

SOMMAIRE

| | |
|--|-----------|
| INTRODUCTION | 5 |
| <u>PREMIERE PARTIE</u> : ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES SUR LA CRYPTOSPORIDIOSE DU CHIEN | 7 |
| I. TAXONOMIE DE <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> SPP. (CF. FIGURE 1)..... | 9 |
| II. CYCLE EVOLUTIF | 11 |
| III. EPIDEMIOLOGIE | 13 |
| 1. Epidémiologie descriptive..... | 13 |
| a. Source de parasite | 15 |
| b. Réceptivité et sensibilité | 15 |
| c. Résistance des parasites | 15 |
| IV. PATHOLOGIE | 16 |
| 1. Symptômes et lésions..... | 16 |
| 2. Pouvoir pathogène et immunogène..... | 16 |
| V. DIAGNOSTIC | 17 |
| 1. Eléments épidémiologiques et cliniques | 17 |
| 2. Coproscopie | 17 |
| a. Flottation et coloration..... | 17 |
| b. Autres méthodes..... | 19 |
| VI. METHODE DE LUTTE..... | 20 |
| 1. Traitement spécifique | 20 |
| 2. Prophylaxie sanitaire et médicale en élevage..... | 20 |
| VII. <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> SP. ET SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE | 21 |
| <u>DEUXIEME PARTIE</u> : RECHERCHE DE LA PREVALENCE DE LA CRYPTOSPORIDIOSE CHEZ LE CHIEN NOUVEAU-NE | 25 |
| MATERIEL ET METHODE..... | 27 |
| I. PROTOCOLE D'ETUDES : RECUEIL DES DONNEES | 27 |

| | | |
|----|---|-----------|
| 1. | Elevages étudiés : sélection et renseignements pris sur leur fonctionnement | 27 |
| a. | Sélection des élevages | 27 |
| b. | Recueil des données sur les conditions d'élevages | 27 |
| 2. | Portées étudiées : sélection et réalisation des prélèvements..... | 28 |
| a. | Sélection | 28 |
| b. | Modalités de recueil des prélèvements | 28 |
| c. | Analyses coproscopiques | 28 |
| 3. | Caractéristiques, clinique et prophylaxie médicale des portées au moment du recueil des échantillons | 29 |
| a. | Caractéristiques des portées étudiées | 29 |
| b. | Symptômes observés chez les portées | 29 |
| c. | Renseignements pris sur la mère..... | 29 |
| d. | Qualité des réponses obtenues | 30 |
| | RESULTATS | 31 |
| | I. DESCRIPTION DE LA CONDUITE D'ELEVAGE..... | 31 |
| 1. | Races élevées (cf. tableau 4)..... | 31 |
| 2. | Mesures d'hygiène en maternité (cf. tableau 5)..... | 31 |
| 3. | Origine de l'eau distribuée aux animaux présents à l'élevage | 33 |
| 4. | Prophylaxie médicale de la coccidiose | 33 |
| 5. | Programme de vermifugation des chiots et de la mère | 33 |
| | II. CARACTERISTIQUES DES PORTEES ETUDIEES..... | 35 |
| 1. | Taille des portées | 35 |
| 2. | Races..... | 35 |
| | III. PREVALENCE DE <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i> | 36 |
| | DISCUSSION | 37 |
| | I.ANALYSE CRITIQUE DU MATERIEL ET DES METHODES UTILISEES... 37 | |
| 1. | Protocole | 37 |
| 2. | Matériel | 37 |
| | II. ANALYSE CRITIQUE DU RESULTAT OBTENU | 39 |
| 1. | Caractéristiques des élevages et des portées étudiées..... | 39 |
| 2. | Mesure de la prévalence de <i>Cryptosporidium sp.</i> | 39 |
| | CONCLUSION..... | 41 |
| | BIBLIOGRAPHIE | 43 |

| | |
|-----------------------|-----------|
| ANNEXE 1 | 51 |
| ANNEXE 2 | 53 |
| ANNEXE 3 | 55 |

INTRODUCTION

La cryptosporidiose chez le chien à *Cryptosporidium* sp. est une protozoose intestinale le plus souvent asymptomatique mais qui peut se manifester cliniquement par des troubles digestifs, généralement de la diarrhée, affectant plus particulièrement des chiens jeunes et/ou immunodéprimés.

Depuis quelques années, les parasites du genre *Cryptosporidium* sont l'objet de nombreuses recherches en santé animale et humaine, grâce auxquelles plusieurs espèces ont été mises en évidence. Chez l'homme, cet intérêt marqué pour ce parasite est directement en relation avec la survenue d'épidémies à *Cryptosporidium* sp. comme à Milwaukee (USA, 1993), Sète (1998) ou Dracy-le-Fort (2001) par exemple (DEROUIN *et al.* 2002), mais également dans un contexte de pandémie du VIH, parce que la cryptosporidiose peut être particulièrement grave chez les personnes immunodéprimés.

Les enquêtes de santé publique menées à la suite de ces épidémies ont démontré une insuffisance de connaissances pour évaluer les risques avec notamment une interrogation concernant le rôle des réservoirs animaux domestiques et en particulier des carnivores.

Ainsi dans l'espèce canine, sur les 5 continents des études de prévalence ont été conduites et révèlent une prévalence comprise entre 0 et 11%. En France, CHERMETTE et BLONDEL (1989) ont montré une prévalence d'environ 10%. Bien que *Cryptosporidium* sp. affecte préférentiellement des animaux ayant un système immunitaire immature (période néonatale) ou altéré, ces études ont été conduites chez des chiens tout-venant, sans distinction aucune.

C'est pourquoi notre travail s'attachera à rechercher la présence de *Cryptosporidium* sp. dans les élevages canins français en s'attachant aux animaux les plus « fragiles » des élevages, les chiots non sevrés. En effet, cette classe d'âge présente un statut immunitaire fragile, car il ne repose que sur les anticorps transmis par la mère via le colostrum. Le taux de mortalité néonatale en élevage avoisine 20%, et les causes de cette mortalité demeurent quelque peu mystérieuses. Peut-on imputer une partie de cette mortalité à *Cryptosporidium* sp. ? Nous avons cherché à répondre à cette question.

Après une mise au point des connaissances actuelles sur la cryptosporidiose du chien, nous présenterons les méthodes de travail que nous avons utilisées dans le cadre de cette étude et les résultats que nous avons obtenus.

PREMIERE PARTIE

**ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES SUR LA
CRYPTOSPORIDIOSE DU CHIEN**

L'étude bibliographique s'intéressera particulièrement à *C. canis*, l'espèce de cryptosporidie mise en évidence chez le chien. De nombreux aspects de la biologie de *C. canis* demeurent cependant inconnus, et certains éléments décrits dans cette étude auront une valeur générale pour *Cryptosporidium* sp.

Nous nous attacherons dans cette partie à faire ressortir les différences épidémiologiques et cliniques des différentes espèces rencontrées chez le chien.

I. TAXONOMIE DE *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. (Cf. figure 1)

Depuis la découverte de ce protozoaire en 1907 par Ernest E. Tyzzer (TYZZER, 1907) dans l'intestin grêle de souris (*Mus musculus*), de multiples espèces de cryptosporidies ont été mises en évidence et la dénomination de ces espèces a été l'objet de nombreuses modifications.

Lors de premières études, les cryptosporidies isolées dans l'estomac et l'intestin grêle de *Mus musculus* ont été respectivement dénommées *C. muris* et *C. parvum*. Par la suite, des cryptosporidies ont été mises en évidence chez de nombreuses espèces de Mammifères et ces observations ont conclu à une faible spécificité d'hôte de *Cryptosporidium* spp. (FAYER *et al.* 1997, UPTON et CURRENT 1985). En outre, les analyses génétiques des cryptosporidies isolées dans l'estomac et dans l'intestin grêle de ces Mammifères concordaient avec cette dichotomie estomac/intestin.

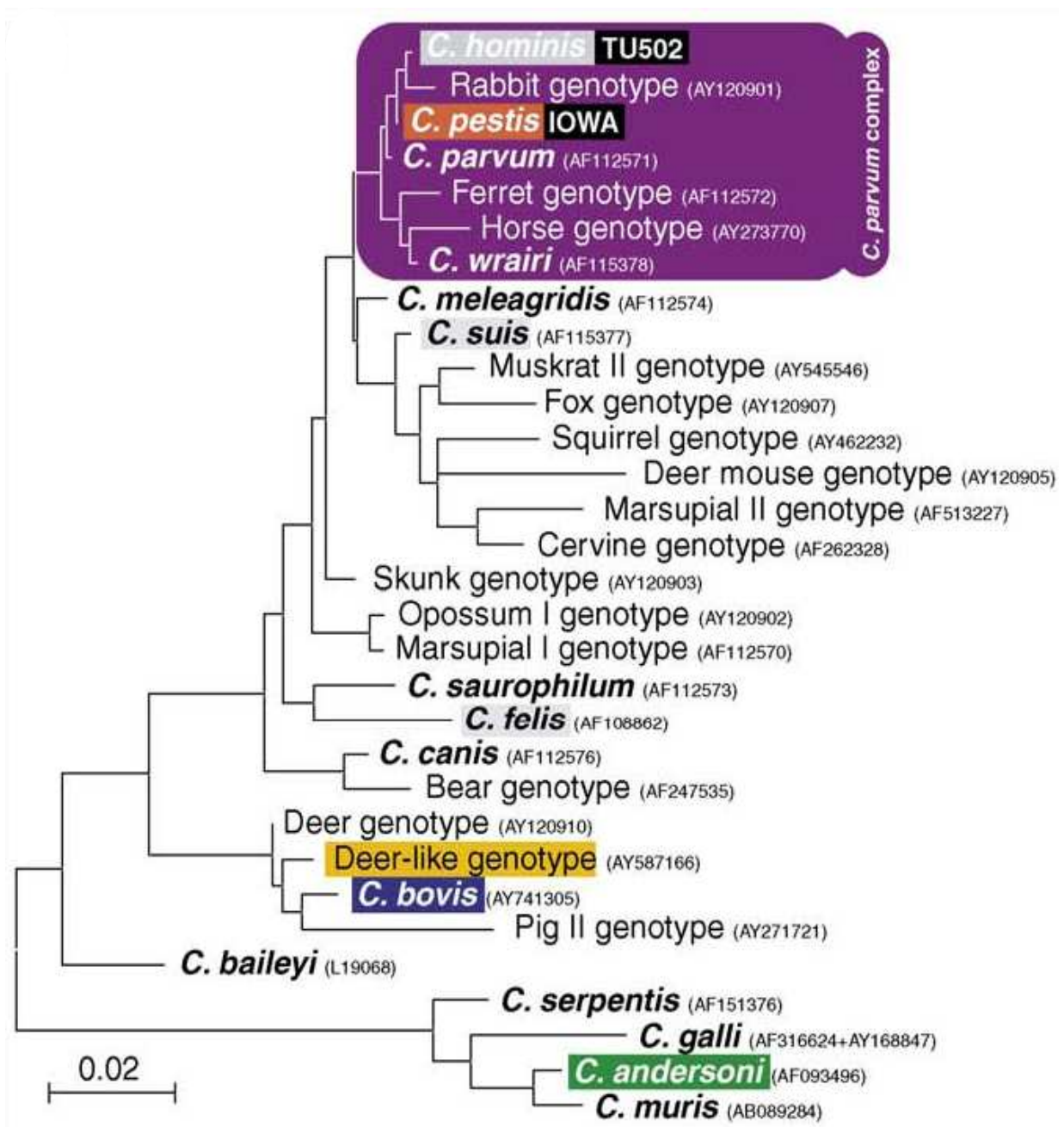
Néanmoins, l'avènement des outils moléculaires et la publication d'études sur les modes de contamination entre hôtes ont bousculé cette classification binaire, favorisant l'hypothèse de multiples espèces de Cryptosporidies ayant des modes de transmission distincts et pour certaines une spécificité d'hôte (MALLON *et al.* 2003).

Ainsi, les cryptosporidies isolées dans l'abomasum du bétail considérées comme *C. muris* ont été rebaptisées *C. andersoni* à la faveur d'outils moléculaires (LINDSAY *et al.* 2000), la différenciant définitivement de *C. muris*.

C. parvum était considérée comme la seule espèce capable d'infecter l'intestin grêle de tous les Mammifères, y compris l'Homme, ce qui soulignait la transmission animal-homme. Or, des études ont montré l'existence d'une contamination entre humains, sans l'intermédiaire d'animaux infectés (ANGUS *et al.* 1985, CASEMORE *et al.* 1985). Les analyses moléculaires ont permis alors d'identifier un « génotype humain » de *C. parvum*, dorénavant appelé *C. hominis* (MORGAN-RYAN *et al.* 2002) (contamination intra-spécifique), et un « génotype bovin » de *C. parvum*, espèce à caractère zoonotique, souvent appelé *C. pestis* (ABRAHAMSEN *et al.* 2004).

Enfin, des cryptosporidies mises en évidence dans l'intestin grêle des chats, porcs, cochons d'Inde, bovins et identifiées par génie génétique sont dénommés suivant l'espèce de l'hôte, soit respectivement *C. felis*, *C. suis*, *C. wrairi* et *C. bovis*. Dans le cadre de notre étude, nous intéresserons particulièrement à *C. canis*, une espèce de cryptosporidie mise en évidence dans l'intestin grêle du chien

Figure 1 : Arbre phylogénétique de *Cryptosporidium* spp., construit à partir du génotypage de l'ADN de la petite sous-unité ribosomale des cryptosporidies isolées chez différents Mammifères. (SPALETA J. 2007)



II. CYCLE EVOLUTIF

Le cycle de développement de *Cryptosporidium* sp. chez le chien reste à ce jour inconnu. Les étapes connues du développement présentées dans ce paragraphe sont celles mises en évidence lors d'études in vitro. (Cf. figure 2, d'après HIJJAWI *et al.* 2004 et BARTA R.J. et ANDREW THOMPSON R.C. 2006). Néanmoins, la partie extracellulaire décrite par HIJJAWI *et al.* (2004) reste à l'heure actuelle controversée et est l'objet de polémiques au sein de la communauté de chercheurs en parasitologie.

En outre, seule la cryptosporidiose intestinale est abordée ici. Contrairement à l'Homme chez qui des infections respiratoires, oculaires, pancréatiques ou hépatiques ont été décrites, aucune infection extra-intestinale chez le chien n'a été rapportée à l'heure actuelle. (LINDSAY et ZAJAC 2004)

L'hôte se contamine par voie oro-fécale : eau ou aliment contaminés, léchage de zones souillées contenant des ookystes.

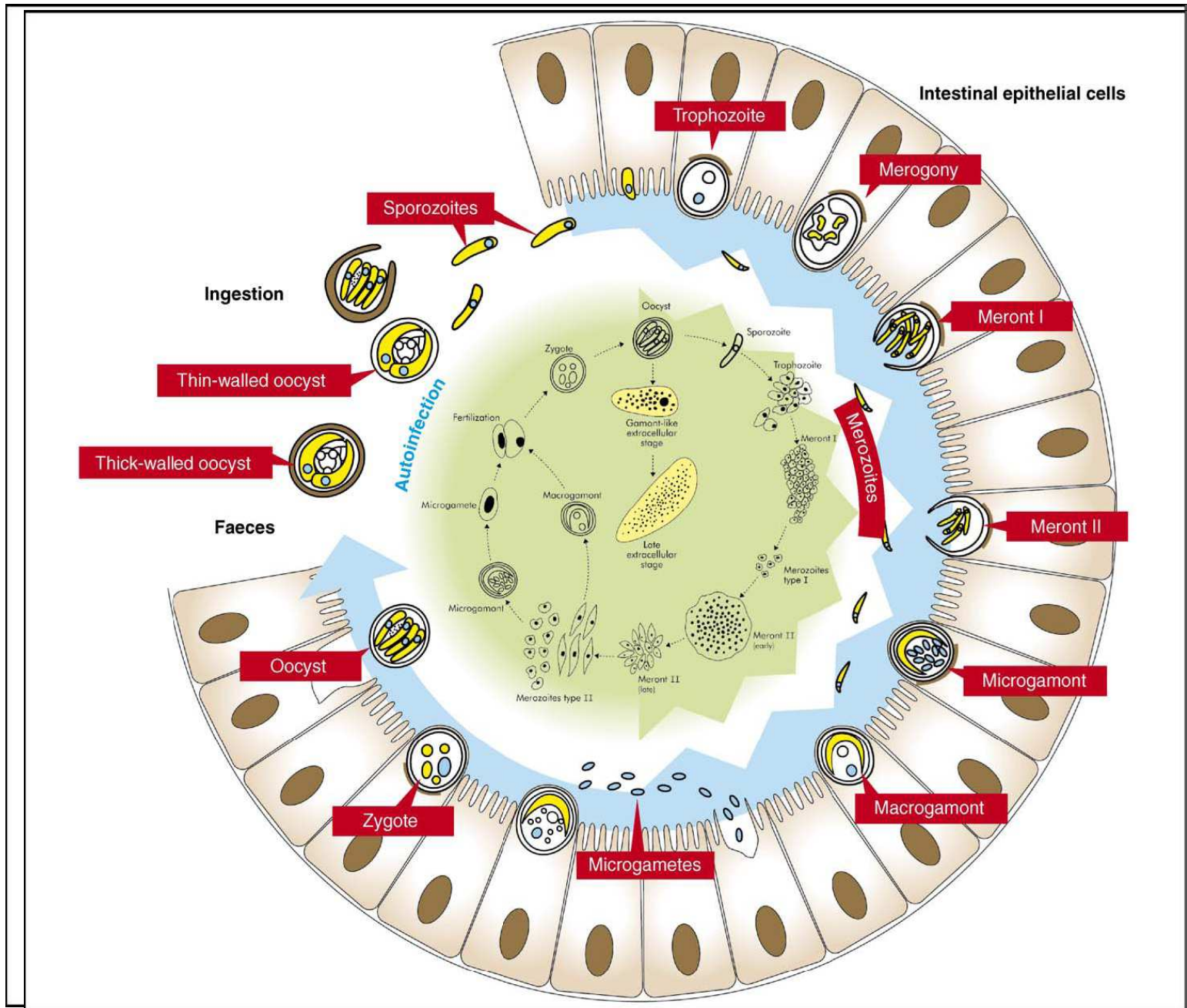
Au sein du tractus digestif, les 4 sporozoïtes se libèrent de l'ookyste sous l'action de la chaleur et de la bile. Les étapes suivantes sont toutes intracellulaires dans une vacuole parasitophore au sein de la bordure en brosse et séparées du cytoplasme par un organe qui joue un rôle dans la nutrition du parasite.

Les sporozoïtes infectent les cellules intestinales, se transforment en trophozoïtes puis, par multiplication asexuée en schizontes de type I. Ces schizontes éclatent et libèrent alors 8 mérozoïtes de type I qui colonisent à leur tour d'autres cellules intestinales et se transforment en schizontes de type II. En éclatant, ils libèrent à leur tour 4 mérozoïtes de type II qui peuvent être l'objet d'une reproduction asexuée. Ces mérozoïtes de type II pénètrent dans les cellules intestinales et sont à l'origine des formes de la reproduction sexuée : un microgamétocyte donnant des microgamètes non flagellés et un macrogamétocyte à l'origine d'un macrogamète.

La fécondation du macrogamète par un microgamète forme les ookystes, dont la particularité est leur sporulation endogène. Suivant l'épaisseur de la paroi, deux types d'ookystes sont distingués. Les ookystes à paroi fine sont auto-infectants tandis que les ookystes à paroi épaisse sont excrétés dans les fécès. Ces derniers sont donc directement infectants.

La période entre la contamination et l'excrétion des formes infectantes, c'est-à-dire des ookystes, appelée période pré-patente dure entre 2 et 14 jours (KIRKPATRICK et DUBEY, 1987), mais elle n'a pas encore été étudiée chez le chien. La période correspondant à la durée de l'excrétion des ookystes, appelée période patente, est comprise chez le chien entre 3 et 33 jours pour *C. parvum*. (KIRKPATRICK et DUBEY, 1987, LLOYD et SMITH, 1997, AUGUSTIN-BITCHL *et al.* 1984).

Figure 2 : Cycle évolutif de *Cryptosporidium* sp. dans l'intestin grêle, montrant les étapes "intracellulaires" et extracellulaires connues. (D'après HIJAWI *et al.* 2004, BARTA R.J. et ANDREW THOMPSON R.C. 2006)



Sporozoïte : unité parasitaire infectante contenue dans l'ookyste

Trophozoïte : stade de développement hors reproduction du protozoaire

Schizonte : stade de multiplication asexuée. Un schizonte mature contient les mérozoïtes.

Mérozoïte : cellules filles du schizonte.

III. EPIDEMIOLOGIE

1. Epidémiologie descriptive

La prévalence des ookystes trouvés dans les fèces de chiens varie en fonction des études, entre 0 et 11% (Cf. tableau 1). Néanmoins, la distinction des différentes espèces de cryptosporidies non encore établies au moment de toutes ces études ne permet pas de statuer sur la prévalence de *C. canis* ou d'autres espèces de cryptosporidies chez le chien.

Récemment, dans une étude de prévalence conduite au Japon, les 13 résultats positifs sur les 140 testés, génotypés par séquençage appartenaient tous à l'espèce *C. canis* (ABE *et al.* 2002). Dans une autre étude menée en Italie, *C. parvum* a été isolée chez 6 chiens et *C. canis* chez un seul chien (GIANGASPERO *et al.* 2006). En outre, *C. canis* a été identifiée chez deux chiots, âgés de 8 et 9 semaines, excréteurs d'ookystes (MILLER *et al.* 2003, DENHOLM *et al.* 2001).

Bien que la pression parasitaire en élevage ou refuge est plus importante que pour le chien de particulier, aucune différence significative de prévalence n'a été mise en évidence entre ces deux groupes (HUBER *et al.* 2005, CAUSAPE *et al.* 1996). La prévalence ne varie pas non plus suivant le sexe de l'animal (MUNDIM *et al.* 2007, HAMNES *et al.* 2007).

Il semble que la cryptosporidiose touche plus souvent des animaux jeunes, âgés de quelques semaines (WILSON *et al.* 1983, MILLER *et al.* 2003, DENHOLM *et al.* 2001, SISK *et al.* 1984, GIANGASPERO *et al.* 2006, HAMNES *et al.* 2007) que des animaux âgés de plus d'un an (GREENE *et al.* 1990). Des études récentes conduites en Norvège (HAMNES *et al.* 2007) et au Brésil (MUNDIM *et al.* 2007) ont des résultats contradictoires quant à l'existence d'une différence significative de cryptosporidiose entre des chiens jeunes (âgés de moins d'un an) et d'autres moins jeunes (âgés de plus d'un an).

Ces observations tendent cependant à démontrer que la cryptosporidiose est une affection que l'on diagnostique chez des animaux immunodéprimés. En outre, des infections intercurrentes chez des animaux immunodéprimés telles que la parvovirose ou une isosporose intestinale, majorent l'intensité de l'expression clinique (DENHOLM *et al.* 2001, WILLARD et BOULEY 1999).

En conclusion, la cryptosporidiose chez le chien est généralement due à l'infection des animaux par l'espèce *C. canis*. Elle semble affecter principalement des chiens jeunes, moins d'un an, et n'occasionne que rarement des signes cliniques qui sont peu spécifiques (diarrhée aigue ou chronique, amaigrissement). Il n'y a pas de prédispositions sexuelles, ni d'effet-race. Les collectivités canines ne sont pas plus touchées que les chiens vivant seuls chez des particuliers. Il existerait une influence saisonnière d'après HAMNES *et al.* (2007), l'hiver serait plus propice au développement des cryptosporidies. Enfin, il semble que la cryptosporidiose affecte préférentiellement des chiens au statut immunitaire déficient.

Tableau 1 : Différentes études de prévalence de *Cryptosporidium* spp. dans différents pays chez le chien (Afrique, Amérique, Asie, Europe et Océanie) :

| Nombre d'échantillons examinés | Lieu | Test | Prévalence (en %) | Etude |
|--------------------------------|------------|-------------|-------------------|-------------------------------------|
| 25 | Egypte | Microscopie | 12 | El-Hohary et Abdel-Latif (1998) |
| 166 | Brésil | Microscopie | 2,41 | Huber <i>et al.</i> (2005) |
| 433 | Brésil | Microscopie | 1,4 | Mundim <i>et al.</i> (2007) |
| 200 | Californie | Microscopie | 2 | El-Ahraf <i>et al.</i> (1991) |
| 130 | Colorado | Microscopie | 3,8 | Hackett et Lappin (2003) |
| 49 | Géorgie | Microscopie | 10,2 | Jafri <i>et al.</i> (1993) |
| 100 | Kentucky | Microscopie | 17 | Juett <i>et al.</i> (1996) |
| 102 | Ontario | ELISA | 0 | Lefebvre <i>et al.</i> (2006) |
| 213 | Japon | Microscopie | 1,4 | Uga <i>et al.</i> (1989) |
| 140 | Japon | PCR | 9,3 | Abe <i>et al.</i> (2002) |
| 257 | Corée | Microscopie | 9,7 | Kim <i>et al.</i> (1998) |
| 57 | Finlande | Microscopie | 0 | Pohjola (1984) |
| 29 | France | Microscopie | 9,8 | Chermette et Blondel (1989) |
| 200 | Allemagne | Microscopie | 0 | Augustin-Bichl <i>et al.</i> (1984) |
| 81 | Espagne | Microscopie | 7,4 | Causape <i>et al.</i> (1996) |
| 101 | Ecosse | Microscopie | 0 | Simpson <i>et al.</i> (1988) |
| 100 | Ecosse | Microscopie | 1 | Grimason <i>et al.</i> (1993) |
| 240 | Italie | PCR | 3,3 | Giangaspero <i>et al.</i> (2007) |
| 421 | Australie | Microscopie | 0 | Bugg <i>et al.</i> (1999) |
| 493 | Australie | Microscopie | 11,1 | Johnston et Gasser (1993) |
| 195 | Australie | Microscopie | 7,1 | Milstein et Goldsmith (1995) |

2. Epidémiologie analytique

a. Source de parasite

Les sources d'ookystes sont les animaux excréteurs, qu'ils aient présentés ou non des symptômes. La contamination des chiots en bas-âge est due au léchage des mamelles, flancs ou périnée de la mère excrétrice, mais aussi par l'environnement, eau et alimentation (BARR 1997, DEROUIN *et al.* 2002).

La période patente de *C. parvum* chez le chien dure entre 3 et 33 jours (LLOYD et SMITH 1997, KIRKPATRICK et DUBEY 1987), les ookystes excrétés provoquant alors la contamination de l'environnement. Aucune durée spécifique à *C. canis* n'est connue à l'heure actuelle.

b. Réceptivité et sensibilité

La majorité des cas décrits intéresse des chiens jeunes, âgés de moins d'un an. Des cryptosporidies ont cependant été décrites chez des animaux âgés, dont les examens paracliniques permettaient de conclure à une immunodépression.

Les animaux, immunodéprimés (BARR 1997, FUKUSHIMA et HELMAN 1984, TURNWALD *et al.* 1988) et atteints d'une affection intercurrente (campylobactériose, salmonellose, giardiose, BARR 1997) présentent des symptômes exacerbés.

c. Résistance des parasites

Les ookystes de cryptosporidies sont extrêmement résistants dans l'environnement, jusqu'à plusieurs mois dans l'eau, les matières fécales et l'eau de mer (DEROUIN *et al.* 2002) pour une température comprise entre 0°C et 30°C.

Seuls une exposition à des températures élevées (1 minute à 72°C ou 5 minutes à 64°C) (LINDSAY et ZAJAC 2004, DEROUIN *et al.* 2002) ou un contact prolongé à de l'ammoniaque 5% ou du formol 10% (BARR 1997, DEROUIN *et al.* 2002) détruisent les ookystes.

La résistance des ookystes dans l'environnement est importante. Les ookystes sont viables entre 0 et 30°C durant plusieurs mois dans l'environnement (eau, matières fécales, eau de mer)(DEROUIN *et al.* 2002).

En conclusion, les cryptosporidies sont des parasites extrêmement résistants dans l'environnement, dont l'élimination nécessite l'utilisation de moyens spécifiques. Contaminés par voie oro-fécale, les chiens excrètent des ookystes directement contaminants, de manière cyclique, participant à la contamination des lieux de vie. Seuls les chiens au statut immunitaire déficient développent des signes cliniques.

IV. PATHOLOGIE

1. Symptômes et lésions

La cryptosporidiose est le plus souvent asymptomatique et donc sous-estimée. Lorsqu'elle est exprimée cliniquement par l'animal, les symptômes sont frustrés. La cryptosporidiose peut engendrer une diarrhée de l'intestin grêle (fréquence normale des défécations mais dont le volume est augmenté) chronique ou intermittente, accompagnée d'un amaigrissement (LINDSAY et ZAJAC 2004, DENHOLM *et al.* 2001, GREENE *et al.* 1990, SISK *et al.* 1984) et dans les cas sévères une dysorexie chronique (BARR 1997). Des vomissements ont été rapportés chez un chiot atteint d'une forme gastro-intestinale de cryptosporidiose par MILLER *et al.* (2003).

Enfin une adénomégalie des nœuds lymphatiques mésentériques est rarement décrite (GREENE *et al.* 1990).

L'examen histo-pathologique des intestins conclue à des lésions de nécrose et d'inflammation modérée (MILLER *et al.* 2003), à un élargissement des cryptes et à une fusion des villosités (WILLARD et BOULEY 1999, WILSON *et al.* 1983). Ces lésions intéressent l'intestin grêle, sans distinction entre ses différentes portions, duodénum, jéjunum ou iléon (WILLARD et BOULEY 1999) (*cf.* figure 4). Dans la forme gastro-intestinale décrite par MILLER *et al.* (2003), l'estomac ne présente pas de lésions histologiques.

2. Pouvoir pathogène et immunogène

Les mécanismes par lesquels *C. canis* engendre des symptômes chez le chien sont à l'heure actuelle inconnus.

TZIPORI et WARD (2002) ont décrit le pouvoir pathogène de *C. parvum*. Les cryptosporidies colonisent la bordure en brosse de l'intestin grêle, provoquant une diminution de surface d'épithélium mature, à l'origine d'un raccourcissement et de la fusion des villosités. Cela entraîne une diminution de l'absorption des fluides, des électrolytes et des nutriments.

Néanmoins, les mécanismes précis par lesquels *Cryptosporidium* provoque une malabsorption, une diarrhée et un amaigrissement ne sont pas encore parfaitement élucidés (TZIPORI et WARD 2002).

La dose infectante minimale chez le chien est inconnue. Chez l'Homme, des infections expérimentales ont montré qu'entre 1 et 10 ookystes de *C. parvum* peuvent engendrer une cryptosporidiose. (OKHUYSEN *et al.* 1999).

Des infections expérimentales avec *C. parvum* chez des singes, des agneaux nouveaux-nés et des souris nus ont conduit à la même dose infectante (BLEWETT *et al.* 1993). D'autres études relatent de différences d'infectivité parmi les *C. parvum* isolés chez les volontaires humains. (TZIPORI et WARD, 2002)

En conclusion, les symptômes de la cryptosporidiose chez le chien sont inexistantes ou frustrés quand ils sont présents. Les lésions occasionnées par cette infection entraînent des diarrhées chroniques ou intermittentes ainsi qu'un amaigrissement dont l'étiologie nécessite le recours aux examens complémentaires.

V. DIAGNOSTIC

1. Éléments épidémiologiques et cliniques

Peu d'éléments épidémiologiques permettent de suspecter une cryptosporidiose. Les symptômes sont frustrés et le plus souvent inexistant.

Lors de diarrhée chronique, d'abattement, et d'amaigrissement, un examen coprologique peut être effectué pour rechercher d'éventuelles cryptosporidies.

Néanmoins, de nombreux chiens restent asymptomatiques et la recherche de cryptosporidies peut s'inscrire dans le cadre d'un dépistage systématique si l'animal appartient à des personnes dont le profil immunitaire est altéré par des affections immunodépressives.

2. Coproscopie

a. **Flottation et coloration**

De nombreuses techniques de flottation existent et celle décrite par WEBER *et al.* (1992) est la plus utilisée en laboratoire pour la recherche d'ookystes dans les selles des humains. Après dilution d'un échantillon de selles dans du formol 10%, le filtrat de cette préparation est mélangé à de l'acétate d'éthyle. Cette solution est alors centrifugée. Le sédiment recueilli est dilué dans de l'eau distillée, puis ajouté au dessus d'une solution saturée en NaCl. L'ensemble subit une centrifugation. La partie de la solution située à l'interface avec le NaCl est récupérée et mélangée à de l'eau distillée pour une nouvelle centrifugation. Le sédiment recueilli est alors étalé sur une lame puis coloré par immunofluorescence pour une observation des cryptosporidies.

Cette technique assez lourde est essentiellement réalisée dans des laboratoires de référence. La lame doit être lue à l'objectif X 40, et observée avec attention.

Les ookystes de cryptosporidies apparaissent verte en microscopie UV. Cette technique est assez sensible si les cryptosporidies sont en nombre important, au minimum 5000/g de fèces (WEBER *et al.* 1992).

Néanmoins la technique de référence est la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen (HENRIKSEN et POHLENZ 1981) sur de simples frottis fécaux, obtenus directement ou après une technique de flottation.

Les cryptosporidies apparaissent alors rose foncé ou rouge, contrastant avec le reste des matières fécales colorées en bleu-vert (*cf.* figure 3). La lame doit être observée à l'objectif 40 puis 100, avec une goutte d'huile à immersion pendant une quinzaine de minutes avant d'émettre une conclusion (BUSSIERAS et CHERMETTE 1991).

Figure 3 : cryptosporidies après coloration par la méthode de Ziehl-Neelsen modifiée (Unité de Parasitologie, ENVA).

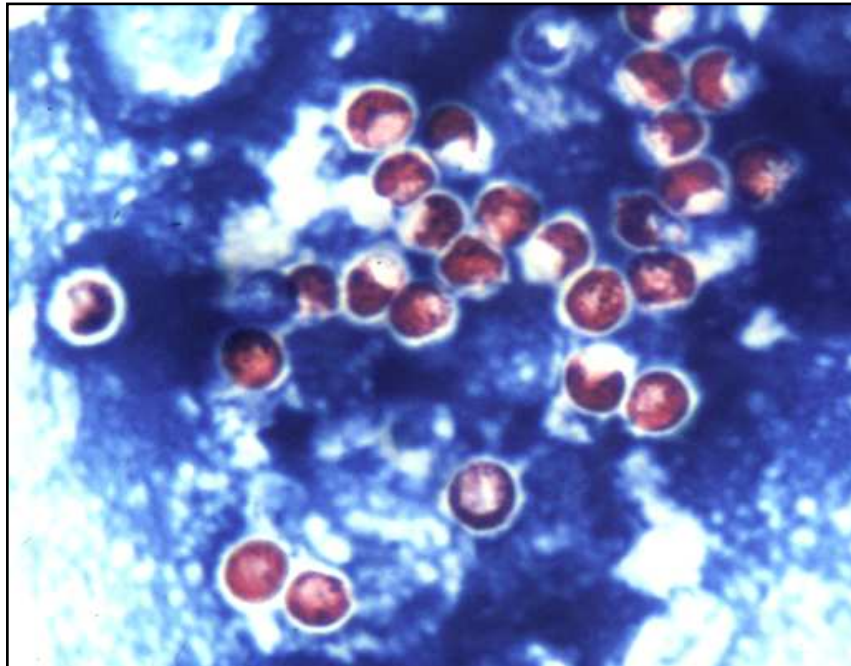
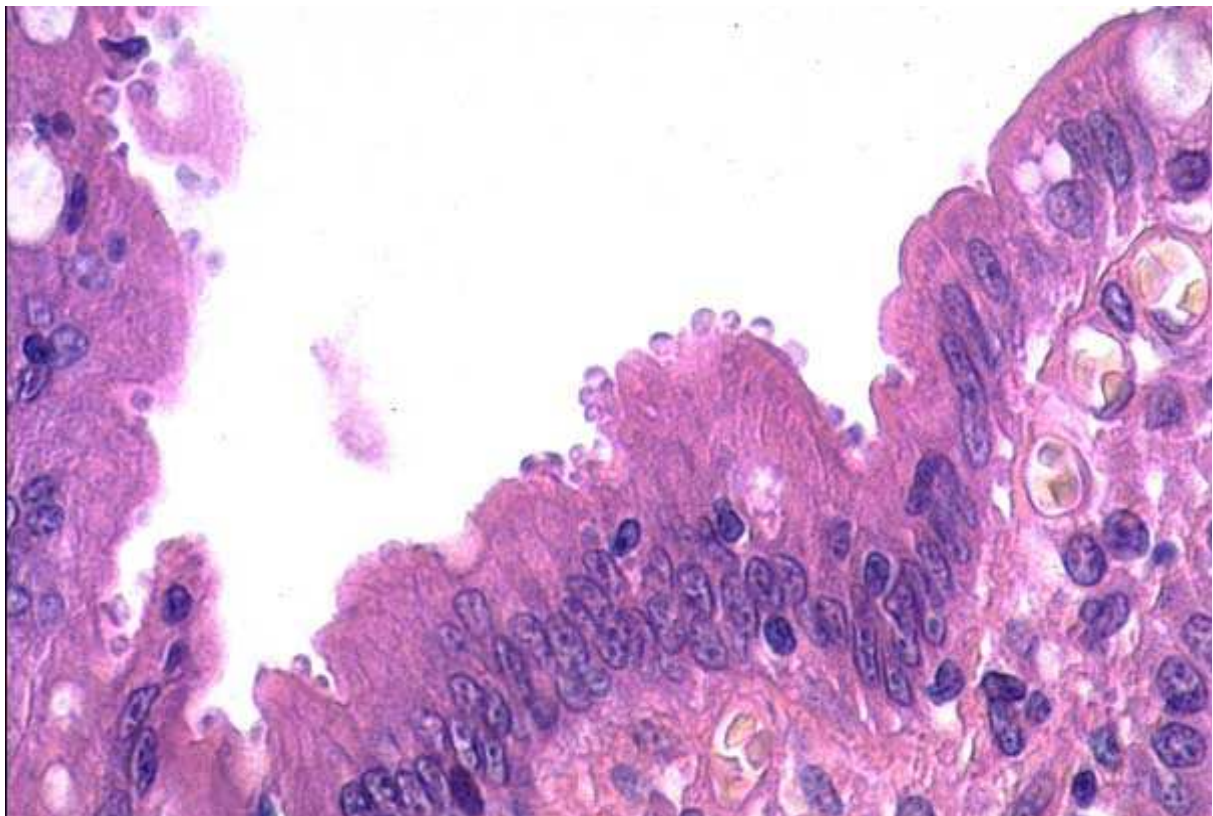


Figure 4 : Cryptosporidiose intestinale à *Cryptosporidium parvum* (HES) (parasites faisant saillie dans la lumière intestinale et semblant s'accrocher à l'apex des entérocytes) - (DEROUIN *et al.* 2002)



b. Autres méthodes

Différents tests ont été commercialisés à l'attention des vétérinaires afin de diagnostiquer une cryptosporidiose.

Ils reposent sur des méthodes d'immunofluorescence direct ou de méthode ELISA. Ces tests développés pour détecter *Cryptosporidium parvum* dans des échantillons de selles, permettent aussi de mettre en évidence les autres espèces de Cryptosporidies et notamment *C. canis* ou *C. felis* (GRACZYK *et al.* 1996, MTAMBO *et al.* 1992, KIM *et al.* 1998)

Il est cependant nécessaire en cas de positivité du test ELISA (ProSpecT® Cryptosporidium Microplate Assay) d'effectuer un examen coprologique conventionnel car les tests ELISA créent de nombreux faux-positifs. En effet, ce test crée de nombreux faux-positifs pour des échantillons de selles, dépourvus de giardia ou cryptosporidies, mais contenant des ookystes de coccidies (*Isospora burrowsi/ohioensis*) (JOHNSTON *et al.* 2003, CIRAK et BAUER 2004).

Néanmoins, l'avènement des techniques moléculaires tels que la PCR a permis d'obtenir une meilleure sensibilité des tests diagnostiques en comparaison avec les test ELISA ou IFA (SCORZA *et al.* 2003), et ces nouveaux tests PCR-RFLP permettent de faire la distinction entre différentes espèces de *Cryptosporidium* : *C. felis*, *C. canis*, *C. hominis* ou *C. parvum* (LINDEGARD *et al.* 2003).

VI. METHODE DE LUTTE

1. Traitement spécifique

Plus d'une centaine de molécules ont été essayées sur des modèles animaux et peu ont montré une efficacité clinique probante. (BLAGBURN et SOAVE 1997).

La paromomycine (165mg/kg PO BID 5j) (Barr *et al.*, 1994) et le nitazoxanide (25mg/kg PO BID 28j) (GOOKIN *et al.*, 2001) ont montré une certaine efficacité dans le traitement de la cryptosporidiose chez des chats, faisant disparaître l'excrétion d'ookystes et la diarrhée associée. Ces traitements ne sont cependant pas dépourvus d'effets secondaires et peuvent être à l'origine d'insuffisance rénale aiguë (GOOKIN *et al.* 1999), si l'antibiotique franchit la barrière digestive, à la faveur d'ulcères par exemple.

Le lactate d'halofuginone (HALOCUR®) est utilisé uniquement chez les bovins. Actif sur les formes libres de *C. parvum*, il est administré dans les 24 à 48 heures suivant la naissance du veau et dans les 24 heures suivant l'apparition de la diarrhée. Cette molécule n'est pas utilisée chez les carnivores domestiques.

La clindamycine utilisée à la posologie de 15mg/kg PO toutes les 8 heures pendant 6 jours a été utilisée chez un Pointer de 5 ans, sans parvenir à endiguer l'excrétion d'ookystes (GREENE *et al.* 1990).

La paromomycine a été utilisée chez un petit nombre de chiens atteints de cryptosporidiose. Son administration enrayer l'excrétion d'ookystes en 5 jours (BARR *et al.* 1994).

Finalement, seule la paromomycine, disponible en France pour le traitement des cryptosporidioses humaines, semble avoir un intérêt dans le traitement de la cryptosporidiose chez le chien. En dépit de son efficacité, l'administration de cet antibiotique aminoside nécessite une certaine prudence en raison de son utilisation hors-AMM et des risques de résistance que son utilisation chez nos animaux de compagnie pourrait provoquer.

2. Prophylaxie sanitaire et médicale en élevage

Aucune mesure préventive n'est recommandée de manière spécifique. Il reste cependant à appliquer des mesures de précaution, inhérentes à de bonnes pratiques d'élevages :

- Retrait immédiat des déjections,
- Isolement des animaux malades,
- Traitement et utilisation d'un lazaret pour les animaux malades et en particulier ceux présentant un syndrome diarrhéique,
- Nettoyage et désinfection à l'OO-CIDE® des équipements et locaux contaminés,
- Élimination correcte des cadavres animaux.

VII. *CRYPTOSPORIDIUM* SP. ET SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE

La cryptosporidiose chez l'Homme est une infection à laquelle la médecine humaine accorde de plus en plus d'importance, eu égard à l'extension de maladies immunodépressives telles que le V.I.H.

Les cryptosporidioses chez l'humain ont fait l'objet d'études cherchant à mettre en évidence l'espèce en cause et l'origine de l'infection. Toutefois, si le diagnostic de cryptosporidiose a été fait, les moyens moléculaires permettant d'identifier l'espèce en cause n'ont pas été ou pu être utilisés dans chaque cas.

GREENE *et al.* (1990) rapportent la cryptosporidiose d'un étudiant vétérinaire aux Etats-Unis qui était en charge des soins d'un chien atteint de cryptosporidiose, sans que l'espèce ne fût typée.

Une étude rapporte la contamination d'une personne immunodéprimée lors d'une épizootie de cryptosporidiose chez des veaux, qui aurait par la suite contaminé à son tour des chiots, chatons et chèvres. (CURRENT *et al.* 1983).

De nombreuses études rapportent des cryptosporidioses (symptomatiques ou non) chez des animaux de compagnie et leurs maîtres, mais le sens de la contamination n'a pu être encore rigoureusement établi (GREENE *et al.* 1990, KOCH *et al.* 1983, EGGER *et al.* 1990).

Le caractère zoonotique de *Cryptosporidium* est démontré, mais il semble encore difficile de statuer sur le rôle de réservoir que peuvent jouer nos animaux de compagnie. XIAO *et al.* 2007) rapportent une cryptosporidiose à *C. canis* chez une petite fille et son frère à Lima (Pérou), vivant dans une maison avec 4 animaux, un chien, un coq, une poule et un lapin. L'examen clinique de ces derniers était normal, contrairement aux enfants qui avaient présenté des épisodes de diarrhée, sans altération notable de l'état général. Les examens coproscopiques des selles ou fientes des animaux ont conclu à la présence de *C. canis* chez le chien de la famille. Si le sens de la contamination enfants-chien ou chien-enfants n'a pu être clairement établi, cette étude souligne l'importance en terme de santé publique de *C. canis*. Ainsi, le génotype canin a été mis en évidence dans plusieurs cryptosporidioses humaines, chez des patients immunocompétents ou immunodéprimés (PEDRAZA-DIAZ *et al.* 2001, XIAO *et al.* 2001, XIAO *et al.* 2007). (*cf.* tableau 2).

Toutefois, en Europe, l'espèce *C. parvum* est retrouvée dans la majorité des cryptosporidioses humaines (57% des cryptosporidioses) (HAJDUSEK *et al.* 2004). En effet, l'Homme semble principalement affecté par les espèces *C. parvum* et *C. hominis*, les cryptosporidioses à *C. canis* ou *C. felis* (l'espèce retrouvée en majorité chez le chat) sont peu fréquentes (*Cf.* tableau 2). Quant au chien, les études ayant génotypé les cryptosporidies ont montré la prédominance de *C. canis*.

Il reste néanmoins difficile de faire le point sur la pathogénicité des différentes espèces de Cryptosporidies chez le chien et l'Homme. A partir de différentes études portant sur la prévalence canine et humaine en cryptosporidies, ABE *et al.* 2002) concluent à la non-pathogénicité de *C. canis* chez le chien ou l'Homme. Cette affirmation reste à nuancer étant donné le faible échantillon (5 cas humains et 10 canins).

Des études conduites sur de plus grands échantillons sont nécessaires afin de statuer définitivement sur la pathogénicité des différentes espèces de *Cryptosporidium*, et notamment *C. canis* chez l'Homme.

En l'attente de résultats significatifs, le ministère de la Santé Publique des Etats-Unis et la Société Américaine des Maladies Infectieuses recommandent aux personnes infectées par le HIV de ne pas introduire à leurs domiciles des animaux issus de refuges, d'animaux présentant des diarrhées ou âgés de moins de 6 mois (LINDSAY et ZAJAC 2004).

En outre, ils recommandent d'effectuer les recherches coprologiques nécessaires à la détection de *Cryptosporidium* si un animal âgé de moins de 6 mois doit être introduit dans le foyer de ces mêmes personnes à risque. Ces recommandations, sont fort éloignées de celles énoncées par les ministères en charge de la Santé Publique en Grande-Bretagne et en Australie pour qui les contacts avec des animaux domestiques ne sont pas des facteurs de risques de cryptosporidiose (LINDSAY et ZAJAC 2004)

Tableau 2 : Prévalence de *Cryptosporidium* spp. chez des patients immunocompromis ou immunocompétents. (D'après Lindsay et Zajac 2004)

| Nombre et type de patients | Pourcentage avec | | | | Etude | Pays |
|----------------------------|------------------|------------------------|------------------|-------------------|-----------------------------------|--|
| | <i>C. felis</i> | <i>C. canis</i> | <i>C. parvum</i> | <i>C. hominis</i> | | |
| 30 HIV | 30% | 10% | 10% | 50% | <i>Pieniazek et al. (1999)</i> | Etats-Unis. |
| 22 HIV | 27% | 0% | 32% | 9% | <i>Morgan et al. (2000)</i> | Suisse, Kenya, Etats-Unis. |
| 1 HIV | 100% | | | | <i>Caccio et al. (2002)</i> | Italie. |
| 34 HIV | 9% | 6% | 15% | 50% | <i>Gatei et al. (2002)</i> | Thaïlande. |
| 25 HIV | 4% | 0% | 56% | 32% | <i>Alves et al. (2001)</i> | Portugal. |
| 80 enfants | 1% | 3% | 10% | 84% | <i>Xiao et al. (2001)</i> | Pérou. |
| 1680 (tous) | <1% | <1% | | | <i>Pedraza-Diaz et al. (2001)</i> | Angleterre. |
| 57(tous) | 11% | 0% | 51% | 32% | <i>Guyot et al. (2001)</i> | France. |
| 1075(tous) | 0% | 0% | 62% | 38% | <i>McLauchlin et al. (2000)</i> | Royaume-Uni. |
| 39(tous) | 0% | 0% | 87% | 13% | <i>Lowery et al. (2001)</i> | Irlande du nord. |
| 102(tous) | 0% | 0% | 14% | 86% | <i>Gasser et al. (2003)</i> | Royaume-Uni. |
| 63(tous) | 0% | 0% | 22% | 75% | <i>Gatei et al. (2003)</i> | Kenya, Malawi, Brésil, Royaume-Uni, Vietnam. |
| 22(tous) | 0% | 0% | 14% | 73% | <i>Yagita et al. (2001)</i> | Japon. |
| 11(tous) | 0% | 0% | 0% | 36% | <i>Ong et al. (2002)</i> | Canada. |
| 26(tous) | 0% | 0% | 35% | 58% | <i>Sinclair et al. (2003)</i> | Australie. |
| 12(tous) | 0% | 0% | 100% | 0% | <i>Fretz et al. (2003)</i> | Suisse. |

Conclusion de l'étude bibliographique

La principale espèce en cause chez le chien est *Cryptosporidium canis* dont le diagnostic d'espèce nécessite une PCR-RFLP ou un séquençage sur un échantillon de selles.

La cryptosporidiose est cependant une affection encore méconnue chez le chien. L'âge d'apparition de la maladie et le statut immunitaire de l'animal sont mal évalués.

En outre, la résistance de *Cryptosporidium* spp. dans l'environnement et la sensibilité des personnes à risque (enfants, personnes âgées, femmes enceintes, personnes au statut immunitaire compromis) aux cryptosporidies nécessitent une estimation du rôle des réservoirs animaux et en particulier du chien.

Ainsi, en raison de son impact sur la santé publique, nous avons choisis de prélever des selles dans plusieurs élevages canins français. Pour mieux appréhender la prévalence de la cryptosporidiose chez le chien, nous décidons de prélever les selles des chiots âgés de 5 semaines maximum. En effet, cette classe d'âge étant la plus sensible au sein d'un élevage, son étude reflète l'état sanitaire des collectivités canines et en l'occurrence ici une éventuelle circulation de cryptosporidies. En outre, les études sur la période néonatale ont été très peu nombreuses notamment en raison de l'absence de fèces observables pendant les 3 premières semaines de vie puisque les mères éliminent les fèces dès leur émission par léchage.

DEUXIEME PARTIE

**RECHERCHE DE LA PREVALENCE DE LA
CRYPTOSPORIDIOSE CHEZ LE CHIEN NOUVEAU-NE**

I. PROTOCOLE D'ETUDES : RECUEIL DES DONNEES

1. Elevages étudiés : sélection et renseignements pris sur leur fonctionnement

a. Sélection des élevages

▪ *Modalités de sélection*

Les critères de sélection étaient essentiellement la présence de chiots au sein de l'élevage appartenant à la tranche d'âge précédant le sevrage, soit entre 4 jours et 5 semaines environ suivant l'élevage.

▪ *Nombre d'élevages sélectionnés et localisation géographique*

Huit élevages ont accepté de participer à l'étude. Cinq répondaient au critère de sélection, à savoir la présence de chiots âgés de moins de 5 semaines.

Leur répartition sur le territoire français est la suivante : Eure-et-Loir (élevage 1), Ardèche (élevage 2), Yvelines (élevage 3), Val-de-Marne (élevage 4), Seine-et-Marne (élevage 5).

Ces élevages m'ont reçu à la suite d'un entretien téléphonique ou à la suite d'une présentation de l'étude lors d'une conférence organisée pour des éleveurs par l'UMES (Unité de Médecine de l'Élevage et du Sport, ENVA).

b. Recueil des données sur les conditions d'élevages

En plus d'un questionnaire réservé à chaque portée incluse dans l'étude, un questionnaire (*cf.* annexe 1) portant sur la conduite d'élevage était soumis à l'éleveur lors de notre venue à l'occasion du recueil des échantillons. En effet, une hygiène insuffisante favoriserait l'apparition de cryptosporidiose au sein de l'élevage.

Sur ce questionnaire, il était demandé de préciser :

- les races élevées,
- le type d'alimentation distribué à la mère et l'origine de l'eau (de ville, puit, forage) laissée à la disposition de la mère,
- le nom des spécialités utilisées dans les programmes de vermifugation et vaccination de la mère et des chiots,
- l'utilisation ou non d'un anti-coccidien,
- le rythme de retrait des excréments et les modalités de nettoyage et désinfection de la « maternité ».

2. Portées étudiées : sélection et réalisation des prélèvements

a. Sélection

Toutes les portées présentes à l'élevage, âgées entre quelques jours et le sevrage, ont été incluses dans l'étude. Cela représente 22 portées dans 5 élevages différents, l'âge des chiots étant compris entre 6 et 38 jours.

b. Modalités de recueil des prélèvements

▪ *Identification des prélèvements*

Il est difficile d'identifier rigoureusement chaque chiot s'ils sont dépourvus de collier d'identification coloré, comme c'était le cas dans les élevages participant à l'étude. Ainsi, les prélèvements fécaux de chaque chiot sont répertoriés en fonction de la portée à laquelle ils appartiennent. Chaque échantillon fécal est codifié suivant l'élevage, suivant la portée dont il est issu, et suivant le nombre de chiots dans la portée.

En tout, 96 prélèvements ont été récoltés.

▪ *Réalisation*

Chaque chiot faisait l'objet d'un prélèvement fécal le jour de notre visite. Comme les déjections des chiots sont ingérées par la mère suite au léchage du périnée, les selles des chiots ne pouvaient être ramassées sur le sol. Ainsi, la réalisation des prélèvements nécessitait l'utilisation d'écouvillons rectaux.

L'écouvillon était alors étalé par roulement sur deux lames de microscopes, puis son extrémité ouatée était conservée individuellement dans un flacon de dichromate de potassium pour d'éventuelles analyses moléculaires.

c. Analyses coproscopiques

Etant donné les faibles quantités de matières fécales recueillies, seule une recherche des cryptosporidies était envisageable.

La fixation et la coloration des lames étaient réalisées suivant la méthode modifiée de Ziehl-Nielsen, au plus tard le surlendemain du recueil des selles.

Description de la coloration Ziehl-Nielsen modifiée (BUSSIERAS et CHERMETTE 1991) :

- Etalement fécal en fine couche,
- séchage,
- fixation à l'alcool à 95° pendant 5 minutes, puis brûler l'alcool,
- coloration à la fuchsine de Ziehl pendant 5 minutes,
- rinçage à l'eau et quelques secondes à l'alcool chlorhydrique (acide chlorhydrique 3% et éthanol à 95°),
- contre-coloration au vert malachite à 5% pendant une minute et rinçage à l'eau,
- séchage à l'air,
- étalement d'huile à immersion et examen méthodique à l'objectif X40 puis X100.

3. Caractéristiques, clinique et prophylaxie médicale des portées au moment du recueil des échantillons

Pour chaque portée incluse dans l'étude, un questionnaire était rempli en présence de l'éleveur (cf. annexe 2).

a. **Caractéristiques des portées étudiées**

Sur chaque questionnaire, devaient être précisés :

- le nom et la race de la mère, permettant alors d'identifier les prélèvements,
- la date de mise-bas, le nombre de chiots nés, le nombre de chiots morts et la cause supposée ainsi que le nombre de chiots présents le jour des prélèvements.

b. **Symptômes observés chez les portées**

Tous les symptômes rencontrés au sein de chaque portée devaient être reportés sur le questionnaire. En effet, des symptômes digestifs ou de nature différente peuvent refléter ou être la cause d'une immunodépression et donc favoriser l'expression clinique d'une cryptosporidiose, si l'agent est présent au sein de l'élevage.

Sur chaque questionnaire, il était demandé d'indiquer depuis la mise-bas :

- si les chiots avaient eu des retards de croissance, et si oui combien,
- si les chiots avaient présenté des symptômes digestifs, appréciables en examinant la région du périnée, et si oui de préciser l'aspect des selles (liquides, hémorragiques, boueuses...), la date d'apparition des symptômes et leur durée,
- si les chiots avaient présentés des symptômes respiratoires (toux, jetage..), et si oui de préciser la date d'apparition des symptômes et leur durée,
- si les chiots avaient présenté une anorexie précédant l'apparition des symptômes,
- si les chiots avaient présenté d'autres types de symptômes et si oui de quels types.

Il était en outre demandé d'indiquer si des traitements supplémentaires à ceux cités dans la partie conduite d'élevage ont été administrés aux chiots.

c. **Renseignements pris sur la mère**

Une lactation insuffisante de la mère peut engendrer une certaine faiblesse des chiots, surtout si la prise de lait est insuffisante dans les premières heures de lactation. Ainsi, sur chaque questionnaire, il était demandé de préciser :

- si la croissance des chiots était jugée satisfaisante, et en cas de réponse négative, quels étaient les symptômes rencontrés chez la mère (mammites, troubles digestifs, troubles respiratoires ou autres), la date d'apparition et la durée des symptômes.
- si des traitements autres que ceux cités dans la partie conduite d'élevage ont été administrés à la mère.

d. Qualité des réponses obtenues

Les 22 questionnaires ont été remplis avec rigueur et exactitude, car ils faisaient l'objet de discussions quant à la nature des réponses attendues entre les éleveurs et nous-mêmes.

I. DESCRIPTION DE LA CONDUITE D'ÉLEVAGE

1. Races élevées (cf. tableau 4)

Le nombre de races élevées est très variable (de 1 à 20 races par élevage). Sur les 5 élevages inclus dans l'étude, deux produisent des chiots d'une seule race. Les autres élèvent des races de taille similaire (élevage 1) ou très éloignées (élevage 2 et 5).

2. Mesures d'hygiène en maternité (cf. tableau 5)

Dans les élevages étudiés, les excréments étaient retirés au moins une fois par jour en maternité, ce qui est conforme à la réglementation.

Les modalités et fréquences des nettoyages et désinfections varient grandement suivant les élevages.

Dans les élevages 4 et 5, un nettoyage et une « désinfection » (javel en application pendant 20 minutes puis de manière aléatoire SANITERPENE® ou REMANOL®) sont réalisés quotidiennement, alors que dans l'élevage 3, en liaison avec un mode d'élevage sur paille, une désinfection à l'eau de javel est pratiquée seulement tous les 2 mois.

La distinction entre nettoyage et désinfection ne semble pas claire pour l'élevage 1, qui finalement pratique un nettoyage un jour et une désinfection à la javel le lendemain, ce qui annule l'intérêt de cette dernière, puisqu'aucun nettoyage n'est effectué préalablement.

Néanmoins, quelles que soient les modalités suivies, aucun épisode parasitaire ou infectieux avéré n'a été mis en évidence au cours des 5 années écoulées.

Aucun élevage inclus dans cette étude n'utilise l'OO-CIDE®, produit de désinfection auquel les coccidies et cryptosporidies sont sensibles. Le dégagement de vapeurs d'ammoniac rend son utilisation particulièrement délicate et requiert le déplacement des animaux pendant le temps de pose du produit.

Après un nettoyage préalable des lieux de vie des animaux, la solution reconstituée à partir du seau 1 est pulvérisée sur toutes les surfaces et les murs jusqu'à 50 cm. Alors que les surfaces sont encore humides, une pulvérisation de la solution reconstituée avec le seau 2 doit être pratiquée. Les surfaces qui virent au rose, grâce à la présence d'un indicateur coloré, démontrent l'efficacité du traitement. Le matériel ayant servi à la reconstitution des solutions et à la pulvérisation doit être abondamment rincé.

Tableau 4 : Types de races élevées dans les différents élevages.

| Elevage N° | Races élevées | |
|------------|--|---|
| | Petites races | Grandes races |
| Elevage 1 | Scottish-Terrier(ST), West-Highland-White-Terrier(WHWT) | |
| Elevage 2 | Bouledogue Français, WHWT, ST, Yorkshire-Terrier, Jack Russel Terrier, Shih-tsu, Cavalier King Charles(CKC), Cocker spaniel et américain | Labrador, Golden Retriever, Rottweiler, Rhodesian Ridgeback, Berger blanc de Suisse, Berger australien. |
| Elevage 3 | | Berger allemand |
| Elevage 4 | CKC | |
| Elevage 5 | Teckel à poil dur | Épagneul breton, Labrador. |

Tableau 5 : Rythme de retrait des selles et fréquence du nettoyage et de la désinfection de la maternité dans les différents élevages.

| | Rythme de retrait des excréments | Rythme de nettoyage et désinfection en maternité |
|-----------|--|---|
| Elevage 1 | 1 fois par jour | Nettoyage et « désinfection » à jours alternés |
| Elevage 2 | 2 fois par jour | Nettoyage quotidien et désinfection hebdomadaire |
| Elevage 3 | Paille souillée retirée tous les jours | Désinfection entre 2 portées soit tous les 2 mois environ |
| Elevage 4 | 4 à 5 fois par jour | Tous les jours |
| Elevage 5 | 2 fois par jour | Tous les jours |

3. Origine de l'eau distribuée aux animaux présents à l'élevage

L'eau de ville est distribuée aux mères en maternité à volonté dans une écuelle lavée tous les jours dans les élevages 1, 2, 4 et 5. Le récipient contenant l'eau est lavé 2 fois par semaine dans l'élevage 3.

De l'eau provenant d'un forage est distribuée aux autres animaux adultes dans l'élevage 2.

Il faut signaler l'absence d'exploitations agricoles avec des animaux de production à proximité des élevages figurant dans l'étude. En effet, d'après GIANGASPERO *et al.* (2006), la proximité d'élevages de ruminants, le mode d'élevage pratiqué, les eaux de ruissellement ainsi que la nature géologique des sols peuvent contribuer à contaminer l'environnement (sols ou eaux) des élevages. Ces élevages sont des sources potentielles de *C. parvum*, auquel est sensible le chien.

4. Prophylaxie médicale de la coccidiose

La prophylaxie de la coccidiose est effectuée dans les élevages 2, 3 et 5. Elle consiste en l'administration de diclazuril à 4 et 7 semaines dans l'élevage 2, à 5 semaines dans l'élevage 5, ou de toltrazuril à 4 semaines dans l'élevage 3. Ce rythme d'administration est conforme aux recommandations de prophylaxie anti-coccidienne.

Comme expliqué précédemment, aucun produit de désinfection de type OO-CIDE® n'est utilisé.

5. Programme de vermifugation des chiots et de la mère

Les programmes de vermifugation des mères sont conformes aux recommandations pour les élevages 1, 2 et 4. La vermifugation dans l'élevage 3 est insuffisante, puisqu'elle n'y a aucune vermifugation pendant la lactation.

Les programmes de vermifugation des chiots sont satisfaisants dans tous les élevages (Cf. tableaux 6 et 7).

Néanmoins, il est légitime de s'interroger quant à l'observance des programmes de vermifugation. Par exemple, une même molécule est administrée un jour dans un élevage et 3 jours consécutifs dans un autre (élevages 2 et 4). Etant donné les rythmes d'administration complexes et l'existence de différentes classes d'âge au sein d'un même élevage, il nous semble judicieux de simplifier ces programmes de vermifugation. Une administration mensuelle de spécialité vermifuge à tous les sujets de l'élevage, par exemple le premier lundi du mois, améliorerait grandement l'observance et par conséquent réduirait la pression parasitaire au sein de l'élevage.

Tableau 6 : Protocole de vermifugation des mères

| | vermifugation | <i>E1</i> | <i>E2</i> | <i>E3</i> | <i>E4</i> | <i>E5</i> |
|---|--------------------------------|---|----------------------|-----------------------------------|-------------------------------|------------------|
| Nombre de jours avant la mise-bas | Date Molécule | J-15 PPF | J-10 Fb et Ox | | J-15 PPF ou MO ou Fl | |
| Nombre de jours après la mise-bas | Date Molécule | J+30 PPF | J+15 à J+17 Fb | | J+10 | J+15 Ox et Fb |
| | Date Molécule | J+60 PPF | | | J+20 Fb | |
| | Date Molécule | | | | J+30 Fb | |
| | Date Molécule | | | | J+45 Fb | |
| | Date Molécule | | | | J+60 Fb | |
| Autres moments d'administration . | | Tous les 3 mois Au début des chaleurs | | Au début des chaleurs Fb | Avant saillie. | Mensuel |

Tableau 7 : Protocole de vermifugation des chiots

| Vermifugations | <i>E1</i> | <i>E2</i> | <i>E3</i> | <i>E4</i> | <i>E5</i> |
|--|-----------|-----------------|-----------------|-----------|-----------------|
| Age des chiots Molécule | J7 Py | J14 à J16 Fb | J14 à J16 Fb | J10 Ox | J15 Fb ou Ox |
| Age des chiots Molécule | J14 Py | J28 à J30 Fb | J35 à J37 Fb | J20 Ox | J30 Fb ou Ox |
| Age des chiots Molécule | J21 Py | J42 à J44 Fb | J49 à J51 Fb | J30 Ox | J45 Fb ou Ox |
| Age des chiots Molécule | J28 Py | J63 à J65 Fb | | J45 Ox | J60 Fb ou Ox |
| Age des chiots Molécule | J45 Py | | | J60 Ox | |
| Age des chiots Molécule | J60 Py | | | | |

E : Elevage. J : Jour.

Fb : Fenbendazole. Fl : Flubendazole. MO : Milbémycine Oxime. Ox : Oxfendazole.

PPF : Praziquantel-Pyrantel-Febantel. Py : Pyrantel.

II. CARACTERISTIQUES DES PORTEES ETUDIEES

1. Taille des portées

La taille des portées à la naissance varie de 1 à 11 chiots à la naissance. Au moment des prélèvements, chaque portée comportait 1 à 8 chiots.

2. Races

Neuf races de chiens appartenant à différents groupes figurent dans l'étude :

- Retrievers (7 portées) : Labrador, Golden Retriever ;
- Terrier (8 portées) : Scottish-terrier, West-Highland-White-Terrier, Cairn-terrier;
- Molosses (1 portée) : Rottweiler ;
- Chiens de bergers (4 portées) : Berger Allemand ;
- Chiens de compagnie (2 portées) : Cavalier-King-Charles, Bouledogue Français.

▪ *Petite race*

Les chiens de petite race ont un poids adulte inférieur ou égal à 12 kg. La taille moyenne des portées à la naissance était de 3,9 chiots/portée, puis au moment des prélèvements 3,1 chiots/portée.

▪ *Grande race*

Les chiens de grande race ont un poids adulte supérieur à 25 kg. La taille moyenne des portées à la naissance était de 7,5 chiots par portée, puis au moment des prélèvements 5,4 chiots par portée.

▪ *Mortinatalité et néomortalité (Cf. tableau 8 et annexe 3)*

La mortinatalité (décès à la naissance) tout élevage confondu est de 11,6% (15 chiots sur 129), et la mortalité néonatale (décès entre 0 et 15j) tout élevage confondu est de 14,9% (17 chiots sur 114). Ces pourcentages moyens sont conformes aux seuils acceptés par les spécialistes de l'élevage canin (GRANDJEAN *et al.* 2003), qui dépassent souvent 20% de mortalité néonatale.

L'autopsie de chiots provenant de l'élevage 3 aurait pu apporter des informations sur les causes de décès des chiots de cet élevage dont les conditions de vie, sur paille, sont peu recommandées.

On remarque dans l'élevage 3 une mortinatalité importante. Il est néanmoins difficile de savoir s'il s'agit d'une véritable mortinatalité car il n'y a pas de surveillance des mise-bas.

Tableau 8 : Mortinatalité et mortalité néonatale dans les élevages participant à l'étude

| | <i>Elevage 1</i> | <i>Elevage 2</i> | <i>Elevage 3</i> | <i>Elevage 4</i> | <i>Elevage 5</i> |
|--------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Mortinatalité (%) | 0 | 15 | 29 | 0/3 | 0 |
| Mortalité néonatale (%) | 13 | 14 | 14 | 0/3 | 26 |

III. PREVALENCE DE *CRYPTOSPORIDIUM* SPP.

Les prélèvements ont été effectués chez 96 chiots âgés entre 6 et 38 jours. La fixation, la coloration et la lecture des lames ont été réalisées dans les 2 jours suivant le recueil des fèces.

Les lames, lues deux fois, n'ont pas révélé la présence de cryptosporidies.

En conclusion, aucune circulation de cryptosporidies n'a été mise en évidence dans les élevages visités.

Aucune autre recherche de parasites intestinaux (coccidies, *Giardia* sp., *Toxocara* sp.) n'a pu être pratiquée étant donné la coloration spécifique aux cryptosporidies ainsi que les très faibles quantités de matières fécales récupérées sur les écouvillons. Aucun écouvillon n'a été par la suite envoyé pour le typage de l'espèce de cryptosporidie mise en évidence sur les lames.

I. ANALYSE CRITIQUE DU MATERIEL ET DES METHODES UTILISEES

1. Protocole

Nous avons voulu estimer la prévalence de la cryptosporidiose dans les élevages français en prélevant les selles de chiots âgés de moins de 5 semaines.

La participation des élevages à cette étude repose sur le volontariat des éleveurs, les motifs de refus ou d'acceptation peuvent être liés au mode de fonctionnement de ces élevages, ce qui exclue de l'étude une catégorie de la population. La représentativité des élevages est donc biaisée de ce fait.

Concernant l'âge des animaux inclus dans l'étude, entre quelques jours et le sevrage, la tranche d'âge choisie permettait de mettre en évidence une circulation de cryptosporidies à une période peu étudiée par les études antérieures. L'analyse des selles des mères aurait pu apporter des informations supplémentaires, si l'on considère que les chiots n'étaient pas encore contaminés.

Nous avons choisi de mettre par écrit des questions simples sur la qualification des symptômes présentés par les chiots. Reconnaissons qu'il est tout de même difficile d'apprécier l'état clinique précis d'un chiot. Les symptômes cliniques sont difficiles à objectiver : par exemple, les selles et les urines sont éliminées par la mère. De même, les variations de taille au sein d'une même portée sont subjectives en l'absence de pesées quotidiennes.

Plusieurs observations quotidiennes auraient été nécessaires pour avoir un sentiment objectif quant à l'état clinique des chiots.

2. Matériel

Le protocole exigeait le recueil de selles de tous les chiots en âge présents à l'élevage. Ainsi, un recours systématique aux écouvillons était nécessaire.

La quantité de matières fécales récoltées avec l'écouvillon est faible, et cela a pu limiter l'exactitude des résultats. En outre, il était impossible de pratiquer d'autres analyses coproscopiques étant donné la faible quantité de selle recueillie et la coloration spécifique

utilisée pour les cryptosporidies. La réalisation d'analyses supplémentaires, telles que celles utilisées pour mettre en évidence des coccidies, aurait été utile si les moyens diagnostiques de cryptosporidiose utilisés dans l'étude étaient des tests ELISA.

Si certes, la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par HENRIKSEN et POHLENZ (1981) est une coloration de référence, l'analyse des lames réclame une lecture attentive de 15 minutes dont le résultat est opérateur-dépendant.

Ce facteur d'incertitude a pu être pallié en partie par une double lecture des lames. L'utilisation de techniques moléculaires telle que la PCR, bien que coûteux, aurait peut-être pu fournir des résultats plus exacts.

II. ANALYSE CRITIQUE DU RESULTAT OBTENU

1. Caractéristiques des élevages et des portées étudiées

Les conditions d'élevage sont peu comparables, tant au niveau structurel que productif. Les localisations géographiques, la présence et l'organisation de locaux spécifiques à l'élevage tout comme la quantité de chiots produits par an (de 5 à 1200 chiots par an suivant les élevages) et les caractéristiques des races sélectionnées ou les soins prodigués aux animaux, diffèrent d'un élevage à l'autre.

L'origine de l'eau distribuée aux chiennes en maternité, eau de ville, ainsi que le rythme de retrait des selles en maternité (au moins quotidien) sont cependant similaires à tous les élevages. Ces mesures permettent de limiter la contamination de l'environnement et des animaux par de possibles oocystes.

Les causes de mortalité néonatale évoquées par les éleveurs sont des écrasements par la mère, des omphalites mais le plus souvent la cause est inconnue. Malheureusement, aucun cadavre n'a pu être autopsié car les corps n'ont pas été conservés par les éleveurs.

Lors de nos visites d'élevages, l'examen clinique des chiots était normal. Seuls 3 chiots d'une portée de 7, âgés de 12 jours, à l'élevage 2 présentaient une diarrhée depuis la veille. Les prélèvements de ces chiots n'ont pas révélé la présence de cryptosporidies.

2. Mesure de la prévalence de *Cryptosporidium* sp.

Les animaux ayant fait l'objet d'un prélèvement sont âgés entre 6 et 38 jours. De nombreuses études relatent la présence de cryptosporidies chez des chiots âgés de 5 semaines (TURNWALD *et al.* 1988) ou même d'une semaine (WILSON *et al.* 1983). Même si une majorité d'études s'intéressent à des animaux plus âgés, il était possible de mettre en évidence des cryptosporidies à cet âge-là.

En raison de difficultés pratiques et de l'éloignement des élevages, un seul prélèvement par chiot a été effectué. Or, la période prépatente de *C. canis*, en admettant qu'elle soit similaire à *C. parvum*, est comprise entre 2 et 14 jours (KIRKPATRICK et DUBEY 1987), ce qui a pu fausser quelque peu les résultats de mesure de prévalence. Il aurait été judicieux de réaliser de nouveaux prélèvements sur chaque chiot, identifié lors de la première visite, 15 jours plus tard.

D'après LLOYD et SMITH (1997), l'excrétion d'ookystes de *C. parvum* est cyclique. Si à l'instar de *C. parvum*, l'excrétion de *C. canis* est intermittente, la réalisation d'un unique prélèvement, comme c'était le cas pour notre étude, peut altérer les résultats.

Il faut souligner la difficulté de réalisation des prélèvements en raison des faibles quantités de selles présentes dans le rectum, dues à l'élimination maternelle et à la petite taille des chiots, ce qui a pu modifier l'exactitude des résultats.

CONCLUSION

Cette étude n'a pas permis de mettre en évidence la circulation de cryptosporidies pendant la période néonatale au sein des élevages visités et donc par extension d'estimer la prévalence dans les élevages canins français.

Par conséquent aucun facteur de risque n'a pu être mis en évidence.

Des études prospectives chez des chiens tout-venant seraient complémentaires de l'étude que nous venons de conduire. En particulier, des examens coproscopiques chez des chiens plus âgés devraient être faits pour estimer précisément l'âge d'apparition de cette maladie et pour mieux appréhender le rôle de réservoir que peut jouer nos animaux de compagnie.

En attendant ces enquêtes supplémentaires, nous pourrions recommander en matière de prophylaxie :

- de respecter les règles d'hygiène élémentaires en élevage, à savoir le retrait quotidien des selles, des nettoyages et désinfections quotidiens avec l'utilisation régulière de produits à base d'ammoniaque ou de procédés utilisant la chaleur,
- d'effectuer de manière systématique des examens coproscopiques chez des chiens présentant des diarrhées chroniques ou intermittentes,
- de rechercher des cryptosporidies chez des chiens vivant au contact de personnes à risque et de leur inculquer des règles strictes d'hygiène (lavage des mains après le ramassage des selles ou après avoir caressé leur animal).

Enfin, il est important de rappeler l'importance du vétérinaire dans la prescription. En effet, les traitements proposés par divers auteurs pour la cryptosporidiose du chien sont les mêmes que ceux employés en médecine humaine. Il est alors légitime de s'interroger sur l'intérêt de traiter nos animaux domestiques avec des molécules qui jugulent difficilement les cryptosporidioses des individus immunodéprimés. Cela pourrait favoriser l'émergence de cryptosporidies résistantes aux traitements usuels et alors mettre en péril la vie d'individus au système immunitaire défaillant.

BIBLIOGRAPHIE

- ABE N., SAWANO Y., YAMADA K., KIMATA I., ISEKI M. (2002) *Cryptosporidium* infection in dogs in Osaka, Japan. *Vet.Parasitol.*, **108**(3) : 185-193.
- ABRAHAMSEN M.S., TEMPLETON T.J., ENOMOTO S., ABRAHANTE J.E., ZHU G., LANCTO C.A. *et al.* (2004) Complete genome sequence of the apicomplexan, *Cryptosporidium parvum*. *Science* **304** : 441-445.
- ALVES M., MATOS O., PEREIRA DA FONSECA I., DELGADO E., LOURENCO A.M., ANTUNES F. (2001) Multilocus genotyping of *Cryptosporidium* isolates from human HIV-infected and animal-hosts. *J.Eukaryot.Microbiol Suppl*, 17S-18S.
- ANGUS K.W., HUTCHISON G., MUNRO H.M. (1985) Infectivity of a strain of *Cryptosporidium* found in the guinea-pig (*Cavia porcellus*) for guinea-pigs, mice and lambs. *J. Comp. Pathol.* **95** : 151-165.
- AUGUSTIN-BITCHL G., BOCH J., HENKEL G. (1984) *Cryptosporidium* infections in dogs and cats. *Berl. Munch. Tierarztl. Wschr.* , **97** : 179-181.
- BARR F. (1997) Cryptosporidiosis. *J. Small Anim. Pract.*, **38** (7) : 319-320.
- BARR S.C., GUILFORD W.G., JAMROSZ G.F. *et al.* (1994) Paromomycin for the treatment of *Cryptosporidium* in dogs and cats. *J.Vet.Int.Med.*, **8** : 177.
- BARR S.C., JAMROSZ G.F., HORNBUCKLE W.E., BOWMAN D.D., FAYER R. (1994) Use of paromomycin or treatment of cryptosporidiosis in a cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **205** : 1742-1743.
- BARTA R.J. and ANDREW THOMPSON R.C. (2006) What is *Cryptosporidium* ? Reappraising its biology and phylogenetic affinities. *Trends in parasitology*, **22**(10) : 463-468.
- BLAGBURN B.L. et SOAVE R. (1997) Prophylaxis and chemotherapy : human and animal. *In : Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*, 1st Ed. CRC press, 111-128 .
- BLEWETT D.A., WRIGHT S.E., CASEMORE D.P., BOOTH E., JONE C.E. (1993) Infective dose size studies on *Cryptosporidium parvum* using gnotobiotic lambs. *Water science and technology*, **27** : 61-64.
- BUGG R.J., ROBERTSON I.D., ELLIOT A.D., THOMSON C.A. (1999) Gastrointestinal parasites of urban dogs in Perth, Western Australia. *Vet. J.*, **157** : 295-301.
- BUSSIERAS J. et CHERMETTE R. (1991) *Parasitologie vétérinaire, parasitologie générale*. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Service de Parasitologie. 75 p.
- CACCIO S., PINTER E., FANTINI R., MUZZAROMA I., POZIO E. (2002) Human infection with *Cryptosporidium felis*: case report and literature review. *Emerg.Infect.Dis.*, **8** : 85-86.

- CASEMORE D.P., SANDS R.L., CURRY A. (1985) *Cryptosporidium* species a 'new' human pathogen. *J. Clin. Pathol.* **38** : 1321-1336.
- CAUSAPE A.C., QUILEZ J., SANCHEZ-ACEDO C., DEL CACHO E. (1996) Prevalence of intestinal parasites, including *Cryptosporidium parvum*, in dogs in Zaragoza city, Spain. *Vet. Parasitol.*, **67** : 161-167.
- CHERMETTE R. et BLONDEL S. (1989) Cryptosporidiose des carnivores domestiques, résultats préliminaires en France. *Bull. Soc. Franc. Parasitol.*, **7** : 31-36.
- CIRAK V.Y. et BAUER C. (2004) Comparison of conventional coproscopical methods and commercial coproantigen ELISA kits for the detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dogs and cats. *Berl. Munch. Tierarztl. Wschr.*, **117** : 410-413.
- CURRENT W.L., REESE N.C., ERNST J.V., BAILEY W.S., HEYMAN M.B., et WEINSTEIN W.M. (1983) Human cryptosporidiosis in immunocompetent and immunodeficient persons. Studies of an outbreak and experimental transmission. *N. Engl. J. Med.*, **308**(21) : 1252-1257.
- DENHOLM KM, HAITJEMA H, GWYNNE BJ, MORGAN UM et IRWIN PJ (2001) Concurrent *Cryptosporidium* and parvovirus in a puppy. *Aust. Vet. J.* , **79** : 98-101.
- DEROUIN F., ELIASZEWICZ M., POUILLOT R., ROZE S. (2002) Rapport sur les « Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » : « Evaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium* sp. » AFSSA [<http://www.afssa.fr/Documents/EAUX-Ra-Crypto.pdf>] (consulté le 13 novembre 2007)
- EGGER M., NGUYEN X.M., SCHAAD U.B., KRECH T. (1990) Intestinal cryptosporidiosis acquired from a cat. *Infection*, **18**: 177-178.
- EL-AHRAF A., TACAL J.V., SOBIH M., AMIN M., LAWRENCE W., WILCKE B.W.(1991) Prevalence of cryptosporidiosis in dogs and human beings in San Bernadino County, California. *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, **198** (4) : 631-634.
- EL-HOHARY A.H., ABDEL-LATIF A.M.(1998) Zoonotic importance of Cryptosporidiosis among some animals at Gharbia Province in Egypt. *Indian J. Anim. Sci.*, **68** : 305-307.
- FAYER R., TROUT J.M., XIAO L., MORGAN U.M., LAI A.A., DUBEY J.P.(2001) *Cryptosporidium canis* n. sp. from domestic dogs. *J. Parasitol.* , **87** (6) : 1415-1422.
- FAYER, R. et al. (1997) The general biology of *Cryptosporidium*. In : *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis, 1st Ed. CRC Press, 1-41.
- FRETZ R., SVOBODA P., RYAN U.M., THOMSON R.C., TANNERS M., BAUMGARTNER A. (2003) Genotyping of *Cryptosporidium* spp. isolated from human stool samples in Switzerland. *Epidemiol. Infect.*, **131** : 663-667.
- FUKUSHIMA K., HELMAN R.G. (1984) Cryptosporidiosis in a pup with distemper. *Vet. Pathol.*, **21** : 247-248.

- GATEI W., SUPUTTAMONGKOL Y., WAYWA D., ASHFORD R.W., BAILEY J.W., GREENVILL J. *et al.* (2002) Zoonotic species of *Cryptosporidium* are as prevalent as the anthroponotic in HIV-infected patients in Thailand. *Ann.Trop.Med.Parasitol*, **96** : 797-802.
- GIANGASPERO A., IORIO R., PAOLETTI B., TRAVERSA D., CAPELLI G. (2006) Molecular evidence for *Cryptosporidium* infection in dogs in Central Italy. *Parasitol. Res.*, **99** : 297-299.
- GOOKIN J.L., LEVY M.G., LAW J.M., PAPICH J.M., POORE M.F., BREITSCHWERDT E.B. (2001) Experimental infection of cats with *Tritrichomonas foetus*. *Am. J. Vet. Res.*, **62** : 1690-1697.
- GOOKIN J.L., RIVIERE J.E., GILGER B.C., PAPICH M.G.(1999) Acute renal failure in four cats treated with paromomycin. *J. Am.Vet Med.Assoc.*, **215** : 1806, 1821-1823.
- GRACZYK T.K., CRANFIELD M.R., FAYER R.(1996) Evaluation of commercial enzyme immunoassay (EIA) and immunofluorescent antibody (FA) test kits for detection of *Cryptosporidium* oocysts of species other than *C. parvum*. *Am.J.Trop. Med.Hyg.*, **54** : 274-279.
- GRANDJEAN D., PIERSON P., CACCIANI F., PAWLOWIEZ S., MICHALLET T. (2003) *Guide pratique de l'élevage canin*. 3rd ed. Aniwa publishing, 347 p.
- GREENE CE, JACOB GJ, PRICKETT D.(1990) Intestinal malabsorption and cryptosporidiosis in an adult dog. *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, **197** : 365-367.
- GRIMASON A.M., SMITH H.V., PARKER J.F.W., JACKSON M.H., SMITH P.G., GIRDWOOD R.W. (1993) Occurrence of *Giardia* sp. cysts and *Cryptosporidium* sp. oocysts in feces from Public Parks in the west of Scotland. *Epidemiol.Infect.*, **110** : 641-645.
- GUYOT K., FOLLET-DUMOULIN A., LELIEVRE E., SARFATI C., RABODONIRINA M., NEREZ G. *et al.* (2001) Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates obtained from Humans in France. *J.Clin.Microbiol.*, **39** : 3472-3480.
- HACKETT T., LAPPIN M.R.(2003) Prevalence of enteric pathogens in dogs of north-central Colorado. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, **39** : 52-56.
- HAJDUSEK O., DITRICH O., SLAPETA J.(2004) Molecular identification of *Cryptosporidium* spp. in animal and human hosts from the Czech Republic. *Vet. Parasitol.* **122**(3) : 183-192.
- HAMNES I.S., GJERDE B.K., ROBERTSON L.J. (2007) A longitudinal study on te occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in dogs during their first year of life. *Acta.Vet.Scand.* **49**(1) : 22.
- HENRIKSEN et POHLENZ (1981) Staining of Cryptosporidia by a modified Ziehl-Nielsen technique. *Acta.Vet.Scand.* **22**(3-4) : 594-596.

- HIJAWI N.S., MELONI B.P., NG'ANZO M., RYAN U.M., OLSON M.E., COX P.T. *et al.* (2004) Complete development of *Cryptosporidium parvum* in host cell-free culture. *Int. J. Parasitol.* **34** : 769–777
- HUBER F., BOMFIM T.C., GOMES R.S. (2005) Comparison between natural infection by *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. in dogs in two living situations in the West Zone of the municipality of Rio de Janeiro. *Vet. Parasitol.*, **130**(1-2) : 69-72.
- JAFRI H., MOORHEAD A.R., REEDY T., *et al.* (1993) Detection of pathogenic protozoa in fecal specimens from urban dwelling dogs. *Am.J.Trop.Med.Hyg.*, **49** : S269.
- JOHNSTON J., GASSER R.B. (1993) Copro-parasitological survey of dogs in Southern-Victoria. *Aust. Vet. Practit.*, **23** : 127-131.
- JOHNSTON S.P., BALLARD M.M., BEACH M.J., CAUSER L., WILKINS P.P. (2003) Evaluation of three commercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens. *J. Clin. Microbiol.*, **41**(2) : 623-626
- JUETT B.W., OTERO R.B., BISCHOFF W.H. (1996) *Cryptosporidium parvum* in the domestic dog population of central Kentucky. *Trans. KY. Acad. Sci.*, **57** : 18-21.
- KIM J.T., WEE S.H., LEE C.G. (1998) Detection of *Cryptosporidium* oocysts in canine fecal samples by immunofluorescence assay. *Korean J. Parasitol.*, **36** : 147-149.
- KIRKPATRICK C.E., DUBEY J.P.(1987) Enteric coccidial infections. Isospora, Sarcocystis, *Cryptosporidium*, *Besnoitia*, and *Hammondia*. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, **17**(6) : 1405-1420.
- KOCH K.L., SHANKEY T.V., WEINSTEIN G.S., DYE R.E., ABT A.B., CURRENT W.L. *et al.* (1983) Cryptosporidiosis in a patient with hemophilia, common variable hypogammaglobulinemia and the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. Intern. Med.*, **99** : 337-339.
- LEFEBVRE S.L., WALTNER-TOEWS D., PEREGRINE A.S., REID-SMITH R., ARROYO L.G., WEESE J.S. (2006) Prevalence of zoonotic agents in dogs visiting hospitalized people in Ontario: implications for infection control. *J.Hosp.Infect.*, **62**(4) : 458-466.
- LINDEGARD G., NYDAM D.V., WADE S.E., *et al.* (2003) A novel multiplex polymerase chain reaction approach for detection of four human infective *Cryptosporidium* isolates : *Cryptosporidium parvum*, types H and C, *Cryptosporidium canis*, and *Cryptosporidium felis* in fecal and soil samples. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **15** : 262-267.
- LINDSAY D.S., UPTON S.J., OWEN D.S., MORGAN U.M., MEAD J.R., BLAGBURN B.L. (2000) *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa : Cryptosporiidae) from cattle, *Bos taurus*. *J. Eukaryot. Microbiol.* **47** : 91–95.
- LINDSAY D.S., ZAJAC A.M. (2004) *Cryptosporidium* infections in cats and dogs. *Compend.Cont.Educ.Pract.Vet.*, **26**(11) : 864-874.

- LLOYD S. et SMITH J. (1997) Pattern of *Cryptosporidium parvum* oocyst excretion by experimentally infected dogs. *Int. J. Parasitol.*, **27**(7) : 799-801.
- LOWERY C.J., MILLAR B.C., MOORE J.E., XU J., XIAO L., ROONEY P.J. *et al.* (2001) Molecular genotyping of human cryptosporidiosis in Northern Ireland: epidemiological aspects and review. *Ir.J.Med.Sci.*, **170** : 246-250.
- MALLON M.E., MACLEOD A., WASTLING J.M., SMITH H., TAIT A. (2003) Multilocus genotyping of *Cryptosporidium parvum* Type 2: population genetics and sub-structuring. *Infect. Genet. Evol.* **3** : 207–218.
- MCLAUCHLIN J., AMAR C., PEDRAZA-DIAZ S., NICHOLS G.L. (2000) Molecular epidemiological analysis of *Cryptosporidium* spp. in the United-Kingdom: results of genotyping *Cryptosporidium* spp. in 1705 fecal samples from humans and 105 fecal samples from livestock animals. *J.Clin.Microbiol.*, **38** : 3984-3990.
- MILLER D.L., LIGGETT A., RADI Z.A., BRANCH L.O. (2003) Gastrointestinal cryptosporidiosis in a puppy. *Vet. Parasitol.*, **115** : 199-204.
- MILSTEIN T.C., GOLDSMITH J.M. (1995) The presence of Giardia and other zoonotic parasites of urban dogs in Hobart, Tasmania. *Aust. Vet. J.*, **72** : 154-155.
- MORGAN U., WEBER R., XIAO L., SULAIMAN I., THOMPSON R.C., NDIRITU W. (2000) Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates obtained from Human immunodeficiency virus-infected individuals living in Switzerland, Kenya, and the United-States. *J.Clin.Microbiol.*, **38** : 1180-1183.
- MORGAN-RYAN U.M., FALL A., WARD L.A., HIJAWI N., SULAIMAN I., FAYER R. *et al.* (2002) *Cryptosporidium hominis* n. sp. (Apicomplexa : *Cryptosporidiidae*) from Homo sapiens. *J. Eukaryot. Microbiol.* **49** : 433–440.
- MTAMBO M.M., NASH A.S., BLEWETT D.A., WRIGHT S. (1992) Comparison of staining and concentration techniques for detection of *Cryptosporidium* oocysts in cat faecal specimens. *Vet. Parasitol.*, **45** : 49-57.
- MUNDIM M.J.S., ROSA L.A.G., HORTÊNCIO S.M., FARIA E.S.M., RODRIGUES R.M. CURY M.C. (2007) Prevalence of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in dogs from different living conditions in Uberlândia, Brazil. *Vet. Parasitol.*, **144**(3-4) : 356-359.
- OKHUYSEN PC, CHAPPELL CL, CRABB JH, STERLING C.R., DUPONT H.L. (1999) Virulence of three distinct *C. parvum* isolates for healthy adults. *J. Infect. Dis.*, **180** : 1275-1281.
- ONG C.S., EISLER D.L., ALIKHANI A., FUNG A.W., TOMBLIN J., BOWIE W.R. *et al.* (2002) Novel *Cryptosporidium* genotypes in sporadic cryptosporidiosis cases: first report of human infections with a cervine genotype. *Emerg. Infect. Dis.*, **8** : 263-268.

- PEDRAZA-DIAZ S., AMAR C., IVERSEN A.M., STANLEY P.J., MCLAUCHLIN J. (2001) Unusual *Cryptosporidium* species recovered from human faeces: first description of *Cryptosporidium felis* and *Cryptosporidium* “dog type” from patients in England. *J. Med. Microbiol.*, **50** : 293-296.
- PIENIAZEK N.J., BORNAY-LLINARES F.J., SLEMENDA S.B., DA SILVA A.J., MOURA J.N., ARROWOOD M.J. *et al.* (1999) New *Cryptosporidium* genotypes in HIV-infected persons. *Emerg. Infect. Dis.*, **5** : 444-449.
- POHJOLA S. (1984) Survey of cryptosporidiosis in feces of normal healthy dogs. *Nord. Vet. Med.*, **36** : 189-190.
- SCORZA A.V., BREWER M.M., LAPPIN M.R. (2003) Polymerase chain reaction for the detection of *Cryptosporidium* spp. in cat faeces. *J. Parasitol.*, **89** : 423-426.
- SIMPSON W., BURNIE A.G., MILES R.S., COTT J.L., LINDSAY D.I. (1988) Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* infection in dogs in Edinburgh. *Vet. Rec.*, **123** : 445.
- SINCLAIR M., GASSER R.B., EL-OSTA A., *et al.* (2003) Genotyping of human *Cryptosporidium* infections in Australia. *Epidemiology.*, **14** : S119.
- SISK D.B., GOSSER H.S., STYER E.L., BRANCH L.O. (1984) Intestinal cryptosporidiosis in two pups. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **184**(7) : 835-836.
- SPALETA J. (2007) *Cryptosporidium* species found in cattle : a proposal for a new species, *trends in parasitology* **22** (10).
- TURNWALD G.H., BARTA O., TAYLOR W., KREEGER J., COLEMAN S.U., POURCIAU S.S. (1988) Cryptosporidiosis associated with immunosuppression attributable to distemper in a pup. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **192** : 79-81.
- TYZZER E.E. (1907) A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **5** : 12-13.
- TZIPORI S., WARD H. (2002) Cryptosporidiosis : biology, pathogenesis and disease. *Microbes Infect.*, **4** : 1047-1058.
- UGA S., MATSUMURA T., ISHIBASHI K., YODA Y., YATOMI K., KATAOKA N. (1989) Cryptosporidiosis in dogs and cats in Hyogo prefecture, Japan. *Jpn. J. Parasitol.*, **38** : 139-143.
- UPTON S.J. *et al.* (1985) The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) infecting mammals. *J. Parasitol.* **71** : 625-629.
- WEBER R., BRYAN R.T., JURANEK D.D. (1992) Improved stool concentration procedure for detection of *Cryptosporidium* oocysts in fecal suspensions. *J. Clin. Microbiol.*, **30** : 2869-2873.
- WILLARD M.D., BOULEY D. (1999) Cryptosporidiosis, coccidiosis, and total colonic mucosal collapse in an immunosuppressed puppy. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, **35** : 405-409.

WILSON R.B., HOLSCHER M.A., LYLE S.J. (1983) Cryptosporidiosis in a pup
J.Am.Vet.Med.Assoc., **183** : 1005-1006.

XIAO L., BERN C., LIMOR J., SULAIMAN I., ROBERTS J., CHECKLEY W., CABRERA L., GILMAN R.H., LAL A.A. (2001) Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites in children in Lima, Peru. *J. Infect. Dis.*, **183**(3) : 492-497.

XIAO L., CAMA V.A., CABRERA L., ORTEGA Y., PEARSON J., GILMAN R.H. (2007) Possible transmission of *Cryptosporidium canis* among Children and a Dog in a household. *J.Clin.Microbiol.***45**(6) : 2014-2016

YAGITA K., IZUMIYAMA S., TACHIBANA H., MASUDA G., ISEKI M. FURUYA K. *et al.* (2001) Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates obtained from human and bovine infections in Japan. *Parasitol. Res.*, **87** : 950-955.

ANNEXE 1: Questionnaire sur le mode d'élevage

QUESTIONNAIRE CONCERNANT L'ETUDE DE PREVALENCE DE *CRYPTOSPORIDIUM* SPP EN FRANCE

No ELEVAGE :

RENSEIGNEMENTS GENERAUX SUR VOTRE ELEVAGE :

-Race(s) élevé(es) :

-Nombre d'animaux présents :

-Nombre de chiots élevés par an :

-Historique médical de votre élevage, en cas de maladies infectieuses avérées :

RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LE MODE DE FONCTIONNEMENT DE VOTRE ELEVAGE

Modes d'alimentation et d'abreuvement des animaux

-Abreuvement :

Fréquence du changement d'eau :

Origine de l'eau : Eau de ville ? Puit ? Forage ?

-Alimentation :

Age au moment du sevrage :

Nom de l'aliment distribué aux chiots :

Hygiène générale de l'élevage

Rythme de retrait des excréments.

Rythme du nettoyage et/ou de la désinfection des locaux. Noms commerciaux des produits utilisés.

-Locaux des adultes

-Maternité

**RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LA PROPHYLAXIE EFFECTUEE DANS VOTRE
ELEVAGE :**

→ **Protocoles vaccinaux : valences, rythmes, noms déposés**

-Mères :

-Chiots :

→ **Protocoles de vermifugation : indiquez les moments d'administration par rapport à la mise-bas et les noms des spécialités utilisées.**

-Mères :

-Chiots :

Avez-vous un programme de lutte contre les coccidies ?

Si oui, indiquez le(s) médicament(s) utilisé(s), précisez quelles sont les catégories d'animaux traités et le moment d'administration du(des) médicament(s).

? Remarques particulières ?

ANNEXE 2 : Questionnaire sur chaque portée

QUESTIONNAIRE CONCERNANT L'ETUDE DE PREVALENCE DE *CRYPTOSPORIDIUM* SPP EN FRANCE

No ELEVAGE :

RENSEIGNEMENTS GENERAUX CONCERNANT LA PORTEE

Identification de la mère :

Race de la mère :

Lettre de mise-bas :

Date de mise-bas : . . / . .

Nombre de chiots nés :

Nombre de chiots morts :

Date de décès :

DATE DU PRELEVEMENT : . . / . . / . .

AGE DES CHIOTS :

SYMPTOMES OBSERVES CHEZ LES CHIOTS DEPUIS LA MISE-BAS

-Retards de croissance : oui non

-Ont-ils eu de la diarrhée : oui non

Si oui, notez l'aspect des selles (glaireuses, boueuses, hémorragiques....) :

Date d'apparition des symptômes :

Durée des symptômes :

-Ont-ils eu des troubles respiratoires (toux, écoulement nasal) : oui non

Date d'apparition des symptômes :

Durée des symptômes :

-Ont-ils eu une période d'anorexie (3-4 jours) précédant l'apparition des symptômes ?

oui

non

-Autres symptômes ?

(Type, date d'apparition des symptômes, durée des symptômes).

Indiquez tous les traitements reçus par les chiots depuis la naissance, à l'exception de ceux cités dans la partie prophylaxie de l'élevage, avec la dose, la date et la durée de leur administration :

LACTATION DE LA MERE :

Croissance correcte des chiots : oui

non

Indiquez s'il y a eu des mammites, des troubles digestifs ou respiratoires, ou autres...:

Date d'apparition et durée des symptômes :

Traitements éventuels : indiquez le nom, la dose, la date et la durée d'utilisation des médicaments utilisés.

ANNEXE 3 :

Tableau récapitulatif des portées étudiées, représentant le nombre et l'âges des chiots vus, les symptômes observés et le nombre de chiots morts.

| Elevege | <i>Elevege 1</i> | | | | | | <i>Elevege 2</i> | | | | | | | | <i>Elevege 3</i> | | | | <i>Elevege 4</i> | <i>Elevege 5</i> | | |
|-----------------------------------|------------------|--------|--------|--------|--------|--------|-----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|------------------|--------|--------|--------|------------------|------------------|--------|--------|
| | A | B | C | D | E | F | A | B | C | D | E | F | G | H | A | B | C | D | A | A | B | C |
| Age des chiots | 25 | 19 | 19 | 22 | 26 | 38 | 12 | 6 | 8 | 10 | 18 | 7 | 14 | 12 | 29 | 9 | 7 | 14 | 25 | 29 | 27 | 14 |
| Nombre de chiots | 3 | 4 | 5 | 4 | 4 | 1 | 7 | 7 | 4 | 3 | 2 | 4 | 2 | 11 | 5 | 4 | 3 | 8 | 3 | 6 | 2 | 6 |
| Mort-nés Mortinatalité | 0 1 | 0 1 | 0 1 | 0 0 | 0 0 | 0 0 | 2 0 | 0 0 | 5 0 | 0 0 | 0 4 | 0 0 | 1 0 | 0 2 | 5 0 | 2 1 | 1 1 | 1 0 | 0 0 | 0 0 | 0 3 | 0 2 |
| Symptômes observés | X | X | X | X | X | X | Diarrhée +/- verte | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |

Etude de la prévalence de la cryptosporidiose en élevage canin

NOM et Prénom : BOURDAIS-MASSENET David

Résumé

La cryptosporidiose est une protozoose intestinale dont les symptômes d'intensité variable (pas de symptômes à diarrhée aiguë ou chronique, amaigrissement), touchant plus particulièrement les individus immunodéprimés et les jeunes.

Nous avons voulu connaître la prévalence de cette parasitose chez le chiot au sein d'élevages canins français.

Ainsi, les selles de 96 chiots, non-sevrés, issus de 5 élevages différents ont fait l'objet d'analyses coproscopiques. Les données cliniques et les caractéristiques techniques de chaque élevage ont été recueillies à partir de questionnaires sur le fonctionnement de l'élevage et sur le développement de chaque portée.

Les résultats des analyses de selles, après double lecture, ont montré une prévalence nulle.

Néanmoins, des études conduites à une plus grande échelle sont nécessaires afin de mieux évaluer la prévalence de *Cryptosporidium* sp. dans le but de statuer sur le rôle de réservoirs que peut jouer le chiot dans cette protozoose qui peut être zoonotique suivant les souches présentes .

Mots-clés :

CRYPTOSPORIDIOSE / PROTOZOOSE / INTESTIN / DIARRHÉE /
AMAIGRISSEMENT / COPROSCOPIE / PREVALENCE DES MALADIES / ELEVAGE
CANIN / CARNIVORE / CHIEN / CHIOT

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Maître de conférences, M. Bruno Polack

Assesseur : Professeur, M. Dominique Grandjean

Adresse de l'auteur :

M. David BOURDAIS-MASSENET

5, résidence Le Parc

94700 Maisons-Alfort.

Cryptosporidiosis prevalence evaluation in french dog breeding

SURNAME : BOURDAIS-MASSNET

Given name : David

Summary

Cryptosporidiosis is an intestinal protozooosis that can cause no symptoms to non-specific symptoms (acute or chronic diarrhoea, wasting), affecting more particularly immunocompromised and young animals. We wanted to know *Cryptosporidium* sp. prevalence in puppies in french dogs breeding.

Thus, we examined the stools of 96 pups, not yet weaned, from 5 different dog breedings. Health from each litter and technical management in each breeding were analyzed from questionnaires.

None stool sample contained *Cryptosporidium* sp.

Nevertheless, complementary researches are needed to improve *Cryptosporidium* sp. prevalence evaluation, in order to statuate on the function of puppies as a reservoir in this potential zoonotic disease.

Keywords

CRYPTOSPORIDIOSIS/PROTOZOOSIS/INTESTINE/WASTING/FECAL-EXAMINATION/DISEASE PREVALENCE/DOGBREEDING/CARNIVORA/DOG/PUPPY

Jury :

President : Pr.

Director : Maître de conférences, Mr. Bruno POLACK

Assessor : Professeur, Mr. Dominique GRANDJEAN

Author's address:

Mr. David BOURDAIS-MASSNET

5, résidence Le Parc

94700 Maisons-Alfort