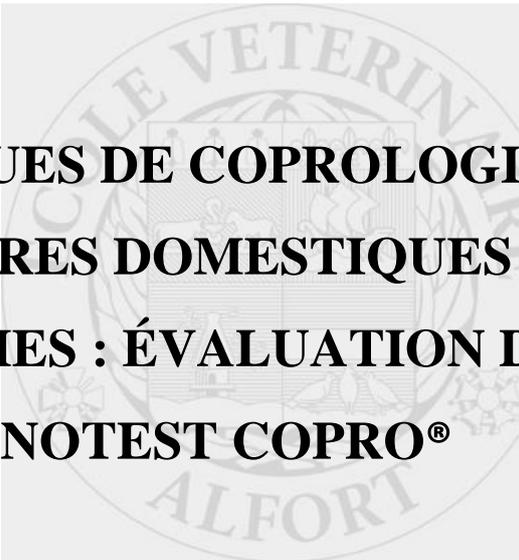


Année 2015



**LES TECHNIQUES DE COPROLOGIE CHEZ
LES CARNIVORES DOMESTIQUES ET LES
LAGOMORPHES : ÉVALUATION DU KIT
URANOTEST COPRO®**

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

Le 5 novembre 2015

par

Clémentine, Alizée DEGUILHEM

Née le 27 février 1989 à Vannes (Morbihan)

JURY

**Président : Mme Françoise BOTTEREL
Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL**

Membres

Directeur : M. Jacques GUILLOT

Professeur à l'ENVA

Assesseur : Mme Valérie FREICHE

Praticien hospitalier à l'ENVA

LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur : M. le Professeur GOGNY Marc

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs : COTARD Jean-Pierre, MIALOT Jean-Paul, MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles, TOMA Bernard.
Professeurs honoraires : Mme et MM. : BENET Jean-Jacques, BRUGERE Henri, BRUGERE-PICOUX Jeanne, BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, CHERMETTE René, CLERC Bernard, CRESPEAU François, DEPUTTE Bertrand, MOUTHON Gilbert, MILHAUD Guy, POUCHELON Jean-Louis, ROZIER Jacques.

DEPARTEMENT D'ELEVAGE ET DE PATHOLOGIE DES EQUIDES ET DES CARNIVORES (DEPEC)

Chef du département par intérim : M. GRANDJEAN Dominique, Professeur - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Professeur

<p>UNITE DE CARDIOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme CHETBOUL Valérie, Professeur * - Mme GKOUNI Vassiliki, Praticien hospitalier - Mme SECHI-TREHIOU Emilie, Praticien hospitalier <p>UNITE DE CLINIQUE EQUINE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. AUDIGIE Fabrice, Professeur - Mme BERTONI Lélia, Maître de conférences contractuel - Mme BOURZAC Céline, Maître de conférences contractuel - M. DENOIX Jean-Marie, Professeur - Mme GIRAUDET Aude, Praticien hospitalier * - Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Praticien hospitalier - Mme TRACHSEL Dagmar, Maître de conférences contractuel <p>UNITE D'IMAGERIE MEDICALE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme PEY Pascaline, Maître de conférences contractuel - Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier <p>UNITE DE MEDECINE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. AGUILAR Pablo, Praticien hospitalier - Mme BENCHEKROUN Ghita, Maître de conférences - M. BLOT Stéphane, Professeur* - M. CAMPOS Miguel, Maître de conférences associé - Mme FREICHE-LEGROS Valérie, Praticien hospitalier - Mme MAUREY-GUENEC Christelle, Maître de conférences <p>UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme CLERO Delphine, Maître de conférences contractuel - M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences - M. GRANDJEAN Dominique, Professeur * - Mme MAENHOUDT Cindy, Praticien hospitalier - M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences - Mme YAGUIYAN-COLLIARD Laurence, Maître de conférences contractuel 	<p>DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. PARAGON Bernard, Professeur <p>DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences <p>UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. BLAGA Radu Gheorghe, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Mme COCHET-FAIVRE Noëlle, Praticien hospitalier - M. GUILLOT Jacques, Professeur * - Mme MARIIGNAC Geneviève, Maître de conférences - M. POLACK Bruno, Maître de conférences - Mme RISCO CASTILLO Verónica, Maître de conférences (rattachée au DSBP) <p>UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. FAYOLLE Pascal, Professeur - M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences - M. MANASSERO Mathieu, Maître de conférences - M. MOISSONNIER Pierre, Professeur* - Mme RAVARY-PLUMIOEN Béragère, Maître de conférences (rattachée au DPASP) - Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Professeur - M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences <p>DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme STEBLAJ Barbara, Praticien Hospitalier <p>DISCIPLINE : NOUVEAUX ANIMAUX DE COMPAGNIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. PIGNON Charly, Praticien hospitalier
--	--

DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP)

Chef du département : M. MILLEMANN Yves, Professeur - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Professeur

<p>UNITE D'HYGIENE QUALITE ET SECURITE DES ALIMENTS</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Professeur - M. BOLNOT François, Maître de conférences * - M. CARLIER Vincent, Professeur <p style="text-align: center;">UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme DUFOUR Barbara, Professeur* - Mme HADDAD/HOANG-XUAN Nadia, Professeur - Mme PRAUD Anne, Maître de conférences - Mme RIVIERE Julie, Maître de conférences contractuel <p>UNITE DE PATHOLOGIE DES ANIMAUX DE PRODUCTION</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. ADJOU Karim, Maître de conférences * - M. BELBIS Guillaume, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel - M. MILLEMANN Yves, Professeur - Mme ROUANNE Sophie, Praticien hospitalier 	<p style="text-align: center;">UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme CONSTANT Fabienne, Maître de conférences* - M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Mme MASSE-MOREL Gaëlle, Maître de conférences contractuel - M. MAUFFRE Vincent, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel - Mme EL BAY Sarah, Praticien hospitalier <p>UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. ARNE Pascal, Maître de conférences - M. BOSSE Philippe, Professeur* - M. COURREAU Jean-François, Professeur - Mme DE PAULA-REIS Alline, Maître de conférences contractuel - Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur - Mme LEROY-BARASSIN Isabelle, Maître de conférences - M. PONTER Andrew, Professeur - Mme WOLGUST Valérie, Praticien hospitalier
--	--

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)

Chef du département : Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur - Adjoint : Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences

<p>UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. CHATEAU Henry, Maître de conférences* - Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur - M. DEGUEURCE Christophe, Professeur - Mme ROBERT Céline, Maître de conférences <p>DISCIPLINE : ANGLAIS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme CONAN Muriel, Professeur certifié <p>UNITE DE BIOCHIMIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences* - Mme LAGRANGE Isabelle, Praticien hospitalier - M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences <p>DISCIPLINE : BIostatISTIQUES</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. DESQUILBET Loïc, Maître de conférences <p>DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. PHILIPS Pascal, Professeur certifié <p>DISCIPLINE : ETHOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme GILBERT Caroline, Maître de conférences <p>UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences - M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur* 	<p>UNITE D'HISTOLOGIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences* - M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur - Mme LALOY Eve, Maître de conférences contractuel - M. REYES GOMEZ Edouard, Maître de conférences <p>UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur - Mme LE ROUX Delphine, Maître de conférences - Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur* <p>UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur - M. PERROT Sébastien, Maître de conférences - M. TISSIER Renaud, Professeur* <p>UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur - Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences - M. TIRET Laurent, Professeur * <p>DISCIPLINE : VIROLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences * <p>DISCIPLINE : SCIENCES DE GESTION ET DE MANAGEMENT</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme FOURNEL Christelle, Maître de conférences contractuel
---	---

* responsable d'unité

REMERCIEMENTS

À Madame Françoise BOTTEREL

Professeur à la faculté de Médecine de Créteil,
Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de thèse.
Hommage respectueux.

À Monsieur Jacques GUILLOT

Professeur de parasitologie-mycologie à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Pour avoir dirigé ce travail avec attention, rigueur et disponibilité, pour ses conseils, pour son investissement dans ce projet.
Sincères remerciements.

À Madame Valérie FREICHE-LEGROS

Praticien hospitalier au service de médecine à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Qui a aimablement accepté d'être assesseur et participé à la correction de cette thèse avec attention.
Sincères remerciements.

À Madame Radia GUECHI

Agent technique de l'Unité de Parasitologie à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Pour son aide lors de la réalisation des analyses coprologiques et sa disponibilité.
Sincères remerciements.

À Monsieur Bruno POLACK et à toute l'Unité de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Pour leur accueil et pour la participation au protocole expérimental,
Sincères remerciements pour votre aide et votre disponibilité.

À Lisa CARASSOU et Annélie PIERRE et au laboratoire Novartis Santé Animale

Pour avoir fourni les 100 Uranotest copro® qui ont permis la réalisation de la partie expérimentale de la thèse.

À MA FAMILLE

À mes parents et mes frères

Qui m'ont toujours encouragée. Je vous aime infiniment.

À mon chéri, William

Pour son amour, son soutien et son appui permanent.

À mes grands-parents,

Qui ont toujours été là pour me soutenir à tout moment.

Au reste de ma famille, mes cousins, mes oncles et mes tantes

Merci pour votre soutien tout au long de ces années.

À MES AMIS

Pauline et Juliette, mon groupe de clinique de choc.

Julie, Anne-Laure, Pauline(s), Camille(s)

A mon ami d'enfance, Maxime et à mes amis de lycée Robert-Marie et Maxime

Pour tous ces bons moments passés ensemble et pour ceux à venir !

A mes amis trialistes, Boris et Gervais pour ces moments d'évasions

À Adrien, Laurence et Lucy

Pour leur aide dans la mise en forme et les finitions de ce travail.

À mes anciens, Stanilas WETZEL et Benoit GODIN

Pour m'avoir guidée au début de ma scolarité et pour leur bonne humeur

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES	1
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	5
TABLE DES TABLEAUX.....	9
TABLE DES ANNEXES	11
INTRODUCTION	13

PREMIÈRE PARTIE : LES ÉLÉMENTS PARASITAIRES PRÉSENTS DANS LES MATIÈRES FÉCALES DES CARNIVORES DOMESTIQUES ET DES LAGOMORPHES ET LES TECHNIQUES DE COPROSCOPIE.....	15
--	----

I. Les éléments parasitaires mis en évidence dans les matières fécales des carnivores domestiques et des lagomorphes	17
A. Les œufs de nématodes	17
1. Les œufs d'ascarides.....	17
2. Les œufs de <i>Trichuris vulpis</i>	19
3. Les œufs de strongles digestifs.....	20
4. Les œufs de <i>Capillaria aerophila</i>	23
5. Les œufs de <i>Spirocerca lupi</i>	24
6. Les œufs d'anguillules	25
7. Les œufs d'oxyure.....	27
B. Les œufs et les segments ovigères de cestodes	27
1. Les œufs de <i>Diphyllobothrium latum</i>	27
2. Les œufs de <i>Spirometra</i> spp	28
3. Les segments ovigères de <i>Dipylidium caninum</i>	29
4. Les œufs de Taeniidés	30
4.1. Le genre <i>Taenia</i>	31
4.2. Le genre <i>Echinococcus</i>	32
4.2.1. <i>Echinococcus granulosus</i>	32
4.2.2. <i>Echinococcus multilocularis</i>	32

5.	Les œufs de <i>Joyeuxiella</i> spp.....	33
6.	Les œufs de <i>Mesocestoides</i> spp	33
C.	Les œufs de trématodes	34
D.	Les trophozoïtes, les kystes et les oocystes de protozoaires	35
1.	Les trophozoïtes	35
2.	Les kystes de <i>Giardia</i>	37
3.	Les oocystes de coccidies	39
3.1.	Les oocystes d' <i>Isospora</i>	39
3.2.	Les oocystes d' <i>Eimeria</i>	40
3.3.	Les oocystes de <i>Neospora caninum</i> , <i>Hammondia</i> sp, <i>Toxoplasma gondii</i>	41
3.4.	Les oocystes et les sporocystes de <i>Sarcocystis</i>	44
3.5.	Les oocystes de <i>Cryptosporidium</i> sp.....	45
E.	Les larves de Nématodes	47
1.	Les larves de <i>Strongyloides stercoralis</i>	47
2.	Les larves de strongles respiratoires	48
2.1.	<i>Oslerus osleri</i>	48
2.2.	<i>Aelurostrongylus abstrusus</i>	49
2.3.	<i>Crenosoma vulpis</i>	50
3.	Les larves de strongles cardio-vasculaire : <i>Angiostrongylus vasorum</i>	51
II.	Les différentes techniques coprologiques.....	53
A.	Examen macroscopique	54
B.	Observation microscopique sans enrichissement	54
C.	Méthodes d'enrichissement par flottation.....	55
1.	Flottation totale.....	56
2.	Flottation quantitative : technique de Mac-Master.....	57
3.	Flottation avec centrifugation	59
4.	La densité des éléments parasitaires et des différentes solutions de flottation ..	61
5.	Les kits utilisant la flottation	63
6.	Les limites de la flottation	67
6.1.	Les difficultés de la détection des kystes de <i>Giardia</i>	68
D.	Méthodes d'enrichissement par sédimentation	68
1.	Sédimentation di-phasique	69
2.	Les kits utilisant la sédimentation	70

2.1. BIOREPAIR®	70
2.2. Uranotest copro®	70
3. Méthodes de détection des larves : Baermann	71
E. Colorations : lugol et immunofluorescence.....	72
F. Détection des copro-antigènes.....	73
1. <i>Giardia</i>	73
1.1. ProsPecT®	74
1.2. Le test SNAP <i>Giardia</i> ®	75
1.3. Les tests immunochromatographiques	77
2. <i>Echinococcus</i> spp	80
3. <i>Trichuris vulpis</i>	81
G. PCR	82
CONCLUSION DE LA PREMIÈRE PARTIE	85
DEUXIÈME PARTIE : ÉVALUATION DE L'URANOTEST COPRO®	87
Introduction et objectif	89
I. Matériel et méthodes	91
A. Animaux et prélèvements fécaux	91
B. Analyses coproscopiques de référence	92
C. Le kit Uranotest copro®	94
II. Résultats	95
A. Résultats de l'Uranotest copro® pour les échantillons positifs	95
B. Résultats de l'Uranotest copro® pour les échantillons négatifs.....	96
C. Détail des résultats en fonction des parasites détectés	96
1. <i>Giardia duodenalis</i>	96
2. <i>Toxocara</i> spp	99
3. <i>Trichuris vulpis</i>	100
4. <i>Capillaria aerophila</i>	100
5. Strongles digestifs.....	100
6. Coccidies	101
6.1. Coccidies du chien ou du chat	101
6.2. Coccidies du lapin	102
6.3. Coccidies du furet	102

D.	Résultats des différents parasites retrouvés chez le chat	102
III.	Discussion	104
A.	Sensibilité	104
B.	Spécificité	105
C.	Reproductibilité	105
D.	Comparaison de l'Uranotest copro® aux méthodes de référence et aux autres techniques coprologiques.....	106
	CONCLUSION DE LA DEUXIÈME PARTIE	109
	CONCLUSION	111
	BIBLIOGRAPHIE.....	113

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Œuf de <i>Toxocara canis</i> (Beugnet <i>et al.</i> , 2008)	17
Figure 2 : Œuf de <i>Toxascaris leonina</i> (Unité de Parasitologie, EnvL)	18
Figure 3 : Œuf de <i>Trichuris vulpis</i> (Beugnet <i>et al.</i> , 2008)	20
Figure 4 : Œuf d' <i>Ancylostoma caninum</i> (Beugnet <i>et al.</i> , 2008)	21
Figure 5 : Œuf d' <i>Uncinaria stenocephala</i> (Centre for veterinary education, 2012)	21
Figure 6 : Œuf de <i>Capillaria aerophila</i> (Beugnet <i>et al.</i> , 2008).....	23
Figure 7 : Œuf de <i>Spirocerca lupi</i> (Beugnet <i>et al.</i> , 2008).....	24
Figure 8 : Œuf embryonné de <i>Strongyloides stercoralis</i> retrouvé dans les matières fécales d'un chien (objectif X 40) (Unité de Parasitologie de l'EnvA)	26
Figure 9 : Œuf d'oxyure de lapin : <i>Passalurus ambiguus</i> (Beugnet <i>et al.</i> , 2008)	27
Figure 10 : Œuf de <i>Diphyllobothrium latum</i> (Beugnet <i>et al.</i> , 2008).....	28
Figure 11 : Œufs de <i>Spirometra</i> spp (Beugnet <i>et al.</i> , 2008).....	29
Figure 12 : Capsule ovifère de <i>Dipylidium caninum</i> (Beugnet <i>et al.</i> , 2008).....	29
Figure 13 : <i>Dipylidium caninum</i> adultes (Beugnet <i>et al.</i> , 2008).....	30
Figure 14 : Œuf de Taeniidés (Beugnet <i>et al.</i> , 2008).....	31
Figure 15 : Adulte d' <i>Echinococcus granulosus</i> (Beugnet <i>et al.</i> , 2008)	32
Figure 16 : Œuf de <i>Joyeuxiella</i> spp (Beugnet <i>et al.</i> , 2008)	33
Figure 17 : Œuf de <i>Mesocestoides</i> spp (Beugnet <i>et al.</i> , 2008).....	34
Figure 18 : Segment de <i>Mesocestoides</i> spp (Beugnet <i>et al.</i> , 2008)	34
Figure 19 : Œuf d' <i>Opistorchis felineus</i> (Beugnet <i>et al.</i> , 2008).....	35
Figure 20 : Trophozoïte de <i>Giardia duodenalis</i> (Bussiéras et Chermette, 1992).....	36
Figure 21 : Trophozoïte de <i>Tritrichomonas fœtus</i> (Wood, n.d.)	36
Figure 22 : Kyste de <i>Giardia duodenalis</i> (Bussiéras et Chermette, 1992).....	37
Figure 23 : Kyste de <i>Giardia duodenalis</i> retrouvé dans les matières fécales d'un chat (objectif X 100) (Unité de Parasitologie de l'EnvA)	37

Figure 24 : Oocystes d' <i>Isospora</i> non sporulés dans les fèces (gauche) et sporulé dans l'environnement (droite) (Unité de Parasitologie de l'EnvA)	39
Figure 25 : Oocyste sporulé infestant d' <i>Eimeria</i> dans le milieu extérieur (Unité de Parasitologie de l'EnvA).....	41
Figure 26 : Oocyste d' <i>Hammondia</i> sp ou <i>Neospora caninum</i> dans les matières fécales d'un chien (Beugnet <i>et al.</i> , 2008)	41
Figure 27 : Deux sporocystes à quatre sporozoïtes en cours de séparation retrouvés dans les matières fécales (Beugnet <i>et al.</i> , 2008)	44
Figure 28 : <i>Cryptosporidium</i> sp (coloration de Ziehl Neelsen) (Unité de Parasitologie, EnvL)	45
Figure 29 : Extrémité antérieure de la larve rhabditoïde L1 de <i>Strongyloides stercoralis</i> retrouvée dans les matières fécales d'un chat. L'œsophage rhabditoïde est composé d'un renflement antérieur bien visible (1), puis d'un rétrécissement net (2) et enfin, d'un renflement postérieur marqué (3). (Objectif X 100) (Unité de Parasitologie de l'EnvA).....	47
Figure 30 : Larve L1 rhabditoïde de <i>Strongyloides stercoralis</i> avec ébauche génitale bien visible (flèche) retrouvée dans les fèces d'un chien (objectif X 40) (Unité de Parasitologie de l'EnvA).....	47
Figure 31 : Extrémité postérieure bifide d'une larve strongyloïdes infestante L3 de <i>Strongyloides stercoralis</i> retrouvée dans les matières fécales d'un chien (objectif X 100) (Unité de Parasitologie de l'EnvA).....	48
Figure 32 : Larve L1 d' <i>Oslerus osleri</i> (Beugnet <i>et al.</i> , 2008).....	48
Figure 33 : Larve L1 d' <i>Aelurostrongylus abstrusus</i> (Beugnet <i>et al.</i> , 2008).....	49
Figure 34 : Larve L1 de <i>Crenosoma vulpis</i> (Beugnet <i>et al.</i> , 2008)	50
Figure 35 : Larve L1 d' <i>Angiostrongylus vasorum</i> (Beugnet <i>et al.</i> , 2008)	51
Figure 36 : Les principaux vers ronds du chien : <i>Toxocara</i> , trichures et ankylostome (Guide pratique de l'élevage canin, Royal canin)	54
Figure 37 : Les étapes de départ pour la technique de flottation (Unité de Parasitologie de l'EnvA).....	56
Figure 38 : Technique de flottation qualitative (Unité de Parasitologie de l'EnvA)	57
Figure 39 : Schéma d'une cellule de Mac-Master (Unité de Parasitologie de l'EnvA).....	57
Figure 40 : Cellule de Mac-Master en cours de remplissage (Unité de Parasitologie, EnvA)..	58
Figures 41 : Les étapes de la réalisation pratique de la technique de flottation (Dang et Beugnet, 2000)	59
Figure 42 : Échelle de densité des éléments parasitaires	61

Figure 43 : Les différents kits de flottation du commerce	63
Figure 44 : Collecte de l'échantillon de selle (Ovassay plus®)	63
Figure 45 : Les étapes pour réaliser la flottation avec le kit Ovassay plus®	64
Figure 46 : Les différentes étapes du FLOTAC®	65
Figure 47 : Remplissage de l'appareil FLOTAC® (Cringoli, 2006)	65
Figure 48: Fill-FLOTAC et mini-FLOTAC kit (Barda <i>et al.</i> , 2013).....	66
Figure 49 : Les étapes de la technique du mini-FLOTAC (Barda <i>et al.</i> , 2013)	66
Figure 50 : Les étapes de la réalisation pratique de la technique de sédimentation di- phasique (Dang et Beugnet, 2000).....	69
Figure 51 : BIOREPAIR® (www.Kitvia.com)	70
Figure 52 : Uranotest copro® (www.uranovet.com).....	71
Figure 53 : Schéma illustrant la technique de Baermann (Beugnet <i>et al.</i> , 2004)	71
Figure 54 : Speed® <i>Giardia</i> (www.btv.fr)	78
Figure 55 : Test rapide Witness® <i>Giardia</i> (www.kitsdediagnosticozoetis.com)	78
Figure 56 : Les étapes de réalisation du test immunochromatographique Speed® <i>Giardia</i> (www.btv.fr)	79
Figure 57 : Les étapes de réalisation des tests immunochromatographiques (www.kitvia.com)	79
Figure 58 : Interprétation d'un résultat positif et négatif sur un test immunochromatographique (www.btv.fr)	79
Figure 59: Nombre d'œufs de <i>Trichuris vulpis</i> par gramme de fèces par la méthode de flottation (vert) et intensité de la densité optique obtenue lors de la détection des coproantigènes de <i>Trichuris vulpis</i> par ELISA (bleu).	82
Figure 60 : Répartition des échantillons de selles selon les espèces.....	91
Figure 61 : Provenance des échantillons de selles.....	92
Figure 63 : Échantillons positifs pour <i>Giardia</i> avec la méthode de référence d'une part et l'Uranotest copro® d'autre part	97
Figure 64 : Répartition des échantillons selon la quantité de kystes de <i>Giardia</i> observée au microscope après la technique de sédimentation.....	98

Figure 65 : Évolution de la sensibilité du kit Uranotest copro® en fonction du degré d'infestation par <i>Giardia</i>	99
Figure 66 : Répartition des échantillons positifs pour <i>Toxocara</i> en fonction du nombre d'œufs par gramme détecté par la méthode de flottation.....	99
Figure 67 : Répartition des échantillons positifs à <i>Trichuris vulpis</i> en fonction du nombre d'œufs par gramme détecté par la méthode de flottation du laboratoire de Parasitologie de l'EnvA.....	100
Figure 68 : Répartition des trois échantillons positifs en strongles digestifs par la technique de flottation en fonction du nombre d'œufs par gramme de fèces selon les deux techniques coproscopiques utilisées.	101
Figure 69 : Répartition des échantillons positifs à <i>Isospora</i> chez les chiens et les chats en fonction du nombre d'œufs par gramme de fèces observé par flottation.....	101
Figure 70 : Répartition des échantillons positifs aux coccidies selon le nombre d'œufs par gramme de fèces observé à la flottation	102
Figure 71 : Répartition des différents parasites digestifs retrouvés dans les fèces de chats	103
Figure 72 : Répartition des échantillons positifs pour <i>Giardia duodenalis</i> chez le chat en fonction de la quantité de kystes observée par flottation au sulfate de Magnésium.....	103
Figure 73 : Sensibilité de l'Uranotest copro® en fonction des parasites (la technique de flottation avec le sulfate de Magnésium est utilisée comme référence)	104

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques générales d' <i>Ancylostoma caninum</i> et <i>Uncinaria stenocephala</i> .	23
Tableau 2 : Pouvoir pathogène des différentes coccidies du lapin (Coudert <i>et al.</i> , 1995).....	40
Tableau 3 : Caractéristiques des oocystes de coccidies retrouvés dans les fèces des chiens et des chats (ESCCAP, 2013b)	46
Tableau 4 : Nombre de prélèvements positifs avec les méthodes de références et résultat de l'Uranotest copro [®] pour ces échantillons	96
Tableau 5 : Sensibilité et spécificité de l'Uranotest copro [®] pour la détection des kystes de <i>Giardia</i> , relatives à la méthode de référence (sédimentation di-phasique)	97
Tableau 6: Nombre d'échantillons positifs et négatifs à la méthode de sédimentation diphasique et à l'Uranotest copro [®]	97
Tableau 7 : Répartition des échantillons selon la quantité de kystes de <i>Giardia</i> observée au microscope après la technique de sédimentation.....	98
Tableau 8 : Comparaison de l'Uranotest copro [®] aux méthodes de référence.....	106
Tableau 9 : Comparaison des autres techniques coprologiques	107

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Les caractéristiques des œufs de nématodes chez les carnivores domestiques.	121
Annexe 2 : Les caractéristiques des œufs de nématodes chez les lapins	123
Annexe 3 : Les caractéristiques des œufs de cestodes chez les chiens et les chats	124
Annexe 4 : Les caractéristiques des œufs de trématodes chez les chiens et les chats	126
Annexe 5 : Les trophozoïtes, kystes et oocystes de protozoaires chez les carnivores domestiques	127
Annexe 6 : Les caractéristiques morphologiques et biologiques des différentes espèces d'Eimeria du lapin (d'après BOUCHER et NOUAILLE)	129
Annexe 7 : Description des différentes larves de parasites observables à l'analyse coproscopique chez les carnivores domestiques	131
Annexe 8 : Les éléments parasitaires observables par examen macroscopique des selles : nématodes adultes et segments de cestodes	132
Annexe 9 : Les principales solutions de flottation utilisables	134
Annexe 10 : La procédure du test bio repair® (www.kitvia.com)	135
Annexe 11 : Comparaison des différentes techniques coprologiques pour diagnostiquer la giardiose (par rapport au test ELISA des laboratoires d'analyses)	136
Annexe 12 : Échantillons négatifs par les méthodes de référence	137
Annexe 13 : Échantillons positifs par sédimentation	138
Annexe 14 : Échantillons positifs à <i>Toxocara sp</i>	141
Annexe 15 : Échantillons positifs à <i>Trichuris vulpis</i>	143
Annexe 16 : Échantillons positifs à <i>Isospora sp</i>	144
Annexe 17 : Échantillons positifs pour <i>Eimeria sp</i> dans les fèces de lapins	145

INTRODUCTION

Les parasitoses digestives sont fréquentes chez les carnivores domestiques, notamment chez les animaux d'élevage et les jeunes. Les parasites le plus souvent retrouvés en région parisienne sont : les protozoaires avec *Giardia duodenalis* majoritairement puis les coccidies. Les nématodes sont également fréquemment détectés avec *Trichuris vulpis* chez le chien, *Toxocara sp* (Beugnet *et al.*, 2000) et les strongles digestifs (*Ancylostoma* et *Uncinaria*). Les Cestodes sont aussi régulièrement identifiés avec *Dipylidium caninum* et les Taeniidés. Chez les chiots et les chatons de moins de 3 mois, le taux d'infestation est supérieur à 50 % pour *Toxocara canis* et *Toxocara cati*. Dans plus de 25 % des cas, les animaux hébergent au moins deux parasites dans leur tube digestif (Beugnet *et al.*, 2004). En France, entre 20 et 56 % des chats sont parasités par au moins un parasite digestif (Aurélien Grellet, Congrès AFVAC 2013). En Europe, la prévalence des parasites internes chez les chats domestiques est de 35 % (Beugnet *et al.*, 2014). Selon les parasites, la prévalence varie de 5 à 25 % tous âges confondus (Beugnet, 1998). La prévalence dépend de plusieurs facteurs : le mode de vie (chez le propriétaire seul, avec des congénères, en élevage ou en chenil), le lieu de vie (urbain ou rural), l'âge (les jeunes sont plus souvent parasités), la localisation géographique et la méthode de détection des éléments parasitaires. Pour exemple, la prévalence de la giardiose dans la population canine est de 10 % chez les chiens de propriétaire, de 30 à 50 % chez les chiots et de 100 % chez les chiens en chenil (Barr et Bowman, 1994 ; Papini *et al.*, 2005). Chez les lapins domestiques, les parasites les plus retrouvés sont les oxyures (*Passalurus ambiguus*) et les coccidies (*Eimeria spp*). Le furet par son mode alimentaire (ingestion de proies entières, poussins de un jour) peut être sujet à divers parasites internes. Les coccidies (*Isospora sp*), les *Giardia* et les strongles digestifs sont souvent retrouvés chez ces jeunes carnivores issus d'animalerie.

Les carnivores domestiques, par leur comportement, sont prédisposés à être parasités toute l'année. En effet, ils ingèrent directement les objets et la nourriture trouvés sur le sol et boivent dans les flaques d'eau. L'ingestion de proies telles que des rongeurs (hôtes intermédiaires ou paraténiques de nombreux parasites) ou la présence de puces (hôtes intermédiaires du cestode *Dipylidium caninum*) sur l'animal sont des éléments qui augmentent le risque de parasitoses. De plus, les propriétaires d'animaux ne vermifugent pas toujours leurs animaux régulièrement.

La coproscopie regroupe l'ensemble des techniques macroscopiques (examen direct des selles) et microscopiques (avec ou sans enrichissement) permettant d'identifier les éléments parasitaires : œufs d'helminthes, segments de cestodes, trophozoïtes, kystes et oocystes de protozoaires, larves et parasites adultes. Cet examen complémentaire est utilisé afin de confirmer une parasitose suspectée au préalable par des éléments cliniques (diarrhée, amaigrissement...) et épidémiologiques (vie en collectivité, jeune âge...). De plus, l'examen coproscopique peut être mis en place de façon systématique dans les élevages afin de dépister les individus excréteurs de parasites et de mettre en place des mesures de prophylaxie collective. Enfin, cet examen permet de tester l'efficacité d'un traitement anti-parasitaire. La coproscopie devrait être réalisée systématiquement lors de la première consultation préventive chez les jeunes.

D'autres techniques coprologiques dites indirectes existent. Elles consistent à mettre en évidence une réponse de l'hôte à l'infestation parasitaire. L'hémogramme peut révéler une éosinophilie non spécifique, signe de migrations parasitaires. Une réponse en anticorps peut être recherchée de manière spécifique par des techniques sérologiques, signe de passage du parasite par activation de la réponse immunitaire. Certaines techniques (ELISA, Snap test, immunochromatographie) détectent les copro-antigènes. L'essor de la biologie moléculaire a permis le développement de tests permettant de rechercher l'ADN du parasite soit dans le sang (ADN circulant), soit dans les selles (coproantigène) par la méthode de polymérase chain reaction (PCR).

Ce travail a pour objectif de présenter les caractéristiques des éléments parasitaires retrouvés dans les matières fécales des carnivores domestiques et des lagomorphes ainsi que les différentes techniques de coproscopie.

Dans un premier temps, les éléments parasitaires retrouvés dans les matières fécales sont décrits en détaillant les caractéristiques de chacun d'entre eux. De plus, un rappel est proposé sur les cycles évolutifs et les signes cliniques associés à ces parasitoses. Les différentes techniques coprologiques sont ensuite détaillées.

Dans un second temps, une étude expérimentale basée sur l'évaluation d'un nouveau test rapide, l'Uranotest copro[®] est décrite.

PREMIÈRE PARTIE : LES ÉLÈMENTS PARASITAIRES PRÉSENTS
DANS LES MATIÈRES FÉCALES DES CARNIVORES
DOMESTIQUES ET DES LAGOMORPHES ET LES TECHNIQUES
DE COPROSCOPIE

I. Les éléments parasitaires mis en évidence dans les matières fécales des carnivores domestiques et des lagomorphes

A. Les œufs de nématodes

Les principaux œufs de nématodes observés en coproscopie chez les carnivores domestiques sont : *Toxocara canis*, *Toxocara cati*, *Toxascaris leonina*, *Trichuris vulpis*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Capillaria aerophila*, *Spirocerca lupi* et *Strongyloides stercoralis*. Chez le lapin, on peut retrouver des œufs d'oxyures. La description de ces œufs est disponible en annexe 1 et 2 (Bricaire *et al.*, 1999 ; Beugnet, 2000 ; Bathiard et Vellut, 2002 ; Beugnet *et al.*, 2008).

1. Les œufs d'ascarides

Les ascarides sont des nématodes composés de deux familles : la famille des Ascarididés avec *Toxascaris leonina* et la famille des Toxocaridés avec *Toxocara canis* et *Toxocara cati* chez les carnivores domestiques. Les ascarides sont des parasites du duodénum. Les œufs sont présentés sur les figures 1 et 2. Ils mesurent entre 70 et 90 μm de longueur, ils contiennent une cellule unique et sont composés d'une coque épaisse. Les œufs sont distingués de la façon suivante : coque alvéolée et contenu brun pour *Toxocara canis* et *Toxocara cati*, coque lisse et contenu clair pour *Toxascaris leonina*.

Figure 1 : Œuf de *Toxocara canis* (Beugnet *et al.*, 2008)

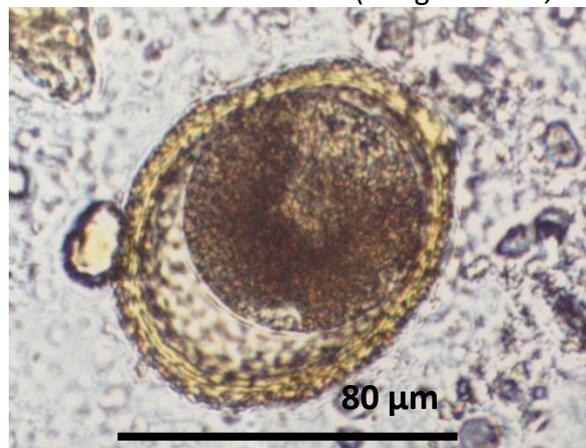
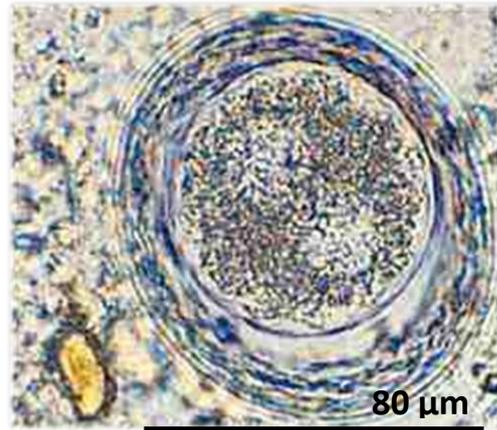


Figure 2 : Œuf de *Toxascaris leonina* (Unité de Parasitologie, EnvL)



La taille des œufs varie de 70-90 x 65-75 μm pour *Toxocara canis* à 75-85 x 65-75 μm pour *Toxascaris leonina*. Les œufs sont généralement retrouvés en grande quantité dans les selles du fait de la prolificité des femelles qui pondent 200 000 œufs par jour. Les œufs sont excrétés dans les selles des jeunes carnivores, ils persistent 3 à 4 semaines dans le milieu extérieur pour donner des œufs larvés L3 infestants. Ils restent infestants jusqu'à 5 ans pour les carnivores. Les œufs résistent à une grande variation de température entre - 10° et 45 °C. Ils résistent également à l'humidité et à la sécheresse.

Toxocara canis et *Toxascaris leonina* sont difficilement distinguables, cependant ce dernier est beaucoup moins fréquent. *Toxocara canis* est fréquemment retrouvé chez les chiots de moins de 6 mois et surtout en élevage (Héloïse André, Thèse vétérinaire Alfort 2001). *Toxascaris leonina* est rarement identifié, quand il est observé, c'est en général chez des chiens ou des chats adultes vivant en milieu rural et chassant des rongeurs jouant le rôle d'hôte paraténique. Les rongeurs ingèrent les œufs larvés L2 présents sur le sol, les larves s'enkystent dans divers tissus, elles sont vivantes et infestantes. Les Toxocaridés sont des parasites spécifiques d'espèce à l'état adulte mais les larves sont non spécifiques donc peuvent être responsables de zoonose : larva migrans viscérale et oculaire chez l'homme.

Le cycle évolutif est monoxène. L'hôte définitif est le chien qui se contamine par ingestion d'œufs larvés L3. Les larves L3 sont libérées dans l'intestin grêle, puis elles sont disséminées dans tout l'organisme par la circulation sanguine. Les larves peuvent s'enkyster dans divers organes. Chez la femelle, les larves enkystées restent vivantes et infestantes pendant plusieurs années selon le statut immunitaire de l'animal. La diapause se localise dans la mamelle, l'utérus ou le tissu musculaire. La réactivation de ces larves (reprise de la migration) se fait au moment de l'œstrus ou bien 15 jours avant ou après la mise-bas. Suite à ce « réveil » larvaire, des parasites adultes apparaissent dans l'intestin et les chiots sont parasités in utéro (le plus fréquemment pour *T. canis*), avant leur naissance (L3 pénètrent dans le placenta) ou via le colostrum et le lait selon le moment de la réactivation. La période prépatente, correspondant à la durée entre l'infestation et l'excrétion des œufs dans les matières fécales, varie de 21 à 39 jours selon les modes de contamination.

La voie de contamination via le lait est très faible pour les chiots (moins de 10 %). La contamination des chiots se fait également par ingestion d'œufs larvés. Le chiot contaminé excrète des œufs dans ses selles dès 3 semaines d'âge. La vermifugation de la chienne avant la mise bas et pendant la lactation est donc essentielle afin d'éviter qu'elle ne contamine ses

chiots. La chienne peut aussi se contaminer en ingérant des œufs larvés, des larves L3 rejetées dans les fèces de ses chiots durant leur 2 premières semaines de vie et par l'ingestion d'hôte paratémique (rongeurs, oiseaux...). Toute infestation entraîne une immunité. Le chiot peut être protégé dès 5 semaines d'âge.

Il n'existe pas de migration transplacentaire chez les chats. Les larves L3 peuvent passer par le lait, cette voie correspond au mode de contamination majoritaire des chatons du 2^e au 12^e jours de vie ; la 2^e voie d'infestation possible du chaton est l'ingestion d'œufs larvés, elle est minoritaire. Les chats adultes se contaminent principalement par ingestion d'hôtes paratémiques avec notamment les rongeurs, ils peuvent aussi ingérer des œufs larvés. Une migration trachéale, digestive et somatique existe.

Les signes cliniques engendrés par les ascarides sont :

- Des troubles généraux : poil terne, maigreur, retard de croissance et rachitisme.
- Des troubles digestifs : alternance diarrhée et constipation, ballonnements, distension abdominale, vomissements causés par les adultes dans l'intestin grêle pouvant exceptionnellement former des « pelotes ». Une infestation massive peut provoquer une obstruction et une perforation intestinale pouvant engendrer la mort.
- Des troubles respiratoires : toux due à la migration trachéale des larves.
- Des troubles nerveux tels que des convulsions ou une faiblesse dûs à la consommation de glucose par les parasites.

Le risque zoonotique est lié à *T. canis* principalement et parfois à la présence de *T. cati*. La contamination se fait de façon oro-fécale par ingestion d'œufs larvés. Le plus souvent, l'ascaridose est asymptomatique avec uniquement une éosinophilie. Cependant, les signes cliniques chez l'homme sont parfois gravissimes, les larves migrent à travers le foie, les poumons et peuvent atteindre l'encéphale ou un œil. L'ascaridose engendrant une *larva migrans* cutanée est l'une des premières causes de cécité unilatérale. L'homme représente un cul de sac épidémiologique, car il n'excrète pas d'œuf dans ces selles. C'est une zoonose incomplète, car le parasite meurt.

2. Les œufs de *Trichuris vulpis*

L'œuf de *Trichuris vulpis* est présenté sur la figure 3. Les œufs ont une forme ovale, en forme de citron. Ils sont pourvus de deux bouchons polaires aux extrémités. Ils mesurent 60 à 85 µm de longueur et 25 à 45 µm de largeur. Leur coque est épaisse et lisse. Ils contiennent une unique cellule, brun-jaune orangé.

Figure 3 : Œuf de *Trichuris vulpis* (Beugnet *et al.*, 2008)



Les œufs résistent plusieurs mois à plusieurs années dans l'environnement. Ils résistent au froid, à la sécheresse et aux désinfectants usuels. Les élevages en plein air ou avec des sols en terre sont donc plus à risque. Les adultes ont une longue durée de vie d'environ 8 mois mais pouvant aller jusqu'à 18 mois.

Trichuris vulpis est un nématode hématophage et histophage du gros intestin, spécifique d'hôte. Le cycle évolutif est monoxène. L'œuf excrété dans les selles donne dans le milieu extérieur un œuf larvé contenant une larve L1, L2 puis L3, ce développement dure de 1 à 6 mois. L'infestation des chiens se fait par l'ingestion d'œufs contenant les larves L3. La larve L3 se développe en larve L4, pré-adulte puis adulte dans le caecum-côlon de son hôte définitif, le chien ou le renard. Les chats domestiques ne sont pas parasités par les trichures en Europe. La période pré-patente est longue, de 11 à 15 semaines et la période patente peut durer jusqu'à 18 mois (ESCCAP, 2013a).

Les chiens adultes sont les plus souvent touchés, notamment dans les élevages, car les œufs résistent dans le sol. Les trichures, par leur caractère hématophage, entraînent une diarrhée qui peut être hémorragique et une anémie. De plus, lors d'infestations chroniques, une diminution de l'état général avec une perte de poids peut être observée. La trichurose peut parfois entraîner la mort.

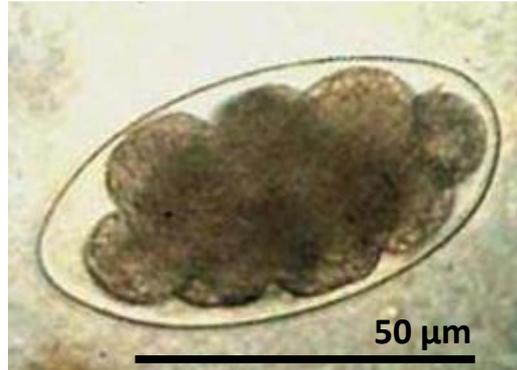
3. Les œufs de strongles digestifs

Les œufs de strongles digestifs des carnivores domestiques sont des œufs non operculés, ne contenant pas de larve ni d'embryon. Leur coque est mince et lisse. De plus, ils contiennent une morula brune constituée de 8 à 16 blastomères. Les œufs sont présentés sur les figures 4 et 5.

Figure 4 : Œuf d'*Ancylostoma caninum* (Beugnet *et al.*, 2008)



Figure 5 : Œuf d'*Uncinaria stenocephala* (Centre for veterinary education, 2012)



Les œufs d'*Uncinaria stenocephala* sont plus grands et de forme plus allongée que ceux d'*Ancylostoma* spp. Les œufs d'*Ancylostoma caninum* mesurent 55 à 65 μm de longueur pour 40 μm de largeur et ceux d'*Uncinaria stenocephala* 65 à 80 μm de longueur et 45 à 50 μm de largeur. Leur distinction est difficile. Dans les régions tempérées et froides, les chiens et les chats sont le plus souvent infestés par *Uncinaria stenocephala*. Les *Ancylostoma* spp sont plus souvent retrouvés dans les pays chauds (Beugnet, 2000) ou dans le sud de la France chez les chiens. Les caractéristiques générales des différentes espèces de strongles digestifs sont représentées sur le tableau 1.

Le furet peut également être infesté par des ancylostomes. Une récente étude italienne d' Ovidio *et al* (2014) basée sur l'analyse de selles de 50 furets a montré que 28 % des furets présentaient des œufs d'ancylostomes dans leurs fèces. Ces œufs mesurent 52 à 92 μm de longueur et 28 à 58 μm de largeur. Ils ont la même forme ellipsoïde que ceux des chiens et des chats et contiennent également une morula. Les formes adultes sont des petits vers blancs, fins mesurant 1 cm de longueur.

Le cycle évolutif d'*Ancylostoma caninum* et d'*Uncinaria stenocephala* est monoxène. L'hôte définitif est le chien. Dans le milieu extérieur, les œufs éclosent et libèrent une larve L1 qui va muer en larve L2 puis en larve L3 infestante qui est la forme de résistance. L'évolution de l'œuf à la larve L3 nécessite un sol humide (herbe et boue) et une température suffisante, supérieure à 16 °C. Lors de conditions idéales, l'évolution se fait en une semaine et la larve L3 peut survivre jusqu'à un mois dans le sol.

La larve L3 infeste le chien par pénétration percutanée le plus souvent pour *Ancylostoma caninum*. Elle s'enfonce dans les follicules pileux puis rejoint le cœur droit par

voie sanguine puis les poumons, remonte dans la trachée où elle est déglutie et rejoint les cryptes de l'intestin grêle où elle mue en larve L4 puis en L5 dans la lumière intestinale où des adultes sont formés. Les femelles sont assez prolifiques, elles pondent chacune environ 3000 œufs par jour. Les œufs sont excrétés dans les matières fécales. La période prépatente varie de 2 à 3 semaines.

Pour *Uncinaria stenocephala*, le chien ou le chat se contaminent par ingestion des larves L3 puis une migration trachéale classique a lieu.

Il est possible que la larve L3 s'enkyste dans divers tissus de l'hôte (utérus, mamelle) pendant plusieurs mois. Lors de réactivation (autour de la mise-bas), les larves peuvent infester les chiots par passage *in utero* (rarement) ou via le lait pour *Ancylostoma caninum*.

Les carnivores domestiques peuvent également s'infester par ingestion d'hôtes paraténiques (rongeurs) ayant ingéré une larve L3 dans le sol qui s'est ensuite enkystée dans un tissu.

L'ankylostomose est caractérisé cliniquement par une anémie (parasite hématophage), une adénite généralisée et une entérite qui peut être hémorragique plus ou moins associé à une épistaxis (thrombopénie). L'uncinariose s'exprime cliniquement par des signes non spécifiques comme une diarrhée et un amaigrissement. L'association strongles digestifs et trichures est fréquente chez le chien. Des signes respiratoires sont présents lors de migration trachéale larvaire chez les jeunes, s'exprimant par une toux. La perte d'odorat chez le chien de chasse ou un aboiement modifié sont caractéristiques d'une infestation par les ankylostomes. Des papules croûteuses, érythémateuses et prurigineuses peuvent être retrouvées sur les pattes et l'abdomen en regard du lieu de pénétration des larves L3 par la peau.

Ancylostoma caninum est une zoonose qui peut être responsable de *larva migrans* cutanées chez l'homme s'exprimant cliniquement par la formation de lésions serpigneuses et érythémateuses au niveau des pieds, des mains, des avant-bras et du dos préférentiellement.

Les caractéristiques des strongles digestifs chez les carnivores domestiques sont présentées sur le tableau 1.

Tableau 1 : Caractéristiques générales d'*Ancylostoma caninum* et *Uncinaria stenocephala*

Strongles digestifs	<i>Ancylostoma caninum</i>	<i>Uncinaria stenocephala</i>
Localisation géographique	Régions tropicales à sub-tropicales, sud de la France	Régions tempérées
Localisation du parasite chez les carnivores	Intestin grêle	Intestin grêle
Cycle évolutif	Pénétration de la larve L3 par voie cutanée	Contamination par ingestion de larves L3
Signes cliniques	Anémie (muqueuses pâles), entérite parfois hémorragique, adénite généralisée, épistaxis (thrombopénie), aboiement modifié et perte d'odorat chez les chiens de chasse, papules prurigineuses en regard des pattes ou de l'abdomen	Non spécifique : amaigrissement, abattement, diarrhée, toux
Zoonose	Oui	Non

4. Les œufs de *Capillaria aerophila*

Capillaria aerophila aussi appelé *Eucoleus aerophilus* est un parasite rare en France chez les carnivores domestiques. L'œuf est présenté sur la figure 6. Ces œufs ressemblent à ceux de *Trichuris vulpis* mais ils sont plus petits, plus clairs et n'ont pas exactement la même forme. Ils peuvent être légèrement incurvés. Les œufs mesurent de 55 à 80 µm de longueur et 30 à 40 µm de largeur. Ils sont ovales, en forme de citron et possède deux bouchons polaires aplatis aux extrémités. Ils sont de couleur jaune, brun orangé et contiennent une seule cellule, d'aspect rugueux. Leur coque est rugueuse.

Figure 6 : Œuf de *Capillaria aerophila* (Beugnet *et al.*, 2008)



Les adultes de *Capillaria aerophila* vivent dans l'épithélium de la trachée, des bronches et des bronchioles des chiens, des chats et des renards. Les vers mesurent 2,5 à 3,5 cm de longueur et présentent un très faible diamètre (d'où leur nom de « capillaires »), ils ont un aspect de « fil à coudre ». Les femelles pondent des œufs dans les voies respiratoires. Ils remontent l'arbre respiratoire et sont éliminés dans les selles. Le cycle évolutif est monoxène. Les carnivores se contaminent en ingérant les œufs. Puis, les larves éclosent et migrent vers les poumons par la circulation sanguine. La période pré-patente dure de 30 à

40 jours et la période patente dure jusqu'à 11 semaines. Le renard joue le rôle de réservoir pour ce parasite. Les chiens se contaminent de façon occasionnelle, les chiens de chasse et ceux vivant en milieu rural ou proche des forêts sont les plus à risque. La réceptivité des chats à ce parasite est inférieure.

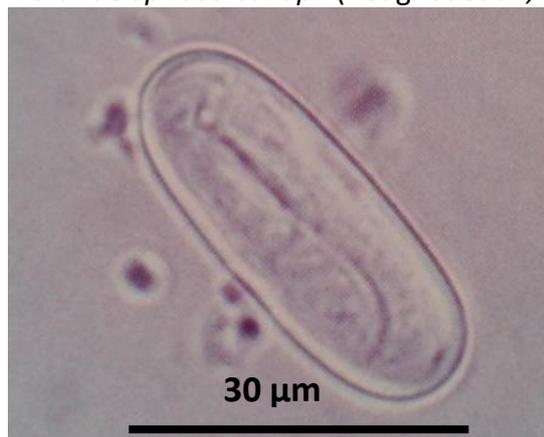
Les signes cliniques sont une trachéo-bronchite chronique exprimée par une toux chronique et asthmatiforme, de la dyspnée et un amaigrissement.

Une autre espèce de *Capillaria* existe chez le renard : *Capillaria boehmi*. Le parasite adulte se localise dans l'épithélium des sinus, cela peut entraîner des éternuements, un jetage pouvant évoluer vers une épistaxis et un prurit nasal.

5. Les œufs de *Spirocerca lupi*

L'œuf de *Spirocerca lupi* est présenté sur la figure 7. Les œufs sont petits et allongés, ils contiennent une larve repliée visible à l'intérieur au moment de l'émission. Ils mesurent 30 à 40 μm de longueur et 10 à 15 μm de largeur. Ils ont une forme caractéristique de « trombone ». Les œufs sont de couleur claire. Leur coque est relativement épaisse et lisse. Les œufs sont excrétés dans les selles en faible quantité et de manière intermittente. Ils n'apparaissent souvent dans les fèces que bien après le début des signes cliniques.

Figure 7 : Œuf de *Spirocerca lupi* (Beugnet *et al.*, 2008)



L'adulte est un vers rond, brun à rouge mesurant 3 à 8 cm de longueur et 1 mm de diamètre. Il est hématophage et histophage. Sa paroi est épaisse. Sa partie antérieure est composée d'un vestibule buccal bien développé.

Le cycle de *Spirocerca lupi* est hétéroxène, il se déroule en 4 à 5 mois. Le chien est l'hôte définitif. Le parasite adulte est localisé dans la paroi de l'œsophage où il génère des nodules. Les adultes peuvent également, mais plus rarement, générer des nodules au sein de l'estomac ou de l'aorte. Les femelles situées dans les nodules œsophagiens, les traversent pour pondre les œufs dont sont issues des larves L1 qui passent dans la lumière de l'œsophage puis traversent le tube digestif pour être excrétés dans les selles. Les femelles sont très prolifiques, elles pondent 1 million d'œufs par jour. Les œufs sont ingérés par un hôte intermédiaire (HI) : coléoptères, bousiers ou scarabées. Un hôte paratémique (HP) peut entrer dans le cycle en ingérant les HI. Les HP sont des petits mammifères insectivores (hérissons, rongeurs), des reptiles (lézards), des batraciens (grenouilles) ou des oiseaux. Le

chien s'infeste en ingérant un HI ou HP qui sont dégradés dans l'estomac et libèrent les larves de stade 3. Ces larves L3 migrent vers l'artère gastro-épiploïque puis dans la paroi de l'aorte où elles se transforment en larves L4. Les larves L4 rejoignent la paroi de l'œsophage où elles donnent les adultes. En France, des cas sporadiques sont retrouvés, notamment en milieu rural, car le chien peut ingérer des coléoptères, lézards, oiseaux et petits mammifères. Dans les pays tropicaux (Asie, Inde, Chine, Indonésie, Pacifique, Afrique) ou les DOM-TOM (Guyane, Île de la Réunion), la spirocercose sévit de façon enzootique (Reche-Emonot *et al.*, 2001).

La spirocercose canine peut s'exprimer par 4 types de signes cliniques :

- Des troubles digestifs se traduisant par une œsophagite ou une gastrite et s'exprimant par du ptyalisme, des régurgitations, des vomissements et une dysphagie, associés à un amaigrissement et une polyphagie.
- Des troubles respiratoires dus à la localisation erratique des larves dans l'aorte ou dans les nœuds lymphatiques trachéo-bronchiques. Ils s'expriment par une dyspnée, de la toux voir une syncope à l'effort.
- Des troubles nerveux dus à l'irritation des trajets nerveux tels que des convulsions ou une paralysie sont possibles.
- Des troubles vasculaires sont décrits, notamment un anévrisme vermineux ou une hémorragie interne causée par les larves localisées dans les parois des artères.

Le chien atteint de spirocercose de façon chronique présente des vomissements et/ou régurgitations chroniques avec atteinte de l'état général : soit un chien amaigri, anémié et affaibli.

Le pronostic est souvent sombre, car une hémorragie interne par rupture de l'aorte peut entraîner la mort de l'animal. De plus, il y a un risque de transformation néoplasique des nodules œsophagiens (fibrosarcome) avec métastases pulmonaires. Dans les zones endémiques, le développement d'un syndrome de Cadiot-Ball est caractéristique de la spirocercose canine (Beugnet *et al.*, 2004).

6. Les œufs d'anguillules

Un œuf de *Strongyloides stercoralis* est présenté sur la figure 8. Les œufs mesurent 36 à 60 µm de longueur et 25 à 35 µm de largeur. Ils ont une forme ellipsoïde avec des pôles très arrondis. Ils sont de couleur claire. Leur coque est fine. Ils contiennent une larve L1 à l'intérieur, qui n'est pas toujours visible, car elle est expulsée rapidement. Les œufs se développent bien sur des sols humides.

Figure 8 : Œuf embryonné de *Strongyloides stercoralis* retrouvé dans les matières fécales d'un chien (objectif X 40) (Unité de Parasitologie de l'EnvA)



Le cycle évolutif de *Strongyloides stercoralis* est homoxène. La femelle parthénogénique est hématophage, elle vit dans la muqueuse de l'intestin grêle de l'hôte définitif (homme, chien ou chat). Elle pond des œufs larvés qui sont excrétés dans le milieu extérieur.

Deux cycles sont possibles, selon les conditions climatiques extérieures.

- D'une part, un cycle direct homogonique où la larve de stade 1 rhabditoïde éclot puis se transforme en larve de stade 3 strongyloïde qui correspond à la forme infestante.
- D'autre part, un cycle indirect hétérogonique, dans lequel la larve L1 se transforme en larve L2, L3 puis en adulte qui recrée une génération de larves L1, L2 jusqu'à L3 infestante. Ce dernier cycle amplifie la charge parasitaire dans l'environnement.

La larve L3 pénètre dans l'hôte définitif le plus souvent par voie transcutanée ou plus rarement par ingestion (la larve L3 est détruite dans l'estomac). Les larves L3 migrent dans l'organisme via la circulation sanguine, elles envahissent le cœur puis les poumons et migrent jusqu'à la trachée où elles sont dégluties. Les larves L3 arrivent dans l'intestin grêle où elles évoluent en larves L4 et L5 puis en adultes. Les femelles parthénogéniques pondent dans l'intestin. Les larves L3 peuvent s'enkyster dans le tissu musculaire et mammaire et entrer en diapause. Une réactivation se produit au moment de la gestation avec formation d'adultes dans l'intestin. A ce moment, les chiots peuvent être infestés par le colostrum ou le lait. La période prépatente est variable, l'excrétion des œufs peut se faire dès 9 jours post-infestation. La période patente dure de 3 à 15 mois. *Strongyloides stercoralis* est surtout retrouvé dans les pays chauds. En France, le parasite est relativement rare, on le retrouve principalement l'été, dans les chenils avec une mauvaise hygiène et avec un sol humide. Les jeunes sont les plus touchés.

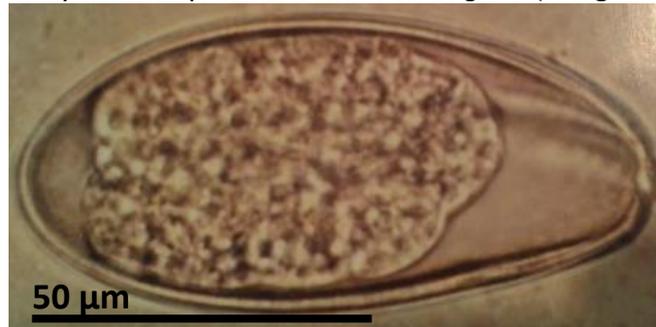
La strongyloïdose s'exprime chez le chiot par des papules qui peuvent être prurigineuses en regard de l'abdomen avec hypertrophie des nœuds lymphatiques locaux lors de pénétration du parasite par voie percutanée. Cependant, l'absence de papule ne permet pas d'exclure cette parasitose qui est sous diagnostiquée. La migration larvaire dans les poumons peut provoquer une toux. Les parasites présents dans l'intestin grêle provoquent une entérite aiguë avec une diarrhée qui peut être hémorragique. Les autres

signes cliniques possibles sont : une hyperthermie, une anémie et un amaigrissement parfois très prononcé associé à une altération majeure de l'état général.

7. Les œufs d'oxyure

Les œufs d'oxyures sont des œufs non operculés. Ils sont caractérisés par leur localisation (aux marges de l'anus), leur coque épaisse et surtout leur asymétrie avec une face plane et une autre légèrement bombée, comme présenté sur la figure 9. Chez le lapin, les œufs de *Passalurus ambiguus* sont ovales et mesurent 95 µm de longueur et 45 µm de largeur. Leur paroi est lisse et épaisse. Ils peuvent contenir une larve ou un embryon.

Figure 9 : Œuf d'oxyure de lapin : *Passalurus ambiguus* (Beugnet *et al.*, 2008)



Les femelles adultes mesurent 1 cm de longueur et les mâles mesurent 0,5 cm (Boucher et Nouaille, 2002). Ce nématode se multiplie dans le gros intestin des lapins. Les oxyures n'existent pas chez les carnivores domestiques. Le cycle évolutif est homoxène et présente une grande spécificité d'hôte. Le lapin se contamine en ingérant des aliments souillés par les œufs de parasites (végétaux verts). La période prépatente varie de 15 à 26 jours.

Les lapins parasités sont asymptomatiques ou présentent des troubles généraux tel qu'un amaigrissement, un retard de croissance, un poil terne et des troubles digestifs, notamment une diarrhée lors d'infestation massive. De plus, des irritations de la zone anale avec du prurit peuvent être décrites par le propriétaire.

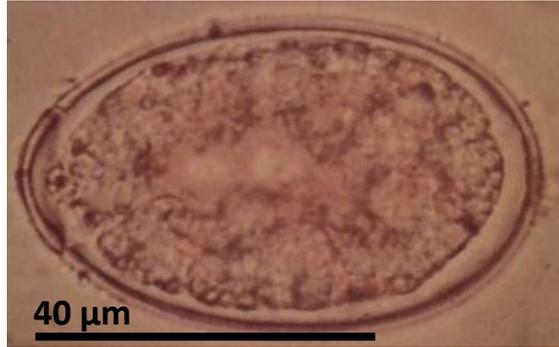
B. Les œufs et les segments ovigères de cestodes

Les caractéristiques des œufs et des segments ovigères de cestodes sont présentées en annexe 3 et 4.

1. Les œufs de *Diphyllobothrium latum*

L'œuf de *Diphyllobothrium latum* est présenté sur la figure 10. Les œufs sont operculés et non embryonnés quand ils passent dans les fèces. Ils mesurent 60 à 70 µm de longueur et 40 à 50 µm de largeur. Ils sont ovales, brun clair, avec une coque mince et lisse. Le syncytium remplit quasi entièrement l'œuf. Ils présentent une extrémité plus arrondie que l'autre. Ils ressemblent aux œufs de *Spirometra* et de trématodes.

Figure 10 : Œuf de *Diphyllobothrium latum* (Beugnet *et al.*, 2008)



Le cycle évolutif est trixène. Les carnivores domestiques sont les hôtes définitifs, ils se contaminent en ingérant les seconds hôtes intermédiaires (HI2), des poissons d'eau douce (truites, saumons, brochets, perches...) crus ou peu cuits hébergeant des larves infestantes (plérocercoides). Les chiens qui accompagnent leurs propriétaires à la pêche ou en randonnée autour d'un lac sont les plus à risque. Les hôtes définitifs éliminent les œufs qui évoluent en milieu aquatique. Dans l'eau, les œufs éclosent et libèrent une larve coracidium nageuse qui est ingérée par les premiers hôtes intermédiaires, des crustacées des lacs, notamment les copépodes (*Cyclops*). La larve se transforme alors en larve procercoïde. Les copépodes sont ingérés par les poissons jouant le rôle d'HI 2, la larve se développe en pléocercoides. La période prépatente dure entre 4 et 6 semaines. *Diphyllobothrium latum* est un parasite rare en France, on peut le retrouver dans la région des lacs alpins.

Les signes cliniques engendrés par ce parasite chez les carnivores domestiques sont des anémies très marquées par carence en vitamine B12, car les parasites adultes se nourrissent du contenu du tube digestif de l'hôte définitif. Cela engendre un déficit de sécrétion du facteur intrinsèque (FI) par la muqueuse gastrique (auto-anticorps dirigés contre le FI) et par conséquent l'inhibition de l'absorption de la vitamine B12. De plus, des troubles digestifs sont souvent présents : diarrhées et douleurs abdominales.

2. Les œufs de *Spirometra* spp

Ce parasite n'est pas présent en Europe, on le retrouve en Asie et dans les îles du Pacifique. L'espèce retrouvée est *Spirometra mansonioides* aussi appelée *Spirometra erinacei*. Les œufs de *Spirometra* spp sont présentés sur la figure 11. Ils sont operculés, mesurent 60-70 μm de longueur et 36 μm de largeur. Ils sont ovales, de couleur brun-jaunâtre. Une extrémité est plus pointue que l'autre. Leur coque est lisse et fine. Ils ressemblent à ceux de *Diphyllobothrium latum* décrit précédemment. Ils ont également beaucoup de similitude avec les œufs de trématodes.

Figure 11 : Œufs de *Spirometra* spp (Beugnet *et al.*, 2008)



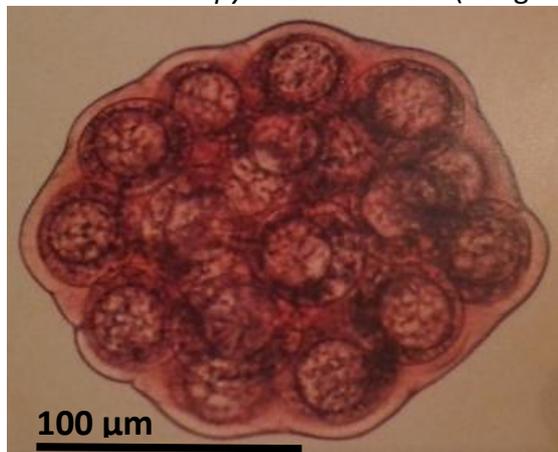
Le cycle évolutif de *Spirometra* spp est trixène. Le premier hôte intermédiaire est un copépode type *Cyclop* (crustacé aquatique) pour le chien et un têtard pour le chat. La 2^e espèce d'hôte intermédiaire qui peut entrer dans ce cycle est variée : amphibiens (grenouilles), reptiles (serpents de mer tel que le *Natrix*, lézards) et insectes (sauterelles). L'hôte définitif naturel est le lynx, mais le chien peut se contaminer en ingérant un serpent de mer parasité. Le chat peut également se contaminer en ingérant des hôtes intermédiaires. La période prépatente varie de 10 à 30 jours.

Les signes cliniques chez les carnivores domestiques dépendent de la localisation des larves. Ce parasite peut entraîner un pneumothorax, une péritonite et même la mort de l'animal. Une diarrhée intermittente peut également être présente lors de contamination importante. Certains animaux sont asymptomatiques.

3. Les segments ovigères de *Dipylidium caninum*

Les tétracestodes n'ont pas d'orifice de ponte. Ce sont les derniers segments ovigères contenant les œufs qui sont éliminés et retrouvés dans les matières fécales ou aux marges de l'anus des carnivores domestiques. Pour *Dipylidium caninum*, les œufs sont retrouvés isolés ou regroupés au sein d'une capsule ovifère (figure 12) quand le segment a été détruit pendant son expulsion dans les fèces. Une capsule ovifère regroupe une vingtaine d'œufs sphériques. Chaque œuf contient un embryon hexacanche (figure 13). L'embryon est entouré de l'embryophore. Chaque œuf est entouré par la membrane vitelline. Les œufs mesurent 30-40 x 50 µm et la capsule ovifère mesure 200 à 250 µm. La paroi est mince et lisse. Les œufs contenus dans les capsules ovifères résistent de 1 à 3 mois et demi dans le milieu extérieur.

Figure 12 : Capsule ovifère de *Dipylidium caninum* (Beugnet *et al.*, 2008)



Des segments ovigères blancs ayant un aspect de « grain de riz » de 3 à 5 mm de longueur sont visibles dans les matières fécales. Un segment mesure 5 à 12 mm de longueur et 2 à 8 mm de largeur à l'état frais. Les segments sont retrouvés dans les fèces isolés ou groupés en amas. On peut en retrouver également dans l'environnement de l'animal (paniers et tapis). Ils sont doués de mouvements de reptation. Chaque segment possède, à l'état frais, deux pores génitaux. Ces éléments sont parfois confondus à tort par les propriétaires par des oxyures, or ces parasites n'existent pas chez les carnivores domestiques.

Le cycle évolutif de *Dipylidium caninum* est dixène. L'hôte définitif est un chien ou un chat qui héberge la forme adulte du parasite, un ver plat blanc, mesurant 15 à 70 cm de longueur et 2 à 3 mm de largeur (figure 13). Ce ver est segmenté en une centaine de segments. Les segments postérieurs ovigères contenant les capsules ovifères sont rejetés dans les matières fécales du carnivore domestique. L'hôte intermédiaire est une puce. Les larves de puces ingèrent les capsules ovifères qui sont sur le sol. Les œufs éclosent et des larves de *Dipylidium caninum* se forment chez la larve de puce qui va devenir puce adulte en un mois. L'hôte définitif ingère une puce adulte contenant une larve infestante. La larve forme un cestode adulte dans l'intestin grêle du carnivore domestique en 1 à 1 mois et demi. La période prépatente dure 2 à 3 semaines et la période patente plusieurs années.

Figure 13 : *Dipylidium caninum* adulte (Beugnet *et al.*, 2008)



Les signes cliniques causés par *Dipylidium caninum* chez les carnivores domestiques sont souvent frustrés ou inexistant. Un prurit anal, caractérisé par un chien se grattant le train-arrière contre le sol (« signe du traîneau »), est fréquemment rapporté avec des sacs anaux engorgés contenant des segments ovigères lysés. Parfois, les segments ovigères sont directement observables sur les marges de l'anus. La prévalence de *Dipylidium caninum* en Europe varie de 0,1 à 1 % chez les chats domestiques (Beugnet *et al.*, 2014).

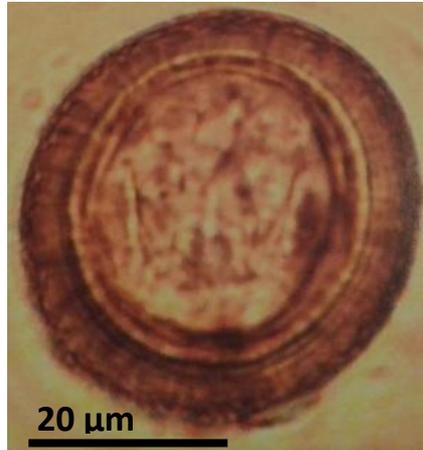
L'homme peut contracter *Dipylidium caninum* par ingestion d'une puce adulte parasitée.

4. Les œufs de Taeniidés

Les œufs de *Taeniidés* sont présentés sur la figure 14. Ils sont subsphériques et mesurent 30 à 45 μm de longueur et 20 à 30 μm de largeur. Ils contiennent un embryon hexacanthé muni de 6 crochets. Leur enveloppe (embryophore) est unique, épaisse avec

des stries concentriques marron-orangé. Il n'y a pas de membrane vitelline ni de capsule ovifère, ce qui qualifie les œufs d'incomplets, caractéristique spécifique de la famille des *Taeniidés*. Ces œufs sont très résistants dans le milieu extérieur grâce à leur paroi épaisse, ils peuvent résister jusqu'à un an dans le milieu extérieur. On ne peut pas distinguer morphologiquement les œufs de *Taenia sp* avec ceux d'*Echinococcus spp*.

Figure 14 : Œuf de Taeniidés (Beugnet *et al.*, 2008)



4.1. Le genre *Taenia*

Les vers adultes sont plats et segmentés, ils mesurent de 60 cm à 2 mètres de longueur chez le chien et le chat. Ils sont formés d'un scolex contenant une double couronne de crochets. Les derniers segments ovigères sont blanchâtres et rectangulaires, ils mesurent 10 à 15 mm de longueur et 6 à 8 mm de largeur. Ils renferment un utérus ramifié contenant des milliers d'œufs. Les segments sont capables de ramper, ils peuvent être visibles au niveau des marges de l'anus en dehors des défécations. Les segments se lysent dans l'environnement et libèrent les œufs.

Le chien est l'hôte définitif (HD), il héberge *Taenia pisiformis*. Le lapin joue le rôle d'hôte intermédiaire (HI), il se contamine en ingérant des aliments (herbe) ou de l'eau souillée par les fèces de chiens contenant des œufs. Le chat peut héberger *Taenia taeniaeformis* dans son tube digestif. Les rongeurs (souris) jouent le rôle d'HI. Le chat et le chien se contaminent en chassant des rongeurs pour le premier ou des lapins pour le second et en ingérant leurs proies infestées qui contiennent des larves cysticerques dans leur foie ou leur péritoine. Une fois que l'hôte intermédiaire ou leurs viscères sont ingérés, les ténias adultes se forment en environ 6 semaines. La période prépatente varie de 4 à 10 semaines. Le chien peut également héberger d'autres espèces de *Taenia* : *Taenia ovis* en ingérant de la viande d'ovin jouant le rôle d'HI (rarissime en Europe), *Taenia hydatigena* en ingérant des viscères (foie, péritoine) d'herbivores (ovin, bovin, caprin) ou de porcs, *Taenia multiceps* en ingérant de la cervelle crue d'un mouton (rare en Europe) et *Taenia serialis* en ingérant un lapin ou un lièvre. Les chiens de chasse, de ferme et de bergers et les chats ayant accès à l'extérieur et vivant en zone rurale sont les plus à risque (Beugnet *et al.*, 2004).

Les signes cliniques possibles de téniasis chez le chien et le chat sont : des diarrhées, un appétit augmenté et un prurit anal exprimé par le signe du traîneau. L'observation d'anneaux dans les selles ou en marge de l'anus permet de poser un diagnostic.

4.2. Le genre *Echinococcus*

4.2.1. *Echinococcus granulosus*

Echinococcus granulosus est retrouvé principalement dans le sud de la France et le pourtour Méditerranéen. Dans les matières fécales, *Echinococcus granulosus* est représenté par des petits segments ovigènes blancs mesurant 2 à 3 mm de longueur qui sont difficiles à voir directement à l'œil nu. Il est nécessaire d'observer les fèces sous la lampe binoculaire pour les localiser. Chaque segment possède un pore génital unique. Il faut porter des gants pour manipuler les fèces contaminées car *Echinococcus granulosus* est un agent de zoonose. Lors de suspicion de cette parasitose, une décontamination des selles à – 80 °C pendant une semaine est préconisée avant toute analyse coproscopique. En effet, les segments sont très résistants, une congélation à – 20°C ne suffit pas pour les détruire.

Le vers adulte mesure 2 à 11 mm de longueur, il est formé de 2 à 8 segments, comme présenté sur la figure 15. Sa partie antérieure, appelée scolex, est composée d'un rostre armé de 30 à 42 crochets qui sont disposés en deux couronnes. Le scolex permet au parasite de se fixer profondément dans les cryptes intestinales entre les villosités (Thompson et Lymbery, 1995).

Figure 15 : Adulte d'*Echinococcus granulosus* (Beugnet *et al.*, 2008)



L'hôte définitif (HD) est le chien. L'hôte intermédiaire (HI) est un herbivore ou un omnivore, dans la majorité des cas c'est le mouton. Les bovins, caprins, cervidés, chevaux, porcs et dromadaires peuvent aussi être des HI (OIE, 2008). Les hôtes intermédiaires hébergent la forme larvaire du parasite qui se présente en kystes ou vésicules hydatiques qui se développent dans divers organes de l'organisme notamment le foie et les poumons. Le chien se contamine en ingérant les larves (echinocoques) présentes dans les tissus des HI, dans les viscères ou carcasses de mouton le plus souvent. Les chiens de berger sont les plus à risque. Les œufs libérés dans les matières fécales des chiens sont directement infestants. La période prépatente dure 45 jours et la période patente plusieurs années.

4.2.2. *Echinococcus multilocularis*

Echinococcus multilocularis est un parasite enzootique en Europe centrale et de l'est. De plus, on le retrouve dans le nord et l'est de la France. L'hôte définitif est le renard, parfois le chien et très rarement le chat. L'hôte intermédiaire est un rongeur, souvent le campagnol qui se contamine en ingérant des œufs présents sur le sol, les plantes, les baies sauvages. Les chiens et chats qui chassent sont les plus à risque. Les œufs émis dans les matières fécales

de l'hôte définitif sont directement infestants. La période prépatente dure 28 jours et la période patente plusieurs années.

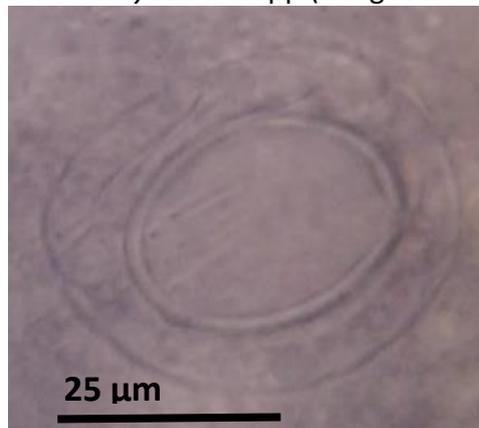
Le ver adulte est composé de 2 à 4 segments qui possèdent un pore génital proéminent. La diagnose d'espèce peut être faite par la localisation de ce pore dans la partie antérieure du segment.

Echinococcus multilocularis est responsable d'une zoonose sévère due au développement des larves dans le parenchyme hépatique, on parle d'échinococcose alvéolaire.

5. Les œufs de *Joyeuxiella* spp

L'œuf de *Joyeuxiella* spp est présenté sur la figure 16. Ces œufs de cestode mesurent 50 µm de longueur et 35-40 µm de largeur. Ils sont sphériques et contiennent un embryon hexacanthé. Les œufs uniques sont entourés d'une capsule ovifère.

Figure 16 : Œuf de *Joyeuxiella* spp (Beugnet *et al.*, 2008)



Le cycle évolutif est dixène. L'hôte définitif est un carnivore domestique qui héberge la forme adulte, qui est un long ver blanc contenant plusieurs segments. Les derniers segments sont qualifiés d'ovigères, ils contiennent des capsules ovifères contenant un seul œuf. Les segments postérieurs sont rejetés dans les matières fécales. L'hôte intermédiaire est un reptile.

6. Les œufs de *Mesocestoides* spp

Les œufs mesurent 45 à 50 µm de longueur et 35 à 40 µm de largeur, ils sont présentés sur la figure 17. Ils sont sphériques et contiennent un embryon hexacanthé. Les œufs sont entourés par une coque interne : la membrane vitelline. Leur coque externe est très mince et lisse. Les œufs sont contenus dans les segments ovigères postérieurs. Ces segments, présentés en figure 18, sont blancs et mesurent 4 à 6 mm de longueur et 2 à 4 mm de largeur. Le segment contient un pore central correspondant à l'organe parutérin. Dans les matières fécales on peut donc retrouver soit des segments qui sont difficilement visibles à l'œil nu, mais bien visibles à la lampe binoculaire, soit des œufs à l'observation coproscopique au microscope.

Figure 17 : Œuf de *Mesocestoides* spp (Beugnet *et al.*, 2008)

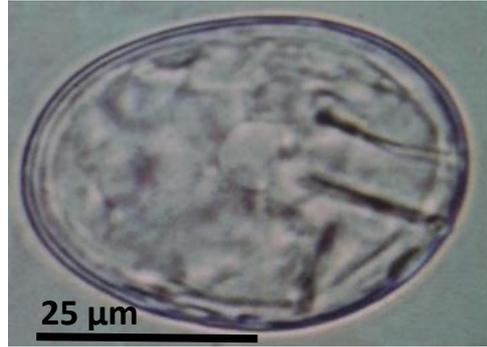
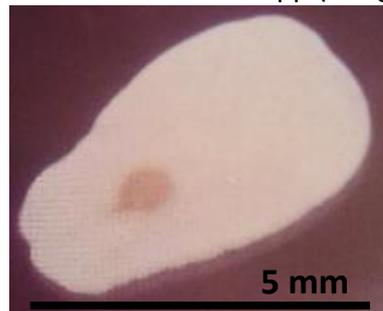


Figure 18 : Segment de *Mesocestoides* spp (Beugnet *et al.*, 2008)



Les carnivores domestiques peuvent être parasités par *Mesocestoides lineatus* et *Mesocestoides litteratus*. Ces parasites sont rares en France, on les retrouve plus souvent dans le milieu rural chez les carnivores domestiques qui chassent. Les chats semblent plus souvent touchés que les chiens. Le cycle évolutif est hétéroxène. Les chiens et les chats représentent les hôtes définitifs, ils s'infestent en ingérant un hôte intermédiaire. Les *Mesocestoides* peuvent aussi se développer à l'état larvaire chez les carnivores domestiques. Les larves traversent la paroi digestive et envahissent le péritoine.

Les signes cliniques passent le plus souvent inaperçus ou des troubles digestifs sont présents : diarrhée, appétit variable de la dysorexie à la polyphagie. Une douleur abdominale et de l'ascite peuvent être présentes lorsqu'une péritonite est suspectée. Des granulations blanchâtres peuvent être retrouvées de façon fortuite sur le péritoine lors d'une laparotomie.

C. Les œufs de trématodes

Les trématodes sont des vers plats au corps non segmenté. Les œufs de trématodes des carnivores domestiques mesurent 30 μm de longueur et 20 μm de largeur. Ils sont de forme ovoïdes. Une pôle contient un opercule et l'autre une épine. Ils contiennent un embryon. L'œuf de trématode est présenté sur l'annexe 4 et la figure 19. Ils sont rejetés dans le milieu extérieur dans les selles des carnivores domestiques (chiens et chats).

Figure 19 : Œuf d'*Opistorchis felineus* (Beugnet *et al.*, 2008)



Le cycle évolutif d'*Opistorchis felineus* est trixène avec deux hôtes intermédiaires (mollusques et poissons) obligatoires. La larve miracidium contenue dans l'œuf se transforme en sporocyte, rédies et cercaires en milieu aquatique, au sein de l'escargot. C'est cette dernière forme du parasite qui quitte le mollusque en nageant pour rejoindre un poisson de la famille des Cyprinidés. En France, dans cette famille de poissons, on retrouve la carpe, l'ablette, le gardon (en Corse) et la brême. Les carnivores domestiques s'infestent par ingestion de poissons d'eau douce parasités. Chez le chien et le chat, les parasites adultes se développent dans les canaux biliaires et se nourrissent de la bile. La période prépatente dure 2 à 3 semaines.

La parasitose est le plus fréquemment asymptomatique, parfois une insuffisance hépatique peut se développer lors d'infestation massive évoluant en cirrhose avec ictère.

L'opistorchiidose est répandue en Extrême Orient (Russie, Chine...) où les carnivores jouent le rôle de réservoir du parasite pour l'Homme (zoonose). Cette parasitose est rarissime en France. En Allemagne de l'Est, des foyers ont été répertoriés en 1999.

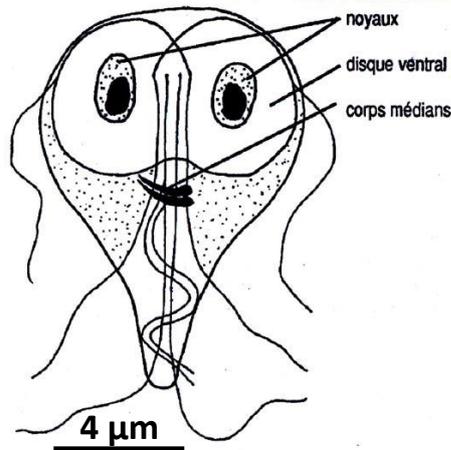
D. Les trophozoïtes, les kystes et les oocystes de protozoaires

La description des trophozoïtes, des kystes de *Giardia* et des oocystes de coccidies est détaillée dans l'annexe 5.

1. Les trophozoïtes

Les trophozoïtes possèdent 4 paires de flagelles. Ils ont une forme de goutte avec l'extrémité antérieure qui est arrondie et contient deux noyaux ovales et l'extrémité postérieure qui est effilée, comme présenté sur la figure 20. Ils mesurent 10 à 15 μm de longueur et 6 à 10 μm de largeur pour 2 à 4 μm d'épaisseur. Les corps médians sont situés au centre du trophozoïte, ce sont deux structures parallèles en forme de bâtonnet qui correspondent à des agrégats de microtubules et de protéines contractiles.

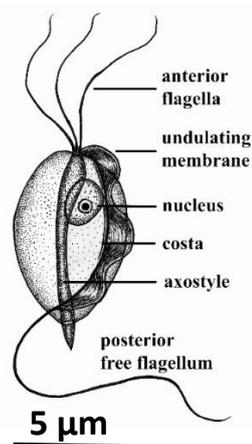
Figure 20 : Trophozoïte de *Giardia duodenalis* (Bussiéras et Chermette, 1992)



L'agent pathogène de la giardiose est un protozoaire flagellé, nommé *Giardia duodenalis*, *Giardia intestinalis* ou *Giardia lamblia*. Les trophozoïtes de *Giardia* représentent la forme active du parasite. Ils sont localisés à la surface des entérocytes formant un tapis au niveau de leur bordure en brosse. Cette localisation perturbe les échanges et diminue l'absorption de certains nutriments (vitamines, triglycérides, glucose). De plus, les trophozoïtes induisent une diarrhée par malabsorption par diminution de la production de lipases nécessaire à la digestion des graisses. Les trophozoïtes se multiplient de manière asexuée par bipartition. Ils sont observables à l'examen direct de selles fraîches.

L'autre parasite mobile qui est repérable par examen direct de matière fécale fraîche est *Tritrichomonas f etus* chez le chat. Pour faire la différence, il faut observer les parasites à l'immersion (x 100). Il est légèrement plus petit que les trophozoïtes de *Giardia*. On le différencie par l'absence de surface concave (pas de disque), une forme plus ondulée de son mouvement avec la présence d'une membrane ondulante (Williams et Zajac, 1980). De plus, il ne possède qu'un seul noyau (Bourdeau, 1993). Il est également composé de 4 paires de flagelles, mais réparties de façon différentes de celles de *Giardia* : 3 à l'extrémité antérieure et une à l'extrémité postérieure. Le trophozoïte de *Tritrichomonas f etus* est représenté sur la figure 21. Ce protozoaire est bien différenciable de *Giardia* mais pas de *Pentatrichomonas hominis* qui n'est pas considéré comme pathogène dans les fèces de chat.

Figure 21 : Trophozoïte de *Tritrichomonas f etus* (Wood, n.d.)



2. Les kystes de *Giardia*

Les kystes de *Giardia* sont de petite taille, ils mesurent environ 8 à 12 μm de longueur et 7 à 10 μm de largeur (Bourdeau, 1993 ; Barr et Bowman, 1994). Ils sont ovales et de couleur claire. Leur paroi est lisse et mince, de 0,3 à 0,5 μm d'épaisseur (Ripert, 1996). Leur contenu renferme 2 à 4 noyaux comme représenté sur la figure 22, ainsi que des résidus de flagelles et de corps médians formant un S au centre. Ces structures correspondent à deux trophozoïtes qui sont incomplètement séparés. Les kystes doivent être recherchés dans les matières fécales à l'objectif 40, comme présenté sur la figure 23. Les kystes représentent la deuxième forme du parasite *Giardia*, ce sont des éléments de résistance qui sont responsables de la transmission du parasite entre les animaux. Les kystes sont relativement sensibles à la dessiccation et aux désinfectants usuels tel que l'ammonium quaternaire. Le formol les détruit également. Cependant, ils s'accumulent dans les milieux humides tels que les potagers, ils sont véhiculés par l'eau ou les aliments souillés tels que les légumes crus. Ils résistent plusieurs semaines en milieu humide. Une température supérieure à 50 °C tue les kystes (Kreier, 1978).

Figure 22 : Kyste de *Giardia duodenalis* (Bussiéras et Chermette, 1992)

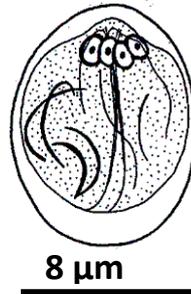


Figure 23 : Kyste de *Giardia duodenalis* retrouvé dans les matières fécales d'un chat (objectif X 100) (Unité de Parasitologie de l'EnvA)



La giardiose est une protozoose infectieuse de l'intestin grêle (duodénum, jéjunum, iléon antérieur). Cette parasitose est l'une des plus fréquente chez le chien et le chat et est très contagieuse. Les jeunes vivants en collectivité sont plus sensibles. La prévalence est double chez les carnivores de moins de 1 an (Bourdeau, 1993). En France, la prévalence est estimée à 7 % chez les chiens adultes. Collins *et al* (1987) ont révélé que chez les chiots de moins de 6 mois, 30 à 45 % seraient porteurs de *Giardia*. En chenil et refuge, les chiots sont porteurs à 100 % selon l'étude de Groat (2003). Le pourcentage de chats porteurs de *Giardia*

varie de 4 à 14 % d'après Thiry (2002) et la prévalence de la giardiose féline varie de 8 à 31 % (Avedissian, 1988).

Le cycle évolutif est homoxène. L'hôte définitif est le chien ou le chat qui se contamine par ingestion des kystes qui sont directement infectant lors de leur émission dans les matières fécales. La contamination se fait donc soit par ingestion directe de fèces, soit indirectement via des aliments ou de l'eau souillée. Lorsque les kystes atteignent le tube digestif, ils s'ouvrent et libèrent les trophozoïtes. L'excrétion des kystes a lieu environ 7 jours après l'infection (4 à 16 jours).

La giardiose clinique est très probablement due à des souches de *Giardia* virulentes s'exprimant le plus souvent par une entérite avec diarrhée chronique intermittente (phase de rémission) d'aspect stéatorrhée (malabsorption des graisses). La plupart du temps, l'animal présente un bon état général, mais cet état peut évoluer vers un amaigrissement progressif sans perte d'appétit. Certains animaux sont asymptomatiques, ils sont qualifiés de porteurs sains.

Deux formes de giardiose sont décrites dans la littérature, la forme aiguë est la plus rare et la forme chronique la plus fréquente :

- La forme aiguë est caractérisée par une diarrhée aqueuse rebelle à tout traitement, un ballonnement avec douleur abdominale et une atteinte de l'état général, généralement apyrétique.
- La forme chronique se caractérise par une diarrhée pâteuse jaunâtre malodorante d'aspect grasseux (stéatorrhée). Cette diarrhée peut être intermittente ou permanente. La fréquence de l'émission des selles est souvent augmentée (1 à 6 fois par jours). Une douleur abdominale est fréquemment perceptible à la palpation. Un amaigrissement progressif est observé. L'appétit est le plus souvent conservé et une polyuro-polydipsie peut être rapportée (Beugnet *et al.*, 2004).

L'expression des signes cliniques apparaît en moyenne une semaine après l'infestation, mais la durée d'incubation est très variable. L'infestation peut persister plusieurs semaines à plusieurs mois sans traitement.

Euzéby (2002) réalise une synthèse sur les résultats des études menées sur l'épidémiologie de la giardiose humaine et conclut que l'infection humaine par une souche d'origine canine est possible mais rare. La transmission inter-humaine reste la transmission majoritaire (Kasprzak et Pawlowski, 1989). La transmission du parasite se fait donc soit de manière directe par un contact homme-carnivore (caresses sans se laver les mains ensuite). Cette voie de contamination est rare. Soit de façon indirecte via l'eau ou l'alimentation souillée par les déjections animales ou humaines contenant des kystes. Chez l'homme, la manifestation clinique est une diarrhée chronique.

L'infection expérimentale du chien par *Giardia* de l'homme donne des résultats contradictoires, (Hewlett *et al.*, 1982). En 1988, Avedissian, dans sa thèse, infecte des chiens avec des kystes d'origine humaine. Les chiens ne présentent aucun signe clinique mais le parasite s'y développe.

3. Les oocystes de coccidies

3.1. Les oocystes d'*Isospora*

Il existe plusieurs espèces d'*Isospora* : *Isospora canis* et *Isospora ohioensis* chez le chien, *Isospora felis* et *Isospora rivolta* chez le chat. En moyenne, les oocystes mesurent 20-40 μm de longueur et 15 à 30 μm de largeur. *Isospora canis* (38 x 30 μm) est de taille plus importante qu'*Isospora ohioensis* (23 x 19 μm). Ils sont sphériques à sub-sphériques. Une extrémité est légèrement plus arrondie que l'autre. Leur coque est fine et lisse. Ils sont de couleur claire. Les oocystes retrouvés dans les selles contiennent une cellule ronde de contenu granuleux. Dans le milieu extérieur, les oocystes sporulés contiennent deux sporocystes à 4 sporozoïtes. Les oocystes d'*Isospora* sont présentés sur la figure 24.

Figure 24 : Oocystes d'*Isospora* non sporulés dans les fèces (gauche) et sporulé dans l'environnement (droite) (Unité de Parasitologie de l'EnvA)



Les coccidies sont transmises par ingestion d'oocystes sporulés infestants qui sont présents dans le milieu extérieur au niveau du sol. Ces derniers peuvent y survivre 1 à 2 ans. Le chien ou le chat (hôte définitif) ingère les oocystes sporulés qui vont se multiplier au niveau des cellules épithéliales de l'intestin. On parle de schizogonie (multiplication asexuée). Puis, une reproduction sexuée a lieu : la gamétogonie. Les œufs sont alors émis dans les matières fécales, puis ils sporulent dans le milieu extérieur, environ 36 à 48 heures après leur émission (sporogonie). Un hôte paratémique comme la souris peut intervenir dans le cycle, notamment chez le chat. Les petits rongeurs ingèrent les oocystes sporulés. Le parasite est conservé à l'intérieur de cet hôte sous forme de latence. Puis, le chat s'infecte en mangeant les viscères de la souris. La période prépatente dure de 6 à 10 jours (ESCCAP, 2013b).

Les animaux parasités sont souvent des jeunes de 1 à 3 mois. Ils présentent le plus souvent une diarrhée d'aspect « gelée de groseille » avec du sang et du mucus, car les parasites intracellulaires détruisent les cellules épithéliales de l'intestin ce qui diminue la capacité d'absorption. Plus le nombre d'oocystes ingéré est élevé, plus l'entérite est importante. Lors de multiplication des parasites dans le gros intestin (caecum, colon), comme cela peut être le cas pour *Isospora ohioensis*, les signes cliniques sont plus sévères.

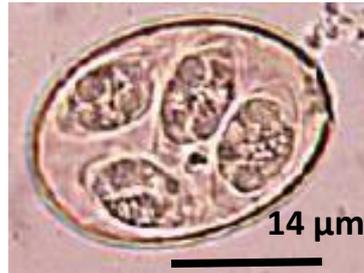
3.2. Les oocystes d'*Eimeria*

Les coccidies du genre *Eimeria* sont retrouvés chez les mammifères herbivores. Chez le lapin domestique, on retrouve plusieurs espèces différentes. Les caractéristiques (taille, pouvoir pathogène, durée de la période prépatente) des différentes espèces d'*Eimeria* retrouvées chez le lapin sont détaillées en annexe 6 réalisée à partir du livre de Boucher et Nouaille. *Eimeria perforans* est l'oocyste de plus petite taille, il est peu pathogène, il entraîne seulement un amaigrissement minime. *Eimeria media* est plus pathogène, il entraîne une perte de poids plus importante. Ces deux espèces n'entraînent pas de diarrhée ni de mortalité. *Eimeria magna* est l'espèce de plus grande taille, elle est plus pathogène que les deux espèces précédentes entraînant une perte de poids ainsi qu'une diarrhée et parfois même de la mortalité. *Eimeria intestinalis* et *Eimeria flavescens* sont les espèces les plus pathogènes entraînant un amaigrissement sévère associé à une diarrhée importante et un fort taux de mortalité. Le degré du pouvoir pathogène selon les espèces est présenté sur le tableau 2. Les lapins rejettent des oocystes non infestant dans le milieu extérieur. La sporulation a lieu en 30 à 60 heures dans de bonnes conditions de température, d'hydrométrie et d'oxygène (Boucher et Nouaille, 2002). Les oocystes sporulés infestant possèdent quatre sporocystes avec deux sporozoïtes chacun, comme présenté sur la figure 25. Ces oocystes sporulés sont très résistants. Ils sont détruits à la vapeur d'eau à 120 °C. Le lapin s'infeste par ingestion d'oocystes sporulés. L'ingestion d'un oocyste d'*Eimeria intestinalis* aboutit à 3 millions d'oocystes par multiplication dans l'iléon à la fin du cycle.

Tableau 2 : Pouvoir pathogène des différentes coccidies du lapin (Coudert *et al.*, 1995)

	Eimeria	Symptômes Chute G.M.Q.	Diarrhées	Mortalité
Non pathogènes	<i>coecicola</i>			
Peu pathogènes	<i>perforans</i>	+		
Pathogènes	<i>Exigua media Vejdovskyi</i>	++		
	<i>magna</i>	++	++	+
	<i>irresidua</i>	++	++	+
	<i>piriformis</i>	++	+++	+++
Très pathogènes	<i>intestinalis</i>	+++	+++	+++
	<i>flavescens</i>	+++	+++	+++

Figure 25 : Oocyste sporulé infestant d'*Eimeria* dans le milieu extérieur (Unité de Parasitologie de l'EnvA)



Chez le lapin, les signes cliniques de la coccidiose digestive (intestinale et caecale) et hépatique sont semblables : dilatation abdominale, diarrhée, anémie, amaigrissement, déshydratation, cachexie voire la mort selon les espèces. On parle de maladie du « gros ventre ».

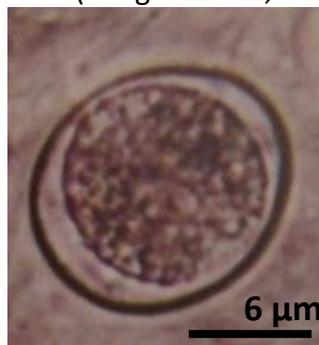
Le diagnostic différentiel lors de diarrhée implique les agents bactériens tels que *Clostridium perfringens*, *Clostridium spiriforme* et des colibacilles (*Escherichia coli*). Les signes cliniques s'expriment souvent lors de stress (sevrage, transport, changement de cage ou de température, peur).

Un traitement est systématiquement mis en place lorsque *Eimeria intestinalis* ou *Eimeria flavescens* sont identifiés à l'analyse coproscopique.

3.3. Les oocystes de *Neospora caninum*, *Hammondia* sp, *Toxoplasma gondii*

Les oocystes de *Neospora caninum*, de *Toxoplasma gondii*, d'*Hammondia* sp et de *Besnoitia* sp ne sont pas différenciables entre eux morphologiquement. Les œufs retrouvés dans les fèces sont présentés sur la figure 26. Ils sont de forme sub-sphérique, mesurent environ 12 à 15 µm de longueur et 10 à 12 µm de largeur. Ils sont donc plus petits que ceux d'*Isospora* spp.

Figure 26 : Oocyste d'*Hammondia* sp ou *Neospora caninum* dans les matières fécales d'un chien (Beugnet et al., 2008)



Les oocystes d'*Hammondia* sont non distinguables morphologiquement des oocystes d'*Isospora* (sub-sphérique, coque fine et mince, contenant une seule cellule claire) sauf par leur taille généralement plus petite pour les oocystes d'*Hammondia* (11-15 x 10-14 µm). D'ailleurs, *Hammondia heydorni* correspond à *Neospora caninum*. Il existe deux espèces d'*Hammondia* chez les carnivores domestiques : *Hammondia heydorni* chez le chien et

Hammondia hammondi chez le chat. Le diagnostic différentiel se fait par PCR sur le liquide céphalo-rachidien ou sur biopsie musculaire. Un diagnostic peut également être posé par sérologie (ELISA ou immunofluorescence). L'identification du genre entre les oocystes de coccidies dans les matières fécales est difficile et essentiellement basée sur la taille. C'est pourquoi, tout oocyste sub-sphérique de petite taille (inférieure à 13 µm) retrouvé dans les fèces d'un chat doit être considéré comme potentiellement *Toxoplasma gondii*, agent de zoonose, il faut donc porter des gants lors de la manipulation des selles. L'examen des selles est une technique adéquate pour déterminer si le chat excrète activement des oocystes mais cette méthode ne permet pas de savoir si c'est la première excrétion ou pas. Les oocystes infestants représentent la forme de résistance, ils contiennent 2 sporocystes à 4 sporozoïtes chacun après sporulation dans le milieu extérieur. Les caractéristiques des oocystes des coccidies des carnivores domestiques sont synthétisées sur le tableau 3.

Le cycle évolutif de ces parasites est hétéroxène. L'hôte définitif est le chien ou le chat, il s'y déroule une reproduction asexuée puis sexuée. L'hôte intermédiaire (HI) peut correspondre à une grande diversité de mammifères.

Toxoplasma gondii peut entrer dans deux cycles.

- Un cycle monoxène se déroulant uniquement chez le chat. La schizogonie et la gamétogonie se déroulent dans les entérocytes du chat. Les oocystes sont excrétés dans les selles, puis ils sporulent dans le milieu extérieur en 2 à 5 jours. Un autre chat ingère les oocystes sporulés infestant. Les sporozoïtes sont libérés dans la circulation sanguine et infectent les cellules nucléées. Ce chat ré-excrétera des oocystes dans les 15 à 20 jours post-ingestion d'oocystes. L'excrétion dure 2 semaines en moyenne.
- Un cycle dixène avec le chat comme hôte définitif et un hôte intermédiaire qui peut être un ovin, un rongeur, un chien, un homme ou un chat. L'hôte intermédiaire peut s'infester de différentes manières :
 - ✓ soit en ingérant des oocystes sporulés qui sont présents sur des aliments souillés, comme des végétaux crus non lavés qui sont souillés par des fèces de chat ;
 - ✓ soit en ingérant des kystes situés dans les tissus de l'hôte intermédiaire, c'est le cas lors d'ingestion de viande crue ou peu cuite d'ovins infestés ou lors d'ingestion de rongeurs infectés porteurs de kystes dans leurs viscères.

De cette façon, le chat excrète rapidement les oocystes dans les 4 à 6 jours post-ingestion des oocystes. Le chien est un hôte intermédiaire, c'est un cul de sac épidémiologique, car il n'est pas ingéré par un autre carnivore. Les oocystes sont excrétés en grand nombre lors de primo-infection mais sur une courte durée (moins de 20 jours) et les ré-excrétions sont rares. Les ré-excrétions se produisent lors d'immunodépressions passagères. La plupart des chats séropositifs ont terminé leur période d'excrétion d'oocystes et ne répéteront très probablement pas l'excrétion. Les réexcrétions d'oocystes sont possibles mais très rares après la première infection.

La toxoplasmose est asymptomatique chez le chat le plus souvent. La prévalence de ce parasite est très faible : 0,11 % d'après la réalisation de PCR sur 24 106 selles de chats domestiques (Schaes *et al.*, 2008). Cependant, les jeunes chats de moins de un an qui ont tendance à chasser les souris ou les chats immunodéprimés de façon passagère par un

traitement immunosuppresseur type ciclosporine ou car porteurs d'une maladie concomitante (FIV, FeLV) ou d'une autre parasitose telle que *Isospora felis* ou *Isospora rivolta* peuvent excréter des oocystes et être symptomatiques. Les signes cliniques sont oculaires avec une choréétinite ou une uvéite unie ou bilatérale. Une forme respiratoire existe également s'exprimant par une bronchopneumonie associée à une hyperthermie intermittente, une dyspnée et de la toux. Des troubles digestifs type gastrite, hépatite, pancréatite peuvent être présents ainsi que des signes nerveux s'exprimant par des crises convulsives résultant d'une encéphalite. Enfin, des douleurs musculaires peuvent aussi être présentes. La toxoplasmose congénitale est possible chez la chatte ou la chienne gestante, le parasite traverse le placenta, cela peut entraîner une mort des fœtus, un avortement en début de gestation, des fœtus malformés ou une mortinatalité.

Neospora caninum, malgré la ressemblance morphologique des oocystes, diffère de *Toxoplasma gondii* pour plusieurs raisons. Tout d'abord, ce n'est pas un agent de zoonose. De plus, son hôte définitif n'est pas le chat mais le chien. Les kystes à bradyzoïtes retrouvés dans les tissus des bovins ont une paroi beaucoup plus épaisse que les kystes à bradyzoïtes de *Toxoplasma gondii*. Et enfin, les oocystes sont rejetés par l'hôte définitif de façon plus modérée que *Toxoplasma gondii*. Il est donc plus difficile de retrouver des oocystes dans les selles. De plus, si le chien joue le rôle d'hôte intermédiaire sa coproscopie sera négative.

Neospora caninum présente un cycle coccidien classique. L'hôte définitif est le chien, le parasite s'y développe dans les cellules épithéliales digestives, puis les oocystes sont excrétés dans les selles. Les oocystes subissent une maturation en 24 à 72 heures dans le milieu extérieur et avant de devenir infectieux, ils sont alors ingérés par divers hôtes intermédiaires : bovin, ovin, caprin, chien ou cheval. Les hôtes intermédiaires peuvent aussi se contaminer par voie transplacentaire. Chez l'hôte intermédiaire, le parasite (tachyzoïtes) se multiplie dans différents tissus et forme des kystes dans le système nerveux. Le chien se contamine en ingérant des tissus infectés (carcasse, placenta, fœtus de bovin). La transmission par voie transplacentaire est également fréquente chez le chien. Le chien excrète les oocystes dans les selles après une période prépatente de 5 à 9 jours. La période patente varie de 11 à 20 jours.

Le chien infecté en tant qu'hôte définitif, avec un développement uniquement entérique du parasite est asymptomatique. La répartition du parasite est multifocale, cependant, les atteintes du système nerveux et musculaire sont les plus fréquentes. Les chiots âgés de 1 à 6 mois sont les plus souvent atteints par transmission verticale. Ils présentent des troubles nerveux tels qu'une paralysie débutant par les postérieurs, avec des contractures musculaires, une hyper-extension des membres postérieurs ou une myosite accompagnés d'une atrophie musculaire. La paraparésie des chiots peut évoluer vers une paralysie ascendante avec une atteinte des membres antérieurs puis des cervicales (faiblesse ou rigidité) puis des troubles d'encéphalite (nyctagmus, convulsions, mouvements en cercle). *Neospora caninum* serait transmis aux chiots à la fin de la gestation, car la majorité des signes cliniques n'apparaissent pas avant 5 à 7 semaines (ESCCAP, 2013b).

Le chien adulte est généralement asymptomatique sauf lors de maladies intercurrentes immunodépressives associées. Le parasite entraîne également une atteinte neuromusculaire, comme chez le jeune. Les troubles nerveux dus aux kystes à bradyzoïtes logés dans l'encéphale, la moelle épinière ou les nerfs se traduisent par une paraparésie, des

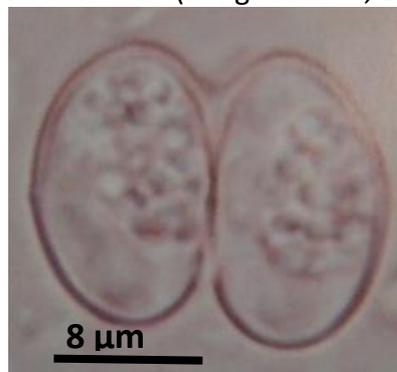
convulsions, une encéphalo-myélite ou une atrophie cérébelleuse. De plus, d'autres appareils peuvent être touchés, s'exprimant par des troubles musculaires (polymyosite, myocardite), oculaires (choriorétinite) ou cutanés (dermatite, nodules ulcérés). Une dermatose nodulaire extensive modérément prurigineuse avec adénomégalie localisée et atteinte de l'état général existe, on parle de néosporose disséminée. Le chat peut aussi en être atteint, cette maladie est mortelle pour les chatons. En effet, le fœtus peut être envahi par des tachyzoïtes, ce qui peut expliquer une mortinatalité due à une septicémie (pneumonie, encéphalite, myocardite). Il est très important d'écartier de la reproduction les chiennes parasitées qui ont donné naissance à des chiots paralysés ou mort-nés, car la transmission verticale existe pour *Neospora caninum*.

La mise en évidence d'oocyste dans les selles reflète uniquement la forme entérique de la néosporose et non la forme tissulaire de la maladie. La recherche d'oocystes par coproscopie n'a donc aucun intérêt.

3.4. Les oocystes et les sporocystes de *Sarcocystis*

Les oocystes de *Sarcocystis* mesurent 8-12 x 16-20 μm . Leur coque est fine et lisse. Ils ont une forme allongée avec les pôles arrondis. Dans les selles, on retrouve des oocystes sporulés avec 2 sporocystes à 4 sporozoïtes chacun ou bien des sporocystes directement. Des sporocystes libres avec leurs 4 sporozoïtes ou 2 sporocystes en cours de séparation formant une « haltère », comme le montre la figure 27. Les sporocystes sont directement infestants contrairement aux autres coccidies.

Figure 27 : Deux sporocystes à quatre sporozoïtes en cours de séparation retrouvés dans les matières fécales (Beugnet *et al.*, 2008)



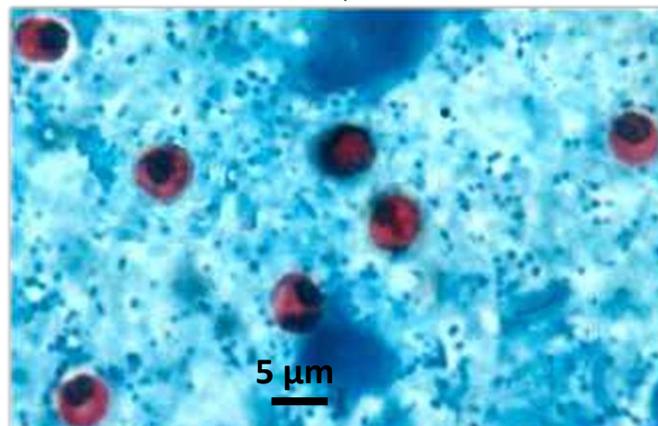
Le cycle de *Sarcocystis sp* est hétéroxène. Le chien ou le chat sont les hôtes définitifs où se déroule la reproduction sexuée (gaméto gonie), libérant des oocystes dans l'intestin, puis la sporogonie. Les oocystes contenant 2 sporocystes à 4 sporozoïtes sont excrétés dans le milieu extérieur. Ils sont directement infestants et ingérés par les hôtes intermédiaires (ovins, bovins...). Au sein de l'hôte intermédiaire, se déroule une schizogonie dans les cellules endothéliales puis il y a diffusion dans les cellules musculaires où des kystes sont formés. La contamination du chien et du chat se fait par ingestion de viande crue ou pas assez cuite d'hôtes intermédiaires contenant des kystes.

La parasitose entraîne chez l'hôte définitif une diarrhée ou passe de façon asymptomatique en général.

3.5. Les oocystes de *Cryptosporidium* sp

Les oocystes sont sporulés et de très petite taille, ils mesurent de 3 à 6 μm . Ils sont de forme sphérique à sub-sphérique. Leur paroi est relativement épaisse par rapport aux autres coccidies. Ils contiennent des corps résiduels d'oocystes facilement visibles et 4 sporozoïtes libres (sans sporocytes) allongés difficilement observable aux microscopes. On utilise la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée afin de mieux les mettre en évidence (figure 28). Les cryptosporidies apparaissent colorés en rouge vif sur un fond vert avec des grains plus sombres correspondant aux sporozoïtes.

Figure 28 : *Cryptosporidium* sp (coloration de Ziehl Neelsen) (Unité de Parasitologie, EnvL)



Le cycle évolutif de ce minuscule protozoaire est monoxène. La contamination se fait par ingestion d'oocystes sporulés directement infectants. Les sporozoïtes sont libérés dans le tube digestif et se localisent en regard de la bordure en brosse des cellules épithéliales intestinales (Bussiéras et Chermette, 1992) chez l'hôte entraînant une atrophie plus ou moins marquée des villosités. Les oocystes sporulés sont excrétés dans les selles.

Les signes cliniques peuvent se traduire par une diarrhée par malabsorption notamment chez les jeunes chiots au système immunitaire immature. La diarrhée peut être mortelle.

Un risque zoonotique existe mais est minime, les personnes immunodéprimées sont plus à risque.

Tableau 3 : Caractéristiques des oocystes de coccidies retrouvés dans les fèces des chiens et des chats (ESCCAP, 2013b)

Coccidies	Taille (µm)	Forme	Coque
<i>Isospora</i> *			mince, très clair ou brunâtre
Chez les chats : <i>Isospora felis</i> <i>Isospora rivolta</i>	45 x 33 26 x 24	ovoïde sphérique, ovale	
Chez les chiens : <i>Isospora canis</i> <i>Isospora ohioensis</i> <i>Isospora burrowsi</i>	36 x 32 24 x 20 21 x 18	sphérique, ovale sphérique, ovale sphérique, ovale	
<i>Cryptosporidium</i>		sphérique, ovale	mince, très clair sauf si coloré
<i>Cryptosporidium parvum</i> <i>Cryptosporidium canis</i> <i>Cryptosporidium felis</i>	5,0 x 4,5 5,0 x 4,7 3,2-5,0 x 3,0-4,5		
<i>Toxoplasma gondii</i> (chat)	12,4 x 10,5	sphérique	mince, très clair
<i>Neospora caninum</i> (chien)	12,0 x 10,5	sphérique	mince, très clair
<i>Hammondia</i>			mince, très clair
Chez les chats <i>Hammondia hammondi</i>	11,4 x 10,6	sphérique	
Chez les chiens <i>Hammondia heydorni</i>	11,9 x 11,1	sphérique	
<i>Sarcocystis</i> **			
Oocystes		sphérique	très mince, très clair
Sporocystes	11 x 8 (chat) 14 x 10 (chien)	Ovoïde	épais, très clair

* Les oocystes d'*Isospora* spp dans les selles fraîches contiennent une large cellule, alors que dans les selles plus anciennes (> 12 h), deux sporocytes peuvent être observés

** Il existe plusieurs espèces de *Sarcocystis* chez les chiens et les chats morphologiquement indistinguables pour les formes sporocystes. La paroi des oocystes est très fine, elle peut être rompue pendant le passage dans l'intestin, ce qui libère les deux sporocystes que l'on peut trouver dans les matières fécales

E. Les larves de Nématodes

Les caractéristiques des différentes larves de parasites observables à l'analyse coproscopique chez les carnivores domestiques sont présentées en annexe 7.

1. Les larves de *Strongyloides stercoralis*

Les larves de stade 1 (L1) rhabditoïde mesurent 280 à 380 μm de longueur et 15 à 18 μm de largeur. Leur partie antérieure est composée d'une cavité buccale courte de 3 à 5 μm et d'un bulbe œsophagien (figure 29) représentant un tiers de la longueur du corps. Les larves possèdent une ébauche génitale bien visualisable (figure 30). Leur queue est rectiligne, courte et pointue.

Figure 29 : Extrémité antérieure de la larve rhabditoïde L1 de *Strongyloides stercoralis* retrouvée dans les matières fécales d'un chat. L'œsophage rhabditoïde est composé d'un renflement antérieur bien visible (1), puis d'un rétrécissement net (2) et enfin, d'un renflement postérieur marqué (3). (Objectif X 100) (Unité de Parasitologie de l'EnvA)

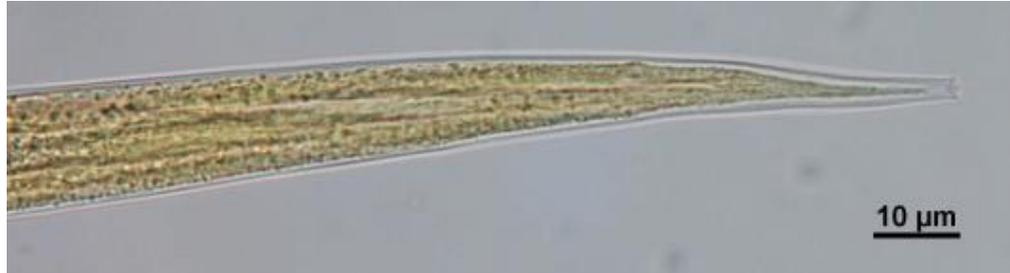


Figure 30 : Larve L1 rhabditoïde de *Strongyloides stercoralis* avec ébauche génitale bien visible (flèche) retrouvée dans les fèces d'un chien (objectif X 40) (Unité de Parasitologie de l'EnvA)



La larve strongyloïde infestante L3 de *Strongyloides stercoralis* se reconnaît par son extrémité postérieure bifide, comme le montre la figure 31.

Figure 31 : Extrémité postérieure bifide d'une larve strongyloïde infestante L3 de *Strongyloides stercoralis* retrouvée dans les matières fécales d'un chien (objectif X 100)
(Unité de Parasitologie de l'EnvA)

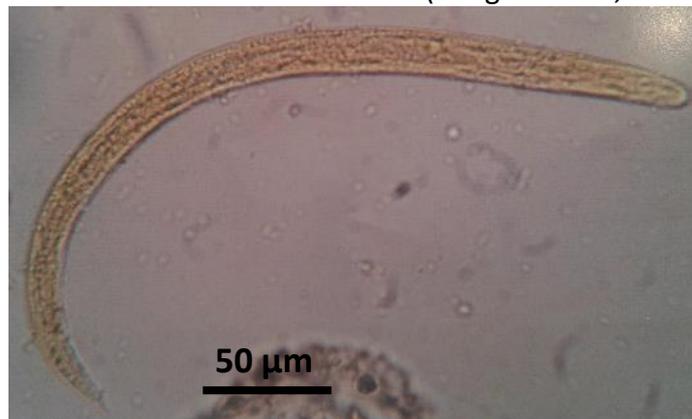


2. Les larves de strongles respiratoires

2.1. *Oslerus osleri*

Les larves de stade 1 (L1) rhabditoïde mesurent 250 à 380 µm de longueur. Leur œsophage est plus difficilement visible. Leur queue est doublement incurvée en S, elle a un aspect ondulé. La morphologie de ces larves est présentée sur la figure 32.

Figure 32 : Larve L1 d'*Oslerus osleri* (Beugnet *et al.*, 2008)



Le cycle évolutif d'*Oslerus osleri* est monoxène. Les chiots sont contaminés par la salive de leur mère contenant des larves L1 infestantes ou par coprophagie. Les larves L1 directement infestantes sont ingérées par les chiots, puis elles migrent jusqu'au cœur puis aux poumons par voie sanguine ou lymphatique. La période prépatente dure de 10 à 18 semaines. Les femelles adultes pondent de façon intermittente. Les larves L1 sont peu résistantes dans le milieu extérieur. Il faut donc réaliser plusieurs coproscopies à 2 jours d'intervalle pour augmenter la sensibilité de détection des larves. Les larves L1 peuvent également être mises en évidence par un lavage broncho-alvéolaire. Les adultes sont localisés dans des nodules fibreux de 3 à 8 mm de diamètre dans la muqueuse des voies respiratoires (trachée et bronches). Ces nodules brunâtres sont visibles à l'endoscopie. *Oslerus osleri* est un strongle respiratoire qui touche principalement les jeunes chiens. L'oslérose est parfois observée dans les élevages.

Les signes cliniques engendrés par l'oslérose canine est une trachéobronchite chronique, apyrétique, tussigène et réfractaire aux traitements antibiotiques. Le pouvoir pathogène est faible, les jeunes expriment plus facilement l'infestation par une toux importante. Les chiens adultes (reproducteurs dans les élevages) sont les porteurs sains (sources de parasites). Les petites races semblent les plus touchées, car les nodules dans lesquels se logent les parasites réduisent le diamètre de la trachée et provoquent des quintes de toux et une gêne respiratoire importante lors d'obstruction partielle d'une bronche ou de la trachée. La toux est sèche et déclenchée à la palpation de la trachée (Bourdeau, 1992). Le collapsus trachéal fait partie du diagnostic différentiel dans ces races. Radiographiquement, une opacification anormale de la trachée et des bronches principales avec une modification du contour, notamment en regard de la bifurcation trachéo-bronchique peut être notée, mais cela n'est pas systématique. Chez les chiots de 1 à 2 mois, cette parasitose est mortelle dans 75 % des cas (Bourdeau, 1992).

2.2. *Aelurostrongylus abstrusus*

Aelurostrongylus abstrusus est un parasite hématophage du chat. Les Larves de stade 1 (L1) sont de type strongyloïde, car l'œsophage ne possède pas d'appareil rhabditoïde. Elles sont fines et mesurent 360 à 400 µm de longueur pour un diamètre de 15 µm. Leur queue est ondulée en forme de S, pointue et munie d'une épine dorsale. Cette larve est présentée sur la figure 33. Les larves L1 peuvent survivre deux semaines dans les matières fécales.

Figure 33 : Larve L1 d'*Aelurostrongylus abstrusus* (Beugnet *et al.*, 2008)



Le cycle évolutif est hétéroxène. Les nématodes adultes vivent dans des petits nodules localisés dans les voies respiratoires profondes (parenchyme pulmonaire), notamment dans les petites artères pulmonaires. Les femelles pondent dans les alvéoles. Les larves L1 remontent l'appareil respiratoire jusqu'à la trachée. Puis, elles sont dégluties pour rejoindre le tractus digestif où elles sont alors excrétées dans les selles de façon intermittente. L'hôte intermédiaire est représenté par un gastéropode terrestre (escargot ou limace) qui ingère les larves L1 qui se développent en L2 puis L3. Les chats se contaminent en ingérant un hôte intermédiaire parasité par les L3 ou un hôte paraténique tel qu'un rongeur, un batracien (grenouille), un reptile (serpent, lézard) ou un oiseau (López *et al.*, 2005). Les chats ayant accès à l'extérieur sont donc les plus à risques. Les larves L3 ingérées via les proies, traversent la paroi digestive du chat pour atteindre le système lymphatique puis le cœur droit et les artères pulmonaires où elles se fixent. La période prépatente varie de 7 à 9 semaines (ESCCAP, 2013a). *Aelurostrongylus abstrusus* est présente dans le sud-ouest de la France, en milieu rural où des cas sporadiques sont répertoriés. Cette parasitose a une faible

prévalence (0,5 à 3%) en France, mais est probablement sous diagnostiquée (Gaglio *et al.*, 2008).

Des troubles généraux tels qu'une anorexie, un abattement, une hyperthermie et un amaigrissement peuvent être présents. De plus, des troubles respiratoires dûs à la présence des parasites adultes dans le parenchyme pulmonaire sont présents et entraînent des pneumonies, caractérisées par des crises d'« asthmes », une dyspnée expiratoire et des sifflements expiratoires audibles à l'auscultation pulmonaire. Cependant, cette parasitose est souvent asymptomatique ou uniquement des épisodes sporadiques d'éternuements, de jetage ou de toux sont observés. Les chats guérissent parfois spontanément en quelques mois.

Une radiographie thoracique permet la mise en évidence d'une opacification pulmonaire avec des lésions nodulaires péri-bronchique, interstitielle ou alvéolaire, localisées préférentiellement dans les lobes caudaux ainsi qu'une dilatation des artères pulmonaires. Ces nodules visibles à la radiographie peuvent être confondus avec un processus tumoral, une pneumonie ou une bronchite féline, cela explique que l'aelurostrongylose est probablement sous-diagnostiquée (Bourdeau, 1992). Le diagnostic de certitude de cette parasitose consiste à mettre en évidence les larves L1 dans les selles par la méthode Baermann ou dans le liquide broncho-alvéolaire par un lavage broncho-alvéolaire. La numération formule sanguine met souvent en évidence une éosinophilie.

2.3. *Crenosoma vulpis*

Les larves L1 mesurent 260 à 330 μm de longueur. Elles ne possèdent pas de capsule céphalique, ni d'épine sub-terminale. Leur queue est légèrement incurvée et conique. La larve est présentée sur la figure 34.

Figure 34 : Larve L1 de *Crenosoma vulpis* (Beugnet *et al.*, 2008)



Le cycle évolutif de *Crenosoma vulpis* est dixène. Les nématodes adultes sont présents dans la lumière de la trachée et des bronches de l'hôte définitif, le chien ou le renard. L'hôte intermédiaire est un mollusque gastéropode terrestre, généralement une limace ou un escargot. Les limaces ingèrent les larves L1 qui évoluent en larves L3 infestantes. L'hôte définitif se contamine par ingestion de l'hôte intermédiaire infesté. La période prépatente est de 4 semaines. La crénosomose canine touche principalement les régions rurales et forestières où les populations de renard sont importantes. Ces derniers jouent le rôle de réservoir du parasite. Le risque est plus élevé chez les chiens de chasse ou

de troupeau. *Crenosoma vulpis* est un nématode rare en France, cependant, quelques cas sporadiques sont répertoriés.

Les signes cliniques engendrés par la crénosomose chez le chien sont une trachéobronchite chronique apyrétique et tussigène, comme pour l'oslérose. Lors d'infestation massive avec une grande quantité d'adultes libres dans les bronches et la trachée, les signes cliniques sont dominés par une dyspnée et une toux marquée. A l'auscultation pulmonaire, les bruits respiratoires sont augmentés.

3. Les larves de strongles cardio-vasculaire : *Angiostrongylus vasorum*

Angiostrongylus vasorum est un parasite hématophage. Les larves de stade 1 (L1) mesurent 310 à 400 μm de longueur et 14 à 16 μm de largeur. Elles sont donc plus longues qu'*Oslerus osleri*, *Crenosoma vulpis* et *Filaroides*. Leur partie antérieure est munie d'une capsule céphalique réduite. Leur queue est ondulée avec une épine sub-terminale, comme présentée sur la figure 35. Ce sont des larves strongyloïdes et non rhabditoïdes, car l'œsophage ne possède pas d'appareil rhabditoïde. L'excrétion larvaire étant intermittente, il faut prélever des matières fécales sur trois jours consécutifs pour espérer en retrouver dans les selles.

Figure 35 : Larve L1 d'*Angiostrongylus vasorum* (Beugnet *et al.*, 2008)



Le cycle évolutif d'*Angiostrongylus vasorum* est hétéroxène. L'hôte définitif est le chien où les parasites adultes de 2 cm sont localisés dans le ventricule droit et dans les artérioles pulmonaires, lieu de déroulement de la ponte. Les œufs donnent des larves L1 qui quittent les capillaires pulmonaires pour rejoindre les alvéoles pulmonaires puis remontent dans les voies respiratoires jusqu'à la trachée où elles sont dégluties. Elles transitent ensuite dans le tube digestif où les larves L1 sont excrétées dans les fèces. Le chien se contamine en ingérant un hôte intermédiaire : un mollusque gastéropode où se déroule le développement de la larve L1, L2 puis L3. Les larves L3 ingérées par le chien sont alors libérées dans le tube digestif. La période prépatente dure 40 à 49 jours (ESCCAP, 2013a). Les jeunes chiens de moins de 3 ans sont les plus touchés par cette parasitose ainsi que les chiens de plus de 6 ans. Le sud de la France correspond à une région endémique. Les chiens de chasse, se promenant en forêt, sont les plus à risque. Le renard joue le rôle de réservoir du parasite.

L'angiostrongylose entraîne des troubles respiratoires exprimés cliniquement par une toux chronique quinteuse, profonde et de faible intensité, une dyspnée, de l'hémoptysie et de l'intolérance à l'effort. Ces signes respiratoires sont dûs à la migration des larves L1 et de la persistance des œufs dans les capillaires pulmonaires. Des troubles d'insuffisance

cardiaque droite, sont également présents se traduisant par la formation progressive d'ascite. Les troubles cardiaques résultent d'une hypertension artérielle pulmonaire induite par la présence des parasites adultes dans les artères pulmonaires. Cela engendre une hypertrophie du ventricule droit. Une dégradation de l'état général progressive est associée aux signes cliniques précédemment cités avec un amaigrissement. Des troubles neurologiques sont également possibles lors de migration larvaire inhabituelle. Une coagulopathie est régulièrement rapportée, exprimé cliniquement par une tendance à saigner plus facilement, des hématomes sous-cutanés, une hématochézie ou une épistaxis. Radiographiquement, l'angiostrongylose est caractérisée par des plages interstitielles du parenchyme pulmonaire avec des nodules pulmonaires localisés préférentiellement dans les lobes dorso-caudaux. De plus, une cardiomégalie droite est parfois présente (trachée repoussée dorso-crânialement). Cette parasitose entraîne la mort de l'animal par obstruction d'une artère par les nématodes adultes sans traitement.

II. Les différentes techniques coprologiques

Les types d'éléments parasitaires à rechercher dans les matières fécales sont tout d'abord les parasites intestinaux : les œufs, les larves et les adultes nématodes (ascarides, trichures, strongles digestifs, *Capillaria*, *Spirocerca lupi*, oxyures chez le lapin...), les cestodes (segments ovigères de *Dipylidium caninum*, œufs de *Taenia sp*, *Echinococcus spp*...) et les protozoaires (kystes de *Giardia* et oocystes de coccidies) qui ont été décrits dans la partie précédente. Exceptionnellement, on peut retrouver des parasites des annexes digestives dans les selles des chiens et des chats comme des trématodes (*Opistorchis sp*). On peut aussi observer des parasites respiratoires qui transitent dans le tube digestif par déglutition, comme c'est le cas lors de migration larvaire des larves de stade 1 d'*Oslerus osleri* et de *Crenosoma vulpis*. Enfin, les parasites cutanés peuvent passer dans le tube digestif via le léchage, il est donc possible de retrouver des demodex au microscope lors d'analyse de matières fécales.

Pour réaliser l'analyse coprologique, les selles doivent être récoltées dès leur émission. En effet, les matières fécales se contaminent rapidement par des nématodes libres présents sur le sol, ce qui peut fausser l'analyse. Les échantillons de selles doivent être analysés le plus rapidement possible afin d'obtenir une meilleure représentativité de l'échantillon et un nombre plus important d'œufs car ces derniers sont rapidement détruits avec le temps. Les selles fraîches sont analysées immédiatement ou conservées au réfrigérateur à 4°C pendant 4 à 7 jours dans un récipient en plastique ou en verre, hermétiquement fermé. Il est également possible de conserver les selles dans du formol à 7 % afin de bloquer l'évolution des parasites. Plusieurs facteurs influencent les résultats de l'examen fécal. Tout d'abord, la taille (3 à 5 grammes idéalement, 1 gramme minimum de selles), l'âge et le mode de conservation de l'échantillon sont à prendre en compte. En effet, les éléments parasitaires se dégradent et évoluent si l'échantillon est conservé trop longtemps. Ensuite, l'expérience du personnel pour identifier les structures influence fortement le résultat de l'analyse (Bowman et Lucio-Forster, 2010). Et enfin, il est important de parcourir l'intégralité de la lame au microscope afin de ne pas passer à côté d'un élément parasitaire. Le choix et la réalisation de la procédure mise en place sont également à prendre en compte.

Selon le groupe d'experts américains, CAPC (Companion Animal Parasite Council), les examens coproscopiques sur les chiots et les chatons doivent être réalisés 2 à 4 fois durant leur première année de vie. Puis, il est recommandé de réaliser l'examen des selles 1 à 2 fois par an chez les adultes (CAPC guidelines).

Dans cette partie, les différentes techniques coprologiques utilisables en médecine vétérinaire sont présentées. Dans un premier temps, l'examen macroscopique des matières fécales puis l'observation microscopique sans enrichissement et les méthodes d'enrichissement par flottation et sédimentation sont étudiées. Ensuite, les méthodes de colorations permettant de mettre en évidence les éléments parasitaires seront détaillées avec le lugol, l'immunofluorescence et la coloration de Ziehl Neelsen modifiée. Puis, la méthode de détection des coproantigènes sera expliquée. Et enfin, la méthode utilisant la biologie moléculaire avec la Polymerase chain reaction (PCR) sera présentée.

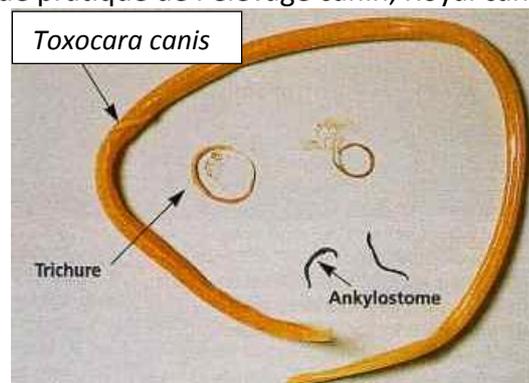
A. Examen macroscopique

Tout d'abord, un examen macroscopique permet d'apprécier la consistance et la couleur des selles. La présence de sang, de diarrhée, de mucus ou de stéatorrhée peut orienter le diagnostic : insuffisance pancréatique exocrine, malabsorption ou giardiose, par exemple.

Les éléments parasitaires observables par examen macroscopique des selles sont décrits dans l'annexe 8.

Des parasites adultes peuvent être identifiés à l'œil nu dans les selles. Ils sont différenciables par leur taille et par leur couleur : les ascarides sont blancs et mesurent entre 5 et 20 cm de long en général pour 2-3 mm de diamètre. Ils présentent une forme de « spaghetti ». Les trichures adultes mesurent 2 à 5 cm de longueur et sont composés de deux parties : une extrémité antérieure fine et longue (représentant les deux tiers du corps) et une extrémité postérieure épaisse et courte (représentant un tiers du corps). Ils se fixent à la muqueuse digestive par leur partie antérieure effilée. Les ankylostomes sont des petits vers ronds, fins de 1 cm de long. Les vers ronds du chien sont présentés sur la figure 36.

Figure 36 : Les principaux vers ronds du chien : *Toxocara*, trichures et ankylostome (Guide pratique de l'élevage canin, Royal canin)



Les anneaux de cestodes (*Taenia sp*, *Dipylidium caninum*) et les larves de *Strongyloides stercoralis* peuvent également être observés macroscopiquement dans les selles. Les segments ovigères de *Dipylidium caninum* ont un aspect de grain de riz quand ils sont desséchés, vivants ils sont mobiles. Sous une loupe binoculaire, des segments ovigères d'*Echinococcus granulosus* ou de *Mesocestoides spp* sont parfois observables, ils sont blancs et mesurent respectivement 2 à 3 mm et 4 à 6 mm de longueur.

B. Observation microscopique sans enrichissement

La coproscopie directe s'effectue par mélange d'un échantillon de selles avec une solution saline en même quantité dans un tube à hémolyse. Le mélange est étalé sur une lame puis observée au microscope optique à l'objectif x 10 puis x 40. L'observation doit être réalisée dans les 20 minutes qui suivent le prélèvement (Conboy, 1997).

Par l'examen direct des selles, les parasites mobiles peuvent être repérés tels que les trophozoïtes de *Giardia* avec leur disque donnant une forme concave à leur surface ventrale. Pour observer les trophozoïtes, il est recommandé de réduire le niveau de la lumière en

mettant le condenseur en position basse ou en fermant le diaphragme pour augmenter le contraste (Zajac, 1992). L'ajout d'une goutte de solution d'iode lugol tue les trophozoïtes donc les immobilise et permet d'améliorer la reconnaissance de leur structure interne par la coloration. Des selles fraîches sont nécessaires pour détecter les trophozoïtes mobile, car ils sont très fragiles du fait de leur unique membrane. L'examen direct permet très rarement d'observer des kystes de *Giardia*, car ils sont difficiles à identifier à cause des débris fécaux, de leur petite taille et de leur immobilité (Kirkpatrick, 1987). En général, les trophozoïtes sont plus souvent retrouvés dans les matières fécales diarrhéiques alors que les kystes sont plus aisément retrouvés dans les selles moulées.

Les larves L1 d'*Angiostrongylus vasorum* peuvent être observées dès l'objectif 10 avec une faible quantité de selles diluée dans une goutte d'eau du robinet (Humm et Adamantos, 2010). Les larves de *Strongyloides stercoralis* sont également détectables notamment lors d'infestation massive. La sensibilité de l'examen direct des selles pour la détection de *Strongyloides stercoralis* est de 50 % si trois analyses sont réalisées et de 100 % si sept analyses sont faites.

L'examen direct des selles sur une lame est une technique ayant plusieurs avantages : elle est peu coûteuse, réalisable rapidement et sur une petite quantité de matière, les selles sur l'extrémité du thermomètre suffisent. De plus, le fait de garder les parasites vivants facilite l'observation des trophozoïtes de *Giardia duodenalis* et de *Tritrichomonas foetus* par leur mouvement. Cependant, les œufs de parasites sont rarement observés sur une faible quantité de fèces étalées directement. L'observation microscopique sans enrichissement est une technique moins sensible pour la détection des éléments parasitaires que les techniques d'enrichissement, du fait de la plus petite quantité de fèces examinée et de la présence de débris. La sensibilité est de 14 % sur des chats spontanément infectés par *Tritrichomonas foetus*.

L'enrichissement se fait par flottation ou par sédimentation, cela permet d'éliminer un maximum de débris et de concentrer les parasites à partir d'une petite quantité de selles.

C. Méthodes d'enrichissement par flottation

L'utilisation d'un liquide de densité supérieure aux œufs de parasites permet de faire remonter les œufs vers la surface et d'entraîner les débris vers le fond. Plus le liquide est dense, meilleure est la sensibilité pour détecter des œufs (Beugnet, 2000). Cependant, un liquide trop dense fait également remonter les débris, ce qui gêne la lecture (O'Grady et Slocombe, 1980). L'emploi d'une solution de trop haute densité engendre également la déformation des kystes de *Giardia* et de certains œufs. L'examen de routine de référence dans l'examen des selles est la flottation avec centrifugation.

La méthode de flottation utilisée au laboratoire de Parasitologie de l'EnvA associe une technique de flottation qualitative qui permet d'identifier les éléments parasitaires à une technique de flottation quantitative (Mac-Master) qui permet d'estimer le nombre d'œufs présents dans les selles.

La technique utilisée au laboratoire de Parasitologie de l'EnvA est la suivante (figure 37) :

- Déposer 5 grammes de matière fécale dans une éprouvette graduée.
- Ajouter une solution de sulfate de Magnésium jusqu'à la graduation 75 mL de l'éprouvette. Cette solution a une densité égale à 1,28. Ce liquide est donc plus dense que l'eau (35 % de saturation) et plus dense que les œufs des parasites, ce qui permet de faire remonter les œufs.
- Agiter à l'aide d'une baguette en verre en tournant régulièrement et en évitant de créer des bulles d'air.
- Un tamis constitué d'une passoire est placé sur un verre à pied. Le mélange est ensuite filtré à travers le tamis afin d'éliminer les gros débris.

Figure 37 : Les étapes de départ pour la technique de flottation (Unité de Parasitologie de l'EnvA)



1. Flottation totale

Récupérer le liquide dans le verre à pied et le verser dans un tube fin en polypropylène ou siliconé (tube de Falcom) jusqu'à l'obtention d'un ménisque convergent. Poser une lamelle en haut du tube. Laisser reposer sur le portoir 15 à 20 minutes, le temps que les éléments parasitaires remontent et se fixent sur la partie inférieure de la lamelle (figure 38).

Figure 38 : technique de flottation qualitative (Unité de Parasitologie de l'EnvA)



Après ce délai, mettre la lamelle sur une lame et réaliser la lecture au microscope aux objectifs x10 pour examiner l'ensemble de la lame et x40 pour identifier les éléments parasitaires.

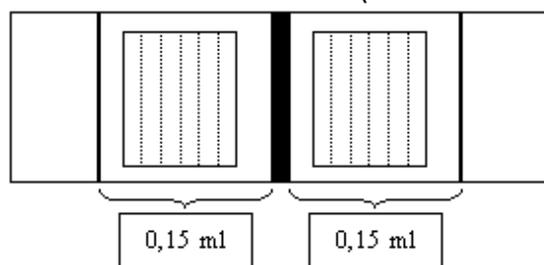
Les avantages de la flottation totale sont son faible coût, l'élimination de nombreux débris qui permet une lecture aisée de la lame et l'identification de nombreux œufs et oocystes de parasites. De plus, la lame étant fine (contrairement à celle de Mac-Master), cela permet une identification plus précise des éléments parasitaires. La taille des œufs peut être mesurée, si le microscope contient un objectif gradué afin d'aider à l'identification d'espèce.

2. Flottation quantitative : technique de Mac-Master

La méthode de Mac-Master permet d'estimer le nombre d'œufs de parasites présents dans un gramme de selle.

La lame de Mac-Master est constituée de 2 compartiments séparés par une cloison. Chaque compartiment détient une grille de lecture sur son plafond, cette grille est composée de 6 cellules, comme le schématise la figure 39. La grille mesure 1 cm de longueur, 1 cm de largeur et 0,15 mm d'épaisseur, ce qui donne un volume de 0,15 cm³ soit 0,15 mL. Précédemment, il a été noté que 5 g de fèces étaient mélangées à 75 mL de solution, cela donne un ratio de 1/15.

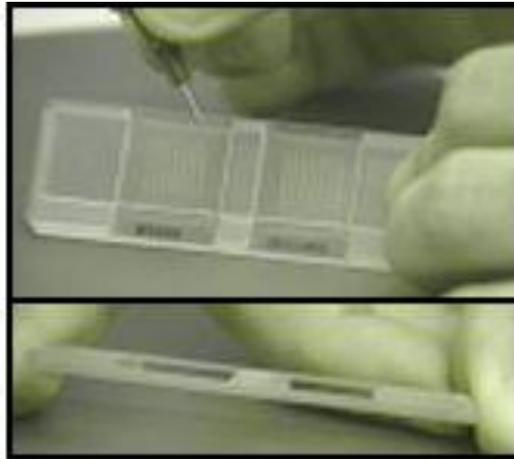
Figure 39 : Schéma d'une cellule de Mac-Master (Unité de Parasitologie de l'EnvA)



La technique utilisée au laboratoire de Parasitologie de l'ENVA est la suivante :

- Récupérer dans le verre à pied le liquide obtenu précédemment à l'aide d'un compte-goutte.
- Remplir les cellules de Mac-Master, en évitant la formation de bulles d'air (figure 40).

Figure 40 : Cellule de Mac-Master en cours de remplissage (Unité de Parasitologie, EnvA)



- Attendre 10 minutes avant de lire la lame.
- La lame est observée à l'objectif x10.
- Le volume examinable sous chaque grille étant de 0,15 mL. Si on compte le nombre d'œufs sous une grille, cela correspond au nombre d'œufs dans 0,01 g donc pour obtenir le nombre d'œufs par gramme de fèces (opg), il faut multiplier par 100 le nombre d'œufs compté sous une grille. Par conséquent, l'observation d'un œuf sur la lame correspond à 100 opg (soit 7 œufs par millilitre). Le seuil de détection théorique est donc de 100 opg.

Si on compte les œufs sous les 2 grilles (soit dans 0,3 mL), cela correspond au nombre d'œufs dans 0,02 g de fèces. Pour obtenir le nombre d'œufs par gramme de fèces, il faut multiplier le nombre d'œufs compté sous les deux grilles par 50.

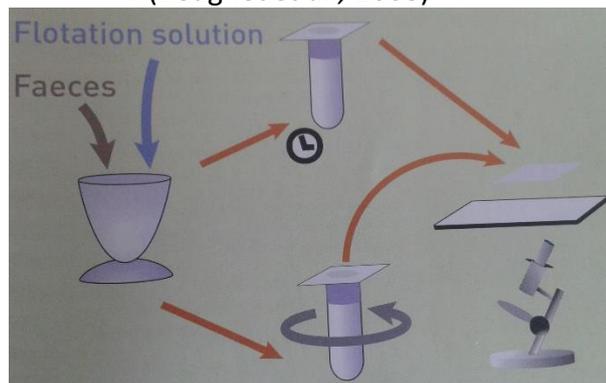
Si le nombre d'œufs sur la lame est faible, pour augmenter la sensibilité, il faut compter non seulement les œufs présents sous les grilles mais également autour, soit dans l'ensemble des 2 compartiments (0,5 mL x 2). Sachant que dans 1 mL, on a 0,07 g de fèces, il faut multiplier le nombre d'œufs compté par 15. Le seuil de détection théorique est alors de 15 opg, soit une limite de détection de 1 œuf par millilitre.

La technique de Mac-Master présente l'avantage de pouvoir estimer le nombre d'éléments parasitaires. Cette méthode est limitée à la détection d'éléments parasitaires de grande taille, visibles à l'objectif 10 (œufs de *Toxocara sp*, de *Trichuris vulpis*, de strongles digestifs, oocystes de coccidies). Les kystes de *Giardia* ne peuvent pas être observés car ils sont trop petits. L'objectif 40 n'est pas utilisable du fait de l'épaisseur de la lame, ce qui ne permet pas une identification morphologique précise. Les larves ne peuvent pas être repérées car elles migrent vers le bas des cellules, or la mise au point se fait sur le haut de la cellule où est situé le quadrillage. La coproscopie quantitative est intéressante à utiliser pour juger de l'efficacité d'un traitement anti-parasitaire. Pour décider ou non de traiter, il faut associer le nombre d'œufs trouvé aux signes cliniques que présente l'animal. Cependant,

chez les carnivores domestiques pour la plupart des parasites (ascarides, cestodes et trichures), on ne peut pas relier le nombre d'œuf au degré d'infestation. Dès qu'un œuf ou un oocyste est repéré sur la lame de Mac-Master, un traitement doit être mis en place, contrairement aux ruminants et aux chevaux où le traitement anti-parasitaire est prescrit à partir d'un certain seuil d'infestation. Cependant, le critère quantitatif est à prendre en compte pour les strongles digestifs, notamment les ankylostomes et pour les coccidies. Pour le lapin, à partir de 5000 oocystes par gramme de fèces, un traitement doit être mis en place, car une quantité importante d'*Eimeria sp* entraîne des lésions en regard de la paroi intestinale, ce qui engendre un développement secondaire de colibacilles. Lorsque l'on ne dénombre que quelques oocystes d'*Eimeria sp* aucun traitement n'est à mettre en œuvre.

L'inconvénient de la méthode par flottation simple est que l'identification de tous les éléments parasitaires n'est pas possible, car les densités varient. La centrifugation pendant 5 minutes à 1500 tours par minute est une alternative pour augmenter les chances d'observer des kystes de *Giardia*. Les étapes pour réaliser la méthode d'enrichissement par flottation sont synthétisées sur la figure 41.

Figures 41 : Les étapes de la réalisation pratique de la technique de flottation (Beugnet *et al.*, 2008)



3. Flottation avec centrifugation

Pour le groupe d'experts américains (CAPC), la flottation avec centrifugation est la « meilleure pratique » pour analyser les échantillons de matière fécale. Malgré cette évidence scientifique, une réticence à employer la technique de flottation-centrifugation persiste pour les examens de routine. Plusieurs études montrent que la centrifugation permet d'augmenter la sensibilité de détection des œufs des parasites.

Zajac *et al.* (2002) compare cinq procédures de flottation afin d'évaluer l'importance de la centrifugation. Cinquante échantillons de fèces provenant principalement de chiens d'élevage ou de chiens venant d'être acquis avec une sélection préférentielle sur les jeunes ou les selles diarrhéiques sont récoltés. Les échantillons sont analysés dans 5 groupes, dont trois comportent une étape de centrifugation :

- VA Tech procedure avec une solution de flottation au sulfate de Zinc ($ZnSO_4$) à une densité de 1,18 ainsi qu'une centrifugation de 5 minutes à 400 G.
- Le kit Ovassay® avec une solution de $ZnSO_4$ à une densité de 1,20 et une centrifugation
- Une solution de flottation de sucrose (Sheater's solution) de densité 1,25 avec centrifugation.

- Les deux autres groupes sont composés du kit de flottation Ovassay® sans centrifugation, mais avec une attente sur la paillasse de 5 ou 10 minutes.

Les résultats de cette étude montrent que l'étape de centrifugation avec la solution de flottation au sulfate de Zinc ou la solution de Sheater permet de mieux détecter les œufs de *Trichuris vulpis* et les kystes de *Giardia duodenalis* (différence significative $p < 0,0001$). Cependant, pour les œufs de *Toxocara canis* et d'*Ancylostoma caninum*, il n'y a pas de différence significative selon que les techniques emploient la centrifugation ou pas. En effet, la détection des œufs de *Trichuris vulpis* est largement améliorée par la méthode de $ZnSO_4$ centrifugation, car les œufs de trichures sont denses ($d = 1,14$) par rapport aux autres helminthes : 1,09 pour *Toxocara* et 1,06 pour *Ancylostoma*. Une attente de 5 ou 10 minutes sur la paillasse ne laisse pas assez de temps aux œufs de trichures pour remonter jusqu'à la surface. L'étape de centrifugation pallie ce problème.

Dryden *et al.* (2005) ont trouvé des résultats contradictoires avec l'étude précédente puisqu'ils ont montré que pour les œufs d'*Ancylostoma caninum*, *Toxocara canis* et *Trichuris vulpis*, l'étape de centrifugation permettait de détecter un plus grand nombre d'œufs que la flottation simple, quel que soit la solution utilisée : sulfate de Zinc du kit rapide Ovassay® ou la solution de sucre (Sheather) de densité 1,27 et ce quel que soit le temps d'attente (5, 10, 15 ou 20 minutes). En effet, Zajac *et al.* (2002) n'ont pas trouvé de meilleurs résultats dans la détection des œufs de *Toxocara canis* et *Ancylostoma caninum* avec l'ajout de l'étape de centrifugation.

Otto *et al.* (1941) ont montré que pour obtenir des résultats similaires entre une flottation simple au sulfate de Zinc et la même solution mais avec l'étape de centrifugation, il fallait laisser reposer la solution une heure sur la paillasse afin de laisser le temps aux œufs les plus lourds de remonter à la surface. Cependant, les auteurs ont observé que l'exposition prolongée au sulfate de Zinc entraînait un éclatement des kystes de *Giardia duodenalis*. La centrifugation permet donc d'augmenter la capacité de détecter les œufs d'helminthes et les kystes de *Giardia* avec une lecture et une identification plus aisées et de gagner du temps.

Dryden *et al.* (2005) ont démontré qu'avec une solution de nitrate de Sodium ($NaNO_3$), la technique de centrifugation permet de détecter autant d'œufs que la méthode de flottation simple en attendant 15 ou 20 minutes pour *Ancylostoma caninum*. Mais, la centrifugation permet de détecter significativement plus d'œufs si le temps d'attente de la simple flottation n'est seulement de 5 ou 10 minutes. Pour *Toxocara canis*, avec l'utilisation de la solution de nitrate de Sodium, la centrifugation montre une détection significativement plus élevée des œufs par rapport à une simple flottation, peu importe le temps d'attente. De même, Koutz (1941) a démontré que la détection des œufs de parasites est supérieure avec une solution de flottation de nitrate de Sodium combinée à une étape de centrifugation qu'une flottation simple seule sans centrifugation.

Dryden *et al.* (2005) ont également comparé deux types de centrifugation (tournante et fixe) pour la détection des œufs de *Toxocara canis* et de *Ancylostoma caninum* et aucune différence significative n'a été notée entre les deux techniques.

Tous les ans, le professeur Blagburn expérimentait un essai avec ses étudiants divisés en trois groupes. Le premier groupe réalisait un examen direct des matières fécales de

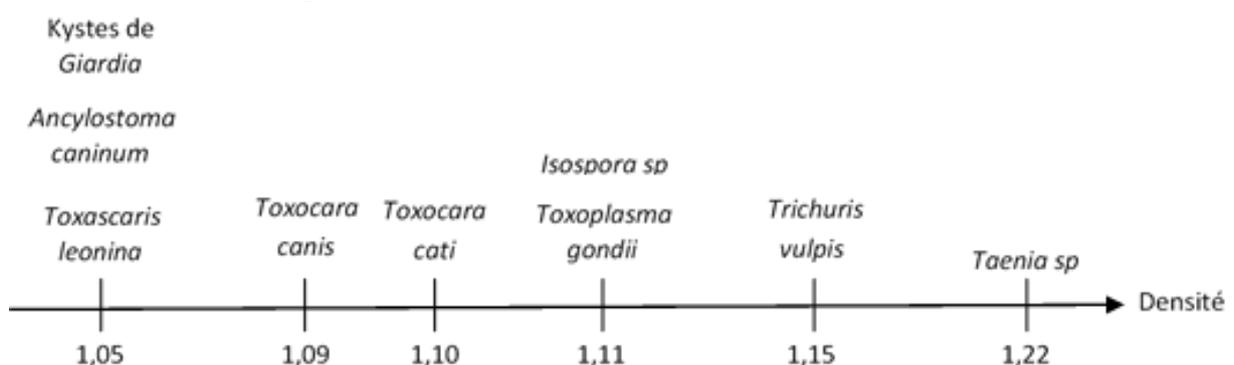
chiens contaminés par des parasites. Le deuxième groupe mélangeait deux grammes de fèces avec une solution de flottation pour réaliser une flottation simple. Enfin, le troisième groupe homogénéisait deux grammes de fèces avec une solution de flottation et réalisait une centrifugation. Chaque année, les mêmes résultats sont obtenus, 25 % des étudiants examinant directement les selles retrouvent des œufs de parasites, 70 % des étudiants réalisant la flottation simple observent des œufs de parasites et 100 % des étudiants utilisant la centrifugation retrouvent les œufs de parasites (Blagburn, 2008). Cet exercice révèle la meilleure sensibilité de l'étape de centrifugation.

La force centrifuge est plus rapide que la simple gravité pour séparer les éléments parasitaires des débris lourds. En effet, il faut attendre 15 minutes avant d'examiner une lame suite à une flottation alors que pour la centrifugation, 5 minutes suffisent pour séparer les œufs de parasites des débris. De plus, cette dernière technique permet une lecture plus aisée de la lame, car la préparation est plus propre, il y a moins de matériel qui interfère. La centrifugation est encore plus utile lorsqu'une solution visqueuse est utilisée comme la solution de Sheather à une densité élevée de 1,27. La force appliquée par les tours de la centrifugeuse améliore la flottabilité des œufs et les entraînent vers la surface où ils sont concentrés, ce qui permet de détecter un plus grand nombre de parasites. Cette méthode est également très avantageuse par rapport à la simple flottation pour la détection des œufs de *Trichuris vulpis* qui ont une densité élevée. En effet, elle permet de repérer des œufs d'helminthes dans des selles qui sont faiblement contaminées pour qui la flottation simple ne serait pas assez sensible pour détecter ce petit nombre d'œufs présent (Zajac, 2002). La centrifugation est une pratique facile à mettre en place dans un cabinet vétérinaire, car la centrifugeuse pour les urines ou le sang est tout à fait adaptée, les mêmes tubes et la même vitesse sont utilisables (Zajac, 1994).

4. La densité des éléments parasitaires et des différentes solutions de flottation

La densité des œufs de parasites retrouvée dans les matières fécales varie de 1,05 à 1,23 (David et Lindquist, 1982), comme représenté sur la figure 42. Les kystes de *Giardia* ont une densité de 1,05. Les œufs d'*Ancylostoma caninum* et de *Toxascaris leonina* ont une densité de 1,056. *Toxocara canis* et *Toxocara cati* ont une densité intermédiaire de respectivement 1,09 et 1,10. Les oocystes d'*Isoospora sp* et *Toxoplasma gondii* ont une densité de 1,11. *Trichuris vulpis* est un œuf lourd de 1,145 de densité, il faut donc utiliser une solution de forte densité pour le faire flotter et pouvoir le repérer sur une lame au microscope. De même, *Taenia sp* a une densité élevée de 1,22.

Figure 42 : Échelle de densité des éléments parasitaires



La solution de flottation idéale doit avoir une densité suffisante permettant de faire flotter tous les éléments parasitaires souhaités, doit maintenir la morphologie des œufs et des kystes donc ne pas les déformer et doit éviter de faire remonter trop de débris pour faciliter la lecture de la lame. En général, la densité de ces dernières varie entre 1,18 et 1,27. Les caractéristiques des diverses solutions de flottation utilisables sont détaillées dans l'annexe 9. La solution de sulfate de Zinc ($ZnSO_4$) a une densité de 1,18. La solution de sulfate de Magnésium ($MgSO_4$) a une densité de 1,20. La solution saturée de chlorure de Sodium ($NaCl$) ainsi que la solution de nitrate de Sodium ($NaNO_3$) ont une densité de 1,18 à 1,20. La solution modifiée de Sheather à base de sucre et avec du formol a une densité élevée de 1,27. Pour contrôler la densité exacte des solutions, il est intéressant d'utiliser un hydromètre.

Dryden *et al.* (2005) ont comparé différentes techniques de flottation pour la détection d'œufs de *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis* et *Ancylostoma caninum*. Les résultats qui en ressortent sont que :

- Les œufs de *Toxocara canis* et *Trichuris vulpis* sont mieux détectés par la solution de sulfate de Zinc à une densité de 1,2 qu'à une densité de 1,1.
- La solution de sulfate de Zinc à une densité de 1,1 fait flotter aisément les œufs d'*Ancylostoma caninum*.
- La solution de nitrate de Sodium par simple flottation est la plus adaptée pour détecter les œufs d'*Ancylostoma caninum* et *Toxocara canis* par rapport à la solution de Sheather. Au contraire, la solution de Sheather est plus adaptée pour détecter les œufs de forte densité de *Trichuris vulpis* que la solution au sulfate de Zinc à une densité de 1,1 ou que la solution de nitrate de Sodium lorsque la technique de flottation simple est utilisée. De plus, la solution de Sheather est plus efficace que la solution de nitrate de Sodium pour retrouver les œufs d'*Ancylostoma caninum*, *Trichuris vulpis* et *Toxocara canis* quand l'étape de centrifugation de 5 minutes est réalisée.

Cringoli *et al.* (2011) ont comparé trois techniques (flottation en tube, Mac Master et FLOTAC) pour mettre en évidence les œufs d'*Ancylostoma caninum*. La conclusion de cette étude confirme le fait que les solutions de flottation les plus adaptées pour mettre en évidence *Ancylostoma caninum* sont le chlorure de Sodium ou le nitrate de Sodium à une densité de 1,20.

Pour repérer au mieux les kystes de *Giardia* dans les matières fécales, la solution de sulfate de Zinc ($d = 1,18$) est recommandée, car elle entraîne moins de déformation des kystes que la solution de sucrose ($d = 1,27$) de densité trop élevée (Byron *et al.*, 2006).

Une étude menée en 2005 lors d'une conférence vétérinaire « wet lab » est composée de deux groupes. Le groupe 1 est constitué de 14 personnes (vétérinaires ou techniciens vétérinaires) qui utilisent une solution de flottation de sulfate de Zinc à une densité de 1,18 ainsi que du lugol. Le groupe 2 est composé de 13 personnes qui utilisent la solution de Sheather à une densité de 1,27 pour la flottation. Les praticiens utilisant la solution de sulfate de Zinc ($d = 1,18$) manquent de sensibilité dans la détection de *Taenia sp* et des œufs de parasites lourds tel que *Physaloptera spp*, car la densité est trop faible pour faire flotter ces œufs.

Il est recommandé d'utiliser des solutions de flottation de densité comprise entre 1,22 et 1,35 pour détecter au mieux les parasites intestinaux communs (O'Grady et Slocombe, 1980). La limite inférieure est de 1,22 afin de pouvoir faire flotter les éléments parasitaires denses tels que *Taenia* spp ($d = 1,22$) et les œufs de *Trichuris vulpis* (1,145).

Les œufs de *Spirocerca lupi* ne sont pas détectés par flottation en solution saline mais par flottation sucrée saturée

5. Les kits utilisant la flottation

Les différents kits commercialisés : Fecal OVA3 step® (Kruuse), Fecalizer kit® (Vetoquinol), Ovassay plus® (Janssen-Elanco) et OVATEC plus sytem® utilisent la méthode de flottation pour concentrer les éléments parasitaires du chien et du chat. Ils sont présentés sur la figure 43.

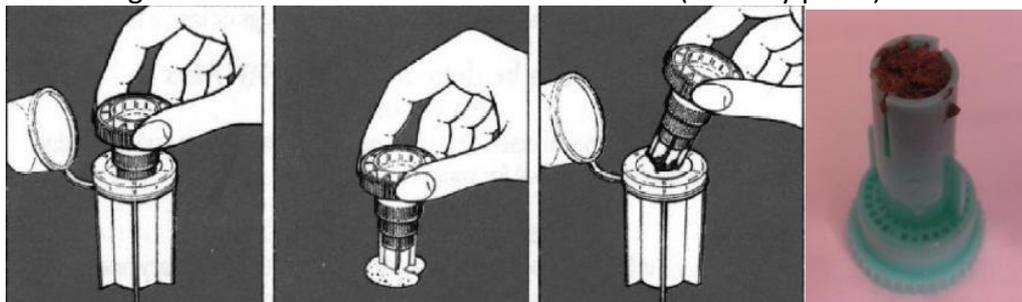
Figure 43 : Les différents kits de flottation du commerce



Fecalizer kit® utilise le nitrate de Sodium à une densité de 1,20 comme solution de flottation (Fecasol®). Ovatec plus System® et Ovassay® utilisent le sulfate de Zinc à une densité de 1,18 et 1,20 respectivement comme solution de flottation. Une différence significative a été notée entre une solution de sulfate de Zinc de routine utilisée en laboratoire et une solution de sulfate de Zinc provenant d'un kit commercial. Cette différence s'explique par le fait que les solutions fournies avec les kits commerciaux ont généralement une densité supérieure à 1,18, ce qui déforme les kystes de *Giardia* et rendent leur détection plus difficile. D'où l'importance de bien connaître et vérifier la densité de la solution utilisée.

Pour ces différents tests, un kit est fourni aux propriétaires qui déposent un échantillon de selle de leur animal dans le flacon à l'aide du bouchon fourni pour les collecter, comme illustré sur la figure 44.

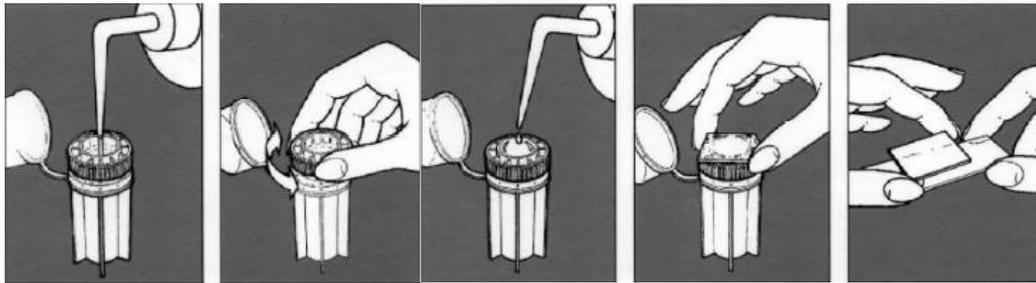
Figure 44 : Collecte de l'échantillon de selle (Ovassay plus®)



Les étapes à réaliser par le vétérinaire sont exposées sur la figure 45. Les manipulations sont à réaliser avec des gants.

- Ajouter la solution de flottation jusqu'à remplir la moitié du tube.
- Homogénéiser les selles et la solution en tournant le bouchon de droite à gauche à plusieurs reprises.
- Remplir le flacon en entier avec la solution de flottation jusqu'à former un ménisque en surface.
- Déposer une lamelle sur la surface et attendre 10 minutes.
- Déposer la lamelle sur une lame et observer au microscope.

Figure 45 : Les étapes pour réaliser la flottation avec le kit Ovassay plus®

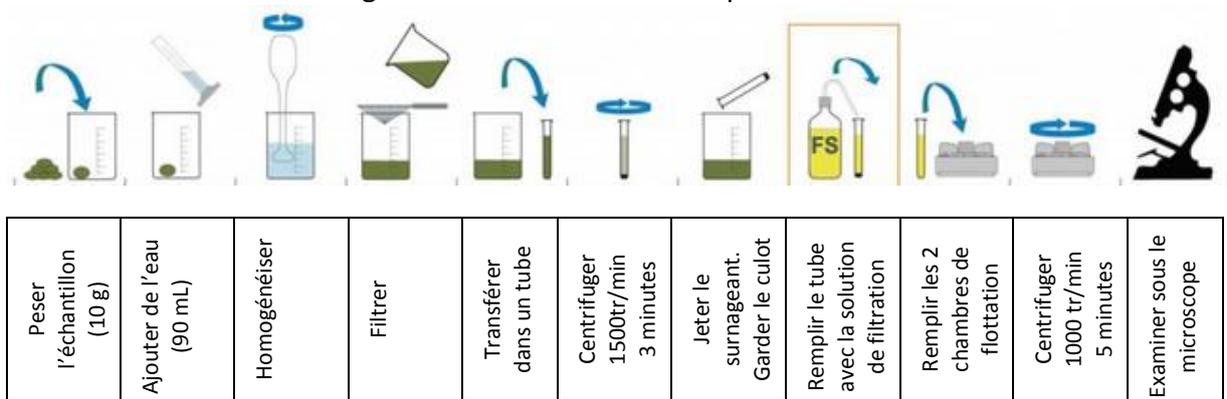


FLOTAC

L'appareil FLOTAC est utilisable pour détecter et quantifier les éléments parasitaires (œufs et larves d'helminthes, kystes et oocystes de protozoaires) chez toutes les espèces : carnivores domestiques, herbivores, hommes, animaux sauvages et oiseaux. C'est un dispositif récent développé par le professeur Giuseppe Cringoli de l'université de Naples. Son principe d'utilisation est basé sur la combinaison de la flottation à deux étapes de centrifugation, comme présenté sur la figure 46. Les différentes étapes se réalisent de la manière suivante :

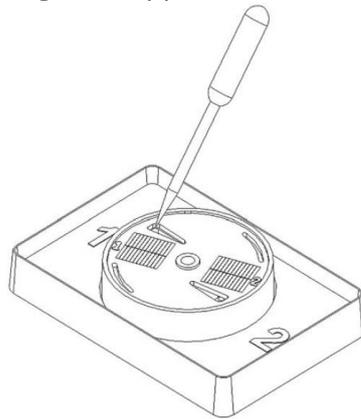
- Tout d'abord, 10 grammes de fèces sont pesés puis dilués avec 90 mL d'eau, ce qui donne une dilution au 1/10.
- Les matières fécales sont homogénéisées puis filtrées avec un filtre de 350 µm.
- 7 mL de la solution filtrée sont mis dans un tube à centrifuger pendant 3 minutes à 1500 tours par minute.
- Le surnageant est ensuite jeté et le culot est remis en suspension dans 11 mL d'une solution de flottation (FS).
- 10 mL de la solution de flottation sont prélevés avec une pipette pasteur et 5 mL sont déposés dans chaque chambre de flottation de l'appareil FLOTAC (figure 47).
- La plaque ronde est mise à centrifuger pendant 5 minutes à 1000 tours par minute.
- Puis, le comptage des éléments parasitaires en regard des grilles (18 x 18 mm) de lecture est réalisé sous microscope.

Figure 46 : Les différentes étapes du FLOTAC®



La durée des différentes étapes de préparation avant l'analyse microscopique est estimée à 12-15 minutes (Cringoli *et al.*, 2010).

Figure 47 : Remplissage de l'appareil FLOTAC® (Cringoli, 2006)



L'avantage principal de l'appareil FLOTAC est sa très haute sensibilité. Avec la dilution des selles au 1/10, la lecture d'une grille, soit de 5 mL, correspondant à 0,5 g de fèces donne une sensibilité de 2 opg. La lecture des deux grilles, soit de 10 mL, correspondant à 1 g de fèces, donne une sensibilité de 1 opg. De plus, la lecture des lames est aisée, car il y a peu de débris suite aux deux centrifugations. Toutes les solutions de flottation sont utilisables. Il est aussi possible d'utiliser deux solutions de flottations différentes pour chaque chambre de flottation. Les inconvénients sont la nécessité d'un matériel spécifique, d'une centrifugeuse ainsi que la complexité et la longueur des étapes.

L'appareil FLOTAC permet également de détecter les larves. Il présente plusieurs avantages par rapport à la méthode de Baermann. Tout d'abord, les résultats sont obtenus rapidement, en moins de 24 heures. De plus, la viabilité des larves n'est pas nécessaire pour cette technique, ce qui permet de préserver les échantillons dans du formol.

Gaglio *et al.* (2008) ont comparé différentes méthodes de détection des larves : FLOTAC, Baermann, Mac-Master et Wisconsin (flottation et centrifugation) sur un chat européen mâle de 11 mois. Cette étude conclut à une sensibilité supérieure de l'appareil

FLOTAC pour détecter un plus grand nombre de larves. En effet la différence est significative ($p < 0,05$).

Mini-FLOTAC

Un nouveau dispositif simplifié a été développé récemment afin d'obtenir un appareil plus facilement utilisable et transportable dans les laboratoires limités en équipement et ne disposant pas de centrifugeuse. En effet, la technique avec le mini-FLOTAC ne nécessite pas d'étape de centrifugation. Le matériel nécessaire est présenté sur la figure 48, il comporte d'une part, une base (fill-FLOTAC) contenant un filtre et d'autre part, un disque de lecture composé de deux chambres d'une contenance de 1 mL chacune.

Figure 48: Fill-FLOTAC et mini-FLOTAC kit (Barda *et al.*, 2013)



La technique utilisée est représentée sur la figure 49.

- Déposer 1 gramme de fèces et 1 mL de formol 5 % dans le récipient fill-FLOTAC, puis homogénéiser (1, 2, 3).
- Ajouter 20 mL de solution de flottation : NaCl ou ZnSO₄ (4).
- Homogénéiser à nouveau (5).
- Filtrer, pour séparer les débris, puis remplir les deux chambres de flottation de 1 mL chacune (6).
- Attendre 5 à 10 minutes, puis examiner les chambres au microscope (7).

Figure 49 : Les étapes de la technique du mini-FLOTAC (Barda *et al.*, 2013)



1	2	3	4	5	6	7
Peser 1g de fèces	Ajouter 1 mL de formol 5 %	Homogénéiser	Ajouter 20 mL de la solution de flottation	Homogénéiser	Filtrer et remplir les deux chambres de flottation	Attendre 5 à 10 min et examiner sous le microscope

La durée de préparation avant l'analyse microscopique est estimée à 12 minutes. Deux minutes pour préparer l'échantillon, puis 10 minutes pour attendre que les œufs ou les oocystes remontent à la surface. Ensuite, 5 à 7 minutes sont nécessaires pour la lecture microscopique.

Pour chaque échantillon de matière fécale, il est recommandé de réaliser 2 mini-FLOTAC en utilisant deux solutions de flottations différentes. D'une part, une solution de flottation au chlorure de Sodium à une densité de 1,20 afin de mettre en évidence les œufs d'helminthes. D'autre part, une solution de sulfate de Zinc de densité 1,35 afin de mettre en évidence les oocystes de coccidies et les kystes de *Giardia*. La sensibilité du mini-FLOTAC est de 20 œufs par gramme de fèces (1 gramme de fèces mélangé dans 20 mL de solution de flottation) lors de la lecture d'une seule chambre (de 1mL) et de 10 opg lors de la lecture des deux chambres. La sensibilité de détection n'est pas la même selon les solutions de flottation utilisées. Le mini-FLOTAC a une très bonne sensibilité pour la détection des helminthes, mais une relativement pauvre performance pour la détection des protozoaires. Pour les oocystes de coccidies et les kystes de *Giardia*, la sensibilité est meilleure avec le FLOTAC grâce à l'étape de centrifugation qui permet d'augmenter la détection.

L'avantage majeur du mini-FLOTAC, en plus de sa bonne sensibilité et de sa simplicité d'utilisation est son coût faible du fait que le matériel soit réutilisable après un rinçage minutieux et que l'achat d'une centrifugeuse n'est pas nécessaire. Le mini-FLOTAC coûte 5 € et le fill-FLOTAC 4 €. De plus, l'analyse est réalisable directement sur des selles fraîches ou bien une semaine après conservation dans du formol, ce qui assure une protection pour le manipulateur. L'inconvénient est qu'étant donné qu'il n'y a pas d'étape de centrifugation, la lecture microscopique est plus difficile du fait des débris.

Les deux dispositifs FLOTAC et mini-FLOTAC ne sont pas destinés à la même clientèle. Le choix est à faire selon les installations et les équipements (centrifugeuse) disponibles dans les laboratoires et les cliniques vétérinaires. Aucune étude comparant la sensibilité des deux méthodes n'a encore été publiée.

6. Les limites de la flottation

Actuellement, la flottation simple ou avec centrifugation est considérée comme la méthode de référence pour le diagnostic de parasitoses intestinales. Cependant, cette technique possède plusieurs limites. Tout d'abord, les erreurs d'identification des éléments parasitaires qui peuvent être confondus avec des débris végétaux ou du pollen par un examinateur non expérimenté. De plus, le comportement de coprophagie des carnivores domestiques peut entraîner des erreurs d'identification d'espèces parasitaires. La variabilité des densités des œufs de parasites entraîne des difficultés dans le choix du liquide de flottation le plus adapté. L'excrétion intermittente de nombreux parasites (kystes de *Giardia* notamment) concluent à des résultats faussement négatifs si une seule coproscopie est réalisée. L'inconvénient majeur de la flottation est que les œufs ne peuvent pas être repérés pendant la période prépatente, car ils ne sont pas émis dans les selles.

6.1. Les difficultés de la détection des kystes de *Giardia*

Giardia duodenalis est un parasite difficile à détecter au microscope du fait de la très petite taille de ses kystes (8-12 x 7-10 µm) et de leur excrétion intermittente. Ces deux points nécessitent d'une part, la présence dans la clinique d'un objectif capable de mesurer l'élément repéré, ce matériel est rarement présent en clientèle. Et d'autre part, la nécessité de répéter l'analyse environ 7 jours plus tard ou de procéder à 3 coproscopies espacées de 48 heures (Collins *et al.*, 1987). Une étude comparant la flottation au sulfate de Zinc à la méthode ELISA prise comme référence a montré que lors de la réalisation de la 1^e coproscopie, 70 % des chiens infestés peuvent être détectés, avec une deuxième analyse, la sensibilité s'élève à 93 %. Cependant, si l'analyse coproscopique est réalisée uniquement par des techniciens expérimentés et que la flottation au sulfate de Zinc est comparée à la méthode d'immunofluorescence prise comme référence, la sensibilité diminue à 78 % en supposant que l'immunofluorescence ait une précision de 100 % (Rishniw *et al.*, 2010).

Si le résultat de l'analyse est négatif, cela ne signifie pas nécessairement qu'il n'y a pas d'infestation. Soit les kystes ne sont pas excrétés au moment de l'analyse coproscopique, soit ils sont excrétés en trop faible quantité pour être détectés.

L'excrétion intermittente indique également que le nombre de kystes de *Giardia* retrouvé sur la lame n'est pas un bon indicateur du niveau de l'infection chez les carnivores. En effet, Douglas *et al.* (1988) ont montré que lorsque quelques kystes de *Giardia* sont identifiés dans les selles, cela peut correspondre à 10⁵ ou 10⁹ trophozoïtes dans l'intestin grêle. L'excrétion peut varier de 500 000 à un million de kystes par gramme de fèces un jour et aucun kyste deux jours plus tard (Bourdeau, 1993). L'excrétion peut varier dans un sens comme dans l'autre, on peut retrouver 10 kystes par gramme de fèces chez un chien à J1 puis 3190 à J3. A l'inverse, on peut quantifier 150 kystes par gramme à J1 et 44610 à J3 (Dryden *et al.*, 1996). Les chiens de chenil infectés excrètent entre 26 et 114 486 kystes par gramme de fèces (Bermudez-Cruz *et al.*, 2009). Chez les chats, on peut retrouver jusqu'à plus d'un million de kystes par gramme de fèces. En général, deux à dix jours séparent les pics d'excrétion (Kirkpatrick et Farrell, 1984).

De plus, il a été montré que certains praticiens et techniciens de laboratoire ayant peu d'expérience dans la lecture de coproscopie repèrent difficilement les kystes de *Giardia* (Dryden *et al.*, 2006). En effet, les résultats de la coproscopie sont intimement liés à la compétence technique de l'observateur. Plusieurs études ont montré que la technique de centrifugation avec la solution de sulfate de Zinc à 1,18 de densité réalisée par des personnes expérimentées présente le meilleur compromis pour détecter les kystes de *Giardia* (Zimmer et Bunington, 1986 ; Barr *et al.*, 1992 ; Zajac *et al.*, 2002). Cette technique est considérée comme la méthode de référence par ces auteurs.

D. Méthodes d'enrichissement par sédimentation

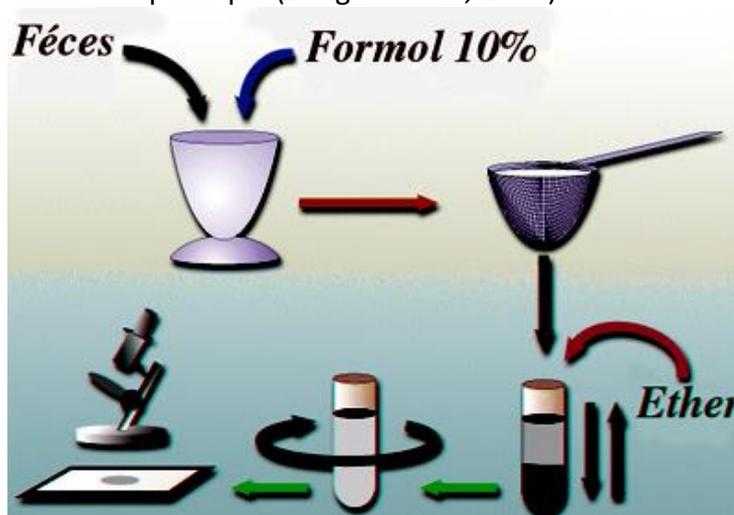
La sédimentation utilise une solution de densité faible pour diluer les selles, ce qui fait descendre les œufs et les concentre dans le culot. Les éléments parasitaires sont hydrophiles. La sédimentation est intéressante pour les œufs lourds ou operculés qui ne flottent pas bien à cause de l'effet hypertonique exercé par la solution de flottation (Dryden *et al.*, 2005).

1. Sédimentation di-phasique

La technique de sédimentation utilisée au laboratoire de Parasitologie de l'EnvA est la méthode di-phasique (ou méthode de Telemann). Cette technique est très intéressante pour la détection des kystes de protozoaires et notamment ceux de *Giardia*. Elle est réalisée de la manière suivante (figure 50) :

- Peser environ 0,5 grammes de fèces dans une éprouvette graduée.
- Ajouter 10 mL de formol à 10 % sous la hotte, afin d'éviter l'inhalation des vapeurs toxiques.
- Mélanger, attendre 3 à 5 minutes, puis filtrer à l'aide d'une passoire avec deux épaisseurs de gaze.
- Récupérer 7 mL du filtrat et les introduire dans un tube à centrifuger de 15 mL.
- Ajouter 3 mL d'éther, sous la hotte, puis agiter. Les éléments lipidiques se positionnent au niveau de l'éther, ce qui permet de dégraisser le prélèvement.
- Centrifuger à 3000 tours par minute pendant 5 minutes.
- Les trois phases supérieures sont éliminées par retournement du tube : la phase superficielle contenant l'éther et emprisonnant les graisses, la couche intermédiaire épaisse formée de divers débris lipophiles et la phase contenant le formol.
- Seul le culot contenant les kystes de protozoaires est gardé. Il est récupéré avec précaution à l'aide de l'embout d'une pipette Pasteur et déposé entre lame et lamelle.
- La lecture au microscope optique est réalisée à l'objectif x 20 pour l'observation de l'ensemble de la lame puis à l'objectif x 40 pour l'identification des kystes de *Giardia*.

Figure 50 : Les étapes de la réalisation pratique de la technique de sédimentation di-phasique (Beugnet *et al.*, 2008)



L'avantage de cette technique est sa sensibilité vis-à-vis des kystes de *Giardia* par rapport à la flottation simple (Oliveira-Sequeira *et al.*, 2002). Elle a cependant l'inconvénient de conserver plus de débris, ce qui rend plus difficile la lecture.

2. Les kits utilisant la sédimentation

2.1. BIOREPAIR®

Le kit BIOREPAIR®, commercialisé par Kitvia, à 4,5 € l'unité, utilise une méthode de sédimentation di-phasique pour concentrer les éléments parasitaires. Une solution de Bailenger composée de 0,4 % d'acide acétique, 0,05 % d'acide de sodium et du sodium d'acétate à 15g/L est contenue dans tous les flacons. Le matériel fourni avec le kit est présenté sur la figure 51.

Figure 51 : BIOREPAIR® (www.Kitvia.com)



La procédure du test BIOREPAIR® est expliquée sur l'annexe 10. Les étapes à réaliser sont les suivantes :

- Prélever un échantillon de selles à l'aide de l'écouvillon qui est fixé sur le bouchon du flacon fourni. L'écouvillon est remis dans le flacon afin de mélanger les matières fécales prélevées aux 3,3 mL de solution de Bailenger contenus dans le flacon. Refermer le flacon et homogénéiser.
- Puis, ouvrir à nouveau le flacon pour y ajouter 1,25 mL de la solution d'éther (éthyle acétate). Le bouchon est revissé et la solution homogénéisée.
- Jeter le bouchon et visser ensuite la fiole de filtration sur le flacon, comme expliqué sur les images de l'annexe 10. Homogénéiser à nouveau.
- Centrifuger à 1500-2000 tours par minute pendant 5 à 10 minutes.
- Dévisser et jeter le filtre ainsi que le surnageant. Prélever le culot et le déposer sur une lame, il est possible d'y ajouter une goutte de solution de coloration lugol. Enfin, observer au microscope pour repérer les éléments parasitaires.

2.2. Uranotest copro®

Le kit Uranotest copro®, utilise une méthode de sédimentation modifiée pour concentrer les éléments parasitaires. Le matériel fourni avec le kit est présenté sur la figure 52.

Figure 52 : Uranotest copro® (www.uranovet.com)



La procédure de réalisation du test est détaillée dans la 2^e partie expérimentale de la thèse. L'Uranotest copro® est commercialisé en Espagne pour le prix de 3 € l'unité (Francisco Villanueva, « communication personnelle »).

3. Méthodes de détection des larves : Baermann

La technique de Baermann et Lee permet de mettre en évidence les larves vivantes de nématodes qui sont attirées par l'eau (hydrotropisme et géotropisme positif).

La technique est la suivante (Beugnet *et al.*, 2004) (figure 53) :

- 10 à 20 grammes de fèces fraîches sont déposées dans une passoire métallique tapissée d'une à 2 couches de gaze. Il est conseillé d'introduire la plus grande quantité de fèces possible.
- La passoire contenant les fèces est déposée dans un entonnoir. L'entonnoir est relié à un tube en caoutchouc avec un robinet (pince de Mohr ou clamp) à son extrémité distale.
- L'entonnoir est rempli d'eau jusqu'à imbiber la compresse de gaze. Un béccher est placé sous le robinet pour collecter l'eau et les larves présentes.
- Attendre 18 à 24 heures, avant d'ouvrir le robinet pour récupérer le liquide avec les larves ayant migré vers le bas. Récupérer environ 5 mL de liquide.

Figure 53 : Schéma illustrant la technique de Baermann (Beugnet *et al.*, 2004)



L'observation se fait avec une loupe binoculaire à l'objectif x 2 ou x 4 (grossissement x 10 à x 40). Les larves sont facilement reconnaissables par leur aspect ondulé. Pour

identifier le type de parasites, les larves doivent être collectées avec une pipette Pasteur et observer sous le microscope. Il est possible de tuer les larves avant de les observer avec une solution de lugol.

Cette méthode présente plusieurs avantages. Tout d'abord, sa facilité de réalisation et son faible coût (15 € au laboratoire de Parasitologie de l'EnvA). De plus, il y a peu de débris et les larves ne sont pas déformées, ce qui facilite leur identification. Enfin, les résultats sont obtenus en moins de 24 heures. Cependant, l'inconvénient majeur de cette technique est qu'il est possible de l'utiliser uniquement sur des selles fraîches.

La recherche des larves L1 d'*Angiostrongylus vasorum* et de *Strongyloides stercoralis* par la technique de Baermann est la méthode de référence pour poser un diagnostic de certitude de ces parasitoses. La coproscopie doit être réalisée sur 3 jours consécutifs afin de parer l'excrétion intermittente des larves. Pour l'aelurostrongylose, la méthode de Baermann est également recommandée et donne une bonne sensibilité, car les femelles sont assez prolifiques. Cependant, pour ce parasite aussi, il est recommandé d'effectuer 3 analyses espacées de 48 heures pour augmenter la sensibilité de détection.

Humm et Adamantos (2010) recommandent de réaliser un étalement des selles sur une lame avec une goutte d'eau du robinet lors de suspicion d'angiostrongylose. Cet examen direct des selles permet de poser un diagnostic plus rapide et donc de traiter plus précocement si des larves sont observées au grossissement 10. Cependant, la technique de Baermann est recommandée que le résultat par étalement soit positif ou non. Si l'échantillon est positif, la méthode de Baermann permet d'identifier plus précisément le type de larves au grossissement 40 : *Angiostrongylus vasorum* (épine dorsale et queue incurvée), *Crenosoma vulpis*, *Oslerus osleri* et *Filaroides*. En effet l'étalement permet seulement de détecter la présence de larves. Si aucune larve n'est détectée par étalement, la méthode de Baermann doit être réalisée car l'étalement présente une sensibilité de 61 %.

E. Colorations : lugol et immunofluorescence

La solution iodo-iodurée ou de lugol (iode sublimée et iodure de Potassium) permet de colorer les kystes de *Giardia* afin de pouvoir les repérer plus facilement sur la lame au microscope dès l'objectif 10. Les débris végétaux ne sont pas teintés par ce colorant, mais les levures le sont et parfois les larves d'helminthes aussi. Cependant, les levures sont deux fois plus petites que les kystes de *Giardia* et ne contiennent pas de structures internes. La iode a l'avantage de ne pas colorer les oocystes de coccidies ni les sporocytes de *Sarcocystis*, ce qui facilite le repérage des kystes de *Giardia*. En médecine humaine, un autre colorant à base d'iode est également utilisé, il s'agit du M.I.F (Merthiolate, iode, formol).

L'immunofluorescence utilise un anticorps monoclonal fluorescent murin dirigé contre des antigènes de la paroi des kystes de *Giardia*. Un anticorps anti-murin marqué permet de révéler la fixation de l'anticorps à l'antigène si elle a lieu. La sensibilité de cet examen est estimée à 94,7 % (Baixench *et al.*, 1993). L'inconvénient majeur de cette technique utilisée en humaine est la nécessité d'un microscope à fluorescence pour la lecture. Cette méthode n'est donc pas utilisable dans un cabinet vétérinaire, mais réservée aux laboratoires de diagnostic. Cependant, la lecture est facilitée par la coloration en vert pomme de la paroi des kystes de *Giardia*.

F. Détection des copro-antigènes

La recherche des antigènes parasitaires dans les matières fécales est une méthode immunologique indirecte. Cette méthode a une bonne sensibilité, elle permet de déceler dans les selles les antigènes libérés en faible quantité par le parasite vivant. De plus, la spécificité est également très bonne du fait notamment de l'utilisation d'anticorps monoclonaux. L'avantage majeur de cette technique est que la détection de coproantigènes signifie que le parasite est vivant, c'est-à-dire que l'infection parasitaire est en cours au moment du diagnostic, contrairement à une sérologie où il existe une faible corrélation entre une positivité en anticorps anti-*Giardia* et la présence d'une infection active (Rosoff *et al.*, 1989).

Les inconvénients majeurs des techniques d'enrichissement décrivent précédemment sont : l'impossibilité de détection des éléments parasitaires quand l'excrétion est intermittente et lorsque les œufs ou oocystes ne sont pas encore émis dans les matières fécales, c'est-à-dire pendant la période prépatente. C'est pourquoi des nouveaux tests détectant les coproantigènes ont été développés. Un snap test détectant les coproantigènes de *Giardia* est commercialisé par idexx. Très récemment (2015), une étude décrivant un nouveau test détectant les coproantigènes des *Toxocara sp*, *Trichuris vulpis* et des ancylostomes a été publiée (Idexx, 2014).

En effet, les coproantigènes sont excrétés par les parasites adultes qui sont localisés dans le tube digestif des carnivores domestiques et non par les œufs. L'avantage majeur de cette technique est que la détection des parasites est faisable pendant la période prépatente et pendant les périodes où les œufs ne sont pas excrétés. Cette détection précoce permet de traiter l'animal le plus tôt possible avant que les œufs soient libérés dans les matières fécales et contaminent l'environnement, cela permet donc de réduire fortement les réinfestations des autres animaux.

1. *Giardia*

L'examen microscopique des selles pour l'observation des kystes de *Giardia* manque de sensibilité en cas de faible émission des kystes. De plus, l'excrétion intermittente des kystes nécessite de renouveler les observations (Decock *et al.*, 2003). La méthode de référence pour détecter les kystes de *Giardia* dans les matières fécales est la technique de concentration avec la solution de flottation de sulfate de Zinc réalisée sur 3 jours consécutifs (Zimmer et Bunington, 1986 ; Barr *et al.*, 1992). Une seule flottation au sulfate de Zinc donne des résultats insuffisants avec une sensibilité de 70 %. Par ailleurs, Decock (2003) a montré qu'avec deux flottations réalisées à 24 heures d'intervalle on obtient une bonne sensibilité très proche de celle obtenue avec 3 flottations. Trois coproscopies réalisées avec une solution de flottation au sulfate de Zinc sur 3 jours consécutifs donnent une sensibilité de 94 % (Zimmer et Bunington, 1986). Cependant, cette technique nécessite du personnel qualifié et entraîné pour détecter les kystes qui sont de petite taille. De plus, cette méthode est assez chronophage. La récolte des selles sur plusieurs jours n'est pas toujours facile à réaliser pour le propriétaire. Malgré un premier résultat négatif lors de l'examen microscopique, une giardiose ne peut être exclue. C'est pourquoi, des tests rapides détectant les coproantigènes pendant les périodes où les kystes ne sont pas excrétés dans les selles ont été développés.

L'annexe 11 décrit les différentes techniques coprologiques utilisées pour le diagnostic d'une giardiose : flottation au sulfate de Zinc et ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) ; détection de coproantigènes libres (test SNAP *Giardia*®) ou liés aux kystes de *Giardia* (tests immunochromatographiques). La sensibilité et la spécificité des différentes méthodes sont indiquées par rapport au test ELISA des laboratoires d'analyses.

La technique ELISA est une méthode de détection d'antigènes ou d'anticorps par utilisation d'immunoglobines couplées à une enzyme. C'est une réaction chimique catalysée par une enzyme formant un composé coloré lors de résultat positif. La méthode ELISA indirecte se réalise en deux étapes. Tout d'abord, une phase immunologique aboutissant à la formation de complexes immuns puis une phase enzymatique permettant la révélation des complexes. Cette technique ELISA présente un double intérêt. D'une part, la mise en évidence d'antigènes parasitaires dans les selles est corrélée à une infestation active. D'autre part, cela permet de suivre l'efficacité d'un traitement anti-parasitaire.

1.1. ProsPecT®

Plusieurs tests identifiant les antigènes de *Giardia* humain produits par les trophozoïtes dans les selles ont été développés. Un résultat positif est identifié par un changement de couleur. Ces tests présentent une sensibilité de 100 % pour détecter les giardiose humaine et une spécificité de 96 %. De plus, ces kits ELISA (ProSpecT®) permettent de détecter environ 30 % de plus de cas de giardiose humaine par rapport à la technique de flottation avec le sulfate de Zinc (Rosoff *et al.*, 1989). Cependant, ces tests affichent des niveaux de sensibilité et de spécificité plus bas pour la détection des coproantigènes de *Giardia* des chiens et des chats (Barr *et al.*, 1992 ; Payne *et al.*, 2002). Barr *et al.* (1992) ont trouvé une spécificité diminuée à 77 % chez le chien, cela pourrait s'expliquer par l'existence probable de réactions croisées avec d'autres organismes intestinaux. Car les premiers tests ELISA utilisaient des anticorps polyclonaux polyspécifiques contre la totalité des kystes et/ou des trophozoïtes de *Giardia lamblia* permettant de détecter un large panel d'antigènes de *Giardia*. De plus, ces premiers tests n'étaient réalisables que sur des échantillons de selles fraîches, non traitées (pas de conservation dans du formol) et nécessitaient un spectrophotomètre pour les lectures. La sensibilité est également diminuée chez les chiens asymptomatiques.

Deux hypothèses sont avancées concernant la diminution de la sensibilité de détection des coproantigènes chez le chien par rapport aux coproantigènes chez l'homme (Barr *et al.*, 1992).

- La première concerne la spécificité d'hôte de *Giardia*. Le fait que *Giardia duodenalis* est la même espèce chez l'homme et chez le chien est toujours indécis (Kirkpatrick, 1987). Les *Giardia* provenant du chien ne produiraient pas autant de coproantigènes *Giardia* Specific Antigen (GSA-65) que les *Giardia* provenant d'humains.
- La deuxième hypothèse est que la production des coproantigènes est équivalente mais qu'il existe des enzymes dans le tube digestif du chien qui dégradent les coproantigènes qui sont de nature protéique.

Barr *et al.* (1992), dans une étude portant sur 164 échantillons de selles obtenus à partir de 77 chiens, ont conclu qu'il n'y a pas de différences significatives ($p > 0,25$) entre les

résultats obtenus avec la flottation au sulfate de Zinc et le test ELISA ProSpecT® dans la détection des échantillons positifs en *Giardia*. De même, Decock *et al.* (2003), dans une étude portant sur 30 Beagles infectés par *Giardia*, ont conclu que le test ELISA ProSpecT® avait la même sensibilité que la technique de flottaison au sulfate de Zinc réalisée sur deux ou trois jours.

Zajac *et al.* (1992) ont conclu que la technique ELISA est légèrement plus efficace qu'une unique flottation au sulfate de Zinc dans la détection d'une infestation par *Giardia*. En effet, la recherche des antigènes dans les fèces permet d'éviter le problème d'excrétion intermittente des kystes, mais ce dispositif ne semble pas supérieur pour diagnostiquer la giardiose canine par rapport à la flottation au sulfate de Zinc réalisée trois fois par un examinateur expérimenté pour détecter les kystes de *Giardia*.

Le test ELISA ProSpecT® *Giardia* microplate assay est un test immuno-enzymatique qualitatif (EIA) mettant en évidence les coproantigènes *Giardia* Specific Antigen de 65 kDa et également les coproantigènes spécifiques de *Cryptosporidium* (CSA). Ce test met en évidence un seul type d'antigène pour *Giardia* : GSA-65, ce qui améliore la spécificité et diminue énormément la possibilité de réactions croisées. L'anticorps spécifique utilisé pour la détection cible directement quelques épitopes définis contrairement à des milliers d'épitopes indéfinis avec les anciens tests ELISA (Rosoff *et al.*, 1989). Ce test ProSpecT® est réalisable sur des selles fraîches qui doivent être conservées au réfrigérateur ou congelées. Les kystes de *Giardia* contenus dans des fèces non traitées dégénèrent rapidement quand ils sont stockés dans le réfrigérateur plus de quelques jours. Si les selles sont congelées immédiatement après leur ramassage, les kystes ne sont pas ou très peu dégradés et le niveau de GSA-65 reste stable (Rosoff *et al.*, 1989). La production des coproantigènes est indépendante de l'excrétion des kystes ou des trophozoïtes. GSA-65 est stable dans les divers fixateurs utilisés en laboratoire : formol 10 % ou SAF ou également dans les selles non traitées congelées sur 6 mois (Rosoff et Stibbs, 1986).

Le test ELISA ProSpecT® a pour support une microplaque composée de puits contenant les échantillons de selles diluées. Des anticorps anti-GSA 65 monospécifique sont fixés sur la plaque, ce qui permet de capturer les coproantigènes spécifiques. Plusieurs réactions sont nécessaires pour mettre en évidence ces coproantigènes, la réalisation du test avec les diverses étapes dure environ deux heures. La lecture des résultats est possible au terme de 10 minutes à l'œil nu ou par spectrophotométrie. Si une coloration jaune apparaît cela signifie que le résultat est positif et que des coproantigènes sont présents.

1.2. Le test SNAP *Giardia*®

Le test SNAP® *Giardia*, commercialisé par Idexx, pallie le problème d'excrétion intermittente des kystes, car il détecte les coproantigènes libres non liés aux kystes. Ce test est composé d'anticorps spécifiques qui réagissent avec les coproantigènes de *Giardia*. Groat *et al.* (2003), ont montré que le test SNAP® *Giardia* a une sensibilité de 92 % et une spécificité de 99 % par rapport au test ELISA utilisé dans les laboratoires d'analyses de référence. Cette sensibilité élevée s'explique par le fait que les antigènes détectés dans les selles ne sont pas liés à la paroi des kystes ni aux trophozoïtes, mais ce sont des antigènes libres qui sont répartis dans les fèces. Le test SNAP® *Giardia* a l'avantage d'être rapide, réalisable en 8 minutes. Il est à pratiquer sur des selles fraîches ou bien conservées au

réfrigérateur entre 2 et 7°C ou au congélateur pendant 7 jours afin de conserver les coproantigènes. Une date de péremption est à respecter. Une fois le test extrait de son emballage aluminium, il doit être réalisé dans les deux heures pour ne pas fausser le résultat. La lecture est facile à interpréter, une pastille colorée en bleu apparaît quand le test est positif. Cela signifie que l'animal a ingéré des kystes de *Giardia* et peut en excréter dans ces selles et qu'il est activement infecté. Le test SNAP® *Giardia* semble le test le plus intéressant pour détecter les giardia à tous moments du cycle. Ce dispositif coûte une dizaine d'euros à l'unité.

Chez certains chiens, le test SNAP® *Giardia* peut rester positif une à trois semaines après le traitement contre la giardiose, car les coproantigènes ne disparaissent pas immédiatement des matières fécales. Suite au traitement antiparasitaire, il est important de bien respecter les mesures environnementales : ramassage quotidien des selles et désinfection pour éviter une réinfection.

Pour poser un diagnostic de giardiose, il est recommandé de combiner : une flottation au sulfate de Zinc associée à une centrifugation pour détecter les kystes à un test SNAP® *Giardia* qui repère les coproantigènes afin d'accroître les chances de repérer un échantillon positif. Le test SNAP® est une aide au diagnostic de la giardiose lorsque l'analyse coproscopique ne révèle pas de kystes de *Giardia* du fait de la difficulté d'identification de ce parasite et de l'excrétion intermittente des kystes. Mekaru *et al.* (2007) ont montré que le test SNAP® *Giardia* seul a une sensibilité de 85,3 % par rapport à la méthode d'immunofluorescence pris comme référence. Alors que, la combinaison flottation avec centrifugation associé au test SNAP® *Giardia* permet d'améliorer la sensibilité à 97,8 %. De plus, ces deux méthodes réalisées en parallèle permettent de détecter d'autres parasites par la flottation. Cependant, si les deux résultats sont négatifs, cela ne permet pas d'exclure une giardiose. Il est recommandé de réaliser une seconde analyse des selles quelques jours plus tard ou de répéter les prélèvements sur plusieurs jours afin d'améliorer la sensibilité de détection si le résultat initial est négatif.

Le laboratoire vétérinaire de l'université de Tennessee (2009) recommande d'examiner les selles durant 3 jours consécutifs par une flottation avec du sulfate de Zinc et de réaliser un test SNAP® *Giardia* si aucun kyste n'est retrouvé à l'analyse coproscopique. En général, chez les porteurs asymptomatiques, l'excrétion de kystes est faible. Le test SNAP® *Giardia* doit être utilisé comme un test complémentaire à la coproscopie, il ne doit pas la remplacer (Tangtrongsup et Scorza, 2010). Le CPAC recommande de tester les chiens et les chats présentant de la diarrhée avec un examen direct des selles, une coproscopie par flottation-centrifugation et un test détectant les coproantigènes de *Giardia*. Si une co-infection avec *Cryptosporidium* spp est suspectée, il vaut mieux remplacer la détection des coproantigènes par l'immunofluorescence.

Dans une population où la prévalence de la giardiose est estimée comme faible (1 %), quel que soit le test utilisé (flottation au sulfate de Zinc ou test SNAP® *Giardia*), on peut faire confiance à un résultat négatif pour exclure la giardiose. Cet animal est très probablement réellement non infecté (vrai négatif). Cependant, dans ce type de population, un résultat positif est à interpréter avec précaution car, c'est probablement un faux positif. Au contraire, dans une population où la prévalence de la giardiose est forte, comme dans un élevage ou une forte densité de chiots, on peut faire confiance en un résultat positif.

L'animal est considéré comme très probablement infecté (vrai positif). Dans ce type de population (prévalence > 50 %), tous les tests ont la même performance (Rishniw *et al.*, 2010). Il est difficile d'identifier les chiens infectés chroniquement par *Giardia* car la détection des kystes (par la flottation au sulfate de Zinc ou l'immunofluorescence) et la détection des coproantigènes (via un test SNAP®) manquent de concordance (Rishniw *et al.*, 2010).

1.3. Les tests immunochromatographiques

Le test Speed® *Giardia* est commercialisé par le laboratoire Virbac au prix de 12,20 € l'unité. Il permet la détection des antigènes solubles des kystes de *Giardia duodenalis* dans les matières fécales des chiens, des chats et des bovins. C'est un test rapide réalisable en 10 minutes. Sa sensibilité est de 95,6 % et sa spécificité de 100 % par rapport à la méthode de références ELISA de laboratoire. Le seuil de détection minimum est de 80 à 100 kystes par gramme de fèces d'après une étude interne de BVT (Bio Veto Test) portant sur 121 animaux.

Un test équivalent, basé sur le même principe d'immunochromatographie, est utilisé en médecine humaine pour diagnostiquer la giardiose. Ce test a été testé à l'hôpital de Lyon en 2006 par Nguyen et son équipe avec *Giardia-strip* (Coris Bioconcept) sur 396 matières fécales d'humain (Nguyen *et al.*, 2006). La sensibilité a été estimée à 96,2 % et la spécificité à 97,7 %.

D'autres tests immunochromatographiques existent dans le domaine vétérinaire: le test rapide *Giardia* commercialisé par Kitvia à 6,80 € l'unité, le test Witness® *Giardia* commercialisé par Zoetis à 11,40 € l'unité et l'Uranotest *Giardia*® commercialisé en Espagne à 10,20 € l'unité. Ce dernier test possède un seuil limite de détection estimé à 125 kystes par gramme de fèces.

L'utilisation de ces tests chez les animaux est préconisée par les fabricants pour les jeunes chiens ou chats (entre 6 semaines et 5 mois) présentant une diarrhée intermittente qui réfractaire aux antiparasitaires classiques. Ils sont également utilisables chez les chats âgés présentant des diarrhées chroniques.

Les tests emploient une méthode d'immunochromatographie. Le matériel fourni dans les kits est présenté sur les figures 54 et 55. Une cuillère ou un écouvillon sont utilisés pour prélever l'échantillon de selle, les résultats sont obtenus sur une bandelette ou un dispositif de lecture, le réactif est contenu directement dans le flacon ou rajouté après récolte des matières fécales. Les tests sont à réaliser sur des matières fécales fraîches uniquement.

Figure 54 : Speed® *Giardia* (www.btv.fr)



Figure 55 : Test rapide Witness® *Giardia* (www.kitsdediagnosticozoetis.com)

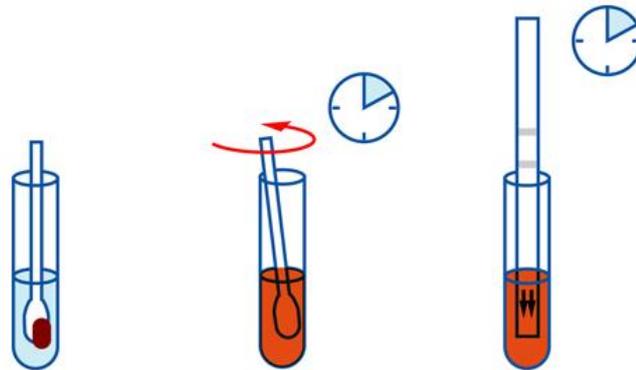


Le test Speed® *Giardia* se réalise de la façon suivante (figure 56) :

- Un échantillon de selle est prélevé à l'aide de l'écouvillon puis mélangé et homogénéisé avec le réactif dans un flacon.
- Il faut alors attendre 3 minutes, le temps que la sédimentation se réalise.
- La bandelette est ensuite introduite dans la solution pendant une minute.
- La lecture s'effectue 5 minutes après le retrait de la bandelette.

L'apparition d'une bande rouge après 10 minutes n'est pas valable. Le principe de cette technique est basé sur la migration de l'échantillon sur une membrane comportant deux anticorps. Le 2^e anticorps est couplé à des particules d'or colloïdales permettant la révélation d'une bande rouge lorsque les coproantigènes sont présents. Il ne semble pas exister de réaction croisée (absence de faux positifs) pour ce test même avec *Cryptosporidium sp.*

Figure 56 : Les étapes de réalisation du test immunochromatographique Speed® *Giardia* (www.btv.fr)



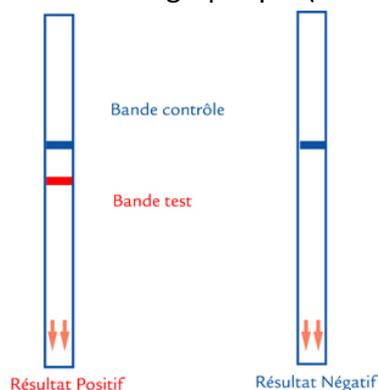
Pour les tests immunochromatographiques (Witness® *Giardia*, Uranotest *Giardia*® et le test rapide *Giardia* de Kitvia) utilisant un support de lecture et non une bandelette pour lire le résultat, la procédure de réalisation des tests est illustrée sur la figure 57.

Figure 57 : Les étapes de réalisation des tests immunochromatographiques (www.kitvia.com)



Un résultat positif indique que des kystes sont présents dans les matières fécales. Si l'animal ne présente pas de signes cliniques, il est porteur asymptomatique. Ces individus doivent être détectés en collectivité, car ils maintiennent la pression parasitaire dans l'environnement en excréant les kystes dans les matières fécales. Un résultat négatif se lit par une seule bande présente sur la bandelette qui correspond à la bande de contrôle (figure 58). Cette bande témoin doit toujours apparaître sur les tests, elle permet d'être sûr que le test a fonctionné. Si elle n'apparaît pas, le résultat n'est pas interprétable.

Figure 58 : Interprétation d'un résultat positif et négatif sur un test immunochromatographique (BVT.fr)



Si le test donne un résultat négatif et que l'animal présente des signes cliniques évocateurs de giardiose (diarrhée chronique intermittente), l'analyse doit être renouvelée après 48 heures car l'excrétion des kystes dans les fèces est intermittente. En effet, ces tests détectent uniquement les antigènes appartenant à la structure des kystes de *Giardia*, c'est pourquoi ils ne pallient pas l'excrétion intermittente des kystes. Ils présentent le même inconvénient que les techniques de coproscopie par flottation ou sédimentation mais garde l'avantage d'être moins chronophage, plus rapide et ne nécessite pas de cliniciens expérimentés pour lire le résultat.

2. *Echinococcus* spp

Des kits ELISA ont été développés pour détecter les coproantigènes d'*Echinococcus granulosus* dans les matières fécales de chiens. Deux tests immunoenzymatiques sont commercialisés : *Echinococcus* ELISA, fabriqué en Allemagne, et Chekit Echinotest®, créé par Desplazes et commercialisé par Idexx. Ce dernier test possède une sensibilité de 80 % et une faible spécificité, car les antigènes utilisés sont dirigés à la fois contre *Echinococcus granulosus* et *Echinococcus multilocularis*. Selon les études, la sensibilité de ces kits varie de 80 à 87 % et la spécificité de 70 à 99 % (Deplazes *et al.*, 1999) par rapport à la sédimentation, considérée comme méthode de référence. Ces valeurs varient selon la charge parasitaire (Craig *et al.*, 1995).

En effet, d'après des autopsies réalisées sur des chiens en Jordanie, El-Shehabi *et al.* (2000) ont noté que chez les chiens infestés, la charge parasitaire varie de 3 à 10 000 adultes présents dans le tube digestif. Dans cette étude, sur 13 chiens infestés, 8 chiens ont donné des résultats positifs à la détection des coproantigènes par la méthode ELISA. Ce qui donne une sensibilité de 61 %. En comparant ces résultats, à l'autopsie, il a été remarqué que la limite de détection des coproantigènes correspond à 20 parasites dans le tube digestif de l'animal. Sous ce seuil, la charge parasitaire est trop faible et le résultat est faussement négatif. Si seulement les chiens parasités avec respectivement plus de 20 et de 100 *Echinococcus* sont pris en compte, la sensibilité du test ELISA détectant les coproantigènes est augmentée à 88 et 100 %.

Les coproantigènes sont décelable 10 à 14 jours après l'infestation (Deplazes *et al.*, 1992) puis le taux d'antigènes détectables diminue en quelques jours (Augot, 2004) après l'expulsion des segments de cestodes dans les selles. Cette technique permet donc une détection précoce de l'infestation avant la production des segments dans les fèces, c'est-à-dire pendant la période prépatente puis le début de la période patente. Les coproantigènes d'*Echinococcus* détectés semblent avoir comme origine les vers adultes, ils sont associés au métabolisme du parasite (Allan *et al.*, 2003), ils ne sont pas liés à la structure de l'œuf. En effet, les coproantigènes disparaissent rapidement dès que les segments d'*Echinococcus* sont éliminés dans les selles.

La détection des coproantigènes d'*Echinococcus* par la méthode ELISA est une technique simple, rapide, peu chère, beaucoup moins dangereuse et plus éthique que l'autopsie. Les tests ELISA sont à réaliser de la manière suivante : il faut diluer 1 gramme de selles dans une solution fournie avec le kit, mettre à centrifuger le mélange à 3000 g pendant 10 minutes, récupérer le surnageant et réaliser le test. Les coproantigènes sont détectés grâce à des anticorps spécifiques, des immunoglobulines G. Ces anticorps anti-*Echinococcus*

granulosus sont dirigés contre les antigènes somatiques des vers ou bien contre les antigènes excréteur/sécréteur (E/S). Les anticorps dirigés contre ces derniers antigènes sont plus spécifiques et permettent de diminuer les réactions croisées avec les autres genres de cestodes (Deplazes *et al.*, 1992). Les anticorps spécifiques ont été obtenus par des prélèvements de sang sur des lapins hyperimmunisés. Les lapins ont reçu trois injections sous-cutanées d'antigènes d'*Echinococcus granulosus*. Les antigènes injectés ont été fabriqués à partir d'adultes d'*Echinococcus granulosus* récupérés directement dans l'intestin de chiens décédés.

Un résultat positif signifie que des antigènes d'*Echinococcus granulosus* (> 40 % Idexx) sont présents dans les selles au moment du test, l'infection est donc en cours. Il a été montré que les coproantigènes d'*Echinococcus* sont stables dans des fèces fraîches, sèches, conservées dans une solution formolé à 5 %, congelées ou conservées à 20°C dans l'environnement pendant une semaine (Craig, 1997). La congélation des matières fécales à – 20°C pendant plus d'un an conserve les coproantigènes (Jenkins *et al.*, 2000). La détection des coproantigènes d'*Echinococcus multilocularis* semble une alternative à l'autopsie pour la surveillance à grande échelle des renards (Raoul *et al.*, 2001).

Les tests ELISA sont uniquement genre spécifique (Craig *et al.*, 1995), cela signifie qu'ils peuvent fournir des résultats faussement positifs, cela s'explique par l'existence possible de réactions croisées avec *Dipylidium caninum* majoritairement ou d'autres *Taenide* spp. Pour pallier cette erreur éventuelle, une PCR devrait être réalisée sur les échantillons positifs en coproantigènes afin de confirmer qu'il s'agit bien d'*Echinococcus granulosus* et non d'une autre espèce (Eckert *et al.*, 2001).

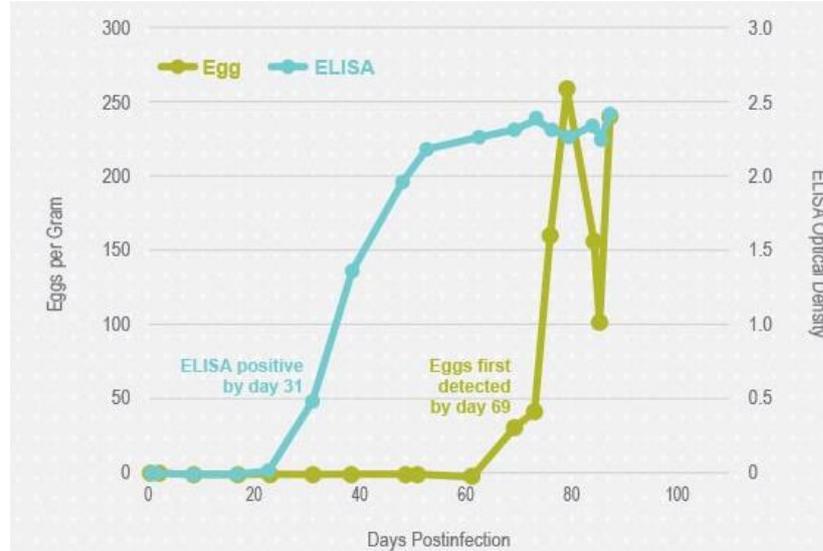
3. *Trichuris vulpis*

Elsemore *et al.* (2014) ont réalisé une étude aux États-Unis portant sur cinq chiens infestés expérimentalement par inoculation orale d'œufs de *Trichuris vulpis*. Des échantillons de selles ont ensuite été récoltés régulièrement, du jour de l'inoculation (J0) au jour du traitement antiparasitaire (J87). Les selles sont analysées par flottation et par le nouveau test ELISA détectant les coproantigènes de *Trichuris vulpis*. Les résultats sont présentés sur la figure 59. Il n'y a pas de réactions croisées avec *Capillaria sp*, la spécificité de ce test est donc bonne.

Les œufs de *Trichuris vulpis* sont observés pour la première fois dans les selles, 69 jours post-infestation. Trois résultats positifs à la flottation ont été constatés sur l'analyse de 5 selles de chiens à cette date avec une excrétion faible, moins de 100 œufs par gramme de fèces. Des œufs de *Trichuris vulpis* sont retrouvés dans les fèces des 5 chiens à partir du 73^{ème} jour post-infection et jusqu'au 89^{ème} jour post-infection. Aucun arrêt d'excrétion n'est noté durant cette période test.

Dès le 31^{ème} jour post-infection, un test ELISA détecte des coproantigènes de *Trichuris vulpis*. Les tests ELISA restent tous fortement positifs du 23^{ème} au 87^{ème} jour post-infection et même 8 jours après la mise en place du traitement. Le test ELISA permet donc une détection précoce.

Figure 59: Nombre d'œufs de *Trichuris vulpis* par gramme de fèces détecté par la méthode de flottation (vert) et intensité de la densité optique obtenue lors de la détection des coproantigènes de *Trichuris vulpis* par ELISA (bleu).



G. PCR

La détection d'ADN de divers parasites dans les selles (copro-ADN) des chiens et des chats infectés est réalisée par PCR (Polymerase Chain Reaction). C'est une méthode onéreuse qui est le plus souvent utilisée pour confirmer la détection de copro-antigènes par ELISA. Cette technique est également utilisée pour identifier précisément l'espèce d'un œuf de Taeniidés retrouvé dans les selles : *Echinococcus granulosus* versus *Echinococcus multilocularis* ou *Taenia* spp (Cabrera *et al.*, 2002). La copro-PCR permet de détecter l'ADN d'*Echinococcus granulosus* 21 jours avant l'élimination des segments dans les fèces.

Les oocystes de coccidies ne sont pas différenciables morphologiquement par les méthodes d'enrichissement. Il est donc impossible de distinguer *Toxoplasma gondii*, agent de zoonose de *Hammondia sp* ou de *Besnoitia* par l'observation microscopique des matières fécales de chat. C'est pourquoi, la PCR présente un grand intérêt, car elle permet de distinguer les différents organismes (Salant *et al.*, 2010). Pour diagnostiquer la toxoplasmose, la PCR peut également être réalisée sur des tissus, de l'humour aqueuse ou du liquide cérébro-spinal. De même, chez le chien, la PCR est la seule façon de distinguer *Neospora caninum*, d'*Hammondia heydorni* par analyse sur le liquide cérébro-spinal ou sur une biopsie musculaire.

La PCR est également très sensible (sensibilité de 94 %) pour rechercher *Tritrichomonas foetus*. Cette technique est utile lorsque les trophozoïtes n'ont pas été mis en évidence par observation directe au microscope ou après culture. De plus, elle présente l'avantage de pouvoir être réalisée sur des selles récoltées tardivement ou réfrigérées (Aurélien Grellet, congrès AFVAC Nantes 2013).

La PCR utilise des amorces spécifiques qui sont utilisées pour amplifier l'ADN. Après concentration des œufs ou des oocystes dans les selles, l'extraction de l'ADN est réalisée. Il y a deux étapes d'amplification de l'ADN comportant à chaque fois plusieurs étapes (dénaturation, hybridation, élongation) à diverses températures. L'ADN obtenu migre dans

un gel d'agarose pendant une heure. Des marqueurs sont présents afin de déterminer précisément le genre et l'espèce du parasite étudié. La PCR est la technique la plus sûre et avec une spécificité de 100 % (Augot, 2004). Cependant, cette méthode est réservée à quelques laboratoires spécifiques.

La PCR en temps réel permet d'obtenir un résultat quantitatif. Scanelis propose pour les chiens, une PCR pour les parasites *Giardia* et *Cryptosporidium* pour un prix de 67 € par envoi d'un écouvillon rectal. Chez Vebiotel, on trouve un pack PCR digestif comprenant la recherche d'ADN pour les agents pathogènes : *Giardia*, parvovirus et coronavirus pour les chiens à 100 € et *Giardia*, coronavirus, *Tritrichomonas foetus* et *Cryptosporidium* à 115 € pour les chats. D'autres laboratoires d'analyses incluent dans le panel félin la recherche de *Toxoplasma gondii* et du virus responsable de la panleucopénie (typhus). Chez le chien, il est possible de rajouter la recherche de l'ADN de bactéries responsable des troubles digestifs comme *Clostridium perfringens* entérotoxine A et *Salmonella* spp. La PCR en temps réel permet donc de détecter l'ADN de différents agents infectieux (parasites, virus, bactéries) responsables de diarrhées.

La réaction de polymérisation en chaîne peut échouer dans l'amplification de l'ADN de *Giardia* dans environ 20 % des cas (Tangtrongsup et Scorza, 2010), cela peut s'expliquer par la présence d'inhibiteurs dans les selles. La PCR est actuellement recommandée exclusivement pour évaluer l'assemblage (A à G) de *Giardia duodenalis* chez le chien et le chat ainsi que pour génotyper les souches (Scorza *et al.*, 2009). De même, la recherche d'ADN d'*Aelurostrongylus abstrusus* dans les selles des chats est difficile, car l'extraction de l'ADN dans les fèces est laborieuse et les matières fécales contiennent des inhibiteurs de PCR. C'est pourquoi la recherche d'ADN de ce parasite est réalisée sur un prélèvement pharyngé (Traversa *et al.*, 2008).

CONCLUSION DE LA PREMIÈRE PARTIE

Lors de suspicion épidémiologique (jeune animal, vie en collectivité) et/ou clinique (troubles digestifs : diarrhées ; amaigrissement) de parasitose, la coproscopie demeure l'examen de choix pour mettre en évidence les éléments parasitaires. Les œufs de nématodes (tels que ceux de *Toxocara* spp) et les oocystes de coccidies sont aisément repérables par les techniques d'enrichissement. Les kystes de *Giardia* sont plus difficilement reconnaissables du fait de leur petite taille et de leur confusion possible avec des débris végétaux. Pour les identifier, un œil expérimenté est nécessaire. La coloration au lugol aide leur mise en évidence ainsi que l'immunofluorescence. Cependant, cette dernière technique n'est disponible que dans les laboratoires spécialisés. Les larves de nématodes sont repérées par la technique de Baermann réalisée sur des matières fécales fraîches. Différents tests rapides utilisant la technique de flottation ou de sédimentation sont commercialisés pour mettre en évidence les éléments parasitaires dans les selles des carnivores domestiques et des lagomorphes.

L'excrétion intermittente de certains éléments parasitaires (kystes de *Giardia*, larves de nématodes...) est un élément majeur à prendre en compte. De plus, durant la période prépatente, les œufs et kystes ne sont pas repérables dans les selles.

C'est pourquoi, une technique ELISA détectant les coproantigènes libres, non liés aux éléments parasitaires a été développée (SNAP *Giardia*® et détection de coproantigènes de *Trichuris vulpis*, Idexx) permettant un diagnostic plus précoce et révélant une infestation active. La technique PCR donne également des résultats très fiables pour identifier les différentes espèces de parasites digestifs.

DEUXIÈME PARTIE : ÉVALUATION DE L'URANOTEST COPRO®

Introduction et objectif

Parmi les techniques coproscopiques décrites dans la première partie, il existe plusieurs tests rapides pour détecter la présence de parasites chez les carnivores domestiques. Il est possible de répartir ces tests en deux groupes : les tests coproscopiques proprement dits et les tests détectant les coproantigènes spécifiques. Le kit Uranotest copro® étudié dans cette partie, fait partie de la première catégorie.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité du kit Uranotest copro® pour la détection des œufs et kystes de parasites en le comparant à la flottation au sulfate de Magnésium et à la sédimentation di-phasique utilisées au laboratoire de Parasitologie à l'EnvA. Cette analyse permettra de déterminer la place et l'utilité de ce test en pratique vétérinaire canine.

Pour réaliser cette étude expérimentale, le laboratoire Novartis Santé Animale a fourni 100 kit Uranotest copro® au laboratoire de Parasitologie de l'EnvA.

I. Matériel et méthodes

A. Animaux et prélèvements fécaux

Au total, 99 échantillons de matières fécales ont été examinés. Ces échantillons proviennent d'animaux présentés au Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort (CHUVA) ou dans des cliniques vétérinaires d'Île-de-France. Les matières fécales proviennent de diverses espèces : 74 chiens, 18 chats, 2 furets et 5 lapins (figure 60). La population analysée est diversifiée en terme d'âge : de 1 mois à 7 ans. Cependant, pour plusieurs échantillons l'âge des animaux n'a pas été renseigné. La population analysée est localisée à la région Île-de-France. Certains échantillons proviennent de chiens d'élevage (chiots et adultes) notamment pour les prélèvements récupérés par l'Unité de Médecine de l'Élevage et du Sport (UMES) de l'EnvA. Des échantillons proviennent également du service de Médecine (consultation de gastro-entérologie) de l'EnvA : les fèces prélevés appartiennent à des chiens ou des chats présentant divers signes cliniques, le plus souvent de la diarrhée, mais également une atteinte de l'état général avec un amaigrissement et une dysorexie ou un retard de croissance. Le service des nouveaux animaux de compagnie de l'école envoie également au laboratoire de Parasitologie des matières fécales de furets ou de lapins. Enfin, certains échantillons proviennent du service de médecine préventive de l'EnvA. La provenance des échantillons de selles est présentée sur la figure 61.

Figure 60 : Répartition des échantillons de selles selon les espèces

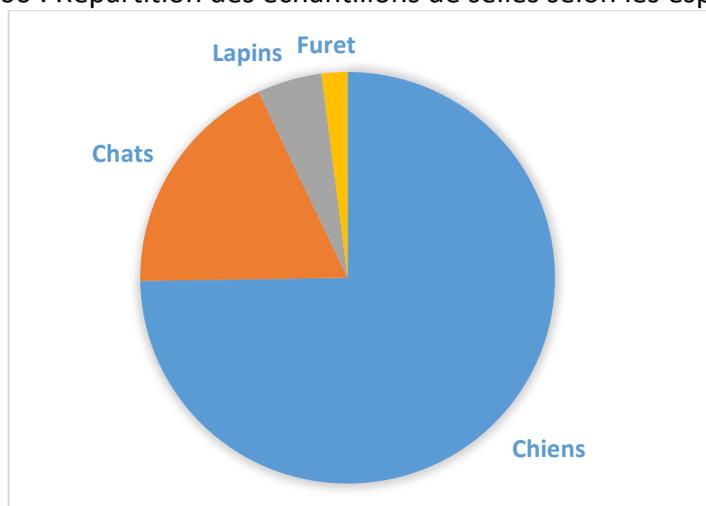
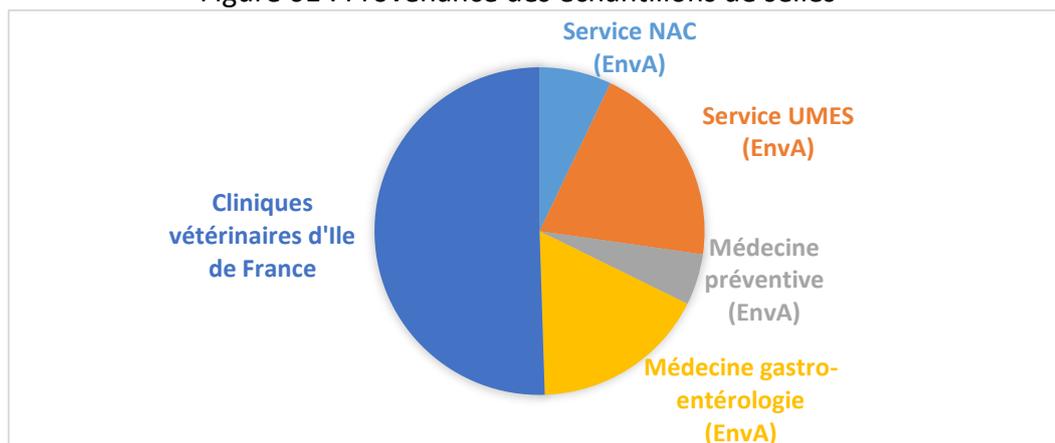


Figure 61 : Provenance des échantillons de selles



B. Analyses coproscopiques de référence

Les échantillons reçus au laboratoire de Parasitologie de l'EnvA sont d'abord étudiés par les méthodes classiques, c'est-à-dire par flottation totale (encadré 1) utilisant une solution de sulfate de Magnésium à saturation (densité de 1,28) et une flottation quantitative par la méthode de Mac-Master (encadré 2). Cette technique de flottation permet de détecter les œufs de nématodes (principalement *Toxocara canis*, *Toxocara cati*, *Trichuris vulpis*, *Uncinaria stenocephala* et *Ancylostoma caninum*), et les oocystes des coccidies (*Isospora* spp). En parallèle, une sédimentation di-phasique (encadré 3) est réalisée afin de mettre en évidence les kystes de *Giardia*. L'association flottation et sédimentation a un coût de 25 €. Les échantillons ont été conservés au réfrigérateur pour une durée ne dépassant pas 3 semaines afin d'être analysés ultérieurement avec le kit Uranotest copro®.

Encadré 1.

Protocole de flottation totale

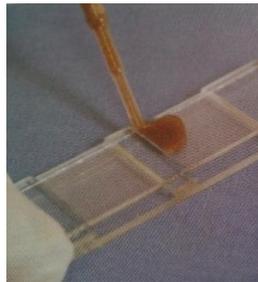
- Peser 5 g de matière fécale dans une éprouvette graduée.
- Ajouter 75 mL de sulfate de Magnésium ($d = 1,28$) afin de diluer les selles. Agiter à l'aide d'une baguette en verre en tournant régulièrement et en évitant de créer des bulles d'air.
- Filtrer avec une passoire sur un verre à pied afin d'éliminer les gros débris.
- Récupérer le liquide dans le verre à pied et le verser dans un tube fin de Falcon jusqu'à la limite supérieure. Poser une lamelle en haut du tube. Laisser reposer 10 à 20 minutes.
- Mettre la lamelle sur une lame et réaliser la lecture au microscope.

Encadré 2.

Méthode de Mac-Master

- À l'aide d'un compte-goutte, récupérer dans le verre à pied la suspension de matière fécale (obtenue pour la flottation totale) et remplir les cellules de Mac-Master, comme présenter sur la figure 62. Laisser reposer 10 minutes, le temps que les œufs remontent à la surface. Mettre la lame sous le microscope et compter les éléments parasitaires dans la grille de lecture à l'objectif 10.

Figure 62 : Remplissage d'une lame de Mac-Master (Beugnet *et al.*, 2008)



Encadré 3.

Méthode de sédimentation di-phasique

- Peser 0.5 g de fèces dans une éprouvette.
- Ajouter 10 mL de formol à 10 % sous la hotte. Mélanger.
- Attendre 3 à 5 minutes, filtrer à l'aide d'une passoire avec deux épaisseurs de gaze.
- Récupérer 7 mL de la solution selles/formol filtrée.
- Ajouter 3 mL d'éther, puis agiter. Les éléments lipidiques se positionnent au niveau de l'éther, ce qui permet de dégraisser le prélèvement.
- Centrifuger à 3000 tours/min pendant 5 minutes.
- Les trois phases supérieures (éther, débris et formol) sont éliminées. Seul le culot contenant les kystes de protozoaires (*Giardia* et coccidies) est gardé. Il est récupéré à l'aide de l'embout d'une pipette Pasteur et déposé entre lame et lamelle.
- La lecture est réalisée au microscope à l'objectif 40.

C. Le kit Uranotest copro®

Ce kit est constitué par un flacon cylindrique contenant 7 mL d'une solution de conservation muni d'un bouchon conique comportant un filtre avec des pores de 260 µm ainsi que trois cuillères pour effectuer les prélèvements. La solution de conservation (Grenfix®) contient de l'eau, du colorant vert, du propylène glycol (d = 1,04), du phosphate de Sodium (d = 1,62) et du polysorbate (d = 1,06-1,09). Ce dernier composant est tensio-actif. Ces composants ne sont pas nocifs pour l'environnement. Ils permettent une conservation des selles durant 15 jours à température ambiante et préservent la forme des œufs et des oocystes. Le filtre permet de laisser passer les œufs, les kystes et les larves mais pas les gros débris, afin de rendre plus aisée la lecture. L'emballage en carton est composé d'une pièce arrondie détachable afin de pouvoir servir de support pour le flacon retourné. Un flacon de lugol est fourni pour 50 kits. L'Uranotest copro® est censé être réalisé par deux intervenants : le propriétaire puis le vétérinaire.

Encadré 4.

Préparation du kit Uranotest copro®

- Ouvrir le flacon avec précaution, pour ne pas renverser de liquide.
- Récouter 2 à 3 mesures de selles à l'aide de la cuillère en plastique fournie. Si les selles sont bien moulées, il est préconisé d'utiliser le côté conique de la cuillère pour les récolter. Cependant, si les selles sont liquides, utiliser l'autre côté de la cuillère. Si les matières fécales sont ramassées sur 3 jours, il est recommandé de ramasser une dose par jour avec une cuillère différente à chaque fois.
- Déposer les matières fécales au centre du pot en mixant et en faisant des mouvements de rotation avec le côté de la cuillère creuse qui s'emboîte dans le fond du flacon contenant un morceau de plastique en forme de pyramide. Mélanger jusqu'à obtenir une solution homogène.
- Bien refermer le flacon, puis l'apporter au cabinet vétérinaire. Le flacon peut être conservé à température ambiante, entre 15 et 30 °C jusqu'à 15 jours, à l'abri de la lumière. Il n'est pas recommandé de conserver l'échantillon au réfrigérateur pour des raisons de commodité et d'hygiène.



Encadré 5.

Réalisation de l'Uranotest copro®

- Retirer le capuchon vert avant d'agiter et appliquer une légère pression sur le flacon afin de libérer le gaz contenu à l'intérieur. Maintenir la pression sur le flacon en remettant le bouchon pour éviter les fuites de liquides.
- Mélanger vigoureusement le flacon jusqu'à obtenir une solution homogène. Puis, rouvrir le bouchon.
- Mettre le flacon ouvert à l'envers sur le support en carton prévu pour cette étape. Laisser sédimenter 15 minutes.
- Après les 15 minutes, déposer une goutte du mélange fécal obtenu sur une lame porte-objet puis y ajouter une goutte du colorant lugol. Mélanger les deux gouttes. Apposer une lamelle puis observer au microscope.



- Pour chaque échantillon de selles, deux lames sont réalisées avec la première puis la deuxième goutte de la solution de matière fécale obtenue. Dans le cadre de ma thèse vétérinaire, j'ai lu tous les échantillons puis les résultats ont été confirmés par une personne expérimentée (un membre du laboratoire de Parasitologie de l'EnvA).

II. Résultats

Le détail des résultats est présenté en annexe 13.

Au total, du 3 avril 2014 au 5 mars 2015, 99 échantillons ont été analysés par les techniques de référence du laboratoire de Parasitologie de l'EnvA. Soixante-dix-huit échantillons se sont révélés positifs, c'est-à-dire qu'au moins un œuf de nématode ou un kyste de coccidie a été observé au microscope. Vingt et un échantillons se sont révélés négatifs.

A. Résultats de l'Uranotest copro® pour les échantillons positifs

Sur les 78 échantillons positifs par les méthodes de coproscopie de référence. 71 échantillons ont été analysés par l'Uranotest copro®. Sept échantillons n'ont pas été pris en compte dans l'étude, car les Uranotest copro® ont été réalisés trop tardivement, plus de 3 semaines après réception (et conservation) des selles. Sur les 71 échantillons positifs par les méthodes de référence, 46 se sont révélés positifs avec l'Uranotest copro®. Soit une sensibilité globale moyenne relative à la méthode de référence utilisée, tous parasites confondus, de 65 %.

Sur les 71 prélèvements positifs par les méthodes de référence, 49 ont révélé un résultat positif à la méthode de flottation et 22 à la méthode de sédimentation, comme présenté sur le tableau 4.

Tableau 4 : Nombre de prélèvements positifs avec les méthodes de références et résultats de l'Uranotest copro® pour ces échantillons

Méthode coproscopique de référence	Flottation	Sédimentation	Total
Nombre de prélèvements positifs	49	22	71
Résultats positifs à l'Uranotest copro®	34	12	46

B. Résultats de l'Uranotest copro® pour les échantillons négatifs

Au total, vingt et un échantillons se sont révélés négatifs par les méthodes coproscopiques de référence (annexe 12). Aucun élément parasitaire n'a été retrouvé dans ces vingt et un échantillons en utilisant le kit Uranotest copro®. La spécificité de l'Uranotest copro® (relative à la méthode de référence utilisée) est donc de 100 %.

C. Détail des résultats en fonction des parasites détectés

1. *Giardia duodenalis*

La méthode de sédimentation diphasique a permis de sélectionner vingt-quatre échantillons pour lesquels des kystes de *Giardia* étaient présents. Deux échantillons ont été exclus de l'étude, car ils étaient conservés depuis plus de vingt et un jours au réfrigérateur. Il y a donc eu vingt-deux échantillons analysés par l'Uranotest copro® pour rechercher des kystes de *Giardia*. Ces échantillons provenaient de 17 chiens et 5 chats (annexe 13). Sur le total des échantillons analysés, douze se sont révélés positifs avec l'Uranotest copro® (figure 63). Le kit Uranotest copro® affiche donc une sensibilité globale pour la détection des kystes de *Giardia* de 55 % et une spécificité de 100 % (tableau 5). Il n'y a pas de faux positifs. Le kit Uranotest copro® révèle dix faux négatifs (tableau 6). Ces faux négatifs sont essentiellement présentés lorsque les échantillons de selles présentent une faible quantité de kystes de *Giardia* (rares ou quelques-uns).

Figure 63 : Échantillons positifs pour *Giardia* avec la méthode de référence d'une part et l'Uranotest copro® d'autre part

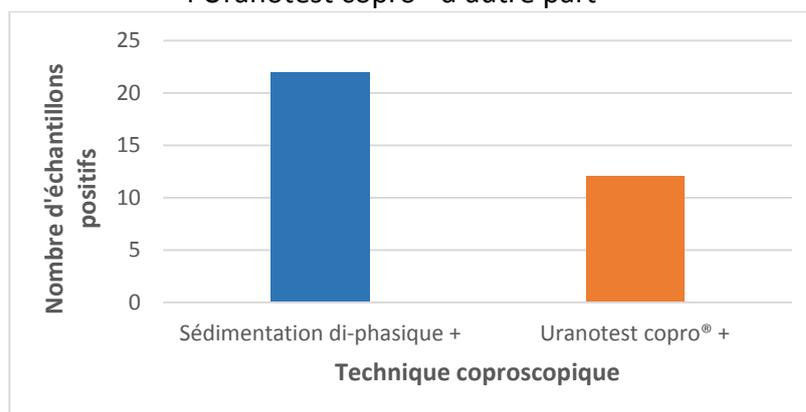


Tableau 5 : Sensibilité et spécificité de l'Uranotest copro® pour la détection des kystes de *Giardia*, relatives à la méthode de référence (sédimentation di-phasique)

Sensibilité de l'Uranotest copro®	55 %
Spécificité de l'Uranotest copro®	100 %

Tableau 6: Nombre d'échantillons positifs et négatifs à la méthode de sédimentation diphasique et à l'Uranotest copro®

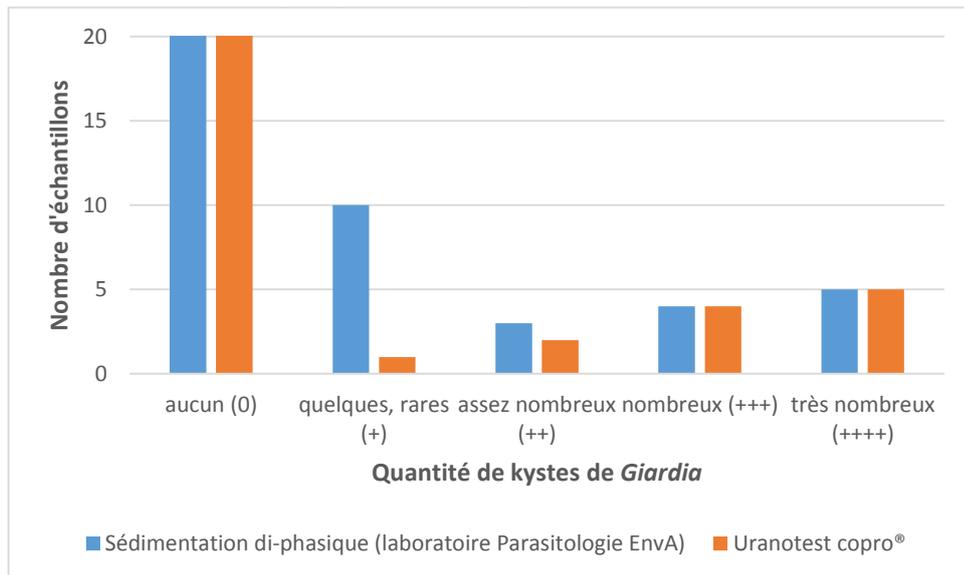
	Sédimentation diphasique positive	Sédimentation diphasique négative	Total
Uranotest copro® +	12	0	13
Uranotest copro® -	10	21	31
Total	22	21	44

Le nombre de kystes de *Giardia* est variable. Lorsque 1 à 4 kystes de *Giardia* sont observés sur la lame après la technique de sédimentation, l'indication suivante est reportée sur la feuille de réponse : « De rares ou quelques kystes de *Giardia* ». Les kystes assez nombreux correspondent à la visualisation au microscope d'un kyste tous les 8 champs. Les kystes nombreux correspondent à 20 à 40 kystes visualisés par lames. La qualification de très nombreux kystes correspond à plus de 40 kystes par lames, soit tous les champs. Le détail du nombre de kystes présents initialement dans l'échantillon d'après la sédimentation (méthode de référence utilisée) est présenté sur le tableau 7 et la figure 64.

Tableau 7 : Répartition des échantillons selon la quantité de kystes de *Giardia* observée au microscope après la technique de sédimentation.

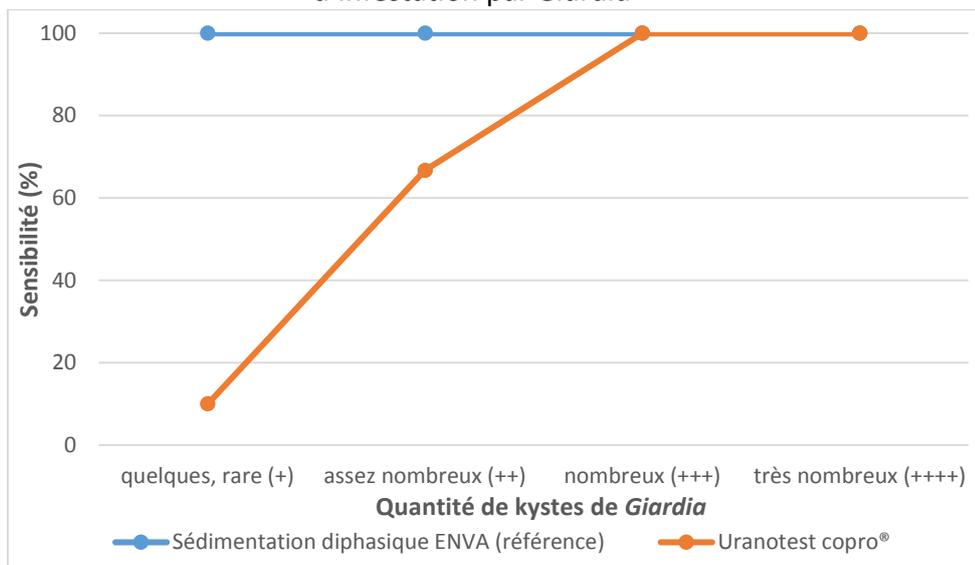
Quantité de kystes de <i>Giardia</i> observée par examen microscopique après sédimentation	Sédimentation di-phasique (Unité Parasitologie EnvA)	Uranotest copro®
aucun (0)	21	21
quelques, rares (+)	10	1
assez nombreux (++)	3	2
nombreux (+++)	4	4
très nombreux (++++)	5	5

Figure 64 : Répartition des échantillons selon la quantité de kystes de *Giardia* observés au microscope après la technique de sédimentation.



Pour des matières fécales avec de nombreux ou très nombreux kystes de *Giardia*, la sensibilité est de 100 % (figure 65).

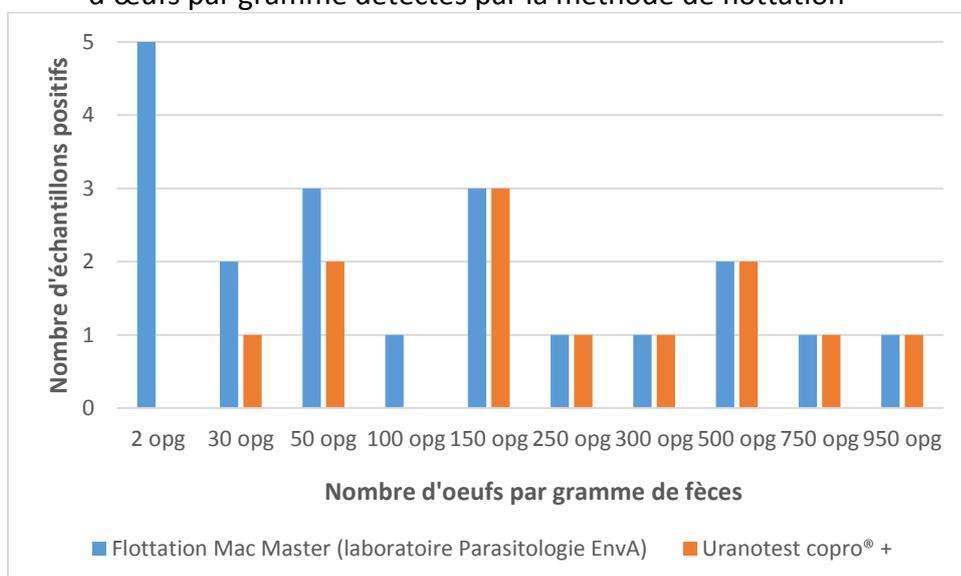
Figure 65 : Évolution de la sensibilité du kit Uranotest copro® en fonction du degré d'infestation par *Giardia*



2. *Toxocara* spp

Vingt échantillons positifs pour *Toxocara* par la méthode de flottation quantitative par Mac-Master ont été analysés avec l'Uranotest copro®. Dix-sept échantillons de matières fécales de chiens et trois échantillons de matières fécales de chats (annexe 14). Sur les vingt échantillons étudiés par l'Uranotest copro®, des œufs de *Toxocara* ont été retrouvés sur douze d'entre eux, soit une sensibilité de 60 % pour la toxocarose et une spécificité de 100 %. Les œufs de *Toxocara* sont facilement identifiables sur les lames réalisées par l'Uranotest copro®. Si le seuil pour *Toxocara* est supérieur ou égal à 150 opg, les œufs sont systématiquement retrouvés (figure 66). Cependant, l'Uranotest copro® est moins sensible quand le nombre d'œufs de *Toxocara* est plus faible.

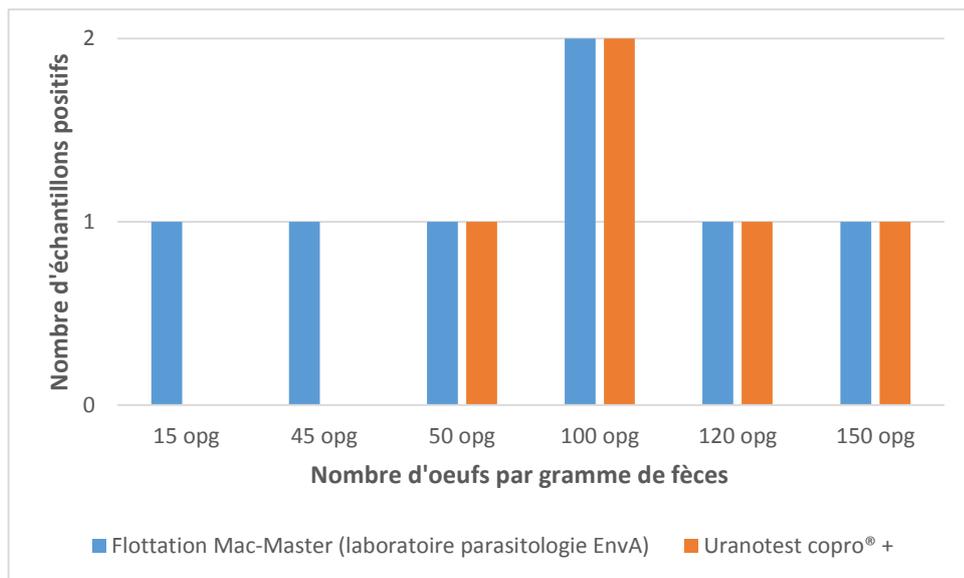
Figure 66 : Répartition des échantillons positifs pour *Toxocara* en fonction du nombre d'œufs par gramme détectés par la méthode de flottation



3. *Trichuris vulpis*

Sept échantillons positifs pour *Trichuris vulpis* par la méthode de flottation quantitative Mac-Master ont été analysés par l'Uranotest copro® (annexe 15). Le test a permis de détecter des œufs de *Trichuris vulpis* sur cinq prélèvements de matières fécales, parmi les sept infectés. Les œufs sont facilement identifiables. Si le seuil de *Trichuris vulpis* est supérieur à 50 opg de fèces, les œufs sont systématiquement retrouvés (figure 67). Cependant, l'Uranotest copro® semble moins sensible quand le seuil est inférieur.

Figure 67 : Répartition des échantillons positifs à *Trichuris vulpis* en fonction du nombre d'œufs par gramme détectés par la méthode de flottation du laboratoire de Parasitologie de l'EnvA.



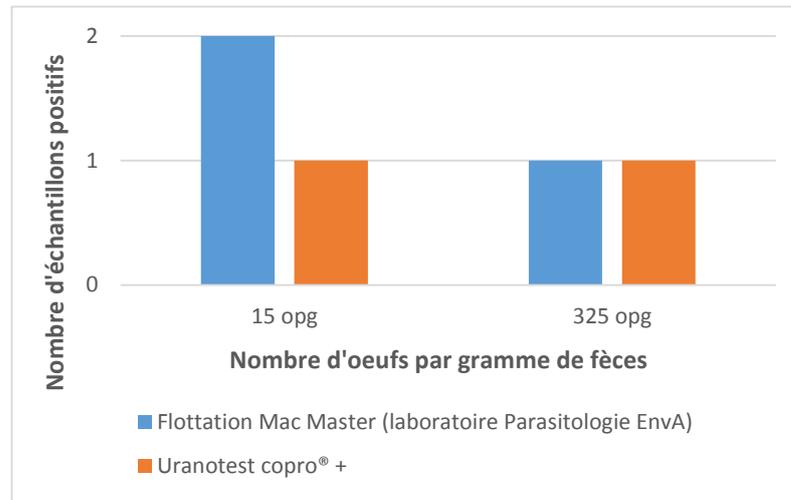
4. *Capillaria aerophila*

Un seul échantillon contenant des œufs de *Capillaria aerophila* s'est révélé positif par la méthode de flottation. La méthode de Mac-Master a révélée 30 opg pour cet échantillon provenant d'un labrador de sept ans. Les œufs n'ont pas été retrouvés avec l'Uranotest copro®.

5. Strongles digestifs

Cinq échantillons contenant des œufs de strongles digestifs, *Uncinaria* ou *Ancylostoma* se sont révélés positifs en utilisant la méthode de flottation. Cependant, deux échantillons ont été exclus de l'étude, car l'analyse par l'Uranotest copro® a été réalisée trop tardivement, 2 mois et demi après une conservation des échantillons de selles au réfrigérateur. Ces échantillons ont été retirés de l'étude, car ils risquaient de donner des résultats faussement négatifs dûs à la conservation trop longue, ne respectant pas les recommandations de l'Uranotest copro®. Trois échantillons positifs en strongles digestifs ont donc été analysés (figure 68). Sur les deux échantillons contenant 15 opg d'*Uncinaria*, un échantillon a donné un résultat positif par l'Uranotest copro® (2 œufs ont été repérés sur la lame). Un autre échantillon contenant 325 opg s'est révélé positif également par l'Uranotest copro® car un œuf d'*Ancylostoma* a été observé.

Figure 68 : Répartition des trois échantillons positifs en strongles digestifs par la technique de flottation en fonction du nombre d'œufs par gramme de fèces selon les deux techniques coproscopiques utilisées.

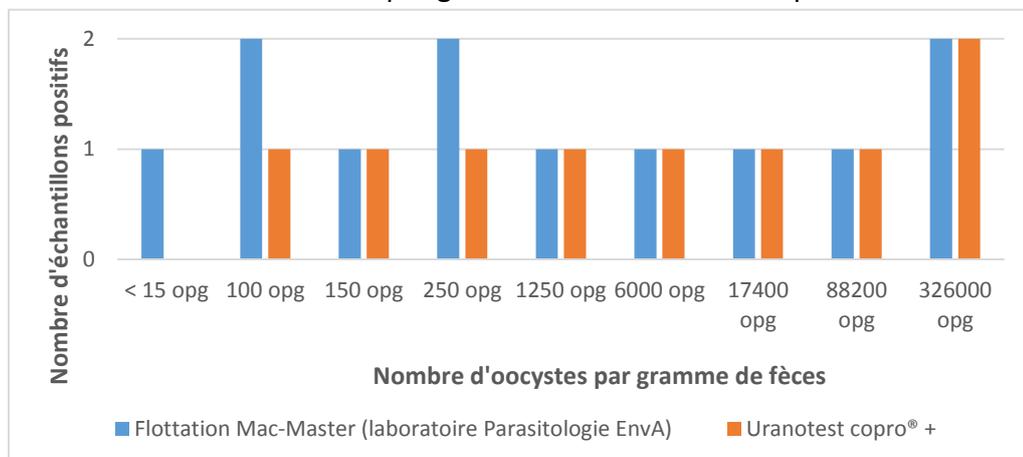


6. Coccidies

6.1. Coccidies du chien ou du chat

Pendant la période de l'étude, des oocystes de coccidies du genre *Isospora* ont été mis en évidence dans 15 échantillons de matières fécales de chiens et de chats. 3 échantillons ont été exclus de l'étude car ils ont été analysés trop tardivement (plus de 2 mois après une conservation au réfrigérateur). 12 échantillons ont finalement été retenus pour l'étude comparative : 10 provenant de fèces de chiens et 2 de fèces de chats. Le nombre d'oocystes retrouvés par Mac-Master varie de moins de 15 opg à 326 000 opg (figure 69 et annexe 16). Au total, sur les 12 échantillons positifs par flottation, neuf se sont également révélés positifs avec l'Uranotest copro®, soit une sensibilité de 75 % et une spécificité de 100 %. Les 3 échantillons négatifs avec l'Uranotest copro® comportaient un faible nombre d'oocystes d'*Isospora*.

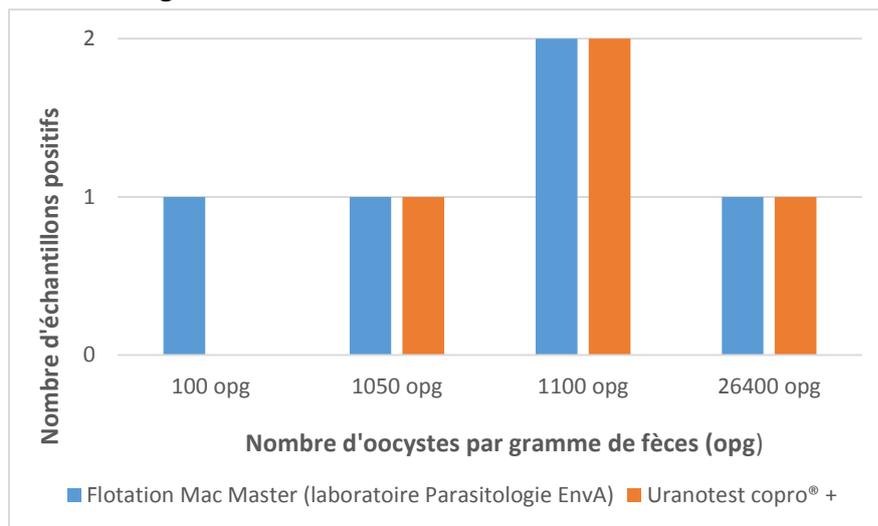
Figure 69 : Répartition des échantillons positifs à *Isospora* chez les chiens et les chats en fonction du nombre d'œufs par gramme de fèces observés par flottation.



6.2. Coccidies du lapin

Cinq échantillons de selles de lapins ont été étudiés par flottation au sulfate de Magnésium et par l'Uranotest copro®. Cinq échantillons se sont révélés positifs par flottation avec des seuils variant de 100 à 26 400 opg (figure 70 et annexe 17). 4 échantillons se sont révélés positifs avec l'Uranotest copro®. Le seul échantillon négatif avec l'Uranotest copro® contenait une faible quantité d'oocystes de coccidies (100 opg d'*Eimeria magna*).

Figure 70 : Répartition des échantillons positifs aux coccidies selon le nombre d'œufs par gramme de fèces observés à la flottation



6.3. Coccidies du furet

Deux échantillons de matières fécales de furet ont été analysés par flottation au sulfate de Magnésium et par l'Uranotest copro®. Tous les échantillons se sont révélés positifs par les deux méthodes employées. L'échantillon d'une furette de 2 ans a révélé sept oocystes d'*Isoospora laidloui* sur la lame de Mac-Master soit 500 opg. Sur cet échantillon, 13 et 16 oocystes d'*Isoospora laidloui* ont été dénombrés sur les lames après la réalisation de l'Uranotest copro®, sur la première goutte et deuxième goutte, respectivement. Le deuxième échantillon de matières fécales de furet a révélé quatorze oocystes d'*Isoospora* sur la lame de Mac-Master soit 600 opg. L'Uranotest copro® a révélé plus de 20 oocystes d'*Isoospora* sur la première goutte et plus de 60 oocystes sur la deuxième goutte.

D. Résultats des différents parasites retrouvés chez le chat

Un résultat positif a été constaté sur 11 selles de chats à la flottation au sulfate de Magnésium ou à la sédimentation di-phasique. Ces 11 selles ont été analysées par l'Uranotest copro® et, sur 7 d'entre elles, des œufs ou des kystes de parasites ont été retrouvés (figure 71). Si l'on s'intéresse plus particulièrement aux kystes de *Giardia* retrouvés par sédimentation sur 5 selles de chats, on remarque que quand les kystes sont retrouvés en quantité abondante, ils sont systématiquement retrouvés par l'Uranotest copro® (figure 72).

Figure 71 : Répartition des différents parasites digestifs retrouvés dans les fèces de chats

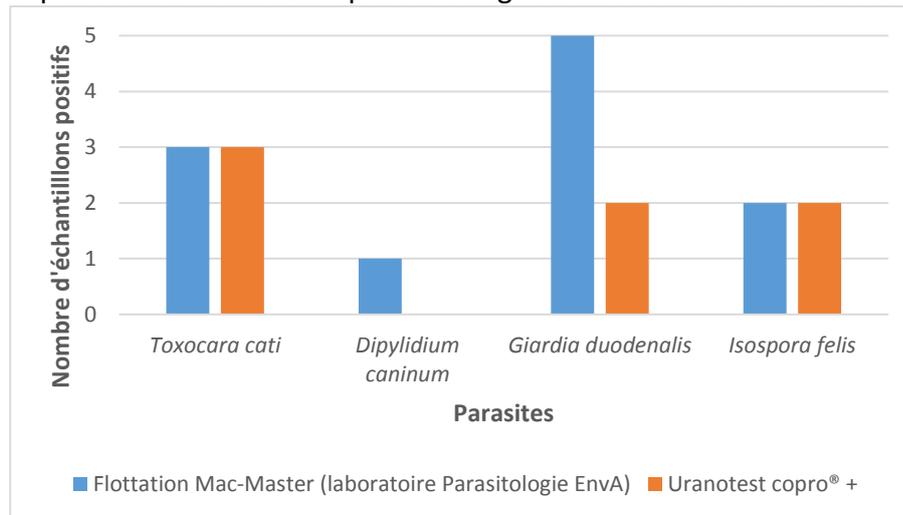
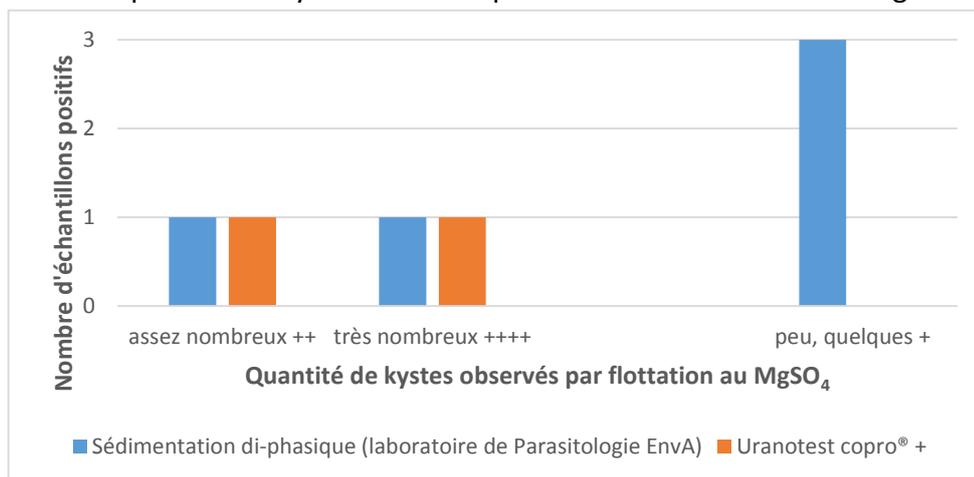


Figure 72 : Répartition des échantillons positifs pour *Giardia duodenalis* chez le chat en fonction de la quantité de kystes observés par flottation au sulfate de Magnésium.

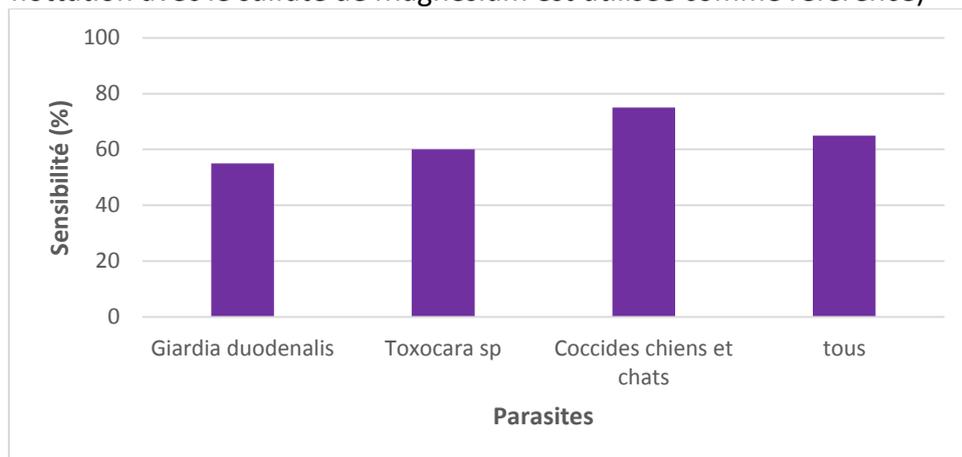


III. Discussion

A. Sensibilité

La sensibilité globale de l'Uranotest copro[®], tous parasites et espèces confondus est de 65 %. La sensibilité varie selon les types de parasites recherchés (figure 73). La sensibilité est bonne pour les coccidies, elle est de 75 % pour *Isopora sp* chez les chiens et les chats.

Figure 73 : Sensibilité de l'Uranotest copro[®] en fonction des parasites (la technique de flottation avec le sulfate de Magnésium est utilisée comme référence)



Pour les kystes de *Giardia*, la sensibilité demeure très faible (55 %). Cette valeur peut s'expliquer de plusieurs façons. Tout d'abord, les kystes de *Giardia* sont difficiles à repérer sur la lame de l'Uranotest copro[®], car ils sont de petite taille et peu colorés. En effet, lors de l'observation des échantillons, il a été remarqué que le lugol colorait très faiblement les kystes de *Giardia*. De plus, lors de l'observation microscopique de la première goutte de l'Uranotest copro[®], la lecture était souvent rendue difficile par la grande quantité de débris contenue dans les selles et une confusion est possible avec des débris végétaux. Cependant, pour des matières fécales avec de nombreux ou très nombreux kystes de *Giardia* observés à la sédimentation, la sensibilité de l'Uranotest copro[®] est de 100 % (figures 65 et 66). L'Uranotest copro[®] donne donc des résultats fiables quand l'animal excrète beaucoup de kystes, mais n'est pas un bon test quand l'excrétion est faible. Un résultat négatif avec l'Uranotest copro[®] ne permet donc pas d'exclure une giardiose car de nombreux faux négatifs existent notamment quand l'excrétion des kystes dans les matières fécales de chiens et de chats est faible. Pour détecter les kystes de *Giardia*, il est donc intéressant de répéter le test coproscopique quelques jours plus tard ou de compléter l'analyse coprologique par la réalisation d'un test détectant les coproantigènes spécifiques de *Giardia*.

La sensibilité varie si l'on prend en compte l'observation des deux lames (gouttes 1 et 2) ou d'une seule lame. En effet, la sensibilité globale de détection des *Giardia* par observation des deux lames est de 55 % alors que si l'on observe une seule lame, la sensibilité diminue à 45 %. Il en est de même pour les autres parasites. Pour *Isospora sp* chez les chiens et les chats, la sensibilité de l'Uranotest copro[®] est de 75 % par l'observation des deux lames, elle diminue à 67 % si une seule lame est lue. La lecture des deux lames est donc justifiée. La première goutte de l'Uranotest copro[®] était souvent chargée en débris engendrant une lecture difficile. Cependant, sur des échantillons de selles peu riches, la

lecture de cette première goutte était utile, car elle donnait parfois un résultat positif alors que la deuxième goutte était négative.

B. Spécificité

La spécificité de l'Uranotest copro® est de 100 % pour tous les parasites, cela signifie qu'aucun animal négatif à la méthode de référence utilisée n'est positif au test de coproscopie. Cependant, dans notre étude, il existe sans doute un biais. On peut en effet imaginer que le fait de savoir par avance que l'échantillon était négatif a influencé la manière d'observer la lame. Il est fort probable que les lames provenant d'échantillons négatifs aient été observées plus rapidement et avec moins d'attention que celles provenant d'échantillons positifs (par la méthode de référence). A titre d'information, s'il y a une erreur de classement dans l'analyse des 21 échantillons négatifs, sur un ou deux échantillons, la spécificité diminue de 100 % à 95 % et 91 % respectivement. Il aurait été intéressant de procéder à une étude en aveugle, en identifiant les lames puis en recouvrant les identifications, les mélanger et les retester.

C. Reproductibilité

Il aurait également été intéressant d'étudier la reproductibilité inter-opérateur en utilisant le coefficient kappa. Cela aurait permis de comparer les résultats des lectures représentant un vétérinaire ayant une expérience de base en termes d'observation coproscopique à celui d'un spécialiste en Parasitologie.

D. Comparaison de l'Uranotest copro® aux méthodes de référence et aux autres techniques coprologiques.

Tableau 8 : Comparaison de l'Uranotest copro® aux méthodes de référence

Technique coprologique	Coût	Sensibilité	Durée de réalisation	Avantages	Inconvénients
Uranotest copro®	3 €	Variable selon les parasites, moyenne (65 %) tous parasites confondus, mauvaise (55 %) pour <i>Giardia</i> , bonne (75 %) pour les coccidies	25-30 min	Prix, sensibilité pour les coccidies, pas de matériel nécessaire, simplicité, détecte la majorité des parasites, éléments parasitaires bien conservés pendant 15 jours	Difficulté de détection des kystes de <i>Giardia</i> et ne pallie pas le problème d'excrétion intermittente, assez long
Flottation au sulfate de Magnésium (d = 1,28)	25 €	Mac-Master : 15 opg	20 min	Détecte la plupart des parasites. Quantification possible avec Mac-Master	Nécessite du matériel : éprouvette, liquide de flottation, balance, tubes... Pas de mise en évidence des œufs lourds, peu adapté à la recherche de larves, déformation des éléments parasitaires possible lors de solution de densité élevée
Sédimentation di-phasique		Moyenne	20 min	Facilite le repérage des kystes de <i>Giardia</i> et des œufs lourds	Nécessite une hôte et une centrifugeuse, débris

Tableau 9 : Comparaison des autres techniques coprologiques

Technique coprologique	Coût	Sensibilité	Durée de réalisation	Avantages	Désavantages
Examen direct	Faible	Mauvaise	Rapide 5 min	Simple, très rapide et peu cher	Très peu sensible, beaucoup de débris
FLOTAC		Très bonne : 1 opg	Long	Très sensible, détecte les larves	Étapes complexes, deux centrifugations
Mini-FLOTAC	9 €	Bonne : 10 opg	Rapide 15-20 min	Simple, rapide (pas d'étapes de centrifugations), rapide, peu cher (matériel réutilisable)	Débris
Technique de Baermann (sédimentation)	15 €	Bonne	Long	Facilité de réalisation et d'identification, peu de débris, peu cher	Uniquement sur des laves vivantes donc sur des selles très fraîches (moins de 1h)
Immunofluorescence		bonne		Identification aisée grâce à la coloration de la paroi des kystes de <i>Giardia</i>	microscope à fluorescence nécessaire, détecte uniquement les kystes de <i>Giardia</i>
Coproantigènes	6,80 à 12,20 €	bonne	Rapide (10 min)	Pallie l'excrétion intermittente des éléments parasitaires. Détection possible pendant la période prépatente. Détecte une infection en cours.	Ne détecte qu'un seul type de parasite
PCR	100 €	++++		Très bonne sensibilité. Distinction des différentes espèces de Taenidés et de coccidies	Inhibiteur de PCR dans les selles (<i>Aelurostrongylus abstrusus</i>)

CONCLUSION DE LA DEUXIÈME PARTIE

L'Uranotest copro® est un test coproscopique qui a l'avantage de détecter plusieurs types d'éléments parasitaires avec une sensibilité variable selon les espèces. Il faut compter 25 à 30 minutes pour la réalisation complète du test dont 3 minutes de préparation de l'échantillon (encadré 4), 15 minutes de sédimentation et 5 minutes de lecture pour chacune des deux lames. Ce test est utilisable pour plusieurs espèces : chiens, chats, lapins et furets ainsi que les ruminants. Il est directement réalisable à la clinique. En Espagne, ce test est commercialisé à 3€ l'unité. Les œufs de *Toxocara* sp, de *Trichuris vulpis* et les oocystes de coccidies sont facilement identifiables sous le microscope. Cependant, la détection des kystes de *Giardia* est plus difficile, du fait de leur petite taille et nécessite une certaine expérience de l'observateur. De plus, ce test ne permet pas de pallier l'excrétion intermittente des kystes de *Giardia duodenalis* dans les fèces. C'est pourquoi, il est recommandé de renouveler le test sur 3 jours consécutifs pour augmenter la sensibilité de détection des kystes de *Giardia* ou bien d'associer l'Uranotest copro® à une technique détectant les coproantigènes libres de *Giardia duodenalis*.

La sensibilité de l'Uranotest copro® correspond aux valeurs annoncées dans les diverses études sur les techniques coproscopiques. Selon une étude de Groat *et al.* (2003) portant sur 617 échantillons de selles de chiens et de chats, la flottation à la clinique à une sensibilité de 50 % et une spécificité de 76 %, comparé au test ELISA des laboratoires d'analyses pour la détection de *Giardia duodenalis* (Groat *et al.*, 2003). La sensibilité de l'Uranotest copro® pour la détection des kystes de *Giardia* est de 55 % d'après notre étude portant sur vingt-deux échantillons de selles.

Il est recommandé d'utiliser l'Uranotest copro® une fois par an, lors de la consultation de médecine préventive des animaux. Le vétérinaire ne doit pas se contenter de vendre des antiparasitaires 4 fois par an, car il a les compétences pour réaliser une analyse coproscopique à la clinique. Il est intéressant de proposer un protocole de vermifugation, en remplaçant un des traitements par une analyse de selles. L'utilisation de l'Uranotest copro® est également recommandé chez des animaux présentant de la diarrhée associée ou non à un amaigrissement. Lorsque une parasitose est fortement suspectée et que l'analyse coproscopique ne révèle pas d'éléments parasitaires et que les signes cliniques persistent, il est alors recommandé d'envoyer un échantillon de selles à un laboratoire de Parasitologie pour la réalisation d'une analyse coproscopique complète : flottation, sédimentation di-phasique et technique de Baermann et de réaliser la recherche de coproantigènes.

CONCLUSION

Les parasites digestifs chez les carnivores domestiques et les lagomorphes peuvent être responsables de troubles digestifs et de diminution de l'état général. C'est pourquoi, il est important de détecter les éléments parasitaires présents dans les matières fécales, notamment chez les jeunes animaux et dans les élevages. Pour cela, les vétérinaires disposent de plusieurs techniques. L'examen macroscopique des selles est un acte aisé et rapide, il doit être réalisé de façon systématique lors de suspicion de parasitose. Les méthodes d'enrichissement par flottation et sédimentation permettent de repérer la plupart des œufs et des larves de parasites.

Les techniques mettant en évidence des coproantigènes ont l'avantage de détecter une infection active et de palier l'excrétion intermittente des éléments parasitaires (comme les kystes de *Giardia*). Cette technique permet de détecter très précocement une infection ou infestation parasitaire (avant même la période prépatente). Cependant, cette méthode ne détecte qu'un seul type de parasite. Un test utilisant la technique ELISA pour détecter les coproantigènes des principaux parasites des carnivores domestiques (*Toxocara sp*, *Trichuris vulpis* et les ankylostomes) sera bientôt disponible.

Les outils de la biologie moléculaire permettent de distinguer les différentes espèces de cestodes : *Taenia spp*, *Dipylidium caninum* et *Echinococcus spp* et les différentes espèces de coccidies afin de mettre en évidence les agents parasitaires responsables de zoonose.

L'Uranotest copro® évalué dans la partie expérimentale de cette thèse, a été testé sur 71 échantillons positifs par les méthodes de référence utilisées au laboratoire de parasitologie de l'EnvA. Ce kit rapide affiche une sensibilité globale de 65 % tous parasites confondus. La sensibilité est diminuée à 55 % pour les kystes de *Giardia*, qui demeurent difficiles à repérer. Avec ce kit, les oocystes de coccidies des carnivores domestiques et des lapins sont facilement repérables. En effet, la sensibilité s'élève à 75 % pour les *Isospora spp* des chiens et des chats. Les œufs de nématodes (*Toxocara spp*, *Trichuris vulpis* et les strongles digestifs) sont également aisément identifiables. La spécificité de l'Uranotest copro® est de 100 %.

Les analyses coproscopiques devraient être réalisées, au minimum une fois par an au cabinet vétérinaire lors de la consultation vaccinale via des tests rapides détectant la plupart des parasites digestifs. Si une giardiose est suspectée un test détectant les coproantigènes doit être effectué en parallèle.

BIBLIOGRAPHIE

Allan, J.C., Wilkins, V., Tsang, P., Craig, P.S., 2003. Immunodiagnostic tools for taeniasis. *Acta Trop* **87**, 87–93.

Augot, D., 2004. *Echinococcus multilocularis* : techniques de diagnose du parasite et diagnostic de la parasitose chez les animaux.

Avedissian, D., 1988. Giardiose canine et féline. Thèse Méd. Vét., Lyon.

Baixench, M.T., Magnaval, J.F., Albared, S., Olives, J.-P., 1993. Comparaison de l'immunofluorescence, de la coprologie et de la biopsie jéjunale dans le diagnostic des infections à *Giardia intestinalis*. *Médecine Mal. Infect.* **23**, 557–560.

Barda, B.D., Rinaldi, L., Ianniello, D., Zepherine, H., Salvo, F., Sadutshang, T., Cringoli, G., Clementi, M., Albonico, M., 2013. Mini-FLOTAC, an Innovative Direct Diagnostic Technique for Intestinal Parasitic Infections: Experience from the Field. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **7**.

Barr, S.C., Bowman, D.D., 1994. Giardiasis in dogs and cats. *Small Anim.* **16**, 603–610.

Barr, S.C., Bowman, D.D., Erb, H.N., 1992. Evaluation of two test procedures for diagnosis of giardiasis in dogs. *Am. J. Vet. Res.* **53**, 2028–2031.

Bathiard, T., Vellut, F., 2002. Coproscopie parasitaire.

Bermudez-Cruz, R., Thomas, M., Alliot, A., 2009. Identification of *Giardia* genotypes in dogs from kennels and veterinarian clinics in France, in 2009 Scientific Proceedings, 3rd International *Giardia* and *Cryptosporidium* Conference. Orvieto, Italie.

Beugnet, F., 1998. Le parasitisme digestif des carnivores domestiques. Importance des protozooses. *Action Vét.* **12** – 18.

Beugnet, F., 2000. Diagnostic coproscopique en pratique. *Action Vét. Cahier Clinique n°41*.

Beugnet, F., Bourdeau, P., Chalvet-Monfray, K., Cozma, V., Farkas, R., Guillot, J., *et al.*, 2014. Parasites of domestic owned cats in Europe : co-infestations and risk factors. *Parasites & Vectors.* **7**. 291

Beugnet, F., Bourdoiseau, G., Dang, H., 2004. *Abrégé de parasitologie clinique des carnivores domestiques*. Volume 1. Parasitoses digestives. Kalianxis, Auxon, 266 p.

Beugnet, F., Guillot, J., Polack, B., Chermette, R., 2000. Enquête sur le parasitisme digestif des chiens et des chats de particuliers de la région parisienne. *Rev. Méd Vét* **151**, 443–446.

Beugnet, F., Polack, B., Dang, H., 2008. *Atlas de Coproscopie*. Kalianxis. 277 p.

- Blagburn, B.L., 2008. Why Fecal Centrifugation is Better | CAPC Vet. Suppl. Vet. Med.
- Blagburn, B.L., Butler, J.M., 2006. Optimize intestinal parasite detection with centrifugal fecal flotation. *Vet Med.* 101 (7) : 455-464.
- Boucher, S., Nouaille, L., 2002. *Maladies des lapins*. France Agricole Editions. 272 p.
- Bourdeau, P., 1992. Helminthoses respiratoires des carnivores. *Encyclopédie Vétérinaire*. Paris.
- Bourdeau, P., 1993. Les giardioses des carnivores. *Recl. Médecine Vét.* 393–400.
- Bowman, D., Lucio-Forster A., 2010. The importance of routine fecal exams. *DX Consult.* Vol 3. No 1.
- Bricaire, P., Richard, S., Ferté, H., Mercier, A., Romand, O., Ginesta, J., 1999. Utilisation de la coproscopie pour le suivi du parasitisme digestif au sein d'un effectif canin important. *Rev. Fr. Lab.* 1999, 39–48.
- Bussiéras, J., Chermette, R., 1992. *Abrégé de parasitologie vétérinaire*, Fascicule 2, Protozoologie vétérinaire. Polycopié. École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Service de parasitologie, 186 p.
- Cabrera, M., Canova, S., Rosenzvit, M., Guarnera, E., 2002. Identification of *Echinococcus granulosus* eggs. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **44**, 29–34.
- Centre for veterinary education, 2012. *Uncinaria spp.* [http://www.vetbook.org/wiki/dog/index.php/Uncinaria_spp.]
- Collins, G.H., Pope, S.E., Griffin, D.L., Walker, J., Connor, G., 1987. Diagnosis and prevalence of *Giardia* spp in dogs and cats. *Aust. Vet. J.* **64**, 89–90.
- Conboy, G., 1997. *Giardia*. *Can. Vet. J.* **38**, 245–247.
- Coudert, P., Licois, D., Drouet-Viard, F., 1995. *Eimeria* and *Isospora*. *Eimeria* species and strains of rabbits. In: *Biotechnology. Guidelines on Techniques in Coccidiosis Research*; Eckert J., Braun R., Shirley M.W., Coudert P. (Ed). Office for official publications of the European communities. Luxembourg, 52-73.
- Craig, P.S., 1997. Immunodiagnosis of *Echinococcus granulosus* and a comparison of techniques for diagnosis of canine echinococcosis, in: *Compendium on cystic Echinococcosis in Africa and in Middle Eastern countries with special reference to Morocco*. Andersen F.L., Ouhelli H. & Kachani M. (eds), Brigham Young University, Provo, Utah. pp. 85–118.
- Craig, P.S., Gasser, R.B., Parada, L., Cabrera, P., Parietti, S., Borgues, C., *et al.*, 1995. Diagnosis of canine echinococcosis: comparison of coproantigen and serum antibody tests with arecoline purgation in Uruguay. *Vet. Parasitol.* **56**, 293–301.

- Cringoli, G., 2006. FLOTAC, a novel apparatus for a multivalent faecal egg count technique. *Parassitologia* **48**, 381–384.
- Cringoli, G., Rinaldi, L., Maurelli, M.P., Morgoglione, M.E., Musella, V., Utzinger, J., 2011. *Ancylostoma caninum*: Calibration and comparison of diagnostic accuracy of flotation in tube, Mc-Master and FLOTAC in faecal samples of dogs. *Exp. Parasitol.* **128**, 32–37.
- Cringoli, G., Rinaldi, L., Maurelli, M.P., Utzinger, J., 2010. FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nat. Protoc.* **5**, 503–515.
- David, E.D., Lindquist, W.D., 1982. Determination of the specific gravity of certain helminth eggs using sucrose density gradient centrifugation. *J. Parasitol.* **68**, 916–919.
- Decock, C., Cadiergues, M.C., Larcher, M., Vermot, S., Franc, M., 2003. Comparison of two techniques for diagnosis of giardiasis in dogs. *Parasite Paris Fr.* **10**, 69–72.
- Deplazes, P., Alther, P., Tanner, I., Thomson, R., Eckert, J., 1999. *Echinococcus multilocularis* coproantigen detection by enzyme-linked immunosorbent assay in fox, dog, and cat populations. *J. Parasitol.* **85**, 115–121.
- Deplazes, P., Gottstein, B., Eckert, J., Jenkins, D.J., Ewald, D., Jimenez-Palacios, S., 1992. Detection of *Echinococcus* coproantigens by enzyme-linked immunosorbent assay in dogs, dingoes and foxes. *Parasitol. Res.* **78**, 303–308.
- Douglas H., Reiner D.S., Gault M.J., Gillin F.D., 1988. Location of *Giardia* trophozoites in the small intestine of naturally infected dogs in San Diego, in Wallis PM, Hammond BR (eds): *Advances in Giardia Research* Calgary, University of Calgary Press. p 65–69.
- Dryden, M.W., Payne, P.A., Ridley, R., Smith, V., 2005. Comparison of common fecal flotation techniques for the recovery of parasite eggs and oocysts. *Vet Ther* **6**, 15–28.
- Dryden, M.W., Payne, P.A., Smith, V., 2006. Accurate diagnosis of *Giardia* spp and proper fecal examination procedures. *Vet. Ther. Res. Appl. Vet. Med.* **7**, 4–14.
- Eckert, J., Gemmell, M., Meslin, F.-X., Pawlowski, Z., 2001. WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. Zurich.
- Elsemore, D.A., Geng, J., Flynn, L., Cruthers, L., Lucio-Forster, A., Bowman, D.D., 2014. Enzyme-linked immunosorbent assay for coproantigen detection of *Trichuris vulpis* in dogs. *J. Vet. Diagn. Invest.* **26**, 404–411.
- El-Shehabi, F.S., Kamhawi, S.A., Schantz, P.M., Craig, P.S., Abdel-Hafez, S.K., 2000. Diagnosis of canine echinococcosis: comparison of coproantigen detection with necropsy in stray dogs and red foxes from northern Jordan. *Parasite Paris Fr.* **7**, 83–90.

ESCCAP, 2013a. Guide de recommandation. Traitement et prévention des parasitoses des carnivores domestiques : Nématodes et cestodes parasites du chien et du chat. 1.

ESCCAP, 2013b. Guide de recommandations. Traitement et prévention des parasitoses des carnivores domestiques : Protozoaires parasites digestifs du chien et du chat. 5.

Euzeby, J., 2002. Sur l'épidémiologie de la giardiose humaine. *Sci. Parasitol.* 1, 11–21.

Gaglio, G., Cringoli, G., Rinaldi, L., Brianti, E., Giannetto, S., 2008. Use of the FLOTAC technique for the diagnosis of *Aelurostrongylus abstrusus* in the cat. *Parasitol. Res.* 103, 1055–1057.

Grellet, A., 2013. Diagnostiquer et traiter les entérites parasitaires du chat. In : Congrès national AFVAC. Nantes, 29 novembre- 1^{er} décembre 2013.

Groat, R., Monn, M., Flynn, L., Curato, J., 2003. Survey of clinic practices and testing for diagnosis of *Giardia* infections in dogs and cats.

Hewlett, E.L., Andrews, J.S., Ruffier, J., Schaefer, F.W., 1982. Experimental infection of mongrel dogs with *Giardia lamblia* cysts and cultured trophozoites. *J. Infect. Dis.* 145, 89–93.

Humm, K., Adamantos, S., 2010. Is evaluation of a faecal smear a useful technique in the diagnosis of canine pulmonary angiostrongylosis. *J. Small Anim. Pract.* 51, 200–203.

Idexx, 2014. The Next Generation of Fecal Testing—Whipworm Antigen Testing.

Jenkins, D.J., Fraser, A., Bradshaw, H., Craig, P.S., 2000. Detection of *Echinococcus granulosus* coproantigens in Australian canids with natural or experimental infection. *J. Parasitol.* 86, 140–145.

Kasprzak, W., Pawlowski, Z., 1989. Zoonotic aspects of giardiasis: a review. *Vet. Parasitol.* 32, 101–108.

Kirkpatrick, C.E., 1987. Giardiasis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 17, 1377–1387.

Kirkpatrick, C.E., Farrell, J.P., 1984. Feline giardiasis: observations on natural and induced infections. *Am. J. Vet. Res.* 45, 2182–2188.

Kitvia. Parasitologie BioRepair. [<http://www.kitvia.com/biorepair/c16rz>].

Koutz, F., 1941. A comparison of flotation solutions in the detection of parasite ova in feces. *Am. J. Vet. Res.* 95–100.

Kreier, J.P., 1978. Parasitic protozoa. Academic Press, New York; London.

López, C., Panadero, R., Paz, A., Sánchez-Andrade, R., Díaz, P., Díez-Baños, P., Morrondo, P., 2005. Larval development of *Aelurostrongylus abstrusus* (Nematoda, Angiostrongylidae) in

experimentally infected *Ceratomyxa (Ceratomyxa) virgata* (Mollusca, Helicidae). *Parasitol. Res.* **95**, 13–16.

Mekaru, S.R., Marks, S.L., Felley, A.J., Chouicha, N., Kass, P.H., 2007. Comparison of direct immunofluorescence, immunoassays, and fecal flotation for detection of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in naturally exposed cats in 4 Northern California animal shelters. *J. Vet. Intern. Med. Am. Coll. Vet. Intern. Med.* **21**, 959–965.

Nguyen, T.K.T., Kherouf, H., Blanc-Pattin, V., Allais, E., Chevalier, Y., Richez, A., *et al.*, 2006. Evaluation of an immunochromatographic assay: Giardia-Strip® (Coris BioConcept) for detection of *Giardia intestinalis* in human fecal specimens. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol.* **31**, 623–625.

O’Grady, M.R., Slocombe, J.O.D., 1980. An Investigation of Variables in a Fecal Flotation Technique. *Can. J. Comp. Med.* **44**, 148–154.

OIE, 2008. Echinococcosis/Hydatidosis. In: OIE Terrestrial Manual. pp. 175–189.

Oliveira-Sequeira, T.C.G., Amarante, A.F.T., Ferrari, T.B., Nunes, L.C., 2002. Prevalence of intestinal parasites in dogs from São Paulo State, Brazil. *Vet. Parasitol.* **103**, 19–27.

Otto, G., Hewitt, R., Strahan, D., 1941. A simplified zinc sulfate levitation method of fecal examination for protozoan cysts and hook worm eggs. *Am J Hyg* 32–37.

Ovidio, D. d’, Pepe, P., Ianniello, D., Noviello, E., Quinton, J.-F., Cringoli, G., Rinaldi, L., 2014. First survey of endoparasites in pet ferrets in Italy. *Vet. Parasitol.* **203**, 227–230.

Papini, R., Gorini, G., Spaziani, A., Cardini, G., 2005. Survey on giardiasis in shelter dog populations. *Vet. Parasitol.* **128**, 333–339.

Payne, P.A., Ridley, R.K., Dryden, M.W., Bathgate, C., Milliken, G.A., Stewart, P.W., 2002. Efficacy of a combination febantel-praziquantel-pyrantel product, with or without vaccination with a commercial *Giardia* vaccine, for treatment of dogs with naturally occurring giardiasis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **220**, 330–333.

Raoul, F., Deplazes, P., Nonaka, N., Piarroux, R., Vuitton, D.A., Giraudoux, P., 2001. Assessment of the epidemiological status of *Echinococcus multilocularis* in foxes in France using ELISA coprotests on fox faeces collected in the field. *Int. J. Parasitol.* **31**, 1579–1588.

Reche-Emonot, M., Beugnet, F., Bourdoiseau, G., 2001. Etude épidémiologique et clinique de la spirocercose canine à l’île de La Réunion, à partir de 120 cas. *Rev. Médecine Vét.* **152**, 469–478.

Ripert, C., 1996. *Epidémiologie des maladies parasitaires Tome 1 : Protozooses*, Lavoisier. ed.

Rishniw, M., Liotta, J., Bellosa, M., Bowman, D., Simpson, K. w., 2010. Comparison of 4 Giardia Diagnostic Tests in Diagnosis of Naturally Acquired Canine Chronic Subclinical Giardiasis. J. Vet. Intern. Med. **24**, 293–297.

Rosoff, J.D., Sanders, C.A., Sonnad, S.S., De Lay, P.R., Hadley, W.K., Vincenzi, F.F., *et al.*, 1989. Stool diagnosis of giardiasis using a commercially available enzyme immunoassay to detect Giardia-specific antigen 65 (GSA 65). J. Clin. Microbiol. **27**, 1997–2002.

Rosoff, J., Stibbs, H., 1986. Isolation and identification of a *Giardia lamblia* specific stool antigen (GSA 65) useful in coprodiagnosis of giardiasis. J. Clin. Microbiol **23**, 905–910.

Salant, H., Spira, D.T., Hamburger, J., 2010. A Comparative Analysis of Coprologic Diagnostic Methods for Detection of *Toxoplasma gondii* in Cats. Am. J. Trop. Med. Hyg. **82**, 865–870.

Schares, G., Vrhovec, M.G., Pantchev, N., Hermmann D.C., Conraths F.J., 2008. Occurrence of *Toxoplasma gondii* and *Hammondia* occysts in the faeces of cats from Germany and other European countries. Vet. Parasitol. **152**, 34-35.

Scorza, A., Lappin, M., Ballweber, L., 2009. Genotyping of *Giardia duodenalis* isolates of mammals (dogs, cats, bobcats, and cattle) by giardin, glutamate dehydrogenase and triosephosphate isomerase genes, in 2009 Scientific Proceedings, 3rd International *Giardia* and *Cryptosporidium* Conference. Orvieto, Italy, 2009. Orvieto, Italy.

Tangtrongsup, S., Scorza, V., 2010. Update on the diagnosis and management of *Giardia* spp infections in dogs and cats. Top. Companion Anim. Med. **25**, 155–162.

Thompson, R.C.A., Lymbery, A.J., 1995. *Echinococcus* and hydatid disease. 477 p.

Traversa, D., Iorio, R., Otranto, D., 2008. Diagnostic and Clinical Implications of a Nested PCR Specific for Ribosomal DNA of the Feline Lungworm *Aelurostrongylus abstrusus* (Nematoda, Strongylida). J. Clin. Microbiol. **46**, 1811–1817.

Uranovet. Urantotest copro. [<http://uranovet.com/uranotest/copro/>].

Williams, J., Zajac, A., 1980. Diagnosis of gastrointestinal parasitism in dogs and cats. Ralston Purina Co.

Wood, J., n.d. *Tritrichomonas foetus*. [<http://www.k-state.edu/parasitology/625tutorials/Protozoa10.html>].

Zajac, A.M., 1992. Giardiasis. Small Anim. **14**, 604–608.

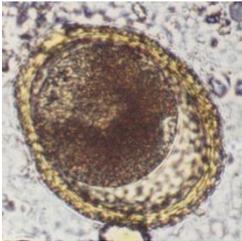
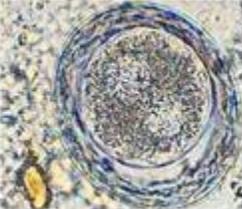
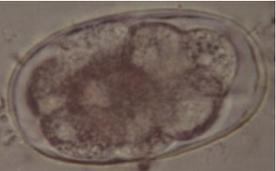
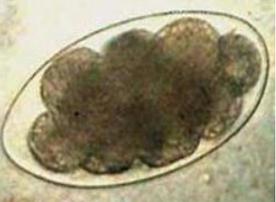
Zajac, A.M., 1994. Fecal examination in the diagnosis of parasitism. In : Sloss MW, Kem RL,

Zajac AM. Veterinary clinical parasitology. 6th ed. Ames, Iowa : Iowa State Univ Press, 3-16.

Zajac, A.M., Johnson, J., King, S.E., 2002. Evaluation of the importance of centrifugation as a component of zinc sulfate fecal flotation examinations. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* **38**, 221–224.

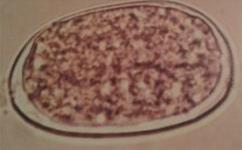
Zimmer, J.F., Burrington, D.B., 1986. Comparison of four protocols for the treatment of canine Giardiasis. *J Am Anim Hosp Assoc.* **22** : 161-167.

Annexe 1 : Les caractéristiques des œufs de nématodes chez les carnivores domestiques

œuf de Nématodes chez les carnivores domestiques	Genre et espèce	Taille (µm)	Forme	Couleur	Coque	Contenant
	<i>Toxocara canis</i>	70-90 x 65-75	sphérique/sub-sphérique	brun	épaisse et alvéolée	une unique cellule marron, remplissant la quasi-totalité de l'œuf en général, aspect rugueux, non embryonné
	<i>Toxascaris leonina</i>	75-85 x 65-75	sub-sphérique	grise	épaisse et lisse	une unique cellule, grise claire, remplissant partiellement l'intérieur
	<i>Trichuris vulpis</i>	60-90 x 25-45	ovale, en forme de citron, pourvu de 2 bouchons polaires arrondis aux extrémités	jaune-orange-brun	épaisse et lisse	une unique cellule, aspect granuleux brun-jaune
	<i>Ancylostoma caninum</i>	55-65 x 40	ovoïde	brun	fine et lisse	Morula avec 8 à 16 blastomères
 <p data-bbox="398 1372 555 1401">vetbook.org</p>	<i>Uncinaria stenocephala</i>	65-80 x 45-50	ovoïde, allongée	brun	mince et lisse	Morula avec 8 à 16 blastomères

œuf de Nématodes chez les carnivores domestiques	Genre et espèce	Taille (µm)	Forme	Couleur	Coque	Contenant
 <p>Beugnet <i>et al.</i>, 2008</p>	<i>Capillaria aerophila</i>	55-80 x 30-40	ovale, forme de citron avec 2 bouchons polaires aplatis aux extrémités	jaune-brun-orange	rugeuse, maillée	une seule cellule, aspect granuleux
 <p>Beugnet <i>et al.</i>, 2008</p>	<i>Spirocerca lupi</i>	30-37 x 10-15	ovalaire, allongé, en "trombone", bords parallèles	clair	relativement épaisse et lisse	larve L1 repliée
 <p>Beugnet <i>et al.</i>, 2008</p>	<i>Strongyloides stercoralis</i>	35-60 x 25-35	ellipsoïde, pôles très arrondis	clair	fine	larve, pas toujours visible car expulsée rapidement
 <p>FLOTAC, 2014</p>	Ancylostomid (furet)	52-92 x 28-58	ovoïde, elliptoïde	clair	lisse	morula avec plusieurs blastomères

Annexe 2 : Les caractéristiques des œufs de nématodes chez les lapins

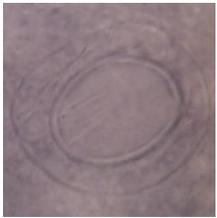
œuf de Nématodes chez les lapins	Genre et espèce	Taille (µm)	Forme	Couleur	Coque	Contenant
	<i>Passalurus ambiguus</i> (Oxyure Lp)	95 x 45	ovoïde, asymétrique, un pôle est plus arrondi que l'autre	gris clair	épaisse et lisse	embryon ou larve
	<i>Trichuris leporis</i>	60-85 x 40-45	citron, 2 bouchons polaires arrondis aux extrémités	orange-brun	épaisse et lisse	une cellule remplissant tout l'intérieur de l'œuf
	Strongyloides	35-50 x 25-30	ellipsoïde, pôles très arrondis, bords parallèles	clair	mince et lisse	larve, pas toujours visible
	<i>Trichostrongylus axei</i>	90-100 x 40-50	ovoïde, asymétrique, un pôle plus pointu	clair	mince et lisse	morula avec 16 ou plus blastomères
	<i>Graphidium strigosum</i>	70 x 35-45	ovoïde	gris clair	mince et lisse	morula avec de nombreux petits blastomères

Images issues de l'Atlas de coproscopie de BEUGNET, POLACK et DANG, 2008

Annexe 3 : Les caractéristiques des œufs de cestodes chez les chiens et les chats

œuf de cestodes	Genre et espèce	Taille (µm)	Forme	Couleur	Coque	Contenant
	<i>Diphylobothrium latum</i>	60-70 x 40-50	ovale	brun clair	mince et lisse, opercule à un pôle	le syncytium rempli quasi entièrement l'œuf
	<i>Spirometra</i> spp	60-70 x 36	ovale, une extrémité effilée	brun jaune	mince et lisse, opercule à un pôle	une cellule
	<i>Dipylidium caninum</i> : capsule ovigère	200-250 µm : capsule ovigère		brun	lisse et mince	une vingtaine d'œufs
	<i>Dipylidium caninum</i> : zoom sur un œuf complet avec ses 3 enveloppes	30-40 x 50	sphérique	brun	l'embryophore entoure l'embryon, l'œuf est entouré d'une membrane vitelline	un embryon hexacanthé
	<i>Taeniide</i>	30-40 x 20-30	sphérique	marron-orangé	Embryophore unique, épais avec des stries radiales, absence de membrane vitelline et de capsule ovifère	un embryon hexacanthé

Images issues de l'Atlas de coproscopie de BEUGNET, POLACK et DANG, 2008

œuf de cestodes	Genre et espèce	Taille (µm)	Forme	Couleur	Coque	Contenant
	<i>Joyeuxiella sp</i>	50 x 35-40	sphérique	clair	embryophore, capsule ovifère	un embryon hexacante
	<i>Mesocestoides spp</i>	45-50 x 35-40	sphérique	clair	mince et lisse	un embryon hexacante

Images issues de l'Atlas de coproscopie de BEUGNET, POLACK et DANG, 2008

Annexe 4 : Les caractéristiques des œufs de trématodes chez les chiens et les chats

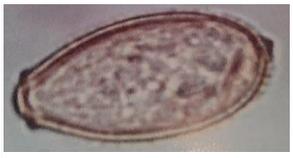
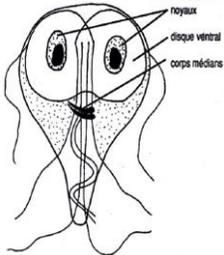
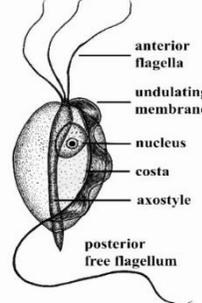
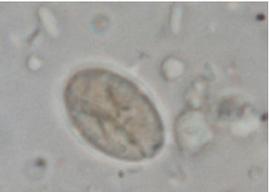
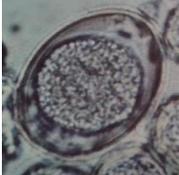
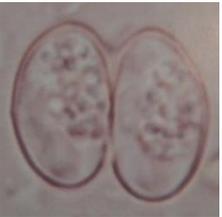
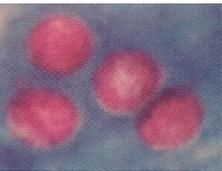
Les œufs de trématodes	Genre et espèce	Taille (µm)	Forme	Couleur	Coque	Contenant
	<i>Opisthorchis sp</i>	20 x 30	ovoïde	clair	opercule à un pôle, épine à l'autre pôle	un embryon

Image issue de l'Atlas de coproscopie de BEUGNET, POLACK et DANG, 2008

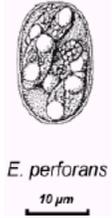
Annexe 5 : Les trophozoïtes, kystes et oocystes de protozoaires chez les carnivores domestiques

Protozoaires	Genre et espèce	Taille (µm)	Forme	Couleur	Coque	Contenant
 <p>Bussiéras et Chermette , 1992</p>	<p>Trophozoïte de <i>Giardia duodenalis</i></p>	<p>10 à 15 µm de longueur, 6 à 10 µm de largeur, 2 à 4 µm d'épaisseur</p>	<p>goutte d'eau, extrémité antérieure arrondie, extrémité postérieure effilée avec 4 paires de flagelles</p>			<p>2 noyaux ovales (antérieur), corps médians (centre)</p>
 <p>Wood</p>	<p>Trophozoïte de <i>Tritrichomonas foetus</i></p>	<p>Légèrement plus petit que les trophozoïtes de <i>Giardia</i></p>	<p>4 paires de flagelles, 3 à l'extrémité antérieure, un à l'extrémité postérieure</p>			<p>un seul noyau</p>
 <p>Unité de Parasitologie, EnvA</p>	<p>Kyste de <i>Giardia duodenalis</i></p>	<p>8-9 x 10-13</p>	<p>ovoïde</p>	<p>clair, orangé avec le lugol</p>	<p>mince et lisse</p>	<p>2 à 4 noyaux et des résidus de flagelles (S au centre)</p>
	<p>Oocystes d'<i>Isospora sp</i></p>	<p>20-40 x 15-30 (I.canis > I.ohiensis)</p>	<p>ovoïde</p>	<p>clair</p>	<p>mince et lisse</p>	<p>cellule ronde au contenu granuleux</p>

Protozoaires	Genre et espèce	Taille (µm)	Forme	Couleur	Coque	Contenant
	<i>Neospora, Hammondia</i>	12-15 x 10-13	ovoïde	clair	mince et lisse	une unique cellule granuleuse et sphérique avant la sporulation
	<i>Sarcocystis sp</i>	12-18 x 20-16	"haltère"	clair	mince et lisse	
	<i>Cryptosporidium parvum</i>	5-6 x 4	sphérique	rouge à la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée	relativement épaisse	4 sporozoïtes

Images des coccidies issues de l'Atlas de coproscopie de BEUGNET, POLACK et DANG, 2008

Annexe 6 : Les caractéristiques morphologiques et biologiques des différentes espèces d'*Eimeria* du lapin (d'après BOUCHER et NOUAILLE, 2002)

<i>Eimeria</i>	images	Pathogénicité	Forme	Longueur (µm)	largeur (µm)	Corps résiduel	période prépatente (jours)
<i>perforans</i>	 <i>E. perforans</i> 10 µm	+	subsphérique, élipsoïde, rectangulaire	22,2 +/- 2,8 (le plus petit)	13,9 +/- 0,9	+	4,5
<i>media</i>		++	elipsoïde	31,1 +/- 2,1	17 +/- 0,9	++	4,5
<i>magna</i>		++	elipsoïde, large	36,3 +/- 1,7 (le plus grand)	24 +/- 0,9	+++	7
<i>intestinalis</i>		++++	piriforme	26,8 +/- 1,7	18,9 +/- 0,9	++	9
<i>flavescens</i>		++++	ovoïde, elipsoïde	30 +/- 2,2	21 +/- 1	-	9

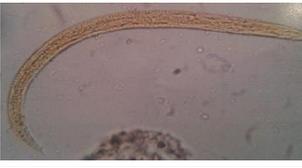
<i>Eimeria</i>	images	Pathogénicité	Forme	Longueur (μm)	largeur (μm)	Corps résiduel	période prépatente (jours)
<i>coecicola</i>		-	elipsoïde	34,5 +/- 2,4	19,7 +/- 0,8	++	9
<i>piriformis</i>		+++	piriforme	29,5 +/- 2,3	18 +/- 1,2	-	9
<i>stiedai</i>		Coccidiose hépatique	elipsoïde	35,7 +/- 0,4	19,9 +/- 0,5	-	14

Images issues du cours de parasitologie 2012 ENVA : coccidiose digestive

Légende :

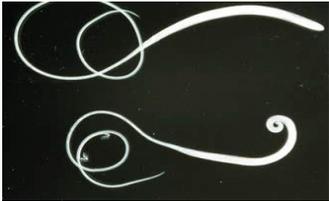
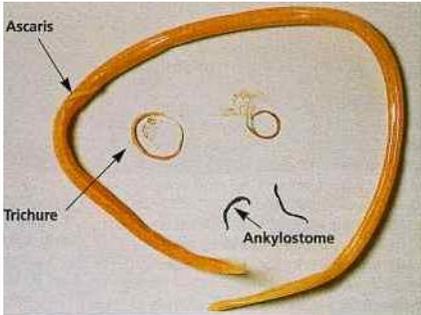
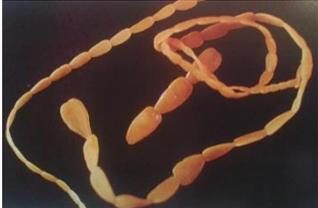
- non
pathogène
+ faiblement
pathogène
++ pathogène
très
+++ pathogène
très
++++ hautement
pathogène

Annexe 7 : Description des différentes larves de parasites observables à l'analyse coproscopique chez les carnivores domestiques

Larves de Nématodes	Genre et espèce	Taille (µm)	Partie antérieure	Partie postérieure
	<p>Larve rhabditoïde L1 de <i>Strongyloides stercoralis</i></p>	<p>280-380 x 15-18</p>	<p>cavité buccale courte de 3 à 5 µm, bulbe oesophagien représentant 1/3 de la longueur du corps</p>	<p>queue courte, droite et pointue. Ebauche génitale bien visible</p>
	<p><i>Oslerus osleri</i> L1</p>	<p>250-380 µm de longueur</p>	<p>œsophage plus difficilement visualisable</p>	<p>queue doublement incurvée en S</p>
	<p><i>Angiostrongylus vasorum</i> L1</p>	<p>330-400 µm de longueur x 15 µm</p>	<p>bouton céphalique</p>	<p>queue ondulée avec une épine sub-terminale</p>
	<p><i>Crenosoma vulpis</i> L1</p>	<p>265-330 µm de longueur</p>	<p>absence de bouton céphalique</p>	<p>queue légèrement incurvée et conique, absence d'épine sub-terminale</p>
	<p><i>Aelurostrongylus abstrusus</i> L1</p>	<p>360-400 µm de longueur</p>		<p>queue ondulée en S avec une épine dorsale</p>

Images issus de l'Atlas de coproscopie de BEUGNET, POLACK et DANG, 2008

Annexe 8 : Les éléments parasites observables par examen macroscopique des selles : nématodes adultes et segments de cestodes

Examen macroscopique	Genre et espèce	Taille	couleur	Famille	Partie antérieure	Partie postérieure
 <p>Beugnet <i>et al.</i>, 2008</p>	Ascarides	jusqu'à 20 cm de longueur, 2-3 mm de diamètre	blanc	Nématodes (vers ronds)		
 <p>www.vetbook.org</p>	Trichuris vulpis	2 à 5 cm de longueur	blanc	Nématodes (vers ronds)	effilée, longue	épaisse, courte
 <p>Guide d'élevage canin (Royal canin)</p>	Ancylostomes	1 cm de longueur	blanc	Nématodes (vers ronds)		
 <p>Beugnet <i>et al.</i>, 2008</p>	Dipylidium caninum	un segment : 5 à 10 mm de longueur et 2 à 4 mm de largeur	blanc	Cestodes (vers plats)	Aspect de grain de gris (sec)	2 pores génitaux par segment

Examen macroscopique des selles	Genre et espèce	Taille	couleur	Famille	Caractéristique
	<i>Echinococcus granulosus</i>	2 à 3 mm de longueur	blanc	Cestodes (vers plats)	
	<i>Mesocestoides spp</i>	5 à 6 mm de longueur, 3 à 4 mm de largeur	blanc	Cestodes (vers plats)	Pore central = organe parutérin

Images issues de l'Atlas de coproscopie de BEUGNET, POLACK et DANG, 2008

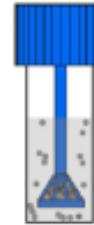
Annexe 9 : Les principales solutions de flottation utilisables

Liquide de flottation	Densité	Facilité de lecture	Sensibilité de détection des éléments parasitaires	Utilisation
sulfate de Zinc (ZnSO₄) = Liquide de Faust à 33 %	1,18 à 1,40	bulles lors de forte densité et remontée de débris	œufs de nématodes (dont <i>Trichuris vulpis</i>), oocystes de coccidies, kyste de <i>Giardia</i> , œuf de <i>Taenia sp</i> non visualisable	utilisable en cabinet vétérinaire, kit OVASSAY® (d = 1,20), OVATEC plus® (d = 1,18), Mini-FLOTAC (d = 1,35)
sulfate de Magnésium (MgSO₄)	1,28 (1,20-1,30)	excès de débris à densité la plus élevée	œufs de nématodes (dont <i>Trichuris vulpis</i>), oocystes de coccidies, œufs de cestodes (dont <i>Taenia sp</i>)	Laboratoire de Parasitologie de l'EnvA
Chlorure de sodium (NaCl) = Liquide de Willis	1,20	gêne par des cristaux possible	œufs de nématodes (dont <i>Trichuris vulpis</i>), oocystes de coccidies, œuf de <i>Taenia sp</i> et de <i>Spirocerca lupi</i> non visualisables	Mini-FLOTAC
Nitrate de sodium (NaNO₃)	1,20 à 1,40	difficile car remontée de débris (due à la densité élevée)	œufs de nématodes (dont <i>Trichuris vulpis</i>), oocystes de coccidies, (œuf de <i>Taenia sp</i> et de <i>Spirocerca lupi</i> non visualisable pour le densité de 1,20)	kit Fecalyzer® (d = 1,20)
Saccharose = Solution de Sheater	1,27 (1,20 à 1,35)	déformation des kystes de <i>Giardia</i> car densité trop élevée	œufs de nématodes (dont <i>Trichuris vulpis</i> et <i>Spirocerca lupi</i>), oocystes de coccidies, œufs de cestodes (dont <i>Taenia sp</i>)	

Annexe 10 : La procédure du test bio repair® (www.kitvia.com)



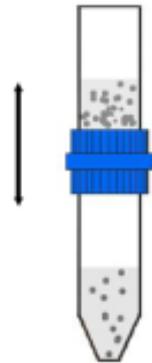
Échantillonnage



L'insérer dans le tube



Ajouter le liquide B



Bien agiter par renversements successifs



Filtrer



Phase de séparation



BILENGER

Attention irritant ! Ne pas respirer les vapeurs, en cas de contamination, laver vigoureusement avec de l'eau.

Milieu B :

Ethylacetat (Attention inflammable, tenir à l'écart des flammes.)

< examen au microscope

Annexe 11 : Comparaison des différentes techniques coprologiques pour diagnostiquer la giardiose (par rapport au test ELISA des laboratoires d'analyses)

Technique coprologique	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Nombre d'analyse(s) recommandé	Fraîcheur des selles et stabilité	Type(s) de parasite(s) observables	Coût et temps	Avantages	Inconvénients
Coprocopie par flottation au sulfate de Zinc	70 % pour un échantillon, 94 % sur 3 j (Zimmer et Burrington, 1986)	76%	3	les kystes de <i>Giardia</i> se dégradent rapidement , en quelques jours à température ambiante	<i>Toxocara sp</i> , <i>Trichuris vulpis</i> , Strongles digestif, kystes de <i>Giardia</i> , oocystes de coccidies, cestodes...	20 min, 25 € (flottation + sédimentation)	détection tous les types de parasites	lecture difficile des kystes de <i>Giardia</i> (petite taille) pour les non expérimentés, excrétion intermittente des kystes
Test immuno-chromatographique : Speed® <i>Giardia</i> , test rapide <i>Giardia</i> de Kitvia, Witness® <i>Giardia</i> , Uranotest <i>Giardia</i> ®	95,6%	100%	1 ou 2 si animal symptomatique (diarrhée) et 1er test nég	réalisable uniquement sur des selles fraîches	Détecte les antigènes solubles sur la structure des kystes de <i>Giardia</i>	rapide (10 min) , 6,80 à 12,20 € l'unité	lecture du résultat aisée , absence de réactions croisées	ne pallie pas l' excrétion intermittente des kystes de <i>Giardia</i>
test SNAP <i>Giardia</i>® (Idexx)	92% (GROAT, 2003)	99%	1	possibilité de conserver les selles 7 jours au réfrigérateur ou au congélateur	Détecte les coproantigènes solubles libres de <i>Giardia</i>, non liés aux kystes	rapide (8 min) , 10 € l'unité	lecture aisée, pallie l'excrétion intermittente des kystes, détecte <i>Giardia</i> à tout moment du cycle, même pendant la période prépatente	

Annexe 12 : Échantillons négatifs par les méthodes de référence

espèce	Race	Age	Référence	N° Clovis	Signes cliniques	Flottation quantitative : Mac Master	Sédimentation diphasique	Uranotest 1ère goutte	Uranotest 2ème goutte
chien	/	/	R 492 (2)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chien	/	/	R 492 (6)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chien	/	/	R 492 (7)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chien	/	/	R 492 (9)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chien	/	/	R 492 (11)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chien	/	/	R 492 (12)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chien	/	/	R 492 (14)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chien	/	/	R 492 (16)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chien	/	/	R 492 (17)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chien	/	/	R 492 (18)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chien	/	/	R 492 (19)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chien	/	/	R 886	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chien	/	/	R 874 (3)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chien	/	/	R 874 (4)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chat	/	/	R 887 (1)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chat	/	/	R 887 (2)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chat	/	/	R 888	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chat	/	/	R 889 (1)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chat	/	/	R 889 (2)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chat	/	/	R 889 (4)	/	/	négative	négative	négatif	négatif
chien	/	/	R492 (4)	/	/	négative	négative	négatif	négatif

Annexe 13 : Échantillons positifs par sédimentation

Espèce	Race	Age	Référence	N° Clovis	Signes cliniques	Sédimentation diphasique	Uranotest 1ère goutte	Uranotest 2ème goutte
chien	Golden Retriever	4 mois	R511	A14-3016	Diarrhée chronique avec traces de sang	Kystes de <i>Giardia</i> ++++	trop chargée	+++
chien	Golden Retriever	5 mois	R680	A14-3016	Diarrhée chronique avec traces de sang	Kystes de <i>Giardia</i> ++++	+++	+++
chien	Labrador	4 mois	R611	A14-2802	NR	Kystes de <i>Giardia</i> +++	+++	+++
chien	Golden Retriever	2 mois	R707	A14-6341	Amaigrissement, dysorexie, examen direct selles => giardia (trophozoïtes)	Kystes de <i>Giardia</i> +++	+++	+++
chien	/	1 mois	R1024 (2)	/	/	Kystes de <i>Giardia</i> +	+	0
chien	Berger Belge Malinois	3 mois	R774	/	/	Kystes de <i>Giardia</i> ++++	+++	+++
chien	Yorshire Terrier	7 mois	R722	A14-6537	NR	Kystes de <i>Giardia</i> +	0	0
chien	/	/	R 731	/	/	Kystes de <i>Giardia</i> +	0	0
chien	/	/	R 857	/	/	Kystes de <i>Giardia</i> +++	0	4
chien	/	/	R1100	/	/	Kystes de <i>Giardia</i> ++	+	0

espèce	Race	Age	Référence	N° Clovis	Signes cliniques	Sédimentation diphasique	Uranotest 1ère goutte	Uranotest 2ème goutte
chien	Labrador	11 mois	R 1584	A14-2905	Diarrhée intermittente chronique, retard de croissance, coprophagie	Kystes de <i>Giardia</i> +	0	0
chien	Berger Australien	5 mois	R1575	A14-14381	Diarrhée chronique cachectisante, retard de croissance	Kystes de <i>Giardia</i> +++	++	++
chien	Berger Australien	6 mois	R1612 (1)			Kystes de <i>Giardia</i> +	0	0
chien	Berger Australien	6 mois	R1612 (1)	A14-14381	diarrhée chronique	Kystes de <i>Giardia</i> ++++	+++	+++
chien	Berger Australien	6 mois	R1612 (2)			Kystes de <i>Giardia</i> ++	0	0
chien	Berger Australien	6 mois	R1612 (2)			Kystes de <i>Giardia</i> +	0	0
chien	/	/	R 1466 (2)	/	/	Kystes de <i>Giardia</i> +	0	0

espèce	Race	Age	Référence	N° Clovis	Signes cliniques	Sédimentation diphasique	Uranotest 1ère goutte	Uranotest 2ème goutte
chat	Européen	6 mois	R 732	A14-6651	NR	Kystes de <i>Giardia</i> +	0	0
chat	Européen	6 mois	R 733	A14-6652	NR	Kystes de <i>Giardia</i> +	0	0
chat	/	adulte	R1117 (3)	/	/	Kystes de <i>Giardia</i> +	0	0
chat	Bengal	5 mois	R1604	/	/	Kystes de <i>Giardia</i> ++++	++++	++++
chat	Européen	4 ans	R 1592	/	/	Kystes de <i>Giardia</i> ++	++	++

Légende	très nombreux	++++	> 40 kystes par lame, > 1 kystes par champ
	nombreux	+++	20 à 40 kystes par lame
	assez nombreux	++	1 kyste tous les 8 champs
	Peu nombreux	+	1 à 4 kystes par lame
	NR		Non renseigné

Annexe 14 : Échantillons positifs à *Toxocara sp*

espèce	Race	Age	Référence	N° Clovis	Signes cliniques	Flottation quantitative : Mac Master	Uranotest 1ère goutte	Uranotest 2ème goutte
chien	/	/	R 492 (1)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : 2 opg	0	0
chien	/	/	R 492 (3)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : 250 opg	2	2
chien	/	/	R492 (4)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : 150 opg	1	1
chien	/	/	R492 (5)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : 2 opg	0	0
chien	/	/	R492 (10)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : 2 opg	0	0
chien	/	/	R492 (13)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : 300 opg	4	2
chien	/	/	R492 (15)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : 50 opg	1	1
chien	/	/	R 492 (3)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : 50 opg	0	0
chien	/	/	R492(13)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : 150 opg	4	3
chien	/	/	R1082 (2)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : 2 opg	0	0

espèce	Race	Age	Référence	N° Clovis	Signes cliniques	Flottation quantitative : Mac Master	Uranotest 1ère goutte	Uranotest 2ème goutte
chien	Tervuren	2 mois	R1488	A14-14030	Diarrhée hémorragique, anorexie et abattement depuis 24h	<i>Toxocara canis</i> : 12 500 opg	4	18
chien	/	/	R1082 (6)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : 50 opg	++	++
chien	/	/	R 1143 (2)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : < 150 opg	0	1
chien	/	1 mois	R1024 (4)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : 2 opg	0	0
chien	/	/	R 885 (1)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : 500 opg	4	2
chien	/	/	R 885 (2)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : 100 opg	0	0
chien	/	/	R 874 (1)	/	/	<i>Toxocara canis</i> : 30 opg	0	0
chat	Européen	4 mois	R 1259	A14-11157	NR	<i>Toxocara cati</i> : 30 opg	2	3
chat	/	/	R 892	/	/	<i>Toxocara cati</i> : 950 opg	6	3
chat	/	/	R 892	/	/	<i>Toxocara cati</i> : 750 opg	1	3

Annexe 15 : Échantillons positifs à *Trichuris vulpis*

espèce	Race	Age	Référence	N° Clovis	Signes cliniques	Flottation quantitative : Mac Master	Uranotest 1ère goutte	Uranotest 2ème goutte
CN	/	/	R 956 (1)	/	/	<i>Trichuris vulpis</i> : 150 opg	1	0
CN	/	/	R 956 (5)	/	/	<i>Trichuris vulpis</i> : 120 opg	1	1
CN	/	/	R 956 (6)	/	/	<i>Trichuris vulpis</i> : 45 opg	0	0
CN	/	/	R 956 (7)	/	/	<i>Trichuris vulpis</i> : 15 opg	0	0
CN	/	/	R 956 (1)	/	/	<i>Trichuris vulpis</i> : 50 opg	0	1
CN	Grifon	3 ans	R 1135 (J1)	A14-1909	NR	<i>Trichuris vulpis</i> : 2 100 opg	> 10	> 10
CN	Grifon	Grifon	R 1135 (J2)	A14-1909	NR	<i>Trichuris vulpis</i> : 2 100 opg	2	2

Annexe 16 : Échantillons positifs à *Isohora* sp

espèce	Race	Age	Référence	N° Clovis	Signes cliniques	Flottation quantitative : Mac Master	Uranotest 1ère goutte	Uranotest 2ème goutte
chien	Border Collie	2 mois	R872	/	/	<i>Isohora canis</i> : 250 opg	0	0
chien	/	4 mois	R 792 (2)	/	/	<i>Isohora canis</i> : 150 opg	1	0
chien	Pinscher	10 mois	R 1555	A14-14692	Diarrhée hémorragique	<i>Isohora ohiensis</i> < 15 opg	0	0
chien	Doberman	/	R 1524	A14-14480	Diarrhée avec du sang et du mucus	<i>Isohora ohiensis</i> : 100 opg	3	7
chien	Am Staff	3 ans	/	A14-12186	NR	<i>Isohora ohiensis</i> : 100 opg	0	0
chien	/	chiot	R 1273 (3)	/	/	<i>Isohora ohiensis</i> : 17 400 opg	> 20	> 10
chien	/	/	R1099	/	/	<i>Isohora canis</i> : 250 opg	0	++
chien	/	1 mois	R1024 (4)	/	/	<i>Isohora ohiensis</i> : 1250 opg	4	3
chien	Cocker	2 mois 1/2	S184	A15-1818	NR	<i>Isohora ohiensis</i> : 6000 opg	3	7
chien	Chihuahua	3 mois	S210	A15-1494	NR	<i>Isohora ohiensis</i> : 88 200 opg	8	5
chat	/	2 mois	R1117 (2)	/	diarrhée odorante	<i>Isohora felis</i> : 326 000 opg	<i>Isohora felis</i> ++++ (1000)	<i>Isohora felis</i> ++++
chat (2)	/	/	R 1117	/	/	<i>Isohora felis</i> : 326 000 opg	> 10	> 10

Annexe 17 : Échantillons positifs pour *Eimeria sp* dans les fecès de lapins

espèce	Race	Age	Référence	N° Clovis	Signes cliniques	Flottation quantitative : Mac Master	Uranotest 1ère goutte	Uranotest 2ème goutte
Lapin	/	/	R669	/	/	<i>Eimeria sp</i> : 1050 opg	3	4
Lapin	/	/	R1115	/	/	<i>Eimeria sp</i> : 1100 opg	2-4	3-5
Lapin	Bélier	11 mois	R 1493	/	/	<i>Eimeria magna</i> : 100 opg	0	0
Lapin	/	/	R 1258	/	/	Coccidies (<i>Isospora irresidua</i> majoritaire + <i>Eimeria perforans</i> et <i>E. media</i>) : 26 400 opg	> 70	> 80
Lapin	/	/	R 1116	/	/	<i>Eimeria sp</i> : 1100 opg	2	0

LES TECHNIQUES COPROLOGIQUES CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES ET LES LAGOMORPHES : ÉVALUATION DU KIT URANOTEST COPRO®

DEGUILHEM Clémentine, Alizée

Plusieurs techniques sont actuellement disponibles pour mettre en évidence des éléments parasites dans les matières fécales. De plus, des tests détectant des coproantigènes spécifiques ont été développés afin de repérer une infestation active à tout moment du cycle parasitaire. La PCR permet d'identifier précisément les espèces. Ce travail a comme objectif d'une part de présenter les différentes techniques coprologiques et d'autre part d'évaluer l'efficacité du kit Uranotest copro®.

La première partie de ce travail décrit les éléments parasites retrouvés dans les matières fécales des carnivores domestiques et des lagomorphes ainsi que les diverses techniques coprologiques utilisables.

La seconde partie de ce travail rapporte les résultats d'une étude évaluant le kit Uranotest copro®. Ce test rapide permet de détecter les éléments parasites par une méthode de sédimentation modifiée. Il a été utilisé pour 92 selles de chiens, chats, furets et lapins et comparé aux méthodes de référence du laboratoire de Parasitologie de l'EnvA. La spécificité du kit Uranotest copro® est de 100 % et sa sensibilité de 65 %, tous parasites confondus. La sensibilité diminue à 55 % pour la détection des kystes de *Giardia* qui sont plus difficilement repérables que les œufs de nématodes ou les oocystes de coccidies. Ce dispositif a l'avantage de nécessiter peu de matériel pour sa réalisation. L'Uranotest copro® a donc sa place en médecine vétérinaire mais il devra être complété par une autre technique (sédimentation diphasique, détection de coproantigènes) lors de suspicion de giardiose.

MOTS CLES

PARASITOLOGIE / COPROLOGIE / TECHNIQUE DE LABORATOIRE / DEPISTAGE / NEMATODE / CESTODE / PROTOZAIRE / CARNIVORE DOMESTIQUE / LAGOMORPHE / CHIEN / CHAT / FURET / LAPIN

Jury :

Président : Pr. Françoise BOTTEREL

Directeur : Pr Jacques GUILLOT

Assesseur : Dr Valérie FREICHE-LEGROS

THE COPROLOGICAL TECHNIQUES FOR DOMESTIC CARNIVORES AND LAGOMORPHS: EVALUATION OF THE URANOTEST COPRO® SYSTEM

Clémentine Deguilhem

Several techniques are currently available for the detection of parasitic elements in faeces. Additionally, tests, which detect specific coproantigens, have been developed in order to identify an active infestation at any moment of the parasite life cycle. PCR techniques allow the accurate identification of the species. The objective of this work was to present the different coprological techniques and also to evaluate the effectiveness of the Uranotest Copro® kit.

The first part of this work describes the parasitic elements found in the faeces from domestic carnivores and lagomorphs as well as the various coprological techniques currently available.

The second part of this work reports the results of a study evaluating the Uranotest Copro® kit. This rapid test allows the identification of parasite elements using a modified sedimentation method. It was tested with 92 faeces from dogs, cats, ferrets and rabbits and compared to the standard methods used in the Parasitology laboratory of EnvA. The specificity of the Uranotest Copro® was 100% and its global sensitivity was 65%. The sensitivity decreased to 55% for the detection of *Giardia* cysts which are much more difficult to detect than nematode eggs or coccidia oocysts. The Uranotest Copro® can be performed with a very little material. The Uranotest Copro® has a place in veterinary medicine, but it must be complemented with another technique (two-phase flow sedimentation, coproantigens) when *Giardia* infestation is suspected.

KEY WORDS

NEMATODE / CESTODES / PROTOZOANS / COPROLOGICAL TECHNIQUES / FLOTATION / SEDIMENTATION / URANOTEST COPRO / DOMESTIC CARNIVORE / DOG / CAT / FERRET / RABBIT

Jury:

President: Pr Françoise BOTTEREL

Director: Pr Jacques GUILLOT

Assessor: Dr Valérie FREICHE-LEGROS