VETAGRO SUP

CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2013 - Thèse n°021

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA TRICHOMONOSE CHEZ LE CHAT DE RACE EN FRANCE

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 5 juillet 2013
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Claire Profizi
Née le 29 janvier 1987
à Paris 14ème arrondissement (75)

Liste des professeurs

Liste des enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon — Mise à jour du 11/10/2012

Civilité	Nom	Prénom	Unités pédagogiques	Grade
M.	ALOGNINOUWA	Théodore	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Professeur
M.	ALVES- DE-OLIVEIRA	Laurent	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	ARTOIS	Marc	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BARTHELEMY	Anthony	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	BECKER	Claire	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	BELLI	Patrick	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences Contractuel
Mme	BELLUCO	Sara	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnès	Unité pédagogique Equine	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	BERNY	Philippe	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BOULOCHER	Caroline	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	BOURDOISEAU	Gilles	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BOURGOIN	Gilles	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	BRUYERE	Pierre	Unité pédagogique Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences Contractuel
M.	BUFF	Samuel	Unité pédagogique Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences
M.	BURONFOSSE	Thierry	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	CACHON	Thibaut	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
M.	CADORE	Jean-Luc	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	CAROZZO	Claude	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	CHABANNE	Luc	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	COMMUN	Loic	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences Stagiaire
Mme	DELIGNETTE-MULLIER	Marie-Laure	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	DEMONT	Pierre	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	DESJARDINS PESSON	Isabelle	Unité pédagogique Equine	Maître de conférences Contractuel
Mme	DJELOUADJI	Zorée	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	ESCRIOU	Catherine	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	FAU	Didier	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	FOURNIEL	Corinne	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
M.	FRANOK	Michel	Unité pédagogique Gestion des élevages	Professeur
M.	FREYBURGER	Ludovic	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	GENEVOIS	Jean-Pierre	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	GONTHIER	Alain	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	GRAIN	Françoise	Unité pédagogique Gestion des élevages	Professeur
M.	GRANCHER	Denis	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	GUERIN	Pierre	Unité pédagogique Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Professeur
Mme	GUERIN-FAUBLEE	Véronique	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	HUGONNARD	Marine	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	JUNOT	Stéphane	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	KIECK	Gérard	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	KODJO	Angeli	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAABERKI	Maria-Halima	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences Stagiaire
M.	LACHERETZ	Antoine	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAMBERT	Véronique	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Maître de conférences
Mme	LEBLOND	Agnès	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur

Liste des enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon **Mise à jour du 11/10/2012**

Civilité	Nom	Prénom	Unités pédagogiques	Grade
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Unité pédagogique Equine	Maître de conférences
M.	LEPAGE	Olivier	Unité pédagogique Equine	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	MARCHAL	Thierry	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
Mme	MIALET	Sylvie	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Inspecteur en santé publique vétérinaire (ISPV)
Mme	MICHAUD	Audrey	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences Stagiaire
M.	MOUNIER	Luc	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
M.	PEPIN	Michel	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	PIN	Didier	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PONCE	Frédérique	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PORTIER	Karine	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Stagiaire
Mme	PROUILLAC	Caroline	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
Mme	REMY	Denise	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	ROGER	Thierry	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	SABATIER	Philippe	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	SEGARD	Emilie	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	SERGENTET	Delphine	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	SONET	Juliette	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
M.	THIEBAULT	Jean-Jacques	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	VIGUIER	Eric	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences Contractuel
M.	ZENNER	Lionel	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur

Remerciements

A Madame Mojgan Devouassoux
Professeur à la Faculté de Médecine de Lyon,
Qui m'a fait l'honneur de présider mon jury de thèse.
Sincères remerciements.

A Monsieur Lionel Zenner
Professeur à VetAgroSup Campus Vétérinaire de Lyon,
Qui a accepté de m'encadrer dans ce travail,
Pour son investissement, ses conseils et sa bonne humeur.
Sincères remerciements.

A Madame Marine Hugonnard
Maître de Conférences à VetAgroSup Campus Vétérinaire de Lyon,
Qui a accepté de participer à ce jury de thèse.
Pour son soutien, sa disponibilité, sa gentillesse et ses conseils précieux.
Sincères remerciements.

A Madame Anne-Claire Gagnon
Pour m'avoir encouragée à m'intéresser à ce sujet et pour sa gentillesse.

A Madame Véronique Lambert
Pour m'avoir poussée à commencer ma thèse au plus tôt, pour m'avoir encadré tout au long de ma scolarité, pour ses conseils toujours avisés et son investissement dans ce travail.

A Madame Karine Groud et Madame Marie-Thérèse Poirel
Pour leur aide et leur gentillesse.

A Monsieur Eric Viscogliosi, Dionigia Meloni et Amandine Cian
Pour son investissement dans ce travail.

Au Livre Officiel des Origines Félines, à la Société de Félinotechnie Française et Monsieur Bernard-Marie Paragon, et à Nestlé Purina
Pour leur investissement et leur aide dans ce travail.

A tous les éleveurs félins qui m'ont fait confiance, et à leurs chats.
Sans qui cette étude n'aurait pas existé.

Sincères remerciements à tous.

Table des matières

Liste des professeurs 3
Remerciements 5
Table des matières 6
Liste des figures 9
Liste des tableaux 10
Liste des abréviations 11
Introduction 12
Première partie : la trichomonose féline 13
I. Le parasite : *Tritrichomonas fœtus* 13
A. Historique 13
B. Classification et taxonomie 14
1) Place de *Tritrichomonas fœtus* 14
2) Apports des études phylogénétiques récentes 16
a) T. fœtus bovin et T. suis appartiennent à la même espèce 16
b) T. fœtus bovin et T. fœtus félin semblent différents 17
C. Structure et morphologie 18
D. Biologie 21
1) Hôtes et habitat 21
2) Métabolisme 22
3) Nutrition 22
4) Reproduction 22
5) Transmission 22
II. Epidémiologie de la Trichomonose féline 24
A. Répartition géographique de *T. fœtus* chez le chat et prévalence 24
B. Sources et mode de transmission 26
C. Facteurs de risque 26
III. Expression clinique 27
A. Pathogénie 27
B. Symptômes 27
C. Lésions 29
IV. Diagnostic différentiel 31
V. Diagnostic de laboratoire 32
A. Prélèvements 32
1) Selles fraiches 32
2) Ecouvillon rectal 32

B. Observation directe au microscope 32
C. Mise en culture 33
1) TYM Diamond Medium 33
2) In-Pouch TM TF Feline 33
D. Amplification en Chaine par Polymérase (PCR) 34
E. Histopathologie 34
VI. Traitement, prophylaxie et pronostic 36
A. Traitements disponibles actuellement 36
B. Prophylaxie 37
C. Pronostic 37
VII. Santé publique vétérinaire 39
Deuxième partie : étude épidémiologique dans les élevages français lors d'expositions félines internationales* 40
I. Introduction 40
II. Matériels et méthodes 40
A. Population d'étude 40
B. Mise en culture et examen microscopique 42
C. Extraction ADN et caractérisation moléculaire des Trichomonadidés isolés 42
D. Diagnostic par PCR 42
E. Etude statistique 42
III. Résultats 43
A. Analyse de la population de chats étudiée 43
B. Prévalence de *Tritrichomonas fœtus* dans la population féline française étudiée 43
C. Relation entre *Tritrichomonas fœtus* et la diarrhée 45
D. Facteurs de risque associés à l'infection et signes cliniques 45
1) Influence du sexe 45
2) Influence de l'âge 45
3) Influence du nombre de chats dans la chatterie 46
4) Influence de la nourriture 46
5) Influence de la présence d'un chien 47
E. Comparaison entre culture par In-Pouch TF™ Feline et PCR 47
F. Caractérisation moléculaire des isolats de Trichomonadidés 48
IV. Discussion 48
A. Prévalence de la trichomonose féline 48
B. Diarrhée et facteurs de risque 48
C. Comparaison culture et PCR 49

D. Apports de la phylogénie 50
Conclusion 52
Bibliographie 53
Annexes 58

Annexe 1 : Mode d'emploi du système In-Pouch réalisé pour les vétérinaires 58
Annexe 2 : Questionnaire distribué aux éleveurs lors du dépistage en exposition féline 60
Annexe 3: Résultats des expositions 61
Annexe 4 : Alignement des séquences des régions ITS1 et ITS2 66
Annexe 5: Abstract de la présentation au congrès national vétérinaire à Lyon en 2011 67
Annexe 6: Publication dans Veterinary Parasitology en 2013 68

Liste des figures

Figure 1 : Différentes formes de Trichomonadidés, observées chez un chat par Brumpt en 1925..... 14
Figure 2 : Rangs les plus hauts de la nouvelle classification des Eucaryotes..... 15
Figure 3 : Analyse phylogénétique du maximum de parenté utilisant les 10 loci et les 4552 positions d'alignement des données finales. 18
Figure 4 : Photographie de *Tritrichomonas fœtus* observé au microscope G=400..... 18
Figure 5 : *Tritrichomonas fœtus* observé au microscope électronique 19
Figure 6 : Structure de *Tritrichomonas fœtus*..... 20
Figure 7 : Hydrogénosome de *Tritrichomonas fœtus* bovin au microscope électronique..... 22
Figure 8 : Pseudokyste de *Tritrichomonas fœtus* observé au microscope électronique..... 23
Figure 9 : Etudes épidémiologiques de *Tritrichomonas fœtus* chez le chat dans le monde. 25
Figure 10 : Photographies au microscope électronique. Côlon d'un chat souffrant d'une infection intestinale à *T. fœtus*. 30
Figure 11 : Ecouvillon rectal..... 32
Figure 12 : Poche de prélèvement In-Pouch™ TF-Feline 33
Figure 13: Chaton prélevé par écouvillon rectal. Contention réalisée par clipnose. 41
Figure 14: Adulte prélevé par écouvillon rectal..... 41
Figure 15: Ensemencement de la poche avec l'écouvillon..... 42
Figure 16: Répartition géographique des chats positifs (en noir) et négatifs (en blanc) pour le portage de *T. fœtus* dans cette étude. 43
Figure 17 : *Tritrichomonas fœtus* observé au microscope optique au grossissement x400..... 44
Figure 18 : Deux *Tritrichomonas fœtus* observés au microscope optique au grossissement x400 44
Figure 19 : Culture fortement positive (tous les ronds sont des parasites), au microscope optique grossissement x200 44
Figure 20: Pourcentage de chats porteurs de *T. fœtus* en fonction de l'âge, avec deux classes d'âge 45
Figure 21 : Pourcentage de chats porteurs de *T. fœtus* dans la population testée en fonction de l'âge, avec quatre classes d'âge..... 46
Figure 22 : Nombre de chats testés positifs ou négatifs pour *T. fœtus* en fonction du type de nourriture 46
Figure 23: Nombre de chats testés positifs ou négatifs pour *T. fœtus* en fonction de la présence d'un chien..... 47

Liste des tableaux

Tableau I: Localisation et fonction des structures cytosquelettiques et organites des Trichomonadidés 20
Tableau II : Prévalence du portage de *Tritrichomonas fœtus* chez le chat dans le monde 24
Tableau III : Critères de différentiation des diarrhées de l'intestin grêle et du côlon 28
Tableau IV : Causes inflammatoires et infectieuses de diarrhée féline (Stockdale *et al.* (2006)) 31
Tableau V : Trichomonadidés d'importance en médecine humaine et vétérinaire 39
Tableau VI : Répartition des cas de portage de *T. fœtus* en fonction de l'historique de diarrhée 45
Tableau VII : Correspondance entre PCR et culture In-Pouch TF™ Feline 47
Tableau VIII : Comparaison entre In-Pouch TF™ Feline et PCR 50

Liste des abréviations

Abréviation	Libellé
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
BID	Bis In Die - Deux fois par jour
GAPDH	Glycéraldéhyde phosphate déshydrogénase
LVD 69	Laboratoire Vétérinaire Départemental du Rhône (69)
PCR	Polymerase Chain Reaction – Amplification en Chaine par Polymérase
P. hominis	*Pentatrichomonas hominis*
PIF	Péritonite Infectieuse Féline
T. fœtus	*Tritrichomonas fœtus*
SID	Semel In Die - Une fois par jour
SNP	Single Nucleotide Polymorphism – Polymorphisme sur un seul nucléotide

Introduction

Les Trichomonadidés sont des protozoaires très anciens qui se sont différenciés très tôt phylogénétiquement. En effet, une étude récente de Frey et Muller 2012, suggère que les dinosaures étaient déjà affectés par des Trichomonadidés. Même si de nombreux membres de la famille des Trichomonadidés sont non pathogènes, ou considérés comme commensaux de l'intestin, de la cavité nasale, ou orale, certains sont responsables de pathologies très graves que ce soit chez l'homme ou chez l'animal. *Trichomonas vaginalis*, par exemple, provoque la plus importante maladie sexuellement transmissible non virale chez l'homme à travers le monde. *Tritrichomonas fœtus* est un pathogène transmis sexuellement qui touche les bovins et provoque d'importantes pertes économiques en élevage. *Trichomonas gallinae* affecte quant à lui les oiseaux et peut provoquer une maladie grave, voire fatale, du système digestif.

Depuis une dizaine d'années, des études tout d'abord américaines puis mondiales, ont démontré la pathogénicité de *Tritrichomonas fœtus* chez le chat. Ce parasite colonise le côlon, le caecum, et l'iléon du chat, et provoque chez certains individus une diarrhée chronique intermittente, le plus souvent sans conséquence sur la santé de l'animal, mais parfois beaucoup plus catastrophique chez des animaux très jeunes. Si plusieurs facteurs de risque comme la vie en communauté ou l'âge ont pût être mis en évidence, l'épidémiologie et notamment la transmission du parasite restent encore difficiles à comprendre. En effet, à ce jour, même si des pseudo-kystes ont été observés, aucune forme kystique pouvant survivre dans le milieu extérieur n'a été observé pour *Tritrichomonas fœtus*, contrairement à son proche parent, *Giardia duodenalis,* qui est un protozoaire responsable de diarrhée chronique chez le chat et le chien (Cook 2008).

C'est dans ce contexte de maladie émergente ou ré-émergente que nous avons souhaité réaliser un travail épidémiologique. Ce travail de thèse a consisté en une étude épidémiologique moléculaire de *Tritrichomonas fœtus* chez le chat de race en France, au travers d'un dépistage proposé gratuitement à des éleveurs volontaires, lors de trois expositions félines, entre septembre 2009 et octobre 2010.

Après une première partie bibliographique sur la trichomonose féline, nous aborderons la partie expérimentale de ce travail, qui a abouti à une présentation lors du congrès national vétérinaire 2011, et à une publication en 2013, présentées en annexe.

Première partie : la trichomonose féline

I. Le parasite : *Tritrichomonas fœtus*

A. Historique

Comme beaucoup d'espèces animales et végétales, *Tritrichomonas fœtus* n'a pas toujours porté ce nom. L'isolement de Trichomonas des selles de chats domestiques a été décrit en premier par des chercheurs au Brésil, en France, en Yougoslavie et en Chine durant le début des années 1900 (Gookin *et al.* 1999). Des signes de pathologie gastro-intestinale chez des chats naturellement infectés n'étaient pas rapportés ou étaient difficiles à attribuer uniquement à l'infection par *T. fœtus*.

Le genre Tritrichomonas est créé en 1920 par Kofoïd. *Tritrichomonas fœtus* apparaît sous le nom de « *Trichomonas felis* », observé en 1922 par Da Cunha et Muniz dans le gros intestin d'un chat du Brésil, malade, et atteint de diarrhée. Il est ensuite identifié par Brumpt, en 1925, au cours de ses travaux de recherche sur la dysenterie amibienne du chat (Brumpt 1925, figure 1). C'est en 1928 que Riedmuller lui donne son nom définitif *Tritrichomonas fœtus,* lorsqu'il retrouve le parasite dans des fœtus avortés de bovins. A l'époque, ce protozoaire est presque exclusivement étudié chez cette espèce. Il est responsable d'une maladie sexuellement transmissible, la trichomonose bovine, qui a des conséquences économiques graves puisqu'elle se traduit par une mort embryonnaire précoce, de l'infertilité, des avortements, voire même une stérilité permanente des vaches.

Chez le chat, *Tritrichomonas fœtus* était jusqu'à présent très souvent confondu avec *Giardia duodenalis* et n'était donc pas identifié. Une étude de Gookin *et al.* (2004) précise qu'à l'occasion d'un dépistage dans une exposition féline, aucun éleveur dont le chat avait été testé positif ne connaissait ce parasite. Chez tous les animaux, la diarrhée avait été attribuée à *Giardia duodenalis*.

T. fœtus a été également souvent confondu avec *Pentatrichomonas hominis*. Ce parasite a été identifié en 1854 par Davaine dans des prélèvements de selles humaines. Il sera isolé par la suite par Wenrich en 1944, dans le colon de chats, de chiens, de primates non humains et de cochons d'inde. Il est considéré comme faisant partie de la flore commensale du côlon dans toutes ces espèces (Crucitti *et al.* 2004). Néanmoins, *Pentatrichomonas hominis* fut retrouvé par la suite dans des selles diarrhéiques de chats et de chiens (Gookin *et al.* 2005 et 2007), très fréquemment en co-infestation avec *T. fœtus*, mais son rôle pathogène reste incertain.

Figure 1 : Différentes formes de Trichomonadidés, observées chez un chat par Brumpt en 1925

Par coloration à l'hématoxyline ferrique après fixation des frottis humides, par l'acide osmotique et le liquide de Bouin. (Brumpt 1925)

B. Classification et taxonomie

1) Place de *Tritrichomonas fœtus*

Tritrichomonas fœtus est un protozoaire de la famille des Trichomonadidés, du genre *Tritrichomonas Kofoid*, 1920. Les Trichomonadidés sont des protistes flagellés obligatoires retrouvés chez les invertébrés et les vertébrés incluant les mammifères. Ils sont considérés comme faisant partie des organismes eucaryotes les plus primitifs.

L'ancienne classification était basée sur des éléments morphologiques observés au microscope photonique. Une nouvelle classification des Eucaryotes a été proposée récemment par Adl *et al.* (2005), qui inclue les études de phylogénie moléculaire récentes, principalement basées sur l'ARNr 16S. Elle regroupe les Eucaryotes en six « super-groupes », chacun divisé ensuite en rangs. Les super-groupes et deux premiers rangs de la nouvelle classification sont présentés dans la figure 2.

Super-groups	First rank	Second rank, examples
Amoebozoa	Tubulinea	Leptomyxida, Testacealobosia, Tubulinida
	Flabellinea	*Cochliopodium*, Dactylopodia, Thecamoebida, Vanellida
	Stereomyxida	
	Acanthamoebidae	
	Entamoebida	
	Mastigamoebidae	
	Pelomyxa	
	Eumycetozoa	Dictyostelia, Myxogastria, Protostelia
Opisthokonta	Fungi	Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycetes, Glomeromycota, Microsporidia, Urediniomycetes, Ustilaginomycetes, Zygomycota
	Mesomycetozoa	Aphelidea, *Capsaspora*, *Corallochytrium*, Ichthyosporea, *Ministeria*, Nucleariida
	Choanomonada	Acanthoecidae, Monosigidae, Salpingoecidae
	Metazoa*	Porifera, *Trichoplax*, Mesozoa, Animalia
Rhizaria	Cercozoa	Cercomonadida, Chlorarachniophyta, Nucleohelea, Phaeodarea, Phytomyxea, Silicofilosea
	Haplosporidia	
	Foraminifera	Subdivisions uncertain
	Gromia	
	Radiolaria	Acantharia, Polycystinea, *Sticholonche*
Archaeplastida	Glaucophyta	
	Rhodophyceae	Subdivisions uncertain
	Chloroplastida	Charophyta*, Chlorodendrales, Chlorophyta, *Mesostigma*, Prasinophytae
Chromalveolata	Cryptophyceae	Cryptomonadales, Goniomonadales
	Haptophyta	Pavlovophyceae, Prymnesiophyceae
	Stramenopiles	Actinophryidae, Bacillariophyta, *Bolidomonas*, Bicosoecida, Chrysophyceae, Dictyochophyceae, Eustigmatales, Hypochytriales, Labyrinthulomycetes, Opalinata, Pelagophyceae, Peronosporomycetes, Phaeophyceae*, Phaeothamniophyceae, Pinguiochrysidales, Raphidiophyceae, *Schizocladia*, Synurales, Xanthophyceae
	Alveolata	Apicomplexa, Ciliophora, Dinozoa
Excavata	Fornicata	*Carpediemonas*, Eopharyngia
	Malawimonas	
	Parabasalia	Cristamonadida, Spirotrichonymphida, Trichomonadida, Trichonymphida
	Preaxostyla	Oxymonadida, *Trimastix*
	Jakobida	Histionidae, *Jakoba*
	Heterolobosea	Acrasidae, Gruberellidae, Vahlkampfiidae
	Euglenozoa	Euglenida, Diplonemea, Kinetoplastea

*Clades with multicellular groups.

Figure 2 : Rangs les plus hauts de la nouvelle classification des Eucaryotes

Adl *et al.* (2005). En bleu, place des animaux ; en rose, place des Trichomonadidés.

Voici le détail de la classification de *Tritrichomonas fœtus*, d'après Adl *et al.* (2005).

Super Groupe : Excavata : (qui signifie "creusés"). Eucaryotes unicellulaires hétérotrophes généralement flagellés. Le type ancestral se caractérise par la présence d'un sillon d'alimentation, le cytostome, permettant la capture et l'ingestion de fines particules alimentaires.

Premier rang : Parabasalia : Eucaryote unicellulaire possédant un corps parabasal et des hydrogénosomes, producteurs d'énergie, à la place des mitochondries. Une des caractéristiques du groupe est la cinétide qui comprend un axostyle, un corps parabasal, et plus ou moins trois flagelles antérieurs et un récurrent associé à une membrane ondulante. Le corps parabasal est composé de fibres filamenteuses striées qui relient l'appareil de Golgi au système flagellaire. Le fuseau mitotique (lors de la division cellulaire) est extranucléaire.

Deuxième rang : Trichomonadida : Eucaryote unicellulaire possédant 2 à 8 flagelles, pas de kinétoplaste mais 3 à 5 kinétosomes antérieurs et un kinétosome postérieur qui supportent généralement des flagelles. Présence d'un flagelle récurrent bordant une membrane ondulante et parfois d'un complexe pelta-axostyle (squelette axial microtubulaire).

Le deuxième rang Trichomonadida comprend plusieurs familles : *Cochlosoma, Dientamoeba, Monocercomonas, Pentatrichomonoides, Pseudotrichomonoides, Pseudotrichomonas, Trichomitopsis, Trichomonas et* ***Tritrichomonas****.*

2) Apports des études phylogénétiques récentes

a) T. fœtus bovin et T. suis appartiennent à la même espèce

Tritrichomonas fœtus a été observé en premier par Kunstler (1888) et Mazzanti (1990). Cependant le nom *Trichomonas fœtus* lui fut donné par Riedmüller en 1928. Wenrich et Emmerson (1933) classèrent ensuite l'espèce dans le genre *Tritrichomonas.*

Tritrichomonas suis est le nom donné aux trichomonadidés de la cavité nasale, de l'estomac, du petit et large intestin, et du caecum du porc. Le rapport le plus ancien de trichomonadidés dans l'estomac du porc a été fait par Gruby et Delafond (1843), et l'organisme a été nommé *Trichomonas suis* par Davaine en 1877. Les trichomonadidés porcins sont maintenant considérés comme des parasites commensaux non pathogènes (Bon Durant et Honigberg 1994) (Tachezy *et al.* 2002).

D'après le concept d'espèce biologique, une espèce est généralement perçue comme une communauté reproductrice dont le pool génétique reste cohérent par le croisement et l'échange de matériel génétique. Ce concept n'est pas applicable aux protistes et autres organismes unicellulaires qui se reproduisent par clonage ou semi-clonage. Les espèces sont alors décrites sur des bases morphologiques, spécificité d'hôte, pathogénicité, d'autres caractères physiologiques et épidémiologiques, et la divergence phylogénétique. Dans le cas de *T. fœtus* et *T. suis*, des études d'infection croisées entre le porc et le bovin, des études phylogénétiques, ainsi que des études de virulence sur des souris montrent une similitude totale entre les deux organismes, permettant de conclure qu'ils appartiennent à la même espèce (Tachezy *et al*. 2002).

Ces résultats sont très importants puisque la trichomonose bovine est considérée comme éradiquée dans de nombreux pays européens, alors que la trichomonose porcine ne l'est pas du tout. Les porcs pourraient donc constituer un réservoir naturel et un risque de réintroduction de la trichomonose bovine si les deux espèces animales sont élevées ensembles (Tachezy *et al*. 2002).

Théoriquement, du fait des règles d'antériorité, le nom *Tritrichomonas suis* est prioritaire sur *Tritrichomonas fœtus*. Cependant, l'importance de *Tritrichomonas fœtus* dans la littérature scientifique rend difficile un changement de nom et on utilise toujours *T. fœtus* dans les publications récentes. Les deux organismes sont tout de même répertoriés sous le nom *Tritrichomonas suis* dans la banque de données GenBank.

b) T. fœtus *bovin et* T. fœtus *félin semblent différents*

Des études expérimentales ont démontré qu'une souche féline de *T. fœtus* peut infecter un bovin et inversement. La maladie chez la vache induite par la souche féline AUTf-1 de *T. fœtus* est comparable mais pas identique à celle causée par la souche bovine D-1 de *T. fœtus* (Stockdale *et al.* 2007). Deux différences importantes furent observées : premièrement, il y avait une différence significative histopathologique au niveau de l'épithélium de la surface utérine qui était intacte chez les vaches inoculées avec la souche féline, tandis que chez les vaches infectées par la souche bovine, l'épithélium était infiltré par des cellules inflammatoires et caractérisé par la disparition des glandes utérines. Deuxièmement, les huit vaches éliminèrent la souche bovine de *T. fœtus* au cours des vingt semaines de l'expérience, tandis que seulement deux des huit vaches infectées avec la souche féline furent négatives en culture à vingt semaines post inoculation (Stockdale *et al.* 2007).

Une autre étude, réalisée par Slapeta *et al.* (2010), avait pour objectif d'investiguer les différences entre *T. fœtus* du chat domestique et *T. fœtus* du bovin en utilisant les souches récemment isolées, et ainsi de mettre en évidence un « génotype chat » et un « génotype bovin ». Slapeta et son équipe ont ainsi comparé certaines séquences (internal transcribed region ITS) du génome de souches de *T. fœtus* isolées chez des chats et chez des bovins. Ils ont observé une exacte similitude des souches félines entre elles, et des souches bovines entre elles. Cependant des différences sont observées entre les souches félines et bovines et mettent en évidence deux génotypes. Le génotype bovin, responsable d'une maladie vénérienne et d'épidémie d'avortements chez les bovins, et également un parasite commensal du caecum et de la cavité nasale du porc. Le génotype félin est responsable d'une diarrhée chronique intermittente du gros intestin chez les chats domestiques. Cependant, la spécificité d'hôte n'est pas encore assez forte pour nommer formellement deux génotypes. Ces deux génotypes font partie de la même espèce *T. fœtus*. Il est possible que *T. fœtus* subisse actuellement une diversification qui pourrait conduire à une augmentation de la spécificité hôte/parasite (Slapeta *et al.* 2010).

La même équipe a publié très récemment une nouvelle étude qui confirme les résultats précédents. Le génotype bovin de *T. fœtus* est identique à *T. suis* du porc. Le génotype félin de *T. fœtus* est distinct du génotype bovin au niveau de 10 loci différents. L'étude concernait une famille multi génique de cystine protéases. Nombre de ces enzymes sont sécrétées par le parasite et représentent donc des facteurs clefs de virulence. Ces gènes pourraient jouer un rôle dans l'adaptation à l'hôte (Slapeta *et al.* 2012). La relation entre *T. fœtus* bovin, félin, et *T. suis* est illustrée par la figure 3.

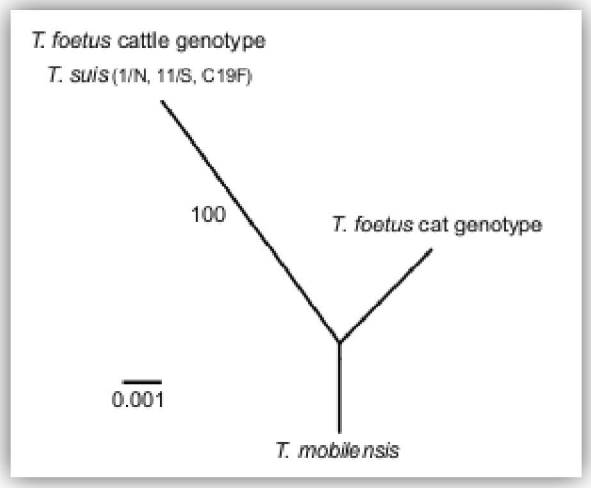


Figure 3 : Analyse phylogénétique du maximum de parenté utilisant les 10 loci et les 4552 positions d'alignement des données finales.

L'arbre est dessiné à l'échelle, avec la longueur des branches proportionnelle au nombre de substitutions de nucléotides par site (Slapeta *et al.* 2012).

C. Structure et morphologie

Figure 4 : Photographie de *Tritrichomonas fœtus* observé au microscope optique G=400

(Profizi, Laboratoire de Parasitologie, 2010)

Tritrichomonas fœtus est un protozoaire unicellulaire. Il possède une morphologie fusiforme à piriforme, avec une extrémité antérieure arrondie et une extrémité postérieure pointue, et mesure 10 à 25 µm de long pour 3 à 15 µm de large. Il possède un unique noyau bien délimité situé dans la partie antérieure de la cellule (Levine 1973).

T. fœtus présente trois flagelles antérieurs mesurant 11 à 17 µm, et un flagelle postérieur libre, appelé flagelle récurrent, d'environ 16 µm chez les parasites normaux, vivants et non en division. Ce flagelle prolonge une membrane ondulante qui s'étend sur presque toute la longueur du corps et possède 2 à 5 vagues. La membrane ondulante est fixée à la surface du corps le long d'un filament appelé la costa. Le flagellé a un axostyle proéminent, fin et hyalin, avec un capitulum contenant des granules endoaxostylaires, et un anneau chromatique au niveau de son émergence à l'extrémité postérieure du corps. Cet axostyle joue le rôle de cytosquelette.

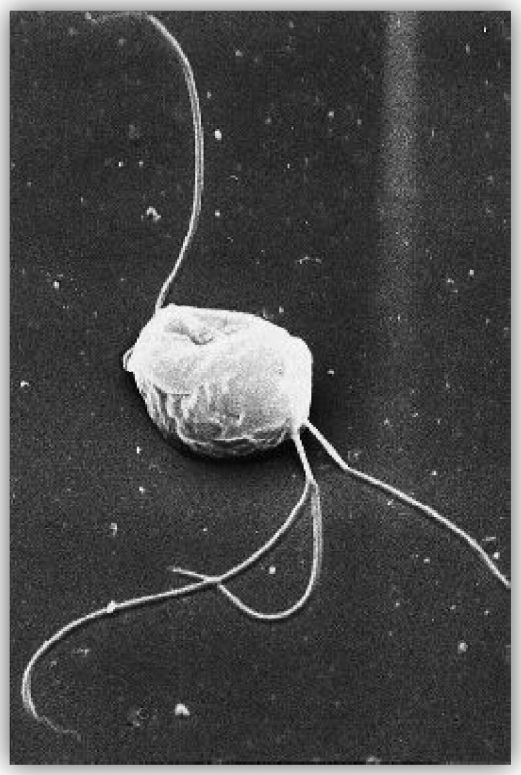


Figure 5 : *Tritrichomonas fœtus* observé au microscope électronique

(Parkinson *et al.* 2001)

Les organites importants sont donc : le noyau, le corps basal, le costa, l'axostyle, le pelta, l'appareil de Golgi, le réticulum endoplasmique rugueux, les vacuoles alimentaires et les hydrogénosomes qui semblent remplacer les mitochondries (Lun *et al.* 2005). La structure de *T. fœtus* est représentée dans la figure 5 et la localisation et la fonction des organites sont présentées dans le tableau I.

L'ultrastructure est spécifique du genre *Tritrichomonas Kofoïd* et n'aide pas à la différenciation des espèces. *T. fœtus* et *T. suis* possèdent une membrane ondulante de type *T. augusta* (Tachezy *et al.* 2002). *T. fœtus*, tout comme *T. suis*, possède 2n=10 chromosomes (Xu *et al.* 1998). La taille du génome de *T. fœtus* est de 177 ± 11 à 12 Mb (millions de paires de bases de nucléotides) (Zubacova *et al.* 2008).

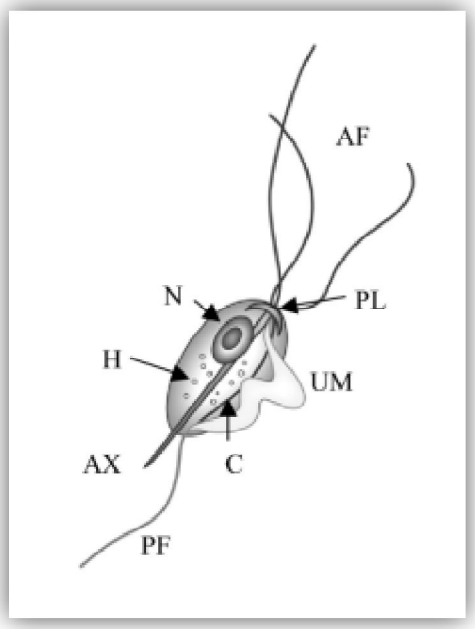


Figure 6 : Structure de *Tritrichomonas fœtus*

AF : flagelles antérieurs ; N : noyau ; H : hydrogénosomes ; AX : axostyle ; PF : flagelle postérieur ; C : costa ; UM : membrane ondulante ; PL : pelta

(Stockdale *et al*. 2006)

Tableau I: Localisation et fonction des structures cytosquelettiques et organites des Trichomonadidés

Organite	Localisation	Fonction
Axostyle	Toute la longueur du corps	Soutien cellulaire
Pelta	Extrémité antérieure	Support des flagelles antérieurs
Costa	En continuité de la membrane ondulante	Support cellulaire au niveau du site d'attachement de la membrane ondulante
Appareil parabasal	Extrémité antérieure, près de l'axostyle	Appareil de Golgi
Hydrogénosomes	Principalement le long de l'axostyle	Métabolisme, production d'énergie
Flagelles	Antérieures et postérieures	Déplacement

D. Biologie

1) Hôtes et habitat

La famille des Trichomonadidés ne comporte que des parasites obligatoires. La plupart vivent dans la cavité buccale, nasale, génitale ou dans le tube digestif des mammifères ou des oiseaux.

Des Trichomonadidés très proches de *T. fœtus* ont été retrouvés dans les poumons d'un patient atteint du SIDA en association avec *Pneumocystis pneumonia* (Duboucher *et al.* 2006).

La présence de *Tritrichomonas fœtus* a été rapportée de façon spontanée principalement chez les bovins, le chat (Gookin *et al.* 2001), et le chien (Gookin *et al.* 2005), mais également chez le zébu, le cheval et le chevreuil. De plus, beaucoup d'espèces animales ont été expérimentalement infectées selon diverses méthodes. Des infections vaginales ont été réussies chez le lapin, le hamster doré, le cochon d'inde, le chien, la chèvre et le porc (Lun *et al.* 2005).

Chez les bovins, on retrouve le parasite au niveau du prépuce chez le mâle, et au niveau du vagin et de l'utérus chez la femelle. Chez le chat et le chien, le parasite se situe dans le tube digestif, au niveau du côlon, de l'iléon et du caecum. Dans une étude récente (Dahlgren *et al.* 2007), *Tritrichomonas fœtus* a été retrouvé dans un utérus de chat qui avait un pyomètre. C'est le seul cas de tropisme génital décrit chez le chat jusqu'à aujourd'hui. Une autre étude de Gray *et al.* (2010) n'a pas trouvé le parasite dans l'appareil reproducteur de quinze chattes atteintes de trichomonose digestive.

Les cystéines protéases ont été rapportées pour être capables de couper la fibronectine, le fibrinogène, la lactoferrine, l'albumine et les immunoglobulines G1 et G2. Ces protéases aident le parasite à se nourrir et sont également connues pour induire l'apoptose des cellules du tractus génital de l'hôte, provoquant chez celui-ci une réaction immunitaire importante. Chez les bovins, *T. fœtus* sécrète des cystéines protéases extracellulaire pour dégrader les polypeptides dans le mucus vaginal des vaches infectées. Les cystéines protéases ont donc un rôle vital dans les interactions hôte-parasite comme la virulence, l'adhérence, le métabolisme et l'induction de l'inflammation. Dans une étude de 2012, Sun et son équipe ont découvert des différences génotypiques entre la cystéine protéase 8 des souches bovines et félines de *Tritrichomonas fœtus*, pouvant expliquer en partie les différences de pathogénicité chez ces deux hôtes, et notamment la différence de localisation chez l'hôte.

2) Métabolisme

Les Trichomonadidés ont un mode de vie micro-aérophile ou anaérobie. Ils sont hétérotrophes. *Tritrichomonas fœtus* ne possède pas de mitochondries mais des organites particuliers, sphériques, les hydrogénosomes, qui synthétisent de l'ATP, énergie de la cellule (Benchimol *et al.* 2004 et Midlej *et al.* 2011).

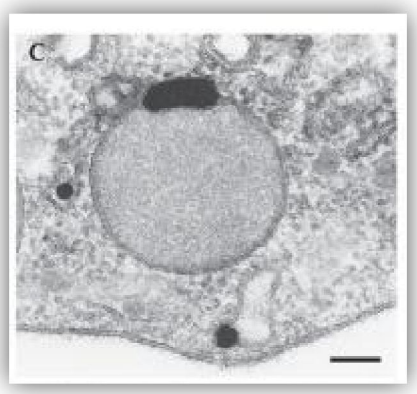


Figure 7 : Hydrogénosome de *Tritrichomonas fœtus* bovin au microscope optique

Echelle 100 nm

(Van der Giezen *et al.* 2005)

3) Nutrition

Les Trichomonadidés se nourrissent en phagocytant les fluides de leurs hôtes, des leucocytes ou des bactéries (Mehlhorn *et al.* 2001).

4) Reproduction

Tritrichomonas fœtus se reproduit de façon asexuée par fission binaire longitudinale (Levine 1973). La forme active du parasite se nomme le trophozoïte, par opposition à la forme pseudokystique.

5) Transmission

La transmission de *Tritrichomonas fœtus* se fait par contact direct entre individus (Gookin *et al.* 2001), soit par le coït chez la vache, soit très probablement par léchage ou par ingestion de matières contaminées chez le chat. Des trophozoïtes sont excrétés par le chat porteur dans ses selles, et les autres chats utilisent la même litière et ingèrent les trophozoïtes en faisant leur toilette. La toilette entre individus contribue surement encore plus directement à la transmission du parasite.

Contrairement à de nombreux protozoaires parasites, *T. fœtus* semble incapable de former des formes kystiques et ne peut pas survivre à l'extérieur de son hôte très longtemps. Cependant une forme pseudokystique a été découverte dans des cultures en conditions naturelles, et peut-être induite sous certaines conditions qui provoquent un stress physiologique, notamment des traitements à l'hydroxy-urée, ou des cycles de cultures froides et chaudes.

Il reste encore à prouver dans quelle mesure la transmission vénérienne est possible ou non. En effet, *T. fœtus* a été isolé en Argentine chez 12 vaches n'ayant jamais été saillies, mais il est possible que les organismes cultivés soient d'une autre espèce *T. fœtus*-like (Lun *et al.* 2005).

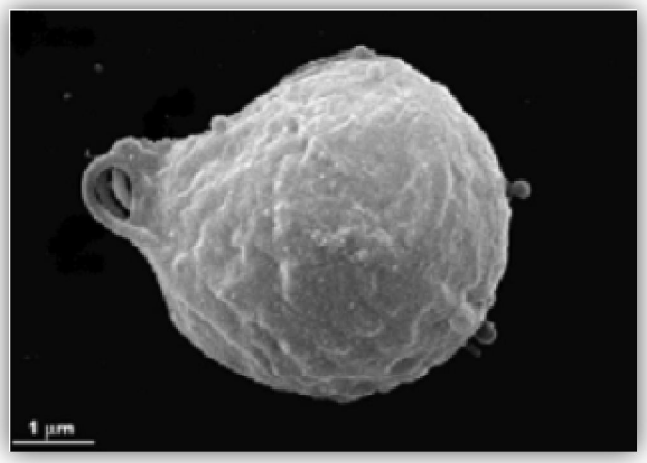


Figure 8 : Pseudokyste de *Tritrichomonas fœtus* observé au microscope électronique

(Midlej *et al.* 2011)

Ce qu'il faut retenir :

- ✓ *Tritrichomonas fœtus* est un protozoaire flagellé.
- ✓ Il est connu depuis longtemps dans le monde entier comme pathogène de l'appareil reproducteur chez les bovins.
- ✓ *Tritrichomonas fœtus* semble ne faire qu'un avec son synonyme *Trichomonas suis*, pathogène du porc chez qui le portage est fréquent.
- ✓ Les dernières études phylogénétiques indiqueraient qu'il existe une souche bovine et une souche féline de *Tritrichomonas fœtus*.
- ✓ Chez le chat, *Tritrichomonas fœtus* se retrouve dans le côlon, l'iléon et le caecum.
- ✓ *T. fœtus* se transmet par contact direct entre chats, par voie oro-fécale. Cependant, une étude a réussi à mettre en évidence une forme pseudo-kystique.

II. Epidémiologie de la Trichomonose féline

A. Répartition géographique de *T. fœtus* chez le chat et prévalence

T. fœtus est un parasite présent dans le monde entier, comme en témoignent les nombreuses études de prévalence et les rapports de cas présentés dans le tableau II ci-dessous. Sa prévalence varie entre 0 et 81% selon les pays et surtout le type d'étude.

Tableau II : Prévalence du portage de *Tritrichomonas fœtus* chez le chat dans le monde

Pays et année	Population	Méthodes	Prévalence	Référence
Amérique du Nord				
Canada	1 cas rapporté	PCR		Pahm 2009
USA 2008	173 chats chez des vétérinaires	InPouch/PCR	**10 %**	Stockdale 2009
USA 2004	117 chats lors d'une exposition	Direct/InPouch/PCR	**31 %**	Gookin 2004
Europe				
Allemagne 2011	230 chats de race dans cinq expositions	InPouch/PCR	**15,7 %**	Kuehner 2011
Norvège 2011	52 chats de race dans trois expositions	InPouch/PCR	**21 %**	Tysnes 2011
Grèce 2010	31 chats	PCR	**20 %**	Xenoulis 2010
Italie 2009	74 chats diarrhéiques en refuge	Direct/InPouch/PCR	**32 %**	Holliday 2009
Suisse 2008	45 chats diarrhéiques	InPouch/PCR	**24 %**	Frey 2009
Angleterre 2007	111 chats diarrhéiques	PCR	**14,4 %**	Gunn-Moore 2007
Asie-Australie				
Corée	1 cas rapporté	Direct/InPouch/PCR		Lim 2010
Japon 2011	147 chats diarrhéiques	InPouch/PCR	**8,8 % (4,1 à 13,8 %)**	Doi 2011
Australie	38 cas rapportés	PCR		Bell 2010
Australie 2009	134 chats dont 82 de race, et 52 de refuge	InPouch/PCR	**0 %**	Bissett 2009
Nouvelle Zélande 2006	22 chats de race dans deux expositions	InPouch/PCR	**81,8 %**	Kingsbury 2010

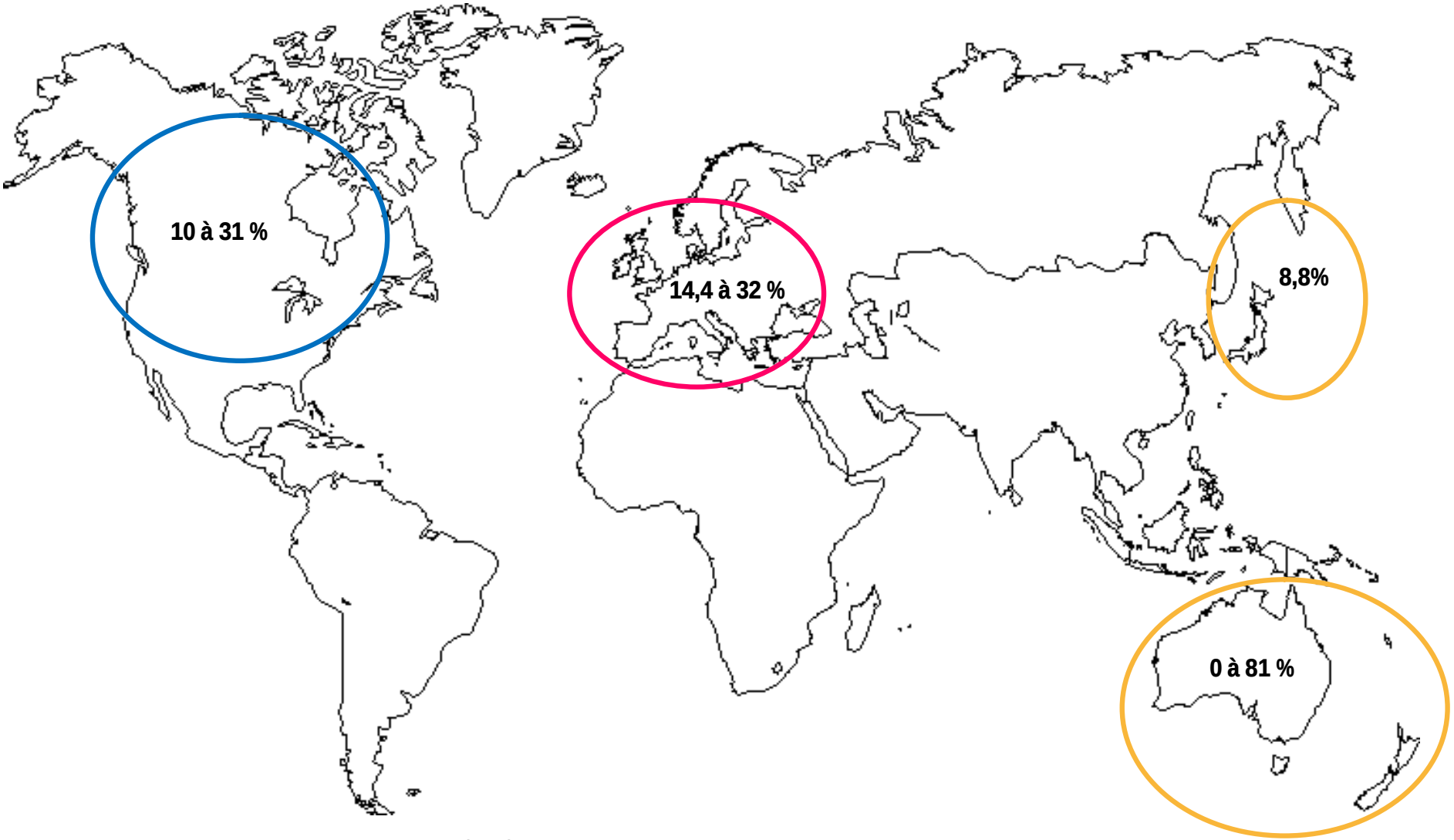


Figure 9 : Etudes épidémiologiques de *Tritrichomonas fœtus* chez le chat dans le monde.

B. Sources et mode de transmission

Comme nous l'avons vu plus tôt, de nombreuses équipes de recherche s'accordent pour dire que la voie de transmission de *Tritrichomonas fœtus* est la voie oro-fécale. Des parasites sont excrétés dans les selles des animaux infestés, et les autres chats vivants dans la même maison se contaminent en faisant leur toilette après avoir marché dans la litière, ou par toilettage mutuel. Actuellement, aucun autre mode de transmission n'a pu être mis en évidence, même si la découverte d'une forme pseudo-kystique nous impose de moduler ces conclusions. *T. fœtus* ne survit pas dans la litière seule mais il peut survivre plus de 3h dans l'urine et jusqu'à 24h dans les selles (Rosypal *et al.* 2012 et Hale *et al.* 2009).

Une étude très originale de Van der Saag publiée en 2011 montre que *T. fœtus* peut survivre 5 jours dans la nourriture pour chat. Il passe sans soucis à travers le tube digestif de deux espèces de limaces communes en Australie ce qui pourrait expliquer une partie de sa survie et dissémination dans le milieu extérieur, notamment pour les chats qui ont leur nourriture à l'extérieur et dans laquelle les limaces peuvent manger et faire leurs selles !

C. Facteurs de risque

Plusieurs facteurs de risque ont pu être mis en évidence, notamment par l'équipe de Gookin :

- L'âge : les individus jeunes sont plus sensibles au parasitisme et développent plus souvent une diarrhée qu'un adulte qui subirait la même pression infectieuse.
- La taille de la communauté : plus la chatterie ou la communauté est importante (refuges par exemple), plus la pression infectieuse est importante et plus les animaux développent facilement la maladie (Gookin 2004).
- Une poly-infestation : une infestation concomitante à *Cryptosporidium* a provoqué une diarrhée d'apparition plus rapide et plus marquée que chez les chats uniquement porteurs de *Tritrichomonas fœtus* (Gookin 2001).

L'influence de l'immunodépression n'a pas été démontrée. Dans l'étude de Gookin (2001), un traitement immunosuppressif à base de prednisolone n'a pas eu d'effet sur la consistance des fèces ou la fréquence des résultats positifs par examen direct des selles.

Ce qu'il faut retenir :

- ✓ *Tritrichomonas fœtus* est présent dans le monde entier.
- ✓ La France est actuellement indemne de trichomonose bovine.
- ✓ La prévalence de la trichomonose féline varie de 0 à 81 % selon les pays et le type d'étude.
- ✓ Le parasite se transmet par voie oro-fécale directe et peut survivre jusqu'à 24h dans les selles.
- ✓ Le principal facteur de risque est la vie en communauté (chatteries, refuges).

III. Expression clinique

A. Pathogénie

Dans son étude de 2001, Gookin et son équipe ont infecté expérimentalement 8 chatons âgés de 4 mois, par voie orale, à partir d'une culture axénique de *T. fœtus* isolé d'un chaton diarrhéique. L'infection a été effective chez les 8 chats, à partir du 2ème jour post-inoculation et durant les 203 jours de l'étude, et a provoqué une diarrhée résolue en 7 semaines. Quatre des 8 chats étaient des animaux specific-pathogen-free. Cette étude démontre la pathogénicité chez le chat de *Tritrichomonas fœtus,* qui à lui seul peut provoquer l'apparition d'une diarrhée (Gookin *et al.* 2001). Dans cette étude, des *Tritrichomonas* ont été observés exclusivement dans l'iléum, le caecum, le côlon et le rectum.

Dans l'espèce bovine, chez qui *T. fœtus* est responsable de maladie vénérienne, l'adhérence de *T. fœtus* à l'épithélium utéro-vaginal est considéré comme un premier pas critique dans la pathogénicité de *T. fœtus.* De plus, l'adhérence est connue pour être un pré-requis essentiel dans la colonisation intestinale et la cytopathogénicité de nombreux protozoaires intestinaux incluant *Giardia intestinalis*, qui utilise son disque adhésif ventral pour faciliter son adhérence à l'épithélium du petit intestin. L'équipe de Tolbert *et al.* a montré en 2012 que le *Tritrichomonas fœtus* félin adhère à l'épithélium intestinal monocouche par un mécanisme récepteur-ligand dépendant. Cette adhésion requiert la viabilité de *T. fœtus* mais est indépendante de l'intégrité de son cytosquelette. L'adhésion de *T. fœtus* suit une cinétique de liaison saturable et compétitive qui suggère des interactions récepteur-ligand spécifiques avec l'épithélium. Cette étude montre que l'adhésion de *T. fœtus* à l'épithélium intestinal pourrait être inhibée chimiquement.

Rappelons également le rôle de CP8, cette cystéine protéase qui joue un rôle très important dans les interactions hôte parasite en permettant notamment l'adhérence du parasite à la muqueuse de l'hôte, et dont les différences entre souches de *Tritrichomonas fœtus* peuvent expliquer la pathogénicité ou du moins la virulence (Sun *et al.* 2012).

B. Symptômes

De nombreuses études ont été menées ces 15 dernières années : des études d'infection expérimentale, des études de prévalence du parasite dans une population tout venant, et des études de prévalence du parasite dans une population de chats malades.

En 1999, Gookin et son équipe publient une étude sur 32 chats naturellement porteurs de *Tritrichomonas fœtus*. Tous présentaient les signes suivant : diarrhée malodorante, pâteuse à semi-moulée, et contenant fréquemment du sang frais et du mucus. L'émission involontaire de selles était fréquente. La défécation était souvent accompagnée de flatulences et de ténesme. La durée de la diarrhée était de 2 jours à 3 ans. L'examen clinique des animaux ne présentait pas d'anomalie excepté l'anus qui apparaissait souvent érythémateux, œdémacié, et douloureux. Ces signes sont caractéristiques d'une atteinte du côlon. Pour rappel, les critères de différentiation d'une diarrhée du petit et du gros intestin sont présentés dans le tableau III.

Tableau III : Critères de différentiation des diarrhées de l'intestin grêle et du côlon

	Diarrhée de l'intestin grêle	Diarrhée du côlon
Fréquence des défécations	Augmentée ou non	Très augmentée
Aspect des selles	Liquides ou molles (non moulées) +/- méléna +/- aliments non digérés	Molles Mucus +/- sang frais
Volume	Toujours augmenté	Normal
Répercussions sur l'état général	Répercussions très importantes Etat général souvent altéré Hyperthermie, anorexie, polydipsie	Faibles répercussions voir aucune
Signes associés	Distension abdominale Borborygmes Vomissements Polydipsie	Ténesme Prurit anal

Dans l'étude de Kingsbury *et al.* (2010), sur 22 chats testés dans une exposition féline, 18 sont positifs pour *T. fœtus* en PCR. Cinq d'entre eux avaient eu la diarrhée durant les 6 mois précédant, qui avait duré de 3 jours à 8 semaines. Chez ces cinq chats, du mucus a été observé dans les selles, et pour 4 d'entre eux une hémochésie était également présente. Une perte de poids était rapportée pour l'un des chats mais il n'avait présenté une diarrhée que pendant 3 jours. Aucun chat ne souffrait de diarrhée au moment des prélèvements.

En 2009, Holliday et son équipe rapportent qu'un chaton de 7 mois, diagnostiqué porteur de *T. fœtus* et atteint d'une très sévère diarrhée, est mort de septicémie après 2 jours de traitement. On peut suspecter une lésion profonde de la muqueuse colique ayant entrainé un choc endotoxémique. C'est un des rares cas de trichomonose mortelle.

Afin de vérifier la responsabilité de *T. fœtus*, Gookin et son équipe infectent expérimentalement, en 2001, 8 chatons, âgés de 4 mois. Chez ces 8 chatons, une diarrhée (semi moulées à bouse de vache) est observée pendant 7 semaines. Aucune modification n'est observée dans la fréquence de défécation, la température rectale, l'appétit, le poids, le comportement, ou l'apparition de vomissements (Gookin *et al.* 2001).

Ces observations sont confirmées dans d'autres études comme par exemple celle de Stockdale *et al.* (2009). Cent soixante treize chats sont recrutés au hasard par des vétérinaires. Dix sept sont porteurs de *T. fœtus*. Tous présentent une diarrhée chronique, sans forcément de sang ou de mucus, mais parfois avec des vomissements et une perte de poids. Il est intéressant de noter que 35% des chats recrutés présentaient une diarrhée et n'étaient pas porteurs de *T. fœtus*. De plus 53%

des chats positifs souffraient d'une infection concomitante couramment responsable de diarrhée (Giardia, Cryptosporidium, coccidies, PIF (1 cas)).

Pour étudier l'évolution de la maladie, Gookin et son équipe suivent 26 chats souffrants de diarrhée associée à une trichomonose intestinale, diagnostiquée au moins 22 mois avant le début de l'étude (Gookin *et al.* 2004). Vingt-trois chats avaient eu une complète résolution de leur diarrhée en moyenne 9 mois après le diagnostic (4 à 24 mois). L'analyse des selles a montré une persistance de l'infestation chez 12 chats, avec une moyenne de 39 mois après la résolution de la diarrhée. Cela montre que l'infestation sans signe clinique peut être prolongée. Cette étude suggère que la majorité des chats atteints de diarrhée du gros intestin par infection à *T. fœtus* auront une résolution de la diarrhée spontanée dans les 2 ans.

D'autres études de prévalence montrent également que beaucoup de chats sont porteurs asymptomatiques, et on peut se demander si tous ces chats ne sont pas en fait dans la période asymptomatique de résolution de l'infestation ; L'étude de Xenoulis *et al.* (2010) rapporte 6 chats porteurs de *T. fœtus* sur une population de 30 chats testés. Tous avaient des selles totalement normales. En 2011, Tysnes *et al.* publient une étude dans laquelle 52 chats d'une exposition féline sont testés. Onze sont positifs (21%) et aucun chat n'a de diarrhée. Tous les chats testés sont déclarés en bonne santé par leur propriétaire. L'étude de Kuehner *et al.* (2011) comprenait 230 chats de race avec une prévalence de 15% de porteurs de *T. fœtus*. Parmi ces chats positifs, 64% avaient un score fécal entre 1 et 2 et 61% avaient un historique de diarrhée.

C. Lésions

Les lésions du côlon provoquées par *T. fœtus* sont principalement décrites par l'étude de Yaeger et Gookin publiée en 2005. Quarante-trois sections de côlon de 7 chats, âgés de 10 semaines à 12 mois, infectés de façon naturelle par *T. fœtus*, et atteints de diarrhée chronique, ont été évaluées par microscopie optique, immuno-histochimie, et microscopie électronique. Des *T. fœtus* furent identifiés chez tous les chats mais seulement dans 56 % (24/43) des sections de côlon. Les parasites étaient généralement présents en association étroite avec la muqueuse colique, et moins fréquemment dans la lumière des cryptes. La présence de *T. fœtus* dans le côlon était constamment associée avec une colite lympho-plasmocytaire et neutrophilique légère à modérée, une hypertrophie des cellules épithéliales des cryptes, une hyperplasie et une augmentation de l'activité mitotique, une diminution du nombre des cellules en gobelet, des micro-abcès au niveau des villosités des cryptes, et un amincissement de la muqueuse colique. Chez deux chats, les lésions histologiques étaient plus sévères et étaient associées avec l'invasion de la lamina propria et/ou des couches plus profondes de la paroi colique par les parasites. Lors de biopsie, il est nécessaire de prélever au moins 6 échantillons de côlon, car le parasite n'est pas forcément présent dans toutes les sections.

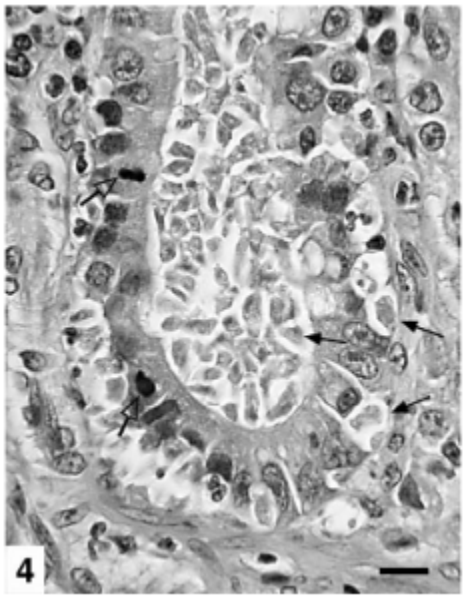


Figure 10 : Photographies au microscope optique. Côlon d'un chat souffrant d'une infection intestinale à *T. fœtus*.

Les Trichomonadidés sont visibles dans la lumière d'une crypte, avec une invasion de la lamina propria. On note une hypertrophie des cellules épithéliales des cryptes, une augmentation de l'activité mitotique et une absence de cellules en gobelet. Coloration Hémalin Eosine. Echelle = 20 µm (Yaeger et Gookin 2005)

Ce qu'il faut retenir :

- ✓ *Tritrichomonas fœtus* est un parasite pathogène du côlon chez le chat.
- ✓ De nombreux animaux sont porteurs asymptomatiques.
- ✓ *Tritrichomonas fœtus* provoque chez certains individus une diarrhée chronique et intermittente du gros intestin, le plus souvent sans altération de l'état général.
- ✓ Dans certains cas graves, l'animal souffre d'une diarrhée chronique avec du ténesme, des flatulences, un anus érythémateux, œdémacié et douloureux, altérant l'état général de l'animal, et conduisant même parfois à la mort.
- ✓ Le plus souvent la diarrhée disparait spontanément dans les 2 ans.

IV. Diagnostic différentiel

Comme nous l'avons vu précédemment, *Tritrichomonas fœtus* provoque classiquement une diarrhée du gros intestin. Le diagnostic différentiel est donc celui de la diarrhée du gros intestin ou plus largement de la diarrhée car chez le chat il est souvent difficile de faire la différence. Selon l'étude de Gunn-Moore *et al.* (2007), sur 111 chats présentés pour diarrhée, 14% étaient porteurs de *T. fœtus.* Dans une autre étude de Holliday *et al.* (2009), dans un refuge en Italie, sur 74 chats présentant une diarrhée chronique du gros intestin, 32% étaient porteurs de *T. fœtus*. *Tritrichomonas fœtus* doit donc définitivement faire partie du diagnostic différentiel face à une diarrhée chronique. Les causes de diarrhée féline sont présentées dans le tableau IV.

Tableau IV : Causes inflammatoires et infectieuses de diarrhée féline (Stockdale *et al.* 2006 et Cook 2008)

Maladie ou Agent infectieux	Symptômes	Diagnostic
Maladie inflammatoire intestinale	Léthargie Vomissements Diarrhée	Endoscopie Biopsie muqueuse Exclusion des agents infectieux
Virus de l'Immunodéficience Féline	Anorexie Amaigrissement Diarrhée	ELISA PCR
Péritonite Infectieuse Féline	Diarrhée Vomissements Dépression	Sérologie PCR Biopsie
Virus de la Leucose Féline	Hyperthermie Faiblesse Diarrhée	ELISA Immunofluorescence
Cryptosporidiose (*Cryptosporidium spp*)	Diarrhée	ELISA sur fèces Flottaison Anticorps immunofluorescents
Parvovirus félin	Diarrhée Hyperthermie Faiblesse	ELISA
Giardiose (*Giardia duodenalis*)	Diarrhée	Examen direct fécal Flottaison sulfate de zinc ELISA sur fèces
Trichomonose (*Tritrichomonas fœtus*)	Diarrhée	Examen direct PCR Culture
Salmonellose *(Salmonella sp.)*	Diarrhée Hyperthermie Faiblesse	Culture fécale
Clostridiose *(Clostridium perfringens)*	Diarrhée Hyperthermie	Cytologie fécale ELISA PCR
Toxocara cati ***Toxascaris leonine*** ***Trichuris culpis*** ***Ancylostoma tubaeforme***	Diarrhée	Coproscopie

V. Diagnostic de laboratoire

Plusieurs méthodes de diagnostic existent. Les plus utilisées sont l'observation directe des parasites au microscope, la mise en culture et l'Amplification en Chaine par Polymérase (PCR). Pour ces trois méthodes, la première étape est toujours la même : un prélèvement de selles.

A. Prélèvements

1) Selles fraiches

Dans la plupart des études, les prélèvements sont réalisés à partir de selles fraichement émises et récoltées par le propriétaire dans la litière. Une étude de Hale *et al.* (2009) montre que les parasites peuvent survivre 24h dans des selles à température ambiante, si leur concentration est suffisante (au moins $2x10^3$ *T. fœtus* par gramme). Pour avoir la meilleure sensibilité possible, il est tout de même préférable de prélever des selles fraiches de moins de 6h.

2) Ecouvillon rectal

Une autre possibilité est de réaliser un écouvillon rectal. Le parasite se logeant principalement dans la muqueuse du côlon et du rectum, cette méthode est également très intéressante, notamment à réaliser en clinique si les propriétaires n'ont pas pu récupérer des selles fraiches. Dans l'étude de Gookin *et al.* (2001), l'écouvillon rectal donne plus souvent des résultats positifs à l'examen direct au microscope que le prélèvement sur selles fraiches.

Figure 11 : Ecouvillon rectal

B. Observation directe au microscope

La recherche de *Tritrichomonas fœtus* se fait à un grossissement x100 à 200. Les parasites ont un mouvement très caractéristique, on dit « qu'ils dansent le jerk »… Le diagnostic précis est fait d'après les caractéristiques morphologiques de *T. fœtus*. Ce diagnostic se fait au grossissement x400 ou plus afin de visualiser correctement les trois flagelles antérieurs, le flagelle postérieur, et la membrane ondulante (Rae *et al.* 2006). Cependant, l'étude de Gookin *et al*. (2004) rapporte une sensibilité de seulement 14 %. La sensibilité de l'observation directe est grandement influencée par le délai entre l'émission des selles et l'observation. En effet, comme les parasites se trouvent principalement dans le mucus du côlon et que c'est la partie qui se dessèche le plus vite, quelques heures suffisent à faire diminuer très fortement le taux de succès de l'examen.

C. Mise en culture

Plusieurs systèmes de culture et de transport ont été décrits, et sont généralement des milieux de croissance. Nous décrirons les deux principaux utilisés.

1) TYM Diamond Medium

Depuis le milieu des années 1940 jusqu'à la fin des années 1980, les échantillons chez les bovins étaient le plus souvent cultivés dans le milieu de Diamond. Ce milieu contient des trypticases, des extraits de levures, du maltose, et du sérum.

2) In-Pouch TM TF Feline

Au début des années 1990, un nouveau milieu contenu dans une poche en plastique, InPouch^{TM} TF-Feline, est commercialisé par BioMed (BioMed Diagnostics, Inc. San Jose, CA). Ce milieu contient également un support nutritif, des antibiotiques, et des antifongiques. Pour la mise en culture, l'incubation est effectuée à une température de 35 à 37°C pendant 18 à 24 heures puis à température ambiante (25°C) pendant cinq jours. L'observation de la culture est réalisée tous les jours (observation microscopique à l'objectif x20 ou x40) en positionnant directement la pochette en plastique sous le microscope. Si la culture est négative au bout de six jours, cela confirme l'absence de *Tritrichomonas fœtus*. La sensibilité des deux milieux a été comparée et est sensiblement similaire. Elle a été estimée entre 81% et 95% (d'après Rae *et al.* 2006).

Ce milieu était réputé jusqu'à présent totalement spécifique pour *Tritrichomonas fœtus*, mais une étude très récente a démontré la survie pendant 5 jours de *Pentatrichomonas hominis*, qui est un parasite commensal occasionnel non pathogène du tractus digestif du chat, le plus souvent présent en co-infection avec *T. fœtus* (Ceplecha *et al.* 2013). Les auteurs mettent donc en garde les vétérinaires contre une erreur de diagnostic et l'administration d'un traitement non justifié, car comme nous le verrons plus tard, le traitement de la trichomonose n'est pas sans danger. De plus, cette découverte remet en question toutes les études précédentes qui utilisaient uniquement ce système de culture. Malgré tout, la différenciation au microscope optique est tout à fait réalisable d'après le nombre de flagelles, et la culture garde donc tout son intérêt.

Figure 12 : Poche de prélèvement In-Pouch^{TM} TF-Feline

D. Amplification en Chaine par Polymérase (PCR)

Cette méthode de biologie moléculaire a été mise au point en 1985 par Kary Mullis. Ce procédé permet, grâce à une ADN polymérase thermorésistante, d'obtenir *in vitro* une amplification d'environ 10^5 à 10^6 d'un fragment donné d'ADN afin de pouvoir le détecter et l'étudier (Site internet de l'Université Pierre et Marie Curie).

Cette technique est la plus sensible (94% dans l'étude de Gookin *et al.* (2004)) et la plus spécifique. Il existe en effet une PCR permettant de détecter un fragment d'ADN spécifique des Trichomonadidés, mais également une PCR encore plus spécifique d'espèce permettant d'identifier un fragment d'ADN de *Tritrichomonas fœtus*, et cela grâce au choix des amorces. La réalisation de la PCR se fait sur matières fécales et permet la détection du matériel génétique des parasites vivants ou morts par isolation et amplification du gène ribosomal 5,8 S et des régions ITS1 et ITS2 (Gookin *et al.* 2002). La haute spécificité de la technique est due au choix d'amorces (TFR3, TFR4, TFITS-F et TFITS-R) bien spécifiques d'espèce (Gookin *et al.* 2002). Cependant, cette PCR n'est pas si évidente à réaliser à cause de la présence d'inhibiteurs dans ce type de prélèvements qui sont co-extractés avec l'ADN (polysaccharides complexes, sels biliaires, produits de dégradation de l'hémoglobine, composés phénoliques et métaux lourds). Cette technique a l'avantage, comparée aux deux autres, d'utiliser des matières fécales réfrigérées voire congelées.

E. Histopathologie

Des biopsies coliques peuvent être utilisées pour le diagnostic de la trichomonose, mais cela n'est pas réalisé en routine. L'histopathologie est utilisée dans de très rares cas, soit lors de laparotomie exploratrice, soit en post-mortem. En effet, le diagnostic histologique de trichomonose digestive se heurte à quelques difficultés. Dans l'étude de Yaeger et Gookin (2005), les parasites n'ont été mis en évidence que dans 56% des sections de côlon examinées. La probabilité de détecter le parasite par rapport au nombre de section de biopsie à examiner a été calculée: chez un animal infecté, pour retrouver le parasite avec une probabilité supérieure à 95%, il faut au minimum six sections du colon. Dans les tissus, *Tritrichomonas fœtus* a une morphologie différente de celle observée dans des prélèvements de selles: les parasites sont plus allongés, avec une forme de «larme» ou «croissant», ils mesurent 7-8µm de long pour 4-5µm de large. De plus, *Tritrichomonas fœtus* est fragile et se loge dans la lumière colique et dans le mucus. Il peut être alors difficile de préserver les parasites durant le prélèvement de tissu et le traitement de ce dernier (fixation et inclusion).

C'est pourquoi Gookin *et al.* (2010) ont mis au point une technique d'hybridation in situ en fluorescence en utilisant une séquence d'oligonucléotides d'ARNr 18S de *Tritrichomonas fœtus* hautement spécifique d'espèce. Cette technique présente le double intérêt de localiser le parasite et d'identifier sa présence de façon moléculaire dans les prélèvements histologiques. L'inconvénient principal de cette méthode est l'auto-fluorescence des globules rouges qui sont à peu près de la même taille que *T. fœtus* et compliquent la lecture des lames.

Mostegl *et al.* (2012) quant à eux ont développé une technique d'hybridation in situ chromogénique qui est encore une autre alternative. Son intérêt principal est qu'on ne peut pas confondre les parasites avec les globules rouges.

Ce qu'il faut retenir :

- ✓ Les méthodes de diagnostic les plus utilisées sont la mise en culture et la PCR.
- ✓ Dans tous les cas, le prélèvement se fait soit sur selles fraiches, soit par écouvillon rectal qui est aujourd'hui la méthode de choix pour un praticien.
- ✓ Une étude très récente a démontré la non-spécificité de la technique de culture InPouch™ TF-Feline, mettant en garde les vétérinaires contre des erreurs de diagnostic.
- ✓ Il est donc conseillé, lors de culture positive, de confirmer par une PCR, ou de réaliser directement une PCR.

VI. Traitement, prophylaxie et pronostic

A. Traitements disponibles actuellement

Actuellement il n'existe aucun traitement dans le monde bénéficiant d'une AMM contre *Tritrichomonas fœtus* chez le chat.

Très vite, les antiparasitaires classiques se sont révélés inefficaces. L'étude de Kather *et al.* (2007) montre que *T. fœtus* est résistant *in vitro* au métronidazole, à la furazolidone, à la paromycine, à l'oméprazole, et est uniquement sensible au ronidazole. *T. fœtus* est également résistant au fenbendazole (Panacur®) utilisé pour le traitement de la giardiose. Les études se sont donc concentrées sur l'utilisation du ronidazole avec en première ligne la publication de Gookin *et al.* (2006). En effet, ils ont montré que l'administration de ronidazole à 30-50 mg/kg BID pendant 14 jours résolvait la diarrhée et permettait d'éliminer l'infection, sur la base d'une PCR négative. L'expérience était alors réalisée sur 11 chats, et la diarrhée n'est pas réapparue pendant les 21 à 30 semaines de suivi après traitement.

Dans l'étude de Holliday *et al.* (2009), 24 chats souffrant de diarrhée chronique du gros intestin dans un refuge en Italie, et diagnostiqués porteurs de *T. fœtus* par culture, sont traités avec du ronidazole (Orffa® UK) à 30 mg/kg per os BID pendant 14 jours. Dans tous les cas, le traitement a permis soit une résolution complète, soit une très forte diminution des signes cliniques de colite. Des selles de 17 chats ont pu être contrôlées après le traitement et sont revenues négatives par culture. Cependant un chat a été également testé par PCR qui s'est avérée positive. Deux chatons en très mauvais état général ont développé une septicémie et sont morts très rapidement. L'un avait 7 mois et était porteur de *T. fœtus*. Il est mort après 2 jours de traitement. L'autre avait 4 mois et était négatif. Il n'avait donc pas reçu de traitement.

Enfin dans l'étude de Bell *et al.* (2010), 12 chats atteints de trichomonose sont traités avec du ronidazole 30 mg/kg per os SID ou BID (pour deux chats) pendant 14 jours. En effet, même si Gookin 2006 recommandait 30 à 50 mg/kg BID, et ne trouvait pas d'efficacité en dessous de 10 mg/kg SID, une étude récente LeVine *et al.* (2008) a montré qu'après une administration par voie orale, le ronidazole est détectable dans le plasma pendant plus de 48h, suggérant qu'une administration unique toutes les 24h pourrait être adéquate. Cependant, la concentration finale de ronidazole atteinte dans la muqueuse colique n'a pas été déterminée. Dans l'étude de Bell, la diarrhée a rétrocédé avec le protocole décrit ci dessus, et n'est pas réapparue, avec un suivi d'au moins 6 mois. Le contrôle à un mois a été réalisé par PCR chez 7 chats et par examen direct chez 2 chats et était négatif pour tous les animaux. Il faut préciser que 7 chats sur les 12 avaient une Giardiose concomitante et furent préalablement traités au fenbendazole 50 mg/kg SID pendant 5 jours (Panacur®).

L'étude de Rosado *et al.* (2007) décrit le cas de 4 chats ayant développé divers signes neurologiques à partir du 3ème à 6ème jour de traitement. Ces animaux recevaient du ronidazole à 40 à 54 mg/kg BID pendant 10 jours. Les effets secondaires neurologiques étaient variables : abattement, anorexie, faiblesse des postérieurs, ataxie, léthargie, faiblesse générale, tremblements de la face et des extrémités, et parfois agitation et hyperesthésie. Ces symptômes ont disparus complètement une semaine à un mois après l'arrêt du traitement. La posologie est beaucoup plus importante que dans l'étude de Bell *et al.* (2010) dans laquelle des signes de toxicité neurologique n'ont été observés

que chez un seul chat âgé de 6 mois et recevant du ronidazole à 30 mg/kg SID. La thérapie au ronidazole a alors été interrompue, mais ce chat est mort de Péritonite Infectieuse Féline trois semaines plus tard et les symptômes ne peuvent donc pas être attribués avec certitude au traitement. Il semblerait que la dose de 30 mg/kg SID induise beaucoup moins d'effets secondaires neurologiques, tout en étant assez efficace pour éliminer l'infection. Des cas de résistance au ronidazole ont été récemment rapportés, (Gookin *et al*. 2010).

Devant l'importance des effets secondaires et l'absence de préparation avec AMM chez le chat, certains propriétaires refusent le traitement et optent pour une prise en charge hygiénique. La plupart des articles ne montrent pas d'amélioration de la diarrhée par un changement alimentaire. En effet, les changements d'alimentation ont souvent plus tendance à augmenter la diarrhée en perturbant la flore intestinale, plutôt que la diminuer. Il est d'ailleurs fréquent que les propriétaires de chat, pensant leur faire plaisir, multiplient les aliments secs et humides dans une même journée. Gookin *et al.* (2004) précise que les traitements ou les changements d'alimentation peuvent améliorer l'aspect des selles, mais pourraient allonger la durée de résolution complète de la diarrhée. Un cas clinique récemment décrit montre les bénéfices de certains aliments associés à des probiotiques, Hugonnard (2012). Chez un chat abyssin d'un an, souffrant de diarrhée liquide depuis ses 8 mois, l'administration d'un aliment sec, PURINA VETERINARY DIETS Feline EN®, ainsi que des probiotiques, FORTIFLORA®, ont permis d'améliorer significativement l'aspect des selles en seulement trois semaines. De plus l'animal souffrait de ténesme et de flatulences qui ont totalement disparus, et il a très rapidement repris du poids. Cependant, une culture pour *Tritrichomonas fœtus* réalisée 5 semaines après le début du changement d'alimentation montrait une persistance de l'infestation.

D'après les connaissances actuelles, le traitement de choix est actuellement du ronidazole à 30 mg/kg SID pendant 14 jours, à préparer en pharmacie ou éventuellement avec du Trichorex®, produit disposant d'une AMM pour la trichomonose chez le pigeon.

B. Prophylaxie

Tritrichomonas fœtus n'étant sensible à aucun antiparasitaire classique, il n'existe pas actuellement de protocole de prophylaxie en tant que tel. Face à un éleveur félin, on conseillera, comme pour toute maladie contagieuse, une quarantaine lors de l'introduction d'un nouvel individu. Si l'animal présente de la diarrhée, on réalisera soit une culture, soit une PCR sur écouvillon rectal, et selon le résultat et la motivation du propriétaire, l'animal sera traité ou éventuellement rendu au vendeur. Cependant, la trichomonose n'est pas un vice rédhibitoire pouvant annuler la vente.

C. Pronostic

Le pronostic de trichomonose est plutôt favorable. Le plus souvent, la diarrhée disparait spontanément au bout de plusieurs mois comme le montre l'étude de Foster *et al.* (2004). Chez 88 % (23/26) des chats atteints de trichomonose, la diarrhée s'est résolue spontanément après en moyenne 9 mois (5 à 24 mois). Cependant, on constate une persistance de l'infection chez 12 chats sur 22, malgré la disparition de la diarrhée. Les auteurs ont trouvé une corrélation positive entre le temps du diagnostic à la résolution de la diarrhée, et le nombre de chats présents dans la maison. Ceci peut s'expliquer par une ré-infestation possible des chats vivants en forte densité.

Ce qu'il faut retenir :

- ✓ Il n'existe pas de préparation disposant d'une AMM pour le traitement de la trichomonose chez le chat.

- ✓ Le traitement de choix est actuellement du ronidazole à 30 mg/kg SID pendant 14 jours, à préparer en pharmacie ou éventuellement avec du Trichorex®, produit disposant d'une AMM pour la trichomonose chez le pigeon.

- ✓ Les effets secondaires potentiels sont surtout neurologiques et varient : abattement, anorexie, faiblesse des postérieurs, ataxie, léthargie, faiblesse générale, tremblements de la face et des extrémités, et parfois agitation et hyperesthésie. Ils semblent plus fréquents à une posologie plus élevée de 30 à 50 mg/kg BID. Ils nécessitent parfois l'arrêt du traitement et sont alors totalement réversibles en une semaine à un mois.

- ✓ Il n'y a pas de prophylaxie particulière excepté la quarantaine avant l'introduction d'un nouvel individu dans un effectif.

- ✓ Le pronostic est plutôt bon si l'animal est en bon état général. Une majorité des animaux voient leur diarrhée disparaitre spontanément dans les deux ans.

VII. Santé publique vétérinaire

Pour terminer cette première partie, nous aborderons l'aspect potentiellement zoonotique de la trichomonose féline. La diversité des Trichomonadidés et leurs différents hôtes sont présentés dans le tableau V. Bien que jusqu'à présent *Tritrichomonas fœtus* n'a été retrouvé chez l'homme que très rarement et jamais dans le système digestif, on peut s'interroger sur le potentiel zoonotique de *T. fœtus,* comme c'est le cas pour la giardiose en ce moment. Gookin *et al.* (1999) rapporte des transmissions expérimentales de Trichomonadidés de l'homme au chat. Dans une étude de Kessel (1928), 14 chatons ont été exposés à des Trichomonadidés entériques humains après quoi 10 d'entre eux ont été infestés et 6 ont développé une diarrhée. Dans une autre étude de Simic (1932), 9 chats sur 10 ont développé une infestation persistante du colon après une exposition orale ou rectale à des Trichomonadidés entériques humains. Simic est également le seul à avoir tenté d'infecter l'homme à partir du chat. Quatre sur six enfants Yougoslaves entre 10 et 12 ans développèrent une trichomonose après une administration orale d'une dose unique de Trichomonadidés cultivés à partir de fèces d'un chaton infecté naturellement. Les enfants restèrent asymptomatiques pendant les 3 semaines de suivi. Etant donné le peu de cas rapportés chez l'homme, il semble tout de même que l'importance clinique de l'infestation entérique à Trichomonadidés soit limitée au tiers monde et/ou aux patients atteints du SIDA (Floch et al. 1989). Cependant, dans aucune de ces études on ne connaît précisément l'espèce de Trichomonadidés incriminée. On ne peut donc pas conclure sur le risque zoonotique de *T. fœtus* qui semble très faible à l'heure actuelle.

Tableau V : Trichomonadidés d'importance en médecine humaine et vétérinaire

(D'après Stockdale 2006)

Espèce	Hôte	Localisation	Maladie / symptômes
Trichomonas tenax	Homme	Cavité orale	Aucun
Trichomonas vaginalis	Homme	Vagin Urètre	Vaginite Urètrite
Pentatrichomonas hominis	Homme Chien	Intestin Gros intestin	Aucun Diarrhée
Trichomonas gallinae	Oiseaux	Tractus digestif supérieur	Nodules caséeux
Trichomonas canistomae	Chien	Cavité orale	Aucun
Trichomonas felistomae	Chat	Cavité orale	Aucun
Tritrichomonas fœtus	Bovin	Vagin Utérus Prépuce	Avortement Métrite Balanite
	Porc	Estomac Côlon Voies nasales	Aucun
	Chat	Gros intestin	Diarrhée
	Chien	Gros intestin	Diarrhée

*Deuxième partie : étude épidémiologique dans les élevages français lors d'expositions félines internationales**

**Ce travail a déjà fait l'objet d'une présentation au congrès national de l'AFVAC en 2011 et d'une publication dans Veterinary Parasitology en 2013 (annexes 5 et 6).*

I. Introduction

Comme nous l'avons vu en détail dans la première partie, la trichomonose féline est une maladie émergente, présente dans le monde entier, et notamment en Europe dans plusieurs pays frontaliers avec la France. Cette pathologie est très problématique, particulièrement dans les élevages félins. Cependant, aucune étude n'a été publiée à ce jour sur la prévalence de *Tritrichomonas fœtus* chez le chat en France. De plus, étant donné les récentes avancées en matière de phylogénie entre le *Tritrichomonas* du chat et de la vache, il paraissait intéressant de vérifier que les *T. fœtus* identifiés chez les chats en France sont tous similaires entre eux et avec ceux déjà identifiés dans d'autres pays.

Cette étude avait donc pour objectifs (1) de déterminer la prévalence du parasite chez les chats de race français, (2) d'analyser les facteurs de risque du portage, (3) de comparer deux méthodes diagnostiques : culture et PCR, et enfin (4) d'investiguer la diversité génétique des isolats de *T. fœtus*, identifiés dans la population féline française.

II. Matériels et méthodes

A. Population d'étude

Entre Novembre 2009 et Octobre 2010, 140 échantillons fécaux ont été récoltés à partir de 140 chats de race français d'âge variable, participant à trois expositions félines internationales en France (40, 52 et 48 chats respectivement à Orléans, Oyonnax et Avignon). Avant l'exposition, les éleveurs étaient informés par mail sur l'objectif et la disponibilité d'un dépistage gratuit de *Tritrichomonas fœtus* chez leur chat. Pendant l'exposition, une nouvelle présentation de l'étude était réalisée et les éleveurs étaient invités à y participer en complétant auparavant un questionnaire présenté en annexe 2. Deux chats maximum étaient acceptés par chatterie afin d'avoir la représentation la plus large possible de la population féline (une seule exception avec trois chats provenant de la même maison). Le questionnaire a été conçu pour récolter des informations de base sur chaque chat participant : l'âge, le sexe, la race, la nourriture, l'appétit, la corpulence, les antécédents médicaux avec notamment un éventuel historique de diarrhée, le nombre de chats dans la chatterie, la localisation géographie, et la promiscuité avec des animaux d'autre race pouvant souffrir de diarrhée (chiens ou oiseaux).

Figure 13: Chaton prélevé par écouvillon rectal. Contention réalisée par clipnose.

Figure 14: Adulte prélevé par écouvillon rectal

B. Mise en culture et examen microscopique

Pendant l'exposition, des écouvillons rectaux furent réalisés sur chacun des 140 chats. L'écouvillon servait à ensemencer aussitôt un système de culture, InPouch-TF™ Feline (Biomed Diagnostics, White City, Oregon) qui était ensuite incubé à température ambiante (25°C). Le même manipulateur réalisa les 140 prélèvements et l'observation des cultures pour déterminer la présence de *Tritrichomonas fœtus*. L'évaluation microscopique fut réalisée à un grossissement x100 un jour sur deux à partir de 24 à 48h post-inoculation, et cela durant 12 jours. Les cultures étaient déclarées négatives si aucun parasite n'était observé au bout de 12 jours.

Figure 15: Ensemencement de la poche avec l'écouvillon

C. Extraction ADN et caractérisation moléculaire des Trichomonadidés isolés

Afin de confirmer l'identité des Trichomonadidés isolés par culture, l'ADN des échantillons positifs fut amplifié, en utilisant les amorces sens TRICHO-F et anti-sens TRICHO-R, spécifiques des Trichomonadidés, qui ciblent les régions ITS1-5.8S et rRNA-ITS2.

D. Diagnostic par PCR

Un deuxième écouvillon est réalisé sur les 100 chats testés lors des expositions 2 et 3. Cet écouvillon est ramené au laboratoire vétérinaire départemental LVD 69 puis congelé en attente des PCR. Le LVD 69 a développé sa PCR selon la méthode publiée par Gookin *et al*. (2002) avec les amorces TFR3, TFR4, TFITS-F et TFITS-R.

E. Etude statistique

Pour explorer la relation entre l'infection à *T. fœtus* et les facteurs de risque associés, les analyses statistiques furent réalisées en utilisant un test du χ^2 pour l'âge, le nombre de chats dans la chatterie, la proximité d'un chien, le type de nourriture. Un test de Fisher a été utilisé pour la relation entre *T. fœtus* et diarrhée.

III. Résultats

Les résultats complets sont reportés dans des tableaux en annexe 3.

A. Analyse de la population de chats étudiée

Cette étude inclue 140 chats provenant de 117 chatteries différentes. L'âge moyen des chats est de 14 mois (3 mois à 11 ans, médiane de 9 mois). Cette population comporte 61 adultes (un an et plus) et 79 chatons (moins d'un an). Il y a 74 femelles (47 %) et 66 mâles (53 %). Les 140 chats proviennent de 40 départements différents, illustrés par la figure 13 ci-dessous, et incluent 23 races différentes : Abyssin (6), Angora Turc (1), Bengal (7), British Longhair (6), British Shorthair (8), Burmese (1), Chartreux (5), Cornish Rex (1), Exotic Shorthair (1), Korat (1), Main Coon (26), Mau Egyptien (1), Nebelung (1), Norvégien (21), Oriental (3), Persan (22), Ragdoll (3), Sacré de Birmanie (15), Scottish Fold (2), Siamois (2), Sibérien (4), Somali (2) et Sphinx (1).

B. Prévalence de *Tritrichomonas fœtus* dans la population féline française étudiée

Parmi les 140 échantillons testés, 24 furent positifs soit par culture (20/24), soit par PCR (15/24). La prévalence de l'infection par *T. fœtus* est donc de 17,1 % parmi les chats (24/140) et 18,8 % parmi les chatteries (22/117). Les cas positifs sont distribués à travers tout le territoire français comme l'illustre la figure 13 ci-dessous.

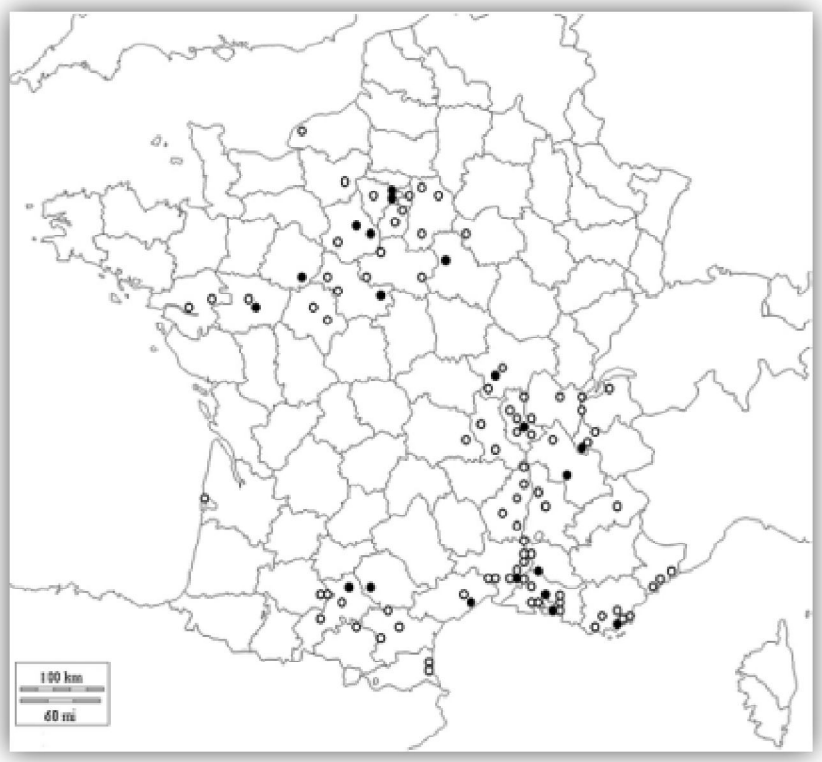


Figure 16: Répartition géographique des chats positifs (en noir) et négatifs (en blanc) pour le portage de *T. fœtus* dans cette étude.

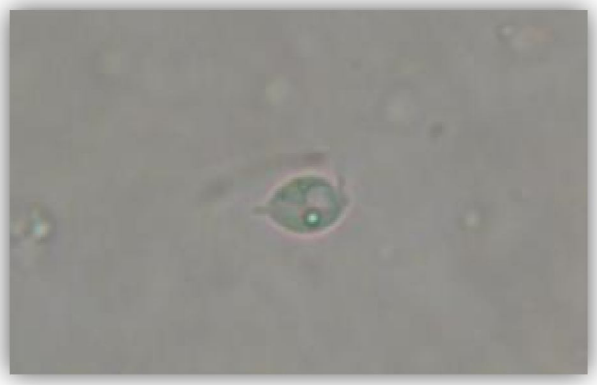


Figure 17 : *Tritrichomonas fœtus* observé au microscope optique au grossissement x400

Profizi, Service de parasitologie VetAgro Sup

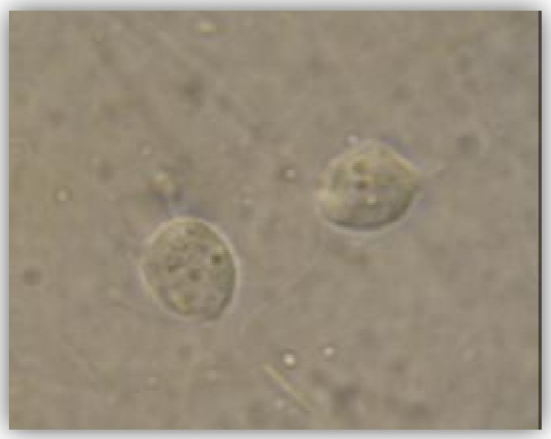


Figure 18 : Deux *Tritrichomonas fœtus* observés au microscope optique au grossissement x400

Profizi, Service de parasitologie VetAgro Sup

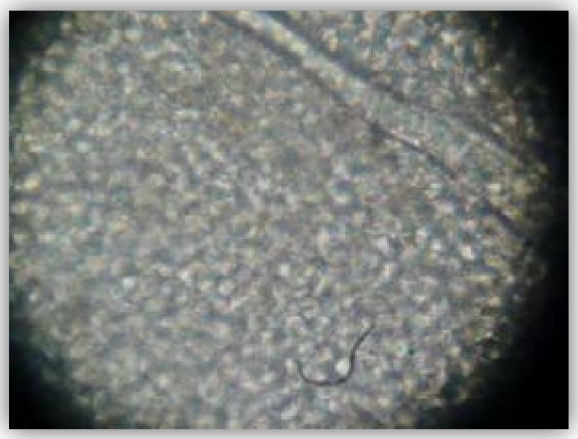


Figure 19 : Culture fortement positive (tous les ronds sont des parasites), au microscope optique grossissement x200

Profizi, Service de parasitologie VetAgro Sup

C. Relation entre *Tritrichomonas fœtus* et la diarrhée

Parmi les chats porteurs de *T. fœtus*, 20,8% (5/24) avaient une diarrhée chronique, au lieu de seulement 6,9% (8/116) parmi les chats négatifs. Cette différence est statistiquement significative (Test de Fisher, p=0,049).

Tableau VI : Répartition des cas de portage de *T. fœtus* en fonction de l'historique de diarrhée

	***T. fœtus* positif**	***T. fœtus* négatif**
Diarrhée chronique	5	8
Pas de diarrhée	19	108

D. Facteurs de risque associés à l'infection et signes cliniques

1) Influence du sexe

L'effectif testé comprenait 74 femelles (47 %) et 66 mâles (53 %). Quinze pour cent des mâles et 18,9% des femelles étaient porteurs de Tritrichomonas fœtus. La différence n'est pas significative (test χ^2 : p>0,05).

2) Influence de l'âge

L'âge moyen des chats sains était de 14,4 mois, tandis que l'âge moyen des chats porteurs de *T. fœtus* était de 12,7 mois. Pour étudier la relation entre l'âge et le portage de *T. fœtus*, les publications séparent généralement les chats en deux populations : chats de moins de 12 mois (chatons), et chats de 12 mois et plus. Dans notre étude, la relation entre l'âge et le portage de *T. fœtus* n'a pas pu être mise en évidence (test χ^2 : p>0,05).

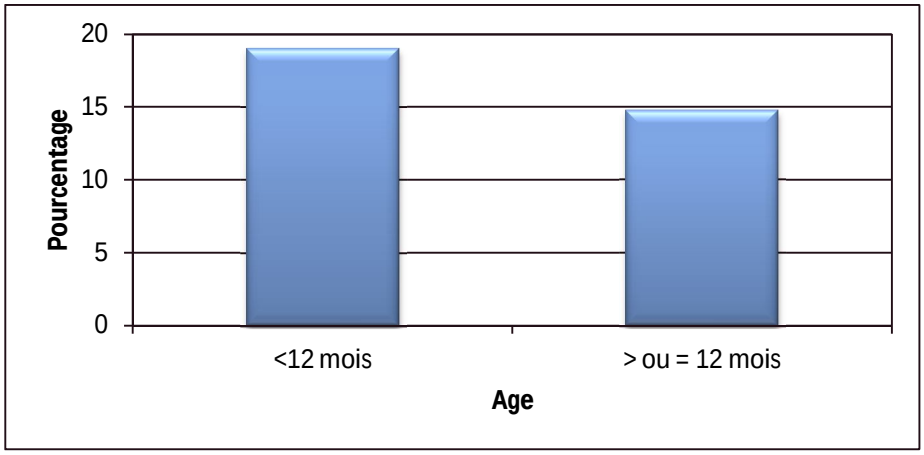


Figure 20: Pourcentage de chats porteurs de *T. fœtus* en fonction de l'âge, avec deux classes d'âge

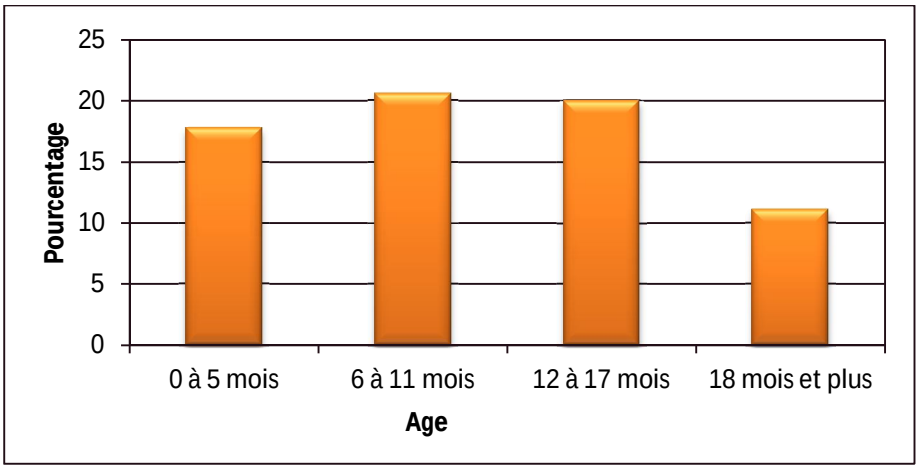


Figure 21 : Pourcentage de chats porteurs de *T. fœtus* dans la population testée en fonction de l'âge, avec quatre classes d'âge

3) Influence du nombre de chats dans la chatterie

Les chatteries concernées comptaient entre 1 et 22 chats. Les données sont inconnues pour 15 chats. Les chats porteurs de *T. fœtus* vivaient en moyenne dans des chatteries de 8,5 chats, tandis que les chats négatifs vivaient en moyenne dans des chatteries de 7,5 chats. Cependant, aucune limite de nombre avec une valeur significative n'a pu être mise en évidence.

4) Influence de la nourriture

Quatre-vingt cinq chats étaient nourris exclusivement avec des croquettes, c'est-à-dire une nourriture sèche, tandis que 42 étaient nourris de façon mixte, avec des croquettes et des aliments humides type boite ou sachet fraicheur. Les données sont inconnues pour 13 chats. Dix huit pour cent (13/72) des chats mangeant une nourriture sèche étaient porteurs de T. fœtus, contre 27% (9/33) des chats mangeant une nourriture mixte. La différence n'est pas significative (test χ^2 : $p>0,05$).

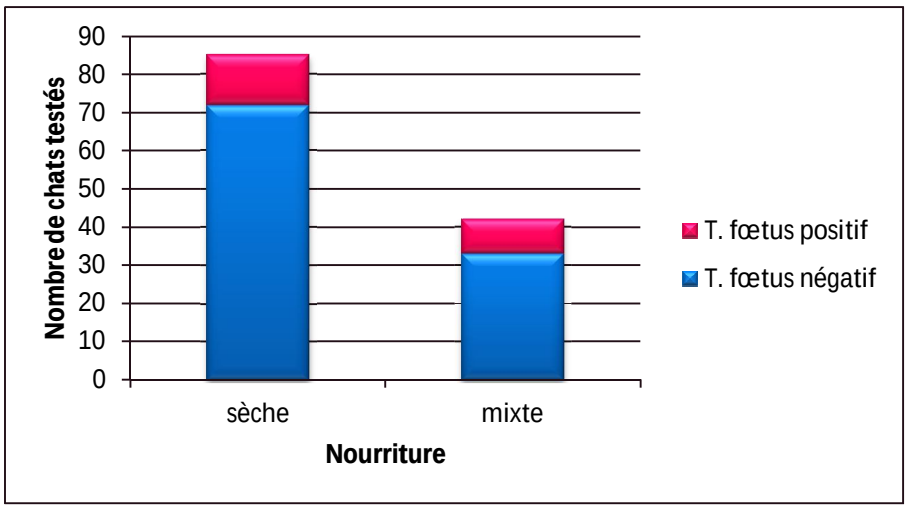


Figure 22 : Nombre de chats testés positifs ou négatifs pour *T. fœtus* en fonction du type de nourriture

5) Influence de la présence d'un chien

Quarante-huit chats vivaient en présence d'un chien, sur 127 questionnaires remplis. Les données sont inconnues pour 13 chats. Vingt-trois pour cent des chats porteurs de *T. fœtus* vivaient avec un chien, contre 40,9% des chats sains. Cependant cette relation n'est pas significative (test χ^2 : $p>0,05$).

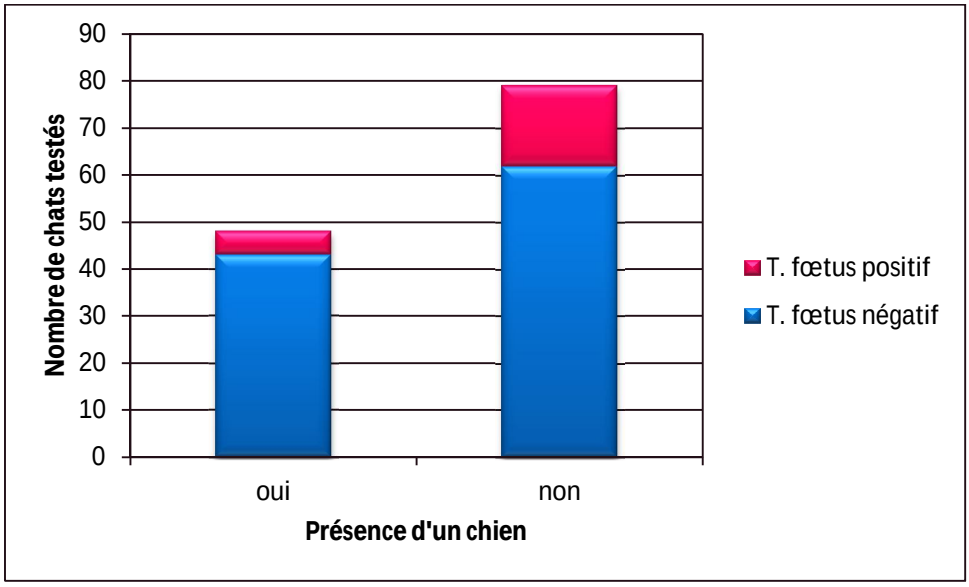


Figure 23: Nombre de chats testés positifs ou négatifs pour *T. fœtus* en fonction de la présence d'un chien

E. Comparaison entre culture par In-Pouch TF™ Feline et PCR

Sur les 100 prélèvements, 5 PCR n'ont pas pu être réalisées. Le contrôle GAPDH est revenu négatif signifiant que la PCR n'avait pas aboutie, très probablement par manque de matériel sur l'écouvillon. La comparaison est donc faite sur les 95 animaux testés par PCR et culture. Les 5 chats n'ayant pas eu de PCR étaient négatifs en culture. Le tableau de correspondance entre les résultats de PCR et de culture est présenté ci-après (tableau VII). Les deux techniques sont en adéquation dans 83% des cas (79/95). Cependant, on constate que quatre chats sont positifs en PCR et négatifs en culture, tandis qu'un chat est négatif en PCR et positif en culture.

Tableau VII : Correspondance entre PCR et culture In-Pouch TF™ Feline

		PCR	
		+	-
Culture In-Pouch TF™ Feline	+	11	1
	-	4	79

F. Caractérisation moléculaire des isolats de Trichomonadidés

L'ADN des 20 échantillons positifs par culture furent amplifiés en utilisant des amorces spécifiques des Trichomonadidés. Après avoir cloné le produit de la PCR, un clone positif fut séquencé pour chaque clonage. Les 20 clones séquencés furent identiques à 100%. Dans la majorité de notre alignement ils montrèrent également 100% d'identité avec des séquences homologues de souches de *T. fœtus* isolées de chats domestiques aux Etats-Unis (AF466749, AF466750 et EU569309), en Suisse (JN006994), en Norvège (HM856630 et EF165538), et en Australie (GU170216). Par contre, ces séquences différaient à 3 et 5 endroits avec celles de *T. fœtus* identifiées aux Etats-Unis (respectivement EU569310 et EU569311). À l'exception d'EU569310 et EU569311, toutes les séquences de chat domestiques, y compris celles obtenues dans notre étude, et les séquences de la vache, diffèrent par un unique nucléotide polymorphe (SNP) dans la région ITS2. L'alignement des séquences est présenté en annexe 4.

IV. Discussion

A. Prévalence de la trichomonose féline

Cette étude est la deuxième étude, après la thèse de Nora Brigui (2007), sur la trichomonose féline en France. C'est la première étude de prévalence dans des expositions félines. Elle confirme la présence du parasite dans une grande partie du territoire français. Vingt quatre chats parmi 140 (17,1%) chats de race et 22 parmi 117 chatteries (18,8%), testés à l'occasion de trois expositions félines, ont été identifiés comme porteurs de *Tritrichomonas fœtus*. Ces proportions sont similaires à celles trouvées dans les autres pays européens. En Allemagne (Kuehner *et al.* 2011), en Grèce (Xenoulis *et al.* 2010), en Italie (Holliday *et al.* 2009) et en Norvège (Tysnes *et al.* 2011), respectivement 15,7% (36/230), 20,0% (6/30), 32% (24/74), et 21,2% (11/52) des échantillons de fèces obtenus dans des expositions félines ont été identifiés comme positifs pour *Tritrichomonas fœtus*. Quoi qu'il en soit, la prévalence moyenne générale du parasite observé dans les pays européens est plus faible que celle trouvée dans des expositions félines aux Etats-Unis (31% de 117 chats, Foster *et al*. 2004), et en Nouvelle-Zélande (82% de 22 chats, Kingsbury *et al.* 2010). En conséquence, soit la prévalence du parasite est réellement plus faible en Europe qu'en Amérique et en Océanie, soit cette prévalence est sous-estimée dans les études européennes. Les participants à cette étude étaient recrutés sur la base du volontariat. Même si les chats étaient déclarés en bonne santé sur l'exposition, certains d'entre eux souffraient de désordres intestinaux chroniques au moment du prélèvement.

B. Diarrhée et facteurs de risque

Plusieurs autres études épidémiologiques ont été conduites à travers le monde pour déterminer la prévalence de *T. fœtus* et incluaient différentes populations de chats en bonne santé et malades, dans des expositions félines, des refuges ou des cliniques vétérinaires (Gookin *et al.* 2004, Bisset *et al*. 2009, Stockdale *et al.* 2009, Kingsbury *et al.* 2010, Xenoulis *et al.* 2010, Kuehner *et al.* 2011, Tysnes *et al.* 2011, Doi *et al.* 2012). La prévalence de la diarrhée dans notre étude était basée sur les données obtenus à partir du questionnaire distribué aux propriétaires. Cinq chats parmi les 24 chats porteurs de *T. fœtus* (20,8%) présentaient une diarrhée chronique, contre 8 parmi les 116 (6,9%) chats négatifs. Cette différence est ici significative (Test de Fisher, p=0,049) et a déjà été

démontrée comme nous l'avons vu dans la première partie, notamment par Gookin et al. (2001, 2006, 2007). Ces auteurs réussirent à induire expérimentalement une diarrhée chez des chatons par l'inoculation d'une culture de *T. fœtus*, isolé d'un chat diarrhéique. Récemment, une relation significative a été démontrée entre une consistance anormale des selles et l'infection à *Tritrichomonas fœtus* (Kuehner *et al.* 2011), tout comme entre l'âge des animaux et l'infection à *T. fœtus* (Holliday *et al.* 2009, Stockdale *et al*. 2009, Xenoulis *et al.* 2010). Notre étude n'a pas confirmée cette dernière relation. De même, aucune relation significative n'a été trouvée entre la présence du parasite et la taille de la chatterie, la vie avec un chien, ou le type de nourriture.

C. Comparaison culture et PCR

Douze parmi 95 chats sont revenus positifs en culture (12,6%) contre 15/95 en PCR (15,8%). La différence n'est pas significativement différente, contrairement aux données de Gookin *et al.* (2004) et Tysnes *et* al. (2011). Gookin *et al.* (2004) obtinrent le double de cas positifs en PCR comparé avec la culture (34/36 contre 20/36), et la différence est encore plus importante dans l'étude de Tysnes *et al.* (2011), avec une culture positive contre 11 PCR positives. Les deux études utilisèrent des selles fraichement émises pour réaliser la culture, soit collectées juste après l'exposition féline, soit après un transport de moins de huit heures. Les études précédentes qui ont évalué la prévalence de *Tritrichomonas fœtus* chez le chat réalisent généralement la culture et la PCR à partir d'un échantillon de selles fraichement émises, mais pendant une exposition féline, les chats font rarement leurs selles. En effet les gens passent devant les cages toute la journée, les chats n'ont pas d'endroit tranquille pour faire leurs besoins et sont parfois très stressés. Pour contourner ce problème, rencontré lors de la première exposition à Orléans nous avons décidé d'utiliser des écouvillons rectaux pour la culture et la PCR, comme cela avait été suggéré par Bell *et al.* (2010). Le fait que nous ayons utilisé un écouvillon rectal pour inoculer le système de culture In-Pouch TF™ Feline, immédiatement après le prélèvement pourrait expliquer la bonne sensibilité de la culture dans notre étude. Un écouvillon rectal est plus adapté pour la récolte des parasites car il frotte la muqueuse du côlon et emporte le mucus. Cependant, on notera que les résultats d'une autre étude utilisant des selles fraiches sont similaires aux nôtres, sans différence significative entre les chats positifs par culture (29/36) et par PCR (28/36).

Quoi qu'il en soit, chacune des deux méthodes peut mener à des faux négatifs, comme nous l'avons vu dans notre étude. Des faux négatifs peuvent se produire en PCR, soit par contamination des selles par de la litière contenant des inhibiteurs (Bell et al. 2010), soit par un manque de matériel sur l'écouvillon rectal. En effet, les chats infectés à très bas niveau pourraient également être sous le seuil de détection de la PCR. Cela pourrait expliquer pourquoi le contrôle GAPDH sont revenus négatifs pour cinq chats. D'un autre côté, la culture peut parfois être moins sensible que la PCR dans le cas d'une faible densité parasitaire, ou lorsque l'inoculum ne contient pas de parasites vivants, particulièrement si l'ensemencement est fait après un transport. Hale *et al.* (2009) ont montré une survie de *T. fœtus* d'au moins 24h dans les selles de chat à température ambiante pour une concentration de $2x10^4$ parasites par gramme, mais cette survie est bien moindre à une concentration de $2x10^2$ *T. fœtus* par gramme, environ 6h, et la détection était meilleure avec le milieu de culture Modified Diamonds Medium qu'avec le système In-Pouch TF™ Feline. Cela pourrait expliquer les 4 chats positifs en PCR et négatifs en culture.

L'étude de Ceplecha *et al.* (2013) rapporte la survie de *Pentatrichomonas hominis* dans le système In-Pouch TF™ Feline et donc la possibilité de faux positifs en culture. Dans notre étude, l'ADN de 18 cultures positives a pu être extrait et séquencé, et les parasites étaient bien des *Tritrichomonas fœtus*. Neuf chats parmi les 18 positifs en culture étaient par ailleurs positifs par PCR au LVD 69. Pour les 2 cultures dont l'ADN n'a pas pu être extrait, les chats sont revenus également positifs par PCR au LVD 69, ce qui confirme la présence de *T. fœtus*. Cependant, une co-infestation de *P. hominis* ne peut être exclue.

Tableau VIII : Comparaison entre In-Pouch TF™ Feline et PCR

	In-Pouch TF™ Feline	**PCR**
Coût	Environ 20 euros	Environ 40 euros
Délai	2 à 10 jours selon la charge	5 jours de délai écouvillon sec rectal
Matériel	Un kit de prélèvement	Un écouvillon rectal sec
Avantage	Coût, Absence de faux positifs, remis en question par l'étude récente de Ceplecha *et al.* (2013)	Détecte les parasites même morts
Inconvénients	Nécessite l'envoi d'un kit de prélèvement par le laboratoire	Coût, Détecte les parasites même morts

D. Apports de la phylogénie

En utilisant des paires d'amorces spécifiques des Trichomonadidés, l'ADN des 20 cultures positives fut amplifié et séquencé. De façon intéressante, toutes les séquences obtenues ont montré 100% d'homologie, suggérant fortement qu'elles sont toutes dérivées de la même souche de *T. fœtus.* De plus, des analyses comparatives avec les séquences homologues de *T. fœtus* provenant de différents hôtes et disponibles actuellement chez GenBank ont montré 100% d'homologie avec ceux de chats domestiques (AF466749, AF466750, EU569309, JN006994, HM856630, EF165538 et GU170216) provenant de différents pays. Certaines séquences isolées de chats domestiques par séquençage simple brin (EU569310 et EU569311) montrent plusieurs polymorphismes, principalement dans la région ITS1. Comme suggéré par Slapeta *et al.* (2010), ces polymorphismes qui ne sont pas partagés par d'autres séquences isolées de félins y compris celles de notre étude, doivent être vérifiés en double brin. De plus, toutes les séquences isolées de chats domestiques inclus dans notre étude montrent le même polymorphisme dans la région ITS2 des séquences félines par rapport aux séquences bovines (T pour les félins et C pour les bovins). Ces résultats sont tout à fait concordants avec les données précédentes obtenues par Slapeta *et al.* (2010) et Reinmann *et al.* (2012), suggérant que ce Single Nucleotide Polymorphism (SNP) pourrait discriminer un génotype félin d'un génotype bovin. Enfin, les *T. fœtus* isolés de différents hôtes (bovins, chats et probablement humains) et différents pays montrent une très faible diversité génétique par comparaison des loci ITS1 et ITS2, aussi bien que par des marqueurs additionnels comme le gène CP8 (Sun et al. 2012), le TR7/TR8 de répétition de longueur variable (Slapeta *et al.* 2010), et le gène (EF)-1α du facteur d'élongation (Reinmann *et al*. 2012). Comme suggéré par Reinmann *et al*. (2012), les *T.*

fœtus isolés avec une forte identité génétique pourrait être capables de s'adapter à différents environnements chez de multiples hôtes. En effet, un isolat bovin de *T. fœtus* a été capable d'infecter le caecum de chats même si plusieurs différences de pathogénicité ont été observées entre les souches bovine et féline chez le chat (Stockdale *et al.* 2008). En parallèle, une souche féline de *T. fœtus* inoculée dans le tractus reproducteur de vaches a créé une endométrite mais avec des signes moins importants que les lésions créées par une souche bovine (Stockdale *et al.* 2007). Cette homologie pourrait également refléter une diversification moléculaire précoce des souches de *T. fœtus* avec l'identification de nouveaux génotypes incluant les génotypes félins et bovins spécifiques d'hôte.

Ce qu'il faut retenir :

- ✓ Notre étude a confirmé la présence de *Tritrichomonas fœtus* sur le territoire français, avec une prévalence de 17,1% sur 140 chats testés par culture et/ou PCR.
- ✓ Cette prévalence est similaire à celle obtenue dans les pays européens par les mêmes méthodes.
- ✓ Nos données ont confirmé la relation entre présence de *T. fœtus* et diarrhée, mais n'ont pas pu mettre en évidence de facteurs de risque.
- ✓ La culture par In-Pouch TF™ Feline et la PCR développée au LVD 69 ont montré une sensibilité similaire dans notre étude.
- ✓ L'identification de *T. fœtus* dans les poches de culture a été vérifiée soit par PCR, soit par séquençage des régions ITS1 et ITS2, confirmant l'absence de faux positifs en culture.
- ✓ Le séquençage des souches de *T. fœtus* cultivées a montré une totale homologie entre elles et avec les souches félines européennes. Il confirme également la différence entre les isolats bovin et félin.

CONCLUSION

La trichomonose féline fait l'objet de nombreuses publications depuis une vingtaine d'années, mais aucune étude jusqu'à présent n'avait été publiée en France. *Tritrichomonas fœtus* est responsable d'une diarrhée chronique chez le chat. Cette étude expérimentale a permis de déterminer la prévalence du parasite chez le chat de race en France qui est d'environ 15%, ce qui est loin d'être négligeable. Ces nouvelles données confirment l'idée actuelle selon laquelle *T. fœtus* doit faire partie du diagnostic différentiel des diarrhées chroniques chez le chat, et plus encore chez les chatons vivant en collectivité comme dans les chatteries. Le mode de transmission est encore mal connu et il est difficile de savoir comment une chatterie est infectée en premier lieu. De plus, les analyses phylogénétiques récentes ont pu montrer des variations génétiques entre les souches félines et bovines de *T. fœtus*, suggérant ainsi que la vache n'est pas la source de contamination du chat.

Cette maladie émergente, ou ré-émergente, existe probablement depuis longtemps chez le chat et est observée aujourd'hui du fait d'une meilleure prise en charge clinique et thérapeutique des autres causes plus communes de diarrhée chez le chat, notamment la giardiose, et du développement de nouvelles techniques diagnostiques plus sensibles. Lors de notre étude, nous avons montré une efficacité similaire entre le système de culture InPouch TF-Feline et la PCR sur la population de chats testés. Malheureusement, une fois le diagnostic de trichomonose posé, aucun traitement disposant d'une AMM pour le chat n'existe à ce jour, et la seule molécule utilisée, le ronidazole, peut provoquer d'importants effets secondaires neurologiques. Qui plus est, de nombreux chats étant porteurs asymptomatiques, on peut se demander la pertinence d'un traitement systématique.

D'autres études sont donc encore nécessaires dans les années à venir pour comprendre le mode de transmission, les facteurs de risque, et surtout pour développer un traitement plus adapté pour le chat. Il est également nécessaire de continuer à informer les vétérinaires français sur le dépistage et le traitement de cette pathologie, comme avons pu le faire, au travers des congrès et des publications.

Thèse de Mme Claire Profizi

Le Professeur responsable
VetAgro Sup campus vétérinaire

Le Directeur général
VetAgro Sup

Par délégation
Pr F. Grain - DEVE
VetAgro Sup
Campus Vétérinaire

Le Président de la thèse

Pr M. DEVOUASSOUX-SHISHEBORAN
Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques
HOPITAL DE LA CROIX-ROUSSE
103 Gde Rue de la Croix-Rousse
69317 LYON CEDEX 04

Vu et permis d'imprimer

Lyon, le 12 JUIN 2013

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I

Pour le Président de l'Université,
Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,
Professeur F.N GILLY

Bibliographie

1) ADL SM, SIMPSON AGB, FARMER MA, ANDERSEN RA, ANDERSON OR, BARTA JR *et al.* (2005) The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists, *Journal of Eukaryot Microbiology*, **52**, 399-451

2) BELL ET, GOWAN RA, LINGARD AE, MCCOY RJ, SLAPETA J, MALIK R. (2010) Naturally occurring *Tritrichomonas fœtus* infections in Australian cats : 38 cases, *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **12**, 889-898

3) BENCHIMOL M, FURTADO MADEIRO DA COSTA R. (2004) The effect of drugs on cell structure of *Tritrichomonas fœtus*, *Parasitol Research*, **92**, 159-170

4) BISSETT SA, STONE ML, MALIK R, NORRIS JM, O'BRIEN C, MANSFIELD CS, NICHOLLS JM, GRIFFIN A, GOOKIN JL. (2009) Observed occurrence of *Tritrichomonas fœtus* and other enteric parasites in Australian cattery and shelter cats, *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **11**, 803-807

5) BRIGUI N. (2007) Contribution à l'étude de la trichomonose féline en France. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Créteil, 100p.

6) BRUMPT E. (1925) Recherches morphologiques et expérimentales sur le *Trichomonas felis* Da Cunha et Muniz, 1922, parasite du chien et du chat, *Annales de Parasitologie*, **III**, 239-251

7) CEPLECHA V, SVOBODA M, CEPICKA I, HUSNIK R, HORACKOVA K, SVOBOVODA V. (2013) In-Pouch™ TF-Feline medium is not specific for *Tritrichomonas fœtus, Veterinary Parasitology*, article in press

8) COOK AK. (2008) Feline Infectious Diarrhea. *Topics in Companion Animal Medicine,* 23, 169-176

9) CRUCITTI T, ABDELLATI S, ROSS DA, CHANGALUCHA J, VAN DYCK E, BUVE A. (2004) Detection of *Pentatrichomonas hominis* DNA in biological specimens by PCR. *Letters in Applied Microbiology*, **38**, 510-516

10) DAHLGREN SS, GIERDE B, PETTERSEN HY. (2007) First record of natural *Tritrichomonas fœtus* infection of the feline uterus, *Journal of Small Animal Practice*, **48**, 654-657

11) DOI J, HIROTA J, MORITA A, FUKUSHIMA K, KAMIJYO H, OHTA H, YAMASAKI M, TAKAHASHI T, KATAKURA K, OKU Y. (2011) Intestinal *Tritrichomonas suis (=T. fœtus)* infection in Japanese cats, *Journal of Veterinary Medicine Science*, **74**, 413-417

12) DUBOUCHER C, CABY S, DUFERNEZ F, CHABE M, GANTOIS N, DELGADO-VISCOGLIOSI P, BILLY C, BARRE E, TORABI E, CAPRON M, PIERCE RJ, DEI-CAS E, VISCOGLIOSI E. (2006) Molecular identification of *Tritrichomonas fœtus*-like organisms as coinfecting agents of human *Pneumocystis pneumonia, Journal of Clinical Microbiology*, **44**, 1165-1168

13) FOSTER DM, GOOKIN JL, POORE MF, STEBBINS ME, LEVY MG. (2004) Outcome of cats with diarrhea and *Tritrichomonas fœtus* infection, *Journal of American Veterinary Medicine Association*, **225**, 888-892

14) FREY CR, MULLER N. (2012) *Tritrichomonas* – Systematics of an enigmatic genus, *Molecular and Cellular Probes*, **26**, 132-136

15) GOOKIN JL, BREITSCHWERDT EB, LEVY MG, GAGER RB, BENRUD JG. (1999) Diarrhea associated with trichomonosis in cats, *Journal of American Veterinary Medicine Association*, **215**, 1450-1454

16) GOOKIN JL, LEVY MG, MAC LAW J, PAPICH MG, POORE MF BREITSCHWERDT EB. (2001) Experimental infection of cats with *Tritrichomonas fœtus*, *American Journal of Veterinary Research*, **62**, 1690-1697

17) GOOKIN JL, BIRKENHEUER AJ, BREITSCHWERDT EB, LEVY MG. (2002) Single-tube nested PCR foe detection of *Tritrichomonas fœtus* in feline feces, *Journal of Clinical Microbiology*, **40**, 4126-4130

18) GOOKIN JL, STEBBINS ME, HUNT E, BURLONE K, FULTON M, HOCHEL R, TALAAT M, POORE M, LEVY MG. (2004) Prevalence of and risk factors for feline *Tritrichomonas fœtus* and *Giardia* infection, *Journal of Clinical Microbiology*, **42**, 2707-2710

19) GOOKIN JL, COPPLE CN, PAPICH MG, POORE MF, STAUFFER SH, BIRKENHEUER AJ, TWEDT DC, LEVY MG. (2006) Efficacy of ronidazole for treatment of feline *Tritrichomonas fœtus* infection, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **20**, 536-543

20) GOOKIN JL, STAUFFER SH, LEVY MG. (2007) Identification of *Pentatrichomonas hominis* in feline fecal samples by polymerase chain reaction assay, *Veterinary Parasitology*, **145**, 11-15

21) GOOKIN JL, STAUFFER SH, DYBAS D, CANNON DH. (2010) Documentation of in vivo and in vitro aerobic resistance of feline *Tritrichomonas fœtus* isolates to ronidazole, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **24**, 1003-1007

22) GOOKIN JL, STONE MR, YAEGER MJ, MEYERHOLZ DK, MOISAN P. (2012) Fluorescence in situ hybridization for identification of *Tritrichomonas fœtus* in formalin-fixed and paraffin-embedded histological specimens of intestinal trichomonosis, *Veterinary Parasitology*, **172**, 139-143

23) GRAY SG, HUNTER SA, STONE MR, GOOKIN JL. (2010) Assessment of reproductive tract disease in cats at risk for *Tritrichomonas fœtus* infection, *American Journal of Veterinary Research*, **71**, 76-81

24) GUNN-MOORE DA, MCCANN TM, REED N, SIMPSON KE, TENNANT B. (2007) Prevalence of *Tritrichomonas fœtus* infection in cats with diarrhea in the UK, *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **9**, 214-218

25) HALE S, NORRIS JM, SLAPETA J. (2009) Prolonged resilience of *Tritrichomonas fœtus* in cat feces at ambient temperature, *Veterinary Parasitology*, **166**, 60-65

26) HOLLIDAY M, DENI D, GUNN-MOORE DA. (2009) *Tritrichomonas fœtus* infection in cats with diarrhea in a rescue colony in Italy, *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **11**, 131-134

27) KATHER EJ, MARKS SL, KASS PH. (2007) Determination of the in vitro susceptibility of feline *Tritrichomonas fœtus* to 5 antimicrobial agents, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **21**, 966-970

28) KINGSBURY DD, MARKS SL, CAVE NJ, GRAHN RA. (2010) Identification of *Tritrichomonas fœtus* and *Giardia* spp. infection in pedigree show cats in New Zealand, *New Zealand Veterinary Journal*, **58**, 6-10

29) KUEHNER KA, MARKS SL, KASS PG, SAUTER-LOUIS C, GRAHN RA, BARUTZKI D, HARTMANN K. (2011*) Tritrichomonas fœtus* infection in purebred cats in Germany : Prevalence of clinical signs and the role of co-infection with other enteroparasites*, Journal of Feline Medicine and Surgery*, **13**, 251-258

30) LEVINE ND. (1973) Protozoan parasites of domestic animals and of man, Burgess, Second edition, 88-110

31) LIM S, PARK SI, AHN KS, OH DS, RYU JS, SHIN SS. (2010) First report of feline intestinal trichomoniasis caused by *Tritrichomonas fœtus* in Korea, *Korean Journal of Parasitology*, 3, 247-251

32) LUN ZR, CHEN XG, ZHU XQ, LI XR, XIE MQ. (2005) Are *Tritrichomonas fœtus* and *Tritrichomonas suis* synonyms ?, *TRENDS in Parasitology*, **21** (3), 122-125

33) MIDLEJ V, PEREIRA-NEVES A, KIST LW, BOGO MR, BENCHIMOL M. (2011) Ultrastructural features of *Tritrichomonas mobilensis* and comparison with *Tritrichomonas fœtus*, *Veterinary Parasitology*, **182**, 171-180

34) MOSTEGL MM, WETSCHER A, RICHTER B, NEDOROST N, DINHOPL N, WEISSENBOCK H. (2012) Detection of *Tritrichomonas fœtus* and *Pentatrichomonas hominis* in intestinal tissue specimens of cats by chromogenic in situ hybridization, *Veterinary Parasitology*, **183**, 209-214

35) PAHM D. (2009) Chronic intermittent diarrhea in a 14-month-old Abyssinian cat, Canadian Veterinary Journal, **50**, 85-87

36) RAE DO, CREWS JE. (2006*) Tritrichomonas fœtus, Veterinary Clinical Food Animal Practice*, **22**, 595-611

37) REINMANN K, MULLER N, HUHNERT P, CAMPERO CM, LEITSCH D, HESS M, HENNING K, FORT M, MULLER J, GOTTSTEIN B, FREY CF. (2012) *Tritrichomonas fœtus* isolates from cats and cattle show minor genetic differences in unrelated loci ITS-2 and EF-1α*, Veterinary Parasitology*, **185,** 138-144

38) ROSADO TW, SPECHT A, MARKS SL. (2007) Neurotoxicosis in 4 cats receiving ronidazole, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **21**, 328-331

39) ROSYPAL AC, RIPLEY A, STOCKDALE WALDEN HD, BLAGBURN BL, GRANT DC, LINDSAY DS. (2012) Survival of a feline isolate of *Tritrichomonas fœtus* in water, cat urine, cat food and cat litter, *Veterinary Parasitology*, **185**, 279-281

40) SLAPETA J, CRAIG S, MCDONELL D, EMERY D. (2010) *Tritrichomonas fœtus* from domestic cats and cattle are genetically distinct, *Experimental Parasitology*, **126**, 209-213

41) SLAPETA J, MULLER N, STACK CM, WALKER G, LEW-TABOR A, TACHEZY J, FREY CF. (2012) Comparative analysis of *Tritrichomonas fœtus* (Riedmüller, 1928) cat genotype, *T. fœtus* (Riedmüller, 1928) cattle genotype and *Tritrichomonas suis* (Davaine, 1875) at 10 DNA loci, *International Journal for Parasitology*, **42**, 1143-1149

42) STOCKDALE HD, SPENCER JA, DYKSTRA CC, BLAGBURN BL, SHANE WEST G, HANKES R, MCMILLAN KL, WHITLEY M. (2006) Feline trichomoniasis : an emerging disease ?, *Compendium*, 463-476

43) STOCKDALE H, RODNING S, GIVENS M, CARPENTER D, LENZ S, SPENCER J, DYKSTRA C, LINDSAY D, BLAGBURN B. (2007) Experimental infection of cattle with a feline isolate of *Tritrichomonas fœtus, Journal of Parasitology*, **93**, 1429-1434

44) STOCKDALE HD, GIVENS MD, DYKSTRA CC, BLAGBURN BL. (2009) *Tritrichomonas fœtus* infections in surveyed pet cats, *Veterinary Parasitology*, **160**, 13-17

45) SUN Z, STACK C, SLAPETA J. (2012) Sequence differences in the diagnostic region of the cysteine protease 8 gene of *Tritrichomonas fœtus* parasites of cats and cattle, *Veterinary Parasitology*, **186**, 445-449

46) TACHEZY J, TACHEZY R, HAMPL V, SEDINOVA M, VANACOVA S, VRLIK M. *et al.* (2002) Cattle pathogen *Tritrichomonas fœtus* (Riedmüller, 1928) and pig commensal *Tritrichomonas suis* (Gruby & Delafond, 1843) belong to the same species, *Journal of Eukaryot Microbiology*, **49**, 154-163

47) TOLBERT MK, STAUFFER SH, GOOKIN JL. (2012) Feline *Tritrichomonas fœtus* adhere to intestinal epithelium by receptor-ligand-dependent mechanisms, *Veterinary Parasitology*, **192**, 75-82

48) TYSNES K, GJERDE B, NODTVEDT A, SKANCKE E. (2011) A cross-sectional study of *Tritrichomonas fœtus* infection among healthy cats at shows in Norway, *Acta Veterinaria Scandinavica*, **53**, 39

49) VAN DER GIEZEN M, TOVAR J. (2005) Degenerate mitochondria, European Molecular Biology Organization Reports **6**, 525-530

50) VAN DER SAAG M, MCDONELL D, SLAPETA J. (2011) Cat genotype *Tritrichomonas fœtus* survives passage through the alimentary tract of two common slug species, *Veterinary Parasitology*, **177**, 262-266

51) XENOULIS PG, SARIDOMICHELAKIS MN, READ SA, SUCHODOLSKI JS, STEINER JM. (2010) Detection of *Tritrichomonas fœtus* in cats in Greece*, Journal of Feline Medicine and Surgery*, **12**, 831-833

52) YAEGER MJ, GOOKIN JL. (2005) Histologic features associated with *Tritrichomonas fœtus*-induces colitis in domestic cats, *Veterinary Pathology*, **42** : 797

53) ZUBACOVA Z, CIMBUREK Z, TACHEZY J. (2008) Comparative analysis of trichomonad genome sizes and karyotypes, *Molecular Biochemical Parasitology*, **161** (1), 49-54

Sites Internet :

54) Université Pierre et Marie Curie - La PCR
Adresse URL : http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/PCR/

55) Purinavet –Marine Hugonnard – Benefits of FORTIFLORA and Feline EN diet in an Abyssian cat infected with *Tritrichomonas fœtus*
Adresse URL :
http://www.purinavets.eu/PDFs/casestudies/PVD_2.12_Case_Study_Fakir_Hugonnard.pdf

Annexes

Annexe 1 : Mode d'emploi du système In-Pouch réalisé pour les vétérinaires

FICHE TECHNIQUE : PRELEVEMENT IN-POUCH POUR ANALYSE TRITRICHOMONAS

Languette servant à la fermeture
Poche du haut
Zone d'étranglement entre les 2 poches
Partie blanche pour les références
Poche du bas
Liquide jaune = milieu de culture

In-pouch :

ETAPE 1

Prendre l'in-pouch en position verticale et pousser le liquide dans la poche du bas. Préparer l'ouverture de l'in-pouch en découpant au dessus de la languette qui servira à la refermer à la fin ; puis s'assurer qu'il sera facile d'ouvrir la poche pour insérer l'écouvillon sans en toucher les bords. Mettre de côté l'in-pouch en position verticale le temps du prélèvement.

ETAPE 2

Réaliser le prélèvement rectal à l'aide de l'écouvillon. Entrer l'écouvillon sur 1cm et le faire pivoter pour bien racler la paroi du rectum.

Attention, de ne pas toucher les poils du chat avec l'écouvillon stérile et de ne pas tenir trop fort la queue du chat à la verticale car certains chats en se débattant pourraient se casser la queue.

ETAPE 3

Insérer l'écouvillon dans la poche tenue verticalement. L'insérer jusqu'au fond de la poche du haut.

ETAPE 4

Faire remonter environ 1cm de liquide dans la poche du haut pour recouvrir la tête de l'écouvillon

ETAPE 5

En tenant d'une main l'extrémité de l'écouvillon en place dans le fond de la poche du haut, faire rouler l'écouvillon dans vos doigts avec l'autre main pour rincer/essorer l'écouvillon et récupérer ainsi les matières dans le milieu de culture.

ETAPE 6

Ressortir l'écouvillon, et pousser entièrement le liquide dans la poche du bas

Etape 4

Etape 5

Etape 6

Etape 7

ETAPE 7

Refermer l'in-pouch en enroulant la poche du haut, puis en rabattant les deux extrémités de la languette de chaque côté.

ETAPE 8

Noter les références de l'animal sur la partie blanche de l'in-pouch

ETAPE 9

Remplir la feuille de commémoratifs de l'animal

ETAPE 10 : MODALITES D'ENVOI

L'in-pouch rempli doit être conservé à température ambiante à l'abri de la lumière, et envoyé le plus rapidement possible dans une boite garnie de papier bulle (ou tout autre remplissage qui permettra de garantir l'intégrité de la poche).

Adresse d'envoi : Dr. Zenner service de Parasitologie
Vetagrosup Campus Vétérinaire de Lyon
1, av Bourgelat 69280 MARCY L'ETOILE

Annexe 2 : Questionnaire distribué aux éleveurs lors du dépistage en exposition féline

N° du chat prélevé :

Questionnaire Tritrichomonas- Commémoratifs

Tout d'abord merci à vous et à votre chat d'avoir accepté de participer à ce travail de recherche, votre aide nous est très précieuse. Le contenu de ce questionnaire m'aidera à comprendre les modalités de transmission de la maladie étudiée.

A propos du propriétaire :

Nom, Prénom :
Adresse :
Code postal, ville :
Tél: Mail :

A propos du chat :

Nom du chat :
Race :
Age :
Nombre de portées/chatons si femelle reproductrice :
Appétit :
Alimentation :
Etat corporel :
Antécédents pathologiques: ☐ Aucun
☐ Diarrhée occasionnelle ☐ Diarrhée chronique ☐ Autres :
Si oui : date et / âge d'apparition :
Aspect des selles : moulées-molles-liquides ; présence de sang-mucus-ténesme ; couleur :
Traitement parasitaire interne/date :
Autre traitement/date :

A propos de l'environnement :

Nombres d'animaux élevés ensembles :
Jeunes :
Adultes :
Nom du vétérinaire traitant : Dr.

Votre chat vit-il avec des animaux d'une autre espèce ?
☐ Non ☐ Oui, précisez :

Ces animaux présentent-ils des pathologies digestives ?
☐ Non ☐ Pathologies digestives (diarrhées) ☐ autres :

Résultats :

Recherche de Tritrichomonas fœtus par In Pouch : positif – négatif
Recherche de Tritrichomonas fœtus par la PCR : positif – négatif

Annexe 3: Résultats des expositions

Exposition Orléans 24 jeunes et 16 adultes

N°	Race	sexe	diarrhée	age	nbre de chats	chien	alimentation	culture	ADN
1	british longhair	F	occasionelle	6	6	oui	sèche	-	
2	norvégien	F	chronique	3		non	sèche	-	
3	norvégien	M	chronique	3		non	sèche	-	
4	persan	M	occasionelle	18	18	oui	mixte	-	
5	somali	M	occasionelle	48	5	non	sèche	+	oui
6	somali	M	chronique	132	4	non	sèche	-	
7	bengal	M	chronique	18	2	oui	sèche	+	oui
8	bengal	F	occasionelle	3	4	non	sèche	-	
9	bengal	M	chronique	7	6	non	sèche	-	
10	british longhair	M	occasionelle	9	6	oui	sèche	-	
11	norvégien	M	occasionelle	4	17	non	mixte	-	
12	norvégien	F	occasionelle	5	17	non	mixte	+	oui
13	bengal	F	non	4				+	oui
14	abyssin	F	non	8	4	oui	sèche	-	
15	maine coon	F	chronique	9	3	oui	mixte	+	oui
16	maine coon	F	occasionelle	12	3	oui	mixte	+	oui
17	nebelung	M	non	12	3	non	sèche	-	
18	british longhair	M	non	18				-	
19	british longhair	F	non	3				-	
20	norvégien	F	non	3	3	non	sèche	-	
21	norvégien	M	occasionelle	5	1	non	mixte	-	
22	sacré de birmanie	F	non	3	19	oui	mixte	-	
23	British	F	non	4	19	oui	mixte	-	
24	british shorthair	F	non	5	4	oui	mixte	-	
25	burmilla	F	non	3	6	non	sèche	+	oui
26	persan	F	non	24	6	oui	mixte	-	
27	angora turc	M	non	7	12	non	sèche	-	
28	norvégien	M	occasionelle	8	3	non	sèche	-	
29	ragdoll	M	non	12				-	
30	norvégien	M	non	24	14	non	mixte	-	

N°	Race	sexe	diarrhée	age	nbre de chats	chien	alimentation	culture	ADN
31	norvégien	F	non	7	14	non	mixte	-	
32	persan	M	non	24	7	oui	sèche	-	
33	bengal	M	occasionelle	9	3	oui	sèche	-	
34	bengal	M	chronique	5	1	non	sèche	-	
35	chartreux	M	chronique	72	20	oui	sèche	-	
36	chartreux	F	occasionelle	5	20	oui	mixte	-	
37	persan	F	non	12	6	non	sèche	-	
38	chartreux	M	non	12	10	non	sèche	+	oui
39	maine coon	F	occasionelle	12	7	oui	sèche	-	
40	bengal	M	occasionelle	9	2	non	sèche	-	

Exposition Oyonnax 33 jeunes et 19 adultes

N°	Race	sexe	diarrhée	âge	nbr de chats	chien	alimentation	culture	ADN	PCR
41	Main coon	M	occasionnelle	11	4	non	sèche	-		
42	Abyssin	F	chronique	24	13	non	sèche	-		
43	norvégien	F	occasionnelle	3,5	10	non	mixte	-		
44	persan	F	non	5	20	oui	sèche	-		
45	persan	F	non	5	20	oui	sèche	-		
46	persan	F	non	5	20	oui	sèche	-		
47	british shorthair	F	non	5	7	oui	mixte	-		
48	Main coon	M	non	12	7	oui	sèche	-		
49	Abyssin	F	occasionnelle	5,5	2	oui	sèche	-		
50	Abyssin	F	occasionnelle	30	2	oui	sèche	-		
51	main coon	M	chronique	9	15	oui	sèche	+	oui	-
52	Abyssin	M	non	4	5	non	mixte	-		
53	persan	F	non	3	13	oui	mixte	-		
54	persan	F	occasionnelle	4,5	6	non	sèche	+	oui	+
55	Mau Egyptien	M	occasionnelle	13	1	non	sèche	-		
56	british shorthair	F	non	12	1		sèche	-		
57	persan	M	non	5	8	non	mixte	-		
58	maine coon	F	non	14	12	non	sèche	-		

N°	Race	sexe	diarrhée	âge	nbr de chats	chien	alimentation	culture	ADN	PCR
59	maine coon	M	non	14	13	non	sèche	-		
60	persan	F	non	4,5	9	non		-		
61	persan	F	non	4,5	4	non		-		
62	persan	M	non	13	3	oui		-		
63	persan	F	non	48	5	non	sèche	-		
64	maine coon	F	non	5	6	oui		-		
65	Oriental	M	non	11	10	non	sèche	+	oui	+
66	norvégien	M	non	7	12	non	mixte	-		
67	norvégien	F	non	30	10	oui	mixte	-		
68	norvégien	F	non	4,5	10	oui	mixte	-		
69	norvégien	F	occasionnelle	4	4	non	mixte	+	non	+
70	norvégien	F	occasionnelle	10,5	9	non	mixte	-		
71	sphinx	M	non	24	1	non	sèche	-		
72	norvégien	M	non	6	8	non	sèche	-		
73	maine coon	M	non	18				-		
74	norvégien	F	non	15	15	oui	sèche	-		
75	norvégien	M	non	14	4	oui	mixte	-		
76	norvégien	F	chronique	5	10	non	mixte	+	non	+
77	british shorthair	F	non	6	8	non	mixte	-		
78	siamois	M	non	3,5		non	mixte	+	oui	+
79	Oriental	M	non	3		non	mixte	+	oui	+
80	ragdoll	F	non	5	5	oui	sèche	-		
81	maine coon	M	non	8	3	oui	sèche	-		
82	british shorthair	M	non	18	1	non	sèche	-		
83	siamoise	F	occasionnelle	6	2	non	sèche	+	oui	+
84	persan	F	occasionnelle	30	4	non	mixte	-		
85	persan	M	occasionnelle	18	4	non	mixte	-		
86	maine coon	M	non	6	1	non	mixte	-		
87	maine coon	M	occasionnelle	18	4	oui	sèche	-		
88	sacré birmanie	M	non	8	4	non	sèche	-		
89	siberien	M	non	9	4	oui	sèche	-		

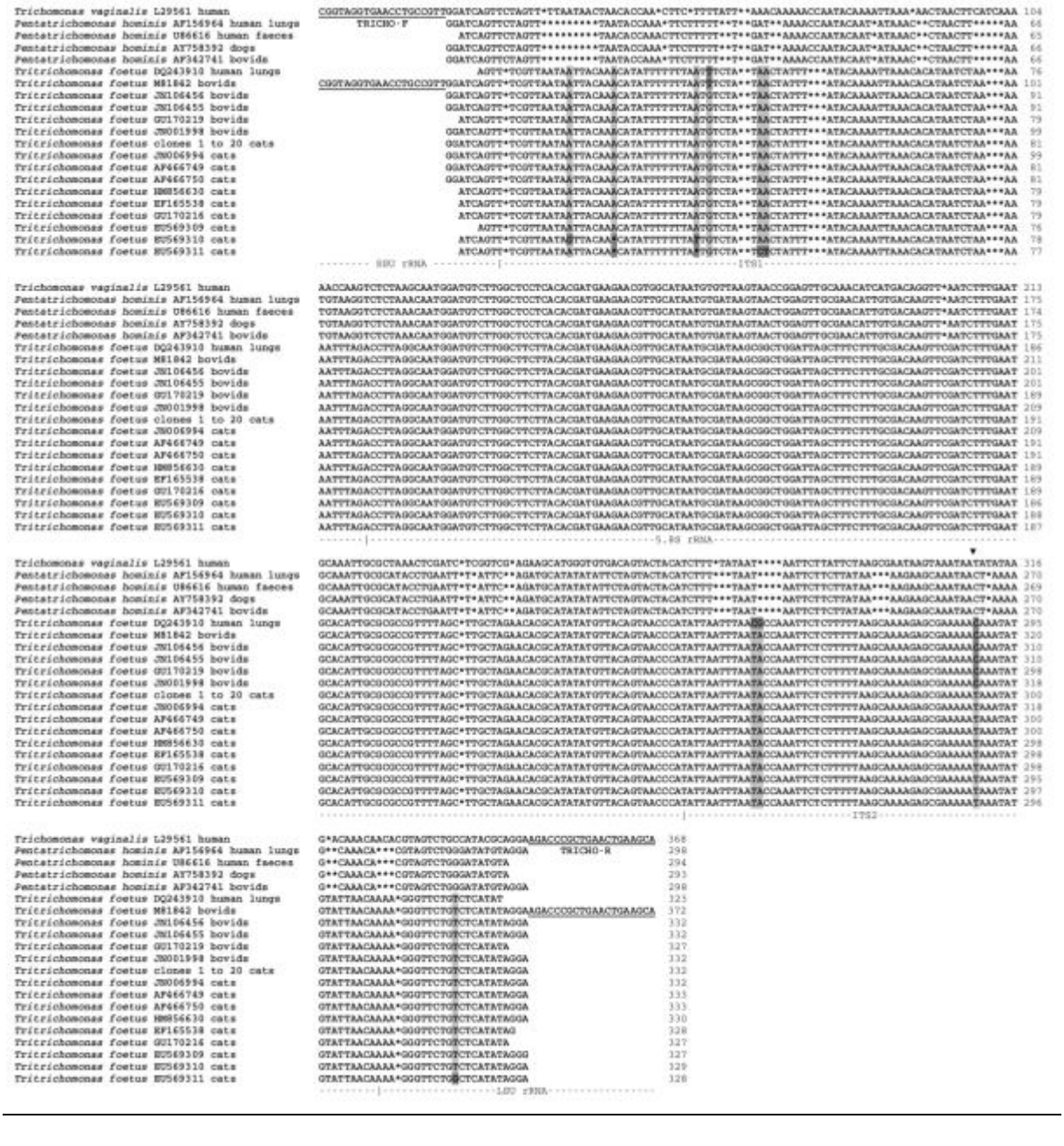
90	sacré birmanie	M	non	6	5			-		
91	cornish rex	F	occasionnelle	7	8	non	sèche	-		
92	Oriental	M	chronique	36	8	oui	sèche	-		

Exposition Avignon 20 chatons et 28 adultes

N°	race	sexe	diarrhée	âge	nbr de chats	chien	alimentation	culture	ADN	PCR
93	scottish fold	F	non	4,5	3	non	sèche	-		
94	persan	F	non	36	10	non	sèche	-		+
95	korat	F	occasionnelle	12	3	non	sèche	-		
96	sphinx	M	non	15	6	non	sèche	-		
97	maine coon	M	occasionnelle	5	2	non	sèche	-		
98	maine coon	F	non	4	14	non	mixte	-		
99	persan	M	non	15	18	oui	mixte	-		+
100	british longhair	F	occasionnelle	36	4	oui	sèche	-		
101	persan	F	chronique	48	8	non	sèche	-		+
102	sacré de birmanie	F	non	4,5	5	non	sèche	-		
103	maine coon	M	occasionnelle	6	8	non	sèche	+	oui	+
104	scottish fold	F	non	3	4	non	sèche	-		
105	maine coon	F	non	24	8	oui	sèche	-		
106	sacré de birmanie	F	occasionnelle	18	6	non	mixte	-		
107	maine coon	F	non	10	2	non	mixte	-		
108	sacré de birmanie	F	non	7	3	non	sèche	-		
109	sacré de birmanie	F	occasionnelle	13	5	non	sèche	+	oui	+
110	maine coon	F	non	12	8	non	sèche	-		
111	maine coon	M	occasionnelle	20	3	non	mixte	-		
112	british shorthair	M	non	3	4	non	mixte	-		
113	maine coon	M	occasionnelle	4,5	22	oui	sèche	-		
114	chartreux	M	non	6	5	non	sèche	-		
115	sacré de birmanie	F	non	5	5	oui	sèche	-		
116	sacré de birmanie	M	occasionnelle	24	14	oui	mixte	-		
117	sacré de birmanie	F	non	6	20	non	mixte	+	oui	+
118	chartreux	F	non	14	13	non	sèche	-		
119	maine coon	F	non	12		non	sèche	-		

N°	race	sexe	diarrhée	âge	nbr de chats	chien	alimentation	culture	ADN	PCR
120	sacré de birmanie	F	non	18	1	non	sèche	-		
121	british	F	non	12	10	oui	sèche	-		
122	persan	M	non	5	20	oui	sèche	-		
123	maine coon	F	occasionnelle	4	10	non	sèche	-		
124	norvégien	F	non	12	7	non	sèche	-		
125	sacré de birmanie	M	non	36	4	non	mixte	-		
126	sacré de birmanie	F	non	36	12	non	mixte	-		
127	abyssin	F	non	7				+	oui	+
128	ragdoll	M	non	6	3		sèche	-		
129	exotic shorthair	F	non	7				-		
130	maine coon	M	non	18			sèche	-		
131	sacré de birmanie	M	non	7				-		
132	british longhair	M	occasionnelle	18	6	oui	sèche	-		
133	maine coon	F	non	6			sèche	-		
134	british shorhair	M	occasionnelle	24	4	non	sèche	-		
135	norvégien	M	non	60	3	non	sèche	-		
136	norvégien	M	non	5	15	non	mixte	-		
137	sibérien	F	non	48	2	oui	sèche	-		
138	sibérien	M	non	72	2	oui	sèche	-		
139	maine coon	M	non	16	8	non	sèche	-		+
140	sibérien	F	non	12	3	oui	sèche	-		

Annexe 4 : Alignement des séquences des régions ITS1 et ITS2



Annexe 5: Abstract de la présentation au congrès national vétérinaire à Lyon en 2011

EPIDÉMIOLOGIE DU TRITRICHOMONAS FŒTUS CHEZ LES CHATS DE RACE EN FRANCE ET COMPARAISON DE DEUX MÉTHODES DE DÉPISTAGE

| C. PROFIZI[1,2,3], M. HUGONNARD[2], V. LAMBERT[4], K. GROUD[4], A. GAGNON[5], L. ZENNER[2]

1. Anses - Dozulé - 14430 GOUSTRANVILLE
2. Vetagro-Sup - 69280 MARCY L'ETOILE
3. Vetagro-Sup - 69280 MARCY L'ETOILE
4. Laboratoire Vétérinaire Départemental du Rhone - 69280 MARCY L'ETOILE
5. Clinique Vétérinaire Féline - 69110 STE FOY LES LYON

Epidémiologie du *Tritrichomonas fœtus* chez les chats de race en France et comparaison de deux méthodes de dépistage.

C. PROFIZI 1, M. HUGONNARD 1, V. LAMBERT 2, K. GROUD 2, AC. GAGNON 3, L. ZENNER1

1 VetAgroSup, Université de Lyon, 1 avenue Bourgelat, 69280, Marcy l'Etoile, c.profizi@vetagro-sup.fr 06 64 53 13 83, m.hugonnard@vetagro-sup.fr 04 78 87 27 98, l.zenner@vetagro-sup.fr 04 78 87 27 02

2 LVD 69, 1 avenue Bourgelat, 69280, Marcy l'Etoile, v.lambert@vetagro-sup.fr, k.groud@vetagro-sup.fr 04 78 87 26 60

2 Clinique Vétérinaire Féline, 47 avenue Valioud, 69110 Ste Foy les Lyon, ac.gagnon@wanadoo.fr 0472578874

Introduction

Tritrichomonas fœtus est un protozoaire flagellé phylogénétiquement proche de Giardia. Reconnu comme pathogène depuis longtemps dans l'espèce bovine, il est fortement suspecté d'être occasionnellement responsable de diarrhée chronique chez le chat. Il pourrait être un agent pathogène émergent. Les chats de race, élevés en communautés, sont particulièrement sensibles aux affections digestives d'origine infectieuse. Cette étude prospective décrit la prévalence du portage de *Tritrichomonas fœtus* chez les chats de race en France et compare deux méthodes de dépistage à partir d'un écouvillon rectal : la mise en culture du parasite et l'amplification moléculaire (Polymerase Chain Reaction ou PCR).

Matériel et Méthodes

Entre novembre 2009 et octobre 2010, 140 chats de race, présumés sains, ont été dépistés pour *T. fœtus,* sur la base du volontariat, dans trois expositions félines en France. Chaque propriétaire a rempli un questionnaire indiquant l'âge, la race, les antécédents de pathologie digestive pour chaque chat, et le nombre d'animaux dans l'élevage. Deux écouvillons rectaux ont été effectués sur chaque chat permettant de réaliser une culture en système « In Pouch TF-Feline » (Biomed, Diagnostics ; White City, Oregon) et une PCR mise au point selon [1]. La spécificité de la méthode PCR a été validée en la testant sur les espèces d'origine féline *Giardia, Isospora* et *Toxocara*. Les cultures ont toutes été observées par le même investigateur au microscope optique et le résultat rendu au terme d'une période d'observation de 12 jours.

Résultats

La population d'étude (140 chats) était composée de 74 femelles (53%) et de 66 mâles (47%) provenant de 40 départements français métropolitains. Vingt-trois races étaient représentées. Soixante-dix sept chats sur 140 (55%) avaient moins d'un an. La prévalence de *T. fœtus* était de 15% (14,3% en culture, 15% par PCR). Sur les 100 chats soumis aux deux méthodes de dépistage, 11 étaient positifs pour les deux méthodes, 12 étaient positifs en culture, et 15 en PCR. Un chat était positif en culture et négatif en PCR. Quatre chats étaient positifs en PCR et négatifs en culture. La sensibilité de la PCR est de 93,7 % contre 75 % pour la culture.

Quatre chats sur les 24 (16,6%) porteurs de *T. fœtus* présentaient des symptômes digestifs chroniques alors que seuls 8 chats sur les 116 (6,9%) chats négatifs pour le dépistage présentaient une pathologie digestive. L'écart entre la fréquence des signes digestifs pour ces deux populations est statistiquement significatif (p

Annexe 6: Publication dans Veterinary Parasitology en 2013

G Model
VETPAR-6689; No. of Pages 6

ARTICLE IN PRESS

Veterinary Parasitology xxx (2013) xxx–xxx

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Veterinary Parasitology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vetpar

Prevalence of *Tritrichomonas foetus* infections in French catteries

Claire Profizi[a,*], Amandine Cian[b], Dionigia Meloni[b], Marine Hugonnard[a,e], Véronique Lambert[a,c], Karine Groud[c], Anne-Claire Gagnon[a], Eric Viscogliosi[b], Lionel Zenner[a,d]

[a] VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon, Université de Lyon, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, France
[b] Institut Pasteur de Lille, Centre d'Infection et d'Immunité de Lille, Inserm U1019, CNRS UMR 8204, Université Lille Nord de France, Biologie et Diversité des Pathogène Eucaryotes Emergents, EA4547, 1 rue du Professeur Calmette, BP 245, 59019 Lille Cedex, France
[c] Laboratoire Vétérinaire Départemental du Rhône, VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, France
[d] Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, CNRS UMR 5558, Université de Lyon, 43 boulevard du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne, France
[e] USC 1233, Equipe PERS

ARTICLE INFO

Article history:
Received 7 December 2012
Received in revised form 21 January 2013
Accepted 25 January 2013

Keywords:
Tritrichomonas foetus
Cat
France
Genotyping
ITS2

ABSTRACT

Recently, *Tritrichomonas foetus*, the known etiologic agent of bovine trichomonosis was identified in domestic cats in many countries around the world. In felids, this parasite would be a significant cause of large-bowel diarrhoea. Therefore the aim of the present study was to determine for the first time the prevalence of *T. foetus* infection in French catteries. In this epidemiological survey, rectal swabs from 140 cats participating in three international shows were tested for the presence of motile parasites by microscopy after culturing. The prevalence of *T. foetus* infection was 14.3% among cats (20/140) and 15.9% among catteries (18/117). These values were similar to those previously obtained in other European countries. Except for the age, no significant associations were found between the presence of *T. foetus* and various risk factors of infection such as the size of the cattery, the type of food, or the vicinity of a dog. Internal transcribed region of the ribosomal DNA unit was sequenced from the 20 *T. foetus* isolates identified in this study. They exhibited 100% identity and are homologous with other sequences of strains isolated from domestic cats in other countries.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Tritrichomonas foetus is the causative agent of bovine trichomonosis, a sexually transmitted disease leading to infertility and occasional abortion during the first half of gestation (BonDurant, 1997; Kvasnicka et al., 1998). *T. foetus* has also been reported in dogs (Gookin et al., 2005; Tolbert et al., 2012). The synonym species *T. suis* is a gastrointestinal commensal of pigs (Tachezy et al., 2002). Moreover, Trichomonads closely related to this bovid parasite were also identified in the lungs of a patient with AIDS in association with *Pneumocystis* pneumonia (Duboucher et al., 2006). Interestingly, during the last decade, *T. foetus* was also recognized as a primary agent of feline trichomonosis causing large-bowel diarrhoea (Gookin et al., 1999, 2001; Levy et al., 2003; Bissett et al., 2008; Stockdale et al., 2008; Tolbert and Gookin, 2009), especially among purebred cats in multi-cat households. Clinically, *T. foetus* colonizes ileum, caecum and specially colon of felids, and can cause a chronic and intermittent diarrhoea, characterized by an increase in faeces volume and defecation frequency, as well as a loose

* Corresponding author. Tel.: +33 664531383.
E-mail address: claire.profizi@vetagro-sup.fr (C. Profizi).

0304-4017/$ – see front matter © 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.
http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.01.021

Please cite this article in press as: Profizi, C., et al., Prevalence of *Tritrichomonas foetus* infections in French catteries. Vet. Parasitol. (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.01.021

stools (Gookin et al., 1999, 2001; Foster et al., 2004; Yaeger and Gookin, 2005; Stockdale et al., 2008). Most of the cats are asymptomatic carriers and young cats are more inclined to develop the disease (Holliday et al., 2009; Stockdale et al., 2009; Xenoulis et al., 2010). In addition, the community life in catteries or shelters could be a potential risk factor of infection since the faecal-oral route is considered as the main mode of transmission of the parasite (Gookin et al., 2004; Gunn-Moore et al., 2007; Hale et al., 2009; Van der Saag et al., 2011; Rosypal et al., 2012).

This parasite has been found in cats from numerous European countries as well as in the USA, Australia, New Zealand, and Japan, and huge variations in the prevalence of *T. foetus* (2–82%) have been observed (Foster et al., 2004; Gookin et al., 2004; Gunn-Moore et al., 2007; Bissett et al., 2009; Holliday et al., 2009; Stockdale et al., 2009; Bell et al., 2010; Kingsbury et al., 2010; Xenoulis et al., 2010; Kuehner et al., 2011; Tysnes et al., 2011; Doi et al., 2012). In the recent literature, two types of epidemiological studies have been reported: the first looking for the parasite among a population of diarrheic cats (Gunn-Moore et al., 2007; Holliday et al., 2009; Bell et al., 2010), and the second conducting a screening of all cats, independently of the presence of intestinal symptoms (Gookin et al., 2004; Bissett et al., 2009; Stockdale et al., 2009; Kingsbury et al., 2010; Xenoulis et al., 2010; Kuehner et al., 2011; Tysnes et al., 2011; Doi et al., 2012). The increasingly frequent diagnosis of *T. foetus* observed in cats in recent epidemiological surveys might be due to a rise in the awareness of the parasite among veterinarians or could suggest that feline trichomonosis is an emerging disease (Bissett et al., 2008; Stockdale et al., 2009; Bell et al., 2010). Different methods exist to screen the parasite directly from feline stool samples: light microscopic examination, xenic *in vitro* culture (InPouch TF-Feline), and polymerase chain reaction (PCR) assays (Gookin et al., 2002, 2003). Although PCR assays should be more sensitive (Tysnes et al., 2011), xenic *in vitro* culture is most often used for routine screening according to its sensitivity and specificity for culture of *T. foetus* in faeces (Gookin et al., 2003). Moreover, studies of cattle have been similarly unable to demonstrate a greater sensitivity of PCR alone than of culturing for testing biological samples for *T. foetus* organisms (Gookin et al., 2002).

The infections of different hosts by *T. foetus*-like organisms raised the question of the zoonotic potential of trichomonads and the existence of host-specific genotypes. Therefore the genetic relationships amongst *T. foetus* isolated from cats and bovids were recently investigated by DNA sequencing of the internal transcribed (ITS) domain of the ribosomal DNA unit (Slapeta et al., 2010; Reinmann et al., 2012), the cysteine protease (CP) 8 gene (Sun et al., 2012), the TR7/TR8 variable-length repeat (Slapeta et al., 2010), and the elongation factor (EF)-1α gene (Reinmann et al., 2012). Respective comparative analyses of these molecular markers suggested recognition of a "cat genotype" and a "cattle genotype" of *T. foetus*. In the case of the ITS domain, cat and cattle sequences only differed by a single nucleotide polymorphism (SNP) in the ITS2 region (Slapeta et al., 2010; Reinmann et al., 2012).

Despite the significance of *T. foetus* as a pathogen, no epidemiological study of this parasite in cats has been published so far in France. Therefore the aim of the present study was (1) to determine the prevalence of *T. foetus* in French purebred cats and (2) to investigate the genetic diversity of *T. foetus* isolates identified in the French feline population.

2. Materials and methods

2.1. Study population

Between November 2009 and October 2010, 140 faecal samples were collected from 140 French cattery-housed pedigree cats, participating in three international cat shows in France (40, 52, and 48 cats at Orléans, Oyonnax, and Avignon, respectively) and comprising a variety of age groups. During the shows, breeders were approached to voluntarily participate in the study by completing a questionnaire. No more than two cats per cattery were accepted (one exception), to have the broadest geographic representation of the feline population. Questionnaires were designed to collect basic information about each participating cat concerning age, gender, breed, food, appetite, physical state, and previous history of gastrointestinal problems of cats as well as the number of cats in the cattery, geographic location, and the proximity of cats to other species having gastrointestinal disorders.

2.2. Microscopy and culturing

During the shows, rectal swabs were performed for each of the 140 cats tested. Samples were immediately inoculated into an InPouch-TF Feline culturing bag (Biomed Diagnostics, White City, Oregon) then incubated at 25 °C. The same investigator obtained the 140 samples and performed the examination of the cultures for the presence of trichomonads. Microscopic evaluation at 100× magnification was performed every 2 days starting 24–48 h post-inoculation and during 12 days. Samples were declared negative if no parasites were observed after 12 days.

2.3. DNA extraction and molecular characterization of trichomonad isolates

In order to analyse the genetic diversity of trichomonad isolates identified in this study, DNA from positive samples by culturing was amplified using the trichomonad-specific sense primer TRICHO-F and antisense primer TRICHO-R targeting the ITS1-5.8S rRNA-ITS2 region as previously described (Jongwutiwes et al., 2000; Duboucher et al., 2006). Briefly, PCR was carried out for 40 cycles with a 50-μl volume according to the standard conditions for Platinum *Taq* high-fidelity DNA polymerase (Invitrogen, Groningen, The Netherlands). Negative and positive controls were included in the series. The PCR product was separated by agarose gel electrophoresis, and a band of the expected size (around 400 bp) was purified using the Wizard SV Gel and PCR clean-up system (Promega, Madison, WI). The purified PCR product was cloned in the T vector PCR 2.1-TOPO (Invitrogen) and amplified in *Escherichia coli* One Shot TOP10 competent cells.

Please cite this article in press as: Profizi, C., et al., Prevalence of *Tritrichomonas foetus* infections in French catteries. Vet. Parasitol. (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.01.021

Minipreparations of plasmid DNA were obtained using the QIAprep Spin miniprep kit (Qiagen). One clone containing an insert of approximately the expected size was arbitrarily selected for each cloning and sequenced on both strands. These sequences were aligned with all of the trichomonad ITS1-5.8S rRNA-ITS2 sequences available in databases by the use of the BioEdit v7.0.1 package (http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html). Since all the nucleotide sequences obtained in this study were identical, only one of them has been deposited in GenBank under the accession number JX960422.

2.4. Statistical analysis

To explore the relation between *T. foetus* infection and associated risk factors, statistical analyses were performed using χ^2 test for the age, number of cats per household, vicinity of a dog, and type of food, and Fisher test for history of diarrhoea.

3. Results

3.1. Analysis of the study cohort of cats

This study included 140 cats from 117 different catteries. The mean age of cats included in the present study was 14 months (3 months to 11 years, median of 9 months), including 63 adults (>1 year) and 77 kittens (<1 year). There were 74 females (47%) and 66 males (53%). The 140 cats were native of 40 different French departments (Fig. 1) and included 23 different breeds: Abyssinian (6), Angora Turk (1), Bengal (7), British longhair (6), British shorthair (8), Burmese (1), Chartreux (5), Cornish Rex (1), Exotic shorthair (1), Korat (1), Maine Coon (26), Mau Egyptian (1) Nebelung (1), NFO cat (21), Oriental (3), Persian (22), Ragdoll (3), Birman (15), Scottish fold (2), Siamese (2), Siberian (4), Somali (2), and Sphinx (1).

3.2. Prevalence of trichomonads in the French feline population

Among the 140 feline faecal samples screened in this study, 20 were positive by culturing. Indeed, motile trichomonads were clearly identified by microscopy in the corresponding InPouch-TF Feline bags. The prevalence of trichomonad infection was 14.3% among cats (20/140) and 15.4% among catteries (18/117). The positive cases were distributed over the whole French territory (Fig. 1).

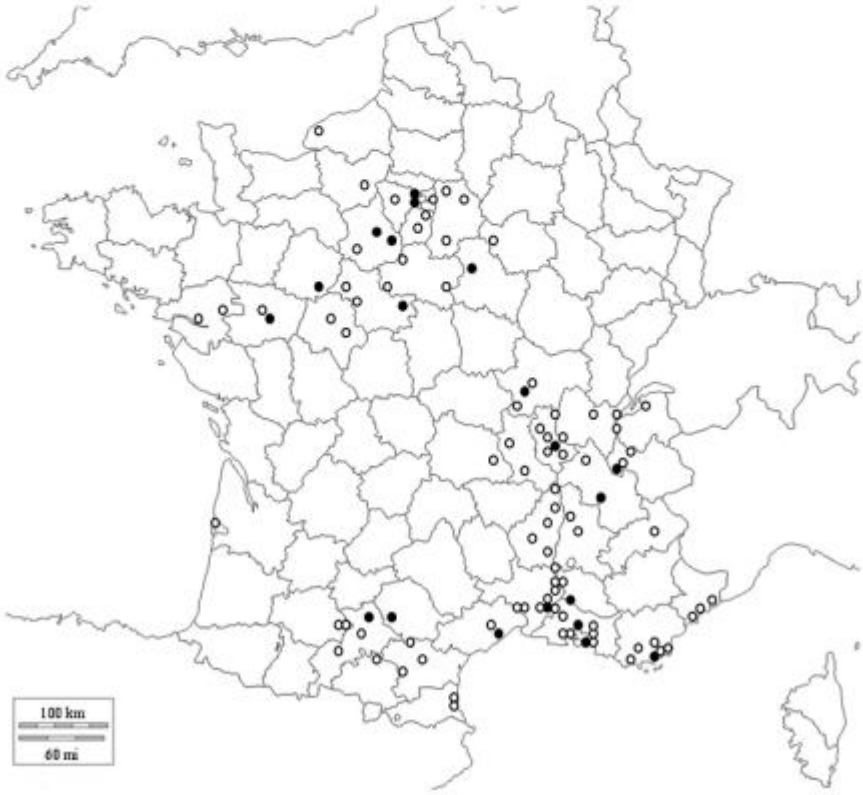


Fig. 1. Map of the positive (black) and negative (white) cats tested in the present study.

Please cite this article in press as: Profizi, C., et al., Prevalence of *Tritrichomonas foetus* infections in French catteries. Vet. Parasitol. (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.01.021

3.3. Risk factors associated to infection and clinical signs

Mean age among screened cats was 14.9 months while mean age among infected cats with *T. foetus* was 9.5 months. Sixty three percent (76/120) of negative cats were less than one year old, compared with 85% (17/20) of the positive cats. This difference was statistically significant (χ^2 test; $p = 0.057$). Cats of the following breeds were positive for trichomonads: Abyssinian (1), Bengal (2), Birman (2), Burmese (1), Chartreux (1), Maine Coon (4), NFO (3), Oriental (2), Persian (1), Siamese (2), and Somali (1). Among the positive cats for trichomonads, 15.0% (3/20) had chronic digestive signs instead of only 6.7% (8/120) among negative cats. However the difference was not statistically significant (Fisher test, $p = 0.19$). Trichomonad infection was not correlated with any other risk factors as gender, number of cats per household, presence of dogs, type of food, and geographic location of the cattery.

3.4. Molecular characterization of trichomonad isolates

DNA from the 20 positives samples by culturing was subsequently amplified using a trichomonad-specific primers pair. After cloning of the PCR product, one positive clone was sequenced for each cloning. All of the 20 sequenced clones exhibited 100% identity. In the common part of our alignment, they also showed 100% identity to homologous sequences of *T. foetus* strains isolated from domestic cats in the USA (AF466749, AF466750, and EU569309), Switzerland (JN006994), Norway (HM856630 and EF165538), and Australia (GU170216). In contrast, these sequences differed at 3 and 5 positions with those of *T. foetus* ITS sequences obtained from domestic cats in USA (EU569310 and EU569311, respectively). With the exception of EU569310 and EU569311, all the domestic cat sequences including those obtained in the present study and cattle sequences differed by a single nucleotide polymorphism (SNP) in the ITS2 region.

4. Discussion

To our knowledge, the present study is the first investigation into the prevalence of *T. foetus* in domestic cats in France and confirms the presence of the parasite on a large part of the French territory. Twenty out of 140 (14.3%) purebred cats and 18 out of 117 (15.9%) surveyed catteries tested at three cat shows were identified as positive for *T. foetus*. These proportions were quite similar to those found in other European countries. In Germany (Kuehner et al., 2011), Greece (Xenoulis et al., 2010), Italy (Holliday et al., 2009), and Norway (Tysnes et al., 2011), 15.7% (36/230), 20.0% (6/30), 32% (24/74), and 21.2% (11/52), respectively, of faecal samples obtained at cat shows were identified as positive for *T. foetus*. However, the overall average prevalence of the parasite observed in European countries is lower than that found using the same methodologies among cats attending cat shows in the USA (31% of 117 cats) (Foster et al., 2004) and New Zealand (82% of 22 cats) (Kingsbury et al., 2010). Consequently, either parasite prevalence is currently lower in Europe than in America and Oceania or this prevalence is underestimated in European studies. The participation of owners in this study was on a voluntary basis. Even if cats are otherwise healthy at shows, some of them were suffering from chronic intestinal disorders at the time of screening.

Several other epidemiological studies have been conducted worldwide to determine the prevalence of *T. foetus* and included different populations of healthy and diseased cats in shows, shelters or veterinary clinics (Gookin et al., 2004; Bissett et al., 2009; Stockdale et al., 2009; Kingsbury et al., 2010; Xenoulis et al., 2010; Kuehner et al., 2011; Tysnes et al., 2011; Doi et al., 2012). The prevalence of diarrhoea in the present study was based on the data obtained from the epidemiological questionnaire. Three out of 20 (15%) *T. foetus* positive cats had chronic diarrhoea, against 8 out of 120 (6.7%) negative cats. This difference was not statistically significant probably due to a still limited number of animals included in this study. However, this relationship between the presence of *T. foetus* and diarrhoea has already been pointed out by Gookin et al. (2001, 2006, 2007). These authors were able to cause diarrhoea experimentally in kittens by inoculation of a *T. foetus* culture isolated from a cat with diarrhoea. Recently, a significant relationship was shown between abnormal faecal consistency and *T. foetus* infection (Kuehner et al., 2011) as well as between *T. foetus* infection and the young age of animals (Holliday et al., 2009; Stockdale et al., 2009; Xenoulis et al., 2010). According to our data, the latter relationship was confirmed in the present study. Indeed 17 out of 20 *T. foetus* positive cats (85.0%) were less than one year old, instead of 76 out of 120 (63.3%) among *T. foetus* free cats. In contrast, no significant relationship has been found between the presence of the parasite and the cattery size, life in the vicinity of dogs, and type of food.

Using a trichomonad-specific primers pair, DNA from the 20 positive samples by culturing was amplified and sequenced. Interestingly all the sequences obtained from these samples exhibited 100% identity strongly suggesting that they were all derived from the same *T. foetus* strain. Moreover, comparative analysis with homologous *T. foetus* sequences currently available in GenBank from different hosts, revealed 100% identity with those of domestic cats (AF466749, AF466750, EU569309, JN006994, HM856630, EF165538, and GU170216) obtained from different countries. Some domestic cat isolates sequences obtained by single strand sequencing (EU569310 and EU569311) exhibited several polymorphisms mainly in the ITS1 region. As suggested by Slapeta et al. (2010), these polymorphisms that are not shared by others feline isolates sequences including those obtained in this study have to be verified by sequencing on both strands. In addition, all domestic cat isolates sequences included in our study exhibited the same domestic cat *versus* cattle sequences polymorphism in the ITS2 region (T for felids and C for bovids). This was in complete concordance with the previous data obtained by Slapeta et al. (2010) and Reinmann et al. (2012) suggesting that this SNP might discriminate "cat genotype" from "cattle genotype". Consequently, *T. foetus* isolates from different hosts (cattle, cat, and probably human) and countries exhibited a low genetic diversity by comparing ITS1 and ITS2 loci as well as additional markers such as the CP8 gene (Sun et al., 2012), the TR7/TR8

Please cite this article in press as: Profizi, C., et al., Prevalence of *Tritrichomonas foetus* infections in French catteries. Vet. Parasitol. (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.01.021

variable-length repeat (Slapeta et al., 2010), and the elongation factor (EF)-1α gene (Reinmann et al., 2012). As suggested by Reinmann et al. (2012), *T. foetus* isolates with high genetic identity might be able to adapt to different environments within multiple hosts. Indeed, a bovine isolate of *T. foetus* was able to infect the caecum of cats even if there are demonstrable differences between the feline and bovine isolates regarding their infectivity in cats (Stockdale et al., 2008). In parallel, a feline *T. foetus* isolate inoculated in the reproductive tract of cattle was able to cause endometritis, but apparently with less severe clinical signs than lesions caused by a bovine isolate (Stockdale et al., 2007). This identity might also reflect an early molecular diversification of *T. foetus* isolates with the identification of new genotypes including the cat and cattle genotypes related to host specificity.

In conclusion, we have shown for the first time that *T. foetus* is a widespread parasite on the French territory. Its prevalence of 14.3% in domestic cats was roughly similar to that observed in other European countries. Sequence alignment of the ITS region of the ribosomal DNA unit revealed a complete genetic identity between feline *T. foetus* isolates of European countries and America. Moreover, our sequences data confirmed the recognition of cat and cattle genotypes based on a SNP in the ITS2 region.

Conflict of interest statement

The authors declare there are no conflicts of interest.

Acknowledgements

The authors gratefully thank all the cat owners who participated in this study, the organizers of the cat shows, and Marie-Thérèse Poirel for her valuable assistance. This paper was reviewed by a native English speaker and the authors thank Timothy Avison. This work was supported by a grant of PURINA, the Livre Officiel des Origines Félines and the Société Française de Félinotechnie. This work was also supported by VetAgroSup, the Institut Pasteur de Lille, the Centre National de la Recherche Scientifique, and the Université de Lyon and Université Lille Nord de France. DM was supported by grants from the ERASMUS programme and Regione Autonoma della Sardegna.

References

Bell, E.T., Gowan, R.A., Lingard, A.E., McCoy, R.J., Slapeta, J., Malik, R., 2010. Naturally occurring *Tritrichomonas foetus* infections in Australian cats: 38 cases. J. Feline Med. Surg. 12, 889–898.

Bissett, S.A., Gowan, R.A., O'Brien, C.R., Stone, M.R., Gookin, J.L., 2008. Feline diarrhoea associated with *Tritrichomonas* cf. *foetus* and *Giardia* co-infection in an Australian cattery. Aust. Vet. J. 86, 440–443.

Bissett, S.A., Stone, M.L., Malik, R., Norris, J.M., O'Brien, C., Mansfield, C.S., Nicholis, J.M., Griffin, A., Gookin, J.L., 2009. Observed occurrence of *Tritrichomonas foetus* and other enteric parasites in Australian cattery and shelter cats. J. Feline Med. Surg. 11, 803–807.

BonDurant, R.H., 1997. Pathogenesis, diagnosis, and management of trichomoniasis in cattle. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 13, 345–361.

Doi, J., Hirota, J., Morita, A., Fukushima, K., Kamijyo, H., Ohta, H., Yamasaki, M., Takahashi, T., Katakura, K., Oku, Y., 2012. Intestinal *Tritrichomonas suis* (=*T. foetus*) infection in Japanese cats. J. Vet. Med. Sci. 74, 413–417.

Duboucher, C., Caby, S., Dufernez, F., Chabé, M., Gantois, N., Delgado-Viscogliosi, P., Billy, C., Barré, E., Torabi, E., Capron, M., Pierce, R.J., Dei-Cas, E., Viscogliosi, E., 2006. Molecular identification of *Tritrichomonas* foetus-like organisms as coinfecting agents of human *Pneumocystis* pneumonia. J. Clin. Microbiol. 44, 1165–1168.

Foster, D.M., Gookin, J.L., Poore, M.F., Stebbins, M.E., Levy, M.G., 2004. Outcome of cats with diarrhea and *Tritrichomonas foetus* infection. J. Am. Vet. Med. Assoc. 225, 888–892.

Gookin, J.L., Breitschwerdt, E.B., Levy, M.G., Gager, R.B., Benrud, J.G., 1999. Diarrhea associated with trichomonosis in cats. J. Am. Vet. Med. Assoc. 215, 1450–1454.

Gookin, J.L., Levy, M.G., Law, J.M., Papich, M.G., Poore, M.F., Breitschwerdt, E.B., 2001. Experimental infection of cats with *Tritrichomonas foetus*. Am. J. Vet. Res. 62, 1690–1697.

Gookin, J.L., Birkenheuer, A.J., Breitschwerdt, E.B., Levy, M.G., 2002. Single-tube nested PCR for detection of *Tritrichomonas foetus* in feline feces. J. Clin. Microbiol. 40, 4126–4130.

Gookin, J.L., Foster, D.M., Poore, M.F., Stebbins, M.E., Levy, M.G., 2003. Use of a commercially available culture system for diagnosis of *Tritrichomonas foetus* infection in cats. J. Am. Vet. Med. Assoc. 222, 1376–1379.

Gookin, J.L., Stebbins, M.E., Hunt, E., Burlone, K., Fulton, M., Hochel, R., Talaat, M., Poore, M., Levy, M.G., 2004. Prevalence of and risk factors for feline *Tritrichomonas foetus* and *Giardia* infection. J. Clin. Microbiol. 42, 2707–2710.

Gookin, J.L., Birkenheuer, A.J., St John, V., Spector, M., Levy, M.G., 2005. Molecular characterization of trichomonads from feces of dogs with diarrhea. J. Parasitol. 91, 939–943.

Gookin, J.L., Copple, C.N., Papich, M.G., Poore, M.F., Stauffer, S.H., Birkenheuer, A.J., Twedt, D.C., Levy, M.G., 2006. Efficacy of ronidazole for treatment of feline *Tritrichomonas foetus* infection. J. Vet. Intern. Med. 20, 536–543.

Gookin, J.L., Stauffer, S.H., Coccaro, M.R., Poore, M.F., Levy, M.G., Papich, M.G., 2007. Efficacy of tinidazole for treatment of cats experimentally infected with *Tritrichomonas foetus*. Am. J. Vet. Res. 68, 1085–1088.

Gunn-Moore, D.A., McCann, T.M., Reed, N., Simpson, K.E., Tennant, B., 2007. Prevalence of *Tritrichomonas foetus* infection in cats with diarrhoea in the UK. J. Feline Med. Surg. 9, 214–218.

Hale, S., Norris, J.M., Šlapeta, J., 2009. Prolonged resilience of *Tritrichomonas foetus* in cat faeces at ambient temperature. Vet. Parasitol. 166, 60–65.

Holliday, M., Deni, D., Gunn-Moore, D.A., 2009. *Tritrichomonas foetus* infection in cats with diarrhoea in a rescue colony in Italy. J. Feline Med. Surg. 11, 131–134.

Jongwutiwes, S.U., Silachamroon, U., Putaporntip, C., 2000. *Pentatrichomonas hominis* in empyema thoracis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 94, 185–186.

Kingsbury, D.D., Marks, S.L., Cave, N.J., Grahn, R.A., 2010. Identification of *Tritrichomonas foetus* and *Giardia* spp. Infection in pedigree show cats in New Zealand. N. Z. Vet. J. 58, 6–10.

Kuehner, K.A., Marks, S.L., Kass, P.H., Sauter-Louis, C., Grahn, R.A., Barutzki, D., Hartmann, K., 2011. *Tritrichomonas foetus* infection in purebred cats in Germany: prevalence of clinical signs and the role of co-infection with other enteroparasites. J. Feline Med. Surg. 13, 251–258.

Kvasnicka, W.G., Hall, M.R., Hanks, D.R., 1998. Bovine trichomoniasis. In: Howard, J.L., Smith, R.A. (Eds.), Current Veterinary Therapy. 4. Food Animal Practice. W.B. Saunders, Philadelphia, pp. 420–425.

Levy, M.G., Gookin, J.L., Poore, M., Birkenhauer, A.J., Dykstra, M.J., Litaker, R.W., 2003. *Tritrichomonas foetus* and not *Pentatrichomonas hominis* is the etiologic agent of feline trichomonal diarrhea. J. Parasitol. 89, 99–104.

Reinmann, K., Müller, N., Kuhnert, P., Campero, C.M., Leitsch, D., Hess, M., Henning, K., Fort, M., Müller, J., Gottstein, B., Frey, C.F., 2012. *Tritrichomonas foetus* isolates from cats and cattle show minor genetic differences in unrelated loci ITS-2 and EF-1α. Vet. Parasitol. 185, 138–144.

Rosypal, A.C., Ripley, A., Stockdale Walden, H.D., Blagburn, B.L., Grant, D.C., Lindsay, D.S., 2012. Survival of a feline isolate of *Tritrichomonas foetus* in water, cat urine, cat food and cat litter. Vet. Parasitol. 185, 279–281.

Slapeta, J., Craig, S., McDonell, D., Emery, D., 2010. *Tritrichomonas foetus* from domestic cats and cattle are genetically distinct. Exp. Parasitol. 126, 209–213.

Stockdale, H.D., Rodning, S., Givens, M., Carpenter, D., Lenz, S., Spencer, J., Dykstra, C., Lindsay, D., Blagburn, B., 2007. Experimental infection of cattle with a feline isolate of *Tritrichomonas foetus*. J. Parasitol. 93, 1429–1434.

Stockdale, H.D., Dillon, A.R., Newton, J.C., Bird, R.C., Bondurant, R.H., Deinnocentes, P., Barney, S., Bulter, J., Land, T., Spencer, J.A., Lindsay, D.S., Blagburn, B.L., 2008. Experimental infection of cats (*Felis catus*)

Please cite this article in press as: Profizi, C., et al., Prevalence of *Tritrichomonas foetus* infections in French catteries. Vet. Parasitol. (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.01.021

with *Tritrichomonas foetus* isolated from cattle. Vet. Parasitol. 154, 156–161.

Stockdale, H.D., Givens, M.D., Dykstra, C.C., Blagburn, B.L., 2009. *Tritrichomonas foetus* infections in surveyed pet cats. Vet. Parasitol. 160, 13–17.

Sun, Z., Stack, C., Slapeta, J., 2012. Sequence differences in the diagnostic region of the cysteine protease 8 gene of *Tritrichomonas foetus* parasites of cats and cattle. Vet. Parasitol. 186, 445–449.

Tachezy, J., Tachezy, R., Hampl, V., Sedinova, M., Vanacova, S., Vrlik, M., Van Ranst, M., Flegr, J., Kulda, J., 2002. Cattle pathogen *Tritrichomonas foetus* (Riedmüller, 1928) and pig commensal *Tritrichomonas suis* (Gruby & Delafond, 1843) belong to the same species. J. Eukaryot. Microbiol. 49, 154–163.

Tolbert, M.K., Gookin, J., 2009. *Tritrichomonas foetus*: a new agent of feline diarrhea. Compend. Contin. Educ. Vet. 31, 374–381.

Tolbert, M.K., Leutenegger, C.M., Lobetti, R., Birrell, J., Gookin, J.L., 2012. Species identification of trichomonads and associated coinfections in dogs with diarrhea and suspected trichomonosis. Vet. Parasitol. 187, 319–322.

Tysnes, K., Gjerde, B., Nødtvedt, A., Skancke, E., 2011. A cross-sectional study of *Tritrichomonas foetus* infection among healthy cats at shows in Norway. Acta Vet. Scand. 53, 39.

Van der Saag, M., McDonell, D., Šlapeta, J., 2011. Cat genotype *Tritrichomonas foetus* survives passage through the alimentary tract of two common slug species. Vet. Parasitol. 177, 262–266.

Xenoulis, P.G., Saridomichelakis, M.N., Read, S.A., Suchodolski, J.S., Steiner, J.M., 2010. Detection of *Tritrichomonas foetus* in cats in Greece. J. Feline Med. Surg. 12, 831–833.

Yaeger, M.J., Gookin, J.L., 2005. Histologic features associated with *Tritrichomonas foetus*-induced colitis in domestic cats. Vet. Pathol. 42, 797–804.

Please cite this article in press as: Profizi, C., et al., Prevalence of *Tritrichomonas foetus* infections in French catteries. Vet. Parasitol. (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.01.021

PROFIZI Claire

Contribution à l'étude de la trichomonose chez le chat de race en France

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, 5 juillet 2013

RESUME:

La trichomonose féline est une maladie émergente ou ré-emergente provoquant une diarrhée du côlon chez le chat. Cette étude expérimentale a permis d'établir une prévalence du parasite, *Tritrichomonas fœtus*, chez le chat de race en France, au cours de trois expositions félines. Cette prévalence a été mesurée à environ 17%. Cette étude a également comparé deux méthodes de diagnostic : la culture par le système In-Pouch TF Feline, et l'amplification en chaîne par polymérase (PCR). Nous avons observé une sensibilité similaire pour les deux méthodes. Cette étude a fait l'objet d'une présentation au congrès national vétérinaire 2011 et d'une publication dans *Veterinary Parasitology* en 2013.

MOTS CLES :

- **Trichomonase**
- **Chat domestique - Elevage**
- **Diagnostic**
- **Epidémiologie**

JURY :

Président :	Madame le Professeur Mojgan DEVOUASSOUX
1er Assesseur :	Monsieur le Professeur Lionel ZENNER
2ème Assesseur :	Madame le Docteur Marine HUGONNARD

DATE DE SOUTENANCE : 5 juillet 2013

ADRESSE DE L'AUTEUR :

Mlle Claire PROFIZI
3 le Grand Logis
01390 CIVRIEUX