitière réduite (Smith et coll., 2009).

### **1.5.3. Diminution de la fertilité**

À l'instar de la production laitière, l'impact négatif d'une infection à MAP sur la fertilité des animaux infectés semble croître avec les parités. En analysant à l'ELISA sérique et à la culture coprologique 369 petits ruminants (173 moutons et 193 chèvres), Kostoulas, Leontides, Billinis, et coll. (2006) ont évalué l'influence d'une infection sous-clinique sur la fertilité. L'impact a été évalué en comparant les cotes d'avoir mis bas à un agneau/chevreau vivant dans les 12 derniers mois afin d'obtenir un rapport de cote. En somme, les brebis de moins de 4 parités étaient plus fertiles lorsqu'elles étaient infectées de façon subclinique comparativement aux brebis négatives (RC = 5.4; IC 95% 1.5–13.3). À l'inverse, une diminution de la fertilité était observée pour les brebis de plus de 6 parités en phase sous-clinique lorsque comparées aux brebis de 6 parités négatives (RC = 0.1; IC 95% 0.0–0.4).

#### **1.5.4. Mortalité attribuable à MAP**

L'étude australienne de Bush et coll. (2006) a estimé les pertes financières pour un producteur ovin engendrées par une mortalité hâtive attribuable à MAP. En sélectionnant un échantillon de convenance de 12 fermes ovines et en examinant toutes les mortalités adultes survenues en 2002, les auteurs ont utilisé l'environnement où a eu lieu le décès, l'apparence physique de la carcasse, les lésions macroscopiques et l'histopathologie afin de déterminer si le décès était lié à une infection à MAP. Pour ces 12 troupeaux, le taux de mortalité attribuable à MAP s'élevait entre 0.9% à 15.9% pour une moyenne de 7.0%. Le coût de cette mortalité hâtive était estimé à 7.3 \$ US par brebis. Il est toutefois important de considérer que l'échantillon de cette étude incluait uniquement des troupeaux positifs à MAP, jamais vaccinés et où le producteur estimait une mortalité liée à MAP supérieure à 5%.

#### **1.6. Surveillance et contrôle de l'infection**

Le contrôle de la paratuberculose dans les troupeaux commerciaux est essentiel pour améliorer le bien-être animal, limiter les pertes économiques, maintenir les échanges régionaux et internationaux ainsi que répondre aux préoccupations pour la santé publique (Whittington et coll., 2019). Ce chapitre se concentrera sur deux méthodes de contrôle employées à travers le monde afin de lutter contre MAP, soit les programmes de contrôle axés sur la biosécurité ainsi que les programmes de contrôles axés sur la vaccination. Bien que les pertes économiques de la paratuberculose soient reconnues dans les troupeaux de ruminants d'élevages, l'importance accordée à la surveillance et au contrôle de la maladie chez les ovins varie grandement entre les différentes régions du monde.

La simple surveillance de l'infection est une des mesures les plus répandues et bien des nations s'y limitent sans pour autant instaurer de programme de contrôle. Nous pouvons prendre en exemple les quelque 28 pays où l'infection est à déclaration obligatoire chez les ovins (Whittington et coll., 2019). Au Québec, la paratuberculose est une maladie désignée, et de ce fait, tout échantillon positif se doit d'être déclaré au Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation (MAPAQ, 2020). Plusieurs pays, tels l'Australie, l'Autriche, la Suisse, l'Afrique du Sud, la Norvège, la Suède, utilisent également une surveillance passive ou active chez les moutons

cliniquement suspectés d'être atteints (Animal Health Australia, 2021; Kampen & Chiek., 2021; Le Conseil fédéral Suisse, 2022; Republic of South Africa, 2022; Whittington et coll., 2019).

La vaccination fait partie intégrale du contrôle de l'infection chez les animaux de remplacement en Australie, en Espagne, en Nouvelle-Zélande, en Islande (Animal Health Australia, 2021; Gautam, Ridler, et coll., 2018; Matvælastofnun, 2022; Whittington et coll., 2019). La Norvège et la Suède sont sans nul doute les régions où le contrôle de l'infection est le plus strict (Kampen & Chiek., 2021; Whittington et coll., 2019). À l'exception de quelques cas reliés à l'importation d'animaux, ces pays sont considérés à très faibles prévalences, voire exempts de paratuberculose. De ce fait, le contrôle y est particulièrement agressif; la détection de cas dans un troupeau force la réforme d'un grand nombre d'animaux et peut aller jusqu'à la totalité du troupeau afin de complètement éradiquer l'infection.

Quelques pays apportent également un soutien financier aux producteurs ovins, par exemple pour les pertes causées par l'infection (Australie, Norvège et Espagne), ou pour le coût relié au diagnostic (Norvège) (Animal Health Australia, 2021; Kampen & Chiek., 2021; Whittington et coll., 2019).

Peu importe la stratégie de contrôle utilisée, celle-ci se doit d'inclure les autres espèces de ruminants; la transmission entre les espèces ayant été démontrée à plusieurs reprises (Windsor & Whittington, 2020).

### **1.6.1. Programme de contrôle**

Il est important de séparer le contrôle de la paratuberculose en deux volets selon l'objectif visé. Premièrement, la prévention de l'introduction de l'infection dans les troupeaux considérés comme négatifs. En dépit de l'absence de données sur la prévalence de MAP dans nos troupeaux, il est fort possible que ces troupeaux existent compte tenu des résultats de Bauman, Jones-Bitton, Menzies, et coll. (2016) où il a été estimé que 33.2% des fermes de brebis laitières d'Ontario étaient exemptes. Parallèlement au Québec, Arsenault et coll. (2017) n'ont détecté aucune chèvre positive dans environ 9% des troupeaux laitiers échantillonnés.



Les producteurs de ces troupeaux pourraient donc bénéficier de programme de certification les aidant à identifier les troupeaux à faible risque d'être infectés par MAP. Cette technique est utilisée dans les troupeaux bovins laitiers danois afin de permettre de plus aisément sourcer des animaux de remplacement tout en évitant d'introduire l'infection dans le troupeau (Weber et coll., 2004). Cet objectif demeure toutefois très difficile compte tenu de la présence d'animaux en phase sous-clinique (Rangel et coll., 2015).

Les troupeaux étant déjà atteints viseront davantage à diminuer les impacts cliniques de MAP. Sans surprise, les mesures communément adoptées dans les divers programmes de contrôle sont liées aux facteurs de risque précédemment exposés dans la section Épidémiologie. Le dépistage et la réforme des animaux positifs est une stratégie fréquemment utilisée dans les élevages bovins (Whittington et coll., 2019) et celle-ci a été identifiée comme étant une des plus efficaces pour réduire la prévalence dans les élevages lorsque combiné à des mesures de biosécurité (Kudahl et coll., 2011; Nielsen & Toft, 2011). Cette stratégie est peu viable économiquement chez les ovins, particulièrement les ovins de boucherie, car le dépistage représente un investissement significatif étant donné la valeur individuelle plus faible des animaux (Robbe-Austerman, 2011). Pour ce type d'élevage, il est plus judicieux de concentrer le dépistage sur les moutons montrant des signes cliniques (Gautam, Ridler, et coll., 2018). Les mesures visant à améliorer la biosécurité de l'élevage telle que la séparation de la progéniture des animaux adultes, le nettoyage adéquat des parcs et la bonne gestion des pâturages sont centraux à bien des programmes de contrôle contre la paratuberculose (Eppleston et coll., 2014; Robbe-Austerman, 2011). Ces mesures visent à limiter le contact entre les animaux en bas âge et les fèces d'adultes infectés (Whittington et coll., 2019).

Toutefois, l'implantation de ces mesures de contrôle demande un travail supplémentaire considérable aux producteurs. La réduction de la prévalence est donc directement dépendante de l'adhérence des producteurs à ces mesures. C'est d'ailleurs pourquoi des chercheurs australiens ont rapporté que le programme de contrôle axé sur la biosécurité avant l'utilisation généralisée de la vaccination dans ce pays fut un échec (Windsor, 2021).

Contrairement à bien d'autres pathogènes, il est virtuellement impossible d'éradiquer MAP des élevages ovins pour plusieurs raisons. Tout d'abord, les tests diagnostiques présentement disponibles ont une faible sensibilité, limitant la capacité à réformer de tous les animaux infectés de l'élevage (Windsor, 2014). De la même façon, l'excrétion intermittente et la longue incubation de la maladie conserveraient une sous-population pouvant devenir de futurs excréteurs (Whittington & Sergeant, 2001). Finalement, la transmission *in utero*, quoiqu'encore considérée comme marginale, demanderait également la réforme de toute progéniture issue d'animaux positifs, ce qui constitue un défi considérable en raison du sous-diagnostic (Whittington & Windsor, 2009). Néanmoins, la Norvège et la Suède ont pour objectif l'éradication puisque l'infection n'est pas endémique dans leurs troupeaux (Kampen & Chiek., 2021; Whittington et coll., 2019).

### **1.6.2. Vaccination**

Comme discuté en introduction de cette section, certaines régions, notamment l'Australie, l'Espagne et l'Islande, visent davantage la réduction des pertes économiques produites par l'infection et utilisent la vaccination des jeunes animaux comme stratégie primaire afin d'arriver à cette fin (Matvælastofnun, 2022; Whittington et coll., 2019; Windsor, 2014). Gudair® est un vaccin contenant la souche bovine 316F inactivé par la chaleur et est homologué en Australie, en Espagne et en Nouvelle-Zélande contre la paratuberculose chez les ovins (Dhand et coll., 2016; Gautam, Anderson, et coll., 2018; Ministerio de sanidad, 2018). Le régime vaccinal présentement utilisé en Australie consiste en une dose unique de 1mL administrée derrière l'oreille des agneaux entre 4 et 16 semaines d'âge (Zoetis, 2022).

La grande majorité de la recherche sur la vaccination a été réalisée en Australie où la vaccination est utilisée depuis 2002 et est considérée comme indispensable pour le contrôle de MAP (Dhand et coll., 2021). Bien que la vaccination ne permette pas d'endiguer la transmission à l'intérieur d'un troupeau, elle réduit de façon significative l'expression clinique de la maladie ainsi que l'excrétion observée (Dhand et coll., 2016; Dhand et coll., 2021). Un modèle économique australien visant à estimer le point de rentabilité de la vaccination a été développé par Bush et

coll. (2008). L'utilisation de la vaccination devenait profitable entre 2 à 10 ans après la mise en place selon le type de production.

Très peu d'études ont examiné l'impact de la vaccination sur les pertes économiques occasionnées par la paratuberculose. L'étude de cohorte ayant mené à l'homologation du vaccin a rapporté une réduction de 90% de la mortalité attribuée à MAP (Reddacliff et coll., 2006). En dépit de l'absence d'évaluation économique, dans leur étude longitudinale, Dhand et coll. (2016) ont observé une diminution de 30 fois dans la prévalence des troupeaux ayant été vaccinés pendant plus de 10 ans. De surcroît, les abattoirs ont pu constater une réduction des lésions attribuées à MAP chez les carcasses provenant des régions à haute prévalence étant de 2.4% avant l'introduction de la vaccination et de 0.8% en 2009 (Links et coll., 2021).

La vaccination apporte toutefois des inconvénients considérables. La formulation rudimentaire à base d'huile du vaccin Gudair® provoque fréquemment des cellulites granulomateuses et des lymphadénites au site d'injection (Bastida & Juste, 2011; Eppleston & Windsor, 2007; Windsor, 2015; Windsor & Eppleston, 2006). De façon plus importante, l'injection accidentelle du vaccin chez un humain peut causer une inflammation granulomateuse nécessitant une intervention chirurgicale afin de débrider la région affectée (Richardson et coll., 2005; Windsor et coll., 2005).

La vaccination peut également interférer avec d'autres tests diagnostiques couramment utilisés, notamment le test cutané à la tuberculine utilisée dans la plupart des programmes d'éradication de la tuberculose (Windsor, 2014) et l'ELISA (Bastida & Juste, 2011).

## 2. Article

### **Prevalence and risk factors of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in sheep flocks in Québec, Canada.**

William Donnelly<sup>a,b</sup>, Sébastien Buczinski<sup>c</sup>, Gaston Rioux<sup>d</sup>, Marie-Soleil Nadeau<sup>e</sup>, Julie Arsenault<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Groupe de recherche en épidémiologie des zoonoses et santé publique (GREZOSP), Faculté de Médecine Vétérinaire, 3200 Sicotte, Saint-Hyacinthe, Québec, J2S 2M2, Canada

<sup>b</sup> Département de pathologie et microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, 3200 Sicotte, Saint-Hyacinthe, Québec, J2S 2M2, Canada

<sup>c</sup> Département des sciences cliniques, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, 3200 Sicotte, Saint-Hyacinthe, Québec, J2S 2M2, Canada

<sup>d</sup> Centre d'expertise en production ovine du Québec (CEPOQ), 198 avenue Industrielle, La Pocatière, Québec, G0R 1Z0, Canada

<sup>e</sup> Laboratoire de santé animale du Québec, 3220 rue Sicotte, Saint-Hyacinthe, Québec, J2S 2M2, Canada

\* Corresponding author.

E-mail addresses: [william.donnelly@umontreal.ca](mailto:william.donnelly@umontreal.ca) (W. Donnelly), [s.buczinski@umontreal.ca](mailto:s.buczinski@umontreal.ca) (S. Buczinski), [gaston.rioux@cepoq.com](mailto:gaston.rioux@cepoq.com) (G. Rioux), [marie-soleil.nadeau@mapaq.gouv.qc.ca](mailto:marie-soleil.nadeau@mapaq.gouv.qc.ca) (M.-S. Nadeau), [julie.arsenault@umontreal.ca](mailto:julie.arsenault@umontreal.ca) (J. Arsenault).

## Author contributions

Conceptualization : William Donnelly, Sébastien Buczinski, Gaston Rioux, Julie Arsenault

Data curation : William Donnelly

Formal analysis : William Donnelly, Julie Arsenault

Funding acquisition : Julie Arsenault, Sébastien Buczinski, Gaston Rioux

Investigation : William Donnelly, Julie Arsenault

Methodology : William Donnelly, Sébastien Buczinski, Gaston Rioux, Marie-Soleil Nadeau, Julie  
Arsenault

Project administration : William Donnelly, Julie Arsenault

Supervision : Sébastien Buczinski, Julie Arsenault

Validation : Sébastien Buczinski, Julie Arsenault

Writing – original draft : William Donnelly

Writing – review & editing : Sébastien Buczinski, Gaston Rioux, Marie-Soleil Nadeau, Julie  
Arsenault

## **Abstract**

*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) is the causal agent of paratuberculosis, an enteric infectious disease. This infection is endemic in most parts of the world and responsible for significant economic losses in livestock production. The present study aimed to estimate the prevalence of MAP as well as the risk factors contributing to its transmission within the province of Quebec (Canada) sheep flocks. Fecal samples were collected from 2942 ewes from 70 sheep farms, including 10 dairy and 60 meat operations and analysed using IS900 qPCR. A questionnaire on flock characteristic and management was completed to identify risk factors. Logistic regressions were used to evaluate the association of ewe characteristics with animal positivity and management factors with herd status. The apparent flock-level prevalence was estimated at 29.9% (95% CI 25.7-34.1%) while the true animal-level prevalence in the province was estimated at 8.3% (95% CI 4.7-14.1%). Using multivariable analysis, the presence of clinical signs was identified as an individual risk factor for a positive fqPCR (OR = 3.03; 95% CI 1.25-7.36) and the use of animal health data management software was identified as protective factor for positive flock status (OR = 0.07; 95% CI 0.01-0.55).

Keywords: *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*, Paratuberculosis, Sheep, Risk Factor, Prevalence

## **1. Introduction**

*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) is the causative agent of paratuberculosis, a chronic infectious enteric disease of ruminants which is endemic in many countries. It has been recognized as a significant economic burden for all ruminant livestock production (Whittington et al., 2019). In sheep, the disease has been associated with increased mortality, reaching up to 20% per annum in Australian flocks (Windsor, 2014). In New Zealand, the cost incurred by MAP infection was estimated to average US \$3.70 per ewe for fine-wool breeds and US \$1.20 per ewe for other breeds (Gautam et al., 2018).

The introduction of the pathogen in a herd is most likely mediated via the acquisition of an animal with a subclinical infection (Marquetoux et al., 2016; Dhand et al., 2021; Biemans et al., 2022).

The within-farm transmission can subsequently occur by the fecal-oral route when susceptible animals ingest material contaminated by feces from an infectious animal (Windsor, 2015). Other pathways of transmission such as *in utero* and through milk have also been described (Lambeth et al., 2004; Nebbia et al., 2006; Verin et al., 2016). Although adult animals are susceptible to paratuberculosis, lambs are considered far more likely to get infected when exposed (McGregor et al., 2012; Marquetoux et al., 2018). Following infection, the animal will most likely stay in the subclinical phase for several years before developing symptoms typical of the disease, such as chronic wasting (Whittington et al., 2017).

Control of the disease is especially challenging due to the poor performance of the ante-mortem diagnostic tests currently available. Passive shedding, where an uninfected animal sheds MAP after ingestion of contaminated material, has been shown to negatively impact test specificity at the animal level (Whittington and Sergeant, 2001) while intermittent excretion (Whittington et al., 2000) and low bacterial load excreted during the subclinical phase contribute to the lack of sensitivity. Therefore, eradication strategies based on test-and-cull typically fail due to the elusiveness of sheep with subclinical infection (Mathevon et al., 2017). Consequently, control strategies typically aim at limiting the economic impact of the disease by reducing the prevalence of the infection as well as the incidence of clinical cases (Whittington et al., 2019). Approaches centred around limiting contact of young livestock with feces from adult animals (Coelho et al., 2010; Doré et al., 2012; Iarussi et al., 2019), the introduction of new animals to the flock (Lugton, 2004; Windsor et al., 2014; Iarussi et al., 2019; Dhand et al., 2021) and contact with other flocks (Dhand et al., 2007; Jimenez-Martin et al., 2022) have been associated with a lower risk of infection. In Australia, vaccination against MAP was shown to be effective in preventing clinical cases when used in conjunction with other biosecurity practices (Reddacliff et al., 2006; Dhand et al., 2016; Dhand et al., 2021; Links et al., 2021). However, no vaccine is currently approved for use in sheep in Canada.

Little is known about the prevalence of MAP in Canadian sheep flocks. While in the province of Quebec, the prevalence is still unknown, in the neighbouring province of Ontario, the flock-level and within-farm prevalence in dairy sheep flocks were estimated to be 66.8% and 48.3%, respectively (Bauman et al., 2016). The lack of MAP prevalence estimates impedes the evaluation

of the economic losses caused by the pathogen as well as the determination of the most effective testing strategies (Mathevon et al., 2019; Sergeant et al., 2019). Moreover, while the risk factors associated with infection has recently been studied in Quebec's dairy bovine herds (Puerto-Parada et al., 2018), they remain undetermined in sheep flocks.

This study aimed to: 1) estimate the within-flock and flock prevalence of MAP infection in commercial sheep flocks in the province of Quebec, Canada, 2) to identify risk factors for animal and flock positivity by fecal qPCR.

## **2. Material and methods**

A cross-sectional study was conducted in 2020-2022. The STROBE-Vet guidelines were followed to ensure transparency and facilitate this study appraisal (Sargeant et al., 2016). This project was approved by the ethics committee on animal use of Université de Montréal (CEUA 19-Rech-2007).

### *2.1. Flock selection*

Flocks included in this study were randomly selected. Briefly, a list containing all Quebec sheep flocks that declared more than 60 reproductive animals and were registered with the Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ) was extracted in December 2019. The list was then randomly shuffled, and the owners of those herds were successively contacted by phone. The inclusion criteria were to have a minimum of 60 reproductive animals and the intention of continuing production in the following 12 months. Provided interest, flocks were enrolled until a total of 60 meat flocks and 10 dairy flocks were reached. Because of the absence of prevalence estimate for ovine paratuberculosis in Quebec, the number of dairy flocks sampled was determined based on the expected maximum number of flocks that could be recruited considering the low number of flocks in the province ( $n = 27$ ) and an assumed participation of 50%. The sample size for meat flocks was determined based on funding capacity.

### *2.2. Animal sampling*

Within each farm, a multistage sampling strategy was used for ewe selection. Firstly, up to 5 pens were systematically selected using a proportional sampling method stratified by production stage (dry ewes vs. lactating ewes) of pens. Ewes of at least one parturition were then systematically



selected in those pens, for a total of 40 ewes per flock. The number of selected ewes per pen was proportional to the number of ewes in the pen. The sample size per flock ( $n = 40$ ) was calculated to enable the detection of the infection in the flock with a 95% confidence assuming a prevalence of at least 10% and a test sensitivity of 48% as previously reported (Mathevon et al., 2017).

Additionally, a purposive sampling was completed on each farm by sampling the leanest ewes up to 5 ewes. Selection of the leanest ewes was first based on producer assessment and could be completed by the observations made by the research team.

For each ewe, a fecal sample of a minimum of 5 g was collected and placed in a food-grade resealable bag (ULINE S-12263). In the event of an insufficient amount of faeces, the animal was replaced.

The animal unique identification (ATQ) from mandatory ear tag (Québec, 2021) was then noted and used in conjunction with the provincial database to obtain the animal's age. In the event that no ID was available (tag ripped or out-of-province purchase), the age of the animal was estimated by dentition (Faerber et al., 2004).

Body condition was scored by palpation of the loin region following Rankins and Pugh (2012) guidelines (1 to 5 scoring scale from very thin to fat). The eye mucous membrane (FAMACHA; (Petersson & Zajac, 2021)) was evaluated for each animal following sample collection (1 to 5 scoring scale from normal to extremely pale mucosa). Both body condition and FAMACHA scoring were completed by one member of the research team (W.D.) to ensure consistency between visits. The production stage of each ewe (dry or lactating) was noted as well as the last lambing date.

### *2.3. Environmental sampling*

In each pen previously selected, a pool was created by mixing 10 individual samples of fecal droppings (intact whenever possible, not trampled on nor mixed with bedding) of approximately 1 g each collected from the pen's bedding at different locations.

### *2.4. Questionnaire*

A questionnaire pertaining to different management practices was created for the study and pretested by experts in ovine production. The questionnaire was filled on-site with the person in charge of each flock. Questions requiring specific numbers such as the introduction of replacements, culling and mortality were submitted to each producer prior to the visit.

### 2.5. *Sample preparation*

Fecal were kept in a chilled cooler or at 4°C pending processing. Within a maximum of 72h following sample collection, the fecal samples were split into 2 replicates and placed in sterile 58 mL whirl-pak (Nasco B01064). The replicates were then kept at -80°C prior to testing. Although most samples were kept between 1 and 6 months at -80°C, some samples were frozen for up to 27 months due to interruptions in the laboratory activities occurring in the context of the COVID-19 pandemic.

The environmental fecal samples were prepared and analysed using the same method as the individual fecal samples.

### 2.6. *qPCR*

qPCR on fecal and environmental samples was completed as previously reported (Arsenault et al., 2019) with slight modifications. Briefly, each sample was manually homogenized until uniform. DNA was extracted using the MagMAX™ total nucleic acid isolation kit (Applied Biosystem, Waltham, MA) per manufacturer protocol on the King Fisher™ Express-96 Magnetic Particle Processor (ThermoFisher, Waltham, MA). Following extraction, qPCR was performed using ABI Fast TaqMan master mix (Applied Biosystems, Waltham, MA). Primers (IS900-for: 5'-TGCTGATCGCCTTGCTCA-3'; IS900-rev: 5'-GGGCCTGATCGGCGATGAT-3') and probe (IS900-probe: 5'-FAM-CCGGGCAGCGGCTGCTTTATATTC-3'-BHQ1) were commercially synthesized (Integrated DNA Technologies, Coralville, IA). Reaction mixture contained 12.5 µL of master mix, 10 µM of each primer IS900-for and IS900-rev, 5 µM of IS900-probe, and 5.0 µL of fecal DNA for a final volume of 25 µL. Cycling conditions were as follows: initial activation step at 50°C for 120 s and 95°C for 20 sec followed by 40 cycles of a 2-step PCR consisting of 95°C for 3 s and 60°C for 30 s. Samples were considered positive if the cycle threshold (Ct) value was ≤39. Positive and negative controls were added in each PCR run.

## 2.7. *Prevalence estimation*

### 2.7.1. *Animal-level prevalence*

Overall, apparent animal-level prevalence with 95% confidence intervals was estimated using test results from the random sampling adjusted for sample stratification (meat vs. dairy), sampling weights and herd-clustering performed in SAS 9.4 (SAS Institute, Cary, NC). Dairy and meat flock animal-level prevalence were also estimated separately using the same method (without stratification).

True prevalence were obtained by adjusting apparent prevalence for imperfect diagnostic test assuming a sensitivity of 47.5% (95% CI 29.3; 69.9) and a specificity of 99.0% (95% CI 97.9; 99.7) as previous reported (Mathevon et al., 2017) using the prevalence package in R 4.2.2 (Devleeschauwer et al., 2022).

### 2.7.2. *Flock-level prevalence*

Flock-level apparent prevalence with 95% confidence intervals was estimated using one or more qPCR positive test (from randomly selected animals, purposively selected animals, or environmental samples) as the case definition for flock positivity, adjusted for sampling weights. Flock prevalence was also estimated separately for dairy and meat flocks. The prevalence was not adjusted for test imperfection as the sensitivity and specificity of this approach for detecting the presence of MAP was not documented.

## 2.8. *Risk factor analysis*

### 2.8.1. *Animal-level*

Univariable logistic regressions were used to model the probability of ewe qPCR-positivity as outcome with animal-level characteristics variables and the animal positivity as outcome using maximum likelihood estimation based on Laplace approximation. Herd was added to the logistic regression model as a random effect to adjust for clustering of individuals within flocks. Only ewes from positive flocks, as defined previously, were used in the analysis to maximize the statistical power. Animals sampled by random and purposive sampling were included. Potential animal-level risk factors were categorized as presented in Table 1. Variables were selected to be included

in the model based on their unconditional association with the outcome using  $P < 0.20$  in the univariable analysis. Risk factors were evaluated by using a multivariate logistic regression with the model for ewe characteristics adjusted for herd as a random effect. From a full model included all remaining variables, a manual backward elimination was used to select the final model. Variables were excluded from the model were evaluated for potential confounding and were kept if a  $> 30\%$  change was observed in another variable coefficient (Dohoo et al., 2014).

### *2.8.2. Flock-level*

Logistic regressions were used to assess flock characteristics and management practices as potential risk factors for flock positivity based on maximum likelihood estimation with herds included as a random effect. Potential herd-level risk factors were categorized as presented in Table 2. Variable selection and model building was done as previously described for animal-level risk factor analyses.

All risk factor analyses were performed using SAS 9.4 (SAS Institute, Cary, NC).

True prevalence was obtained by adjusting apparent prevalence for imperfect diagnostic test with a sensitivity 47.5% (95% CI 29.3; 69.9) and a specificity 99.0% (95% CI 97.9; 99.7) according to previously published test performance (Mathevon et al., 2017) in R using the prevalence package (Devleeschauwer et al., 2022).

## **3. Results**

### *3.1. Descriptive analysis*

#### *3.1.1. Participation*

According to Quebec's Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, the province ovine industry is composed of 27 commercial dairy flocks and 432 commercial meat flocks of at least 60 adult sheep. Twenty-one dairy flocks of the 27 registered were contacted with a response and of that number, 15 (71%) were eligible. Among them, 11 (73%) farms agreed to participate in the study. For meat flock, 171 were successfully contacted. Of that number, 114 (67%) were eligible among which 60 (53%) agreed to participate. The median size of selected flocks was 189 heads in dairy flock and 151 heads in meat flocks.

### 3.2. Prevalence

#### 3.2.1. Animal-level

Estimated prevalence are summarized in Table 3. Animal-level prevalence was estimated to be 4.5% (95% CI 0.9-8.1) overall, 0.00% (95% CI 0.0-0.1) for dairy flocks and 4.7% (95% CI 0.9-8.4) for meat flocks. The animal-level prevalence (considering only randomly selected animals) ranged from 0 to 95% within each farm, for a median of 6.3%, as presented in Fig. 1.

After correcting for imperfect accuracy of qPCR tests, animal-level true prevalence was estimated to be 0.1% (95% CI 0.0-0.2) in dairy flocks, 8.9% (95% CI 5.0-15.5) in meat flocks, and 8.3% (95% CI 4.7-14.1) overall.

#### 3.2.2. Flock-level

Flock-level prevalence where herd status is defined by one qPCR-positive animal or environmental sample in the flock was estimated to be 29.9% (95% CI 25.7-34.1) overall, 0.0% (95% CI 0.0-13.2) for dairy flocks and 31.7% (95% CI 27.3-36.1) for meat flocks.

### 3.3. Risk factors analyses

#### 3.3.1. Animal-level

The body condition score was associated with MAP positivity ( $P < 0.20$ ) as was the presence of compatible clinical signs (Table 2). No association was found for the other characteristics.

#### 3.3.2. Flock-level

Several practices were associated with herd status ( $P < 0.20$ ) (Table 2) and thus, were included in the multivariable analysis. Specifically, the practices included were 1) use of a management software for health data, 2) having bought animals from more than 3 different sources in the past 3 years, 3) administration of fresh or frozen cow colostrum in the past 3 years, 4) access to pasture, 5) participation to Quebec's maedi visna control program, and 6) having a previous confirmed diagnosis of MAP. These variables were all included in a full multivariable model. Following variable selection, only the use of the use of management software for health data was kept in the final model ( $P = 0.01$ ) (Table 4). None of the variable evaluated were found to be confounder.

Having acquired replacement animals from 4 different sources or more in the past 3 years, using fresh or frozen cow colostrum to feed lambs in the past 12 months, access to pasture, participation to Quebec's maedi visna control program and using a management software for health data were all included in the multivariable model ( $P < 0.20$  from univariable analyses). Only

#### **4. Discussion**

To the best of our knowledge, our study is the first evaluating prevalence of ovine paratuberculosis and its associated risk factors throughout the province of Quebec. The apparent within-farm prevalence estimated (4.5%) in this study is relatively similar to the previously reported estimate obtained from culled ewes sampled at slaughterhouse (3%) many years ago (Arsenault et al., 2003). It is possible that the prevalence has increased over the last decades the prevalence expected in culled ewes is higher than randomly selected ewes. However, it is important to note that the diagnostic tests used differ, complexifying direct prevalence comparison. The sample selected is likely representative of Quebec ovine industry. The participation obtained (71% for dairy and 53% for meat) is within the range expected during recruitment and the reasons listed for not participating do not suggest the presence of selection bias. Furthermore, several participants had to retract their participation due to changed circumstances after the year-long stop imposed by the COVID-19 pandemic.

In positive flocks, the apparent animal-level prevalence was generally equal to 10% or lower. These results are not surprising considering the low sensitivity of the qPCR used. Although the qPCR used in this study was previously estimated to have a sensitivity of 84% (95% CI : 59-97%) and a specificity of 93% (95% CI : 78-99%) in culled ewes, those estimates are most likely not applicable for our study population (Arsenault et al., 2019). Firstly, it has been demonstrated that subclinical infected ewes shed intermittently and lower amounts of MAP than animals in the clinical phase (Whittington et al., 2000; Kawaji et al., 2011), resulting most likely in a lower diagnostic sensitivity for fecal qPCR. Moreover, it is important to consider that passive shedding has been described on numerous occasions (Juste et al., 1994; McGregor et al., 2012).

Consequently, it is plausible that the flock with an estimated within-farm apparent prevalence of >90% might result from a number of high-shedding animals combined with passive shedders.

At the animal-level, only compatible clinical signs was identified as a risk factor for qPCR-positivity (OR:3.03; 95% CI 1.25-7.36). Unsurprisingly, emaciation has previously been associated with MAP positivity in sheep (Dhand et al., 2007; Bhat et al., 2020) and the targeting of ewes showing compatible clinical signs could be used in combination with random sampling to maximize detection inside a flock or as a single strategy to limit diagnostic costs. The early culling of affected animals may also help to minimize the number of heavy shedders in a flock, therefore, to reduce flock transmission (Whittington et al., 2019).

It is unclear as to why the use of a management software was protective against a positive herd status. It is possible that those flocks are prone to implementing stricter biosecurity measures, and thus are preventing the introduction of the disease. Alternatively, the use of a management software might aid producers in identifying low-producing animals and their early removal from the flock could help in limiting the propagation of the infection, therefore preventing detection.

The true prevalence estimates provided therein possesses large confidence intervals and should be interpreted with caution as accurate diagnostic performance estimates for the study population are currently unavailable. Therefore, future work will need to be conducted using a commercial serum ELISA to not only obtain a more precise estimate of the prevalence observed, but also to establish the in-house qPCR performance for a randomly selected sample.

## **5. Conclusion**

Paratuberculosis is endemic in ovine flocks in Québec with true animal-level prevalence was estimated to be 8.0%. The presence of compatible clinical signs was significantly associated with animal positivity in the multivariable model. Herd positivity was associated with the use of a management software for health data. Our results provide the first estimates of prevalence of MAP in Québec's ovine flocks and provide a baseline for future exploration of risk factors contributing to introduction of MAP into flocks.

**Ethics approval**

The study protocol was approved by the Université de Montréal's Institutional Animal Ethics Committee (CEUA #19-Rech-2007).

**Funding**

This work was made possible by the financial support of the Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ) within the framework of the 2018-2023 Innov'Action agrifood program. William Donnelly was a recipient of Graduate Student Research Award from IVADO, the Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal, and the Groupe de recherche en épidémiologie des zoonoses et santé publique (GREZOSP).

**Acknowledgements**

We wish to thank the participating producers for kindly giving their time and contribution to this study. Our thanks are extended to the scientific and technical team at the Animal Health Laboratory (MAPAQ) for the completion of all laboratory analyses as well as to Mélanie Trudel and Marie-Claude Biédrion-Godbout for their contribution to participant recruitment. We also thank the Centre d'expertise en production ovine du Québec (CEPOQ) for their guidance and for allowing access to their installations. Finally, we wish to thank Dr Anne Leboeuf, Dr Olivia Labrecque and Catherine Element-Boulianne for their advice and time contribution to this project.

**Conflicts of interest:**

The authors declare no conflict of interest.



## References

- Arsenault, J., Girard, C., Dubreuil, P., Daignault, D., Galarneau, J.-R., Boisclair, J., Simard, C., Bélanger, D., 2003. Prevalence of and carcass condemnation from maedi–visna, paratuberculosis and caseous lymphadenitis in culled sheep from Quebec, Canada. *Preventive Veterinary Medicine* 59, 67-81.
- Arsenault, J., Singh Sohal, J., Leboeuf, A., Helie, P., Fecteau, G., Robinson, Y., L'Homme, Y., 2019. Validation of an in-house real-time PCR fecal assay and comparison with two commercial assays for the antemortem detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in culled sheep. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 31, 58-68.
- Bauman, C.A., Jones-Bitton, A., Menzies, P., Toft, N., Jansen, J., Kelton, D., 2016. Prevalence of paratuberculosis in the dairy goat and dairy sheep industries in Ontario, Canada. *Can. J. Vet. Res.* 57, 169-175.
- Bhat, A.M., Malik, H., Mir, M.S., Chaubey, K.K., Singh, S.V., 2020. Cross-sectional study on seroprevalence and risk factor analysis of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Kashmir Merino sheep flocks of Central Kashmir valley, India. *Small Ruminant Research* 193.
- Biemans, F., Arnoux, S., More, S.J., Tratalos, J.A., Gavey, L., Ezanno, P., 2022. The effect of risk-based trading and within-herd measures on *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis spread within and between Irish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine* 209, 105779.
- Coelho, A.C., Pinto, M.L., Coelho, A.M., Aires, A., Rodrigues, J., 2010. A seroepidemiological survey of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* in sheep from North of Portugal. *Pesquisa Veterinaria Brasileira* 30, 903-908.
- Devleeschauwer, B., Torgerson, P., Charlier, J., Levecke, B., Praet, N., Roelandt, S., Smit, S., Dorny, P., Berkvens, D., Speybroeck, N., 2022. prevalence: Tools for prevalence assessment studies.
- Dhand, N.K., Eppleston, J., Whittington, R.J., Toribio, J.A., 2007. Risk factors for ovine Johne's disease in infected sheep flocks in Australia. *Preventive Veterinary Medicine* 82, 51-71.
- Dhand, N.K., Eppleston, J., Whittington, R.J., Windsor, P.A., 2016. Changes in prevalence of ovine paratuberculosis following vaccination with Gudair®: Results of a longitudinal study conducted over a decade. *Vaccine* 34, 5107-5113.
- Dhand, N.K., Plain, K.M., Green, A.C., Martinez, E., Eppleston, J., Ly, A., Arif, S., Emery, D., 2021. Factors influencing the effectiveness of the Gudair vaccine for controlling Johne's disease in sheep flocks in Australia. *Preventive Veterinary Medicine* 193, 8.
- Dohoo, I. R., Martin, W., & Stryhn, H. E. (2014). *Veterinary epidemiologic research*. University of Prince Edward Island.
- Doré, E., Paré, J., Côté, G., Buczinski, S., Labrecque, O., Roy, J.P., Fecteau, G., 2012. Risk factors associated with transmission of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* to calves within dairy herd: a systematic review. *J. Vet. Intern. Med.* 26, 32-45.
- Faerber, C. W., McNeal, L. G., Harding, R. L., Hill, K. L., Bobb, J. D., & Horner, S. (2004). *Small Ruminant Production Medicine & Management (Sheep and Goats)* (3rd Edition ed.). Animal Health Publications. <http://www.infovets.com>

- Gautam, M., Anderson, P., Ridler, A., Wilson, P., Heuer, C., 2018. Economic Cost of Ovine Johne's Disease in Clinically Affected New Zealand Flocks and Benefit-Cost of Vaccination. *Vet. Sci.* 5.
- Iarussi, F., Paradies, P., Sardaro, R., Rubino, G., Scaltrito, D., Pieragostini, E., Petazzi, F., 2019. Epidemiology and risk factors of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in semi-extensive dairy sheep and goat farms of Apulia, southern Italy. *Small Ruminant Research* 177, 89-96.
- Jimenez-Martin, D., Garcia-Bocanegra, I., Risalde, M.A., Fernandez-Molera, V., Jimenez-Ruiz, S., Isla, J., Cano-Terriza, D., 2022. Epidemiology of paratuberculosis in sheep and goats in southern Spain. *Preventive Veterinary Medicine* 202, 105637.
- Juste, R.A., García Marín, J.F., Peris, B., Sáez de Ocariz, C., Badiola, J.J., 1994. Experimental infection of vaccinated and non-vaccinated lambs with *Mycobacterium paratuberculosis*. *Journal of Comparative Pathology* 110, 185-194.
- Kawaji, S., Begg, D.J., Plain, K.M., Whittington, R.J., 2011. A longitudinal study to evaluate the diagnostic potential of a direct faecal quantitative PCR test for Johne's disease in sheep. *Veterinary Microbiology* 148, 35-44.
- Lambeth, C., Reddacliff, L.A., Windsor, P., Abbott, K.A., McGregor, H., Whittington, R.J., 2004. Intrauterine and transmammary transmission of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* in sheep. *Australian Veterinary Journal* 82, 504-508.
- Links, I.J., Denholm, L.J., Evers, M., Kingham, L.J., Greenstein, R.J., 2021. Is vaccination a viable method to control Johne's disease caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* ? Data from 12 million ovine vaccinations and 7.6 million carcass examinations in New South Wales, Australia from 1999-2009. *PLoS One* 16.
- Lugton, I.W., 2004. Cross-sectional study of risk factors for the clinical expression of ovine Johne's disease on New South Wales farms. *Australian Veterinary Journal* 82, 355-365.
- Marquetoux, N., Heuer, C., Wilson, P., Ridler, A., Stevenson, M., 2016. Merging DNA typing and network analysis to assess the transmission of paratuberculosis between farms. *Preventive Veterinary Medicine* 134, 113-121.
- Marquetoux, N., Mitchell, R., Ridler, A., Heuer, C., Wilson, P., 2018. A synthesis of the pathophysiology of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in sheep to inform mathematical modelling of ovine paratuberculosis. *Veterinary Research* 49, 27.
- Mathevon, Y., Foucras, G., Corbière, F., 2019. Flock sensitivity and specificity of pooled fecal qPCR and pooled serum ELISA for screening ovine paratuberculosis. *PLoS One* 14, e0226246.
- Mathevon, Y., Foucras, G., Falguieres, R., Corbiere, F., 2017. Estimation of the sensitivity and specificity of two serum ELISAs and one fecal qPCR for diagnosis of paratuberculosis in sub-clinically infected young-adult French sheep using latent class Bayesian modeling. *BMC Veterinary Research* 13, 230.
- McGregor, H., Dhand, N.K., Dhungyel, O.P., Whittington, R.J., 2012. Transmission of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* : dose-response and age-based susceptibility in a sheep model. *Preventive Veterinary Medicine* 107, 76-84.
- Nebbia, P., Robino, P., Zoppi, S., De Meneghi, D., 2006. Detection and excretion pattern of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in milk of asymptomatic sheep and goats by Nested-PCR. *Small Ruminant Research* 66, 116-120.

- Petersson, K., & Zajac, A. (2021). *Online FAMACHA® Certification*. University of Rhode Island. <https://web.uri.edu/sheepngoat/famacha/>
- Puerto-Parada, M., Arango-Sabogal, J.C., Paré, J., Doré, E., Côté, G., Wellemans, V., Buczinski, S., Roy, J.P., Labrecque, O., Fecteau, G., 2018. Risk factors associated with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* herd status in Quebec dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine* 152, 74-80.
- Québec, G. d. (2021). *Identification et traçabilité des animaux d'élevage*. Québec: Gouvernement du Québec Retrieved from <https://www.quebec.ca/agriculture-environnement-et-ressources-naturelles/sante-animale/obligations-proprietaires-gardiens-animaux/identification-tracabilite>
- Rankins, D.L., Pugh, D.G., 2012. Chapter 2 - Feeding and Nutrition. In: Pugh, D.G., Baird, A.N. (Eds.), *Sheep and Goat Medicine (Second Edition)*. W.B. Saunders, Saint Louis, 18-49.
- Reddacliff, L., Eppleston, J., Windsor, P., Whittington, R., Jones, S., 2006. Efficacy of a killed vaccine for the control of paratuberculosis in Australian sheep flocks. *Veterinary Microbiology* 115, 77-90.
- Sargeant, J.M., O'Connor, A.M., Dohoo, I.R., Erb, H.N., Cevallos, M., Egger, M., Ersboll, A.K., Martin, S.W., Nielsen, L.R., Pearl, D.L., Pfeiffer, D.U., Sanchez, J., Torrence, M.E., Vigre, H., Waldner, C., Ward, M.P., 2016. Methods and processes of developing the strengthening the reporting of observational studies in epidemiology - veterinary (STROBE-Vet) statement. *Preventive Veterinary Medicine* 134, 188-196.
- Sergeant, E.S.G., McAloon, C.G., Tratalos, J.A., Citer, L.R., Graham, D.A., More, S.J., 2019. Evaluation of national surveillance methods for detection of Irish dairy herds infected with *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*. *Journal of Dairy Science* 102, 2525-2538.
- Verin, R., Perroni, M., Rossi, G., De Grossi, L., Botta, R., De Sanctis, B., Rocca, S., Cubeddu, T., Crosby-Durrani, H., Taccini, E., 2016. Paratuberculosis in sheep: Histochemical, immunohistochemical and *in situ* hybridization evidence of *in utero* and milk transmission. *Research in Veterinary Science* 106, 173-179.
- Whittington, R., Donat, K., Weber, M.F., Kelton, D., Nielsen, S.S., Eisenberg, S., Arrigoni, N., Juste, R., Sáez, J.L., Dhand, N., Santi, A., Michel, A., Barkema, H., Kralik, P., Kostoulas, P., Citer, L., Griffin, F., Barwell, R., Moreira, M.A.S., Slana, I., Koehler, H., Singh, S.V., Yoo, H.S., Chávez-Gris, G., Goodridge, A., Ocepek, M., Garrido, J., Stevenson, K., Collins, M., Alonso, B., Cirone, K., Paolicchi, F., Gavey, L., Rahman, M.T., de Marchin, E., Van Praet, W., Bauman, C., Fecteau, G., McKenna, S., Salgado, M., Fernández-Silva, J., Dziejzinska, R., Echeverría, G., Seppänen, J., Thibault, V., Fridriksdottir, V., Derakhshandeh, A., Haghkhah, M., Ruocco, L., Kawaji, S., Momotani, E., Heuer, C., Norton, S., Cadmus, S., Agdestein, A., Kampen, A., Sztejn, J., Frössling, J., Schwan, E., Caldow, G., Strain, S., Carter, M., Wells, S., Munyeme, M., Wolf, R., Gurung, R., Verdugo, C., Fourichon, C., Yamamoto, T., Thapaliya, S., Di Labio, E., Ekgatat, M., Gil, A., Alesandre, A.N., Piaggio, J., Suanes, A., de Waard, J.H., 2019. Control of paratuberculosis: who, why and how. A review of 48 countries. *BMC Veterinary Research* 15, 198-198.
- Whittington, R.J., Begg, D.J., de Silva, K., Purdie, A.C., Dhand, N.K., Plain, K.M., 2017. Case definition terminology for paratuberculosis (Johne's disease). *BMC Veterinary Research* 13, 328.

- Whittington, R.J., Reddacliff, L.A., Marsh, I., McAllister, S., Saunders, V., 2000. Temporal patterns and quantification of excretion of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* in sheep with Johne's disease. *Australian Veterinary Journal* 78, 34-37.
- Whittington, R.J., Sergeant, E.S.G., 2001. Progress towards understanding the spread, detection and control of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* in animal populations. *Australian Veterinary Journal* 79, 267-278.
- Windsor, P., 2014. Managing control programs for ovine caseous lymphadenitis and paratuberculosis in Australia, and the need for persistent vaccination. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 11.
- Windsor, P.A., 2015. Paratuberculosis in sheep and goats. *Veterinary Microbiology* 181, 161-169.
- Windsor, P.A., Eppleston, J., Dhand, N.K., Whittington, R.J., 2014. Effectiveness of Gudair™ vaccine for the control of ovine Johne's disease in flocks vaccinating for at least 5 years. *Australian Veterinary Journal* 92, 263-268.

## Tables

**Table 1.** Univariable logistic regression modeling the associations between ewe's characteristics with the outcome positive qPCR result collected from 805 ewes in 19 positive flocks in Quebec, Canada between 2020-2022.

Variables and categories	Number of ewes	MAP positive		Univariable analysis		Multivariable analysis	
		Number	%	OR (95% CI)	<i>P</i> -value	OR (95% CI)	<i>P</i> -value
Showing compatible clinical signs <sup>a</sup>					0.001		0.01
No	742	102	13.75	Ref			
Yes	63	16	25.40	3.68 (1.67-8.13)		3.03 (1.25-7.36)	
Production stage					0.97		
Lactation	221	30	13.57	1.01 (0.56-1.82)			
Dry	584	88	15.07	Ref			
Breed type <sup>b</sup>					0.85		
Pure breed	263	24	9.13	1.50 (0.37-6.13)			
F1	322	84	26.04	1.30 (0.40-4.21)			
Crossed	220	10	4.55	Ref			
Body condition score <sup>c</sup>					0.03		0.20
2 or less	123	19	15.45	6.36 (1.52-26.63)		3.77 (0.84-16.88)	
2.5 to 3.5	578	96	16.61	3.37 (0.92-12.29)		3.08 (0.84-11.21)	
4 or more	104	3	2.88	Ref			
FAMACHA <sup>d</sup>					0.25		
2 or less	567	85	14.99	Ref			
2.5 to 3.5	197	23	11.68	1.10 (0.56-2.17)			
4 or more	41	10	24.39	2.53 (0.85-7.53)			

<sup>a</sup> Animals identified by the producer after a brief summary of clinical signs was given.

<sup>b</sup> F1 defined as an offspring between two pure breeds. Crossed defined as an offspring between more than 2 pure breeds.

<sup>c</sup> Based on body condition recommendation of a body condition between 2.5 and 3.5 in the ovine industry.

<sup>d</sup> Eye mucous membrane evaluated using FAMACHA protocol where 1-2 are considered acceptable.

**Table 2.** Descriptive statistics and odds ratios from univariable logistic regression modeling the associations between Quebec’s flock characteristics or practices with the herd positivity as outcome in 70 sheep flocks in Quebec, Canada between 2020-2022.

Variables and categories	Number of farms	Positive herd status <sup>a</sup>		Univariable analysis	
		Number	%	OR (95% CI)	P-value
Herd size <sup>b</sup>					0.86
Less than 150 adults	18	4	22.22	0.71 (0.17-3.08)	
Between 150 to 300 adults	21	6	28.57	Ref	
More than 300 adults	24	7	29.17	1.03 (0.28-3.75)	
Buying replacement ewes in the past 12 months					0.87
0%	38	10	26.32	Ref	
1-100%	32	9	28.13	1.10 (0.38-3.15)	
Sheep introduction in the flock in the past 3 years					0.70
Yes	65	18	27.69	0.65 (0.07-6.24)	
No	5	1	20.00	Ref	
Number of sources for replacement animals in the past 3 years					0.09
3 flocks or less	51	11	21.57	Ref	
4 flocks or more	19	8	42.11	2.65 (0.86-8.18)	
Contacts with other ruminants					0.29
Goats with/without cows	11	5	45.45	2.33 (0.58-9.36)	
Cows only	21	4	19.05	0.66 (0.18-2.43)	
None	38	10	26.32	Ref	
Fresh/Frozen colostrum from outside sources in the past 12 months					0.15
Yes, cow colostrum <sup>c</sup>	11	5	45.45	2.68 (0.71-10.13)	
No	59	14	23.73	Ref	
Access to pasture in the past 12 months					0.18
Yes	35	7	20.00	0.48 (0.16-1.42)	
No	35	12	34.29	Ref	
Manure from other farms spread on field or pasture in the past 3 years					0.71
Yes	13	3	21.43	0.77 (0.19-3.16)	
No	57	16	28.57	Ref	
Sharing of equipment between farms in the past 3 years					0.92
Yes	51	14	27.45	1.06 (0.32-3.49)	
No	19	5	26.32	Ref	

Variables and categories	Number of farms	Positive herd status <sup>a</sup>		Univariable analysis	
		Number	%	OR (95% CI)	<i>P</i> -value
Animals temporary leaving/entering the herd in the past 3 years					0.70
Yes	17	4	23.53	0.78 (0.22-2.78)	
No	53	15	28.30	Ref	
Participation to MV control program					0.10
Yes	21	3	14.29	0.34 (0.09-1.34)	
No	49	16	32.65	Ref	
Knowledge of paratuberculosis					0.43
Yes	56	14	25.00	0.60 (0.17-2.09)	
No	14	5	35.71	Ref	
Previous confirmed diagnosis of MAP <sup>d,e</sup>					0.10
Yes	8	4	50.00	3.80 (0.81-17.92)	
No	48	10	20.83	Ref	
Suspicion of MAP in the flock <sup>d</sup>					0.35
Yes	30	9	30.00	1.80 (0.52-6.28)	
No	26	5	19.23	Ref	
Use of a management software for health data					0.001
Yes	21	1	4.76	0.07 (0.01-0.55)	
No	30	13	43.33	Ref	

<sup>a</sup> Positivity defined by at least one positive ewe (randomly or purposively sampled) or a positive environment sample

<sup>b</sup> Information missing for 7 flocks

<sup>c</sup> Heat-treated colostrum

<sup>d</sup> Only flocks where the producer had heard of paratuberculosis

<sup>e</sup> Diagnosis confirmed by necropsy or molecular diagnostic test

**Table 3.** Estimated apparent and true prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* determined using fecal qPCR in 2808 randomly sampled ewes from 70 ovine flocks in Québec, Canada between 2020-2022. Estimates were adjusted for clustering by flock and stratified by production type.

Type of flock	Flock-level			Ewe-level		
	No. of flocks	Prevalence %	95% CI	No. of ewes	Prevalence %	95% CI
<b>Dairy</b>						
Apparent <sup>a</sup> prevalence	10	0.0	0.0–13.2	401	0.0	0.00–0.0
True prevalence <sup>b</sup>	70	-	-	401	0.1	0.0–0.2
<b>Meat</b>						
Apparent prevalence	60	31.7	27.3–36.1	2407	4.7	0.9–8.4
True prevalence <sup>b</sup>	70	-	-	2407	8.9	5.0–15.5
<b>All</b>						
Apparent prevalence	70	29.9	25.7–34.1	2808	4.51	0.9–8.1
True prevalence <sup>b</sup>	70	-	-	2808	8.3	4.7–14.1

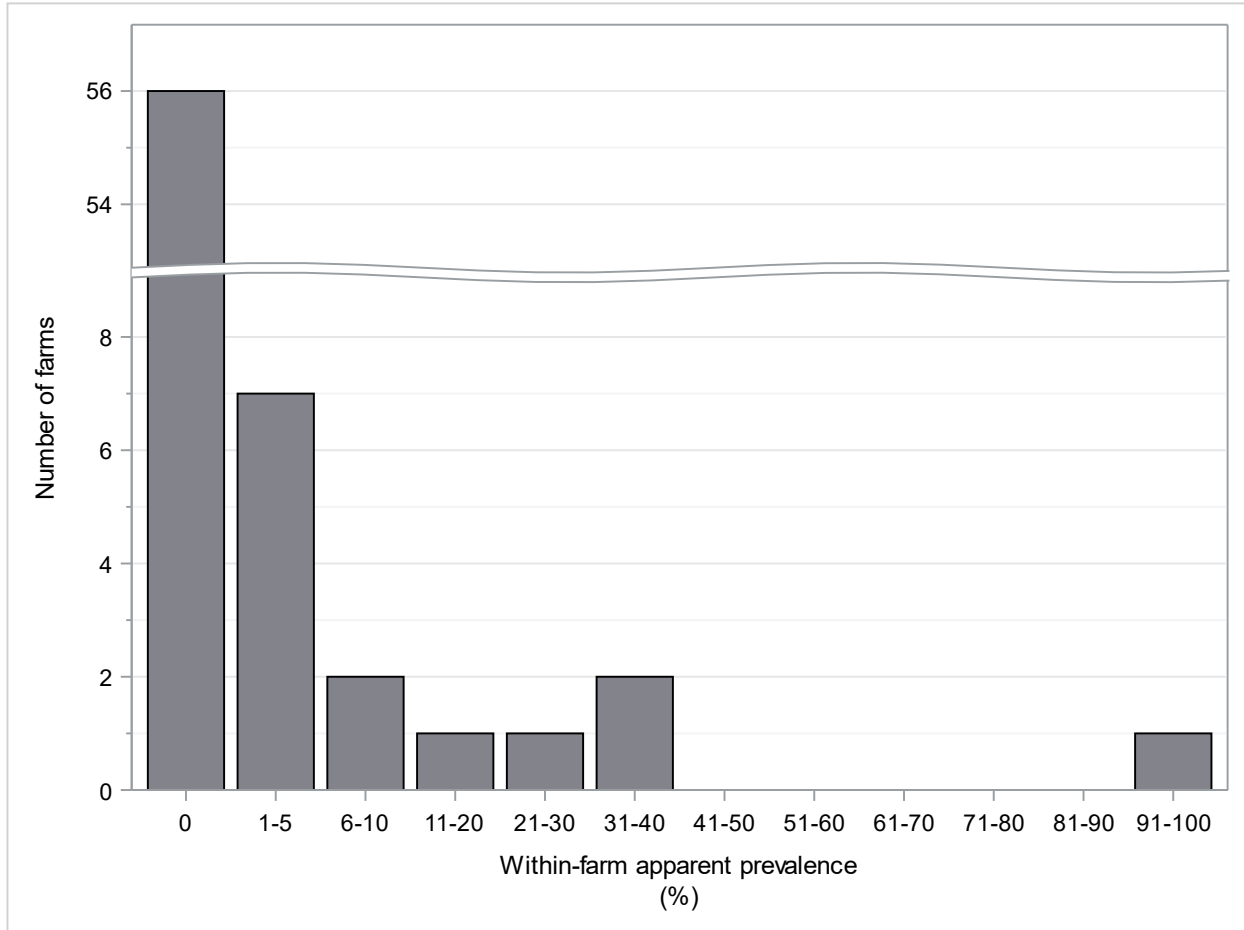
<sup>a</sup> Estimated without adjustment for herd clustering

<sup>b</sup> True prevalence calculated from apparent prevalence adjusted for imperfect diagnostic test performance



## Figures

**Figure 1.** Distribution of farms by their within-farm apparent prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* determined using fecal qPCR in 70 flocks in Québec, Canada between 2020-2022.



## Supplementary Material

**Table 4.** Descriptive statistics for participant recruitment divided by production type in Quebec, Canada between 2020-2022.

	Number of participants	
	Dairy	Meat
Total registered number	27	432
Participant reached?		
Yes	20	168
No	0	8
Participant eligible?		
Yes	14	114
No	6	54
<60 adults	1	15
Not in production	3	26
Flock being sold	2	13
Participant recruited?		
Yes	10	60
No	4	54
Lack of time	2	21
Lack of interest	0	16
Participating in other studies	0	4
Busy renovating	0	1
Has had an accident	0	1
Unknown	2	11

### **3. Discussion générale**

Cette étude visait à estimer la prévalence de la paratuberculose dans les troupeaux ovins du Québec ainsi qu'à identifier les facteurs de risque pouvant contribuer à l'introduction et à la transmission de cette infection. Les résultats obtenus représentent la seule étude de ce genre réalisée chez les ovins de la province et offrent un portrait clair de la situation épidémiologique actuelle. L'obtention des estimations de prévalence facilitera la prise de décision des instances gouvernementales quant aux ressources nécessaires au contrôle de l'infection. De même, les producteurs ovins et leur vétérinaire seront en mesure de contextualiser les résultats de laboratoire obtenus pour la paratuberculose et pourront situer leur troupeau dans le paysage ovin québécois.

Les facteurs de risque identifiés permettent d'orienter l'exploration de mesures de contrôle afin de mitiger le risque d'introduction et de transmission de l'infection. La communication des facteurs de risque propres à la réalité québécoise permettra aux cliniciens de mieux conseiller leurs clients sur les pratiques à modifier.

#### **3.1. Retour sur les résultats**

La prévalence observée de MAP dans la province a été estimée à 4.5% (IC 95% 0.9-8.1%) ce qui est similaire à la prévalence rapportée par Arsenault et coll. (2003) suite à l'inspection de carcasses à l'abattoir (3.0%; IC 95% 2.0-5.0%). La prévalence observée de troupeaux infectés était de 29.9% (IC 95% 25.7-34.1%). Cependant, la prévalence réelle intra-troupeau de cette étude (8.0%) contraste largement avec celle estimée en Ontario (48.3%). En supplément à cette disparité, aucun animal n'était positif dans les 10 troupeaux laitiers de cette étude alors que l'étude ontarienne se concentrait sur les ovins laitiers. La raison de cette différence demeure inconnue et requiert de plus amples recherches.

L'analyse de la prévalence apparente intra-troupeau a révélé d'importantes variations entre les fermes. Dans les fermes positives, la moitié avaient une prévalence apparente de 5% et moins. En considérant la faible capacité de détection des tests, il semblerait donc que malgré la positivité

de leur troupeau, seulement une faible proportion des animaux excrèterait l'agent pathogène dans la plupart des cheptels. Un troupeau y fait exception avec une prévalence apparente de plus de 95%. Malheureusement, aucune pratique unique à ce troupeau n'a pu être identifiée et il est fort probable que cette prévalence soit le résultat d'une transmission établie ainsi que d'une combinaison de nombreux facteurs de risque. Alternativement, il est possible que cette haute prévalence ait été engendrée par la présence de quelques animaux hautement excréteurs provoquant un résultat positif par transport passif chez les autres brebis (Juste et coll., 1994; Whittington & Sergeant, 2001).

De façon intéressante, aucune des fermes laitières recrutées n'était positive. Bien que les fermes laitières étaient hétérogènes dans leurs pratiques, il est possible qu'une combinaison de facteurs ait conféré une protection contre l'infection. Dans cette optique, au Québec, les élevages laitiers de même que les élevages participant au *Programme québécois d'assainissement des troupeaux pour le Maedi visna* pourraient être avantagés, puisque la régie de l'élevage et les recommandations du programme recourent les mesures de contrôle contre la paratuberculose. Par exemple, le retrait des agneaux après la naissance et le recours à l'allaitement artificiel à partir de substitut de colostrum bovin ou colostrum thermisé sont des mesures aidant à réduire la possibilité de contact avec des matières contaminées par des adultes infectés (CEPOQ, 2020; Robbe-Austerman, 2011). Cette hypothèse est d'ailleurs supportée par les résultats de cette étude. Même si ce facteur n'était pas significatif, la participation au programme de contrôle semblait associée au statut du troupeau (RC = 0.3; IC 95% 0.1–1.3) et mérite d'être analysée davantage. De plus, les fermes laitières semblaient se distinguer des fermes de boucherie par leurs pratiques de remplacement des animaux. Une plus grande proportion des troupeaux laitiers produisait la totalité de leurs agnelles de remplacement (80% laitier vs 50% boucherie), la moyenne du nombre de sources différentes pour l'achat d'animaux était plus petite (2.0 laitier vs 3.0 boucherie) et les producteurs s'informaient davantage du statut maedi visna du troupeau d'origine avant de finaliser l'achat (89% laitier vs 45% boucherie).

L'analyse des facteurs de risque individuels n'a identifié qu'un seul facteur significativement associé à un résultat positif à la qPCR fécale, soit la présence de signes cliniques chez l'animal. Cette caractéristique fut majoritairement évaluée par les producteurs en leur demandant

d'identifier les 5 brebis les plus maigres ou ayant récemment subi des pertes de productivité. De ce fait, l'association significative de cet attribut avec MAP supporte la capacité des producteurs à identifier les animaux les plus susceptibles d'être excréteurs, et probablement d'être en phase clinique, et permettra donc d'orienter les stratégies de dépistage recommandées. Lorsqu'un producteur est aux prises avec de nombreuses réformes ou mortalités d'animaux maigres, le vétérinaire praticien pourrait éventuellement échantillonner les animaux ciblés par le producteur comme maigres afin de maximiser la détection de MAP dans le troupeau.

En considérant un troupeau positif lorsqu'au moins un animal était positif, l'analyse des caractéristiques des troupeaux et de leurs pratiques a identifié comme facteur protecteur le fait de consigner les informations de santé des animaux dans un logiciel de régie. À notre connaissance, aucune étude n'a précédemment rapporté cette association chez les ovins. Il est possible que cette utilisation permette aux producteurs d'identifier et donc de réformer les animaux en phase clinique de la maladie, ou représente un proxy pour la qualité générale de la régie d'élevage incluant les pratiques de biosécurité. Plusieurs études ont d'ailleurs reconnu l'importance du retrait des animaux fortement excréteurs dans la réduction de la transmission (Gautam, Ridler, et coll., 2018; Nielsen & Toft, 2011).

## **3.2. Limites du projet**

### **3.2.1. Échantillonnage**

Le recrutement des participants à cette étude a été réalisé par la centrale d'appel du MAPAQ et a été planifié afin de limiter l'introduction de potentiels biais de sélection. La sélection était complètement aléatoire parmi tous les élevages enregistrés répondant aux critères de sélection en décembre 2019. Néanmoins, la présence de biais de sélection est possible. Lors de l'appel initial de recrutement, il était mentionné aux producteurs qu'ils obtiendraient une copie de leurs résultats au terme du projet. Il est indéniable que cet avantage ait motivé la participation de plusieurs, ce qui fut confirmé par les producteurs lors des visites de troupeaux. Par conséquent, les producteurs possédant le désir d'améliorer la condition sanitaire de leurs animaux pourraient être surreprésentés, introduisant ainsi un biais de sélection dans l'étude.

Le manque de temps constituait également une des principales raisons de refus données lors du recrutement (39.7%). Il est concevable que le manque de temps auquel ces producteurs font face impacte la régie de leur élevage, et donc la probabilité d'une infection à MAP. De ce fait, il est essentiel de considérer l'impact de ce potentiel biais de non-réponse sur la validité interne et externe de l'étude.

Outre cela, il ne semble y avoir aucun biais lié aux participants s'étant désistés entre leur recrutement et la visite de leur entreprise par l'équipe de recherche (8/78). La phase terrain du projet ayant été momentanément suspendue par les mesures sanitaires instaurées par le gouvernement du Québec lors de la pandémie de COVID-19, les raisons du retrait de participation étaient diverses et très souvent reliées à une situation ayant changé pour le producteur durant l'interruption comme la construction d'un nouveau bâtiment ou une blessure récente. Bien qu'il demeure impossible d'exclure ce biais dans cette étude, il semble peu probable.

Le taux de participation des éleveurs était similaire au taux attendu de 50% lors de la conception de l'étude. Des troupeaux éligibles, 71% des fermes laitières et 53% des fermes de boucherie ont accepté de participer. La répartition géographique des fermes participantes à l'étude semble aussi être représentative de la distribution des fermes au Québec. Les régions les plus fréquentes des participants étaient en ordre décroissant le Bas-Saint-Laurent (23%), l'Estrie (17%), Chaudière-Appalaches (16%) et le Centre-du-Québec (10%). Celles-ci correspondent aux régions ayant le plus de productions ovines dans la province (Lapointe & Landry, 2019). Toutefois, la Montérégie fait exception. Alors que le MAPAQ y attribue 16% des productions, seulement 7% de nos participants qui provenaient de la région la rendant donc sous-représentée par nos données.

### **3.2.2. Validité des pratiques et données de troupeau rapportées**

Il est important d'approcher avec précaution certaines réponses obtenues des producteurs lors de l'administration du questionnaire et lors de la prise des prélèvements. Tout d'abord, une grande variabilité dans la précision de l'information fournie par les différents producteurs semblait être déterminée par leur capacité à facilement obtenir l'information demandée. Les producteurs utilisant des logiciels de régie, en autres Provin ou BerGère, offraient en général des

données plus précises que les autres. Cette différence était notamment très apparente lors de la prise des prélèvements. Lorsque les dates de dernière mise bas des brebis étaient demandées, les producteurs travaillant avec un logiciel de régie avaient la capacité de fournir une date précise alors que les autres producteurs donnaient en règle générale une approximation au mois près.

Cette disparité dans la précision des informations fournies était également présente lors de l'administration du questionnaire utilisé pour sonder les caractéristiques du troupeau et des pratiques employées. Les questions requérant des chiffres précis telles que les questions visant le nombre d'animaux dans le troupeau, les groupes de mise bas de la dernière année, les achats d'animaux dans les 3 dernières années ainsi que les mortalités et réformes des 3 dernières années étaient particulièrement sensibles à ce phénomène. Les producteurs faisant l'utilisation d'un logiciel de régie étaient, pour la plupart, en mesure de produire des chiffres exacts alors que c'étaient des approximations qui étaient généralement obtenues des autres producteurs. Comme l'équipe de recherche avait ciblé ces questions au préalable, celles-ci étaient envoyées avant la visite du troupeau dans le but de minimiser l'introduction de biais d'information potentiel. Néanmoins, plusieurs producteurs n'avaient pas rempli le document en préparation à la visite et ont fourni des chiffres approximatifs lors de l'administration du questionnaire. Comme cette inégalité dans la validité des réponses fut observée rapidement par l'équipe de recherche, une question supplémentaire fut ajoutée afin de demander le type de registre utilisé pour les données du troupeau. Malheureusement, l'introduction de cette question eut lieu entre la ferme 19 et 20 ce qui en a limité la puissance statistique. En somme, un biais de mauvaise classification différentiel risque fort d'être présent pour ces questions et contribue à sous-estimer les rapports de cote associés à ces dernières.

Il est fort probable que les questions visant à évaluer l'impact de la maladie dans les troupeaux telles que le nombre de brebis maigres réformées et mortes en ferme furent influencées par un historique de paratuberculose dans le troupeau. Les producteurs ayant déjà eu des cas cliniques de paratuberculose de même que ceux ayant reçu un diagnostic vétérinaire seront plus vigilants aux signes cliniques de la paratuberculose et pourraient être davantage disposés à prendre note de l'émaciation de leurs animaux. De ce fait, un biais de classification différentiel peut exister dans cette étude où l'impact sera surestimé.

### 3.2.3. Limites des tests diagnostiques

Comme décrit dans la revue de littérature, les faibles performances des tests de laboratoire utilisés pour détecter l'infection compliquent l'évaluation de la prévalence pour MAP. Dans le cadre de cette étude, le classement positif ou négatif des brebis était déterminé par les résultats des échantillons fécaux à la qPCR. Bien que la technique utilisée ici ait été validée par les membres du laboratoire de santé animale du MAPAQ et que les performances ont précédemment été décrites par Arsenault et coll. (2019), la population source utilisée dans le cadre de la validation est très différente de la population source de cette étude. En effet, l'étude de validation utilisait des brebis destinées à la réforme provenant en très grande majorité de troupeaux confirmés ou suspectés d'être atteints par la paratuberculose ( $\approx 85\%$  des troupeaux). De ce fait, il est fort possible que la sensibilité de 84.0% (IC 95% 59.0-97.0%) et la spécificité de 93.0% (IC 95% 78.0-99.0%) ne s'appliquent pas à la population de cette étude. Pour cette raison, les performances rapportées dans l'étude réalisée en France de Mathevon et coll. (2017) (Se = 47.5%; Sp = 99.0%) furent utilisées afin de calculer les prévalences réelles. À l'instar de la première étude, il est plus que possible qu'il soit mal avisé d'utiliser ces performances pour le calcul de la prévalence réelle étant donné que l'étude française ciblait uniquement les animaux sous-cliniquement infectés. De ce fait, toutes les brebis présentant des signes cliniques compatibles étaient exclues de l'échantillon. De plus, le seuil de positivité de  $Ct \leq 42$  de l'étude française différait du seuil utilisé dans le cadre de cette étude ( $Ct \leq 39$ ) ce qui a le potentiel de biaiser davantage le calcul des prévalences réelles.

Malgré les limites rapportées ci-haut, la correction des prévalences observées en utilisant les performances rapportées par Mathevon et coll. (2017) est considérée comme acceptable puisqu'aucune validation du test utilisé n'existe pour la population source de l'étude.

La faible capacité de détection décrite ci-haut remet en doute le statut des troupeaux où aucun résultat positif ne fut détecté. Il vaut donc mieux éviter d'étiqueter ces troupeaux comme négatifs et les traiter comme troupeaux à faible risque d'infection ou encore troupeaux à prévalence faible.



### 3.3. Perspectives futures

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude permettent de mettre à jour les connaissances sur la paratuberculose dans les troupeaux ovins du Québec.

Comme mentionné précédemment, il serait intéressant de soumettre les échantillons de sang récoltés dans ce projet à un test ELISA commercial afin d'évaluer les performances de la qPCR pour une population d'ovins sélectionnés aléatoirement, considérant qu'il s'agit du test diagnostique actuellement utilisé par le laboratoire de diagnostic du MAPAQ. De plus, il nous serait alors possible d'actualiser les calculs des prévalences réelles.

Bien que peu de facteurs de risque aient été identifiés dans le cadre de cette étude, il est fort possible que certaines des pratiques évaluées contribuent à l'introduction et la transmission de l'infection dans les troupeaux. En effet, l'hétérogénéité des pratiques a potentiellement affecté la puissance statistique de l'analyse, puisque la diversification a forcé le regroupement des pratiques avant l'analyse engendrant ainsi une perte d'information. Celles-ci pourront donc être explorées en plus amples détails dans des études subséquentes en utilisant des populations plus homogènes dans leurs pratiques. De plus, l'introduction d'un animal infecté est considérée comme un des facteurs de risque les plus importants, mais n'était malheureusement pas évaluée dans ce projet. Celui-ci mérite d'être examiné notamment en effectuant l'analyse des mouvements des animaux.

La prévalence estimée confirme la présence de la paratuberculose au Québec et le potentiel de la maladie de causer des pertes importantes de productivité pour l'industrie ovine. Comme l'effet délétère de la maladie sur la rentabilité dépend du nombre d'animaux infectés, il serait judicieux pour les différentes institutions impliquées dans la santé ovine tels le MAPAQ et le CEPOQ de concentrer leurs efforts sur l'implantation de mesures de contrôle visant à limiter les pertes encourues dans ces troupeaux. Celles-ci pourraient prendre la forme d'un programme de certification pour l'achat d'animaux à faible risque tel que décrit dans la section sur le contrôle de l'infection ou même par la formation des vétérinaires praticiens, facteur reconnu comme essentiel au succès du contrôle de cette maladie (Barkema et coll., 2018; Whittington et coll., 2019). De la même façon, la réduction de rentabilité encourage la poursuite des efforts pour

l'obtention d'un vaccin homologué au Canada ainsi que la validation de l'efficacité d'un programme de vaccination dans les productions ovines intensives du Québec.

## 4. Conclusion

Ce projet de recherche a permis de confirmer la présence *M. avium* subsp. *paratuberculosis* dans les troupeaux ovins du Québec et de fournir des estimations pour la prévalence autant au niveau troupeau qu'au niveau brebis. La présence de signes cliniques était associée à l'infection et pourra donc être utilisée comme stratégie de dépistage pour maximiser la capacité de détection. L'utilisation d'un logiciel de régie, notamment pour les informations de santé, a le potentiel d'assister les producteurs dans leur contrôle de MAP. Ces résultats aideront les acteurs du secteur ovin à évaluer les impacts économiques de l'infection et serviront de base solide pour la réalisation de futures études sur le sujet.

## Bibliographie

- Abendaño, N., Tyukalova, L., Barandika, J. F., Balseiro, A., Sevilla, I. A., Garrido, J. M., Juste, R. A., & Alonso-Hearn, M. (2014). *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolates induce *in vitro* granuloma formation and show successful survival phenotype, common anti-inflammatory and antiapoptotic responses within ovine macrophages regardless of genotype or host of origin. *PLoS One*, *9*(8), e104238. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104238>
- Agrawal, G., Aitken, J., Hamblin, H., Collins, M., & Borody, T. J. (2020). Putting Crohn's on the MAP: Five common questions on the contribution of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* to the pathophysiology of Crohn's disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06653-0>
- Al-Majali, A. M., Jawasreh, K., & Al Nsour, A. (2008). Epidemiological studies on foot and mouth disease and paratuberculosis in small ruminants in Tafelah and Ma' an, Jordan. *Small Ruminant Research*, *78*(1-3), 197-201. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.05.012>
- Alexander, D. C., Turenne, C. Y., & Behr, M. A. (2009). Insertion and deletion events that define the pathogen *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* *Journal of Bacteriology*, *191*(3), 1018-1025. <https://doi.org/10.1128/jb.01340-08>
- Alluwaimi, A. M. (2015). Paratuberculosis infection in camel (*Camelus dromedarius*): Current and prospective overview. *Open Journal of Veterinary Medicine*, *05*(07), 153-160. <https://doi.org/10.4236/ojvm.2015.57021>
- Angelidou, E., Kostoulas, P., & Leontides, L. (2014). Bayesian validation of a serum and milk ELISA for antibodies against *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Greek dairy goats across lactation. *Journal of Dairy Science*, *97*(2), 819-828. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7218>
- Angelidou, E., Kostoulas, P., & Leontides, L. (2016). Bayesian estimation of sensitivity and specificity of a commercial serum/milk ELISA against the *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) antibody response for each lactation stage in Greek dairy sheep. *Preventive Veterinary Medicine*, *124*, 102-105. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.12.011>
- Animal Health Australia. (2021). *Johne's disease*. Animal Health Australia. <https://animalhealthaustralia.com.au/johnes-disease/>
- Anna Rita, A., Victor, N. N., Silvia, P., Luciana, P., Anastasia, D., & Vincenzo, C. (2011). Ovine paratuberculosis: A seroprevalence study in dairy flocks reared in the marche region, Italy. *Veterinary Medicine International*, *2011*, 782875. <https://doi.org/10.4061/2011/782875>
- Arsenault, J., Girard, C., Dubreuil, P., Daignault, D., Galarneau, J.-R., Boisclair, J., Simard, C., & Bélanger, D. (2003). Prevalence of and carcass condemnation from maedi–visna, paratuberculosis and caseous lymphadenitis in culled sheep from Quebec, Canada. *Preventive Veterinary Medicine*, *59*(1-2), 67-81. [https://doi.org/10.1016/s0167-5877\(03\)00060-6](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(03)00060-6)

- Arsenault, J., Singh Sohal, J., Leboeuf, A., Helie, P., Fecteau, G., Robinson, Y., & L'Homme, Y. (2019). Validation of an in-house real-time PCR fecal assay and comparison with two commercial assays for the antemortem detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in culled sheep. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *31*(1), 58-68. <https://doi.org/10.1177/1040638718810744>
- Arsenault, J. B. S., Fecteau G., L'Homme Y., Bauman C., Leboeuf A., Labrecque O., Tremblay S., Béliveau S., Duplais L. (2017). *La paratuberculose dans les troupeaux caprins laitiers du Québec : Portrait de la situation actuelle et proposition d'approches diagnostiques pour sa surveillance et son contrôle*. Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec.
- Bannantine, J. P., Etienne, G., Laval, F., Stabel, J. R., Lemassu, A., Daffe, M., Bayles, D. O., Ganneau, C., Bonhomme, F., Branger, M., Cochard, T., Bay, S., & Biet, F. (2017). Cell wall peptidolipids of *Mycobacterium avium*: From genetic prediction to exact structure of a nonribosomal peptide. *Molecular Microbiology*, *105*(4), 525-539. <https://doi.org/10.1111/mmi.13717>
- Barkema, H. W., Orsel, K., Nielsen, S. S., Koets, A. P., Rutten, V. P. M. G., Bannantine, J. P., Keefe, G. P., Kelton, D. F., Wells, S. J., Whittington, R. J., Mackintosh, C. G., Manning, E. J., Weber, M. F., Heuer, C., Forde, T. L., Ritter, C., Roche, S., Corbett, C. S., Wolf, R., . . . De Buck, J. (2018). Knowledge gaps that hamper prevention and control of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection. *Transboundary and Emerging Diseases*, *65*, 125-148. <https://doi.org/10.1111/tbed.12723>
- Bastida, F., & Juste, R. A. (2011). Paratuberculosis control: A review with a focus on vaccination. *Journal of Immune Based Therapies and Vaccines*, *9*, 8-8. <https://doi.org/10.1186/1476-8518-9-8>
- Bauman, C. A., Jones-Bitton, A., Jansen, J., Kelton, D., & Menzies, P. (2016). Evaluation of fecal culture and fecal RT-PCR to detect *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* fecal shedding in dairy goats and dairy sheep using latent class bayesian modeling. *BMC Veterinary Research*, *12*, 212. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0814-5>
- Bauman, C. A., Jones-Bitton, A., Jansen, J., Kelton, D., & Menzies, P. (2019). Evaluation of bulk tank milk PCR and bulk tank milk modified ELISA tests for the detection of paratuberculosis at the herd level in goat and sheep dairies in Ontario, Canada. *Journal of Dairy Science*, *102*(1), 511-520. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15020>
- Bauman, C. A., Jones-Bitton, A., Menzies, P., Toft, N., Jansen, J., & Kelton, D. (2016). Prevalence of paratuberculosis in the dairy goat and dairy sheep industries in Ontario, Canada. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *57*(2), 169-175. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26834269>
- Begg, D. J., de Silva, K., Carter, N., Plain, K. M., Purdie, A., & Whittington, R. J. (2011). Does a Th1 over Th2 dominancy really exist in the early stages of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infections? *Immunobiology*, *216*(7), 840-846. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2010.12.004>
- Begg, D. J., de Silva, K., Di Fiore, L., Taylor, D. L., Bower, K., Zhong, L., Kawaji, S., Emery, D., & Whittington, R. J. (2010). Experimental infection model for Johne's disease using a lyophilised, pure culture, seedstock of *Mycobacterium avium* subspecies

- paratuberculosis*. *Veterinary Microbiology*, 141(3), 301-311.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.09.007>
- Begg, D. J., Purdie, A. C., de Silva, K., Dhand, N. K., Plain, K. M., & Whittington, R. J. (2017). Variation in susceptibility of different breeds of sheep to *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* following experimental inoculation. *Veterinary Research*, 48(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0440-7>
- Beinhauerova, M., & Slana, I. (2021). Application of the actiphage (r) assay to detect viable *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* cells in fresh sheep and goat milk and previously frozen milk and in-line milk filters. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 9, Article 752834. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.752834>
- Behr, M. A., Stevenson, K., & Kapur, V. (2020). *Paratuberculosis: Organism, Disease, Control*. CAB International.
- Bhat, A. M., Malik, H., Mir, M. S., Chaubey, K. K., & Singh, S. V. (2020). Cross-sectional study on seroprevalence and risk factor analysis of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Kashmir Merino sheep flocks of central Kashmir valley, India. *Small Ruminant Research*, 193. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106266>
- Borujeni, M. P., Hajikolaei, M. R. H., Ghorbanpoor, M., Sahar, H. E., Bagheri, S., & Roveyshedzadeh, S. (2021). Comparison of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in cattle, sheep and goats in the Khuzestan province of Iran: Results of a preliminary survey. *Veterinary Medicine and Science*, 7(5), 1970-1979. <https://doi.org/10.1002/vms3.559>
- Botsaris, G., Swift, B. M. C., Slana, I., Liapi, M., Christodoulou, M., Hatzitofi, M., Christodoulou, V., & Rees, C. E. D. (2016). Detection of viable *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in powdered infant formula by phage-PCR and confirmed by culture. *International Journal of Food Microbiology*, 216, 91-94. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.09.011>
- Bryant, J. M., Thibault, V. C., Smith, D. G. E., McLuckie, J., Heron, I., Sevilla, I. A., Biet, F., Harris, S. R., Maskell, D. J., Bentley, S. D., Parkhill, J., & Stevenson, K. (2016). Phylogenomic exploration of the relationships between strains of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *BMC Genomics*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2234-5>
- Bush, R., Windsor, P., & Toribio, J. A. (2006). Losses of adult sheep due to ovine Johne's disease in 12 infected flocks over a 3-year period. *Australian Veterinary Journal*, 84(7), 246-253. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2006.00001.x>
- Bush, R. D., Windsor, P. A., Toribio, J. A., & Webster, S. R. (2008). Financial modelling of the potential cost of ovine Johne's disease and the benefit of vaccinating sheep flocks in southern New South Wales. *Australian Veterinary Journal*, 86(10), 398-403. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2008.00347.x>
- Buyuk, F., Celebi, O., Akca, D., Otlu, S., Tazegul, E., Gulmez, A., & Sahin, M. (2014). Estimated apparent and true prevalences of paratuberculosis in sheep herds of the Kars region in Northeastern Turkey. *Veterinari Medicina*, 59(7), 331-335. <https://doi.org/10.17221/7619-Vetmed>
- Carta, T., Álvarez, J., Pérez de la Lastra, J. M., & Gortázar, C. (2013). Wildlife and paratuberculosis: A review. *Research in Veterinary Science*, 94(2), 191-197. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.11.002>

- CEPOQ. (2020). *Programme québécois d'assainissement des troupeaux ovins pour le maedi visna*. Retrieved from <https://cepoq.com/wp-content/uploads/2020/08/Programme-Maedi-visna-aout2020.pdf>
- Christopher-Hennings, J., Dammen, M. A., Weeks, S. R., Epperson, W. B., Singh, S. N., Steinlicht, G. L., Fang, Y., Skaare, J. L., Larsen, J. L., Payeur, J. B., & Nelson, E. A. (2003). Comparison of two DNA extractions and nested PCR, real-time PCR, a new commercial PCR assay, and bacterial culture for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in bovine feces. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *15*(2), 87-93. <https://doi.org/10.1177/104063870301500201>
- Chui, L. W., King, R., Lu, P., Manninen, K., & Sim, J. (2004). Evaluation of four DNA extraction methods for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* by polymerase chain reaction. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, *48*(1), 39-45. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2003.08.007>
- Clarke, C. J., & Little, D. (1996). The pathology of ovine paratuberculosis: Gross and histological changes in the intestine and other tissues. *Journal of Comparative Pathology*, *114*(4), 419-437. [https://doi.org/10.1016/S0021-9975\(96\)80017-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9975(96)80017-X)
- Coelho, A. C., Pinto, M. L., Coelho, A. M., Aires, A., & Rodrigues, J. (2010). A seroepidemiological survey of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in sheep from North of Portugal. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, *30*(11), 903-908. <https://doi.org/10.1590/S0100-736x2010001100001>
- Coelho, A. C., Pinto, M. L., Silva, S., Coelho, A. M., Rodrigues, J., & Juste, R. A. (2007). Seroprevalence of ovine paratuberculosis infection in the northeast of Portugal. *Small Ruminant Research*, *71*(1-3), 298-303. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.07.009>
- Collins, D. M., Gabric, D. M., & de Lisle, G. W. (1990). Identification of two groups of *Mycobacterium paratuberculosis* strains by restriction endonuclease analysis and DNA hybridization. *Journal of Clinical Microbiology*, *28*(7), 1591-1596. <https://doi.org/10.1128/jcm.28.7.1591-1596.1990>
- Collins, M. T., Wells, S. J., Petrini, K. R., Collins, J. E., Schultz, R. D., & Whitlock, R. H. (2005). Evaluation of five antibody detection tests for diagnosis of bovine paratuberculosis. *Clinical and Vaccine Immunology*, *12*(6), 685-692. <https://doi.org/10.1128/CDLI.12.6.685-692.2005>
- Correa-Valencia, N., Garcia-Tamayo, Y. M., & Fernandez-Silva, J. A. (2018). *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Colombia (1924-2016): A review. *Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias*, *31*(3), 165-179. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.v31n3a01>
- Cousins, D. V., Whittington, R., Marsh, I., Masters, A., Evans, R. J., & Kluver, P. (1999). *Mycobacteria* distinct from *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolated from the faeces of ruminants possess IS900-like sequences detectable by IS900 polymerase chain reaction: Implications for diagnosis. *Molecular and Cellular Probes*, *13*(6), 431-442. <https://doi.org/10.1006/mcpr.1999.0275>
- de Juan, L., Mateos, A., Domínguez, L., Sharp, J. M., & Stevenson, K. (2005). Genetic diversity of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* isolates from goats detected by pulsed-field gel electrophoresis. *Veterinary Microbiology*, *106*(3), 249-257. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.12.013>

- de Silva, K., Begg, D. J., Plain, K. M., Purdie, A. C., Kawaji, S., Dhand, N. K., & Whittington, R. J. (2013). Can early host responses to mycobacterial infection predict eventual disease outcomes? *Preventive Veterinary Medicine*, *112*(3-4), 203-212. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.08.006>
- de Silva, K., Plain, K., Purdie, A., Begg, D., & Whittington, R. (2018). Defining resilience to mycobacterial disease: Characteristics of survivors of ovine paratuberculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *195*, 56-64. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2017.11.008>
- Dedrick, R. M., Mavrich, T. N., Ng, W. L., & Hatfull, G. F. (2017). Expression and evolutionary patterns of mycobacteriophage D29 and its temperate close relatives. *BMC Microbiology*, *17*(1), 225. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1131-2>
- Delgado, L., Juste, R. A., Munoz, M., Morales, S., Benavides, J., Ferreras, M. C., Marin, J. F. G., & Perez, V. (2012). Differences in the peripheral immune response between lambs and adult ewes experimentally infected with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *145*(1-2), 23-31. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2011.10.005>
- Dennis, M. M., Reddacliff, L. A., & Whittington, R. J. (2011). Longitudinal study of clinicopathological features of Johne's disease in sheep naturally exposed to *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Veterinary Pathology*, *48*(3), 565-575. <https://doi.org/10.1177/0300985810375049>
- Dhand, N. K., Eppleston, J., Whittington, R. J., & Toribio, J. (2009). Association of farm soil characteristics with ovine Johne's disease in Australia. *Preventive Veterinary Medicine*, *89*(1-2), 110-120. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.02.017>
- Dhand, N. K., Eppleston, J., Whittington, R. J., & Toribio, J. A. (2007). Risk factors for ovine Johne's disease in infected sheep flocks in Australia. *Preventive Veterinary Medicine*, *82*(1-2), 51-71. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2007.05.007>
- Dhand, N. K., Eppleston, J., Whittington, R. J., & Windsor, P. A. (2016). Changes in prevalence of ovine paratuberculosis following vaccination with Gudair®: Results of a longitudinal study conducted over a decade. *Vaccine*, *34*(42), 5107-5113. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.08.064>
- Dhand, N. K., Plain, K. M., Green, A. C., Martinez, E., Eppleston, J., Ly, A., Arif, S., & Emery, D. (2021). Factors influencing the effectiveness of the Gudair vaccine for controlling Johne's disease in sheep flocks in Australia. *Preventive Veterinary Medicine*, *193*, 8, Article 105394. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105394>
- Dohoo, I. R., Martin, W., & Stryhn, H. E. (2014). *Veterinary epidemiologic research*. University of Prince Edward Island.
- Doré, E., Paré, J., Côté, G., Buczinski, S., Labrecque, O., Roy, J. P., & Fecteau, G. (2012). Risk factors associated with transmission of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* to calves within dairy herd: A systematic review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *26*(1), 32-45. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00854.x>
- Ellingson, J. L., Anderson, J. L., Koziczkowski, J. J., Radcliff, R. P., Sloan, S. J., Allen, S. E., & Sullivan, N. M. (2005). Detection of viable *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in retail pasteurized whole milk by two culture methods and PCR. *Journal of Food Protection*, *68*(5), 966-972. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-68.5.966>



- Ellingson, J. L. E., Bolin, C. A., & Stabel, J. R. (1998). Identification of a gene unique to *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* and application to diagnosis of paratuberculosis. *Molecular and Cellular Probes*, *12*(3), 133-142. <https://doi.org/10.1006/mcpr.1998.0167>
- Elsohaby, I., Arango-Sabogal, J. C., Selim, A., Attia, K. A., Alsubki, R. A., Mohamed, A. M., & Megahed, A. (2022). Bayesian estimation of sensitivity and specificity of fecal culture, fecal PCR and serum ELISA for diagnosis of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infections in sheep. *Preventive Veterinary Medicine*, *206*. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105712>
- Elsohaby, I., Fayez, M., Alkafafy, M., Refaat, M., Al-Marri, T., Alaql, F. A., Al Amer, A. S., Abdallah, A., & Elmoslemany, A. (2021). Serological and molecular characterization of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) from sheep, goats, cattle and camels in the Eastern province, Saudi Arabia. *Animals*, *11*(2). <https://doi.org/10.3390/ani11020323>
- Eltholth, M. M., Marsh, V. R., Van Winden, S., & Guitian, F. J. (2009). Contamination of food products with *Mycobacterium avium paratuberculosis*: A systematic review. *Journal of Applied Microbiology*, *107*(4), 1061-1071. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04286.x>
- Englund, S., Bo Iske, G. r., & Johansson, K. E. (2002). An IS900-like sequence found in a *Mycobacterium* sp. Other than *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* *FEMS Microbiology Letters*, *209* 2, 267-271. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(02\)00552-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(02)00552-9)
- Eppleston, J., Begg, D. J., Dhand, N. K., Watt, B., & Whittington, R. J. (2014). Environmental survival of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in different climatic zones of eastern Australia. *Applied and Environmental Microbiology*, *80*(8), 2337-2342. <https://doi.org/10.1128/AEM.03630-13>
- Eppleston, J., & Whittington, R. J. (2001). Isolation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from the semen of rams with clinical Johne's disease. *Australian Veterinary Journal*, *79*(11), 776-777. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2001.tb10898.x>
- Eppleston, J., & Windsor, P. A. (2007). Lesions attributed to vaccination of sheep with Gudair™ for the control of ovine paratuberculosis: Post farm economic impacts at slaughter. *Australian Veterinary Journal*, *85*(4), 129-133. <https://doi.org/10.1111/j.0005-0423.2007.00135.x>
- Faerber, C. W., McNeal, L. G., Harding, R. L., Hill, K. L., Bobb, J. D., & Horner, S. (2004). *Small Ruminant Production Medicine & Management (Sheep and Goats)* (3rd Edition ed.). Animal Health Publications. <http://www.infovets.com>
- Fawzy, A., Prince, A., Hassan, A. A., Fayed, A., Zschöck, M., Naga, M., Omar, M., Salem, M., & El-Sayed, A. (2013). Epidemiological studies on Johne's disease in ruminants and Crohn's disease in humans in Egypt. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, *1*(2), 79-86. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2013.09.004>
- Fernandez, M., Benavides, J., Sevilla, I. A., Fuertes, M., Castano, P., Delgado, L., Garcia Marin, J. F., Garrido, J. M., Ferreras, M. C., & Perez, V. (2014). Experimental infection of lambs with C and S-type strains of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*:

- Immunological and pathological findings. *Veterinary Research*, 45, 5.  
<https://doi.org/10.1186/1297-9716-45-5>
- Fiorentina, P., Martino, C., Mancini, Y., De Iorio, M. G., Williams, J. L., & Minozzi, G. (2021). Using omics approaches in the discovery of biomarkers for early diagnosis of Johne's disease in sheep and goats. *Animals*, 11(7), 19, Article 1912. <https://doi.org/10.3390/ani11071912>
- Foddai, A. C. G., & Grant, I. R. (2020). A novel one-day phage-based test for rapid detection and enumeration of viable *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in cows' milk. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(21), 9399-9412.  
<https://doi.org/10.1007/s00253-020-10909-0>
- Ford, M. E., Sarkis, G. J., Belanger, A. E., Hendrix, R. W., & Hatfull, G. F. (1998). Genome structure of mycobacteriophage D29: Implications for phage evolution. *Journal of Molecular Biology*, 279(1), 143-164. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1997.1610>
- Forde, T., Kutz, S., De Buck, J., Warren, A., Ruckstuhl, K., Pybus, M., & Orsel, K. (2012). Occurrence, diagnosis, and strain typing of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in rocky mountain bighorn sheep (*Ovis canadensis canadensis*) in southwestern Alberta. *Journal of Wildlife Diseases*, 48(1), 1-11.  
<https://doi.org/10.7589/0090-3558-48.1.1>
- Fridriksdottir, V., Gunnarsson, E., Sigurdarson, S., & Gudmundsdottir, K. B. (2000). Paratuberculosis in Iceland: Epidemiology and control measures, past and present. *Veterinary Microbiology*, 77(3-4), 263-267. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(00\)00311-4](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(00)00311-4)
- Gabriel, P. G., Teodulo, Q. T., Gilberto, C. G., Edith, M. C., Leticia, C. G., & Carlos, G. M. (2021). *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* identification and seroprevalence in sheep flocks in Aguascalientes. *Abanico Veterinario*, 11.  
<https://doi.org/10.21929/abavet2021.5>
- Galiero, A., Fratini, F., Turchi, B., Colombani, G., Nuvoloni, R., & Cerri, D. (2015). Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in a sheep flock in Tuscany. *Tropical Animal Health and Production*, 47(8), 1567-1571. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0899-z>
- Gautam, M., Anderson, P., Ridler, A., Wilson, P., & Heuer, C. (2018). Economic cost of ovine Johne's disease in clinically affected New Zealand flocks and benefit-cost of vaccination. *Veterinary Sciences*, 5(1). <https://doi.org/10.3390/vetsci5010016>
- Gautam, M., Ridler, A., Wilson, P. R., & Heuer, C. (2018). Control of clinical paratuberculosis in New Zealand pastoral livestock. *New Zealand Veterinary Journal*, 66(1), 1-8.  
<https://doi.org/10.1080/00480169.2017.1379914>
- Gerrard, Z. E., Swift, B. M. C., Botsaris, G., Davidson, R. S., Hutchings, M. R., Huxley, J. N., & Rees, C. E. D. (2018). Survival of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in retail pasteurised milk. *Food Microbiology*, 74, 57-63.  
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.03.004>
- Ghosh, P., Hsu, C. Y., Alyamani, E. J., Shehata, M. M., Al-Dubaib, M. A., Al-Naeem, A., Hashad, M., Mahmoud, O. M., Alharbi, K. B. J., Al-Busadah, K., Al-Swailem, A. M., & Talaat, A. M. (2012). Genome-wide analysis of the emerging infection with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in the Arabian camels (*Camelus dromedarius*). *PloS One*, 7(2), 11, Article e31947. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031947>

- Gianguaspero, M., Bonfini, B., Orusa, R., Savini, G., Osawa, T., & Harasawa, R. (2013). Epidemiological survey for *Toxoplasma gondii*, *Chlamydia psittaci* var. *Ovis*, *Mycobacterium paratuberculosis*, *Coxiella burnetii*, *Brucella* spp., leptospirosis and Orf virus among sheep from northern districts of Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 75(5), 679-684. <https://doi.org/10.1292/jvms.12-0384>
- Gillan, S., O'Brien, R., Hughes, A. D., & Griffin, J. F. T. (2010). Identification of immune parameters to differentiate disease states among sheep infected with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Clinical and Vaccine Immunology*, 17(1), 108-117. <https://doi.org/10.1128/Cvi.00359-09>
- Greig, A., Stevenson, K., Henderson, D., Perez, V., Hughes, V., Pavlik, I., Hines, M. E., 2nd, McKendrick, I., & Sharp, J. M. (1999). Epidemiological study of paratuberculosis in wild rabbits in Scotland. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(6), 1746-1751. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.6.1746-1751.1999>
- Groschup, M. H., Lacroux, C., Buschmann, A., Lühken, G., Mathey, J., Eiden, M., Lukan, S., Hoffmann, C., Espinosa, J. C., Baron, T., Torres, J. M., Erhardt, G., & Andreoletti, O. (2007). Classic scrapie in sheep with the ARR/ARR prion genotype in Germany and France. *Emerging Infectious Diseases*, 13(8), 1201-1207. <https://doi.org/10.3201/eid1308.070077>
- Gumber, S., Eamens, G., & Whittington, R. J. (2006). Evaluation of a pourquier ELISA kit in relation to agar gel immunodiffusion (AGID) test for assessment of the humoral immune response in sheep and goats with and without *Mycobacterium paratuberculosis* infection. *Veterinary Microbiology*, 115(1-3), 91-101. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.01.003>
- Gurung, R. B., Begg, D. J., Purdie, A. C., Eamens, G. J., & Whittington, R. J. (2015). Development of 316v antibody enzyme-linked immunosorbent assay for detection of paratuberculosis in sheep. *Revue Scientifique et Technique*, 34(3), 869-879. <https://doi.org/10.20506/rst.34.3.2402>
- Hailat, N. Q., Hananeh, W., Metekia, A. S., Stabel, J. R., Al-Majali, A., & Lafi, S. (2010). Pathology of subclinical paratuberculosis (Johne's disease) in Awassi sheep with reference to its occurrence in Jordan. *Veterinarni Medicina*, 55(12), 590-602. <https://doi.org/10.17221/2947-Vetmed>
- Hernández-Reyes, A. L., Chávez-Gris, G., Maldonado-Castro, E., Alcaraz-Sosa, L. E., & Díaz-Negrete, M. T. (2022). First identification of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in wild ruminants in a zoo in Mexico. *Veterinary world*, 15(3), 655-661. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.655-661>
- Hosseini-porgham, S., Cubeddu, T., Rocca, S., & Sechi, L. A. (2020). Identification of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) in sheep milk, a zoonotic problem. *Microorganisms*, 8(9). <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091264>
- Hosseini-porgham, S., Rebechesu, L., Pintore, P., Lollai, S., Dattena, M., Russo, S., Ruiu, A., & Sechi, L. A. (2022). A rapid phage assay for detection of viable *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk. *Scientific Reports*, 12(1), 475. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04451-w>
- Hughes, V., Denham, S., Bannantine, J. P., Chianini, F., Kerr, K., May, L., McLuckie, J., Nath, M., & Stevenson, K. (2013). Interferon gamma responses to proteome-determined specific

- recombinant proteins: Potential as diagnostic markers for ovine Johne's disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 155(3), 197-204. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2013.06.015>
- Iarussi, F., Paradies, P., Sardaro, R., Rubino, G., Scaltrito, D., Pieragostini, E., & Petazzi, F. (2019). Epidemiology and risk factors of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in semi-extensive dairy sheep and goat farms of Apulia, southern Italy. *Small Ruminant Research*, 177, 89-96. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.06.016>
- Jimenez-Martin, D., Garcia-Bocanegra, I., Risalde, M. A., Fernandez-Molera, V., Jimenez-Ruiz, S., Isla, J., & Cano-Terriza, D. (2022). Epidemiology of paratuberculosis in sheep and goats in southern Spain. *Preventive Veterinary Medicine*, 202, 105637. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105637>
- Juste, R. A., García Marín, J. F., Peris, B., Sáez de Ocariz, C., & Badiola, J. J. (1994). Experimental infection of vaccinated and non-vaccinated lambs with *Mycobacterium paratuberculosis*. *Journal of Comparative Pathology*, 110(2), 185-194. [https://doi.org/10.1016/S0021-9975\(08\)80189-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9975(08)80189-2)
- Juste, R. A., Garrido, J. M., Geijo, M., Elguezabal, N., Aduriz, G., Atxaerandio, R., & Sevilla, I. (2005). Comparison of blood polymerase chain reaction and enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* infection in cattle and sheep. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 17(4), 354-359. <https://doi.org/10.1177/104063870501700409>
- Kalis, C. H. J., Barkema, H. W., Hesselink, J. W., van Maanen, C., & Collins, M. T. (2002). Evaluation of two absorbed enzyme-linked immunosorbent assays and a complement fixation test as replacements for fecal culture in the detection of cows shedding *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 14(3), 219-224. <https://doi.org/10.1177/104063870201400305>
- Kampen, A. H., Tessema, Girum T, Moldal, Torfinn, Valheim, Mette, Er., & Chiek. (2021). *The surveillance programme for paratuberculosis in norway 2020*. Veterinærinstituttet
- Kawaji, S., Begg, D. J., Plain, K. M., & Whittington, R. J. (2011). A longitudinal study to evaluate the diagnostic potential of a direct faecal quantitative PCR test for Johne's disease in sheep. *Veterinary Microbiology*, 148(1), 35-44. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.07.022>
- Kawaji, S., Nagata, R., Minegishi, Y., Saruyama, Y., Mita, A., Kishizuka, S., Saito, M., & Mori, Y. (2020). A novel real-time PCR-based screening test with pooled fecal samples for bovine Johne's disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(12), 12, Article e01761-20. <https://doi.org/10.1128/jcm.01761-20>
- Kawaji, S., Nagata, R., & Mori, Y. (2014). Detection and confirmation of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* in direct quantitative PCR positive fecal samples by the manual fluorescent MGIT culture system. *Journal of Veterinary Medical Science*, 76(1), 65-72. <https://doi.org/10.1292/jvms.13-0366>
- Kawaji, S., Taylor, D. L., Mori, Y., & Whittington, R. J. (2007). Detection of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* in ovine faeces by direct quantitative PCR has similar or greater sensitivity compared to radiometric culture. *Veterinary Microbiology*, 125(1-2), 36-48. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.05.002>

- Khamassi Khbou, M., Romdhane, R., Sassi, L., Amami, A., Rekik, M., & Benzarti, M. (2020). Seroprevalence of anti-*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* antibodies in female sheep in Tunisia. *Veterinary Medicine and Science*, 6(3), 393-398. <https://doi.org/10.1002/vms3.243>
- Khare, S., Adams, L. G., Osterstock, J., Roussel, A., & David, L. (2008). Effects of shipping and storage conditions of fecal samples on viability of *Mycobacterium paratuberculosis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(4), 1561-1562. <https://doi.org/10.1128/Jcm.02348-07>
- Khare, S., Ficht, T. A., Santos, R. L., Romano, J., Ficht, A. R., Zhang, S., Grant, I. R., Libal, M., Hunter, D., & Adams, L. G. (2004). Rapid and sensitive detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in bovine milk and feces by a combination of immunomagnetic bead separation-conventional PCR and real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(3), 1075-1081. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.3.1075-1081.2004>
- Kostoulas, P., Leontides, L., Billinis, C., Amiridis, G. S., & Florou, M. (2006). The association of sub-clinical paratuberculosis with the fertility of Greek dairy ewes and goats varies with parity. *Preventive Veterinary Medicine*, 74(2-3), 226-238. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2005.12.001>
- Kostoulas, P., Leontides, L., Enoe, C., Billinis, C., Florou, M., & Sofia, M. (2006). Bayesian estimation of sensitivity and specificity of serum ELISA and faecal culture for diagnosis of paratuberculosis in Greek dairy sheep and goats. *Preventive Veterinary Medicine*, 76(1-2), 56-73. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.04.006>
- Kralik, P., Babak, V., & Dziedzinska, R. (2014). Repeated cycles of chemical and physical disinfection and their influence on *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* viability measured by propidium monoazide f57 quantitative real time PCR. *The Veterinary Journal*, 201(3), 359-364. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.05.032>
- Kudahl, A. B., Nielsen, S. S., & Østergaard, S. (2011). Strategies for time of culling in control of paratuberculosis in dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 94(8), 3824-3834. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2010-3933>
- Lambeth, C., Reddacliff, L. A., Windsor, P., Abbott, K. A., McGregor, H., & Whittington, R. J. (2004). Intrauterine and transmammary transmission of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in sheep. *Australian Veterinary Journal*, 82(8), 504-508. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2004.tb11171.x>
- Lapointe, L., & Landry, S. (2019, 10 décembre 2019). La production ovine au coeur des régions du Québec. *Bioclips* 27(36). [https://www.mapaq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/Bioclips/BioClips2019/Volume\\_27\\_no36.pdf](https://www.mapaq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/Bioclips/BioClips2019/Volume_27_no36.pdf)
- Ordonnance sur les épizooties, (2022).
- Leite, F. L., Stokes, K. D., Robbe-Austerman, S., & Stabel, J. R. (2013). Comparison of fecal DNA extraction kits for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* by polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25(1), 27-34. <https://doi.org/10.1177/1040638712466395>
- Liapi, M., Leontides, L., Kostoulas, P., Botsaris, G., Iacovou, Y., Rees, C., Georgiou, K., Smith, G. C., & Naseby, D. C. (2011). Bayesian estimation of the true prevalence of *Mycobacterium*

- avium* subsp *paratuberculosis* infection in Cypriot dairy sheep and goat flocks. *Small Ruminant Research*, 95(2-3), 174-178.  
<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.09.010>
- Links, I. J., Denholm, L. J., Evers, M., Kingham, L. J., & Greenstein, R. J. (2021). Is vaccination a viable method to control Johne's disease caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* ? Data from 12 million ovine vaccinations and 7.6 million carcass examinations in New South Wales, Australia from 1999-2009. *PLoS One*, 16(6).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246411>
- Lugton, I. W. (2004). Cross-sectional study of risk factors for the clinical expression of ovine Johne's disease on New South Wales farms. *Australian Veterinary Journal*, 82(6), 355-365. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2004.tb11104.x>
- Ly, A., Kirkeby, C., Sergeant, E. S. G., Plain, K. M., Smith, M., & Dhand, N. K. (2021). Comparison of the current abattoir surveillance system for detection of paratuberculosis in Australian sheep with quantitative PCR tissue strategies using simulation modelling. *Preventive Veterinary Medicine*, 196, 105495.  
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105495>
- Ma, J. G., Tian, A. L., Zheng, W. B., Zou, Y., Zhang, Y. T., & Yang, Z. Q. (2019). First report of bovine viral diarrhoea virus and *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in Tibetan sheep (*Ovis aries*) in Tibetan plateau, China. *Tropical Animal Health and Production*, 51(3), 719-722. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1718-0>
- Maio, E., Carta, T., Balseiro, A., Sevilla, I. A., Romano, A., Ortiz, J. A., Vieira-Pinto, M., Garrido, J. M., de la Lastra, J. M., & Gortazar, C. (2011). Paratuberculosis in European wild rabbits from the Iberian peninsula. *Research in Veterinary Science*, 91(2), 212-218.  
<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.12.014>
- MAPAQ. (2020). *Règlement sur la désignation des maladies contagieuses ou parasitaires, des agents infectieux et des syndromes* Gouvernement du Québec
- Marquetoux, N., Heuer, C., Wilson, P., Ridler, A., & Stevenson, M. (2016). Merging DNA typing and network analysis to assess the transmission of paratuberculosis between farms. *Preventive Veterinary Medicine*, 134, 113-121.  
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.09.014>
- Marquetoux, N., Mitchell, R., Ridler, A., Heuer, C., & Wilson, P. (2018). A synthesis of the pathophysiology of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in sheep to inform mathematical modelling of ovine paratuberculosis. *Veterinary Research*, 49(1), 27. <https://doi.org/10.1186/s13567-018-0522-1>
- Mathevon, Y., Foucras, G., & Corbière, F. (2019). Flock sensitivity and specificity of pooled fecal qPCR and pooled serum ELISA for screening ovine paratuberculosis. *PLoS One*, 14(12), e0226246. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226246>
- Mathevon, Y., Foucras, G., Falguieres, R., & Corbiere, F. (2017). Estimation of the sensitivity and specificity of two serum ELISAs and one fecal qPCR for diagnosis of paratuberculosis in sub-clinically infected young-adult French sheep using latent class bayesian modeling. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 230. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1145-x>
- Matvælastofnun. (2022). *Garnaveiki*. Mast Matvælastofnun.  
<https://www.mast.is/is/baendur/saudfjarraekt/garnaveiki>

- McAloon, C. G., Whyte, P., More, S. J., Green, M. J., O'Grady, L., Garcia, A., & Doherty, M. L. (2016). The effect of paratuberculosis on milk yield—a systematic review and meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, *99*(2), 1449-1460. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10156>
- McDonald, W. L., O'Riley, K. J., Schroen, C. J., & Condrón, R. J. (2005). Heat inactivation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk. *Applied and Environmental Microbiology*, *71*(4), 1785-1789. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.4.1785-1789.2005>
- McGregor, H., Abbott, K. A., & Whittington, R. J. (2015). Effects of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection on serum biochemistry, body weight and wool growth in Merino sheep: A longitudinal study. *Small Ruminant Research*, *125*, 146-153. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.02.004>
- McGregor, H., Dhand, N. K., Dhungyel, O. P., & Whittington, R. J. (2012). Transmission of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* : Dose-response and age-based susceptibility in a sheep model. *Preventive Veterinary Medicine*, *107*(1-2), 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.05.014>
- McKenna, S. L. B., Sockett, D. C., Keefe, G. P., McClure, J., VanLeeuwen, J. A., & Barkema, H. W. (2005). Comparison of two enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *17*(5), 463-466. <https://doi.org/10.1177/104063870501700510>
- Meadus, W. J., Gill, C. O., Duff, P., Badoni, M., & Saucier, L. (2008). Prevalence on beef carcasses of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* DNA. *International Journal of Food Microbiology*, *124*(3), 291-294. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.019>
- Medeiros, J. M. A., Garino, F., Almeida, A. P., Lucena, E. A., & Riet-Correa, F. (2012). Paratuberculosis in goats and sheep in the state of Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, *32*(2), 111-115. <https://doi.org/10.1590/S0100-736x2012000200003>
- Mejia-Martinez, K., Lemus-Flores, C., Gonzalez-Morteo, C. A., Palomares-Resendiz, G., Diaz-Aparicio, E., & Gutierrez-Hernandez, J. L. (2017). Risk factors associated with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* on sheep flock of Nayarit, Mexico. *Revista Científica-Facultad De Ciencias Veterinarias*, *27*(5), 294-302. [ISI>://WOS:000413899800005](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.07.016)
- Ministerio de sanidad. (2018). *Gudair - ficha técnica o resumen de las características del producto*. Ministerio de sanidad Retrieved from [https://cimavet.aemps.es/cimavet/pdfs/es/ft/2792+ESP/FT\\_2792+ESP.pdf](https://cimavet.aemps.es/cimavet/pdfs/es/ft/2792+ESP/FT_2792+ESP.pdf)
- Möbius, P., Hotzel, H., Raßbach, A., & Köhler, H. (2008). Comparison of 13 single-round and nested PCR assays targeting IS900, *ismav2*, *f57* and locus 255 for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* *Veterinary Microbiology*, *126*(4), 324-333. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.07.016>
- Moloney, B., & Whittington, R. (2008). Cross species transmission of ovine Johne's disease from sheep to cattle: An estimate of prevalence in exposed susceptible cattle. *Australian Veterinary Journal*, *86*(4), 117-123. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2008.00272.x>
- Morales-Pablos, M. I., Mejia-Sanchez, P., Diaz-Aparicio, E., Palomares-Resendiz, E. G., Gutierrez-Hernandez, J. L., Reyna-Granados, J. R., Luna-Nevarez, P., Munguia-Xochihua, J. A., Segura-Correa, J. C., & Leyva-Corona, J. C. (2020). Risk factors associated with the seroprevalence of paratuberculosis in sheep flocks in the hot-arid region of Sonora,

- Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 52(3), 1357-1363.  
<https://doi.org/10.1007/s11250-019-02139-y>
- Moron-Cedillo, F. D., Cortez-Romero, C., Gallegos-Sanchez, J., Figueroa-Sandoval, B., Aquino-Perez, G., & Amante-Orozco, A. (2013). Prevalence of infection by *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in flocks of sheep of two regions of San Luis Potosi, Mexico. *Revista Cientifica-Facultad De Ciencias Veterinarias*, 23(4), 293-299.
- Morris, C. A., Hickey, S. M., & Henderson, H. V. (2006). The effect of Johne's disease on production traits in Romney, Merino and Merino x Romney-cross ewes. *New Zealand Veterinary Journal*, 54(5), 204-209. <https://doi.org/10.1080/00480169.2006.36698>
- Munster, P., Fechner, K., Volkel, I., von Buchholz, A., & Czerny, C. P. (2013). Distribution of *Mycobacterium avium* ssp *paratuberculosis* in a German zoological garden determined by IS900 semi-nested and quantitative real-time PCR. *Veterinary Microbiology*, 163(1-2), 116-123. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.12.009>
- Nebbia, P., Robino, P., Zoppi, S., & De Meneghi, D. (2006). Detection and excretion pattern of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in milk of asymptomatic sheep and goats by nested-PCR. *Small Ruminant Research*, 66(1), 116-120.  
<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.07.049>
- Nielsen, S. S., & Toft, N. (2008). Ante mortem diagnosis of paratuberculosis: A review of accuracies of ELISA, interferon- $\gamma$  assay and faecal culture techniques. *Veterinary Microbiology*, 129(3-4), 217-235. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.12.011>
- Nielsen, S. S., & Toft, N. (2011). Effect of management practices on paratuberculosis prevalence in Danish dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 94(4), 1849-1857.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2010-3817>
- O'Brien, R., Mackintosh, C. G., Bakker, D., Kopečna, M., Pavlik, I., & Griffin, J. F. (2006). Immunological and molecular characterization of susceptibility in relationship to bacterial strain differences in *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in the red deer (*Cervus elaphus*). *Infection and Immunity*, 74(6), 3530-3537.  
<https://doi.org/10.1128/IAI.01688-05>
- Pagliasso, G., Di Blasio, A., Vitale, N., Romano, A., Decastelli, L., Quasso, A., Ricchi, M., Dondo, A., Pastorino, P., Gennero, M. S., & Bergagna, S. (2021). Goat paratuberculosis: Experimental model for the evaluation of *Mycobacterium* persistence in raw milk cheese. *Microorganisms*, 9(10), 10, Article 2032.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9102032>
- Perez, V., Marin, J. F. G., & Badiola, J. J. (1996). Description and classification of different types of lesion associated with natural paratuberculosis infection in sheep. *Journal of Comparative Pathology*, 114(2), 107-122. [https://doi.org/10.1016/S0021-9975\(96\)80001-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9975(96)80001-6)
- Petersson, K., & Zajac, A. (2021). *Online FAMACHA® Certification*. University of Rhode Island.  
<https://web.uri.edu/sheepngoat/famacha/>
- Plain, K. M., Marsh, I. B., Waldron, A. M., Galea, F., Whittington, A. M., Saunders, V. F., Begg, D. J., de Silva, K., Purdie, A. C., & Whittington, R. J. (2014). High-throughput direct fecal PCR assay for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in sheep and cattle. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(3), 745-757. <https://doi.org/10.1128/JCM.03233-13>



- Plain, K. M., Waldron, A. M., Begg, D. J., de Silva, K., Purdie, A. C., & Whittington, R. J. (2015). Efficient, validated method for detection of mycobacterial growth in liquid culture media by use of bead beating, magnetic-particle-based nucleic acid isolation, and quantitative PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, *53*(4), 1121-1128. <https://doi.org/10.1128/jcm.03521-14>
- Ponnusamy, D., Periasamy, S., Tripathi, B. N., & Pal, A. (2013). *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* invades through m cells and enterocytes across ileal and jejunal mucosa of lambs. *Research in Veterinary Science*, *94*(2), 306-312. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.09.023>
- Poupart, P., Coene, M., Heuverswyn, H. V., & Cocito, C. (1993). Preparation of a specific RNA probe for detection of *Mycobacterium paratuberculosis* and diagnosis of Johne's disease. *Journal of Clinical Microbiology*, *31*(6), 1601-1605. <https://doi.org/10.1128/jcm.31.6.1601-1605.1993>
- Prezioso, S., Magi, G. E., & Renzoni, G. (2012). Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in intestinal and mammary tissues and in lymph nodes of sheep with different techniques and its relationship with enteric lesions. *Small Ruminant Research*, *105*(1-3), 295-299. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.11.015>
- Puerto-Parada, M., Arango-Sabogal, J. C., Pare, J., Doré, E., Côté, G., Wellemans, V., Buczinski, S., Roy, J. P., Labrecque, O., & Fecteau, G. (2018). Risk factors associated with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* herd status in Quebec dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, *152*, 74-80. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.02.010>
- Purdie, A. C., Plain, K. M., Begg, D. J., de Silva, K., & Whittington, R. J. (2019). Gene expression profiles during subclinical *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in sheep can predict disease outcome. *Scientific Reports*, *9*(1), 8245. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44670-w>
- Québec, G. d. (2021). *Identification et traçabilité des animaux d'élevage*. Québec: Gouvernement du Québec Retrieved from <https://www.quebec.ca/agriculture-environnement-et-ressources-naturelles/sante-animale/obligations-proprietaires-gardiens-animaux/identification-tracabilite>
- Rangel, S. J., Paré, J., Doré, E., Arango, J. C., Côté, G., Buczinski, S., Labrecque, O., Fairbrother, J. H., Roy, J. P., Wellemans, V., & Fecteau, G. (2015). A systematic review of risk factors associated with the introduction of *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis* (MAP) into dairy herds. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *56*(2), 169-177. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25694667>  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4298270/>  
[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4298270/pdf/cvj\\_02\\_169.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4298270/pdf/cvj_02_169.pdf)
- Reddacliff, L., Eppleston, J., Windsor, P., Whittington, R., & Jones, S. (2006). Efficacy of a killed vaccine for the control of paratuberculosis in Australian sheep flocks. *Veterinary Microbiology*, *115*(1-3), 77-90. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.12.021>
- Reddacliff, L. A., & Whittington, R. J. (2003). Experimental infection of weaner sheep with S strain *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Veterinary Microbiology*, *96*(3), 247-258. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2003.07.004>
- Animal disease act, 1984, (2022).

- Reviriego, F. J., Moreno, M. A., & Dominguez, L. (2000). Soil type as a putative risk factor of ovine and caprine paratuberculosis seropositivity in Spain. *Preventive Veterinary Medicine*, 43(1), 43-51. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(00\)00108-2](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(00)00108-2)
- Richardson, G. D., Links, I. I., & Windsor, P. A. (2005). Gudair (OJD) vaccine self-inoculation: A case for early debridement. *Medical Journal of Australia*, 183(3), 151-152. <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.2005.tb06966.x>
- Robbe-Austerman, S. (2011). Control of paratuberculosis in small ruminants. *Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice*, 27(3), 609-+. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2011.07.007>
- Russell Pattinson, R., Wilcox, C., Williams, S., & Curtis, K. (2015). *Changes in the demographics of the NSW sheep flock* (NSW Wool Industry and Future Opportunities, Issue).
- Rybniker, J., Kramme, S., & Small, P. L. (2006). Host range of 14 mycobacteriophages in *Mycobacterium ulcerans* and seven other mycobacteria including *Mycobacterium tuberculosis* – application for identification and susceptibility testing. *Journal of Medical Microbiology*, 55(1), 37-42. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46238-0>
- Sardaro, R., Pieragostini, E., Rubino, G., & Petazzi, F. (2017). Impact of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* on profit efficiency in semi-extensive dairy sheep and goat farms of Apulia, southern Italy. *Preventive Veterinary Medicine*, 136, 56-64. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.11.013>
- Schnappinger, D., Ehrt, S., Voskuil, M. I., Liu, Y., Mangan, J. A., Monahan, I. M., Dolganov, G., Efron, B., Butcher, P. D., Nathan, C., & Schoolnik, G. K. (2003). Transcriptional adaptation of *Mycobacterium tuberculosis* within macrophages : Insights into the phagosomal environment. *Journal of Experimental Medicine*, 198(5), 693-704. <https://doi.org/10.1084/jem.20030846>
- Selim, A., Abdelhady, A., & Abdelrahman, A. (2021). Ovine paratuberculosis: Seroprevalence and comparison of fecal culture and direct fecal PCR assay. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*, 74. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101526>
- Sergeant, E. S. G., McAloon, C. G., Tratalos, J. A., Citer, L. R., Graham, D. A., & More, S. J. (2019). Evaluation of national surveillance methods for detection of Irish dairy herds infected with *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*. *Journal of Dairy Science*, 102(3), 2525-2538. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15696>
- Shabana, II, & Aljohani, A. A. (2020). Sero-surveillance of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in ruminants in Medina. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 7(1), 69-76. <https://doi.org/10.5455/javar.2020.g395>
- Smeed, J. A., Watkins, C. A., Rhind, S., & Hopkins, J. (2008). Differential cytokine gene expression profiles in the three pathological forms of sheep paratuberculosis. *Immunology*, 125, 105-105. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-3-18>
- Smith, R. L., Grohn, Y. T., Pradhan, A. K., Whitlock, R. H., Van Kessel, J. S., Smith, J. M., Wolfgang, D. R., & Schukken, Y. H. (2009). A longitudinal study on the impact of Johne's disease status on milk production in individual cows. *Journal of Dairy Science*, 92(6), 2653-2661. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1832>
- Smith, S. L., Wilson, P. R., Collett, M. G., Heuer, C., West, D. M., Stevenson, M., & Chambers, J. P. (2014). Liver biopsy histopathology for diagnosis of Johne's disease in sheep. *Veterinary Pathology*, 51(5), 915-918. <https://doi.org/10.1177/0300985813516644>

- Sohal, J. S., Arsenault, J., Leboeuf, A., Helie, P., Buczinski, S., Robinson, Y., Labrecque, O., Lachapelle, V., Fecteau, G., & L'Homme, Y. (2019). Molecular characterization of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* C-type and S-type isolated from sheep and goats by using a combination of MIRU-VNTR loci. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 83(3), 160-167. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31308587>  
[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6587881/pdf/cjvr\\_03\\_160.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6587881/pdf/cjvr_03_160.pdf)
- Sonawane, G. G., & Tripathi, B. N. (2013). Comparison of a quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) with conventional PCR, bacterial culture and ELISA for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in sheep showing pathology of Johne's disease. *Springerplus*, 2(1), 45. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-45>
- Stabel, J. R. (2006). Host responses to *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* : A complex arsenal. *Animal Health Research Reviews*, 7(1-2), 61-70. <https://doi.org/10.1017/S1466252307001168>
- Stabel, J. R., & Bannantine, J. P. (2005). Development of a nested PCR method targeting a unique multicopy element, *ismap02*, for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in fecal samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(9), 4744-4750. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.9.4744-4750.2005>
- Stabel, J. R., Turner, A., & Walker, M. (2020). An eco-friendly decontaminant to kill *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* *Journal of Microbiological Methods*, 176, 106001. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.106001>
- Stau, A., Seelig, B., Walter, D., Schroeder, C., & Ganter, M. (2012). Seroprevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in small ruminants in Germany. *Small Ruminant Research*, 105(1-3), 361-365. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.03.008>
- Stevenson, K. (2015). Genetic diversity of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* and the influence of strain type on infection and pathogenesis: A review. *Veterinary Research*, 46(1), 64-64. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0203-2>
- Stevenson, K., Alvarez, J., Bakker, D., Biet, F., de Juan, L., Denham, S., Dimareli, Z., Dohmann, K., Gerlach, G. F., Heron, I., Kopečna, M., May, L., Pavlik, I., Sharp, J. M., Thibault, V. C., Willemsen, P., Zadoks, R. N., & Greig, A. (2009). Occurrence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* across host species and European countries with evidence for transmission between wildlife and domestic ruminants. *BMC Microbiology*, 9, 212-212. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-212>
- Stewart, D. J., Vaughan, J. A., Stiles, P. L., Noske, P. J., Tizard, M. L., Prowse, S. J., Michalski, W. P., Butler, K. L., & Jones, S. L. (2006). A long-term study in Angora goats experimentally infected with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* : Clinical disease, faecal culture and immunological studies. *Veterinary Microbiology*, 113(1-2), 13-24. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.09.015>
- Sting, R., Hrubenja, M., Mandl, J., Seemann, G., Salditt, A., & Waibel, S. (2014). Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in faeces using different procedures of pre-treatment for real-time PCR in comparison to culture. *The Veterinary Journal*, 199(1), 138-142. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.08.033>
- Strommenger, B., Stevenson, K., & Gerlach, G.-F. (2001). Isolation and diagnostic potential of *ismav2*, a novel insertion sequence-like element from *Mycobacterium avium* subspecies

- paratuberculosis*. *FEMS Microbiology Letters*, 196(1), 31-37.  
[https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(01\)00032-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(01)00032-5)
- Sweeney, R. W. (2011). Pathogenesis of paratuberculosis. *Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice*, 27(3), 537-+. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2011.07.001>
- Taylor, A. W. (1953). The experimental infection of cattle with varieties of *Mycobacterium-johne* isolated from sheep. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, 63(4), 368-373. [https://doi.org/10.1016/S0368-1742\(53\)80038-X](https://doi.org/10.1016/S0368-1742(53)80038-X)
- ThermoFisher. (2022). ELISA technical guide and protocols. In T. Scientific (Ed.), *ELISA technical guide and protocols*. Thermo Scientific.
- van der Merwe, R. G., van Helden, P. D., Warren, R. M., Sampson, S. L., & Gey van Pittius, N. C. (2014). Phage-based detection of bacterial pathogens. *Analyst*, 139(11), 2617-2626. <https://doi.org/10.1039/C4AN00208C>
- Velazquez-Morales, J. V., Santillan-Flores, M. A., Gallegos-Sanchez, J., Cuca-Garcia, J. M., Navarro-Maldonado, M. D., Rojas-Martinez, R. I., & Cortez-Romero, C. (2019). Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in reproductive tissue and semen of naturally infected rams. *Animal Reproduction*, 16(4), 930-937. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-ar2018-0147>
- Verdugo, C., Jones, G., Johnson, W., Wilson, P., Stringer, L., & Heuer, C. (2014). Estimation of flock/herd-level true *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* prevalence on sheep, beef cattle and deer farms in New Zealand using a novel bayesian model. *Preventive Veterinary Medicine*, 117(3-4), 447-455. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.10.004>
- Verdugo, C., Pleydell, E., Price-Carter, M., Prattley, D., Collins, D., de Lisle, G., Vogue, H., Wilson, P., & Heuer, C. (2014). Molecular epidemiology of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolated from sheep, cattle and deer on New Zealand pastoral farms. *Preventive Veterinary Medicine*, 117(3), 436-446. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.09.009>
- Verin, R., Perroni, M., Rossi, G., De Grossi, L., Botta, R., De Sanctis, B., Rocca, S., Cubeddu, T., Crosby-Durrani, H., & Taccini, E. (2016). Paratuberculosis in sheep: Histochemical, immunohistochemical and *in situ* hybridization evidence of *in utero* and milk transmission. *Research in Veterinary Science*, 106, 173-179. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.04.006>
- VinodhKumar, O. R., Gunaseelan, L., Ronald, B. S. M., & Sakthivelan, S. M. (2013). Slaughterhouse prevalence of ovine paratuberculosis in Southern India. *Tropical Animal Health and Production*, 45(4), 1063-1069. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0321-z>
- Wang, J., Moolji, J., Dufort, A., Staffa, A., Domenech, P., Reed, M. B., Behr, M. A., & Silhavy, T. J. (2016). Iron acquisition in *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* *Journal of Bacteriology*, 198(5), 857-866. <https://doi.org/10.1128/JB.00922-15>
- Weber, M. F., Groenendaal, H., van Roermund, H. J., & Nielen, M. (2004). Simulation of alternatives for the Dutch John's disease certification-and-monitoring program. *Preventive Veterinary Medicine*, 62(1), 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2003.11.006>
- Weber, M. F., Verhoeff, J., van Schaik, G., & van Maanen, C. (2009). Evaluation of Ziehl-Neelsen stained faecal smear and ELISA as tools for surveillance of clinical paratuberculosis in

- cattle in the Netherlands. *Preventive Veterinary Medicine*, 92(3), 256-266.  
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.08.017>
- Wells, S. J., Collins, M. T., Faaberg, K. S., Wees, C., Tavoranpanich, S., Petrini, K. R., Collins, J. E., Cernicchiaro, N., & Whitlock, R. H. (2006). Evaluation of a rapid fecal PCR test for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in dairy cattle. *Clinical and Vaccine Immunology*, 13(10), 1125-1130. <https://doi.org/10.1128/CVI.00236-06>
- Whittington, R., Donat, K., Weber, M. F., Kelton, D., Nielsen, S. S., Eisenberg, S., Arrigoni, N., Juste, R., Sáez, J. L., Dhand, N., Santi, A., Michel, A., Barkema, H., Kralik, P., Kostoulas, P., Citer, L., Griffin, F., Barwell, R., Moreira, M. A. S., . . . de Waard, J. H. (2019). Control of paratuberculosis: Who, why and how. A review of 48 countries. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 198-198. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1943-4>
- Whittington, R. J. (2009). Factors affecting isolation and identification of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from fecal and tissue samples in a liquid culture system. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(3), 614-622. <https://doi.org/10.1128/jcm.01986-08>
- Whittington, R. J., Eamens, G. J., & Cousins, D. V. (2003). Specificity of absorbed ELISA and agar gel immunodiffusion tests for paratuberculosis in goats with observations about use of these tests in infected goats. *Australian Veterinary Journal*, 81(1-2), 71-75.  
<https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2003.tb11437.x>
- Whittington, R. J., Marsh, I., McAllister, S., Turner, M. J., Marshall, D. J., & Fraser, C. A. (1999). Evaluation of modified BACTEC 12b radiometric medium and solid media for culture of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from sheep. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(4), 1077-1083. <https://doi.org/10.1128/jcm.37.4.1077-1083.1999>
- Whittington, R. J., Marsh, I. B., & Reddacliff, L. A. (2005). Survival of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in dam water and sediment. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), 5304-5308. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.5304-5308.2005>
- Whittington, R. J., Marsh, I. B., Saunders, V., Grant, I. R., Juste, R., Sevilla, I. A., Manning, E. J., & Whitlock, R. H. (2011). Culture phenotypes of genomically and geographically diverse *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolates from different hosts. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(5), 1822-1830. <https://doi.org/10.1128/JCM.00210-11>
- Whittington, R. J., Marsh, I. B., & Whitlock, R. H. (2001). Typing of IS1311 polymorphisms confirms that bison (*Bison bison*) with paratuberculosis in Montana are infected with a strain of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* distinct from that occurring in cattle and other domesticated livestock. *Molecular and Cellular Probes*, 15(3), 139-145.  
<https://doi.org/10.1006/mcpr.2001.0346>
- Whittington, R. J., Marshall, D. J., Nicholls, P. J., Marsh, I. B., & Reddacliff, L. A. (2004). Survival and dormancy of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in the environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5), 2989-3004.  
<https://doi.org/10.1128/aem.70.5.2989-3004.2004>
- Whittington, R. J., Reddacliff, L. A., Marsh, I., McAllister, S., & Saunders, V. (2000). Temporal patterns and quantification of excretion of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in sheep with Johne's disease. *Australian Veterinary Journal*, 78(1), 34-37.  
<https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2000.tb10355.x>
- Whittington, R. J., & Sergeant, E. S. G. (2001). Progress towards understanding the spread, detection and control of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in animal

- populations. *Australian Veterinary Journal*, 79(4), 267-278.  
<https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2001.tb11980.x>
- Whittington, R. J., & Windsor, P. A. (2009). *In utero* infection of cattle with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* : A critical review and meta-analysis. *The Veterinary Journal*, 179(1), 60-69. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.08.023>
- Windsor, P. (2014). Managing control programs for ovine caseous lymphadenitis and paratuberculosis in Australia, and the need for persistent vaccination. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 11. <https://doi.org/10.2147/vmrr.s44814>
- Windsor, P., & Whittington, R. (2020). Ovine paratuberculosis control in Australia revisited. *Animals*, 10(9), 1623. <https://doi.org/10.3390/ani10091623>
- Windsor, P. A. (2015). Paratuberculosis in sheep and goats. *Veterinary Microbiology*, 181(1), 161-169. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.07.019>
- Windsor, P. A. (2021). Progress with livestock welfare in extensive production systems: Lessons from Australia. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 9, Article 674482. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.674482>
- Windsor, P. A., Bush, R., Links, I., & Eppleston, J. (2005). Injury caused by self-inoculation with a vaccine of a Freund's complete adjuvant nature (Gudair™) used for control of ovine paratuberculosis. *Australian Veterinary Journal*, 83(4), 216-220. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2005.tb11654.x>
- Windsor, P. A., & Eppleston, J. (2006). Lesions in sheep following administration of a vaccine of a Freund's complete adjuvant nature used in the control of ovine paratuberculosis. *New Zealand Veterinary Journal*, 54(5), 237-241. <https://doi.org/10.1080/00480169.2006.36704>
- Windsor, P. A., Eppleston, J., Dhand, N. K., & Whittington, R. J. (2014). Effectiveness of Gudair™ vaccine for the control of ovine Johne's disease in flocks vaccinating for at least 5 years. *Australian Veterinary Journal*, 92(7), 263-268. <https://doi.org/10.1111/avj.12194>
- Yu, Y., Zhang, S., Xu, G., Xu, D., Zheng, H., Li, B., Shen, K., & Fu, L. (2022). Identification of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in sheep farms in Bayannaoer, Inner Mongolia, China (short communication). *BMC Veterinary Research*, 18(1), 281. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03293-6>
- Zhang, M. Z., & Zhang, S. (2011). An efficient DNA extraction method for polymerase chain reaction–based detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in bovine fecal samples. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23(1), 41-48. <https://doi.org/10.1177/104063871102300106>
- Zhao, L., Wang, Y., Wang, J. L., Zhao, W. H., Cheng, H. X., Ma, Y. M., Chai, H. L., Zhang, Z. S., Wang, L. F., Miao, Z. Q., Ding, Y. L., Sulijid, J., Dang, G. H., Liu, S. Y., Wang, F. L., Liu, S. G., & Liu, Y. H. (2021). Serological investigation and genotyping of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in sheep and goats in Inner Mongolia, China. *PloS One*, 16(9), e0256628. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256628>
- Zhong, L., Taylor, D., Begg, D. J., & Whittington, R. J. (2011). Biomarker discovery for ovine paratuberculosis (Johne's disease) by proteomic serum profiling. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*, 34(4), 315-326. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2011.03.001>
- Zoetis. (2022). OJD vaccination. What you need to know. In N. J. s. d. program (Ed.).

# Annexe 1 – Formulaire d’information et consentement

## Formulaire d’information et de consentement

**Projet : La paratuberculose dans les troupeaux ovins du Québec : prévalence, stratégies diagnostiques et impacts des pratiques de biosécurité et des mouvements des animaux sur le risque d'infection**

### Problématique et objectifs du projet

La paratuberculose est une maladie contagieuse causée par la bactérie *Mycobacterium avium paratuberculosis*. Cette maladie est suspectée d’avoir une importance majeure dans les élevages ovins du Québec en raison des pertes de productivité et de la mortalité qu’elle peut engendrer. Ce projet a pour objectif de fournir des indicateurs précis de l’étendue des infections par *Mycobacterium avium paratuberculosis* dans les troupeaux ovins du Québec, d’élaborer une stratégie diagnostique efficace et à faible coût et d’évaluer l’impact des mouvements des animaux sur le risque d’infection. Nous souhaitons aussi diffuser ces informations aux différents intervenants du secteur de façon à promouvoir le développement de stratégies de contrôle adaptées.

### Procédures

Une visite de ferme sera effectuée afin de prélever des échantillons de fèces et de sang sur un maximum de 45 brebis de votre troupeau ainsi que des échantillons de crottins dans les parcs d’élevage. Pour chaque animal prélevé, l’état de chair sera évalué par palpation lombaire. La couleur de la conjonctive et le numéro ATQ seront notés. Vous devrez fournir des informations sur les animaux échantillonnés (race, parité, sexe) et remplir un questionnaire sur vos pratiques de régie. Durant l’année suivante à la visite, vous serez invité à noter les mortalités et les réformes pour les animaux de votre troupeau. En participant au projet, vous consentez également à ce que les données ATQ de votre troupeau (2017 à 2021 inclusivement) soient transmises par le MAPAQ à l’équipe de recherche.

### Avantages et risques

Votre participation contribuera à l’avancement des connaissances scientifiques afin d’améliorer les méthodes de détection de l’infection dans un troupeau et de mieux comprendre la prévalence et les facteurs de risque de cette infection au Québec. Si vous le désirez, un rapport détaillé des résultats de laboratoire pour les animaux testés vous sera remis ainsi qu’à votre vétérinaire praticien. Les risques du projet sont mineurs et rares. Ils sont liés à des complications lors de la prise d’échantillons (blessure, saignement au site de prélèvement).

### Confidentialité

Il est entendu que les renseignements recueillis (résultats de laboratoire, questionnaire, données ATQ) sont confidentiels et que seuls les membres de l’équipe de recherche de la Faculté de médecine vétérinaire (FMV) auront accès à ceux-ci. Les données seront conservées sous clé pendant 7 ans à la FMV, puis seront détruites de façon sécuritaire. Les résultats du projet pourront être diffusés (articles ou présentation), mais uniquement sous un format agrégé qui protégera la confidentialité des données. Aucune information

permettant de vous identifier ne sera divulguée publiquement à moins d'un consentement explicite de votre part.

### **Participation volontaire**

Votre participation à ce projet est volontaire. Cela signifie que vous acceptez de participer au projet sans aucune contrainte ou pression extérieure, et que par ailleurs vous êtes libre de mettre fin à votre participation en tout temps au cours de cette recherche. Dans ce cas, les renseignements vous concernant seront détruits.

### **Compensation financière**

Les frais reliés à la prise d'échantillons et aux analyses de laboratoire seront entièrement couverts par le projet. Les producteurs seront compensés à hauteur de 100 \$ par ferme pour leur participation. Aucune autre compensation financière n'est prévue.

### **Personnes-ressources**

En cas d'urgence ou pour toute question concernant les aspects scientifiques du projet, vous pouvez contacter la chercheuse principale ou la chargée de projet aux coordonnées suivante :

**Julie Arsenault, D.M.V., M.Sc., Ph.D.**

Chercheuse principale  
Faculté de médecine vétérinaire  
3200, rue Sicotte, St-Hyacinthe, Qc, J2S 2M2  
Téléphone : 450 773-8521 poste 86040  
Courriel : [julie.arsenault@umontreal.ca](mailto:julie.arsenault@umontreal.ca)

**William Donnelly**

Étudiant chargé de projet  
Faculté de médecine vétérinaire  
3200, rue Sicotte St-Hyacinthe, Qc, J2S 2M2  
Téléphone: 450 773-8521 poste 27730  
Courriel: [william.donnelly@umontreal.ca](mailto:william.donnelly@umontreal.ca)

Toute plainte concernant cette recherche peut être adressée à l'ombudsman de l'Université de Montréal, au numéro de téléphone (514) 343-2100 ou à l'adresse courriel [ombudsman@umontreal.ca](mailto:ombudsman@umontreal.ca). L'ombudsman accepte les appels à frais virés. Il s'exprime en français et en anglais et prend les appels entre 9h et 17h.

### **Remerciements**

Votre collaboration est essentielle à la réalisation de notre projet et l'équipe de recherche tient à vous en remercier grandement.

### **Signatures**

Je reconnais avoir lu le présent formulaire de consentement et consens volontairement à participer à ce projet de recherche. Je comprends que ma participation à cette recherche est volontaire et que je peux y mettre fin en tout temps, sans pénalité d'aucune forme ni justification à donner. Il me suffit d'en informer le chercheur principal du projet qui détruira les données recueillies relatif à ma participation au projet. Je suis conscient que j'ai le droit de poser des questions à l'équipe de recherche et exiger des réponses satisfaisantes. Je comprends qu'en participant, je ne renonce à aucun de mes droits ni dégage les chercheurs de leurs responsabilités.



Je soussigné \_\_\_\_\_ de la ferme \_\_\_\_\_  
accepte de participer au projet de recherche.

\_\_\_\_\_  
Signature du producteur

\_\_\_\_\_  
Date

\_\_\_\_\_  
Signature de William Donnelly (Étudiant M.Sc)

\_\_\_\_\_  
Date

Veillez cocher les cases suivantes et ajouter vos initiales si vous consentez aux éléments facultatifs suivants :

Je désire recevoir une copie de mes résultats de laboratoire.

Initiales : \_\_\_\_\_

J'autorise l'équipe de recherche à transmettre mes résultats à mon vétérinaire.

Initiales : \_\_\_\_\_

Nom du vétérinaire et de la clinique : \_\_\_\_\_

J'autorise le CEPOQ à transférer les données GenOvis de mon troupeau (2019-2021) à l'équipe de recherche afin que celle-ci puisse les analyser pour répondre aux objectifs du projet. Seul le nom de votre entreprise sera communiqué au CEPOQ.

Initiales : \_\_\_\_\_

J'accepte de transmettre les données de mon logiciel de régie (BerGère, Gallagher, etc) pour la période 2019-2021 afin que l'équipe de recherche puisse les analyser pour répondre aux objectifs du projet.

Initiales : \_\_\_\_\_

Un projet complémentaire sur la résistance aux antibiotiques sera réalisé à la FMV à partir des mêmes échantillons fécaux. Ce projet vise à évaluer la présence de bactéries résistantes aux antibiotiques dans les échantillons fécaux, et à évaluer si ces bactéries possèdent des gènes qui pourraient les rendre plus pathogènes pour les animaux, à décrire l'usage des antimicrobiens et à déterminer si la présence de bactéries résistantes est liée à l'usage d'antimicrobiens. La confidentialité des données sera respectée tel que décrit ci-dessous, et aucun frais ne sera chargé aux éleveurs.

J'autorise que les échantillons fécaux soient testés pour ce projet complémentaire sur la présence de bactéries résistantes aux antibiotiques et sur les gènes de virulence.

Initiales : \_\_\_\_\_

J'autorise que mon vétérinaire transmette à l'équipe une copie des prescriptions d'antimicrobiens de la dernière année dans mon troupeau.

Initiales : \_\_\_\_\_

## Information and consent form

<p><b>Project: Johne's disease in Quebec sheep flocks: prevalence, diagnostic strategies and impacts of biosecurity practices and animal movements on the risk of infection</b></p>
---

### Problem and objectives of the project

Johne's disease is a contagious disease caused by the bacterium *Mycobacterium avium paratuberculosis*. This disease is suspected to be of major importance in Quebec sheep farms because of the productivity losses and mortality it can cause. The objective of this project is to provide accurate indicators of the extent of *Mycobacterium avium paratuberculosis* infections in Quebec sheep flocks, to develop an effective and low-cost diagnostic strategy, and to evaluate the impact of animal movements on the risk of infection. We also wish to disseminate this information to the various stakeholders in the sector in order to promote the development of adapted control strategies.

### Procedures

A farm visit will be made to take faeces (tested for Johne's disease) and blood samples (tested for maedi-visna) from a maximum of 45 ewes in your flock as well as environmental faeces samples in the pens. For each animal sampled, body condition will be assessed by lumbar palpation. The colour of the conjunctiva and the ATQ number will be noted. You will be asked to provide information on the animals sampled (breed, sex) and complete a questionnaire on your management practices. For the year following the visit, you will be asked to note mortalities and culling for the animals in your herd. By participating in the project, you also consent that the ATQ data for your herd (all movements listed in ATQ from 2017 to 2021 inclusively) be transmitted by MAPAQ to the research team. These data are essential to study the impact of animal movements on the risk of infection.

### Benefits and risks

Your participation will contribute to the advancement of scientific knowledge in order to improve methods for detecting infection in a herd and to better understand the prevalence and risk factors of this infection in Quebec. If you wish, a detailed report of the laboratory results for the animals tested will be given to you and your practising veterinarian. The risks of the project are minor and rare. They are related to complications during sample collection (injury, bleeding at the collection site).

### Confidentiality

It is understood that the information collected (laboratory results, questionnaire, ATQ data) is confidential and that only members of the Faculty of Veterinary Medicine (FMV) research team will have access to it. Unless you give written authorization, the information collected will be used exclusively for this project. The data will be kept under lock and key for 7 years at the FMV and then securely destroyed. The results of the project may be disseminated (articles or presentations), but only in an aggregate format that will protect the confidentiality of the data. No personally identifiable information will be disclosed publicly unless you have given your explicit consent.

### Voluntary participation

Your participation in this project is voluntary. This means that you agree to participate in the project without coercion or outside pressure, that a refusal to participate will not result in any consequences, and

that you are free to end your participation at any time during the course of this research. If you do so, your information will be destroyed.

### **Financial Compensation**

Costs related to sampling and laboratory analysis will be fully covered by the project. Producers will be compensated up to \$100 per farm for their participation. No other financial compensation is planned.

### **Contacts**

In case of emergency or if you have any questions about the scientific aspects of the project, you can contact the principal investigator or the project manager at the following coordinates:

**Julie Arsenault, D.M.V., M.Sc., Ph.D.**

Principal investigator  
Faculty of veterinary medicine  
3200, rue Sicotte Saint-Hyacinthe, Québec,  
J2S 2M2  
Phone : 450 773-8521 Ext 86040  
Email : [julie.arsenault@umontreal.ca](mailto:julie.arsenault@umontreal.ca)

**William Donnelly**

Student in charge of project  
Faculty of veterinary medicine  
3200, rue Sicotte Saint-Hyacinthe, Québec,  
J2S 2M2  
Phone: 450 773-8521 Ext 27730  
Email : [william.donnelly@umontreal.ca](mailto:william.donnelly@umontreal.ca)

Any complaint regarding this research can be addressed to the Université de Montréal Ombudsman, at (514) 343-2100 or at [ombudsman@umontreal.ca](mailto:ombudsman@umontreal.ca). The Ombudsman accepts collect calls. He speaks in both French and English and takes calls between 9:00 a.m. and 5:00 p.m.

### **Acknowledgements**

Your collaboration is essential to the realization of our project and the research team would like to thank you very much.

### **Signatures**

I acknowledge that I have read this consent form and voluntarily consent to participate in this research project. I understand that my participation in this research is voluntary and that I may terminate my participation at any time without penalty of any kind or justification. All I need to do is inform the principal investigator of the project, who will destroy the data collected about my participation in the project. I am aware that I have the right to ask questions of the research team and demand satisfactory answers. I understand that by participating, I am not waiving any of my rights or relieving the researchers of their responsibilities.

I, the undersigned \_\_\_\_\_ of farm \_\_\_\_\_,  
agree to participate in the research project.

\_\_\_\_\_  
Producer's signature

\_\_\_\_\_  
Date

\_\_\_\_\_  
Signature of William Donnelly (M.Sc Student)

\_\_\_\_\_  
Date

Please check the following boxes and add your initials if you consent to the following optional items:

I would like to receive a copy of my Johne's disease lab results.

Initials: \_\_\_\_

I would like to get a copy of my lab results for the maedi-visna.

Initials: \_\_\_\_

I authorize the research team to forward my lab results to my veterinarian.

Initials: \_\_\_\_

Name of veterinarian and clinic: \_\_\_\_\_

I authorize the CEPOQ to transfer the GenOvis data from my herd (2019-2021) to the research team so that the latter can analyze it to meet the project's objectives. Only the name of your company will be communicated to the CEPOQ.

Initials: \_\_\_\_

I agree to transmit the data from my management software (BerGère, Gallagher, etc.) for the period 2019-2021 so that the research team can analyze it to meet the objectives of the project.

Initials: \_\_\_\_

I authorize the research team to use the samples and data collected in this project for future research projects at the Faculty of Veterinary Medicine on sheep health. All nominative data allowing your identification will be kept strictly confidential.

Initials: \_\_\_\_

I authorize the research team to contact me again, without any obligation on my part, for further studies on ovine health.

Initials: \_\_\_\_

A complementary project on antibiotic resistance will be carried out at the FMV using the same faecal samples. This project aims to assess the presence of antibiotic-resistant bacteria in the fecal samples, and to assess whether these bacteria have genes that could make them more pathogenic to animals, to describe antimicrobial use, and to determine whether the presence of resistant bacteria is related to antimicrobial use. Confidentiality of the data will be respected as described below, and no fee will be charged to the farmers.

I give permission for faecal samples to be tested for antibiotic resistant bacteria and virulence genes for this additional project.

Initials: \_\_\_\_\_

I give permission for my vet to forward a copy of last year's antimicrobial prescriptions in my herd to the team.

Initials: \_\_\_\_\_

## Annexe 2 – Fiche de prélèvement

**Projet paratuberculose ovin – Feuille de prise de données (1/4)**

ID : \_\_\_\_\_

Date de prélèvements : \_\_\_\_\_ Prélèvements réalisés par : \_\_\_\_\_

Nom de la ferme : \_\_\_\_\_

Nombre d'animaux sélectionnés au départ, puis rejetés (rectum sans fèces): \_\_\_\_\_

Nombre de parcs dans la ferme: \_\_\_\_\_ parcs brebis taries: \_\_\_\_\_ parcs brebis en lactation: \_\_\_\_\_

Nombre approximatif de moutons présents (échantillonnées ou non) dans les parcs échantillonnés :  Mesures

- ID parc 1: \_\_\_\_\_ Nb moutons parc (total) : \_\_\_\_\_ Nb échantillons sol prélevés : \_\_\_\_\_
- ID parc 2: \_\_\_\_\_ Nb moutons parc (total) : \_\_\_\_\_ Nb échantillons sol prélevés : \_\_\_\_\_
- ID parc 3: \_\_\_\_\_ Nb moutons parc (total) : \_\_\_\_\_ Nb échantillons sol prélevés : \_\_\_\_\_
- ID parc 4: \_\_\_\_\_ Nb moutons parc (total) : \_\_\_\_\_ Nb échantillons sol prélevés : \_\_\_\_\_
- ID parc 5: \_\_\_\_\_ Nb moutons parc (total) : \_\_\_\_\_ Nb échantillons sol prélevés : \_\_\_\_\_
- ID parc hôpital: \_\_\_\_\_ Nb moutons parc (total) : \_\_\_\_\_ Nb échantillons sols prélevés : \_\_\_\_\_

ID éch. (labo)	ID parc (selon le producteur)	ATQ Complet (ou ID ferme si numéro invalide)	Race Si pure/F1 (voir codes)	L / T	Date dernière mise-bas Registre/mémoire	FAMACHA	État chair (lombaire)	Âge (Si pas ATQ)	Commentaires <i>*Noter si signes de diarrhée ou léthargie</i>
1								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
2								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
3								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
4								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
5								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
6								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
7								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
8								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
9								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
10								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
11								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
12								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>

**Pour les 5 brebis les plus maigres\*, veuillez encercler le numéro ID.**

## Projet paratuberculose ovin – Feuille de prise de données (2/4)

Nom de la ferme : \_\_\_\_\_

ID : \_\_\_\_\_

Id éch. (labo)	Id parc (selon le producteur)	ATQ Complet (ou Id ferme si numéro invalide)	Race Si pure/F1 (voir codes)	L / T	Date dernière mise-bas Registre/mémoire	FAMACHA	État chair (lombaire)	Âge (Si pas ATQ)	Commentaires <i>*Noter si signes de diarrhée ou léthargie</i>
13								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
14								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
15								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
16								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
17								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
18								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
19								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
20								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
21								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
22								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
23								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
24								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
25								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
26								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
27								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
28								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
29								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
30								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>

**Projet paratuberculose ovine – Feuille de prise de données (3/4)**

Id éch. (labo)	Id parc (selon le producteur)	ATQ Complet (ou Id ferme si numéro invalide)	Race Si pure/F1 (voir codes)	L / T	Date dernière mise-bas Registre/mémoire	FAMACHA	État chair (lombaire)	Âge (Si pas ATQ)	Commentaires <i>*Noter si signes de diarrhée ou léthargie</i>
31								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
32								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
33								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
34								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
35								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
36								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
37								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
38								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
39								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
40								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
41								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
42								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
43								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
44								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
45								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>
								<input type="checkbox"/> Dents <input type="checkbox"/> Éleveur	<input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Fèces molles <input type="checkbox"/>

Nom de la ferme : \_\_\_\_\_

ID : \_\_\_\_\_



	ID parc (selon le producteur)	Commentaires
1		
2		
3		
4		
5		
6	Hôpital	

**Projet paratuberculose ovin – Feuille de prise de données (4/4)**

Nom de la ferme : \_\_\_\_\_

ID : \_\_\_\_\_

PARC 3

PARC 1	PARC 2
Dessin parc (Noter les mesures)	Dessin parc (Noter les mesures)

PARC 5

Dessin parc (Noter les mesures)

Dessin parc (Noter les mesures)

PARC 4

PARC HÔPITAL

# Annexe 3 – Questionnaire sur les caractéristiques de troupeau et pratiques de régie

## PROJET PARATUBERCULOSE OVINE

### QUESTIONNAIRE À COMPLÉTER EN FERME

***Toutes les données seront gardées strictement confidentielles. Seulement les membres de l'équipe de recherche de la Faculté de médecine vétérinaire auront accès aux renseignements nominatifs.***

Complété par : \_\_\_\_\_

Complété le : \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_  
                  *jour      mois      année*

#### Informations générales sur l'exploitation

Nom de la ferme : \_\_\_\_\_

Nom du propriétaire : \_\_\_\_\_

Numéro de téléphone : \_\_\_\_\_ et/ou courriel : \_\_\_\_\_

Adresse de l'exploitation : \_\_\_\_\_

*Numéro*

*rang/route/rue*

\_\_\_\_\_  
*Municipalité*

*code postal*

Adresse postale (si différente) : \_\_\_\_\_

*Numéro*

*rang/route/rue*

\_\_\_\_\_  
*Municipalité*

*code postal*

1. Depuis combien d'années possédez-vous ce troupeau?

\_\_\_\_\_

2. Quelles sont les principales activités de cet élevage? Veuillez cocher tout ce qui s'applique.

- Vente de sujets reproducteurs
- Vente d'agneau léger (19 à 36 kg)
- Vente d'agneau lourd (>36 kg)
- Agro-tourisme
- Vente de lait
- Transformation - produits laitiers pasteurisés
- Transformation - production de fromage au lait cru
- Autre, préciser : \_\_\_\_\_

Seulement  
pour élevage

3. Est-ce que la production d'agneaux (et/ou de lait) de votre troupeau est certifié biologique?

- Oui
- Non

4. Est-ce que vous utilisez les services du contrôle laitier?

- Oui  
*Si oui, lequel* \_\_\_\_\_  
*À quelle fréquence s'effectue le contrôle?* \_\_\_\_\_
- Non

5. Recevez-vous du lait d'autres fermes dans le but de le vendre ou de le transformer?

- Oui
  - Vache
  - Brebis
  - Chèvre
- Non

Seulement  
pour  
élevage  
laitier

Seulement  
pour  
élevage  
laitier

6. Quel est le nombre d'animaux de ce troupeau?

	1 <sup>er</sup> janvier 2018	1 <sup>er</sup> janvier 2019	1 <sup>er</sup> janvier 2020	1 <sup>er</sup> janvier 2021
Brebis (≥1 agnelage)				
Agnelles de remplacement (entre sevrage et 1 <sup>re</sup> mise bas)				
Béliers utilisés pour la reproduction				

7. Au cours des 12 derniers mois, avez-vous fait des mises-bas à l'année (> 4 groupes de mise bas)?

Oui

Non → veuillez compléter le tableau suivant pour les groupes de la dernière année:

Nombre de brebis ayant mis bas	Début des mises bas	Fin des mises bas
	___ / ___ mois année	___ / ___ mois année
	___ / ___ mois année	___ / ___ mois année
	___ / ___ mois année	___ / ___ mois année
	___ / ___ mois année	___ / ___ mois année

8. D'ici les cinq prochaines années, prévoyez-vous:

Augmenter la taille de votre troupeau

Demeurer stable

Diminuer la taille de votre troupeau

Cesser la production

## Source d'eau

9. Au cours des 12 derniers mois, quelle a été la source d'eau utilisée pour abreuver les animaux du troupeau? Veuillez cocher tout ce qui s'applique.

- Eau de pluie
- Eau de surface (Étang, ruisseau, lac, rivière, etc.)
- Puits privé de surface (<30 pieds de profondeur)
- Puits privé artésien (100 pieds de profondeur)
- Eau du réseau municipal
- Autre, préciser : \_\_\_\_\_

10. Est-ce que la réponse précédente s'applique également pour les 3 dernières années?

- Oui
- Non, préciser : \_\_\_\_\_

## Pâturage

11. Au cours des 12 derniers mois, est-ce que vos animaux ont eu accès à l'extérieur? Veuillez cocher tout ce qui s'applique.

- Non
- Oui, utilisation de pâturage dans mon plan d'alimentation

*Si oui, pour quelle(s) catégorie(s) d'animaux ?*

- Brebis en lactation
- Brebis tarées ou en gestation
- Béliers
- Agnelles gestantes
- Agneaux

- Oui, utilisation de cours d'exercice

*Si oui, pour quelle(s) catégorie(s) d'animaux ?*

- Brebis en lactation
- Brebis tarées ou en gestation
- Béliers
- Agnelles gestantes
- Agneaux

12. Est-ce que les réponses précédentes s'appliquent également pour les 3 dernières années?

- Oui
- Non, préciser : \_\_\_\_\_

### Informations sur les contacts potentiels avec d'autres animaux

13. Avez-vous déjà gardé d'autres types de ruminants dans votre entreprise?

- Non  
 Oui, compléter le tableau suivant.

Espèce animale	Période où ce type d'animal était présent (cocher tout ce qui s'applique)	Nombre d'animaux (en moyenne pour la dernière période)	Bâtiment commun avec les brebis et/ou les agnelles?	Pâturage commun avec les brebis et/ou agnelles ?
Chèvres	<input type="checkbox"/> Actuellement <input type="checkbox"/> 1-3 dernières années <input type="checkbox"/> >3 ans, préciser dernière année : _____		<input type="checkbox"/> Oui, agnelles <input type="checkbox"/> Oui, brebis <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Oui, agnelles <input type="checkbox"/> Oui, brebis <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Aucun pâturage
Bovins laitiers	<input type="checkbox"/> Actuellement <input type="checkbox"/> 1-3 dernières années <input type="checkbox"/> >3 ans, préciser dernière année : _____		<input type="checkbox"/> Oui, agnelles <input type="checkbox"/> Oui, brebis <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Oui, agnelles <input type="checkbox"/> Oui, brebis <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Aucun pâturage
Bovins de boucherie	<input type="checkbox"/> Actuellement <input type="checkbox"/> 1-3 dernières années <input type="checkbox"/> >3 ans, préciser dernière année : _____		<input type="checkbox"/> Oui, agnelles <input type="checkbox"/> Oui, brebis <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Oui, agnelles <input type="checkbox"/> Oui, brebis <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Aucun pâturage
Cervidés d'élevage	<input type="checkbox"/> Actuellement <input type="checkbox"/> 1-3 dernières années <input type="checkbox"/> >3 ans, préciser dernière année : _____		<input type="checkbox"/> Oui, agnelles <input type="checkbox"/> Oui, brebis <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Oui, agnelles <input type="checkbox"/> Oui, brebis <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Aucun pâturage
Autre ruminant (lama, alpaga, ...), préciser : _____	<input type="checkbox"/> Actuellement <input type="checkbox"/> 1-3 dernières années <input type="checkbox"/> >3 ans, préciser dernière année : _____		<input type="checkbox"/> Oui, agnelles <input type="checkbox"/> Oui, brebis <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Oui, agnelles <input type="checkbox"/> Oui, brebis <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Aucun pâturage

## Informations sur la régie d'élevage des agnelles

14. Au cours des 12 derniers mois, avez-vous produit vos agnelles de remplacement ?

- Oui à 100%
- Partiellement, préciser le % : \_\_\_\_\_
- Non → svp passez à la question 22

15. Au cours des 12 derniers mois, quels ont été les lieux de mise-bas de vos brebis ? S'il y a plusieurs réponses, préciser le % de brebis ayant mis bas dans chaque type d'environnement.

- Case de mise-bas individuelle  
% brebis : \_\_\_\_\_
- Parcs de groupe  
% brebis : \_\_\_\_\_  
Combien d'animaux sont présents en moyenne dans le parc de groupe lors d'une mise-bas?  
\_\_\_\_\_
- Autre, précisez : \_\_\_\_\_  
% brebis : \_\_\_\_\_

16. Au cours des 12 derniers mois, parmi tous **les animaux de remplacement** nés sur la ferme, veuillez indiquer :

**Seulement  
pour élevage  
laitier**

- a) Quel pourcentage est né lorsqu'une personne en charge des animaux était présente dans la bergerie?  
\_\_\_\_\_ %
- b) Parmi ceux-ci, veuillez indiquer le % de ceux qui ont été :
  - i. retirés immédiatement après la mise-bas et placés dans un local distinct? \_\_\_\_ %
  - ii. laissés quelques minutes avec leur mère, mais retirés avant la première tétée? \_\_\_\_ %
  - iii. retirés après avoir tété au moins une fois? \_\_\_\_ %  
→ temps moyen passé avec la mère : \_\_\_\_\_ (minutes/ heures/ jours)
  - iv. laissés pendant quelques semaines avec leur mère? \_\_\_\_ %
- c) Concernant les animaux de remplacement nés lorsque personne n'était présent dans la bergerie, combien de temps sont-ils demeurés au maximum avec leur mère?  
\_\_\_\_\_ (heures/ jours/semaines) (encercler un)

17. Au cours des 12 derniers mois, sur quels critères formez-vous les parcs suivants ? Veuillez cocher tous ceux qui s'appliquent.

a) Parcs de mise-bas?

- Date de mise-bas
- Âge des brebis, préciser : \_\_\_\_\_
- État de chair des brebis, préciser : \_\_\_\_\_
- Taille de la portée, préciser : \_\_\_\_\_
- État de santé, préciser : \_\_\_\_\_
- Autre, préciser : \_\_\_\_\_

b) Parcs de lactation?

- Date de mise-bas
- Âge des brebis, préciser : \_\_\_\_\_
- État de chair des brebis, préciser : \_\_\_\_\_
- Taille de la portée, préciser : \_\_\_\_\_
- État de santé, préciser : \_\_\_\_\_
- Autre, préciser : \_\_\_\_\_

18. Est-ce que ces réponses sur la régie de mise-bas s'appliquent également pour les 3 dernières années?

- Oui
- Non, préciser : \_\_\_\_\_

19. Quel est le nombre moyen de brebis dans les parcs de lactation?

\_\_\_\_\_

20. Quel est le nombre moyen d'agnelles de remplacement dans les parcs post-sevrage?

\_\_\_\_\_

21. Est-ce que ces réponses s'appliquent également pour les 3 dernières années?

- Oui
- Non, préciser : \_\_\_\_\_



22. Au cours des 12 derniers mois, à quel endroit ont été gardées les agnelles de remplacement :

a) Avant le sevrage :

Avec leur mère dans les parcs de brebis en lactation ( \_\_\_%)

Retirées de leur mère autour de la naissance et placées dans...  
(indiquer le % pour chacune)

i. Parc sans contact possible avec adultes dans le même bâtiment que les adultes ( \_\_\_%)

ii. Parc avec contact possible avec adultes dans le même bâtiment que les adultes ( \_\_\_%)

iii. Bâtiment séparé des adultes ( \_\_\_%)

iv. Autre, préciser : \_\_\_\_\_ ( \_\_\_%)

b) Entre le sevrage et la mise à la reproduction (si plusieurs réponses, indiquer le % pour chacune)?

Dans le même bâtiment que les animaux adultes ( \_\_\_%)

Dans un parc sans contact possible avec animaux adultes ( \_\_\_%)

Dans un parc avec contact possible avec les animaux adultes ( \_\_\_%)

Bâtiment séparé des adultes ( \_\_\_%)

Autre, préciser : \_\_\_\_\_ ( \_\_\_%)

23. Est-ce que cette réponse s'applique également pour les 3 dernières années?

Oui

Non, préciser : \_\_\_\_\_

24. Au cours des 12 derniers mois, quelle(s) sources de colostrum avez-vous utilisées pour vos agnelles de remplacement? Si plusieurs sources sont utilisées, veuillez préciser le % de agneaux nourris avec chaque source.

( \_\_\_%) Colostrum frais de leur mère

( \_\_\_%) Colostrum frais d'une autre mère

( \_\_\_%) Colostrum frais poolé de plusieurs mères

( \_\_\_%) Colostrum thermisé poolé du troupeau

( \_\_\_%) Colostrum de vaches, non thermisé

( \_\_\_%) Colostrum de vaches, thermisé

( \_\_\_%) Substitut de colostrum

( \_\_\_%) Autre, précisez : \_\_\_\_\_

Seulement  
pour élevage  
laitier

Seulement  
pour  
élevage  
viande

25. Au cours des 12 derniers mois, quel pourcentage des agneaux ont été **mis en allaitement artificiel**? Si plusieurs sources sont utilisées, veuillez préciser le % de agneaux nourris avec chaque source.

(\_\_\_\_%) des agneaux en allaitement artificiel

*Quel type de colostrum a été donné?*

(\_\_\_\_%) Colostrum frais d'une autre mère

(\_\_\_\_%) Colostrum frais poolé de plusieurs mères

(\_\_\_\_%) Colostrum thermisé poolé du troupeau

(\_\_\_\_%) Colostrum de vaches, non thermisé

(\_\_\_\_%) Colostrum de vaches, thermisé

(\_\_\_\_%) Substitut de colostrum

(\_\_\_\_%) Autre, précisez : \_\_\_\_\_

26. Au cours des 12 derniers mois, avez-vous eu des agneaux tétant le lait d'autres mères (agneau-voleur)?

Oui

*Quel pourcentage des agneaux étaient des agneaux-voleur? \_\_\_\_\_%*

Non

Ne sais pas

27. Est-ce que ces réponses s'appliquent également pour les 3 dernières années?

Oui

Non, préciser : \_\_\_\_\_

28. Thermisez-vous le colostrum de remplacement avant de l'administrer? veuillez préciser :

Oui

a) Nom commercial du thermiseur (si connu) : \_\_\_\_\_

b) Durée de la thermisation? \_\_\_\_\_

c) Température de la thermisation? \_\_\_\_\_

d) La température est-elle contrôlée électroniquement?  Oui  Non

e) Le lait est-il agité pendant la thermisation?  Oui  Non

f) Depuis combien d'années utilisez-vous cette technique? \_\_\_\_\_

Non

29. Au cours des 12 derniers mois, quel était l'âge moyen de sevrage des agneaux?

\_\_\_\_\_

30. Est-ce que ces réponses s'appliquent également pour les 3 dernières années?

Oui

Non, préciser : \_\_\_\_\_

### Gestion du fumier

31. Quel type de plancher est utilisé dans votre bergerie? Veuillez cocher tout ce qui s'applique.

Type de plancher	Brebis en lactation	Animaux de remplacement
Béton	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Plancher latté	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Terre battue	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Autre, préciser : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

32. Quel type de litière est utilisée dans votre bergerie? Veuillez cocher tout ce qui s'applique.

Type de litière	Brebis en lactation	Animaux de remplacement
Tourbe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Paille	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Refus de mangeoire	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ripe ou bran de scie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sable	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Autre, préciser : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

33. Au cours des 3 dernières années, est-ce que du fumier de moutons, de chèvres ou de bovins a été épandu sur :

a) Un pâturage ou une cour d'exercice fréquenté par les animaux de votre troupeau ?

- Oui             Non

*Si oui,*

i. Utilisez-vous du fumier qui provient d'une autre ferme?

- Oui  
 Vache  
 Brebis  
 Chèvre  
 Porc  
 Poulet  
 Autre, préciser \_\_\_\_\_  
 Non

ii. Combien de temps au minimum s'est-il écoulé entre la dernière sortie du fumier du bâtiment et l'épandage (indiquer « zéro » si l'épandage a été fait directement suite au retrait du fumier du bâtiment)?

\_\_\_\_\_ (jours/semaines/mois/année) (encercler l'unité)

iii. Combien de temps au minimum s'est-il écoulé entre l'épandage et l'accès des animaux à cet endroit?

\_\_\_\_\_ (jours/semaines/mois/année) (encercler l'unité)

b) Un champ de foin récolté pour votre troupeau?

- Oui             Non             Je ne sais pas

*Si oui,*

i. Utilisez-vous du fumier qui provient d'une autre ferme?

- Oui  
 Vache  
 Brebis  
 Chèvre  
 Porc  
 Poulet  
 Autre, préciser \_\_\_\_\_  
 Non

ii. Combien de temps au minimum s'est-il écoulé entre la dernière sortie du fumier du bâtiment et l'épandage (indiquer « zéro » si l'épandage a été fait directement suite au retrait du fumier du bâtiment)?

\_\_\_\_\_ (jours/semaines/mois/année) (encercler l'unité)

iii. Combien de temps au minimum s'est-il écoulé entre l'épandage et la prochaine coupe de foin

\_\_\_\_\_ (jours/semaines/mois/année) (encercler l'unité)

34. Au cours des 3 dernières années, avez-vous emprunté du matériel d'épandage provenant d'une autre ferme?

- Oui       Non

### Nettoyage et désinfection

35. Au cours des 12 derniers mois, concernant **les abreuvoirs de votre bergerie** :

\_\_\_\_\_ X jour/semaine/mois/année (encercler l'unité)

a) Produits et procédure utilisés ? (Veuillez cocher tout ce qui s'applique)

Retraits des matières organiques (foin, paille, fèces, etc.)

Lavage à l'eau

Utilisation d'un savon ou dégraissant

Brossage

Utilisation de désinfectant : \_\_\_\_\_

Autre : \_\_\_\_\_

36. Au cours des 12 derniers mois, concernant **les parcs ou cases individuelles de mise-bas** :

a) À quelle fréquence la litière a-t-elle été ajoutée, en moyenne ?

\_\_\_\_\_ X jour/semaine/mois/année (encercler l'unité)

b) À quelle fréquence ont-ils été nettoyés (enlèvement du fumier) ?

\_\_\_\_\_ X semaine/mois/année (encercler l'unité)

c) Ont-ils été lavés et désinfectés ?

Non → passez à la question 37

Oui, veuillez préciser :

i. À quelle fréquence ? \_\_\_\_\_ X semaine/mois/année (encercler l'unité)

ii. Procédure utilisée ? (Veuillez cocher tout ce qui s'applique)

Retrait des matières organiques

Eau froide sous pression

Eau chaude sous pression

Séchage (surface complètement sèche avant l'utilisation de désinfectant)

Savon dégraissant

Chaux

Produit désinfectant, cocher tous ceux que vous utilisez

Chlore

Aseptone-1 (phénol de synthèse)

Aseptone-5 (phénol de synthèse)

One-stroke environ (phénol de synthèse)

Lph (phénol de synthèse)

Prosovet (phénol de synthèse)

Phénosept (phénol de synthèse)

Phénovet (phénol de synthèse)

Aseptone-quat (ammonium quaternaire)

Quatsyl-d (ammonium quaternaire)

Proquat (ammonium quaternaire)

Coverage 256 (ammonium quaternaire)

Sprint (ammonium quaternaire)

Amino-germ (ammonium quaternaire)

Bioguard pfd-5 (ammonium quaternaire)

Concept plus (acides aminés amphotères)

Amfo (acides aminés amphotères)

Profilm (formaldéhyde)

Virkon (acide peroxygéné)

Vide sanitaire (retrait complet des animaux lors du nettoyage)

Autre, préciser \_\_\_\_\_

37. Au cours des 12 derniers mois, concernant **les parcs de lactation (ou d'élevage des agnelles avant sevrage si brebis laitières)** :

a) À quelle fréquence la litière a-t-elle été ajoutée, en moyenne?

\_\_\_\_\_ X jour/semaine/mois/année (encercler l'unité)

b) À quelle fréquence ont-ils été nettoyés (enlèvement du fumier)?

\_\_\_\_\_ X semaine/mois/année (encercler l'unité)

c) Ont-ils été lavés et désinfectés?

Non → passez à la question 38

Oui, veuillez préciser :

i. À quelle fréquence? \_\_\_\_\_ X semaine/mois/année (encercler l'unité)

ii. Procédure utilisée? (Veuillez cocher tout ce qui s'applique)

- Retrait des matières organiques
- Eau froide sous pression
- Eau chaude sous pression
- Séchage (surface complètement sèche avant l'utilisation de désinfectant)
- Savon dégraissant
- Chaux
- Produit désinfectant, cochez tous ceux que vous utilisez
  - Chlore
  - Aseptone-1 (phénol de synthèse)
  - Aseptone-5 (phénol de synthèse)
  - One-stroke environ (phénol de synthèse)
  - Lph (phénol de synthèse)
  - Prosovet (phénol de synthèse)
  - Phénosept (phénol de synthèse)
  - Phénovet (phénol de synthèse)
  - Aseptone-quat (ammonium quaternaire)
  - Quatsyl-d (ammonium quaternaire)
  - Proquat (ammonium quaternaire)
  - Coverage 256 (ammonium quaternaire)
  - Sprint (ammonium quaternaire)
  - Amino-germ (ammonium quaternaire)
  - Bioguard pfd-5 (ammonium quaternaire)
  - Concept plus (acides aminés amphotères)
  - Amfo (acides aminés amphotères)
  - Profilm (formaldéhyde)
  - Virkon (acide peroxygéné)
- Vide sanitaire (retrait complet des animaux lors du nettoyage)

Autre, préciser \_\_\_\_\_

38. Possédez-vous un ou des parcs individuels permettant d'isoler des animaux malades ?

Non → passez à la question 39

Oui

*Si oui, au cours des 12 derniers mois :*

a) À quelle fréquence ont-ils été nettoyés (enlèvement du fumier) ?

Après chaque quarantaine

À la même fréquence que les autres parcs du bâtiment

Aucun nettoyage

Autre, préciser \_\_\_\_\_

b) Ont-ils été lavés et désinfectés?

Oui, veuillez préciser :

i. À quelle fréquence? \_\_\_\_\_ X semaine/mois/année (encercler l'unité)

ii. Procédure utilisée? (Veuillez cocher tout ce qui s'applique)

Retrait des matières organiques et nettoyage au balai

Eau froide sous pression

Eau chaude sous pression

Séchage (surface complètement sèche avant l'utilisation de désinfectant)

Savon dégraissant

Chaux

Produit désinfectant, cocher tous ceux que vous utilisez

Chlore

Aseptone-1 (phénol de synthèse)

Aseptone-5 (phénol de synthèse)

One-stroke environ (phénol de synthèse)

Lph (phénol de synthèse)

Prosovet (phénol de synthèse)

Phénosept (phénol de synthèse)

Phénovet (phénol de synthèse)

Aseptone-quat (ammonium quaternaire)

Quatsyl-d (ammonium quaternaire)

Proquat (ammonium quaternaire)

Coverage 256 (ammonium quaternaire)

Sprint (ammonium quaternaire)

Amino-germ (ammonium quaternaire)

Bioguard pfd-5 (ammonium quaternaire)

Concept plus (acides aminés amphotères)

Amfo (acides aminés amphotères)

Profilm (formaldéhyde)

Virkon (acide peroxygéné)

Vide sanitaire (retrait complet des animaux lors du nettoyage)

Autre, préciser \_\_\_\_\_

Non

39. Est-ce que ces réponses concernant le nettoyage, lavage et désinfection s'appliquent également pour les 3 dernières années?

Oui



Non, préciser : \_\_\_\_\_

40. Au cours des 3 dernières années, avez-vous emprunté du matériel pour l'écurage ou le nettoyage (bobcats, brosse, machine à pression) provenant d'une autre ferme ou d'une compagnie externe?

Oui

*Préciser l'équipement emprunté*

Bobcat

Brosse

Machine à pression

Autre, préciser \_\_\_\_\_

Non

### Introduction et mouvements d'animaux

41. Au cours des 3 dernières années, combien d'animaux de remplacement avez-vous introduits dans votre troupeau ?

\_\_\_\_\_

*Veuillez remplir le tableau suivant en inscrivant le nombre d'animaux de chaque catégorie (type et provenance)*

		Provenance				
		Total	Directement d'un producteur	D'un encan ou d'un revendeur	Achat d'un troupeau complet	Acheté lors d'une exposition
Type	Bélier(s) < 1 an					
	Bélier(s) ≥ 1 an					
	Agnelles < 1 an					
	Agnelles ou brebis ≥ 1 an					

42. Au cours des 3 dernières années, de combien de troupeaux différents provenaient les animaux introduits ?

\_\_\_\_\_

43. Au cours des 3 dernières années, lors d'achat d'animaux,  
*Avez-vous demandé au vendeur si le troupeau d'origine était positif ou avait déjà eu des cas diagnostiqués de:*

- a) Paratuberculose?
  - Oui
  - Parfois
  - Non
- b) Maedi-visna?
  - Oui
  - Parfois
  - Non
- c) Autres maladies
  - Oui, précisez lesquelles : \_\_\_\_\_
  - Parfois, précisez lesquelles : \_\_\_\_\_
  - Non

*Si le troupeau était positif à une maladie, qu'avez-vous fait?*

- N/A
- a) Paratuberculose?
  - J'ai quand même acheté l'animal
  - J'ai consulté mon vétérinaire avant de conclure l'achat
  - J'ai refusé l'achat
  - Autre, précisez : \_\_\_\_\_
- b) Maedi-visna?
  - J'ai quand même acheté l'animal
  - J'ai consulté mon vétérinaire avant de conclure l'achat
  - J'ai refusé l'achat
  - Autre, précisez : \_\_\_\_\_
- c) Autres maladies, précisez : \_\_\_\_\_
  - J'ai quand même acheté l'animal
  - J'ai consulté mon vétérinaire avant de conclure l'achat
  - J'ai refusé l'achat
  - Autre, précisez : \_\_\_\_\_

44. Au cours des 3 dernières années, certains de vos animaux ont-ils quitté temporairement votre troupeau (exposition agricole, fermette de Pâques, prêt ...) pour y revenir ensuite?

- Oui
  - a) Combien d'animaux? \_\_\_\_\_
  - b) Pour quelle(s) raison(s)?  
\_\_\_\_\_
  - c) Pendant combien de temps ont-ils été partis? \_\_\_\_\_
- Non

45. Au cours des 3 dernières années, avez-vous emprunté temporairement un animal d'un autre troupeau, qui est ensuite retourné à son troupeau d'origine?

Oui

a) Combien d'animaux? \_\_\_\_\_

b) Pour quelle(s) raison(s)?  
\_\_\_\_\_

c) Pendant combien de temps ont-ils été empruntés? \_\_\_\_\_

Non

46. Au cours des 12 derniers mois, comment ont été transportés les animaux entrant dans votre ferme (animaux achetés ou retour d'un animal du troupeau)?

Dans mon camion ou remorque personnel

Dans le camion ou remorque du vendeur/emprunteur

Dans un camion ou remorque d'une compagnie offrant le service de transport

Autre, précisez : \_\_\_\_\_

### Mortalité et réforme

47. Combien de brebis adultes de votre troupeau ont été **réformées (envoyées à l'abattoir ou à l'encan)** au cours des 3 dernières années? Veuillez préciser le nombre de brebis ayant été réformées pour maigreur (inscrire « ? » si la réponse est inconnue).

Depuis 2021 : \_\_\_\_\_ brebis réformées, incluant \_\_\_\_\_ en raison de maigreur

2020 : \_\_\_\_\_ brebis réformées, incluant \_\_\_\_\_ en raison de maigreur

2019 : \_\_\_\_\_ brebis réformées, incluant \_\_\_\_\_ en raison de maigreur

2018 : \_\_\_\_\_ brebis réformées, incluant \_\_\_\_\_ en raison de maigreur

2017 : \_\_\_\_\_ brebis réformées, incluant \_\_\_\_\_ en raison de maigreur

48. Combien de brebis adultes de votre troupeau sont **mortes à la ferme (naturellement ou euthanasiées)** au cours des 3 dernières années? Veuillez préciser le nombre de brebis qui étaient anormalement maigres (inscrire « ? » si la réponse est inconnue).

Depuis 2021 : \_\_\_\_\_ brebis mortes, incluant \_\_\_\_\_ brebis maigres

2020 : \_\_\_\_\_ brebis mortes, incluant \_\_\_\_\_ brebis maigres

2019 : \_\_\_\_\_ brebis mortes, incluant \_\_\_\_\_ brebis maigres

2018 : \_\_\_\_\_ brebis mortes, incluant \_\_\_\_\_ brebis maigres

2017 : \_\_\_\_\_ brebis mortes, incluant \_\_\_\_\_ brebis maigres

## Gestion des données du troupeau

49. Au cours des 3 dernières années, avez-vous noté les informations suivantes concernant votre troupeau?

Données	Registre		Format du registre	Fréquence de compilation des données
	Oui	Non		
De production (dates d'agnelage, nombre d'agneaux, poids, etc.)			<input type="checkbox"/> Papier <input type="checkbox"/> Électronique maison <input type="checkbox"/> Logiciel spécialisé : _____ <input type="checkbox"/> Autre : _____	<input type="checkbox"/> Toujours <input type="checkbox"/> Parfois <input type="checkbox"/> Rarement
De réforme			<input type="checkbox"/> Papier <input type="checkbox"/> Électronique maison <input type="checkbox"/> Logiciel spécialisé : _____ <input type="checkbox"/> Autre : _____	<input type="checkbox"/> Toujours <input type="checkbox"/> Parfois <input type="checkbox"/> Rarement
De santé (signes de maladie, diagnostics vétérinaires, mortalité, etc.)			<input type="checkbox"/> Papier <input type="checkbox"/> Électronique maison <input type="checkbox"/> Logiciel spécialisé : _____ <input type="checkbox"/> Autre : _____	<input type="checkbox"/> Toujours <input type="checkbox"/> Parfois <input type="checkbox"/> Rarement
Traitements			<input type="checkbox"/> Papier <input type="checkbox"/> Électronique maison <input type="checkbox"/> Logiciel spécialisé : _____ <input type="checkbox"/> Autre : _____	<input type="checkbox"/> Toujours <input type="checkbox"/> Parfois <input type="checkbox"/> Rarement

## Maedi-visna et son contrôle

50. Avez-vous déjà entendu parler du maedi-visna?

- Oui  
 Non → Passez à la prochaine section « Paratuberculose et son contrôle »

51. Participez-vous au *Programme québécois d'assainissement des troupeaux pour le Maedi Visna*?

- Oui
  - a) Depuis quand?  
 \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_(mois/année)
  - b) Quel est votre statut?
    - En processus d'assainissement
    - Argent
    - Or
    - Diamant
- Non

## Paratuberculose et son contrôle

52. Avez-vous déjà entendu parler de la paratuberculose?

- Oui
- Non → Passez à la question 57.

53. Comment évaluez-vous vos connaissances par rapport à la paratuberculose?

- Je ne connais pas cette maladie
- J'ai déjà entendu le nom
- J'ai les connaissances de base
- J'ai une bonne connaissance de la maladie

54. Y a-t-il déjà eu un diagnostic vétérinaire de paratuberculose posé dans votre troupeau?

- Oui
  - a) En quelle année le premier cas a-t-il été diagnostiqué? \_\_\_\_\_
  - b) Comment le ou les cas ont-ils été diagnostiqués (cochez tout ce qui s'applique)
    - Signes cliniques
    - Tests de laboratoire chez un animal vivant
    - Nécropsie
    - Inconnu
  - c) D'où provenait l'animal?
    - Né à la ferme
    - Acheté
    - Autre, préciser : \_\_\_\_\_
- Non

55. Y a-t-il eu un diagnostic de paratuberculose chez d'autres espèces de ruminants gardées dans votre ferme?

- Oui, chez quelle espèce? \_\_\_\_\_
- Non

56. Est-ce que vous suspectez la paratuberculose d'être actuellement présente dans votre troupeau?

- Oui
  - Pourquoi?  
\_\_\_\_\_
  - Quels sont ses impacts négatifs pour votre troupeau, à votre avis?  
\_\_\_\_\_
- Non

57. Quel est votre intérêt pour le développement d'un éventuel programme volontaire de contrôle de la paratuberculose ovine?

- J'ai de l'intérêt
- Je n'ai pas d'intérêt
- Je connais trop peu la maladie et ses impacts pour avoir une opinion
- Je connais la maladie et ses impacts, mais je n'ai pas d'opinion
- Autre, préciser : \_\_\_\_\_

**Préambule à lire avant de répondre aux questions 57 & 58 :** Le contrôle de la paratuberculose dans les troupeaux ovins pose plusieurs défis liés à la difficulté à détecter l'infection avec les tests disponibles, au développement lent de la maladie et à la capacité de la bactérie de survivre dans l'environnement. Néanmoins, certains pays ont réussi à réduire de façon très significative les pertes causées par cette maladie par l'instauration de plusieurs mesures de contrôle. Nous désirons connaître votre opinion sur différentes mesures afin de pouvoir orienter nos prochaines actions.

58. La vaccination permet de réduire le nombre d'animaux infectés dans un troupeau, sans toutefois l'éliminer du troupeau. Dans les pays où la vaccination est utilisée, on rapporte que moins de 1% des animaux de troupeaux atteints développeront la paratuberculose.

a) Pour chacun des énoncés suivants qui pourraient être des conditions ou des conséquences d'un programme de vaccination, veuillez **indiquer si vous les considérez comme acceptables**.

	Acceptable	Partagé	Non acceptable
Un registre de tous les animaux vaccinés et de leurs mouvements est exigé.			
L'exportation hors-Canada des animaux provenant d'une ferme pratiquant la vaccination peut être restreinte.			
La vente de semence et d'embryons des animaux provenant d'une ferme pratiquant la vaccination peut être restreinte			
Les animaux vaccinés développent souvent des nodules post-vaccinaux (cou). Ces nodules peuvent parfois entraîner des condamnations partielles à l'abattoir.			
L'injection accidentelle du vaccin chez l'humain peut causer des lésions nécessitant une consultation médicale.			

b) Considérant l'ensemble des énoncés précédents, seriez-vous globalement favorable à utiliser la vaccination dans votre troupeau?

- Oui
- Peut-être
- Non, pourquoi : \_\_\_\_\_

59. L'amélioration de la biosécurité vise à réduire le risque d'introduction et de transmission de l'infection dans le troupeau. Une visite vétérinaire est effectuée périodiquement pour évaluer les pratiques de régie et formuler des recommandations personnalisées. Périodiquement, des tests sont réalisés pour monitorer le niveau d'infection dans le troupeau.

Globalement, seriez-vous favorable à utiliser cette stratégie dans votre troupeau?

- Oui
- Peut-être
- Non, pourquoi : \_\_\_\_\_

## Informations personnelles



**Les questions suivantes doivent être remplies par la personne responsable des décisions de régie d'élevage.**

60. À quel groupe d'âge appartenez-vous?

- ≤ 30 ans
- Entre 31 et 40 ans
- Entre 41 et 50 ans
- Entre 51 et 60 ans
- ≥ 60 ans

61. Combien d'années d'expérience avez-vous dans l'industrie ovine (ex. producteur, tondeur, employé de ferme ovine, etc.)?

- ≤ 5 ans
- 6-10 ans
- 11-20 ans
- 21-30 ans
- > 30 ans

62. Acceptez-vous d'être recontacté par notre équipe pour une prochaine étude portant sur l'impact de la paratuberculose sur la productivité et/ou l'efficacité de mesures de contrôle ciblées?

- Oui
- Non

63. Acceptez-vous que les échantillons et données recueillies dans le présent projet soient utilisés pour de futurs projets de recherche réalisés à la Faculté de médecine vétérinaire sur la santé ovine? Toutes données nominatives permettant de vous identifier seront gardées strictement confidentielles.

- Oui
- Non



# OVINE PARATUBERCULOSIS PROJECT (JOHNE'S DISEASE)

Questionnaire to complete on site

***All data will be kept confidential. Only the faculty of veterinary medicine research team will have access to nominative data.***

Completed by: \_\_\_\_\_

Completed on: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_  
*day month year*

## General information

Farm name: \_\_\_\_\_

Owner's name: \_\_\_\_\_

Phone number: \_\_\_\_\_ and/or email : \_\_\_\_\_

Farm adress: \_\_\_\_\_  
*Number road/route/street*

\_\_\_\_\_ *City Postal code*

Postal adress (if different): \_\_\_\_\_  
*Number road/route/street*

\_\_\_\_\_ *City Postal code*

1. For how long, in years, have you had your flock?

\_\_\_\_\_

2. What are your herd's primary activities? Please tick all that applies.

- Selling of reproductive livestock
- Selling of light-weight lamb (19 to 36 kg)
- Selling of heavy lamb (>36kg)
- Agritourism
- Selling of milk
- Transformation – Pasteurized milk products
- Transformation – Raw-milk cheese
- Other (please specify): \_\_\_\_\_

**Seulement  
pour élevage  
laitier**

3. Is your lamb (and/or milk) production certified organic?

- Yes
- No

4. Are you currently using milk testing services?

- Yes  
*If yes, which one* \_\_\_\_\_  
*At which frequency?* \_\_\_\_\_
- No

5. Are you receiving milk from other farms with the objective of selling it or transforming it?

- Yes
  - Cow
  - Ewe
  - Goat
- No

**Seulement  
pour élevage  
laitier**

**Seulement  
pour élevage  
laitier**

6. What is the number of sheep on...

	January 1 <sup>st</sup> 2018	January 1 <sup>st</sup> 2019	January 1 <sup>st</sup> 2020	January 1 <sup>st</sup> 2021
Ewes (≥1 lambing)				
Replacement ewe-lambs (between weaning and first lambing)				
Rams used for reproductive purposes				

7. In the past 12 months, have you had year-round lambing (> 4 lambing groups)?

Yes

No → please complete the following table for groups in the past year:

Number of ewes having lambed	Start of lambing	End of lambing
	___ / ___ month year	___ / ___ month year
	___ / ___ month year	___ / ___ month year
	___ / ___ month year	___ / ___ month year
	___ / ___ month year	___ / ___ month year

8. For the next 5 years, are your planning on...

- Increasing your flock size
- Keeping stable
- Decreasing your flock size
- Stop production

## Water sources

9. During the past 12 months, what were the main water sources used for your animals? Please tick all that apply.

- Rainwater
- Surface water (Pond, stream, lake, river, etc.)
- Private surface well (<30 feet deep)
- Artesian well (100 feet deep)
- Municipal water
- Other, please specify: \_\_\_\_\_

10. Does the previous answer apply for the past 3 years?

- Yes
- No, please specify : \_\_\_\_\_

## Grazing

11. During the 12 months, did your animals have outside access? Please tick all that apply.

- No
- Yes, usage of pasture in my feeding plan

*If yes, for what category?*

- Ewe in lactation
- Dry ewe or in gestation
- Rams
- Pregnant ewe lambs
- Lamb

- Yes, used for exercise

*If yes, for what category?*

- Ewe in lactation
- Dry ewe or in gestation
- Rams
- Pregnant ewe lambs
- Lamb

12. Do the previous answers apply for the past 3 years?

- Yes
- No, please specify : \_\_\_\_\_

**Potential contacts with other animals**

13. Did you ever keep other ruminants on your farm?

No

Yes, please complete the following table

Species	Period when this type of animal was present (check all that apply)	Number of animals (on average for the last period)	Shared building with ewes and/or ewe lambs?	Shared pasture with ewes and/or ewe lambs?
Goat	<input type="checkbox"/> Currently <input type="checkbox"/> Last 1-3 years <input type="checkbox"/> >3 ans, specify last year: _____		<input type="checkbox"/> Yes, ewe lambs <input type="checkbox"/> Yes, ewes <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes, ewe lambs <input type="checkbox"/> Yes, ewes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No grazing
Dairy cattle	<input type="checkbox"/> Currently <input type="checkbox"/> Last 1-3 years <input type="checkbox"/> >3 ans, specify last year: _____		<input type="checkbox"/> Yes, ewe lambs <input type="checkbox"/> Yes, ewes <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes, ewe lambs <input type="checkbox"/> Yes, ewes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No grazing
Beef cattle	<input type="checkbox"/> Currently <input type="checkbox"/> Last 1-3 years <input type="checkbox"/> >3 ans, specify last year: _____		<input type="checkbox"/> Yes, ewe lambs <input type="checkbox"/> Yes, ewes <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes, ewe lambs <input type="checkbox"/> Yes, ewes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No grazing
Farm deer	<input type="checkbox"/> Currently <input type="checkbox"/> Last 1-3 years <input type="checkbox"/> >3 ans, specify last year: _____		<input type="checkbox"/> Yes, ewe lambs <input type="checkbox"/> Yes, ewes <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes, ewe lambs <input type="checkbox"/> Yes, ewes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No grazing
Other ruminant (lama, alpaca, ...), specify : _____	<input type="checkbox"/> Currently <input type="checkbox"/> Last 1-3 years <input type="checkbox"/> >3 ans, specify last year: _____		<input type="checkbox"/> Yes, ewe lambs <input type="checkbox"/> Yes, ewes <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes, ewe lambs <input type="checkbox"/> Yes, ewes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No grazing

**Information on ewe-lamb rearing management**

14. In the past 12 months, did you produce your own replacement ewe-lamb?

- Yes, 100%
- Partially, specify %: \_\_\_\_\_
- No → please go to question 22

15. In the past 12 months, where did your ewes lamb? If there are several answers, specify the % of ewes that birthed in each type of environment.

- Individual lambing box  
% ewes: \_\_\_\_\_
- Group pens  
% ewes: \_\_\_\_\_  
On average, how many animals are present in the group pen during lambing? \_\_\_\_\_
- Other, specify: \_\_\_\_\_  
% ewes : \_\_\_\_\_

16. In the past 12 months, among **all replacement animals born on the farm**, please specify:

- d) What percentage was born when a person in charge of the animals was present in the sheepfold?  
\_\_\_\_\_ %
- e) Of these, please indicate the % of those who were:
  - v. Removed immediately after lambing and put in a separate room? \_\_\_\_ %
  - vi. Left with their mother for a few minutes, but removed before the first feed? \_\_\_\_ %
  - vii. Removed after suckling at least once? \_\_\_\_ %  
→ Average time spent with the mother: \_\_\_\_\_ (minutes/ hours/ days)
  - viii. Left for several weeks with their mother? \_\_\_\_ %
- f) For replacement animals born when no one was present in the sheep pen, how long did they stay at most with their mothers?  
\_\_\_\_\_ (hours/ days/weeks) (circle)

**Seulement  
pour élevage  
laitier**

17. In the past 12 months, which criteria do you use to form the following pens? Please check all that apply.

c) Lambing pens?

- Lambing date
- Age of ewes, specify: \_\_\_\_\_
- Body condition scoring, specify: \_\_\_\_\_
- Litter size, specify: \_\_\_\_\_
- State of health, specify: \_\_\_\_\_
- Other, specify : \_\_\_\_\_

d) Lactation pens?

- Lambing date
- Age of ewes, specify: \_\_\_\_\_
- Body condition scoring, specify: \_\_\_\_\_
- Litter size, specify: \_\_\_\_\_
- State of health, specify: \_\_\_\_\_
- Other, specify : \_\_\_\_\_

18. Do these responses on lambing management also apply to the last three years?

- Yes
- No, specify: \_\_\_\_\_

19. On average, how many ewes are present in lactation pens?

\_\_\_\_\_

20. On average, how many ewe-lambs are present in post-weaning pens?

\_\_\_\_\_

21. Do these answers also apply for the last 3 years?

- Yes
- No, specify: \_\_\_\_\_

22. In the past 12 months, where were the replacement ewe lambs kept?

a) Before weaning:

With their mother in lactation pens ( \_\_\_%)

Removed from their mother around birth and placed in...  
(specify the % for each)

v. Pens with no possible contact with adults in a building shared with adults ( \_\_\_%)

vi. Pens with possible contacts with adults in a building shared with adults ( \_\_\_%)

vii. Separate building from the adults ( \_\_\_%)

viii. Other, specify: \_\_\_\_\_ ( \_\_\_%)

b) Between weaning and breeding (if more than one answer, indicate the % for each)?

In the same building as the adults ( \_\_\_%)

In a pen with no possible contact with adults ( \_\_\_%)

In a pen with possible contacts with ( \_\_\_%)

Separate building from the adults ( \_\_\_%)

Other, specify : \_\_\_\_\_ ( \_\_\_%)

23. Do these answers also apply for the last 3 years?

Yes

No, specify: \_\_\_\_\_

24. In the past 12 months, which source(s) of colostrum did you use for your replacement ewe lambs? If more than one source is used, please specify the % of lambs fed from each source.

( \_\_\_%) Fresh colostrum from their mother

( \_\_\_%) Fresh colostrum from another mother

( \_\_\_%) Fresh colostrum pooled from multiple mothers

( \_\_\_%) Thermised colostrum pooled from herd

( \_\_\_%) Cow colostrum, not thermised

( \_\_\_%) Cow colostrum, thermised

( \_\_\_%) Colostrum substitute

( \_\_\_%) Other, specify: \_\_\_\_\_

Seulement  
pour élevage  
laitier



Seulement  
pour  
élevage  
viande

25. In the past 12 months, what percentage of lamb were put in **artificial nursing**? If more than one source were used, please specify the % of lambs fed with each source.

(\_\_\_\_%) lambs put in artificial nursing

*Which type of colostrum were given?*

(\_\_\_\_%) Fresh colostrum from another mother

(\_\_\_\_%) Fresh colostrum pooled from multiple mothers

(\_\_\_\_%) Thermised colostrum pooled from herd

(\_\_\_\_%) Cow colostrum, not thermised

(\_\_\_\_%) Cow colostrum, thermised

(\_\_\_\_%) Colostrum substitute

(\_\_\_\_%) Other, specify: \_\_\_\_\_

26. In the past 12 months, have you had lambs sucked milk from other mothers (stealing lamb)?

Yes

*What percentage of the lambs were stealing lambs? \_\_\_\_\_%*

No

Don't know

27. Do these answers also apply for the last 3 years?

Yes

No, specify: \_\_\_\_\_

28. Do you thermify the replacement colostrum before administering it? Please specify:

Yes

a) Commercial name of thermiser (if known): \_\_\_\_\_

b) Duration of thermisation? \_\_\_\_\_

g) Temperature of the thermisation? \_\_\_\_\_

h) Is the temperature electronically controlled?  Yes  No

i) Is the milk stirred during thermisation?  Yes  No

j) How many years have you been using this technique? \_\_\_\_\_

No

29. In the last 12 months, what was the average weaning age of lambs?

\_\_\_\_\_

30. Do these answers also apply for the last 3 years?

Yes

No, specify: \_\_\_\_\_

**Manure Management**

31. What type of flooring is used in your barn? Please check all that apply.

Floor type	Lactating ewes	Replacement animals
Concrete	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Slatted floor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dirt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Other, specify: _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

32. What type of bedding is used in your barn? Please check all that apply.

Type of bedding	Lactating ewes	Replacement animals
Peat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Straw	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Refusal of feeder	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sawdust	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sand	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Other, specify : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

33. In the past 3 years, has sheep, goat or cattle manure been spread to...?

a) A pasture or exercise yard used by your herd?

- Yes             No

*If yes,*

iv. Do you use manure that comes from another farm?

- Yes  
 Cow  
 Ewe  
 Goat  
 Pig  
 Chicken  
 Other, specify \_\_\_\_\_  
 No

v. How long, at a minimum, was the time from the last time the manure was removed from the building to spreading (indicate "zero" if spreading was directly after manure was removed from the building)?

\_\_\_\_\_ (days/week/month/year) (circle)

vi. How long, at a minimum, was the time between spreading and animal access to the site?

\_\_\_\_\_ (days/week/month/year) (circle)

b) A field of hay harvested for your flock?

- Yes             No             Doesn't know

*If yes,*

iv. Do you use manure that comes from another farm?

- Yes  
 Cow  
 Ewe  
 Goat  
 Pig  
 Chicken  
 Other, specify \_\_\_\_\_  
 No

v. How long, at a minimum, was the time from the last time the manure was removed from the building to application (indicate "zero" if application was directly after manure was removed from the building)?

\_\_\_\_\_ (days/week/month/year) (circle)

vii. How long, at a minimum, was the time between application and the next hay cut?

\_\_\_\_\_ (days/week/month/year) (circle)

34. In the past 3 years, have you borrowed spreading equipment from another farm?

Yes  No

### Cleaning and disinfection

35. In the past 12 months, regarding **watering bowls** in your barn:

b) How often were they cleaned?

\_\_\_\_\_ X day/week/month/year (circle)

c) Product and procedure used (please check all that applies)

Removal of organic matter (hay, straw, faeces, etc.)

Washing with water

Use of soap or degreaser

Brushing

Use of disinfectant: \_\_\_\_\_

Other: \_\_\_\_\_

36. In the past 12 months, regarding **lambing pens and individual lambing boxes**:

d) How often was bedding added, on average?

\_\_\_\_\_ X days/week/month/year (circle)

e) At which frequency was it cleaned (removal of manure)?

\_\_\_\_\_ X week/month/year (circle)

f) Were they cleaned and disinfected?

No → Go to question 37

Yes, please specify :

iii. At which frequency? \_\_\_\_\_ X week/month/year (circle)

iv. Procedure used (Please tick all that applies)

- Removal of organic material (manure)
- Pressure cold water wash
- Pressure hot water wash
- Drying (Completely dry surface before disinfection application)
- Degreasing soap
- Lime
- Disinfectant, tick all that applies
  - Chlore
  - Aseptone-1 (synthetic phenol)
  - Aseptone-5 (synthetic phenol)
  - One-stroke environ (synthetic phenol)
  - Lph (synthetic phenol)
  - Prosovet (synthetic phenol)
  - Phénosept (synthetic phenol)
  - Phénovet (synthetic phenol)
  - Aseptone-quat (ammonium quaternaire)
  - Quatsyl-d (ammonium quaternaire)
  - Proquat (ammonium quaternaire)
  - Coverage 256 (ammonium quaternaire)
  - Sprint (ammonium quaternaire)
  - Amino-germ (ammonium quaternaire)
  - Bioguard pfd-5 (ammonium quaternaire)
  - Concept plus (acides aminés amphotères)
  - Amfo (acides aminés amphotères)
  - Profilm (formaldéhyde)
  - Virkon (peroxygenated acid)
- Sanitary emptying (Complete removal of animals before cleaning)
- Other, specify \_\_\_\_\_

**37. In the past 12 months, regarding lactation pens (or raising pens before weaning if dairy ewes)**

g) How often was bedding added, on average?

\_\_\_\_\_ X days/week/month/year (circle)

h) At which frequency was it cleaned (removal of manure)?

\_\_\_\_\_ X week/month/year (circle)

i) Were they cleaned and disinfected?

No → Go to question 38

Yes, please specify:

v. At which frequency? \_\_\_\_\_ X week/month/year (circle)

vi. Procedure used (Please tick all that applies)

Removal of organic material (manure)

Pressure cold water wash

Pressure hot water wash

Drying (Completely dry surface before disinfection application)

Degreasing soap

Lime

Disinfectant, tick all that applies

Chlore

Aseptone-1 (synthetic phenol)

Aseptone-5 (synthetic phenol)

One-stroke environ (synthetic phenol)

Lph (synthetic phenol)

Prosovet (synthetic phenol)

Phénosept (synthetic phenol)

Phénovet (synthetic phenol)

Aseptone-quat (ammonium quaternaire)

Quatsyl-d (ammonium quaternaire)

Proquat (ammonium quaternaire)

Coverage 256 (ammonium quaternaire)

Sprint (ammonium quaternaire)

Amino-germ (ammonium quaternaire)

Bioguard pfd-5 (ammonium quaternaire)

Concept plus (acides aminés amphotères)

Amfo (acides aminés amphotères)

Profilm (formaldéhyde)

Virkon (peroxygenated acid)

Sanitary emptying (Complete removal of animals before cleaning)

Other, specify \_\_\_\_\_

38. Do you have individual jugs designated for quarantining sick animals?

No → Go to question 39

Yes

*If yes, in the past 12 months:*

c) At which frequency were they cleaned (removal of manure)?

After each quarantine

At the same frequency than the other pens

No cleaning

Other, specify \_\_\_\_\_

d) Were they cleaned and disinfected?

Yes, please specify:

iii. At which frequency? \_\_\_\_\_ X week/month/year (circle)

iv. Procedure used? (Please tick all that applies)

Removal of organic material (manure)

Pressure cold water wash

Pressure hot water wash

Drying (Completely dry surface before disinfection application)

Degreasing soap

Lime

Disinfectant, tick all that applies

Chlore

Aseptone-1 (synthetic phenol)

Aseptone-5 (synthetic phenol)

One-stroke environ (synthetic phenol)

Lph (synthetic phenol)

Prosovet (synthetic phenol)

Phénosept (synthetic phenol)

Phénovet (synthetic phenol)

Aseptone-quat (ammonium quaternaire)

Quatsyl-d (ammonium quaternaire)

Proquat (ammonium quaternaire)

Coverage 256 (ammonium quaternaire)

Sprint (ammonium quaternaire)

Amino-germ (ammonium quaternaire)

Bioguard pfd-5 (ammonium quaternaire)

Concept plus (acides aminés amphotères)

Amfo (acides aminés amphotères)

Profilm (formaldéhyde)

Virkon (peroxygenated acid)

Sanitary emptying (Complete removal of animals before cleaning)

Other, specify \_\_\_\_\_

No

39. Do the answers regarding cleaning, washing and disinfection also apply for the past 3 years?

Yes

No, specify: \_\_\_\_\_

40. In the past 3 years, did you use material for cleaning that came from other farms or an external company (bobcats, brush, pressure washer)?

Yes

*Specify equipment borrowed*

Bobcat

Brush

Pressure washer

Other, specify \_\_\_\_\_

No

**Introduction and animal movements**

41. In the past 3 years, how many replacement animals were introduced in your flock?

\_\_\_\_\_

*Please complete the following table with the number of animals in each category (type and origin).*

		Origin					
		Total	Directly from a producer	From an auction or reseller	Purchase of a complete herd	Purchased at an exhibition	Other (please specify origin)
Type	Rams < 1 year						
	Rams ≥ 1 year						
	Ewe-lambs < 1 year						
	Ewe or Ewe-lambs ≥ 1 year						

42. In the past 3 years, from how many different flocks have you purchased animals?

\_\_\_\_\_



43. In the past 3 years, when purchasing animals,

*Did you ask the seller if the herd of origin was positive or had any previous diagnosed cases of:*

d) Paratuberculosis / Johne's disease?

- Yes
- Sometimes
- No

e) Maedi-visna?

- Yes
- Sometimes
- No

f) Other diseases

- Yes, specify which: \_\_\_\_\_
- Sometimes, specify which: \_\_\_\_\_
- Non

*If the herd tested positive for a disease, what did you do?*

N/A

a) Paratuberculosis / Johne's disease?

- I still bought the animal
- I consulted my veterinarian before making the purchase.
- I turned down the purchase
- Other, specify: \_\_\_\_\_

b) Maedi-visna?

- I still bought the animal
- I consulted my veterinarian before making the purchase.
- I turned down the purchase
- Other, specify: \_\_\_\_\_

c) Other diseases, specify: \_\_\_\_\_

- I still bought the animal
- I consulted my veterinarian before making the purchase.
- I turned down the purchase
- Other, specify: \_\_\_\_\_

44. In the last 3 years, have any of your animals temporarily left your herd (agricultural show, Easter farm, loan ...) and then returned?

Yes

d) How many? \_\_\_\_\_

e) What was the reason?

\_\_\_\_\_

f) For how long were they gone? \_\_\_\_\_

No

45. In the past 3 years, have you temporarily borrowed an animal from another herd and then returned to its herd of origin?

Yes

a) How many? \_\_\_\_\_

b) What was the reason?  
\_\_\_\_\_

c) For how long were they gone? \_\_\_\_\_

No

46. In the past 12 months, how were animals entering your farm (purchased animals or returning an animal from the herd) transported?

In my personal truck or trailer

In the seller's truck or trailer

In the truck or trailer or an external company

Other, specify: \_\_\_\_\_

### Mortality and Culling

47. How many adult ewes in your flock have been **culled (sent to slaughterhouse or auction for culling)** in the last three years? Please specify the number of ewes culled for leanness (enter "?" if unknown).

Since 2021: \_\_\_\_\_ ewes culled, including \_\_\_\_\_ for leanness

2020: \_\_\_\_\_ ewes culled, including \_\_\_\_\_ for leanness

2019: \_\_\_\_\_ ewes culled, including \_\_\_\_\_ for leanness

2018: \_\_\_\_\_ ewes culled, including \_\_\_\_\_ for leanness

48. How many adult ewes in your flock have **died on the farm (naturally or euthanized)** in the last three years? Please specify the number of ewes that were abnormally thin (write "?" if unknown).

Since 2021: \_\_\_\_\_ dead ewes, including \_\_\_\_\_ lean ewes

2020: \_\_\_\_\_ dead ewes, including \_\_\_\_\_ lean ewes

2019: \_\_\_\_\_ dead ewes, including \_\_\_\_\_ lean ewes

2018: \_\_\_\_\_ dead ewes, including \_\_\_\_\_ lean ewes

## Herd data management

49. In the last 3 years, have you noted the following information about your herd?

Data	Registry		Format of registry	Frequency of data compilation
	Yes	No		
Production (Lambing dates, number of lambs, weight, etc.)			<input type="checkbox"/> Paper <input type="checkbox"/> Home-made electronic <input type="checkbox"/> Specialised software: _____ <input type="checkbox"/> Other: _____	<input type="checkbox"/> Always <input type="checkbox"/> Sometimes <input type="checkbox"/> Rarely
Culling			<input type="checkbox"/> Paper <input type="checkbox"/> Home-made electronic <input type="checkbox"/> Specialised software: _____ <input type="checkbox"/> Other: _____	<input type="checkbox"/> Always <input type="checkbox"/> Sometimes <input type="checkbox"/> Rarely
Health (Signs of illness, veterinary diagnoses, mortality, etc.)			<input type="checkbox"/> Paper <input type="checkbox"/> Home-made electronic <input type="checkbox"/> Specialised software: _____ <input type="checkbox"/> Other: _____	<input type="checkbox"/> Always <input type="checkbox"/> Sometimes <input type="checkbox"/> Rarely
Treatments			<input type="checkbox"/> Paper <input type="checkbox"/> Home-made electronic <input type="checkbox"/> Specialised software: _____ <input type="checkbox"/> Other: _____	<input type="checkbox"/> Always <input type="checkbox"/> Sometimes <input type="checkbox"/> Rarely

## Maedi-visna and its Control

50. Have you ever heard of maedi-visna?

- Yes  
 No → Go to the next section "Paratuberculosis and its Control"

51. Are you enrolled in the *Programme québécois d'assainissement des troupeaux pour le Maedi Visna*?

- Yes  
 c) Since when?  
    \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ (month/year)
- d) What status are you holding?
  - In progress
  - Silver
  - Gold
  - Diamond
- No

## Paratuberculosis and its Control

52. Have you ever heard of Paratuberculosis (Johne's disease)?

- Yes
- No → Go to question 57

53. How would you rate your knowledge of Johne's disease?

- I do not know the disease
- I've heard the name
- I have basic knowledge
- I have a good knowledge

54. Has there ever been a veterinary diagnosis of Johne's disease in your herd?

- Yes

d) In what year was the first case diagnosed? \_\_\_\_\_

e) How was the case(s) diagnosed (check all that apply)

- Clinical signs
- Laboratory test on a living animal
- Necropsy
- Unknown

f) Where did the animal come from?

- Born on the farm
- Bought
- Other, specify : \_\_\_\_\_

- No

55. Has there been a diagnosis of Johne's disease in other ruminant species kept on your farm?

- Yes, specify species? \_\_\_\_\_
- No

56. Do you suspect Johne's Disease to be currently present in your herd?

- Yes

Why?

\_\_\_\_\_

What do you think are its possible negative impacts?

\_\_\_\_\_

- No

57. What is your interest in the development of a possible voluntary Johne's disease control programme?

- I am interested
- I am not interested
- I don't know enough about the disease and its impact to have an opinion
- I know about the disease, but I don't have an opinion
- Other, specify : \_\_\_\_\_

**Preamble to be read before answering questions 57 & 58 :** The control of Johne's disease in sheep flocks poses several challenges related to difficulty of detecting infection with available tests, the slow development of the disease and the ability of the bacteria to survive in the environment. Nevertheless, some countries have been able to significantly reduce the losses caused by this disease through the implementation of several control measures. We would like to hear your opinion on various measures so that we can guide our next actions.

58. Vaccination reduces the number of infected animals in a herd but does not eliminate them from the herd. In countries where vaccination is used, it is reported that less than 1% of the animals in affected herds will develop Johne's disease.

c) For each of the following statements that could be conditions or consequences of a vaccination program, please indicate whether you consider them acceptable.

	Acceptable	Split	Not acceptable
A record of all vaccinated animals and their movements is required.			
The export from Canada of animals from a vaccinated farm may be restricted.			
The sale of semen and embryos of animals from a vaccinating farm may be restricted.			
Vaccinated animals often develop post-vaccine nodules (neck). These nodules can sometimes lead to partial condemnation at the slaughterhouse.			
Accidental injection of the vaccine in humans may cause injury requiring medical attention.			

d) Considering all of the above statements, would you be generally in favour of using vaccination in your flock?

- Yes
- Maybe
- No, why : \_\_\_\_\_

59. Improved biosecurity aims to reduce the risk of introduction and transmission of infection into the herd. A veterinary visit is carried out periodically to evaluate management practices and make individualized recommendations. Periodically, tests are carried out to monitor the level of infection in the herd.

Overall, would you be in favour of using this strategy in your herd?

- Yes
- Maybe
- No, why: \_\_\_\_\_

## Personal Information



**The person responsible for breeding management decisions must complete the following questions**

60. To which age group do you belong?

- ≤ 30 years
- Between 31 and 40 years
- Between 41 and 50 years
- Between 51 and 60 years
- ≥ 60 years

61. How many years of experience do you have in the sheep industry (e.g. producer, shearer, sheep farm worker, etc.)?

- ≤ 5 years
- 6-10 years
- 11-20 years
- 21-30 years
- > 30 years

62. Would you agree to be contacted by our team for a future study on the impact of Johne's disease on productivity and/or the effectiveness of targeted control measures?

- Yes
- No

63. Do you agree that the samples and data collected in this project may be used for future research projects at the Faculty of Veterinary Medicine on sheep health? All nominative data allowing you to be identified will be kept strictly confidential.

- Yes
- No