

# LES DIARRHEES DU MACAQUE CYNOMOLGUS (*Macaca fascicularis*) : ESSAI DE PROPHYLAXIE DANS UN ELEVAGE DE L'ÎLE MAURICE

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2005  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**Jérôme, Eric, Jean-Pierre DUFOUR**  
Né, le 6 juillet 1979 à LOMME (Nord)

---

Directeur de thèse : **Monsieur le Professeur Jacques DUCOS de LAHITTE**

---

## JURY

PRESIDENT :  
**M. Gérard CAMPISTRON**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :  
**M. Jacques DUCOS de LAHITTE**  
**M. Jean-Yves JOUGLAR**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Toulouse, 2004

**NOM** : DUFOUR

**PRENOM** : JEROME

**TITRE** :

LES DIARRHEES DU MACAQUE CYNOMOLGUS ( *Macaca fascicularis* ) : ESSAI DE PROPHYLAXIE  
DANS UN ELEVAGE DE L'ILE MAURICE

**RESUME** :

Le macaque cynomolgus (*Macaca fascicularis*) est le primate non humain le plus utilisé en recherche biomédicale. Son élevage est relativement aisé, cependant des diarrhées peuvent apparaître aux périodes les plus stressantes de sa vie (capture dans le milieu naturel, sevrage en conditions d'élevage). Ces diarrhées peuvent être causées par des protozoaires ou des entérobactéries. Cette étude vise à limiter l'apparition de ces affections. Des essais par administration de différents principes actifs dans la nourriture suite au sevrage d'animaux d'élevage n'ont pas été concluants. Par contre l'administration de fluoroquinolones par voie injectable suite à la capture d'animaux sauvages a permis l'arrêt total de l'excrétion des entérobactéries susceptibles de provoquer des diarrhées. Dans cette étude, l'auteur souligne le fait que la prise en compte des facteurs zootechniques tient un rôle capital dans la réussite d'une prophylaxie médicamenteuse.

**MOTS-CLES** : macaque, *fascicularis*, cynomolgus, diarrhée, prophylaxie, île Maurice

---

**ENGLISH TITLE**:

DIARRHOEA OF CYNOMOLGUS MONKEYS (*Macaca fascicularis*): TRIALS OF PROPHYLAXIS IN A MONKEY HUSBANDRY OF MAURITIUS

**ABSTRACT**:

Cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) are the most used non human primate for biomedical research. Breeding them is relatively easy, though diarrhoea can occur during the most stressful periods of it's life (capture in the wild, weaning in captivity). Protozoa and enterobacteria can be the cause of the diarrhoea. This study aims to curb the apparition of this complaint. Trials by the administration of different active principles in the food on post-weaning breeding animals have not been conclusive. On the other hand, fluoroquinolones injections after the capture of wild animals have totally stopped the excretion of enterobacteria likely to provoke diarrhoea. In this study, the author stresses the fact that taking the zootechnical factors into consideration plays a major role in the success of a medical prevention.

**KEY WORDS**: monkeys, *fascicularis*, cynomolgus, diarrhoea, prophylaxis, Mauritius

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE  
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	<b>P. DESNOYERS</b>
Directeurs honoraires.....	: M.	<b>R. FLORIO</b>
	M.	<b>J. FERNEY</b>
	M.	<b>G. VAN HAVERBEKE</b>
Professeurs honoraires.....	: M.	<b>A. BRIZARD</b>
	M.	<b>L. FALIU</b>
	M.	<b>C. LABIE</b>
	M.	<b>C. PAVAU</b>
	M.	<b>F. LESCURE</b>
	M.	<b>A. RICO</b>
	M.	<b>A. CAZIEUX</b>
	Mme	<b>V. BURGAT</b>
	M.	<b>D. GRIESS</b>
	M.	<b>J. CHANTAL</b>
	M.	<b>J.-F. GUELF</b>
	M.	<b>M. ECKHOUTTE</b>

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

---

- M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **DARRE Roland**, *Productions animales*
- M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 1<sup>ère</sup> CLASSE**

---

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy-Pierre**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
- M. **MILON Alain**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

**PROFESSEURS 2<sup>e</sup> CLASSE**

---

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootechne*
- M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie -Toxicologie*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

**PROFESSEUR ASSOCIE**

---

- M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*

**INGENIEUR DE RECHERCHES**

---

- M. **TAMZALI Youssef**, *Responsable Clinique équine*

**PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

---

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

## MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

---

M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

## MAÎTRE DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

---

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*  
Mme **BOUCRAUT-BARALON Corine**, *Pathologie infectieuse*  
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*  
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*  
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*  
Mme **BRET-BENNIS Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*  
Mme **CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
Mme **COLLARD-MEYNAUD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*  
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du bétail*  
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*  
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Productions animales*  
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. **MARENDA Marc**, *Pathologie de la reproduction*  
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **MESSUD-PETIT Frédérique**, *Pathologie infectieuse*  
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*  
M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*  
Mme **PRYMENKO Nathalie**, *Alimentation*  
Mme **RAYMOND-LETRON Isabelle**, *Anatomie pathologique*  
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*  
Mlle **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*  
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

## MAÎTRE DE CONFERENCES CONTRACTUELS

---

M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie du bétail*  
N. **DESMAIZIERES Louis-Marie**, *Clinique équine*  
M. **LEON Olivier**, *Elevage et santé en productions avicoles et porcines*

## MAÎTRE DE CONFERENCES ASSOCIE

---

M. **REYNOLDS Brice**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

## ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

---

M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*  
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique des animaux de rente*  
Mme **MEYNADIER-TROEGELER Annabelle**, *Alimentation*  
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*  
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

**A notre président de thèse,**

**Monsieur le Professeur CAMPISTRON**

Professeur des universités

Praticien hospitalier

Physiologie

Qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse

Hommages respectueux

**A notre jury de thèse,**

**Monsieur le professeur DUCOS DE LAHITTE**

Professeur de l' Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Parasitologie-zoologie

Qui a bien voulu diriger notre travail avec une immense disponibilité.

Qu'il trouve ici l'expression de notre sincère reconnaissance et de notre profond respect

**Monsieur le docteur JOUGLAR**

Maître de conférence hors classe de l' Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie médicale du bétail et des Animaux de basse-cour

Qui nous fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury de thèse

Sincères remerciements

## Remerciements

Je tiens particulièrement à remercier toutes les personnes de NOVEPRIM qui m'ont permis de réaliser ce travail. Merci pour votre confiance et pour votre aide inestimable.

A Michel, pour m'avoir permis de réaliser cette expérience unique.

A Eric, pour ta confiance et ton aide précieuse que je pouvais solliciter dès que j'en avais besoin.

A Gérald, pour ton soutien inconditionnel.

A Julie et Mr Baboua, qui m'ont tout d'abord appris beaucoup de choses. Merci aussi pour votre aide indispensable au laboratoire. Désolé pour les heures sup !

A Neville, Stephan, Dominique, qui ont participé activement à ce travail et ce, toujours dans la bonne humeur. Un grand merci également à Nicolas et Jérôme.

A Laurent, sur qui j'ai toujours pu compter et avec qui j'ai noué une amitié sincère.

A toute l'équipe de NOVEPRIM, les animaliers, le secrétariat, et tout ceux que je n'ai pas cités dans ces quelques lignes. Merci pour votre accueil qui a fait de mon séjour à l'île Maurice une expérience très enrichissante et inoubliable. Merci également pour votre aide précieuse et efficace sur le terrain. (Jean Marc, Magaly, Sybille, Mario, Théo, Curtis, Preetam, Curvin, KO, Winsive, Soulès, Bishoun, Weasley, Jeff, Cliff, Antony, Kelly, Gilbert, Désiré, Karen, Jennifer et tous les autres...)

Ces quelques mois passés avec vous tous m'ont donné envie de revenir au plus vite !

## Dédicaces

### **A mes parents,**

Pour votre affection, votre confiance et votre soutien qui ont duré déjà 25 ans.  
Grâce à vous, j'ai pu réaliser tous mes projets.  
Comment vous remercier ? Peut être en vous dédiant cette thèse !

### **A Amélie, Thibaut, Cômille, Nat et Tanguy,**

C'est aussi un peu grâce à vous, que j'en suis arrivé là.  
Bonne route à vous tous.

### **A tout le reste de ma famille,**

Mamy, Pierrot, Xav, Vianney, Prune, Marine, Marie-Anne, mes oncles, tantes,  
cousines et cousins.

### **A Coralie,**

Merci d'avoir.....tu connais la suite !

### **A mes amis nordistes,**

Pierre, Helena, Grégoire, Guillaume, Jean, Renaud, Jean, Marie  
et toute la bande de ch'ti.

### **Aux vétérinaires qui m'ont donné l'envie de me lancer dans ce métier,**

Jacques, Jean-Gilbert, Bernard, Henri, Christian, et bien sûr, Tante Dadine et  
Tonton Gilles !

### **A Christina et Laurent,**

Si mon exil s'est bien passé, c'est en grande partie à vous que je le dois. Je  
repasserai vous voir très prochainement !

### **A Sybille et Mario,**

Vous aussi, je repasserai vous voir pour une partie de pêche ou pour déguster le  
succulent poulet au miel et aux piments dont tu as le secret Sybille.

**A mes colocs et assimilés,**

Les échanges studieux et intellectuels de ces 5 dernières années font de nous des amis inséparables : Cyril, David, Gus, Manus, KO, Rillette et Julien.

**Aux Reboulettes, Honfleuroises, et autres demoiselles proches,**

Qui ont pimenté ces années folles, Odile, Aurélie, Caro, Anne, Deb, Marie, Magalie, Claire, Sophie, Manue, Cricri, Chantal, Mélo, Tam, Nichon, Helo, Anne-Ga

**A tous les autres Toulousains** qui tiennent une place importante dans mon estime,

Doudou, Alexis, Quicky, Ghost, Rahan, Bibi, Caseux, Cécile, Céline, Rogerre, Caro, Francois, Didier, Albéric, Charles, Delmine, Blaze, Guigui, Sissou, Marion, Wolff, JL, Laurent, Nanard, Bubble, PO, Pétunia, Web, Adrien, mes poulots, Kiki, Iban, Lolo, Nout, et j'en passe

**Et surtout, à Taobi,**

Le meilleur chasseur de corneilles, lapins, taupes et autres hamsters de la rue Jacobet !

# LES DIARRHEES DU MACAQUE CYNOMOLGUS ( *Macaca fascicularis* ) : ESSAI DE PROPHYLAXIE DANS UN ELEVAGE DE L'ÎLE MAURICE

## Table des matières :

<b>Introduction</b> .....	10
<b>1. Présentation de l'élevage</b> .....	11
1.1. <u>Historique, destination des animaux</u> .....	11
1.2. <u>Situation géographique, organisation des sites</u> .....	13
1.2.1. Trois sites sur l'île, pourquoi ? .....	13
1.2.2. Répartition des sites en zones.....	14
1.3. <u>Méthodes d'élevage</u> .....	15
1.3.1. Les macaques.....	15
1.3.1.1. Origines.....	15
1.3.1.2. Caractéristiques.....	16
1.3.1.3. Mode de vie.....	17
1.3.2. Logement et hygiène en élevage.....	18
1.3.2.1 Le logement : les volières.....	18
1.3.2.2 L'hygiène, le nettoyage et la désinfection.....	19
1.3.2.3 La lutte contre les nuisibles.....	20
1.3.3. Alimentation en élevage.....	21
1.3.4. Le sevrage.....	24
1.3.5. Encadrement des animaux, le personnel.....	25
<b>2. Motivations, cadre de l'étude</b> .....	26
2.1. <u>Situation sanitaire de l'élevage</u> .....	26
2.2. <u>Motivations</u> .....	29
2.2.1. Assurer le bien être des animaux et limiter les pertes.....	29
2.2.1.1. Limiter les pertes d'animaux.....	29
2.2.1.2. Améliorer le bien être des animaux.....	31
2.2.1.3. Le stress et ses conséquences.....	31
2.2.1.4. Opération inscrite dans une démarche d'assurance qualité.....	33
2.2.2. Les diarrhées dans un contexte d'élevage.....	34

2.2.3. Domaines d'investigation.....	35
2.3. <u>Agents pathogènes susceptibles de provoquer des diarrhées</u> .....	36
2.3.1. Protozoaires.....	36
2.3.1.1. Les amibes : <i>Entamoeba histolytica</i> .....	37
2.3.1.1.1. Généralités.....	37
2.3.1.1.2. Etiologie.....	38
2.3.1.1.3. Cycle évolutif.....	39
2.3.1.1.4. Pathogénicité.....	41
2.3.1.1.5. Etude clinique.....	41
2.3.1.1.6. Réaction de l'hôte.....	42
2.3.1.1.7. Epidémiologie.....	43
2.3.1.1.8. Diagnostic de laboratoire.....	44
2.3.1.1.9. Traitement .....	45
2.3.1.1.10. Prophylaxie.....	47
2.3.1.2. Les ciliés : <i>Balantidium coli</i> . ....	47
2.3.1.2.1. Généralités.....	47
2.3.1.2.2. Epidémiologie.....	48
2.3.1.2.3. Etude clinique, pathogénicité.....	49
2.3.1.2.4. Diagnostic de laboratoire.....	49
2.3.1.2.5. Traitement et prophylaxie.....	50
2.3.1.3. Les flagellés.....	50
2.3.2. Bactéries potentiellement pathogènes.....	52
2.3.2.1. Ecologie du tube digestif, effet barrière et résistances bactériennes.....	52
2.3.2.2. Le genre <i>Yersinia</i> .....	55
2.3.2.2.1. <i>Yersinia enterocolitica</i> .....	57
2.3.2.2.1.1. Habitat, pouvoir pathogène.....	57
2.3.2.2.1.2. Facteurs de pathogénicité.....	60
2.3.2.2.1.3. Sensibilité aux antibiotiques.....	63
2.3.2.2.2. <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> .....	63
2.3.2.3. <i>Shigella flexneri</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>Shigella boydii</i> et <i>Shigella             dysenteriae</i> . ....	65
2.3.2.3.1. Généralités, épidémiologie.....	65

2.3.2.3.2. Etude clinique.....	66
2.3.2.3.3. Facteurs de pathogénicité.....	68
2.3.2.3.4. Prophylaxie et traitement.....	69
2.3.2.4. <i>Salmonella enteridis</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> et <i>Salmonella stanley</i> .....	71
2.3.2.4.1 Habitat, épidémiologie.....	71
2.3.2.4.2 Etude clinique.....	72
2.3.2.4.3 Traitement.....	73
2.3.2.4.4 Contrôle et prévention.....	74
2.3.2.5. <i>Campylobacter sp.</i> .....	76
2.3.2.5.1 Généralités.....	76
2.3.2.5.2 Caractères bactériologiques.....	76
2.3.2.5.3 Habitat, pouvoir pathogène.....	77
2.3.2.5.4 Traitement et prophylaxie.....	79
<b>3. Etude expérimentale sur les animaux au sevrage.....</b>	<b>80</b>
3.1. <u>Matériels et méthodes</u> .....	80
3.1.1. Matériel.....	80
3.1.2. Méthode de prélèvement et de conservation avant analyse.....	82
3.1.3. Méthodes de diagnostic.....	83
3.1.3.1. Examen coprologique direct : coproscopie.....	83
3.1.3.2. Enrichissement, culture bactérienne.....	83
3.1.3.3. Identification des souches suspectes isolées.....	86
3.1.3.4. Classement des résultats.....	86
3.1.4. Programmes de traitement.....	87
3.1.4.1. Programmes de traitements réalisés.....	87
3.1.4.2. Evaluation de leur efficacité.....	90
3.1.4.3. Description des éventuels problèmes rencontrés.....	91
3.1.5. Enregistrement des données recueillies.....	91
3.2. <u>Résultats</u> .....	91
3.2.1. Lot témoin.....	91
3.2.1.1 Première série de prélèvements.....	91
3.2.1.2. Deuxième série de prélèvements.....	93
3.2.2. Lot 1.....	97

3.2.2.1	Première série de prélèvements.....	97
3.2.2.2	Le traitement.....	98
3.2.2.3	Deuxième série de prélèvements.....	99
3.2.3.	Lot 2.....	102
3.2.3.1	Première série de prélèvements.....	102
3.2.3.2	Le traitement.....	103
3.2.3.3	Deuxième série de prélèvements.....	103
3.2.4.	Lot 3.....	106
3.2.4.1	Première série de prélèvements.....	106
3.2.4.2	Le traitement.....	107
3.2.4.3	Deuxième série de prélèvements.....	107
3.2.5.	Autre examens réalisés.....	108
3.2.5.1.	Autres coprocultures.....	108
3.2.5.2.	Autres examens sur des éléments de l'environnement.....	109
3.2.6.	Résultats des antibiogrammes.....	111
3.2.7.	Synthèse.....	112
3.2.8.	Alimentation à la dérobée.....	115
3.3.	<u>Discussion</u> .....	119
3.3.1.	Biais rencontrés.....	119
3.3.2.	Relation entre les conditions de vie et le nombre d'excréteurs de bactéries potentiellement pathogènes.....	119
3.3.3.	Raisons et conséquences de l'inefficacité des schémas thérapeutiques testés.....	121
3.3.4.	Le sevrage et les protozoaires.....	122
3.3.5.	Le sevrage et <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> .....	123
3.3.6.	Le sevrage et <i>Shigella flexneri</i> .....	124
3.3.7.	Le sevrage et le genre <i>Salmonella</i> .....	125
3.4.	<u>Proposition de conduite à tenir</u> .....	126
3.4.1.	Modifier les pratiques d'hygiène.....	126
3.4.2.	Modifier la pratique du sevrage.....	129
3.4.3.	Gestion sanitaire et thérapeutique des volières de sevrage.....	132

<b>4. Etude expérimentale sur les animaux de capture</b> .....	135
4.1. <u>Matériel et méthode</u> .....	135
4.1.1. Matériel.....	135
4.1.2. Méthode de prélèvements.....	136
4.1.3. Méthodes de diagnostic.....	136
4.2. <u>Résultats : estimation des prévalences et efficacité du traitement</u> .....	136
4.2.1. Résultats des examens coprologiques avant le traitement.....	136
4.2.2. Résultats des antibiogrammes.....	139
4.2.3. Le traitement .....	139
4.2.4. Résultats des examens coprologiques après le traitement.....	140
4.2.5. Synthèse.....	141
4.2.6. Autres examens coprologiques réalisés.....	142
4.3. <u>Discussion</u> .....	143
4.3.1. Biais rencontrés.....	143
4.3.2. La capture et les protozoaires.....	143
4.3.3. La capture et <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> .....	144
4.3.4. La capture et <i>Shigella flexneri</i> .....	145
4.3.5. La capture et <i>Salmonella spp.</i> .....	145
4.4. <u>Proposition de conduite à tenir</u> .....	145
4.4.1. Prophylaxie médicamenteuse.....	145
4.4.1.1. Anti-protozoaires.....	145
4.4.1.2. Anthelminthiques.....	146
4.4.1.3. Antibiotiques.....	146
4.4.2. Mesures hygiéniques.....	147
 <b>Conclusion générale</b> .....	 148
<b>Annexes</b> .....	149
<b>Bibliographie</b> .....	155

## Schémas :

1. Facteurs de risque d'apparition des diarrhées.....	30
2. Cycle de <i>Balantidium coli</i> .....	48
3. Chronologie des étapes suivies par le lot témoin.....	96
4. Chronologie des étapes suivies par le lot 1.....	101
5. Chronologie des étapes suivies par le lot 2.....	105
6. Chronologie des étapes suivies par le lot 3.....	108
7. Chronologie des étapes suivies par le lot de capture.....	141

## Tableaux :

1. Ration théoriquement bien équilibrée.....	23
2. Les différents protozoaires potentiellement pathogènes rencontrés chez les macaques.....	36
3. Profil biochimique du genre <i>Yersinia</i> .....	56
4. Récapitulatif de la symptomatologie des principales affections bactériennes rencontrées chez les macaques.....	75
5. Epidémiologie et pathogénicité de <i>Campylobacter sp.</i> .....	78
6. Résultats de la première série de prélèvements, lot témoin.....	92
7. Résultats de la deuxième série de prélèvements, lot témoin.....	94
8. Résultats de la première série de prélèvements, lot 1.....	98
9. Résultats de la deuxième série de prélèvements, lot 1.....	100
10. Résultats de la première série de prélèvements, lot 2.....	102
11. Résultats de la deuxième série de prélèvements, lot 2.....	104
12. Résultats de la première série de prélèvements, lot 3.....	106
13. Résultats de la deuxième série de prélèvements, lot 3.....	107
14. Résultat des coprocultures d'export et du protocole élevage.....	109
15. Résultat des antibiogrammes.....	111
16. Synthèse de tous les prélèvements effectués pour l'étude sur le sevrage..	112
17. Relation faite entre la conception des volières de naissance et l'excrétion de bactéries potentiellement pathogènes chez les jeunes sevrés.....	120
18. Résultats de la première série de prélèvements, lot capture.....	137
19. Résultats des antibiogrammes, lot capture.....	139
20. Synthèse des prélèvements effectués pour l'étude sur la capture.....	141

## Graphiques :

1. Nombre d'excréteurs de <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> détectés au cours de la première série de prélèvements, lot témoin.....	93
2. Nombre d'excréteurs de <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> détectés au cours de la deuxième série de prélèvements, lot témoin.....	94
3. Nombre d'excréteurs de <i>Shigella flexneri</i> détectés au cours de la deuxième série de prélèvements, lot témoin.....	95
4. Nombre d'excréteurs de <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> détectés au cours de la première série de prélèvements, lot 1.....	97
5. Nombre d'excréteurs de <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> détectés au cours de la deuxième série de prélèvements, lot 1.....	99
6. Nombre d'excréteurs de <i>Shigella flexneri</i> détectés au cours de la deuxième série de prélèvements, lot 1.....	101
7. Nombre d'excréteurs de <i>Shigella flexneri</i> au cours de la deuxième série de prélèvements, lot 2.....	104
8. Nombre d'excréteurs de <i>Salmonella sp.</i> détectés au cours de la deuxième série de prélèvements, lot 2.....	105
9. Taux de mortalité dans les deux mois qui suivent le sevrage en fonction de poids au sevrage.....	115
10. Répartition des poids dans l'échantillon.....	117
11. Nombre d'excréteurs de <i>Shigella flexneri</i> détectés au cours de la totalité des séries de prélèvements.....	125
12. Nombre d'excréteurs de <i>Shigella flexneri</i> et de <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> détectés au cours de la première série de prélèvements, lot capture.....	138

## Photos :

1. Localisation des sites de l'élevage sur l'île.....	13
2. Schéma d'un bloc de quatre volières de Nouvelle Terre.....	19
3. Barrière anti-rongeur.....	21
4. Pièges à mouches.....	21
5. Ulcère colique.....	42
6. Atrophie des villosités intestinales.....	51
7. Nodules spléniques, autopsie de AM 454.....	95
8. Culture du liquide de pédiluve W 19.....	110
9. Culture de prélèvements faits dans une mangeoire après désinfection.....	110
10. Culture de prélèvements faits sur le sol d'une volière après désinfection....	110
11. La taille des pellets est inadaptée.....	116
12. Nouveau dispositif mis en place.....	116

## Annexes

1. Mortalité, nombre d'hospitalisations et autres interventions sur les lots de sevrage.....	149
2. Composition des spécialités utilisées.....	150
3. Détail du budget alloué à l'ensemble de l'étude.....	151

## Liste des abréviations utilisées

CRP : **C**entre de **R**echerche **P**rimatologique

OMS : **O**rganisation **M**ondiale de la **S**anté

PNH : **P**rimate **N**on **H**umain

RF : **R**eception **F**acility

## Introduction

Noveprim est un élevage de macaques cynomolgus (*Macaca fascicularis*) destinés à la recherche biomédicale. Il a été créé à l'île Maurice en 1990 sous le nom de "Centre de Recherche Primatologique Ltd" (CRP) par un groupe local principalement impliqué dans la production sucrière, la production textile et le tourisme, les trois principales activités économiques de l'île.

L'élevage comprend 3 sites dont le principal et le plus grand est situé dans une zone vallonnée et boisée de la côte sud-est, au sein d'un domaine d'élevage extensif et de chasse au cerf. Les deux autres sites sont situés sur la côte sud et sud-ouest de l'île. Les macaques produits par Noveprim sont en majorité, utilisés en Europe et aux Etats-Unis pour des études d'innocuité des médicaments avant les essais cliniques (sur l'homme). Le macaque cynomolgus est le primate non humain (PNH) le plus utilisé en recherche biomédicale du fait de nombreuses références bibliographiques, de son gabarit moyen, de sa bonne adaptation à la captivité et de son élevage relativement facile.

La particularité du macaque mauricien est d'être exempt du virus Herpes B, ce qui lui confère un net avantage face à son cousin Asiatique qui, lui, est souvent séropositif pour ce virus responsable d'une zoonose mortelle.

L'élevage n'a cessé de développer ses capacités de production depuis sa création. A terme le but est de produire un animal standard issu d'animaux élevés sur place.

Comme d'autres espèces de PNH, les cynomolgus sont affectés par de nombreuses maladies infectieuses qui parfois sont des zoonoses. Certaines de ces maladies, favorisées par le confinement et le stress (capture, sevrage, captivité) sont susceptibles de provoquer des diarrhées graves. Leur prophylaxie passe en priorité par des mesures visant à améliorer les conditions d'hygiène et de bien être.

**Ce travail a pour but de vérifier si en plus de ces mesures, il n'est pas possible de mettre en place un traitement médicamenteux de courte durée capable d'augmenter l'efficacité de la prophylaxie aux périodes critiques de l'élevage.** Des études en centre de recherches ont déjà prouvé qu'il était possible de contrôler certains pathogènes avec une thérapeutique antibiotique rigoureuse couplée avec

des programmes de sanitation et d'hygiène d'élevage (Olson, L.C., Bergquist, D.Y., Fitzgerald, D.L., 1986).

Cette étude expérimentale cherchera principalement à limiter la prolifération des différents pathogènes du tube digestif, et par ce biais, à limiter l'apparition des affections digestives liées aux stress. Seuls les protozoaires et les entérobactéries potentiellement pathogènes seront considérés. En effet, les helminthes du macaque de l'île Maurice ont déjà fait l'objet d'une étude et sont bien contrôlés au sein de l'élevage de Noveprim (Bonnote, S., 2001).

## **1. Présentation de l'élevage**

### 1.1. Historique, destination des animaux

L'utilisation des primates en laboratoire a atteint un maximum dans les années 1970. A cette époque, les animaux étaient faciles à obtenir et étaient utilisés dans tous les domaines (virologie, neurologie, pharmacologie, stomatologie, cardiologie, reproduction, toxicologie, ophtalmologie, gastroentérologie, nutrition, génétique, immunologie, hématologie, embryologie...). Le principal consommateur de PNH sont les Etats-Unis qui ont utilisé plus de 200 000 animaux par an dans les années 1950 et 100 000 animaux par an dans les années 60. Cette consommation est tombée à 20 000 animaux dans les années 1980. En France, le « besoin » est passé de 8 000 animaux en 1975 à 2 500 à la fin des années 1990 (Maurin-Blanchet, H., 1998).

Ce renversement de situation est lié à des facteurs politiques et économiques de la part des pays exportateurs qui ont réduit voire interdit l'exportation des PNH (Brésil en 1967, Pérou en 1973, Thaïlande en 1975, Malaisie en 1984...). Par ailleurs, face à l'ampleur des prélèvements dans les populations sauvages, une contrainte écologique et de conservation des espèces a renforcé les contraintes d'exportation par l'intermédiaire de la convention de Washington qui régleme le commerce de la faune et de la flore.

Le singe est devenu un animal plus difficile à obtenir et plus coûteux, il n'est dès lors utilisé qu'en cas de nécessité absolue (Pharmaco-toxicologie; reproduction;

comportement; pathologie infectieuse; neurophysiologie; recherche spatiale...).

En France, les PNH représentent moins de 0,1% de la totalité des animaux utilisés en laboratoire, les rongeurs en représentent eux, plus de 90%.

C'est pour profiter de tous ces avantages que l'élevage Bioculture a été installé sur l'île Maurice au début des années 1980. Cet élevage est devenu presque exclusivement fournisseur du marché américain grâce à un contrat de distribution exclusif signé avec la société Charles River.

Face à ce défaut d'approvisionnement européen en PNH exempts d'herpès B, et à l'initiative d'un vétérinaire toxicologue français, un deuxième élevage a été créé sur l'île. Celui-ci avait pour but d'alimenter le marché français et européen. Le financement a été trouvé sur place grâce au groupe CIEL intéressé par une diversification de ses activités. Le CRP a ainsi démarré ses activités en 1990. Cet élevage n'a cessé de se développer depuis sa création. A l'heure actuelle, il exporte plus de 3000 macaques par an, principalement en Europe et aux Etats-Unis. Cette source d'approvisionnement est d'un grand intérêt pour la recherche biomédicale, compte tenu de la grande qualité sanitaire des animaux produits.

A la fin de l'année 2003, le groupe Américain COVANCE est entré dans le capital de la compagnie. Ce client, et désormais actionnaire, est chargé de distribuer les animaux sur le marché nord américain. Suite à cette fusion, l'élevage a changé de nom et s'appelle désormais NOVEPRIM.

Les impératifs environnementaux et protectionnistes internationaux actuels privilégient fortement l'approvisionnement à partir d'animaux d'élevage plutôt que de capture pour les unités expérimentales. L'évolution de Noveprim va dans ce sens avec à terme, des exportations d'animaux uniquement issus de l'élevage.

## 1.2. Situation géographique, gestion des sites

### 1.2.1. Trois sites sur l'île Maurice

A la création de l'élevage, le seul site de Le Vallon hébergeait tous les animaux. Désormais, plus de 16 000 singes vivent dans les volières de l'élevage, et sont répartis en 4 sites sur l'île Maurice (Goyave, Royal, Nouvelle Terre et Les Campêches). Les 2 premiers sites sont situés à Le Vallon, le troisième est situé à 4km à l'est et le site des Campêches se trouve de l'autre côté de l'île dans une réserve forestière. Le climat entre les deux côtés de l'île est très différent, il fait plus chaud et beaucoup plus sec du côté ouest.

Un autre site sur l'île Maurice (Chamouny) est destiné à la réception des animaux de capture et à leur acclimatation à la captivité. Ces animaux transitent dans des parcs avant de démarrer leur captivité en volières. Pendant cette période, ils s'habituent à leur nouvelle alimentation et à la présence de l'homme avant d'être transférés dans les zones de quarantaine.

Un projet de création d'un cinquième site d'élevage à Ferney est à l'étude. D'autre part, une zone de transit des animaux à destination du marché européen a été créée en Catalogne. Ce site n'est pas encore entré en activité, en effet l'ampleur des formalités administratives et la pression du lobbying des associations de protection des animaux freinent l'avancement de ce projet.



Photo n° 1 : Localisation des sites de l'élevage sur l'île (Dufour, J., 2004)

Chaque site héberge 1700 femelles reproductrices. Un « Unit manager » est responsable de chaque site et du personnel qui y est affecté. Les animaux vivent dans des volières en extérieur qui sont composées de 40 animaux en moyenne.

### 1.2.2. Répartition des sites en zones

Par souci zootechnique et sanitaire, Noveprim a choisi de regrouper les animaux dans 4 zones distinctes selon leur origine et leur devenir.

- La zone d'élevage regroupe les animaux de reproduction. Cette zone comporte aussi des volières de « sevrage », où sont placés les jeunes nés sur l'élevage, après leur sevrage.
- La zone de quarantaine « capture » regroupe les animaux provenant de nouvelles captures et qui ont séjourné à Chamouny. Ces animaux sont destinés en majorité à la zone élevage.
- La zone de quarantaine exportation (animaux de capture), est située le plus loin sur le chemin des vents dominants.
- La zone de quarantaine exportation (animaux d'élevage) abrite les animaux issus de l'élevage et destinés à être exportés.

Toutes les femelles capturées servent à augmenter le nombre de reproductrices dans l'élevage. De plus, chaque année, un certain nombre de femelles nées dans l'élevage (F1) sont gardées pour accroître aussi la taille du « cheptel » et produire des animaux de 2<sup>ème</sup> génération (F2).

### 1.3. Méthodes d'élevage

#### 1.3.1. Les macaques

##### 1.3.1.1. Origines

Quatre siècles après, les débuts de l'histoire d'un pays interpellent encore les chercheurs. Ainsi les doutes subsistent au sujet des premiers navigateurs qui abordèrent l'île Maurice. Le macaque mauricien n'est pas originaire de l'île. Bon imitateur de l'homme, le macaque pose aussi ses énigmes : qui l'amena ? quand ?

Cela se passait au début du XVI<sup>ème</sup> siècle, Don Pedro Mascarenhas ayant quitté les Indes en 1511, a touché le Mozambique en 1512 et sans doute l'île Maurice en 1513. D'après l'Abbé de la Caille (1763), les portugais « se contentèrent de lâcher sur l'île des porcs, des cabris, des bœufs pris à Madagascar et des singes dont ils sont friands » (Berthelot, L. , 1992) .

Guët s'appuie, quant à lui, sur la légende selon laquelle Mascarenhas aurait mis en liberté quelques animaux sur l'île. Il est aussi utile de rappeler que l'origine du mot 'macaque' est portugaise : macaco.

En 1606, le navigateur hollandais Cornelius Matelieff de Jongh signale la présence de singes, « les seuls animaux à quatre pattes ». Dès lors, de nombreux récits et messages de voyageurs mentionnent le grand nombre et les méfaits des singes, devenus un élément commun du paysage mauricien. Puis De la Merville voyageant sur le Curieux en 1709 rapporte qu' « une multitude infinie de singes et de rats détruisent tout ». En 1829, c'est James Holman qui, visitant le Bassin Blanc voit un grand nombre de singes et de sangliers qui s'abritent sous le couvert des arbres.

Au début du XXI<sup>ème</sup> siècle, l'administration britannique consignait que le singe et le Tanrec (hérisson local) faisait sans doute partie de la faune indigène mauricienne.

*Macaca fascicularis* a cependant une autre histoire : celle des primates en général.

Les primates de l'ancien et du nouveau monde se séparent d'un ancêtre commun il y a plus de 50 millions d'années. Les singes de l'ancien monde, ou Catarhiniens, ont des caractéristiques plus proches de celles de l'homme. Les macaques et les babouins sont des simiens de l'ancien monde qui appartiennent à la famille des Cercopithécidés (singes à longue queue, provient de grec kerkos : queue).

*M.fascicularis* fut appelé pendant quelques temps *M.irus* (singe coléreux). Les

biologistes revinrent par la suite à son nom originel. Le « macaque mangeur de crabes » comme il est communément appelé, est natif des régions du sud-est asiatique : Malaisie, Indonésie, Indochine. On trouve encore aujourd'hui des colonies, des Philippines jusqu'au Timor au sud et à la Birmanie à l'ouest. La couleur du pelage est variable, celui de Maurice est plutôt gris brun avec quelques touches jaunâtres, une couleur qui rappelle le plus celles des macaques de Java et de Bornéo. A l'encontre de ceux de Bornéo, ceux de Maurice possèdent une touffe de poils très visibles au sommet de la tête, ce trait caractérise aussi les macaques de Java. Ce trait, mais aussi certaines considérations historiques semblent donc suggérer que le macaque Mauricien est d'origine Javanaise.

#### 1.3.1.2. Caractéristiques

*Macaca fascicularis* est un singe robuste de taille moyenne, pesant entre 3 et 8 kg voire 13 kg pour certains mâles, avec une queue non préhensile de longueur supérieure à la longueur du corps. Il est diurne, quadrupède, aussi bien terrestre qu'arboricole. Son visage légèrement prognathe est aplati et recouvert de poils. Les narines sont proches et dirigées vers le bas et vers l'avant (caractéristique des Catarhiniens). Ses deux petites oreilles pointues sont découvertes, les bords extérieurs sont diversement enroulés. Il possède 32 dents et des abajoues dans lesquelles il peut mettre de la nourriture en réserve.

Les callosités fessières sont proéminentes mais ne se rejoignent pas sur la ligne médiane. Le dimorphisme sexuel est marqué, il porte sur la longueur de la queue, le poids et la taille des canines. La « peau sexuelle » s'étendant autour des organes génitaux externes et du périnée se gonfle pour atteindre son volume maximal au moment de l'ovulation, au 14<sup>ième</sup> jour du cycle qui dure 31 jours. La puberté est atteinte à l'âge de 3-4 ans dans les deux sexes (Wolensohn, S., Lloyd , 1998). La gestation dure 167 jours en moyenne et les portées se limitent à un et exceptionnellement deux petits. L'instinct maternel est très fort et les petits sont sevrés vers l'âge de 9 mois dans le milieu naturel. *Macaca fascicularis* peut vivre près de trente ans.

### 1.3.1.3. Mode de vie

Le succès de l'implantation du macaque à Maurice dépend sans doute de la flexibilité de ses habitudes. Il n'est pas rare de le retrouver au bord de la mer, dans les forêts, les plantations, les jardins, et au bord des rivières (Wolensohn, S., Lloyd., 1998). Le comportement du mangeur de crabes a considérablement évolué. Arboricole, primitivement, il vit actuellement beaucoup plus sur le sol, une conséquence probable de la disparition d'autres prédateurs. La présence d'abajou permet aussi à l'espèce de consommer au sol la nourriture accumulée dans les arbres. A l'état naturel, le macaque est présent dans toutes les zones climatiques et toutes les zones forestières de l'île, ce qui prouve sa parfaite adaptation à l'environnement mauricien.

En 1977, deux chercheurs américains observèrent les macaques dans leur milieu naturel. Il ressort de cette étude que :

- Les macaques vivent en groupes. Dans chaque groupe se trouvent plusieurs mâles adultes répartis en sous groupes. Le groupe passe la nuit toujours au même endroit.
- Pendant la journée, le temps se divise en :
  - ❖ Alimentation : 33% du temps surtout de 14 à 17h
  - ❖ Mouvements individuels : 24% du temps
  - ❖ Repos : 21% du temps entre 11 et 14heures
  - ❖ Comportement social : 11% du temps
  - ❖ Toilette : 7% du temps entre 8 et 11 heures.
  - ❖ Voyages en groupe : 4% du temps
- Contrairement aux macaques asiatiques, le macaque mauricien vit beaucoup plus à terre que dans les arbres. Ils ne voyagent que sur le sol (Sussmann, R.W., Tattersall, I., 1980). Cependant, 70% des activités relatives à l'alimentation ont lieu dans les arbres.
- Son régime alimentaire est varié, il est composé de gousse de tamarin, 33% du menu (fruit local), de fruits d'un ficus endémique (22%) et de bananes,

mangues, goyaves de chine. Ainsi les fruits représentent la majeure partie de leur régime mais ils ne négligent pas pour autant les feuilles, fleurs, tiges, oeufs d'oiseaux, les invertébrés (notamment les termites, sauterelles, arachnides, mollusques), les lézards et les petits mammifères. Les macaques boivent dans les cours d'eau et y prennent aussi les brins d'une algue aquatique. La canne à sucre représente environ 10% du menu, ils la mangent comme les hommes en l'épluchant et en mâchant la bagasse pour en extraire le jus. C'est l'aliment privilégié en hiver. Les régimes alimentaires naturels peuvent être déséquilibrés ou carencés certaines saisons.

- En l'absence de recensement, la population est difficile à chiffrer mais l'espèce n'est absolument pas menacée. On estime à 60 000 animaux la population sauvage de macaques sur l'île Maurice.

### 1.3.2. Logement et hygiène en élevage

#### 1.3.2.1 Le logement : les volières

L'élevage se fait en milieu ouvert. Les singes sont donc en contact permanent avec l'air extérieur. Ils peuvent s'abriter de la chaleur ou de la pluie dans la cabane ou sous les zones ombragées prévues à cet effet. Les températures sont très élevées l'été, l'hygrométrie l'est tout au long de l'année. La température à l'ombre peut avoisiner les 30°C pendant les mois d'été, l'hygrométrie reste toujours supérieure à 80% avec un maximum en été, lors des mois les plus chauds et pluvieux. Le cocktail chaleur-humidité impose une hygiène rigoureuse pour éviter une éventuelle dissémination de germes pathogènes.

Il existe différents types de volières. En effet, des améliorations aux volières initiales sont apportées, que ce soit pour des raisons pratiques, d'enrichissement ou hygiéniques.

Le sol des volières est légèrement en pente, les eaux usées sont ainsi évacuées vers des rigoles qui entourent la cage. Ce système est efficace et permet d'éviter l'inondation des volières lors des fortes pluies.

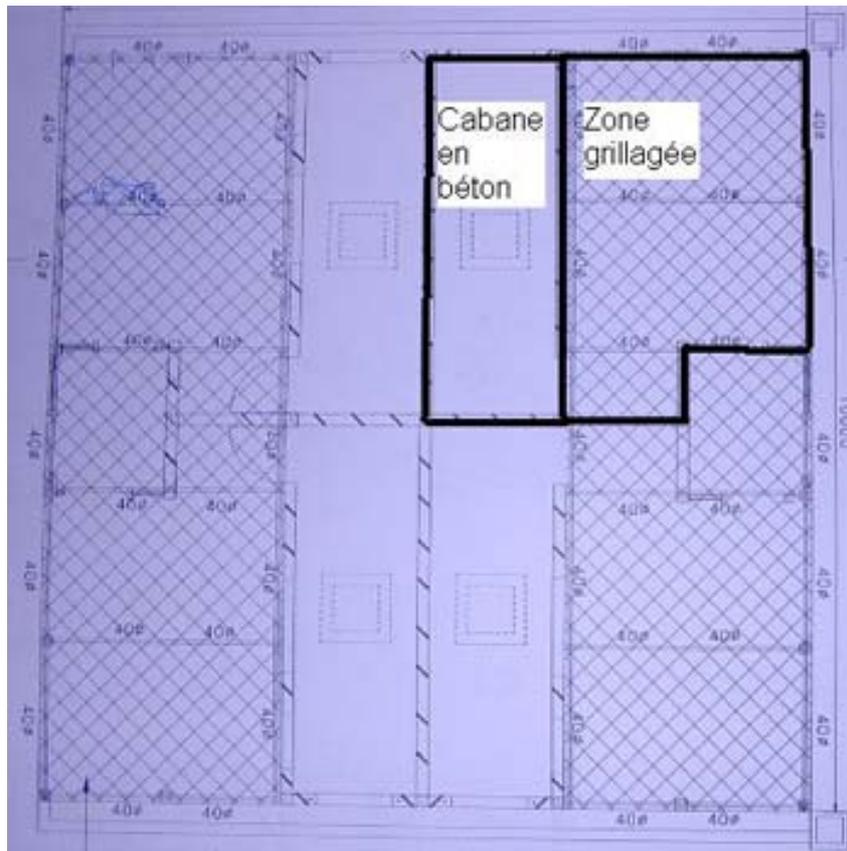


Photo n° 2 : Schéma d'un bloc de 4 volières de Nouvelle terre (Dufour, J., 2004)

Les macaques vivant en captivité, occupent un espace confiné. Les maladies infectieuses peuvent provenir de l'extérieur (oiseaux, rongeurs, mollusques, insectes) de l'homme ou des primates eux-mêmes qui se réinfectent régulièrement avec les germes présents dans la colonie (Bonnote, S., 1997).

### 1.3.2.2 L'hygiène, le nettoyage et la désinfection

A l'entrée de chaque zone est placé un pédiluve. Les voitures passent au ralenti et tout le personnel entrant y trempe ses bottes. Le liquide est du Jayes black fluid®, acide carboxylique dilué au dixième. Il est remplacé totalement une fois par semaine et remis à niveau deux fois par semaine.

Dans les volières, l'usage de produits détergents est impossible car ils inactiveraient la flore saprophytique dans les bassins d'eaux usées. L'usage des désinfectants doit aussi être limité pour minimiser la présence éventuelle de résidus sur des animaux

destinés à la recherche biomédicale. La procédure de nettoyage et de désinfection est donc simple :

- La désinfection avec un ammonium quaternaire est suivie d'un rinçage à l'eau chaude sous pression. Ces opérations sont effectuées avant l'entrée des singes dans les volières.
- Ensuite, tous les 15 jours un nettoyage approfondi avec de l'eau sous pression à 90°C est effectué.
- Tous les jours, les animaliers pratiquent un nettoyage avec de l'eau froide (au jet d'eau) et frottent à l'aide d'un balai brosse tous les éléments des volières.

On considère habituellement que l'action du détergent diminue la population bactérienne de 3 log et que la désinfection qui s'en suit la diminue de 1 log. Des solutions pour palier l'absence de détergents sont à l'étude. Le dénombrement de la flore totale après le protocole de désinfection peut matérialiser l'efficacité de celui-ci (Corrégé, I., Cornou, C., Lenoir, H., 2003).

### 1.3.2.3 La lutte contre les nuisibles

Des moyens de lutte ont été mis en place pour limiter au maximum les contaminations potentielles provenant de la faune extérieure :

- des barrières anti-rongeur sont disposées tout autour des zones d'élevage ;
- poison anti-rongeur sont placés en différents endroits stratégiques;
- des pièges à mouches sont attachés à quelques arbres.

Aucune solution n'a pour l'instant été trouvée pour limiter l'accès aux oiseaux (Mainates et moineaux essentiellement) sur les zones de l'élevage.



Photo n° 3 : Barrière anti-rongeur (Dufour, J., 2004) Photo n° 4 : Piège à mouches (Dufour, J., 2004)

### 1.3.3. Alimentation en élevage

L'alimentation des primates doit être nutritionnellement équilibrée, appétente et non contaminée. La fonction de reproduction et la longévité des animaux sont de bons indicateurs d'une alimentation équilibrée en qualité et en quantité. Les animaux bien nourris sont de plus, plus résistants face aux maladies. Comme dans tout élevage d'animaux de rente, l'alimentation est le pilier central de la réussite zootechnique. (Ullrey, D.E., 1986)

Les singes de l'élevage sont nourris grâce à une ration de base constituée de granulés et un complément en fruits et légumes. Ce complément permet d'éviter les carences vitaminiques et de rompre la monotonie en apportant un aliment apprécié qui peut favoriser le contact avec les animaliers.

Les granulés sont des aliments complets distribués quotidiennement, ce sont des « pellets » développés exclusivement pour les primates de l'élevage.

La composition peut varier légèrement. L'étiquette ne mentionne que les dispositions légales :

- Protéines : 24% minimum
- Matières grasses : 3.5% minimum
- Fibre : 5% maximum
- Ca : 2.5% maximum, P : 1.4% minimum
- Supplément en vitamines, minéraux, oligo-éléments, antioxydants.

Les fruits et légumes complètent quotidiennement la ration précédente. Ils varient en fonction des saisons, ce sont essentiellement :

- des légumes tels que, la citrouille, la carotte, la betterave, le concombre, le chou chou ou le chou fleur ;
- des bananes et d'autres fruits tels que la mangue, le tamarin, la pomme, ou la goyave.

La quantité d'aliment et de légumes distribuée est définie par volière en fonction du nombre d'animaux et de leur âge. Ces données sont rentrées dans des grilles. Les quantités tiennent compte du fait que les macaques sont gaspilleurs et que d'importants phénomènes de dominance restreignent l'accès à la nourriture aux dominés.

Les macaques requièrent approximativement 420 kJ/kg/j à l'entretien ; 525-630 kJ/kg/j en gestation et en lactation et 840 kJ/kg/j en période néonatale (Wolfensohn, S., Lloyd, 1998).

L'eau, distribuée par un système de pipettes automatiques, est préalablement filtrée et désinfectée par un traitement UV et adjonction de chlore. Les analyses effectuées deux fois par an n'ont jamais révélé de contamination microbienne ou amibienne.

La fonction d'alimentation ne doit pas être restreinte à la seule phase de consommation et à son aspect nutritionnel. Elle exige tout un processus qui met en jeu des comportements spécifiques qu'il faut au maximum respecter et tenter de

conserver en captivité. Des recherches d'enrichissement sur la distribution de la nourriture sont en cours, leur objectif est de rendre l'accès de la nourriture plus difficile pour que la quête de nourriture soit plus longue et plus proche de celle des animaux vivant dans le milieu naturel.

<b>Composante</b>	<b>En % ou en mg par Kg de MS</b>
Protéines	15 % à l'entretien (plus de 22% en croissance, lactation ou fin de gestation)
AGE Ω 3	0,5%, 1% de l'EM
AGE Ω 6	1 %, 2% de l'EM
Calcium	0.8 %
Phosphore total	0.6 %
Magnésium	0.08 %
Fer	100 mg
Cuivre	20 mg
Zinc	20-100 mg (selon les sources)
Iode	0,35 mg
Sélénium	0,30 mg
Vit A, rétinol (UI)	8 000 UI
Vit D3 (UI)	2 500 UI
Vit E, tocophérol	100 mg
Vit, B1, Thiamine	3 mg
Vit B2, riboflavine	4 mg
Vit B5, acide pantothénique	20 mg
Vit B6, pyridoxine	9,6 mg
Vit B8, biotine	0,20 mg
Vit B9, folate	4 mg
Vit C, ascorbate	110 mg-350 mg (stress)

MS : matière sèche ; EM : énergie métabolisable

Tableau n° 1 : Ration théoriquement bien équilibrée

(Committee on animal nutrition and committee on nonhuman primate nutrition, 2003)

#### 1.3.4. Le sevrage

Il y a quatre grandes périodes de sevrage au cours de l'année, soit une tous les trois mois. Les macaques sont sélectionnés selon leur âge. Les volières de sevrage (« weaning ») sont constituées avec des jeunes issus de différentes volières d'élevage (« breeding »). Les animaux de 6 à 14 volières d'élevage sont nécessaires pour constituer une volière de sevrage de 40 jeunes. Les animaux ont entre 10 et 12 mois et pèsent entre 1,2 kg et 2,2 kg au moment de la séparation maternelle.

Les animaux sont attrapés avec leur mère, puis séparés pour une pesée et l'administration d'un complément vitaminé (3 ml de Frédop<sup>®</sup> ou de Cofalysor<sup>®</sup> ou de vitamine C injectable à 250 mg/mL). Ils sont ensuite placés dans une cage de transport compartimentée et relâchés dans leur nouvelle volière avec des animaux sevrés le même jour provenant des autres volières d'élevage. Les volières ainsi constituées regroupent environ 40 animaux. L'alimentation devient dès le premier jour comparable à celle des adultes. (La composition de toutes spécialités utilisées est donnée en annexe 2)

Les volières sont préalablement désinfectées, puis un nettoyage quotidien ainsi qu'une désinfection à l'eau chaude sous pression tous les 15 jours sont opérés. Un pédiluve est placé à l'entrée de chaque volière de sevrage. Il a pour but de limiter les contaminations croisées entre les volières par le biais du personnel animalier. Le produit et la fréquence de renouvellement sont les mêmes que pour le pédiluve disposé à l'entrée de la zone.

Des essais sont en cours pour préparer les animaux à cette transition alimentaire et augmenter le poids au sevrage. Les résultats sont exposés dans la partie 3.2.8. *Alimentation à la dérobée*. Cet essai rentre pleinement dans le cadre de cette étude expérimentale. Il est prouvé que la gestion des transitions alimentaires et le poids au sevrage sont des facteurs de risques majeurs à prendre en considération (Elmore, D.B., Anderson, J.H., Hird, D.W. et al, 1992).

Les volières sont donc constituées d'animaux n'ayant pas eu la même pression bactérienne, et dont l'état général (matérialisé essentiellement par le poids) peut être

assez variable. Ce mélange d'animaux de provenance et de maturité différentes dans un espace confiné au cours d'une transition alimentaire majeure, représente un risque important d'apparition de maladies infectieuses et de diarrhées.

#### 1.3.5. Encadrement des animaux, le personnel.

L'ensemble du personnel animalier et vétérinaire reçoit un traitement antiparasitaire deux fois par an à la suite d'un examen clinique, d'une analyse coprologique, d'une analyse d'urine et d'une numération formule sanguine. Une radio pulmonaire, une intradermo-tuberculation à l'embauche et une vaccination contre le tétanos complètent ce suivi médical.

Par souci d'hygiène, les animaliers sont affectés à une zone et leur travail se limite à celle-ci. Le respect de cette règle est contrôlé par le port d'un uniforme dont la couleur correspond à une zone. Les uniformes sont nettoyés quotidiennement dans une blanchisserie au sein de l'élevage.

Chaque animalier a la responsabilité de 4 volières. Il est chargé de les nettoyer, de distribuer la nourriture, de noter les naissances, les mortalités et de signaler toute anomalie au personnel encadrant (Unit Manager ou vétérinaire).

L'élevage Noveprim est certifié Iso 9001/2000, ce qui implique le respect de normes d'hygiène et environnementales très strictes. Toutes les procédures sont répertoriées dans un recueil de procédures. Chaque animalier reçoit une formation pour le poste qu'il occupe et sur les procédures qu'il doit suivre dans ses tâches journalières (nettoyage et désinfection, modalité de distribution des aliments, contention et déplacements des animaux...).

## **2. Motivation et cadre de l'étude**

### 2.1. Situation sanitaire de l'élevage

Les reproducteurs de l'élevage sont issus de la capture dans la colonie sauvage. Malgré la mise en reproduction de femelles nées dans l'élevage, la croissance rapide de l'élevage (pour répondre aux besoins de la recherche biomédicale) n'est possible que par la capture de nouvelles femelles.

On sait que la capture est un événement particulièrement stressant pour les animaux sauvages, avec notamment le stress du transport, du déplacement géographique, et de la lutte pour la liberté. Ces stress peuvent avoir de graves conséquences sur l'état de santé physique, physiologique et mental de l'animal.

En captivité, le confinement, le regroupement d'individus issus de groupes sociaux différents, la proximité de l'homme, sont autant de facteurs favorisant l'apparition et le maintien de maladies infectieuses. Les maladies infectieuses peuvent provenir de l'extérieur (oiseaux, rongeurs, mollusques, insectes), de l'homme (Bonnote, S., 2001) ou des primates eux-mêmes qui se réinfectent régulièrement avec les germes présents dans la colonie.

L'apparition d'une maladie infectieuse dans une volière est un événement qui peut être grave avec des taux de morbidité et de mortalité élevés car la promiscuité favorise la contamination des animaux de toute la colonie.

Le rôle du vétérinaire dans un élevage intensif est principalement un rôle prophylactique, il prévient l'apparition des maladies par l'application d'un certain nombre de mesures tout en intervenant le moins souvent possible dans les volières.

Parallèlement aux mesures indispensables d'hygiène, une prophylaxie médicamenteuse des parasitoses internes et externes est pratiquée. Un dépistage rigoureux de la tuberculose est aussi opéré au moyen de séries de tuberculinations.

Les différents traitements prophylactiques administrés systématiquement aux animaux sont les suivants:

- Lors de la quarantaine après leur capture, les animaux subissent 5 intradermotuberculinations à 15 jours d'intervalle dans la paupière gauche. Durant cette longue quarantaine, les vétérinaires effectuent un déparasitage interne et externe (Ivomec®, 0,2mL/3kg, SC ; Droncit®, 0,1 mL/kg, IM; amitraz, bain à 0,5%) ainsi que des complémentations vitaminiques (Frédop®, 0,3 mL, IM ou Cofalysor®, 0,3 mL, IM). Les animaux sont pesés et tatoués.
- Lors de la quarantaine avant exportation, la législation française impose la réalisation de deux intradermotuberculinations en 40 jours. De plus, des coprocultures sont devenues obligatoires depuis 2001 pour les animaux exportés vers la France (les macaques doivent être accompagnés d'un résultat de laboratoire négatif pour les entérobactéries pathogènes). En plus de ces dispositions légales, les animaux subissent de nouveau un déparasitage interne et externe (Ivomec®, Droncit®, amitraz) ainsi qu'une complémentation vitaminique (Frédop®, Cofalysor®). Deux à trois jours avant l'exportation les animaux sont auscultés et les vétérinaires effectuent un examen ophtalmologique.
- Dans la zone d'élevage, les tuberculinations, déparasitages et complémentations sont effectuées tous les six mois.

Ces différents procédés permettent un contrôle excellent des affections parasitaires, en effet aucune helminthiase n'a été révélée jusqu'à ce jour dans les zones d'élevage. De plus, plus aucune tuberculination positive n'a été observée depuis 1996.

Ces procédures prophylactiques semblent judicieuses; elles associent un minimum d'interventions dans les volières et une bonne efficacité thérapeutique.

Malgré cette prophylaxie sanitaire, des épisodes de diarrhées peuvent survenir pendant les deux grandes périodes de stress : la capture et le sevrage. Ces périodes

peuvent durer plus de 2 mois. Si elles apparaissent, les diarrhées sont caractérisées par des selles aqueuses ou mucoïdes teintées parfois de sang, accompagnées éventuellement d'un état typhique d'apparition brutale et d'une déshydratation rapide. En effet, les animaliers ne remarquent aucune anomalie à 7h00 du matin et 2 à 3 heures plus tard, un ou plusieurs animaux peuvent être atteints : ils sont prostrés, apathiques avec les cuisses humides et la région périnéale souillée par des fèces liquides. Un prolapsus rectal est une séquelle parfois rencontrée.

La mortalité est extrêmement élevée si aucun traitement n'est instauré rapidement pour rétablir un équilibre hydro électrolytique normal. Les symptômes et la mort sont généralement causés par la déshydratation, l'hypokaliémie et l'acidose métabolique.

Les cas surviennent souvent dans les mêmes volières sans pour autant affecter tous les animaux en même temps (peut-être grâce à la précocité des traitements et à l'isolement des sujets malades).

Les affections digestives sont cependant peu répandues et saisonnières avec un pic en hiver (de juin à août, les températures sont plus basses et les alizés soufflent régulièrement). Cette saisonnalité est rencontrée dans tous les types d'élevages, et dans toutes les espèces, les macaques ne faisant pas exception à la règle (Munoz-Zanzi, A, Thurmond, M.C., Hird, D.W. et al, 1999).

Des prélèvements de fèces réalisés au hasard sur des animaux sevrés depuis un mois et demi, ont révélé une infestation par *Entamoeba histolytica*, une infestation moindre par *Balantidium coli* et la présence sur certains animaux malades de *Shigella flexneri* ou de *Yersinia pseudotuberculosis*.

## 2.2. Motivations

### 2.2.1. Assurer le bien être des animaux et limiter les pertes

#### 2.2.1.1. Limiter les pertes d'animaux

Les pertes d'animaux représentent un manque à gagner pour l'élevage. Ces pertes sont occasionnées principalement par le stress et ses conséquences directes. On estime dans les centres de recherches que 31 à 67% des mortalités sont dues à des affections gastro-intestinales (Holmerg,C.A. , Leininger,R. , Wheeldon,E. et al, 1982). Les motivations pour réduire ces mortalités sont d'ordre éthique et économique.

Suite aux sevrages et aux captures d'animaux, les nombreuses variations de l'environnement ont une influence néfaste sur leur état de santé. Le stress est un des éléments majeurs ayant des conséquences graves. La transition alimentaire, le confinement et le regroupement d'animaux de statuts sanitaires différents sont d'autres facteurs de risque à prendre en considération.

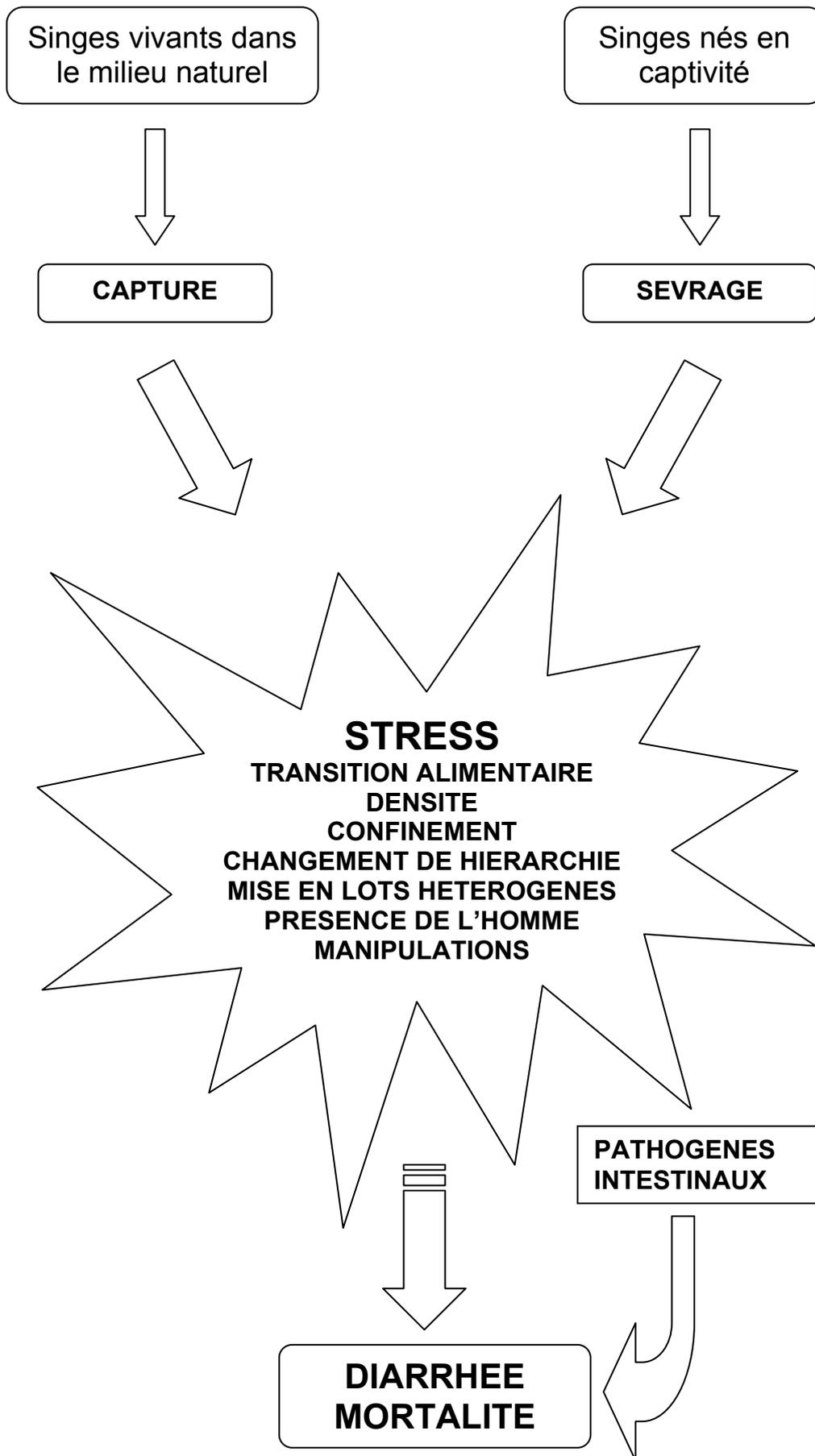


Schéma n°1: facteurs de risques d'apparition des diarrhées chez le macaque

#### 2.2.1.2. Amélioration du bien être des animaux

Tout accident pathologique peut être considéré comme un « mal-être ». Ce travail de contrôle des diarrhées vise à limiter cette situation par des moyens médicamenteux. Cependant, il est inconcevable de se préoccuper des diarrhées sans se préoccuper des facteurs de risques, que sont le stress, la transition alimentaire et la mise en lot. Diminuer l'importance de ces facteurs semble impératif pour augmenter les chances de réussite d'une prophylaxie médicamenteuse. C'est dans ce but que le site de Chamouny a été construit. Une adaptation progressive à la captivité doit permettre de minimiser le stress engendré par la capture. Des essais pour faciliter l'accès à la nourriture avant le sevrage sont menés parallèlement à cette étude. Les résultats de ces essais sont exposés dans la partie 3.2.8. *Alimentation à la dérobee*.

La prise du problème en amont et en aval devrait permettre de minimiser les effets néfastes de ces changements environnementaux sur la santé des animaux. Ces efforts doivent permettre d'améliorer le bien être des animaux en élevage en adaptant au maximum l'environnement à l'animal.

#### 2.2.1.2. Le stress et ses conséquences

Le stress a différentes composantes et différentes conséquences. C'est le résultat d'une interaction de l'animal avec son environnement, une réponse métabolique et viscérale à des agressions auxquelles l'organisme est soumis. Il est avant tout un phénomène adaptatif utilisé pour faire face aux variations de l'environnement. Le stress est l'effet sympathomimétique d'une décharge de catécholamines.

C'est un ensemble de réactions non spécifiques de l'organisme qui lui permettent, jusqu'à une certaine limite, de supprimer les conséquences physiopathologiques qui en résultent. Il existe trois phases successives :

- Une réaction d'alarme : l'animal surpris par l'agression, présente un état de choc, puis les premières réactions de défense contre le choc.
- Un stade de résistance plus long pendant lequel il s'adapte et accroît ses

défenses contre l'agression.

- Un stade d'épuisement qui aboutit à la mort si l'agression persiste avec intensité. En effet, toutes les réactions aux stress ont une valeur adaptative. Cependant, des réactions extrêmes de l'organisme peuvent lui être paradoxalement néfastes.

Les effets du stress sont variables en fonction de l'individu. Trois facteurs expliquent cette variabilité : l'expérience antérieure (l'animal réagit différemment à un stimulus qu'il connaît), le phénomène d'adaptabilité et la diversité liée à la génétique.

Le syndrome de stress peut être imputé à un hyperfonctionnement surrénalien, on peut noter cliniquement : (Fowler, M.E., 1986, Bonnote, S., 1997)

- Faiblesse
- Augmentation du volume de l'abdomen
- Perte de poids
- Sensibilité accrue aux infections bactériennes et parasitaires
- Réponse anticorps diminuée
- Augmentation de la pression artérielle
- Retard de cicatrisation

La réponse à la séparation mère-jeune chez plusieurs espèces de macaques inclut l'altération des fonctions physiologiques : baisse de la fréquence cardiaque, augmentation de la cortisolémie, baisse de la température corporelle chez la mère et le jeune. La séparation maternelle peut provoquer chez le jeune une diminution de l'activation des cellules T mitogènes. Les variations augmentent avec l'intensité de la réponse de protestation et de désespoir : les enfants qui crient le plus souvent et qui restent le plus longtemps en position de retrait après la séparation présentent les modifications les plus marquées (Laudenslager, M.L., Bocca, M.L., 1996).

Le rang social a aussi son importance, chez le macaque, les individus subordonnés peuvent développer de l'athérosclérose (Kaplan, Jay R., 1986). De plus, ces sujets présentent une fréquence cardiaque et une cortisolémie plus élevée ainsi qu'une fertilité moindre que celle des sujets dominants.

Le stress chronique affecte spécifiquement le nombre de leucocytes circulants. Le nombre de granulocytes neutrophiles augmente sensiblement (notion de formule de stress).

Ainsi, chez les PNH, une tolérance réduite au parasitisme, une sensibilité augmentée aux maladies et très certainement à certains médicaments ont été corrélées au stress (Fox, M.W, 1986).

#### 2.2.1.4. Opération inscrite dans une démarche d'assurance qualité.

Les macaques élevés par Noveprim sont destinés à la recherche biomédicale, cette science très pointue désire obtenir des lots d'animaux homogènes et en bonne santé (C.A.Holmerg, R.Leininger, E Wheeldon et al, 1982).

Les périodes de stress peuvent engendrer des épisodes de diarrhées, il en est de même pour le stress occasionné par le transport de l'élevage vers les laboratoires d'accueil des macaques. Dans les laboratoires d'accueils, lors du premier mois de quarantaine, les accidents proviennent de *Shigella sp.* par la suite, *Campylobacter sp.* semble jouer un rôle important. En revanche, peu de problèmes sont rencontrés avec les bactéries du genre *Salmonella* et *Yersinia* (Tribe, G.W., Fleming, M.P., 1983).

Toutes affections sur les animaux de laboratoire ont des répercussions économiques considérables. En effet, les traitements entrepris, le temps pendant lequel les lots d'animaux restent inutilisables sont autant de pertes sèches pour les laboratoires d'accueil. Il est aussi important de souligner que les primates sont sensibles à la majorité des maladies humaines. Ils ne les extériorisent pas systématiquement, constituant alors de véritables porteurs sains. De même beaucoup d'affections des primates sont transmissibles à l'homme et revêtent dans certains cas un caractère de gravité exceptionnelle (Lucciani, P., 1998). Certaines de ces maladies sont à déclaration obligatoire et sont légalement réputées contagieuses en Europe. Les conséquences réglementaires de cette déclaration s'ajoutent aux pertes directes liées à l'inutilisation du lot.

Le stress au niveau de cette étape finale est plus difficile à minimiser. On peut en revanche essayer d'en minimiser les conséquences en abaissant le bruit de fond parasitaire et bactériologique en amont, c'est à dire au sein de l'élevage.

### 2.2.2. Les diarrhées dans un contexte d'élevage.

Malgré les progrès accomplis ces dernières années en matière de microbiologie et d'immunologie, l'origine des diarrhées en élevage intensif reste complexe, notamment après le sevrage. En effet, comme pour beaucoup d'autres maladies, l'émergence d'agents plus ou moins pathogènes n'explique pas tous les problèmes rencontrés et l'expression clinique est indissociable de l'environnement des animaux (Malitte, A., 1993).

La réussite d'un traitement et d'une prévention va donc au delà de la stricte nécessité d'un diagnostic étiologique pertinent, elle dépend de la prise en compte des facteurs de risque réels dans la liste de tous ceux connus ou supposés qui interviennent dans le type d'affection qui nous intéresse.

Il faut prendre conscience que dans la majorité des cas, un germe n'est qu'un agent pathogène potentiel et que ce sont les facteurs de risque de l'environnement qui permettent l'expression de la pathogénicité. Le deuxième élément d'importance est le volet économique. Un traitement, une prévention doivent toujours avoir un solde positif par rapports aux dégâts causés par la maladie. Cela signifie que le pronostic reste le complément indissociable du diagnostic (Malitte, A., 1993).

Au sevrage, les facteurs de risques sont :

- un faible poids au sevrage
- l'hétérogénéité des lots
- une défaillance de l'hygiène
- les écarts de températures brutaux
- les entérites néonatales

Dans d'autres espèces, porcine notamment, la prévention des entérites au sevrage

passer par l'utilisation systématique d'antibiotiques dans l'eau de boisson ou l'aliment. Il arrive malgré tout que les entérites soient rebelles et que les rechutes soient fréquentes, de façon imprévisible dans le temps (Malitte, A., 1993).

### 2.2.3. Domaines d'investigation

Les animaux de la colonie sauvage sont porteurs de protozoaires et d'entérobactéries potentiellement pathogènes. Au sein de l'élevage, les mêmes pathogènes sont isolés mais dans des proportions faibles (cf. tableau n° 15). Les PNH sont considérés comme des hôtes normaux de certains de ces pathogènes.

En l'absence de recherches antérieures sur les prévalences des différents pathogènes rencontrés lors des diarrhées à Noveprim, le **travail sur les diarrhées post sevrages** s'appuiera sur des publications des centres de recherche pharmaceutique et les examens coprologiques effectués à Noveprim avant cette étude. Ces sources bibliographiques et les prélèvements indiquent que les diarrhées infectieuses sont essentiellement dues à la liste des pathogènes exposée dans la partie 2.3 *Agents pathogènes susceptibles de provoquer des diarrhées*.

Cette liste comporte des protozoaires (*Entamoeba coli* et *histolytica* ; *Balantidium coli*, *Giardia lamblia*) et des entérobactéries potentiellement pathogènes (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Campylobacter*) (Sestak, K., Merritt, C.K., Borda, J. et al, 2003). Cependant, cette liste n'est qu'un indicateur qualitatif. Sur l'élevage, le laboratoire a déjà isolé ou observé tous les pathogènes de la liste ci après à l'exception de *Giardia* et de *Campylobacter sp.* Les isolements bactériens restent cependant rares et sporadiques en routine, ils sont plus nombreux lors d'épisodes pathologiques.

Par la suite une autre **étude est prévue sur les singes de capture**, celle-ci aura pour but d'estimer les prévalences des différents pathogènes rencontrés (hors helminthiases) et de tester un schéma thérapeutique à visée prophylactique.

## 2.3. Agents pathogènes susceptibles de provoquer des diarrhées

### 2.3.1. Protozoaires

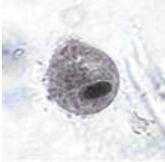
Genres	Mise en évidence	Caractéristiques
<i>Balantidium</i>	 <p>Trophozoïte</p>	<p>Les trophozoïtes de 75*50 µm sont très mobiles, et se déplacent rapidement dans les champs du microscope. Il existe des formes géantes de plus de 300µm. Ils présentent des stries longitudinales (ciliature). Il y a 2 vacuoles contractiles au gros pôle. Les kystes sont ovoïdes de 40 à 60 µm, sub-sphériques, à paroi épaisse et hyaline, de couleur jaune verdâtre pâle, contenant 1 vacuole contractile. On distingue le macronucléus et on devine le micronucléus, ils sont mobiles dans leurs enveloppes kystiques.</p>
<i>Entamoeba</i>	 <p>Kyste</p>  <p>Trophozoïte</p>	<p>Les trophozoïtes de 20*40µm sont peu mobiles avec parfois des globules rouges phagocytés. Les kystes observés par flottation en liquide dense (sulfate de zinc) font 10 à 20µm et peuvent avoir 1 à 4 noyaux. Une coloration est nécessaire pour le typage (iode).</p>
<i>Giardia</i>	 <p>Trophozoïtes</p>	<p>Les trophozoïtes sont mobiles et piriformes (10-20 x 7-10µm) sur frottis salin de fèces. Les kystes (10µm) sont mis en évidence par flottation au sulfate de zinc. Une coloration peut être nécessaire pour le typage.</p>

Tableau n°2: les différents protozoaires potentiellement pathogènes rencontrés chez les macaques

### 2.3.1.1. Les amibes : *Entamoeba histolytica*

#### 2.3.1.1.1. Généralités

L'OMS définit l'amibiase comme "l'état dans lequel l'organisme héberge *Entamoeba histolytica* avec ou sans manifestation clinique".

C'est une maladie parasitaire, due à la présence et à la multiplication, dans le gros intestin d'abord puis en diverses localisations métastatiques, de l'amibe parasite hématophage : *Entamoeba histolytica*.

Le portage est souvent asymptomatique, cependant l'amibiase peut se traduire par une dysenterie (entérite hémorragique douloureuse avec une forte inflammation de l'intestin) plus ou moins sévère selon la souche parasitaire avec des complications possibles suite au passage dans le sang (foie, poumons, reins, cerveau). On parle souvent de dysenterie amibienne, par opposition à la dysenterie bacillaire due à des bactéries du genre *Shigella* (Baskins, G., 2004).

Sous une même apparence morphologique, *E.histolytica* comporte plusieurs zymodèmes (combinaisons enzymatiques), dont certains sont dépourvus de pouvoir pathogène. Ainsi 11 zymodèmes ont été isolés et 4 seulement sont pathogènes. Le plus souvent, les singes n'hébergent que les zymodèmes non pathogènes (I, III, IV, VIII).

L'amibe affecte surtout l'homme, mais elle peut aussi évoluer sur les PNH. Les macaques jouent le même rôle épidémiologique que l'homme et permettent la production de kystes. L'homme est l'hôte naturel de cette espèce et il constitue la source habituelle d'infection des animaux qui sont infestés par l'ingestion de nourriture ou d'eau contaminés par des fèces contenant la forme d'infestation. Les autres animaux peuvent s'infester mais ils représentent des culs de sacs évolutifs pour le parasite qui n'existe que sous sa forme pathogène, non cystogène. *Entamoeba histolytica* peut vivre dans la lumière du colon comme commensal, ou envahir la muqueuse intestinale et provoquer une colite ulcéraire ou hémorragique, modérée à sévère. Dans la forme aiguë de la maladie, une dysenterie foudroyante peut se développer, elle peut être fatale, passer à la chronicité ou guérir spontanément. Dans les cas chroniques, on peut noter une perte de poids, une anorexie, un mauvais état général, un ténesme et une diarrhée chronique, tous ces

signes peuvent être intermittents ou continus. L'extension de l'amibiase est facilitée par une **immunodépression** ou un **stress**.

*E.hystolitica* se retrouve **partout dans le monde**, principalement dans les **régions tropicales humides**. C'est essentiellement une **mauvaise hygiène**, facilitée par l'ignorance et la pauvreté qui favorise l'entretien et la dispersion de l'amibiase dysentérique. Dans les régions endémiques, l'infection amibienne s'entretient par les sujets infectés latents ou cliniquement guéris mais toujours éliminateurs de kystes (Euzéby, J., 1986).

*Entamoeba coli* est souvent isolée chez les macaques mais ne présente pas de pathogénicité particulière (Morelli, A., 1996).

#### 2.3.1.1.2. Etiologie

*E.histolytica* existe sous deux formes trophozoïtiques et une forme kystique.

Les trophozoïtes :

- forme *minuta*: de petite taille, 12-15  $\mu\text{m}$ . Le périplasme peut émettre des filopodes de longueur variable (3 à 100  $\mu\text{m}$ ). L'endoplasme ne renferme pas d'hématies mais de petites vacuoles contenant du glycogène. Il n'y a pas de mitochondries. Ces formes vivent en anaérobiose. Le noyau après coloration apparaît excentré avec un caryosome central.
- forme *histolytica* : plus volumineuse, 30-40  $\mu\text{m}$ , avec un cytoplasme granuleux contenant des hématies en voie de lyse. Cette forme émet de nombreux pseudopodes.

Les kystes sont sphériques de 10 à 14  $\mu\text{m}$ , et renferment 4 noyaux et des corps chromatoïdes.

La forme *minuta* se nourrit par phagocytose de débris alimentaires, de bactéries, de protozoaires. Elle est libre à la surface de la muqueuse et des cryptes glandulaires du colon. En équilibre avec l'hôte, elle existe chez les porteurs sains du parasite.

La forme *histolytica*, elle, pénètre dans la sous muqueuse et n'existe que chez les malades atteints d'amibiase aiguë. Elle peut pénétrer dans les capillaires et commencer une dissémination sanguine. On la retrouve parfois au niveau de la musculature et les nœuds lymphatiques (Baskins, G., 2002). Cette forme est hématophage, elle possède des enzymes protéolytiques qui lui permettent d'ouvrir la barrière intestinale et les capillaires de la muqueuse, dès lors, ayant pris "goût" au sang, le parasite ne va plus se multiplier que sous sa forme hématophage. D'autre part une collagénase lui permet de cheminer dans les tissus et induit une action nécrosante.

La forme *histolytica* se fixe à la muqueuse grâce à ses pseudopodes d'ou émanent des filopodes très fins. Pour que la fixation soit possible, l'amibe a besoin de facteurs nutritionnels tels que la cystéine, des vitamines du groupe B et de la vitamine C. Dans le gros intestin, l'amibe subit l'action de l'oxygène, qu'elle supporte jusqu'à une concentration de 5%. C'est pourquoi la présence d'un réducteur comme la cystéine est nécessaire à son développement. C'est aussi pour cette raison que l'amibe vit en contact avec diverses bactéries qui diminuent la tension en oxygène du milieu.

Les kystes ne se nourrissent pas, ils proviennent des formes *minuta* qui juste avant de s'enkyster cessent de se nourrir et évacuent les matériaux alimentaires, une partie de leur cytoplasme et secrètent une paroi épaisse.

*E.histolytica* se cultive sur des milieux spécifiques, pauvres en oxygène et riches en glucides. Sur ces milieux, l'amibe se développe sous sa forme *minuta* et sous sa forme *histolytica* si l'on ajoute du sang au substrat.

#### 2.3.1.1.3. Cycle évolutif

Deux types de cycles sont possibles, le cycle normal chez les porteurs sains et le cycle anormal pathogène chez les sujets malades.

- ✓ Le cycle normal ne comporte que les formes *minuta* et kystiques. Les trophozoïtes se multiplient par scissiparité. Après un certain nombre de divisions, ils deviennent des pré-kystes qui secrètent une membrane épaisse

et éliminent une bonne partie de leur cytoplasme. Après 2 divisions successives, les pré-kystes deviennent des kystes à 4 noyaux qui seront évacués dans les fèces. Ingérés par un autre individu, la membrane est digérée par le suc pancréatique et une amibe à 4 noyaux est libérée. Chacun des 4 noyaux se divisant une fois et s'entourant de cytoplasme, on obtient une masse plasmoïde à 8 noyaux, à l'origine de 8 nouveaux trophozoïtes de la forme *minuta*. Ce cycle est complet et assure la dissémination de l'espèce. Ce cycle peut durer plusieurs années sans apparition de signes cliniques. La production de kystes est discontinuë, on peut parfois croire à une épuration mais il s'agit de faux négatifs qui sont évités en renouvelant le contrôle coprologique 3 jours de suite. Les kystes sont très résistants dans le milieu extérieur, 3 jours dans de l'eau à 30°C et sur des fruits et légumes humides, plusieurs semaines dans de l'eau plus fraîche. Ils ne sont immédiatement détruits que par la chaleur et la congélation. En milieu tropical, leur persistance dans des substrats pollués est donc de plusieurs jours surtout en saison des pluies.

- ✓ Le cycle anormal pathogène voit la forme *minuta* sous diverses influences se différencier en forme *histolytica*. Cette amibe pénètre dans les cryptes glandulaires (entre la lame basale et l'épithélium) et gagne la sous muqueuse entraînant avec elle des bactéries (Beaver, P.C. , Blanchard, J.L. , Seibold, H.R, 1988). Dans la sous-muqueuse, elle se multiplie activement et par son pouvoir histolytique, détermine un petit foyer de nécrose. La suppuration qui s'ensuit forme un abcès (en bouton de chemise) qui s'ouvre par un fin pertuis dans la lumière intestinale. Il n'y a pas de formation de kystes et les trophozoïtes évacués sont rapidement détruits dans le milieu extérieur. Cette invasion désorganise l'adhésion des cellules et aboutit à une destruction de l'épithélium. Ce cycle est incomplet car il n'y a pas de formation de kystes. Cependant après le crise amibienne, la forme *histolytica* peut redonner la forme *minuta* cystogène. Le malade devient alors porteur sain du parasite. On peut parfois avoir une invasion sans répercussion clinique sur les primates de l'ancien monde (Beaver, P.C. , Blanchard, J.L. , Seibold, H.R, 1988).

#### 2.3.1.1.4. Pathogénicité

Elle n'est liée qu'à la forme *histolytica*. La transformation s'effectue sous diverses influences parmi lesquelles, tous les facteurs susceptibles d'induire un état congestif, les microhémorragies, les infections virales ou bactériennes, les facteurs abaissant le potentiel redox à la surface de la muqueuse, l'abaissement du pH intestinal et les **transitions alimentaires**.

L'action toxique s'effectue par contact et par sécrétion de phospholipases hémolytiques, de protéinases à action nécrosante, et de collagénases qui facilitent la pénétration dans les tissus.

A côté de ces sécrétions, les amibes sont capables de synthétiser :

- une protéine qui agit sur les lectines de la muqueuse
- une substance neurohormonale semblable à la sérotonine, capable de produire des lésions intestinales génératrices de diarrhées.

La virulence des souches d'amibes dysentériques est en rapport avec l'activité de ces deux substances toxiques.

#### 2.3.1.1.5. Etude clinique

L'incubation a une durée variable qui peut être très longue. Dans sa forme clinique, l'amibiase est essentiellement une dysenterie. Celle-ci se caractérise par une émission de fèces diarrhéiques striées de sang accompagnées de ténésme et d'épreintes. Au bout d'un certain temps il n'y a plus émission que de lambeaux de mucus sanguinolent : " le crachat rectal ". Une forme subaiguë existe avec une diarrhée d'apparence banale, peu ou pas hémorragique mais accompagnée de coliques. Plus rarement, se développe une forme suraiguë à caractère toxico-infectieuse : le syndrome dysentérique accompagné d'un état typhique. Généralement ces trois évolutions sont apyrétiques.

Il peut y avoir des complications locales (hémorragies intestinales, perforations, coliques, obstruction par rétrécissement cicatriciel, tumeurs inflammatoires :

amoebomes, colite chronique) ou systémique (métastases dues à des localisations erratiques dans le foie par la veine porte, les poumons, l'encéphale, le tissu sous-cutané...).

La lésion de base est l'abcès amibien en bouton de chemise au niveau du colon et du rectum, ce sont de petits abcès jaunâtres situés entre la musculuse et la muqueuse, la nécrose va ensuite atteindre les cellules épithéliales bordant le pertuis et, par élargissement de la lésion, déterminer une ulcération. Ils peuvent s'ouvrir sur l'extérieur ou progresser jusqu'à la sous muqueuse et provoquer une perforation.

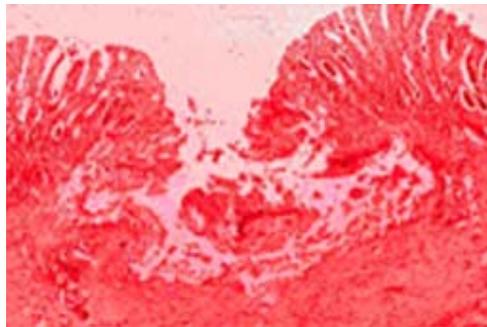


Photo n°5: ulcère colique (Bestel, E., 1995)

Il y a une infiltration leucocytaire marquée avec une éosinophilie locale. Dans les localisations erratiques, les abcès sont des foyers de nécrose avec un pus crémeux couleur chocolat.

Dans le colon, il peut y avoir développement d'amoebomes : pseudo tumeurs inflammatoires, à caractère granuleux, sur une paroi intestinale épaissie.

#### 2.3.1.1.6. Réaction de l'hôte

Les amibes sont peu immunogènes au niveau de la membrane mais beaucoup d'antigènes sont présents dans le cytoplasme. La forme *histolytica* est beaucoup plus immunogène par rapport aux formes intestinales. Cette forme possède plus d'antigènes de surface et, de plus, ses contacts plus intimes avec les tissus engendrent une réaction immunitaire avec synthèse d'anticorps circulants (IgG), d'IgA sécrétoire, et la mise en place de phénomènes cellulaires qui sont déclenchés

par les enzymes lysosomiales. Toutefois, cette réaction immunitaire ne prévient pas les réinfestations sauf en cas d'amibiase hépatique guérie qui met en jeu une réponse cellulaire différente.

Au cours des infections anciennes, il peut se former un immun complexe à partir d'IgE. Ce complexe est générateur d'auto anticorps qui dirigent le système immunitaire contre ses propres tissus aggravant les lésions existantes engendrées par le parasite lui même.

L'infestation par la forme *minuta* induit une réaction immunitaire de type cellulaire avec possibilité de déclenchement de phénomènes d'hypersensibilité de type IV.

#### 2.3.1.1.7. Epidémiologie

La source essentielle d'amibes est l'homme. Seuls les individus éliminateurs de kystes sont des réservoirs, il ne s'agit donc pas des malades atteints de la forme non cystogène de la maladie mais des porteurs sains infectés par la forme *minuta*. Ces réservoirs peuvent être actifs plusieurs années même si l'existence de périodes négatives peut laisser croire à leur épuration parasitaire. Les animaux sensibles au pouvoir pathogène (chien, chat, porc) ne sont donc pas des réservoirs de parasites car la forme pathogène de l'amibe n'est pas cystogène. En revanche les PNH comme l'homme, peuvent être porteurs et excréteurs de kystes.

La contamination se fait par ingestion de kystes, les véhicules classiques des kystes sont les végétaux consommés à l'état cru. Des aliments carnés ou cuits peuvent aussi être des facteurs de contamination s'ils sont manipulés de manière peu hygiénique par des porteurs de kystes.

Sur les mains, même séchées, les kystes survivent quelques minutes. Chez les macaques, la transmission est encore plus simplifiée en élevage, les animaux marchent sur un sol souillé par des excréments, et mangent ensuite avec leurs mains potentiellement porteuses de kystes d'amibes. L'entretien du cycle de l'amibe est très facile dans les conditions d'élevage.

Les facteurs de sensibilité sont bien connus, ce sont ceux qui facilitent le passage de la forme *minuta* à la forme *histolytica* on peut citer :

- ✓ les lésions du colon et du rectum,
- ✓ la présence d'une flore intestinale pathogène (*Shigella*, *E.coli*, *Salmonella*...),
- ✓ la stase intestinale,
- ✓ l'hypercholestérolémie,
- ✓ les carences en vitamines C, la malnutrition
- ✓ les transitions alimentaires qui engendrent des désordres au niveau de la flore intestinale,
- ✓ les variations climatiques ou géographiques.

#### 2.3.1.1.8. Diagnostic de laboratoire

Au cours d'une dysenterie, des amibes du type *histolytica* peuvent être mises en évidence dans les fèces par examen direct, notamment dans les crachats rectaux. L'examen doit être fait rapidement après le prélèvement, les amibes sont mobiles par leurs pseudopodes, elles mesurent 20 à 40 µm et leur cytoplasme renferme des hématies. Le noyau est invisible à l'état frais. Une coloration de Bailanger peut être réalisée. Dans tous les cas, il faut tenir compte de la discontinuité de l'émission fécale des trophozoïtes, il faut renouveler 3 jours de suite l'examen pour éviter tout faux négatif. Les trophozoïtes sont très différents de ceux de *Entamoeba coli* et de ceux de *Entamoeba hartmanni*.

Chez les porteurs sains, les kystes sont excrétés dans des fèces moulées, ils sont identifiables grâce à leurs 4 noyaux. Pour permettre une bonne maturation des éléments parasitaires, l'examen doit être fait 24 heures après le prélèvement.

### 2.3.1.1.9. Traitement

On distingue fondamentalement deux groupes de médicaments amoebicides :

- les amoebicides diffusibles à action tissulaire : ils passent dans la circulation, diffusent dans l'organisme et vont atteindre les amibes par voie sanguine. Ce sont des produits généralement sans action sur les formes parasites situées dans la lumière intestinale. Ce sont par excellence les médicaments de « l'amibiase maladie »
- les amoebicides de contact, administrés par voie orale, ils sont peu absorbés et pourront atteindre les formes *minuta* ou les formes *histolytica* situées à la surface d'ulcérations peu profondes. Ils sont prescrits dans « l'amibiase infestation » ou après une cure spécifique « d'amibiase maladie » pour détruire les formes *minuta* persistantes du cycle saprophytique.

En fait ces 2 groupes agissent de manière complémentaire, les seconds en relais des premiers afin d'éviter les rechutes (Robert, S., 2000). Outre les amoebicides, la thérapeutique peut faire appel à d'autres principes actifs tels que :

- les antibiotiques qui n'ont pas d'action amoebicide propre mais se révèlent efficaces même employés seuls, par action sur la flore intestinale associée dont le rôle important a été souligné comme favorisant la pathogénicité
- des médicaments agissant sur les manifestations fonctionnelles de l'amibiase (pansements intestinaux, antispasmodiques, sédatifs) (Robert, S., 2000).

➤ Les amoebicides tissulaires :

- déhydroémétine, qui provoque beaucoup d'effets secondaires (cardiaques, gastro-intestinaux, nerveux, rénaux) et dont l'index thérapeutique est étroit.
- métronidazole qui est à la fois amoebicide et flagellicide. Son action est

rapide, toutes les amibes sont tuées en 24 heures. Ce produit est actif contre les bactéries anaérobies strictes intestinales ou pulmonaires. Le métronidazole se caractérise par une action polyvalente à la fois tissulaire et de contact. Toutefois l'action tissulaire s'obtient à des doses plus faibles. Quelques signes d'intolérances digestives peuvent être observés.

- le niridazole donne de bons résultats dans le cas de l'amibiase hépatique mais, ceux-ci semblent discutables en ce qui concerne l'amibiase intestinale (Lapierre, J., 1978).

➤ Les amoebicides de contact :

- les dérivés arsenicaux qui interfèrent avec les groupes thiols des systèmes enzymatiques parasitaires.
- la broxyquinoline est un dérivé bromé qui agit aussi sur les bactéries. Efficace mais elle présente des effets secondaires nerveux.
- le méthylbromoxyquinoleine est souvent indiqué dans les infections intestinales de toutes étiologies car il offre des propriétés amoebicides, antibactériennes et antifongiques.
- la phanquinone offre aussi des propriétés amoebicides et antibactérienne (*E.coli*, *Proteus*). Elle est donc préconisée dans les colites amibiennes aiguës ou chroniques.
- le paromomycine utilisé en association avec un amoebicide tissulaire offre de très bons résultats (non commercialisé en France)
- les antibiotiques agissent sur la flore associée à l'amibe. Ils ne sont pas utilisés seuls car ils exposeraient les animaux à des rechutes. L'utilisation des tétracyclines est efficace mais engendre un fort déséquilibre au niveau de la flore. La spiramycine est elle aussi très efficace (Lapierre, J., 1978).

#### 2.3.1.1.10. Prophylaxie

Elle passe par le dépistage et le traitement des porteurs sains accompagné de mesures d'hygiène strictes : hygiène des aliments mangés cru, hygiène des volières.

#### 2.3.1.2. Les ciliés : *Balantidium coli*

##### 2.3.1.2.1. Généralités

Ce protozoaire appartient à la famille des Balantiidés. La balantidiose est une protozoose du gros intestin, généralement latente mais pouvant évoluer sous forme de colite ou de dysenterie. Elle est due à un cilié de la classe des kinétofragminophoréa : *Balantidium coli*, dont les formes de dispersions sont des kystes. *B. coli* a pour hôte de base le porc mais on a aussi isolé ce protozoaire chez les équidés, les bovins, les oiseaux, les reptiles, les rongeurs, les carnivores, les primates et l'homme. (Euzéby, J., 1986) (Nakauchi, K., 1998). En laboratoire, l'incidence de ce parasite est très élevée chez les primates: 80% (Flynn, R., 1973). Le parasite a une distribution cosmopolite, il est connu dans toutes les zones climatiques, même s'il est plus fréquent de le retrouver en zones tropicales et subtropicales.

La contamination se fait par ingestion de kystes résistants dans le milieu extérieur. Le plus souvent, les animaux sont porteurs sains mais les contraintes de l'élevage intensif rendent les individus plus sensibles et l'infection peut alors prendre une forme clinique représentée par un syndrome d'entéro-typhlocolite hémorragique.

Chez l'homme, la balantidiose est généralement d'origine zoonotique, contractée à partir du réservoir porcin : anthroozoonose. Par la suite, le parasite peut s'entretenir dans les populations humaines, surtout quand celles-ci ne respectent pas les règles d'hygiène élémentaire.

*B.coli* vit dans le colon de ses hôtes, normalement dans la lumière de l'organe. Cependant, il arrive qu'il pénètre dans la paroi colique ; il devient alors histolytique et très pathogène pouvant même essaimer accidentellement par voie sanguine.

### 2.3.1.2.2. Epidémiologie

Les formes de dissémination sont surtout les kystes qui survivent 15 jours en milieu humide à 25°C et plus longtemps à une température plus basse. Les trophozoïtes survivent eux, 1 à 2 jours en milieux humides à 25°C (Euzéby, J., 1986).

La contamination s'effectue par voie orale, par la consommation de végétaux, d'eau ou d'aliments souillés par des fèces. Chez l'homme, la balantidiose appartient au groupe de maladies liées au péril fécal, auquel les porteurs sains, peu respectueux des mesures d'hygiène élémentaire, exposent les personnes de leur entourage (poignées de mains, préparations de repas...).

Divers facteurs élèvent la réceptivité des animaux, par exemple une ration riche en glucides favorise le développement du parasite mais pas de sa pathogénicité. Par contre, le microbisme intestinal des élevages intensifs serait favorable à la pénétration de *B.coli* dans la muqueuse chez le porc. D'autres facteurs d'élevage entrent en jeu parmi lesquels on peut citer : la surpopulation, le transport, les mises en lots. Les facteurs de risques sont les mêmes que pour l'amibiase.

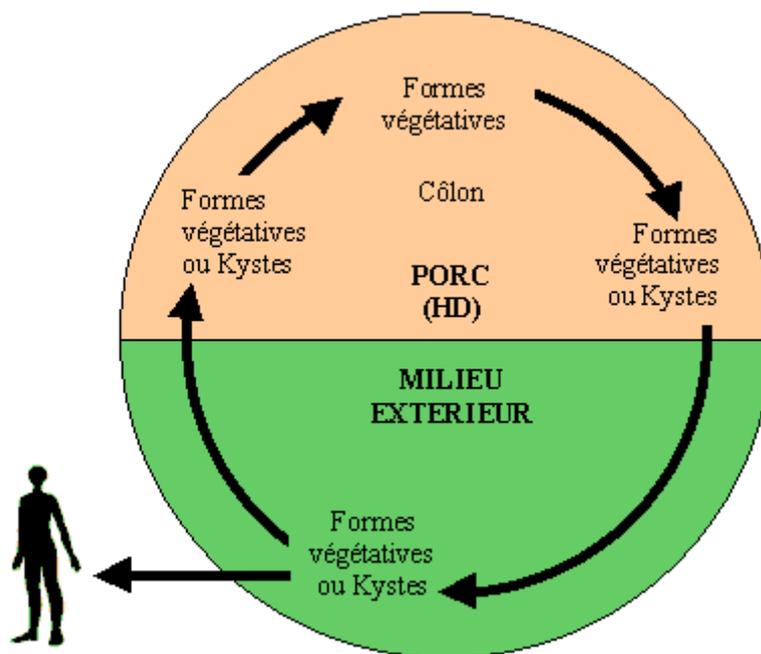


Schéma n° 2 : Cycle de *Balantidium coli*

#### 2.3.1.2.3. Etude clinique, pathogénicité

Le portage est la plupart du temps asymptomatique, mais parfois une balantidiose clinique se déclare, surtout chez les jeunes (Baskins, G., 2002). Elle se manifeste alors par un syndrome d'entéro-typhlocolite hémorragique. Ce syndrome survient généralement 8 à 30 jours après les mises en lots. On peut noter de l'anorexie, de la diarrhée avec des éléments membraneux, elle peut devenir hémorragique (Morelli, A., 1996). Des vomissements et de la dyspnée sont possibles (Kim, C.S., Abee, C.R., Wolf, R.H, 1878). De rares cas de dysenterie foudroyante ont été décrits. La maladie existe aussi sous une forme chronique, elle se résume en un retard de croissance qui peut parfois être important (Alogninouwa, T., 1994)

Les lésions consistent en une inflammation ulcéralive du colon et en la présence de nids de trophozoïtes dans la muqueuse, les capillaires sanguins et lymphatiques. Il en résulte des micros abcès sous muqueux. Il est rare que le parasite atteigne la musculature et essaime hors de l'intestin.

La pathogénicité est du même ordre que celle de l'amibiase dysentérique : des lésions primitives de la paroi coliques sont colonisées par des trophozoïtes dont la hyaluronidase facilite la pénétration. Cette migration entraîne une réaction inflammatoire avec diapédèse leucocytaire. La réaction immunitaire est quand à elle faible, les anticorps signalés ne sont que des témoins et n'évitent en aucun cas les rechutes. *Balantidium coli* est souvent associé à d'autres pathogènes bactériens (Baskins, G., 2004).

#### 2.3.1.2.4. Diagnostic de laboratoire

La mise en évidence se fait par coproscopie de fèces dans l'heure qui suit leur émission. Les trophozoïtes sont mobiles de grandes tailles. En début d'évolution il peut y avoir des faux négatifs. La présence de kystes sur un sujet non malade permet de dépister les porteurs (Euzéby, J., 1986).

#### 2.3.1.2.5. Traitement et prophylaxie

Le cotriméthazole représente le traitement de choix. On peut aussi utiliser d'autres sulfamides non résorbés par voie orale, du sulfate de paromomycine, des tétracyclines ou du métronidazole (Sill, F.G., Reyes, J.P., Lezama, J.R. et al, 1996) (Amstutz, H., Anderson, D., Armour, J. et al, 2002). La réponse au traitement est rapide et le portage éliminé si en plus de cette thérapeutique, des mesures d'hygiène sont appliquées (Teare, J.A., Loomis, M.R., 1982).

La prophylaxie doit mettre en oeuvre des mesures d'hygiène et des mesures zootechniques, destinées à palier les facteurs étiologiques précédemment évoqués. On peut aussi avoir recours à de la chimioprévention à base de nitro-imidazolés, elle doit être mise en oeuvre **dès le sevrage** ou dès qu'il y a **une mise en lots** d'animaux de provenances différentes.

#### 2.3.1.3 Les flagellés : *Giardia lamblia*

Les premières classifications ont assignées différents noms d'espèces aux *Giardia* des différents hôtes. Il est maintenant accepté que toutes les espèces qui infectent les mammifères (sauf certains rongeurs) sont semblables d'un point de vue structural (Euzéby, J., 1986).

La giardiose est une infection intestinale chronique à protozoaires qui survient dans le monde entier chez la plupart des mammifères domestiques et sauvages, chez de nombreux oiseaux et chez l'homme. Il y a des preuves précises que les *Giardia spp* qui infectent les animaux domestiques peuvent aussi infecter les humains. Les animaux sauvages peuvent servir de réservoir (Amstutz, H., Anderson, D., Armour, J. et al, 2002) (Flynn, R., 1973).

Les trophozoïtes mesurent de 10 à 21 µm de longueur sur 7-8 µm de diamètre, ils sont piriformes et présentent une ventouse sur la face ventrale ainsi qu'un vestibule buccal à l'extrémité antérieure. Huit flagelles émergent de différentes localisations. Les kystes de 8 µm sont ovoïdes avec 4 noyaux et une coque épaisse.

Les trophozoïtes colonisent les surfaces muqueuses de l'intestin grêle, où ils se multiplient par division binaire. La transmission a lieu au stade kyste par la voie orale. Les périodes d'incubation et prépatentes durent en général 5 à 14 jours. Les kystes peuvent survivre dans l'environnement mais pas les trophozoïtes. La surpopulation et une humidité élevée favorisent leur survie et leur transmission.

La symptomatologie chez les primates est semblable à celle rencontrée chez le chien. Les infections à *Giardia* peuvent être inapparentes, produire une perte de poids (malabsorption) (Baskins, G., 2004), une diarrhée chronique ou une stéatorrhée (surtout chez les animaux jeunes). Les selles sont habituellement molles, mal formées, pâles, et peuvent contenir du mucus ou du sang sans signe de diarrhée (Hamlen, H.J., Lawrence, J.M., 1994).

Les lésions intestinales macroscopiques sont rarement évidentes. Les lésions microscopiques, consistent en une atrophie des villosités intestinales et en une déformation cubique des entérocytes.

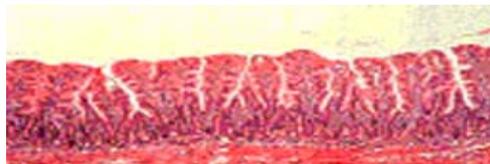


Photo n° 6 : Atrophie des villosités intestinales (Bestel, E., 2004)

Des mesures hygiéniques accompagnées d'un traitement au métronidazole permettent d'enrayer cette infestation.

## 2.3.2. Bactéries potentiellement pathogènes

### 2.3.2.1 Ecologie du tube digestif, effet barrière et résistances bactériennes.

L'intérêt porté à l'écosystème microbien du tube digestif vient de ce que certains micro-organismes qui y résident peuvent être responsables d'infection chez leur hôte. Ces infections peuvent être la conséquence de la multiplication dans la lumière intestinale de bactéries douées d'un pouvoir pathogène spécifique. Elles peuvent également résulter de l'altération des défenses de l'hôte vis-à-vis de sa flore commensale. Le tube digestif peut être le point de départ de bactériémies dues à des bacilles à Gram négatif, en particulier les entérobactéries, qui gagnent le sang après passage de la muqueuse intestinale selon un mécanisme appelé translocation.

La densité et la composition de la flore varient au cours de l'âge et tout au long du tractus digestif. L'estomac, le duodénum et le jéjunum contiennent peu de bactéries ( $10^3$  à  $10^4$  bactéries par mL), essentiellement des lactobacilles et des streptocoques. La diversité et l'abondance s'accroissent dans l'iléon qui contient  $10^8$  micro-organismes par mL, avec une prédominance des espèces anaérobies strictes. Le colon abrite la densité microbienne la plus forte avec  $10^9$  à  $10^{11}$  micro-organismes par gramme de contenu. Le très faible potentiel oxydoréducteur du milieu colique favorise le développement de populations bactériennes anaérobies strictes qui représentent 99,9% de la flore colique. Le nombre d'espèces différentes au sein de cette flore est estimé entre 400 et 500 dont beaucoup ne peuvent être cultivées in vitro. La flore fécale a une composition voisine de celle de la flore colique. C'est la seule à pouvoir être étudiée en raison de la difficulté de recueil d'échantillon du contenu intestinal.

Les bactéries anaérobies facultatives parmi lesquelles *E. coli*, sont présentes en concentrations 100 à 10 000 plus faibles que les anaérobies strictes. La taille de leur population varie de  $10^5$  à  $10^8$  bactéries par gramme. Elles font partie de la flore sous dominante par opposition à la notion de flore dominante.

La stabilité de la composition de la flore intestinale chez un même individu est remarquable car le tube digestif est soumis à l'apport constant de micro-organismes provenant de l'environnement par l'intermédiaire de l'alimentation. Elle est la

conséquence de l'efficacité du mécanisme de défense empêchant ou limitant le développement de micro-organismes d'origine exogène. La première ligne de défense est l'acidité gastrique, la seconde ligne est assurée par l'écosystème microbien intestinal lui-même qui exerce un effet antagoniste vis-à-vis de la plupart des bactéries qui lui sont étrangères. Cet effet barrière est dévolu principalement à la flore dominante. L'écosystème exerce un véritable contrôle de l'implantation des bactéries exogènes.

La modification de l'équilibre de l'écosystème intestinal sous l'effet de l'administration d'antibiotiques peut être à l'origine d'infections secondaires. L'altération des effets de barrière peut en effet favoriser le développement de populations qui lorsqu'elles sont en nombre élevé exercent alors un pouvoir pathogène (Freney, J., Renaud, F., Hansen, W. et al, 2000)

L'émergence de bactéries résistantes est une conséquence de l'impact écologique des antibiotiques sur l'écosystème intestinal. Celles-ci sont sélectionnées au cours des traitements à partir de populations bactériennes sur lesquelles l'antibiotique exerce une pression sélective. La relation entre l'administration d'un antibiotique et le risque de colonisation intestinale par des bactéries qui lui sont résistantes a été clairement établie au cours d'enquêtes épidémiologiques.

L'émergence de populations résistantes relève de différents mécanismes :

- Il peut s'agir de sélection de bactéries porteuses d'une mutation qui étaient présentes initialement en faible nombre.
- Il peut s'agir aussi de bactéries qui ont acquis un gène codant pour une résistance. Le tube digestif, en raison de la diversité des espèces et de la concentration importante de bactéries qui y vivent, est un lieu propice à l'échange et à la dissémination de gènes de résistance aux antibiotiques dont beaucoup sont portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides ou transposons).

L'amplification du nombre de copies d'un gène de résistance porté par une bactérie commensale du tube digestif peut être considérable. Ce gène est en effet transmis à la descendance (transfert vertical) et éventuellement à d'autres lignées de bactéries (transfert horizontal) quand il est codé par un plasmide. Les antibiotiques contribuent

à ce phénomène d'amplification en favorisant le développement des populations de bactéries résistantes.

Les genres bactériens les plus souvent incriminés lors de maladies intestinales chez les PNH sont *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Campylobacter* et plus rarement *E.coli* entérotoxigène (Fiennes, M. Pinkerton and E.K. Dzhikidze, 1972). Les primates peuvent être porteurs sains intermittents de n'importe lequel, voire plusieurs de ces micro-organismes.

Nos recherches seront axées sur les entérobactéries potentiellement pathogènes à l'exception des bactéries du genre *Campylobacter* car les méthodes de cultures disponibles ne permettent pas leur mise en évidence. De plus, l'isolement des bactéries du genre *Escherichia* entéroinvasives ou entérotoxigènes n'est pas réalisable car les capacités d'analyse du laboratoire sont limitées.

Toutes les bactéries mises en cause appartiennent à la famille des entérobactéries. Ces bactéries sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés. Elles présentent une ciliature péritriche pour les espèces mobiles, elles sont

- aéro-anaérobies,
- fermentent le glucose, sont catalase positive (à l'exception de *Shigella dysenteriae* type I), oxydase négatives, nitrate réductase positives,
- capables de croître sur des milieux ordinaires à base de peptone ou d'extraits de viande.

Les virus peuvent aussi être une cause de diarrhées chez les macaques, des études ont déjà prouvé que les adénovirus pouvaient être retrouvés en plus grandes proportions chez des macaques présentant de la diarrhée (Stuker, G., Oshiro, L.S., Schmidt, N.J. et al, 1979).

### 2.3.2.2. Le genre *Yersinia*

La yersiniose est une maladie d'élevage. Chez les PNH, elle se présente sous forme d'enzootie et quelquefois sous forme d'épizootie. Elle peut être due à *Yersinia pseudotuberculosis* ou *Yersinia enterocolitica*.

Certains caractères bactériologiques sont propres au genre *Yersinia* : un temps de génération deux fois plus long que celui des autres entérobactéries, une température optimale de croissance comprise entre 25 et 30 °C, une capacité à croître entre 0°C et 45°C, une expression optimale des caractères biochimiques pour des températures comprises entre 25°C et 29 °C et une mobilité dont l'expression dépend de la température (Euzéby, J.P., 2004).

Les *Yersinia* sp. sont des bacilles droits ou des cocco-bacilles, de 0,5 à 0,8 µm de diamètre sur 1 à 3 µm de longueur, à Gram négatif, non sporulés. Ils forment parfois de courtes chaînes de 4 à 5 éléments après culture dans un milieu liquide. Ils sont non capsulés et immobiles à 37°C mais généralement mobiles grâce à une ciliature péritriche (2 à 15 flagelles) à une température inférieure à 30°C.

Au niveau métabolique ces bactéries :

- sont aéro-anaérobies, possédant un métabolisme respiratoire et fermentatif,
- sont catalase positives, oxydase négatives, réduisant le plus souvent les nitrates en nitrites,
- fermentent sans gaz ou avec une production de gaz restreinte le glucose et d'autres sucres,
- sont gélatinase négatives, phénylalanine désaminase et tryptophane désaminase négatives, arginine dihydrolase négatives et lysine décarboxylase négatives.

Les principaux caractères permettant de différencier les deux espèces susceptibles d'engendrer des diarrhées chez les macaques sont reportés dans le tableau 3.

La croissance est possible sur les milieux nutritifs d'usage courant même si les *Yersinia* spp donnent des colonies généralement plus petites que celles des autres entérobactéries.

	UR E	OD C	PY Z	IND	VP	CIT	MU C	T80	ES C	SA C	RH A	ME L	AM G	CE L	SB T	SBS	FUC
<i>Y. enterocolitica</i>	+	***	d	d	+/-	-	-	d	d	***	-	-	-	+	+/-	d	d
<i>Y. pestis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	d	-	-	-	-	
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	+	-	-	-	-	- /(+)	-	-	+	-	+	+/-	-	-	-	-	-

+ : positif ; - : négatif ; +/- : la majorité des souches donne un résultat positif ; -/+ : la majorité des souches donne un résultat négatif ; d : résultat variable selon les souches ; (+) : réaction faiblement positive.

URE : Uréase ; ODC : Ornithine décarboxylase ; PYZ : Pyrazinamidase ; IND : Indole ; VP : Voges-Proskauer ; CIT : Citrate de Simmons ; MUC : Mucate ; T80 : Tween estérase ; ESC : Hydrolyse de l'esculine ; SAC : Acidification du saccharose ; RHA : Acidification du rhamnose ; MEL : Acidification du mélibiose ; AMG : Acidification de l'alpha-méthyl-D-glucoside ; CEL : Acidification du cellobiose ; SBT : Acidification du sorbitol ; SBS : Acidification du sorbose ; FUC ; Acidification du fucose.

Tableau n° 3 : profils biochimiques du genre *Yersinia*

Un diagnostic peut aussi être fait par sérologie. Cette méthode apparaît comme fiable chez l'homme avec des anticorps dès les premières manifestations cliniques, une concentration maximale en anticorps 2 semaines après l'infection et une disparition après 3 mois (titre > 1 :200).

Chez les primates, on considère un titre > 1 :80 comme significatif (des singes à coproculture positive peuvent avoir des titres de 1 :160 et être malades).

### 2.3.2.2.1 *Yersinia enterocolitica*

#### 2.3.2.2.1.1 Habitat et pouvoir pathogène

##### ➤ Habitat

Les souches de *Yersinia enterocolitica* sont présentes dans l'environnement, notamment dans les eaux de surface, dans les aliments d'origine végétale et animale et dans le tube digestif de diverses espèces animales (porcs, bovins, ovins, caprins, chiens, chats, renards, porcs-épics, chinchillas, lagomorphes, rongeurs, oiseaux, primates...). Les oiseaux sauvages et les rongeurs sont les hôtes porteurs principaux (Baskins, G., 2002).

La distribution géographique est très étendue et des souches de *Yersinia enterocolitica* ont été isolées dans tous les pays où elles ont été recherchées.

Il existe une certaine corrélation entre les biovars, les sérovars et le comportement écologique des souches ce qui a donné naissance au concept de bio sérovars. Les souches pathogènes pour l'homme et les animaux (souches "adaptées") appartiennent aux biovars 1B, 2, 3, 4 et 5. Les souches du biovar 1B et notamment celles des sérovars O:8 et O:21 semblent les plus virulentes et elles sont fréquemment isolées aux Etats Unis d'où leur nom de "souches américaines". Ces souches sont cependant présentes en Afrique, en Asie, en Australie et en Europe. La sensibilité des espèces animales est variable selon les souches.

Le réservoir principal de souches pathogènes pour l'homme est le porc. Les porcs ne développent pas de signe clinique mais ils hébergent *Yersinia enterocolitica* dans la gorge et ils excrètent les germes dans leurs selles. Les porcelets se contaminent très tôt au contact des truies. Le portage est de longue durée et environ 50% des animaux sont infectés. D'autres espèces animales comme les chiens, les chats, les bovins (notamment les veaux) et les moutons peuvent également constituer des réservoirs de souches pathogènes. Le portage de *Yersinia enterocolitica* par ces diverses espèces animales conduit à une pollution de l'eau, du sol et des végétaux. Les effluents des porcheries représentent la source majeure de contamination du milieu extérieur.

➤ Pouvoir pathogène chez l'homme

À l'exception des régions intertropicales où l'incidence semble faible, les infections à *Yersinia enterocolitica* ont une répartition mondiale et leur incidence est nettement plus importante durant les mois froids. La voie de contamination est orale mais la source de contamination est plus difficile à apprécier. L'ingestion d'eau ou de légumes crus a été incriminée. C'est la viande de porc qui représente la principale source de contamination notamment pour les sérovars O:3 et O:9. *Yersinia enterocolitica* est capable de se multiplier à basse température et donc dans des aliments conservés par réfrigération. Il existe également une contamination qui se réalise par voie fécale orale. Le principal danger est alors représenté par les porteurs sains et les porteurs chroniques asymptomatiques. En effet, à la suite d'un épisode clinique, plus de 40% des patients peuvent excréter le germe durant 50 jours voire même plus de 100 jours.

*Yersinia enterocolitica* est principalement responsable de gastro-entérites fébriles : fièvre souvent modérée mais pouvant parfois dépasser 39 °C ; entéocolite et illéite terminale accompagnées de diarrhées aqueuses ou sanguinolentes et de vomissements; de douleurs abdominales dues à une adénite mésentérique, souvent modérées mais pouvant donner un syndrome pseudo-appendiculaire comparable à celui observé avec *Yersinia pseudotuberculosis*. Chez l'adulte, une guérison spontanée est observée après une à deux semaines alors que chez l'enfant les signes cliniques peuvent persister plus de quatre semaines. Des complications telles que des ulcérations intestinales, des péritonites, des perforations intestinales, des gangrènes de l'intestin grêle sont rares.

Les formes généralisées et septicémiques surviennent sur des terrains particuliers : immunodéficience, stress, diabète et insuffisance rénale. Ces formes sont graves (environ 30% de mortalité) et elles associent une fièvre en plateau souvent supérieure à 39 °C, des troubles digestifs (47% des cas), un ictère (40% des cas) et une hépatomégalie (73% des cas). Les localisations secondaires les plus fréquentes sont des localisations suppurées hépatiques (30% des cas).

Des manifestations secondaires, survenant quelques semaines après l'épisode initial, sont observées principalement chez des malades porteurs de l'antigène HLA-B27. Elles consistent en une myocardite, une glomérulonéphrite, une thyroïdite, un érythème noueux et des polyarthrites réactionnelles stériles. La pathogénie de ces complications s'explique, au moins partiellement, par l'existence de communautés antigéniques entre *Yersinia enterocolitica* et des antigènes tissulaires. Les manifestations secondaires peuvent évoluer durant plusieurs années mais leur pronostic est favorable.

➤ Pouvoir pathogène chez les animaux

Les carnivores domestiques peuvent héberger des sérovars pathogènes pour l'homme. Les animaux adultes ne présentent aucun symptôme mais des cas de gastro-entérites ont été décrits chez des jeunes animaux. Les animaux malades semblent susceptibles de transmettre l'infection à l'homme et tout particulièrement aux enfants. Le tableau clinique est similaire à celui rencontré chez l'homme. Le tableau nécropsique met en évidence des petits foyers de nécrose sur le foie, la rate (métaplasie de la pulpe blanche), les poumons et sur le tractus digestif.

Chez les PNH, la bactérie diffuse vite dans l'organisme et peut être à l'origine d'hémorragie et de foyers nécrosés au niveau du foie, de la rate, de l'intestin grêle ou du colon. Une septicémie est assez courante. Les animaux peuvent mourir avant même l'apparition d'une diarrhée. Avant la mort on peut voir une dépression et une déshydratation sévère (Baskins, G., 2002). La diarrhée, si elle apparaît est profuse et parfois hémorragique. Ces symptômes sont pauvres et non pathognomoniques. Il peut y avoir une forme chronique avec diarrhée chronique, anorexie et mort en quelques jours à quelques semaines.

*Yersinia enterocolitica* peut enfin être à l'origine de morts nés et d'avortements, la bactérie peut parfois être retrouvée dans le colon des morts nés et dans les utérus de femelles mortes (Buhles W.C, 1981).

Dans certains cas de Yersiniose clinique, l'agent n'est pas décelé dans les fèces (Taffs, L.F. , Dunn, G, 1983).

Le tableau nécropsique met en évidence une entérite nécrotique accompagnée d'une hypertrophie des nœuds lymphatiques mésentériques. Les lésions peuvent se

trouver au niveau de l'estomac, de l'intestin grêle mais l'essentiel des lésions se situe au carrefour iléo-caecal. Une hyperplasie des plaques de Peyer est souvent rencontrée sur les macaques de Noveprim.

Le passage à la septicémie entraîne une hépatite et une splénite nécrosante (Baskins, G., 2002). L'hypertrophie des nœuds lymphatiques peut parfois être la seule lésion découverte (Piat, D., 1995).

En coupe histologique on peut déceler dans les foyers de nécrose, des colonies lobulées. Ce signe est pathognomonique, on peut aussi découvrir des macrophages ayant phagocyté des bactéries. Les infections concomitantes avec d'autres agents bactériens sont fréquentes. (Lowenstine, L.J., Rideout, B., 2004).

#### 2.3.2.2.1.2 Facteurs de pathogénicité

Après une inoculation d'une souche virulente par voie orale, la plupart des bactéries demeurent dans la lumière intestinale et une minorité d'entre elles adhèrent à la muqueuse sans prédilection pour un type cellulaire. Par contre, l'invasion ne concerne, presque exclusivement, que les cellules M de l'épithélium des plaques de Peyer. Après pénétration de l'épithélium, les bactéries traversent la membrane basale du dôme des plaques de Peyer et elles se multiplient dans le tissu lymphoïde annexé à la muqueuse et dans la lamina propria où elles sont responsables de la formation de micro abcès.

*Yersinia enterocolitica* gagne les nœuds lymphatiques mésentériques dans lesquels elle provoque la formation de micro abcès. Eventuellement, les bactéries peuvent se disséminer par voie sanguine et coloniser d'autres organes comme le foie et la rate dans lesquels elles se localisent préférentiellement dans le tissu lymphoïde.

*Yersinia enterocolitica* est apte à résister à la phagocytose ce qui permet de qualifier cette bactérie de parasite intracellulaire facultatif. Toutefois, les examens histologiques montrent que la majorité des bactéries sont en position extracellulaire.

L'étude des facteurs de pathogénicité a fait l'objet de multiples études. *Yersinia enterocolitica* est pourvue de nombreux facteurs de virulence, agissant parfois de manière opposée, et dont l'expression dépend notamment de la température. L'influence de la température pourrait refléter la nécessité de s'adapter à

l'environnement car les bactéries présentes dans le milieu extérieur sont, après ingestion, confrontées à un environnement très différent.

Sur le plan génétique, les facteurs de pathogénicité sont codés soit par le chromosome soit par un plasmide de 70-75 kb appelé pYV (plasmid involved in *Yersinia* virulence).

➤ Facteurs de pathogénicité codés par le chromosome

Le locus chromosomique *inv* (pour invasion) code pour une protéine appelée invasine, présente à la surface de la cellule. L'invasine de *Yersinia enterocolitica* présente un mode d'action similaire à l'invasine de *Yersinia pseudotuberculosis*. La fixation de l'invasine sur les intégrines cellulaires déclenche une série d'événements dont la résultante est une altération du cytosquelette et une pénétration intracellulaire des bactéries. Le locus chromosomique *ail* (pour adhésion invasion locus) n'est présent que chez les souches pathogènes. La protéine Ail, est une protéine de membrane externe, synthétisée à 37 °C et semblant jouer un rôle dans l'adhésion et dans la résistance au pouvoir bactéricide du sérum.

Les souches de *Yersinia enterocolitica*, cultivées *in vitro* à une température comprise entre 20 et 30 °C, produisent une entérotoxine thermostable : la toxine Yst ou YEST codée par le gène chromosomique *yst*. La toxine est synthétisée sous la forme d'un précurseur de 71 acides aminés qui doit subir une maturation pour donner la toxine active. Ces toxines induisent une augmentation de la concentration intracellulaire de GMP cyclique.

D'autres entérotoxines thermostables sont produites à des températures comprises entre 4 et 37 °C, elles sont synthétisées dans les aliments et l'eau. Elles résistent aux températures de cuisson des aliments et elles ne sont pas détruites par l'acidité gastrique. Aussi, l'ingestion de toxines préformées dans les aliments et dans l'eau pourrait être à l'origine d'intoxications alimentaires.

Comme les autres bactéries à Gram négatif, *Yersinia enterocolitica* possède un lipopolysaccharide (LPS) doué de propriétés toxiques. La synthèse d'un LPS incomplet à 37 °C permettrait à des facteurs de virulence présents à la surface bactérienne de ne pas être masqués par les chaînes latérales.

*Yersinia enterocolitica* produisent soit un sidérophore soit des protéines de membranes externes capables de capter le fer lié à diverses protéines de l'organisme.

➤ Facteurs de pathogénicité codés par le plasmide pYV

Un plasmide : le plasmide pYV, est présent chez toutes les souches virulentes de *Yersinia pestis*, de *Yersinia pseudotuberculosis* et de *Yersinia enterocolitica*. Ce plasmide confère aux souches de *Yersinia enterocolitica*, un phénotype particulier:

- inhibition de la croissance en l'absence de calcium,
- auto-agglutination,
- fixation du rouge Congo ou du cristal violet.

Dans le cadre du diagnostic, ces caractères phénotypiques sont recherchés afin de caractériser la présence du plasmide et donc les souches pathogènes. Le plasmide pYV code pour de multiples protéines qui sur le plan fonctionnel peuvent être regroupées en deux unités : une unité responsable d'adhésion et un système de sécrétion de type III.

- La protéine YadA, est une protéine de membrane externe qui forme des fibrilles à la surface de la bactérie. YadA permet l'adhésion au mucus intestinal et à des protéines extracellulaires telles que le collagène et la fibronectine. L'invasion est permise selon un processus similaire à celui de l'invasine. YadA confère également une résistance au complément voie alterne en réduisant les dépôts de C3b.
- Les systèmes de sécrétion de type III sont activés lorsqu'une bactérie est en contact avec une cellule eucaryote. Cette activation se traduit par la synthèse de protéines qui seront ensuite introduites dans la cellule cible grâce à la formation d'un pont établi au travers des membranes bactériennes et de la membrane cytoplasmique de la cellule eucaryote. Les protéines transmises altèrent le fonctionnement de la cellule eucaryote et peuvent même provoquer sa mort.

Dans le cas de *Yersinia enterocolitica*, les protéines sécrétées sont au nombre d'une douzaine et leurs rôles ne sont pas toujours bien connus. Ces protéines, appelées Yop (*Yersinia* outer protein), altèrent l'activité des phagocytes. Après pénétration dans le cytoplasme des cellules eucaryotes, YopH et peut être YopM, inhibent la phagocytose ainsi que les mécanismes d'opsonisation dépendants des récepteurs pour le complément et des récepteurs pour les fragments Fc des immunoglobulines. Les protéines YopE, YopO et YopT altèrent le cytosquelette et la protéine YopP induit un mécanisme d'apoptose.

#### 2.3.2.2.1.3. Sensibilité aux antibiotiques

Les souches de *Yersinia enterocolitica* peuvent produire des bêta-lactamases chromosomiques et, notamment, une pénicillinase constitutive et une céphalosporinase inductible. De ce fait, les souches de *Yersinia enterocolitica* sont pratiquement toujours résistantes à la céfalotine, à l'ampicilline, à la ticarcilline et à la pipéracilline (Piat, D, 1995) (Euzeby, J.P., 2004).

En revanche, elles sont généralement sensibles aux fluoroquinolones, céphalosporines de troisième génération, à l'imipénème, à l'aztréonam, à la gentamicine, à la streptomycine, au chloramphénicol, à la ciprofloxacine et aux tétracyclines. L'association triméthoprime-sulfaméthoxazole est active *in vitro* (Euzeby, J.P., 2004).

Il n'existe pas de vaccins pour prévenir les infections à *Yersinia enterocolitica* et la prophylaxie est exclusivement sanitaire.

#### 2.3.2.2.2 *Yersinia pseudotuberculosis*

Sur le plan taxonomique, *Y. pseudotuberculosis* forme avec *Y. pestis* une seule espèce dont elle constitue une des sous espèces. Toutefois, en raison du risque de confusion sur le plan clinique et épidémiologique la désignation de deux espèces distinctes a été maintenue.

Il existe au moins sept sérogroupes définis par les antigènes somatiques et désignés

par des chiffres romains. Cette espèce est surtout rencontrée chez les rongeurs. C'est le sérotype I qui est le plus souvent rencontré chez l'homme. Suivant les régions du monde, l'importance relative des deux espèces abordées est variable.

*Yersinia pseudotuberculosis* a une évolution insidieuse et saisonnière dans un groupe d'animaux. On la retrouve dans le monde entier, et elle est endémique dans certaines régions (Bielli, M., Lauzi, S., Pratelli, A. et al, 1999).

Dans ces régions, la source de contamination est le plus souvent l'eau de boisson contaminée par les déjections de rongeurs ou d'oiseaux (Welsh, R.D., Ely, R.W., Holland, R.J, 1992). Dans une colonie ou une volière, la source d'infection peut être la nourriture (Taffs, L.F. , Dunn, G, 1983), ou l'introduction d'un animal porteur (Mac Arthur, J.A., Wood, M., 1983).

Les prélèvements par écouvillonnage rectal permettent une meilleure mise en évidence des *Yersinia* sur des animaux en bonne santé (Mac Arthur, J.A., Wood, M., 1983).

Les manifestations cliniques sont semblables à celles dues à *Yersinia enterocolitica*. Il n'est pas rare d'avoir de la mortalité sans diarrhée. L'infection peut durer plus de 3 semaines avant la mort comme être suraiguë avec une mort en quelques heures. On peut isoler les bactéries dans les foyers de nécroses du foie, de la rate, des reins, des nœuds lymphatiques mésentériques, ou dans les ulcérations intestinales (Taffs, L.F., Dunn, G., 1983). Dans la plupart des cas, les femelles gestantes avortent ou mettent bas prématurément (Rosenberg, D.P., Lerche, N.W., Henrickson, R.V., 1980). Sur les autopsies réalisées à Noveprim, une hypertrophie des plaques de Peyer est souvent décelée.

Les souches sont généralement sensibles aux  $\beta$ lactamines y compris la pénicilline G. (Piat, D., 1995) Il existe cependant de rares souches résistantes à ces antibiotiques. Les souches sont aussi généralement sensibles aux aminosides, à la tétracycline, à la doxycycline, au chloramphénicol, au cotrimoxazole et aux quinolones (Freney J, Renaud F, Hansen W et al, 2000).

### 2.3.2.3. *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Shigella boydii*, et *Shigella dysenteriae*

#### 2.3.2.3.1. Généralités, épidémiologie.

*Shigella flexneri* et *S. sonnei* sont les deux espèces de *Shigella* les plus répandues chez les PNH. Ces bactéries sont les agents de la dysenterie bacillaire qui ne touche que les primates et les hommes. *Shigella flexneri* est responsable de la majorité des grandes épidémies d'animaux importés et de la plupart des cas sporadiques en captivité longue durée (Fiennes, Pinkerton, M., Dzhikidze, E.K., 1972) (Mulder, J. B., 1971).

Nommé *Shigella* en l'honneur du bactériologiste japonais Kiyoshi SHIGA qui a découvert le bacille de la dysenterie en 1897.

La transmission est de type oro-fécale ; 10-200 organismes suffisent pour développer une dysenterie. Le portage asymptomatique ou bénin est fréquent (Baskins, G., 2002). Il a été montré que les primates non humains constituent une source d'infection pour l'homme en laboratoire.

Chez l'homme, la maladie est répandue dans le monde entier. Les deux tiers des cas et la plupart des décès surviennent chez les jeunes. Les épidémies se produisent dans les endroits surpeuplés où les conditions sanitaires sont médiocres. La maladie est endémique sous les climats tropicaux et tempérés. On compte en moyenne 600.000 décès humains annuellement imputables à cette espèce bactérienne (Euzéby J.P., 2004) (OMS, 1997).

La transmission est directe ou indirecte par voie fécale-orale à partir d'un malade ou d'un porteur. Les mauvaises pratiques d'hygiène contribuent à propager l'infection de façon directe, par contact physique, ou de façon indirecte, par contamination des aliments. La transmission par l'eau, le lait, les blattes et les mouches peut survenir par suite de la contamination fécale directe. La maladie est transmissible au cours de la phase aiguë de l'infection et tant que l'organisme n'est pas disparu des fèces, c'est-à-dire **4 semaines environ après la maladie**. L'incubation est habituellement de 1 à 3 jours. L'état de porteur peut subsister pendant plusieurs mois. Les jeunes animaux s'infectent pendant les deux premières années de vie et deviennent des porteurs chroniques, généralement une seule espèce ou un seul sérotype est hébergé. (Lowenstine, L.J, Rideout, B., 2004). Les animaux en contact avec l'homme

présentent des prévalences significativement supérieures à celles des animaux sauvages (Bosco, J.B., Innocent, R.B., Erume, J. et al, 2001).

Les bactéries subsistent dans les fèces jusqu'à 11 jours, dans les mouches jusqu'à 12 jours, dans l'eau 2 à 3 jours et 8 jours sur les chemises des malades. Les bactéries sont sensibles à de nombreux désinfectants : hypochlorite de sodium à 1 %, éthanol, iode, composés phénolés, formaldéhyde

On peut diviser le genre en 4 groupes sérologiques principaux, selon leurs antigènes somatiques (O):

- Le groupe A comprend *S. dysenteriae* (10 sérotypes). Ce germe est répandu en Amérique Latine, en Asie et en Afrique.
- Le groupe B est représenté par *S. flexneri* (8 sérotypes). Maintenant, *S. flexneri* (sérotipe 2a) domine *S. sonnei* en France.
- Les souches du groupe C sont exceptionnelles aux Etats Unis et en France. L'espèce type est *S. boydii* (15 sérotypes)
- Le groupe D comprend *S. sonnei* (1 sérotipe) : c'est le principal responsable de la dysenterie bacillaire aux Etats Unis et en France.

La présence de sang et de glaire dans les selles du malade atteint de diarrhée subite est un bon indice de dysenterie bacillaire. Cependant, pour établir un diagnostic définitif il faut isoler la bactérie dans les selles.

Par ce que ces bactéries ne vivent pas longtemps en dehors de l'organisme en présence d'autres bactéries, il est important de les isoler sur milieux sélectifs, comme une gélose de désoxycholatecitrates ou sur une gélose de MacConkey. L'identification finale des shigelles se fonde sur des réactions biochimiques et d'agglutination.

#### 2.3.2.3.2. Etude clinique

Le tableau clinique est dominé par une inflammation de l'intestin avec des diarrhées suraiguës (30 - 50 selles par jour) et des selles molles, **fétides, liquides, glaireuses, sanglantes**, pouvant contenir **du pus** et parfois accompagnées de troubles nerveux.

Ces selles sont riches en leucocytes et souvent en bacilles à Gram négatif.

Les premiers symptômes sont la fièvre (39-40°C), accompagnée de douleurs, de crampes abdominales, de nausées, de vomissements et d'un abattement marqué. La diarrhée a lieu habituellement 48 heures après, et la dysenterie 2 jours plus tard. La diarrhée est liquide ou semi-solide muco-hémorragique (Lowenstine, L.J., Rideout, B., 2004) (Banish, L.D., Sims, R., Sack, D. et al, 1993). La durée de maladie est de 5 à 6 jours en moyenne, et en l'absence d'un traitement efficace, les convalescents restent porteurs de la bactérie pendant plusieurs semaines à plusieurs mois.

Dans les cas graves, les selles sont surtout composées de sang, de mucus et de pus. Ces selles sont accompagnées de douleurs abdominales vives, épreintes (coliques violentes précédant l'évacuation) et de ténésme (tension douloureuse du sphincter anal). La perte de liquide et d'électrolytes peut être relativement importante. Le retentissement sur l'état général est sévère avec une déshydratation intense et une hyperthermie marquée. Dans ces cas, chez les jeunes, la mortalité peut être importante.

Il est également possible de détecter des septicémies, des pneumonies, des signes nerveux (perte de conscience), des avortements et des méningites (Vandermeersch, C., 1990). La shigellose peut devenir chronique et induire une colite chronique avec des ulcérations et des strictions.

Les lésions sont limitées à la région colique, elles peuvent être focales ou diffuses, elles sont caractérisées par de l'œdème, des hémorragies, des ulcérations et la formation de pseudomenbranes (Baskins, G., 2002). Microscopiquement, les lésions sont purulentes, nécrotiques, avec souvent des abcès des cryptes glandulaires. Des périodontites peuvent aussi être rapportées à ces agents bactériens. La gravité de la maladie varie selon la nature de l'hôte, la dose et le sérotype. Le taux de létalité des infections à *S. dysenteriae* peut atteindre 20 % chez les malades hospitalisés alors que celui des infections à *S. sonnei* est négligeable. *S. flexneri* peut provoquer une polyarthrite réactionnelle (syndrome de Reiter) chez certains patients.

### 2.3.2.3.3 Facteurs de pathogénicité

Les shigelles doivent pénétrer dans les cellules épithéliales coliques pour se multiplier et provoquer la perturbation de l'absorption des éléments nutritifs et des liquides. Elles entraînent de la diarrhée et des crampes abdominales. Les bacilles restent localisés au niveau du gros intestin, ils ne se disséminent pas dans l'organisme.

De plus, les shigelles causent avec l'invasion, une ulcération de la muqueuse colique et du tissu conjonctif de soutien, ce qui explique la présence de sang dans les selles. Il y a donc premièrement contact de la bactérie invasive avec la muqueuse, puis dégénérescence locale de la bordure en brosse des cellules épithéliales c'est-à-dire digestion partielle du revêtement muqueux (glycocalyx) par les bactéries pathogènes ou par la flore autochtone. La bactérie qui est ensuite englobée se retrouve emprisonnée à l'intérieur d'une vacuole d'endocytose dans le cytoplasme cellulaire ; elle peut digérer la membrane qui l'entoure, être libérée dans le cytoplasme des cellules adjacentes à travers les membranes latérales.

Cette manifestation différencie les shigelloses des salmonelloses. Les shigelles sont beaucoup moins envahissantes que les salmonelles.

Toutes les shigelles possèdent une endotoxine (LPS). *Shigella dysenteriae* provoque le syndrome le plus sévère de la maladie car elle secrète une endotoxine douée de propriétés neurotoxiques et entérotoxiques. Cette toxine est soluble, thermolabile et a une action entérotrope (Euzeby J.P., 2004)

Des exotoxines de faible poids moléculaires, à activité cytoxique et entérotoxique sont produites par *Shigella sonnei* et *Shigella flexneri*. C'est un poison vasculaire entraînant des lésions intestinales et nerveuses, possédant un pouvoir toxique élevé. Il existe des souches hybrides de *S. flexneri* qui détiennent le pouvoir invasif mais sont incapables de se multiplier dans la muqueuse ; elles produisent une réaction inflammatoire transitoire dans les tissus infectés mais le processus infectieux n'évolue pas.

La pathogénicité est déterminée par le caractère invasif ou non de la souche considérée. Une souche invasive et toxigène est plus pathogène qu'une souche uniquement invasive qui elle-même est plus pathogène qu'une souche uniquement toxigène. (Lowenstine, L.J., Rideout, B., 2004)

Dans tous les cas de shigellose clinique, on a une diminution de l'absorption au niveau du côlon associée à une colite avec présence de bactéries au sein de la muqueuse. En revanche, les portions proximales du tractus ne présentent pas de changements morphologiques majeurs et l'invasion de la muqueuse n'est pas détecté.

La dysenterie semble être la conséquence d'une colonisation colique tandis que la diarrhée est la conséquence d'une sécrétion accrue au niveau jéjunal suite aux troubles coliques (Rout, W.R., Formal, S.B., Giannella, R.A., 1975).

#### 2.3.2.3.4 Prévention et traitement.

Le traitement passe par une réhydratation et surtout par une antibiothérapie appropriée (sulfamides, fluoroquinolones, amoxicilline, tétracyclines, sulfaméthoxazole, chloramphénicol) entraîne le plus souvent la guérison en 2 à 3 jours. Cependant ces bactéries ont de plus en plus tendance à résister à certains antibiotiques, notamment l'ampicilline.

Des essais d'élimination de portage sur des macaques rhésus ont prouvé l'efficacité de l'enrofloxacin et du sulfaméthoxazole (Pucak, G.J., Orcutt, R.P., Judge, R.J. et al, 1977). De plus, les macaques traités de manière approprié ne recontractent pas et ne réexcrètent pas la bactérie même après des périodes de stress ou d'immunodépression (Black-Schultz, L., Coatney, R.W., Warnick C.L., 1997). Par contre, si le traitement n'est pas complet ou inadapté, les périodes de stress peuvent permettre une réémergence de la bactérie (Banish, L.D., Sims, R., Sack, D. et al, 1993).

D'autres études sur un groupe *Macaca nigra* avec une forte incidence de diarrhée a révélé que les primates étaient porteurs de *Shigella flexneri*, de *Campylobacter jejuni*, d'*Escherichia coli* pathogènes et de *Balantidium coli*. Des traitements avec du cotriméthazole, de l'érythromycine et des tétracyclines ont permis d'éliminer le portage pour *Shigella* pendant plus d'un an et d'améliorer l'état général des animaux (Olson, L.C., Bergquist, D.Y., Fitzgerald, D.L., 1986).

Une éradication avec de l'enrofloxacin (5mg/kg, IM, 10 jours) est possible vis-à-vis de *Shigella flexneri* et d'autres pathogènes (amibes, ciliés, flagellés, *Campylobacter sp.*). Cependant 10 mois après ce traitement, *Shigella flexneri* a de nouveau été isolé sur un de ces singes (Banish, L.D., Sims, R., Bush, M. et al, 1993).

Un dernier protocole (administration d'amoxicilline à la dose de 15mg/kg 3 fois à 48 heures d'intervalle) a aussi prouvé son efficacité vis-à-vis de *Shigella flexneri*.

Le succès de tous ces protocoles n'a pu être obtenu qu'avec des mesures hygiéniques strictes associées (Wolfensohn, S., 1998).

La prophylaxie sanitaire vise la lutte contre le péril fécal.

La prophylaxie défensive collective comporte :

- La prévention du surpeuplement des volières
- Le contrôle sanitaire de la distribution des aliments
- L'élimination rapide des refus et des déchets alimentaires
- Des examens coprologiques réguliers (détection des porteurs sains) et rapprochés lors d'épisodes diarrhéiques (porteurs malades)
- L'élimination des porteurs mécaniques (insectes)

La prophylaxie offensive, suggère elle :

- De nettoyer complètement les volières lors d'épisodes de diarrhée avec des gants et un masque
- D'isoler et de traiter les malades et porteurs
- D'effectuer des vides sanitaires après une désinfection efficace

Chez l'Homme la prévention est individuelle, elle porte essentiellement sur le respect des règles générales d'hygiène :

- ne pas manger, fumer, boire ou entreposer des aliments dans l'animalerie
- lavage des mains après chaque manipulation et en fin de poste (savonnage 25 secondes minimum).
- tenue de travail personnelle changée quotidiennement, port de gants.

#### 2.3.2.4. *Salmonella enteridis*, *Salmonella typhimurium* et *Salmonella stanley*

##### 2.3.2.4.1 Habitat, épidémiologie

La salmonellose est une infection touchant les humains et les animaux, elle est causée par des organismes du genre *Salmonella*. Ce sont des bactéries intestinales communément trouvées dans les effluents d'élevage, les eaux usées humaines, et tout le matériel sujet aux contaminations fécales.

La salmonellose a été décrite dans tous les pays mais apparaît plus souvent dans les zones d'élevage intensif, notamment : poulets, porcs et toutes les espèces vivant dans un environnement confiné. La fréquence de la salmonellose chez l'homme a dernièrement augmenté et les animaux ont été incriminés comme source de contamination principale. La transmission se fait par l'eau, les produits lactés, carnés (notamment volailles) et à base d'ovoproduits.

La maladie peut affecter toutes les espèces d'animaux, les jeunes sevrés, les femelles en lactation et les femelles gestantes étant les sujets à risques. Les animaux en contact avec l'homme présentent des prévalences significativement supérieures à celles des animaux sauvages (Bosco, J.B., Innocent, R.B., Erume, J. et al, 2001).

L'entérite est la manifestation la plus fréquente, (elle peut être aiguë ou chronique) mais beaucoup d'autres symptômes peuvent être causés par une salmonellose (septicémie, arthrites, pneumopathies, avortements) (Amstutz, H., Anderson, D., Armour, J. et al, 2002).

La contamination se fait habituellement par voie orale, après quoi les microorganismes se multiplient et provoquent une entérite.

La maladie clinique est habituellement favorisée par des **situations stressantes** comme la privation de nourriture, le transport, la sécheresse, la promiscuité, le **sevrage** ou parfois l'administration de certains antibiotiques.

Cependant beaucoup d'animaux infectés ne présentent pas de signes cliniques, ils sont excréteurs et disséminateurs de germes pathogènes, la transmission directe est possible (Baskins, G., 2004). Les oiseaux et les rongeurs sont porteurs et représentent une source de dissémination, et de contamination. L'eau de boisson et les aliments contaminés sont la source de contamination privilégiée chez les PNH.

Les espèces les plus souvent mises en causes chez les PNH sont *S.typhimurium*, *S.typhi*, *S.stanley* et *S.enteridis* (Fiennes, Pinkerton, M., Dzhikidze, E.K., 1972) (Takasaka, M. , Kohno, A. , Sakakibara, I. , et al, 1988). Le genre *Salmonella* est beaucoup moins souvent incriminé dans les entérites des primates que les genres *Yersinia* et *Shigella*.

#### 2.3.2.4.2 Etude clinique.

La grande sensibilité des jeunes est peut-être due au pH gastrique élevé, à l'absence d'une flore intestinale stable et à une immunité limitée. La pénétration des bactéries dans la lamina propria et la production de cytotoxines et d'entérotoxines contribuent probablement aux lésions d'entérite et à la diarrhée.

Lors d'entérites aiguës, une forte fièvre est d'abord présente (41°C) avec une dépression et une anorexie suivie d'une sévère diarrhée aqueuse, quelquefois d'une dysenterie et parfois d'un ténésme. La fièvre peut disparaître lors de l'apparition de la diarrhée. Les fèces diarrhéiques peuvent avoir une odeur putride et contenir du mucus, des agglomérats de fibrine, des lambeaux de muqueuse et dans certains cas des caillots de sang. Cette diarrhée est parfois accompagnée d'une septicémie. Un avortement peut se produire suite à cette entérite. Les symptômes ressemblent à ceux de la Shigellose mais *Shigella* sp. ne provoque pas de septicémie et n'affecte pas l'intestin grêle (Baskins, G., 2004).

Dans le cas où *Salmonella* spp est endémique, l'entérite peut être subaiguë, les symptômes en sont une légère fièvre (39.5°C), un ramollissement des selles, un manque d'appétit et une certaine déshydratation. L'incidence des avortements peut être élevée dans cette situation.

L'entérite chronique se caractérise par une diarrhée persistante, un amaigrissement sévère. Les fèces peuvent contenir du mucus, des bouchons ou du sang. La réponse au traitement est médiocre.

Une forme suraiguë avec septicémie développée suite à l'ingestion de nourriture

contaminée peut survenir.

Un prolapsus rectal survient rarement suite aux diarrhées induites par des salmonelles. Les lésions sont celles d'une entérite nécrosante, fibrineuse non pyogène. Les lésions les plus importantes sont situées au niveau de l'iléon inférieur et du gros intestin. Elles vont d'un raccourcissement des villosités avec perte de l'épithélium à une perte complète de la structure intestinale (ulcération). Il existe une réaction neutrophilique dans le chorion et des thrombi peuvent apparaître dans les vaisseaux sanguins de cette région. Une hémorragie et une formation de fibrine se produisent généralement. Les nœuds lymphatiques mésentériques sont habituellement hypertrophiés, oedémateux, parfois congestionnés.

Le diagnostique est basé sur l'isolement de l'agent (culture fécale ou PCR) à partir des tissus prélevés aseptiquement à l'autopsie (muqueuse, nœuds lymphatiques hypertrophiés), des fèces, d'écouvillons rectaux. Quand un avortement imputable à une salmonellose survient, il convient de prélever le contenu stomacal, le placenta et d'effectuer des écouvillons vaginaux.

#### 2.3.2.4.3 Traitement

Un traitement précoce des septicémies est essentiel. Cependant l'utilisation des antibiotiques pour les salmonelloses intestinales est controversée. Les antibiotiques oraux peuvent altérer la flore intestinale, perturber l'antagonisme compétitif et prolonger l'élimination des microorganismes. La sélection de souches de bactéries résistantes est aussi un problème à prendre en considération. Le traitement doit être basé sur les résistances connues dans la zone concernée et sur des antibiogrammes réalisés précocement. Les associations triméthoprim-sulfamides sont souvent efficaces. L'ampicilline, les fluoroquinolones ou les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération sont aussi très efficaces. Le traitement doit être suivi au moins 5 jours. Un traitement hydro électrolytique est nécessaire pour corriger les déséquilibres acido-basiques et la déshydratation (hyponatrémie, hypokaliémie et acidose métabolique). Des anti-inflammatoires non stéroïdiens peuvent être prescrits pour lutter contre les effets de l'endotoxémie concomitante à l'utilisation de l'ampicilline ou des

céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération. Les corticoïdes ne sont pas recommandés du fait de leurs effets immunosuppresseurs.

Le traitement de la forme septicémique est efficace si entrepris tôt. Cependant, le traitement de la forme intestinale est difficile dans toutes les espèces, en effet les microorganismes peuvent se loger dans les voies biliaires et être éliminés par intermittence dans la lumière intestinale, ce qui provoque une entérite chronique récidivante et une contamination de l'environnement. Ce traitement doit être accompagné de mesures sanitaires strictes.

#### 2.3.2.4.4 Contrôle et prévention

Le contrôle et la prévention sont difficiles à cause des animaux porteurs et des aliments contaminés. Les principes du contrôle comprennent la prévention lors de l'introduction et la limitation de la dissémination dans la colonie.

- Prévention lors de l'introduction :

Tout doit être fait afin de prévenir l'introduction d'un porteur, les animaux capturés doivent être isolés plus d'une semaine avec une surveillance de l'état de santé et examen de selles. La nourriture doit être distribuée dans des conditions d'hygiène optimales.

- Limitation de la dissémination dans la colonie :

- Les animaux porteurs doivent être identifiés, isolés, et traités
- Plusieurs prélèvements après le traitement sont nécessaires pour déclarer l'animal non porteur.
- Les déplacements d'animaux et de personnel doivent être restreints afin de limiter la dissémination du germe.
- La nourriture doit être protégée de la contamination fécale.
- Les volières doivent être nettoyées et désinfectées. Le matériel contaminé (balais, bottes, ...) doit être éliminé. Un pédiluve doit être disposés à l'entrée de chaque volière.

- Toutes les personnes entrant dans les volières doivent être conscientes du risque et de l'importance de l'hygiène personnelle. Lors de la désinfection à l'eau chaude sous pression, le port d'un masque doit être **imposé**.
- Les facteurs de stress doivent être réduits

	SALMONELLOSE	SHIGELLOSE	YERSINIOSE
E s p è c e s	<p><i>Salmonella typhimurium</i>  <i>Salmonella paratyphi A,B</i>  <i>Salmonella enteridis</i>  <i>Salmonella typhi</i>  <i>Salmonella stanley</i></p>	<p><b><i>Shigella flexneri</i></b>  <i>Shigella sonnei</i>  <i>Shigella dysenteriae</i></p>	<p><i>Yersinia enterocolitica</i>  <b><i>Yersinia pseudotuberculosis</i></b></p>
S y m p t ô m e s	<p>Diarrhée mucoïdes plus ou moins violente avec rarement du sang.            Syndrome fébrile initial, fièvre.            Rarement de prolapsus rectal.</p> <p><u>Signes extra digestifs;</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hépatite</li> <li>• Ostéomyélite</li> <li>• Abscesses sous cutané</li> <li>• Avortements</li> <li>• Endocardites</li> </ul> <p><u>Evolution aiguë ou chronique</u></p>	<p>Selles liquides, muqueuses, hémorragiques, abondantes.            Prolapsus rectal souvent présent.            Parfois œdème de la face et du cou.</p> <p><u>Signes extra digestifs :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Gingivite</li> <li>• Méningite</li> <li>• Avortements</li> </ul> <p><u>Evolution aiguë ou chronique</u></p>	<p>Dépression et déshydratation sévères. Diarrhée profuse et quelquefois hémorragique.            Douleur abdominale (adénite). Evolution parfois chronique, avec anorexie.</p> <p><u>Signes extra digestifs :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Morts nés</li> <li>• Avortements</li> <li>• Septicémies</li> <li>• Infections concomitantes</li> </ul> <p><u>Evolution aiguë ou chronique</u></p>

Tableau n°4 : récapitulatif de la symptomatologie des principales affections bactériennes rencontrées chez les macaques

### 2.3.2.5 *Campylobacter* spp

#### 2.3.2.5.1 Généralités

Les espèces le plus souvent mises en cause sont :

- *Campylobacter coli*
- *Campylobacter fetus*
- *Campylobacter jejuni*
- *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*

Le genre *Campylobacter* a été préalablement connu sous le nom de "*Vibrio fetus*". En 1973, Véron et Chatelain incluent dans le genre *Campylobacter* de nouvelles espèces et, en fonction de leurs caractères phénotypiques, ils les répartissent en 3 groupes :

- les campylobactéries catalase positive et H<sub>2</sub>S négative (*Campylobacter fetus* subsp. *fetus* et *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*)
- **les campylobactéries catalase positive et H<sub>2</sub>S positive (*Campylobacter coli* et *Campylobacter jejuni*)**
- les campylobactéries catalase négative

Actuellement, le genre *Campylobacter* constitue avec le genre *Arcobacter* la famille des *Campylobacteraceae* et il compte 16 espèces.

#### 2.3.2.5.2 Caractères bactériologiques

Le genre *Campylobacter* est constitué de bacilles à Gram négatif, incurvés ou en S ou de forme spiralée, non sporulés, de 0,2 à 0,5 µm de diamètre sur 0,5 à 5,0 µm de longueur. Ils peuvent donner des formes coccoïdes dans les vieilles cultures.

Ils sont :

- mobiles (mobilité en vol de moucheron) grâce à un flagelle nu et situé à une extrémité ou aux deux extrémités de la cellule
- chimio-organotrophes, à métabolisme respiratoire, incapables d'utiliser les sucres (ni oxydation ni fermentation)
- oxydase positive, catalase variable, n'hydrolysant ni la gélatine ni l'urée.

La culture ne requiert ni sérum ni sang, elle peut être obtenue à 37 °C. La plupart des espèces sont micro-aérophiles et nécessitent de 3 à 15 p. cent d'oxygène donc une atmosphère modifiée et contrôlée.

L'examen bactérioscopique du prélèvement à l'état frais, lorsqu'il est possible, peut permettre d'orienter le diagnostic grâce à l'observation d'une mobilité en vol de moucheron.

La culture nécessite une incubation dans une **atmosphère micro-aérophile** et une incubation prolongée durant **5 à 8 jours** pour certaines espèces. Une culture sélective peut être obtenue soit par filtration soit en ayant recours à des milieux sélectifs soit en utilisant de manière conjointe la filtration et l'utilisation de milieux sélectifs. Des techniques d'enrichissement sont utilisées notamment en bactériologie alimentaire. Le laboratoire de Noveprim sera équipé très prochainement pour mettre en évidence ce genre bactérien.

#### 2.3.2.5.3 Habitat, pouvoir pathogène

Les espèces du genre *Campylobacter* sont isolées de l'homme et des animaux et certaines espèces sont douées d'un pouvoir pathogène important. L'habitat principal et le pouvoir pathogène des différentes espèces sont présentés dans le tableau 5.

La bactérie est retrouvée dans le tube digestif des animaux d'élevage (volailles, porcins, bovins, ovins), des animaux de compagnie et des animaux sauvages (rongeurs, PNH). Les animaux en contact avec l'homme présentent des prévalences significativement supérieures à celles des animaux sauvages (Bosco, J.B., Innocent,

R.B., Erume, J. et al, 2001). La contamination de l'eau et des laitages est possible. Ces bactéries survivent 9 jours dans les selles et 2 à 5 jours dans l'eau.

Espèces	Source(s)	Pouvoir pathogène (éventuel) pour l'homme	Pouvoir pathogène (éventuel) pour l'animal
<i>C. coli</i>	Porcs, oiseaux, singes, bovins, ovins	Gastro-entérites, septicémies	Gastro-entérites
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	Oiseaux, porcs, ruminants, chiens, chats, singes, eau, visons, lapins, insectes	Gastro-entérites, septicémies, méningites, avortements, rectites, syndromes de Guillain-Barré	Gastro-entérites, hépatite aviaire

Tableau 5 : épidémiologie et pathogénie des bactéries du genre *Campylobacter*

Dans les centres de recherches utilisant des primates, les prévalence vis à vis de ce pathogène sont parfois très élevées avec plus de 70% de porteurs à l'âge de 18 mois. Parmi ces porteurs, 2/3 hébergent *Campylobacter coli* et les autres *Campylobacter jejuni* (Russel, R.G., Krugner, L., Tsai, C-C. et al, 1988). En réalité, dans les colonies où *Campylobacter sp.* est endémique, il ne s'agit pas du même agent porté pendant une longue période mais de réinfections continues. Une infection par un sérotype donné ne dure que 3 ou 4 semaines, ensuite un autre sérotype de la même espèce ou d'une espèce différente réinfeste l'animal (Russel, R.G., Sarmiento, J.I., Fox, J. et al, 1990).

Les jeunes sont plus sensibles. La période d'incubation varie de 1 à 3 jours. Le portage asymptomatique est fréquent. Les macaques atteints ont une diarrhée liquide parfois sanguinolente associée à une déshydratation. Ce germe peut aussi entraîner des diarrhées chroniques muco-hémorragiques (pendant plus d'un mois) suivies d'émissions de selles molles pendant plus d'un an (Bryant, J.L., Stills, H.F., Lentsch, H.R. et al, 1983).

*Campylobacter sp.* est dans certaines colonies, la source principale de diarrhée; 50% des écouvillons rectaux sur de jeunes animaux en diarrhée (moins de 18 mois) peuvent mettre en évidence la présence de *Campylobacter sp.* (Russel, R.G., Rosenkranz, S.L., Howard, H. et al, 1987).

Les lésions sont due à la grande mobilité entraînant une aptitude à traverser le mucus et à pénétrer dans les entérocytes (pouvoir invasif). Les toxines produites participent aussi au tableau lésionnel. (Lowenstine, L.J. , Rideout, B., 2004). Ces lésions sont présentes dans l'intestin grêle et le colon qui sont oedémateux, congestionnés et rugueux. En phase précoce, on a une exsudation de macrophages vers la lumière, puis des abcès des cryptes glandulaires peuvent apparaître. En coupe histologique, les lésions sont similaires à la Shigellose avec une hyperplasie fréquent de la muqueuse colique et la mise en évidence par coloration argentique de bactéries spiroïdes. On a également une hépatite péricholangiale.

*Campylobacter* a déjà été associé à des avortements chez les primates (Baskins, G., 2002).

#### 2.3.2.5.4 Traitement, prophylaxie

La nécessité d'un traitement antibiotique se discute pour l'entérite à *Campylobacter* dont la guérison est spontanée en une semaine environ. L'antibiotique de choix est alors l'érythromycine qui permet de raccourcir la durée du portage digestif. Le taux de résistance à l'érythromycine est inférieur à 5%, celui de tétracycline est inférieur à 10%, en revanche, on peut noter un fort taux de résistances **aux fluoroquinolones** (Roche, S., Robin, S., 2004).

Des essais thérapeutiques visant à éliminer le portage de *Shigella sp.* ont montré leur efficacité sur *Campylobacter sp.* En effet l'administration d'enrofloxacin pendant 10 jours à la dose de 5mg/kg (IM) ont permis d'éliminer l'excrétion pendant près de 9 mois (Banish, L.D., Sims, R., Bush, M., et al, 1993). Ces résultats sont pourtant en contradiction avec les données précédentes.

Les souches sont sensibles à de nombreux désinfectants : hypochlorite de sodium à 1 %, éthanol à 70 %, iode, composés phénoliques, formaldéhyde.

### **3. Etude expérimentale sur les animaux au sevrage**

L'essai clinique contrôlé est un plan d'expérience dans lequel on compare de façon prospective des groupes contemporains d'animaux, l'un non traité (ou témoin) et les autres traités par de nouveaux traitements (lots testés). L'attribution des traitements se fait par allocation aléatoire. Le suivi des patients se fait en aveugle vis à vis du traitement reçu.

Dans cette étude, les critères retenus pour éprouver l'efficacité des traitements testés sont :

- l'infestation parasitaire (sur échantillonnage de 5 animaux par lot)
- l'excrétion de bactéries potentiellement pathogènes (sur tous les animaux)
- l'aspect des selles (sur tous les animaux)

#### 3.1. Matériel et méthodes

Les 4 lots étudiés sont constitués par les différentes volières, ils suivent tous les mêmes étapes. Seule l'étape de traitement a une durée qui peut varier entre les différents lots.

Dans cette étude, nous ne tenons pas compte des parasites intestinaux autres que protozoaires et bactéries. En effet les animaux sont issus de femelles traitées par des anthelminthiques et eux-mêmes subiront un déparasitage systématique ultérieurement.

##### 3.1.1. Matériel

Les animaux sont des macaques nés dans l'élevage, pris une semaine après leur sevrage (près de 550 animaux sur la période d'étude). Il y a quatre grandes périodes de sevrage au cours de l'année. Notre étude porte sur le sevrage du mois de mai.

Les animaux ont entre 10 et 12 mois et pèsent entre 1.1 kg et 2,1 kg.

Deux lots de 30 animaux sont analysés par semaine (chaque lot devant parfois être

manipulé 6 fois au cours de l'étude). Il y a donc une semaine de décalage entre les prélèvements du lot 1 et témoin et les prélèvements des lots 2 et 3. Chaque animal porte un collier métallique avec un numéro gravé. Cette identification permet une analyse coprologique individuelle et nominative de tous les animaux. Chaque lot est isolé, il ne rentre pas en contact avec d'autres animaux même à travers les grillages.

Tout animal dont l'état de santé nécessite une intervention médicale est immédiatement sorti de l'étude et subit le traitement adéquat. Si des animaux meurent, une autopsie fine sera réalisée.

Pour cette étude un lot témoin non traité est constitué. Ce lot subit le même protocole de prélèvements que les lots traités.

La désinfection se fait sans animaux en volière, avant toute mise en lots. De l'eau sous pression à 90°C puis un désinfectant est appliqué sur tous les éléments de la volière. Le désinfectant est un ammonium quaternaire (alkyl diméthyl benzyle chlorure d'ammonium) dilué à 1%. Un rinçage est opéré avant que les animaux rentrent dans la volière. Par la suite, une désinfection à l'eau chaude sous pression est opérée tous les 15 jours. Tous les jours les cages sont nettoyées avec un jet d'eau avant la distribution de nourriture.

Des contrôles par empreinte du sol sur gélose sont effectués avant la rentrée des animaux dans la volière afin de vérifier l'efficacité de la désinfection. Le dénombrement de la flore totale (nombre de colonies par boîtes) permet d'évaluer l'efficacité de la désinfection et de proposer si nécessaire un schéma de nettoyage et de désinfection différent de celui appliqué à l'heure actuelle.

L'équipe qui effectue les prélèvements est composée de:

- deux animaliers assurant la contention des macaques
- une personne effectuant les prélèvements
- une personne chargée d'identifier les prélèvements

Un laboratoire moderne, appartenant à l'élevage, analyse les prélèvements. Il est équipé de tout le matériel nécessaire pour des analyses directes et des analyses

microbiologiques (petit matériel de laboratoire, verrerie, becs Busens, microscopes, milieux de culture, incubateurs, galeries d'identification, antibiogrammes...)

Les médicaments utilisés sont des spécialités vétérinaires ou humaines administrables oralement. Les principes actifs sont ajoutés aux pellets par pulvérisation sur l'ensemble de la ration.

**Chronologie:** (exemple d'un schéma thérapeutique sur 3 jours consécutifs)

J - 5 :

- Désinfection de la volière

J - 4 :

- Sevrage
- Mise en lots

J 1 et 2:

- Prélèvement **P1 et P2**

J 3:

- Prélèvement **P3**
- Début du schéma thérapeutique: traitement **T1**

J 4:

- Traitement **T2**

J 5:

- Traitement **T3**
- Nettoyage avec de l'eau chaude sous pression.

J 15 à 17:

- Prélèvement **P4, P5, P6**

### 3.1.2. Méthode de prélèvement et de conservation avant analyse

Les singes sont tous placés dans un sas avec un animalier qui les attrape et les donne à un autre animalier qui en assure la contention pendant le prélèvement. Le singe est placé sur le dos, une main de l'animalier assure la contention des mains, de la queue et d'un pli de peau dorsal de l'animal, l'autre assure une pression sur l'abdomen si nécessaire.

La personne chargée d'effectuer les prélèvements est munie de gants en latex et de gants en politène sur lesquels sont déposés les fèces. La plupart des macaques émettent seuls leurs selles, il suffit d'en récupérer une petite quantité. Occasionnellement une pression abdominale, voire un toucher rectal peuvent être

nécessaire afin d'obtenir une quantité de matières fécales suffisante. Un écouvillon rectal est aussi réalisé pour ensemercer les géloses Yersinia CIN.

Le gant est retourné et placé dans une glacière réfrigérée avec l'écouvillon jusqu'à acheminement au laboratoire d'analyses. Rarement plus d'une heure s'écoule entre la réalisation du prélèvement et son arrivée au laboratoire d'analyses.

Tous les prélèvements sont réalisés 3 jours de suite afin de limiter le nombre de faux négatifs. Un résultat négatif sur un prélèvement n'a que peu de valeur compte tenu du caractère discontinu des pontes et de la présence non systématique des bactéries recherchées dans les selles. (Elmore, D.B., Anderson, J.H., Hird, D.W. et al, 1992) (Euzéby, J., 1986).

### 3.1.3. Méthodes de diagnostic

#### 3.1.3.1. Examen coprologique direct : coproscopie

Les recherches sont concentrées sur les amibes (*Entamoeba histolytica*), les ciliés (*Balantidium coli*), et les flagellés (*Giardia lamblia*).

Faute de moyens humains, ces recherches sont effectuées sur un échantillonnage de 5 animaux par lots.

Une simple observation au microscope (x10) entre lame et lamelle permet d'observer les trophozoïtes et plus souvent les kystes, en cas de portage chronique (dilution d'une fraction de fèces dans une goutte d'eau distillée).

Une fois ces éléments parasitaires repérés, la diagnose se fait au fort grossissement (x100).

#### 3.1.3.2. Enrichissement, culture bactérienne et identification des souches suspectes isolées

C'est le principal objet de notre étude, axée principalement sur la recherche des entérobactéries potentiellement pathogènes (*Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*,

*Yersinia pseudotuberculosis* et *Salmonella* spp).

### Mise en évidence des bactéries du genre *Yersinia*

#### ✓ J 1

- Ensemencement des géloses Yersinia CIN
- Mise à l'étuve à 30°C pendant 48 heures

#### ✓ J 2

- Vérification de l'ensemencement

#### ✓ J 3

- Lecture des géloses. Les colonies suspectes sont de deux types :
  - ◆ *Yersinia enterocolitica* forme des colonies de taille moyenne, avec un halot blanc irrégulier et un centre violet foncé
  - ◆ *Yersinia pseudotuberculosis* forme des colonies de petite taille (<1mm), de couleur violette. Après une incubation un peu plus longue, il se forme un petit halo incolore
- Les colonies suspectes sont repiquées sur deux autres milieux :
  - ◆ Le milieu « urée medium » (jaune) en tube incliné
  - ◆ Le milieu « Kligler Iron » (rouge orangé) en tube incliné

#### ✓ J 4

- Lecture des 2 tubes inclinés :
  - ◆ Le milieu « urée » vire au rose foncé si les colonies sont uréase positives
  - ◆ Le milieu « Kligler » permet de mettre en évidence plusieurs caractères biochimiques :
    - ✓ Culot jaune si la souche est glucose + ;
    - ✓ Pente jaune si la souche est lactose + ;
    - ✓ Coloration noire si la souche produit H<sub>2</sub>S ;
    - ✓ Soulèvement du milieu si la souche produit du gaz.

Les bactéries du genre *Yersinia* sont glucose + ; lactose - ; urée + ; H<sub>2</sub>S et gaz -

- Repiquage des colonies présentant ces caractères sur le milieu TSA en vue d'un test oxydase (24 heures à 37°C). Les bactéries proviennent du milieu « Kligler Iron »

#### ✓ J 5

- Test oxydase : on place une goutte du réactif « oxydase » sur du papier filtre, on dépose la colonie suspecte à l'aide d'une anse et on observe les variations de couleurs ; une couleur violette apparaît avec les souches Oxydases + tandis que les souches oxydases – n'induisent aucune variation de couleur
- Les souches oxydases – sont alors placées sur des galeries d'identification API ® (10 S ou 20 E) à 37°C pendant 24 heures

#### ✓ J 6

- Lecture des galeries API ®
- Identification des souches grâce au logiciel ApiLab ®

### **Mise en évidence des bactéries du genre *Shigella* et *Salmonella***

#### ✓ J 1

- Inoculation des géloses « XLD » ;
- Inoculation d'un bouillon d'enrichissement Sélénite ;
- Mise à l'étuve 24 heures à 37°C

#### ✓ J 2

- Repiquage du bouillon d'enrichissement sur une gélose « XLD », cette culture subit par la suite les mêmes étapes que la culture « XLD » de départ
- Lecture de la gélose XLD. Les colonies suspectes sont de 2 types :
  - ✓ *Shigella* sp. forme des colonies lisses d'un rose soutenu;
  - ✓ *Salmonella* sp. forme des colonies rouges à centre noir.
- Repiquage des colonies suspectes sur les milieux « Urée medium » et « Kligler Iron », mise à l'étuve 24 heures à 37°C

#### ✓ J 3

- Lecture des cultures sur les milieux « urée et Kligler ».
  - ✓ *Salmonella* est : H<sub>2</sub>S + ; Glucose + ; Lactose - ; Urée -.

✓ *Shigella* est : Glucose +; Lactose -; Urée -; H<sub>2</sub>S -.

- Repiquage des colonies suspectes sur le milieu TSA, mise à l'étuve 24 heures à 37°C

#### ✓ J 4

- Test oxydase. Si celui-ci est négatif, on réalise des tests d'agglutination sur lames
- Anticorps utilisés :
  - ✓ *Salmonellas sp.* : anticorps polyvalent poly O, si le test est positif on teste avec l'anticorps poly H, si celui-ci est aussi positif, on place la souche sur galerie API ® 24 heures à 37°C.
  - ✓ *Shigella* : anticorps visant *S. sonnei*, *S. dysenteriae*, *S. boydii* (C ; C1 ; C2) et *S. flexneri*. Si un test est positif, on place la souche sur galerie API® 24 heures à 37°C.

#### ✓ J 5

- Lecture des galeries API ®.
- Identification des souches grâce au logiciel ApiLab ®.

Un antibiogramme sera fait sur les souches bactériennes isolées. Le résultat de celui-ci sera connu après les traitements.

#### 3.1.3.3. Indentification des souches suspectes isolées

Identification des souches sur galeries API 10S ou API 20E après incubation 24 heures a 37°C. Les observations reportées sur les feuillets API sont retranscrites sur informatique grâce au logiciel ApiLab® qui nous donne les résultats finaux.

#### 3.1.3.4. Classement des résultats

Les selles de PNH sont, dans la plupart des cas, relativement molles à l'état normal. Il y a donc lieu de s'inquiéter seulement lorsqu'elles sont surabondantes, pâteuses, liquides, chargées de mucus ou encore striées de sang (Vandermeersch, C., 1990). L'aspect des selles est enregistré, on note la présence de mucus ou de sang. On note également la propreté de la région périnéale (sale ou propre). Au microscope, la présence de globules rouges ou de cellules lymphocytaires est également enregistrée.

Pour les examens coprologiques directs, une classification des résultats par importance d'infestation pour chaque pathogène est mise en place :

0 = absence

1 = présence de kystes

2 = forte infestation ou présence de formes pathogènes

Cette notation ne sera pas reportée dans les tableaux de résultats. Seule l'absence ou la présence de protozoaires ou kystes sera reportée.

Pour les coprocultures on ne distingue que l'absence ou la présence de bactéries potentiellement pathogènes.

#### 3.1.4. Programmes de traitement

Différents principes actifs sont disponibles, leurs associations vont permettre d'élaborer différents schémas thérapeutiques.

- Amoxicilline, acide clavulanique
- Colistine
- Cotriméthazole
- Erythromycine
- Métronidazole
- Sulfadimidine
- Sulfaguanidine

##### 3.1.4.1. Programmes de traitements réalisés

Les schémas thérapeutiques appliqués ne sont pas tous analogues aux recommandations des laboratoires. Toute intervention dans les volières constitue un stress supplémentaire qu'il faut minimiser. Les traitements injectables sont donc proscrits. Une seule administration orale quotidienne à une dose plus importante (par rapport à un schéma thérapeutique basé sur 2 administrations quotidiennes) est donc réalisée.

Les médicaments sont dilués dans 0,3 litre d'eau et dispersés de manière homogène à l'aide d'une seringue sur les 4 kg de granulés qui composent la ration quotidienne d'une volière.

Trois lots subissent un programme de traitement différent, un lot ne subit pas de traitement. Le choix de ces programmes est fait avant la connaissance des résultats des cultures fécales. Il prend en considération les différents pathogènes potentiels. Cela permet de tester l'appétence et les conséquences générales des différents schémas thérapeutiques testés.

La sélection de principes actifs uniquement concentration dépendants n'est pas réalisable, en effet, le marché mauricien n'offre pas toutes les alternatives thérapeutiques disponibles en France.

Les doses administrées visent à avoir une concentration plasmatique (ou intraluminales) au dessus des CMI le plus longtemps possible tout en évitant des problèmes de toxicité inhérents aux surdosages.

#### Remarque :

- ✓ Les fluoroquinolones semblent très adaptées contre les bactéries susceptibles de provoquer des diarrhées. Elles n'ont pas été sélectionnées car elles sont utilisées couramment dans l'élevage et que l'apparition d'une résistance serait un réel problème pour traiter nombres d'affections rencontrées. Les résistances aux fluoroquinolones se développent par une seule mutation chromosomique par modification de la gyrase cible, elles sont irréversibles mais rares. Heureusement, la virulence des mutants réfractaires diminue de manière substantielle en raison de leurs difficultés de croissance. Les résistances concernent essentiellement les pneumocoques, streptocoques et staphylocoques. L'utilisation de cet antibiotique à grande échelle dans l'alimentation serait particulièrement hasardeuse car l'appétence des aliments serait modifiée, les doses administrées ne seraient donc pas contrôlées avec précision.

✓ Les traitements sont attribués aux lots au hasard. Il n'est pas possible d'attendre les résultats du laboratoire pour ajuster les traitements en fonction des pathogènes présents. En effet, les lots ne peuvent être isolés très longtemps. Ces traitements en aveugle nous permettent donc de garder les lots isolés les uns des autres pendant toute la durée de l'étude. De plus, il est important de tester plusieurs schémas pour en éprouver l'appétibilité et l'ingestion. Les résultats des antibiogrammes confrontés aux résultats de l'étude permettront de proposer par la suite des schémas thérapeutiques cohérents et facilement administrables.

### **Schéma n°1**: colistine + érythromycine + sulfaguandine + sulfadimidine

Cette association macrolide, polymixine et sulfamides permet une action contre toutes les entérobactéries pathogènes de manière synergique (Amstutz, H., Anderson, D., Armour, J. et al, 2002). La colistine et la sulfaguandine ne sont pas absorbées. Elles ont un spectre large comprenant *Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella*. Par ailleurs, l'érythromycine serait susceptible de déstabiliser la flore intestinale et par ce biais de porter atteinte aux protozoaires. La sulfadimidine est elle absorbée rapidement et a une bonne diffusion tissulaire. Elle renforce l'action de la sulfaguandine dans ses actions sur le tractus intestinal.

#### **Spécialités utilisées :**

- **Hemodiarh**®: administration orale quotidienne pendant 3 jours à la dose de 130mg / kg de sulfaguandine et de sulfadimidine.
- **Colydiaryl**® : voie orale 83 400 UI kg/j de colistine et 16600 UI / kg d'érythromycine pendant 3 jours.

### **Schéma n°2**: Amoxicilline + acide clavulanique + cotriméthazole

L'amoxicilline potentialisée par l'acide clavulanique est préconisée lors d'entérites dues à des bactéries aérobies Gram négatif. Son association avec le cotriméthazole doué de propriétés antibactériennes (*E.coli*, *Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella*) et

antiprotozoaires permet de lutter contre les pathogènes les plus fréquents des PNH.

Spécialités utilisées:

- Augmentin1000/125mg poudre orale ®: 40mg/kg d'amoxicilline par voie orale dans l'alimentation pendant 4 jours
- Bactrim nourrisson et enfant ® : voie orale, 65 mg / kg / j de sulfaméthoxazole en une prise pendant 4 jours.

**Schéma n°3** : colistine + érythromycine + métronidazole

La lutte contre les Amibes passe par l'utilisation d'amoebicides tissulaire et d'amoebicides de contact. Le métronidazole a une action tissulaire tandis que l'érythromycine, en déstabilisent la flore, a une action au niveau des formes libres dans le tube digestif. De plus, le métronidazole est recommandé lors de Giardiose et de Balantidiose (Amstutz, H., Anderson, D., Armour, J. et al, 2002). La colistine leur est associée pour ses propriétés antibactériennes à large spectre et sa synergie avec l'érythromycine.

Spécialités utilisées:

- Colidiaryl ® : voie orale 83 400 UI kg/j de colistine et 16600 UI / kg d'érythromycine pendant 5 jours.
- Flagyl ® suspension buvable: voie orale, 90 mg / kg /j de métronidazole pendant 5 jours.

3.1.4.2. Evaluation de leur efficacité

8 à 10 jours après la fin des traitements, 3 nouveaux prélèvements de selles et 3 écouvillons rectaux seront effectués 3 jours de suite. Ils seront analysés de la même façon que la première série de prélèvements. L'examen direct sera de nouveau effectué sur les 5 mêmes animaux.

Une comparaison de la microfaune et de la microflore avant et après traitement sera alors réalisable.

### 3.1.4.3. Description des éventuels problèmes rencontrés

Tout problème sera rapporté et enregistré, qu'il s'agisse d'un problème individuel ou d'un problème collectif (diarrhées post traitement, phénomènes allergiques, autres manifestations anormales...). Toutes ces remarques seront reportées lot par lot en annexes.

### 3.1.5. Enregistrement des données recueillies

Un calendrier prenant en compte la disponibilité du personnel et la capacité d'analyse du laboratoire a été élaboré pour permettre un bon déroulement de l'étude. En effet le laboratoire ne peut pas analyser en même temps des prélèvements de début et de fin de protocole. De plus, des prélèvements en même temps sur différents lots ne seraient pas réalisables faute d'animaliers disponibles, ceux-ci effectuent en effet ce travail en plus de leurs travaux quotidiens.

Les résultats des examens directs et bactériologiques seront inscrits dans des grilles prévues à cet effet. L'informatisation de toutes les données permettra une analyse statistique plus aisée et une traçabilité parfaite sur toutes les opérations effectuées au cours de cette étude.

## 3.2. Résultats

### 3.2.1. Lot témoin

Ce lot est constitué de 15 mâles et de 15 femelles (poids moyen = 1,65 kg ; écart type = 0,21 kg)

#### 3.2.1.1 Première série de prélèvements

- 8 animaux sur 30 ont présenté des selles anormales lors de la première série de prélèvements.

- Sur les 5 animaux dont les selles ont été examinées pour des recherches de parasites, 3 sont porteurs d'*Entamoeba histolytica* et 2 de *Entamoeba coli*.
- Les coprocultures bactériennes ont révélé le portage de *Yersinia pseudotuberculosis* sur 19 animaux et de *Shigella flexneri* sur deux animaux. Un animal porteur de *Shigella flexneri* est aussi porteur de *Yersinia pseudotuberculosis*.

A = aspect anormal des selles (liquide, molles, présence de sang ou de mucus)

Y = *Yersinia pseudotuberculosis*

EC = *Entamoeba coli*

SF = *Shigella flexneri*

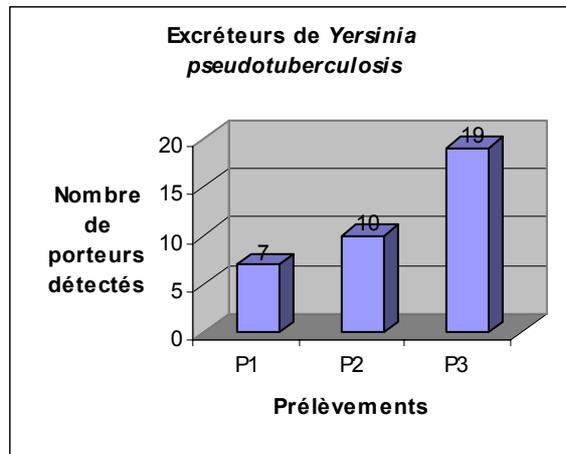
EH = *Entamoeba histolytica*

S = *Salmonella spp.*

BC = *Balantidium coli*

	selles	P1	P2	P3	Total	Protozoaires
AM 684			Y	Y	Y	
AM 791	A			Y	Y	EC EH
AM 797						EC EH
AM 920	A	Y	SF Y	Y	Y SF	
AM 511	A				SF	EH
AM 520				Y	Y	
AM 589		Y	Y		Y	
AM 598	A	Y		Y	Y	
AM 626				Y	Y	
AM 453	A	Y	Y	Y	Y	
AM 488				Y	Y	
AM 502				Y	Y	
AM 577		Y		Y	Y	
AM 599						
AM 792		Y	Y	Y	Y	
AM 856				Y	Y	
AM 938	A					
AM 976				Y	Y	
AN 008						
AN 039	A					
AM 454						
AM 503						
AM 440		Y	Y	Y	Y	
AM 951			Y	Y	Y	
AM 620	A			Y	Y	
AM 657			Y	Y	Y	
AM 667						
AM 977				Y	Y	
AM 432						
AM 749						

Tableau n°6 : résultats de la première série de prélèvements, lot témoin



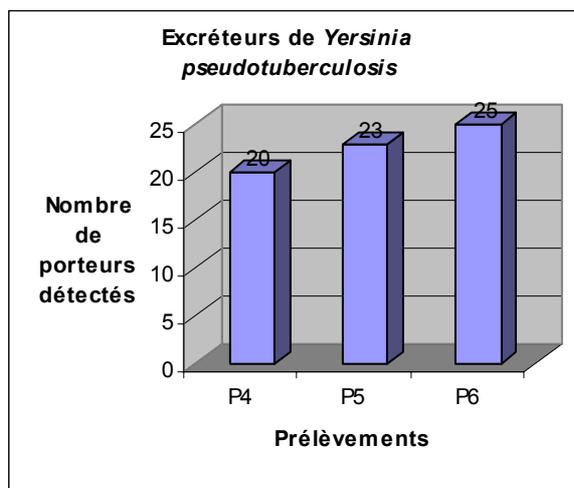
Graphes n° 1 : nombre d'excréteurs de *Yersinia pseudotuberculosis* détectés au cours de la première série de prélèvements, lot témoin.

### 3.2.1.2 Deuxième série de prélèvements

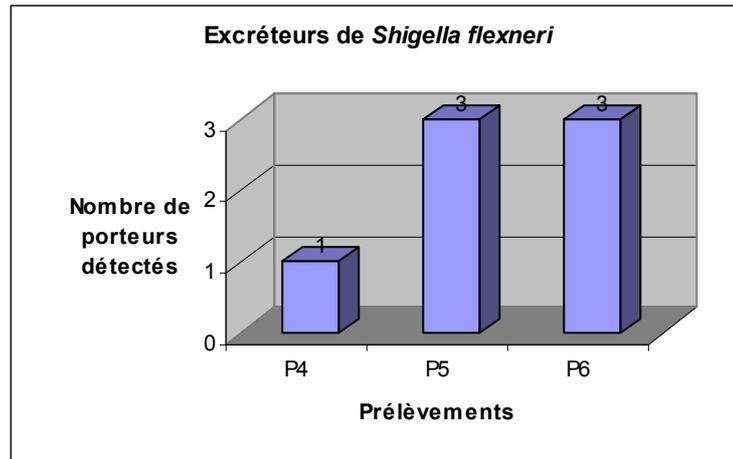
- 11 animaux sur 30 ont présenté des selles anormales lors de la deuxième série de prélèvements.
- Sur les 5 animaux dont les selles ont été examinées pour des recherches de parasites, 5 sont porteurs d'*Entamoeba histolytica*, 3 de *Entamoeba coli* et 1 de *Balantidium coli*.
- Les coprocultures bactériennes ont révélé le portage de *Yersinia pseudotuberculosis* sur 25 animaux et de *Shigella flexneri* sur 3 animaux. 2 animaux porteurs de *Shigella* sont aussi porteurs de *Yersinia*.

	Selles	P4	P5	P6	Total	Protozoaires
AM 684			Y	Y	Y	EC EH
AM 791		Y	Y	Y	Y	EC EH
AM 797	A		Y	Y	Y	EH
AM 920	A					EH BC
AM 511			SF Y		SF Y	EC EH
AM 520	A	SF Y	Y	Y	SF Y	
AM 589		Y	Y	Y	Y	
AM 598	A	Y	Y	Y	Y	
AM 626	A	Y	Y	Y	Y	
AM 453		Y	Y	Y	Y	
AM 488		Y	Y	Y	Y	
AM 502		Y	Y	Y	Y	
AM 577		Y	Y	Y	Y	
AM 599						
AM 792		Y	Y	Y	Y	
AM 856						
AM 938	A			Y	Y	
AM 976	A	Y	Y	Y	Y	
AN 008				Y	Y	
AN 039		Y	Y	Y	Y	
AM 454		<b>Y</b>	<b>Y</b>	<b>Y</b>	<b>Y</b>	
AM 503		Y	Y	Y	Y	
AM 440		Y	Y	Y	Y	
AM 951	A	Y	Y	Y	Y	
AM 620	A	Y	Y		Y	
AM 657	A	Y	Y	Y	Y	
AM 667		Y	Y	Y	Y	
AM 977	A	Y	Y	Y	Y	
AM 432						
AM 749			SF		SF	

Tableau n° 7 : résultats de la deuxième série de prélèvements, lot témoin



Graphes n° 2 : nombre d'excréteurs de *Yersinia* détectés au cours de la deuxième série de prélèvements, lot témoin.



Graphe n° 3 : nombre d'excréteurs de *Shigella flexneri* détectés au cours de la deuxième série de prélèvements, lot témoin.

Deux animaux ont été hospitalisés après la deuxième série de prélèvements pour cause de diarrhée. Ils ont subi un traitement à base de Baytril® et une complémentation en vitamine C. Leur état s'est rapidement amélioré, ils ont regagné leur volière 3 jours après la fin du traitement.

12 jours après la seconde série de prélèvements, un animal (AM 454) est mort dans la volière. Il ne présentait ni diarrhée ni déshydratation. Son poids est passé de 1,5 kg au sevrage à 1,1 kg le jour de l'autopsie. Celle-ci a révélé des foyers jaunâtres punctiformes sur la rate et en moins grande quantité sur le foie. Ces foyers de nécroses sont pathognomoniques d'une yersiniose.

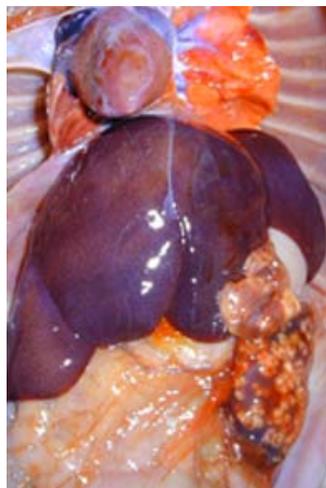


Photo n° 7 : nodules spléniques, autopsie de AM 454 (Dufour, 2004).

Suite à cet incident, tous les animaux de la volière ont subit 2 injections de Longicine® (0,25mL, IM, à 3 jours d'intervalle) ainsi qu'une complémentation en Vitamine C injectable (0,3 mL, IM, le premier jour du traitement antibiotique) et une complémentation avec du Frédop ® (0,3mL, IM, lors du deuxième traitement antibiotique). Il n'y a pas eu de complication suite à ce traitement.

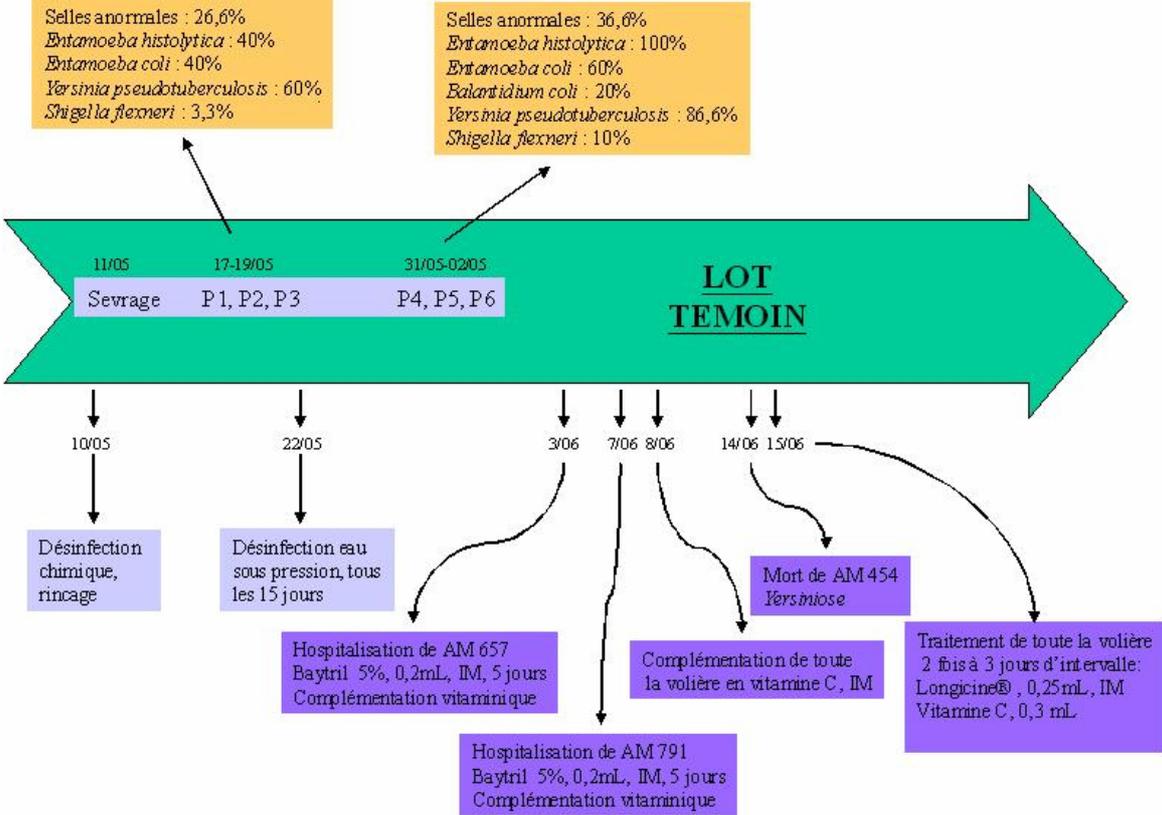


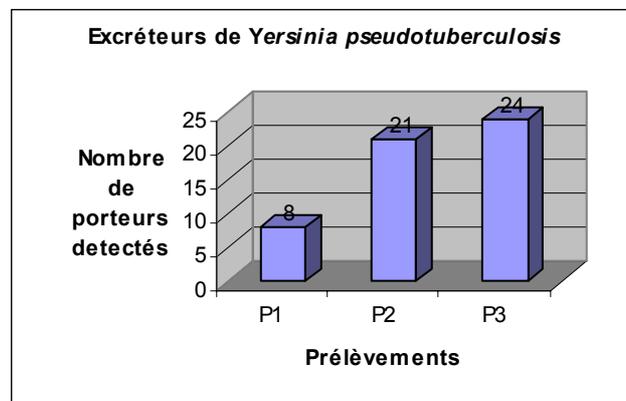
Schéma n° 3 : chronologie des étapes suivies par le lot témoin

### 3.2.2. Lot 1

Ce lot est constitué de 17 mâles et de 14 femelles (poids moyen = 1,56 kg ; écart type = 0,19 kg)

#### 3.2.2.1 Première série de prélèvement (avant traitement)

- 10 animaux sur 31 ont présenté des selles anormales lors de la première série de prélèvements.
- Sur les 5 animaux dont les selles ont été examinées pour des recherches de parasites, 3 sont porteurs d'*Entamoeba histolytica* et 2 de *Entamoeba coli*.
- Les coprocultures bactériennes ont révélé le portage de *Yersinia pseudotuberculosis* sur 24 animaux et de *Shigella flexneri* sur un animal. L'animal porteur de *Shigella flexneri* est aussi porteur de *Yersinia pseudotuberculosis*.



Graphique n° 4: nombre d'excréteurs de *Yersinia pseudotuberculosis* détectés au cours de la première série de prélèvements, lot 1

	Selles	P1	P2	P3	Total	Protozoaires
AM 734						EH
AM 476	A					EC EH
AM 481			Y	Y	Y	EC EH
AM 510	A	Y	Y	Y	Y	
AM 606						
AM 619			Y	Y	Y	
AM 625			Y		Y	
AM 709			Y		Y	
AM 929				Y	Y	
AN 034	A					
AN 043			Y	Y	Y	
AM 452						
AM 519				Y	Y	
AM 544			Y	Y	Y	
AM 607		Y	Y	Y	Y	
<b>AM 648</b>		Y			Y	
AM 897		Y	SF Y	Y	SF Y	
AN 050	A					
AN 044		Y	Y	Y	Y	
AM 427			Y	Y	Y	
AM 439						
<b>AM 482</b>	<b>A</b>		<b>Y</b>		<b>Y</b>	
<b>AM 483</b>	<b>A</b>		<b>Y</b>	<b>Y</b>	<b>Y</b>	
AM 562	A		Y	Y	Y	
AM 666			Y	Y	Y	
<b>AM 921</b>	<b>A</b>	<b>Y</b>		<b>Y</b>	<b>Y</b>	
AM 963		Y	Y	Y	Y	
AM 971	A	Y	Y	Y	Y	
AM 988			Y	Y	Y	
AN 007	A		Y	Y	Y	
AN 067				Y	Y	

Tableau n° 8 : résultats de la première série de prélèvements, lot 1.

### 3.2.2.2 Le traitement

(Colistine + érythromycine + sulfaguandine + sulfadimidine)

L'ingestion des médicaments a été bonne puisque 90% de la ration alimentaire a été ingérée lors des 2 premiers jours. En revanche, le troisième jour, seulement 2/3 de la ration ont été ingérés.

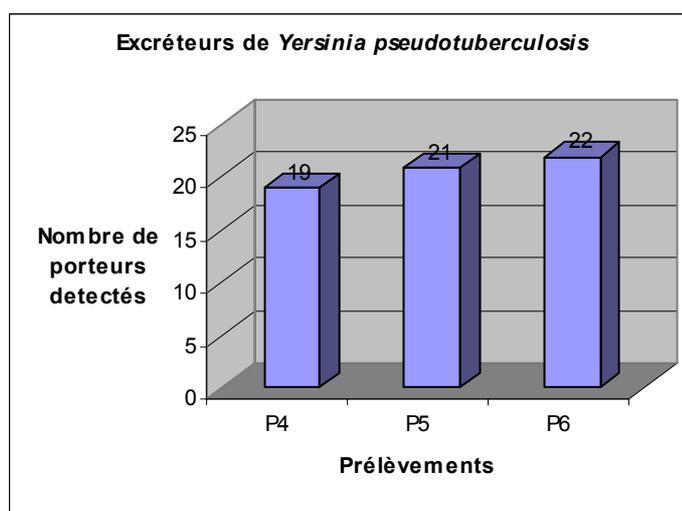
4 à 6 jours après la fin du traitement, 3 animaux ont été hospitalisés (diarrhée accompagnée d'un abattement et d'une déshydratation marquée). Ces animaux ont

été traités avec de l'enrofloxacin (Baytril® 5%; 0,2 mL, IM, pendant 5 jours), du métronidazole (Flagyl®; 2,5 mL, VO, 5 jours de suite) de l'acide tolfénamique (Tolfédine ® 4% ; 0,15 mL, IM, 2 fois par jour pendant 2 jours). Leur état s'est amélioré, ils ont réintégré la volière après la seconde série de prélèvements. Les prélèvements de la seconde série ont aussi été effectués sur ces animaux.

Un animal est mort 5 jours après le traitement, à l'autopsie, les lésions étaient concentrées au niveau du caecum et du colon. La muqueuse intestinale était congestionnée avec de nombreux ulcères punctiformes superficiels. La coproculture post mortem a mis en évidence *Yersinia pseudotuberculosis*.

### 3.2.2.3 Deuxième série de prélèvements (après traitement)

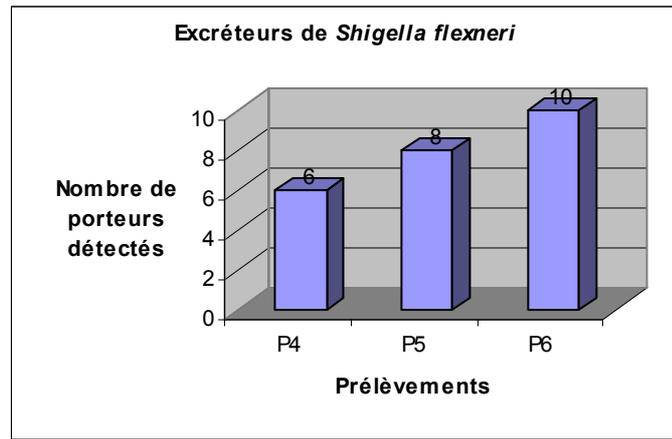
- 8 animaux sur 27 ont présenté des selles anormales lors de la deuxième série de prélèvements
- Sur les 5 animaux dont les selles ont été examinées pour des recherches de parasites ; 1 est porteur d'*Entamoeba histolytica* et les 5 sont porteurs de *Balantidium coli*
- Les coprocultures bactériennes ont révélé le portage de *Yersinia pseudotuberculosis* sur 22 animaux, de *Shigella flexneri* sur 10 animaux et de *Salmonella sp.* sur un animal. Il y a 7 porteurs de *Yersinia pseudotuberculosis* et de *Shigella flexneri* ; un porteur de *Yersinia pseudotuberculosis* et de *Samonella sp.*



Graphe n° 5: nombre d'excréteurs de *Yersinia pseudotuberculosis* détectés au cours de la deuxième série de prélèvements, lot 1.

	Selles	P4	P5	P6	Total	Protozoaires
AM 734		SF		SF	SF	EH BC
AM 476			Y		YP	BC
AM 481	A	SF Y	SF Y	SF Y	SF Y	BC
AM 510	A	Y	SF Y	Y	SF Y	BC
AM 606						BC
AM 619	A	SF Y		SF	SF Y	
AM 625		Y	Y	Y	Y	
AM 709		Y			Y	
AM 929		Y	Y	SF	SF Y	
AN 034	A	SF	SF	SF	SF	
AN 043		Y	SF	SF	SF Y	
AM 452		S Y	Y		S Y	
AM 519		SF Y	SF Y	Y	SF Y	
AM 544			Y	Y	Y	
AM 607		Y	Y	Y	Y	
<b>AM 648</b>						hospitalisé
AM 897						
AN 050		Y	Y	Y	Y	
AN 044	A	Y	Y	Y	Y	
AM 427		SF Y		Y	SF Y	
AM 439			SF		SF	
<b>AM 482</b>						mort
<b>AM 483</b>						hospitalisé
AM 562	A	Y	Y	Y	Y	
AM 666		Y	Y	Y	Y	
<b>AM 921</b>						hospitalisé
AM 963	A	Y	Y	Y	Y	
AM 971			Y		Y	
AM 988	A	Y	Y	Y	Y	
AN 007		Y			Y	
AN 067		Y	Y	Y	Y	

Tableau n° 9 : résultats de la deuxième série de prélèvements, lot 1



Graphe n° 6: nombre d'excréteurs de *Shigella flexneri* détectés au cours de la deuxième série de prélèvements, lot 1

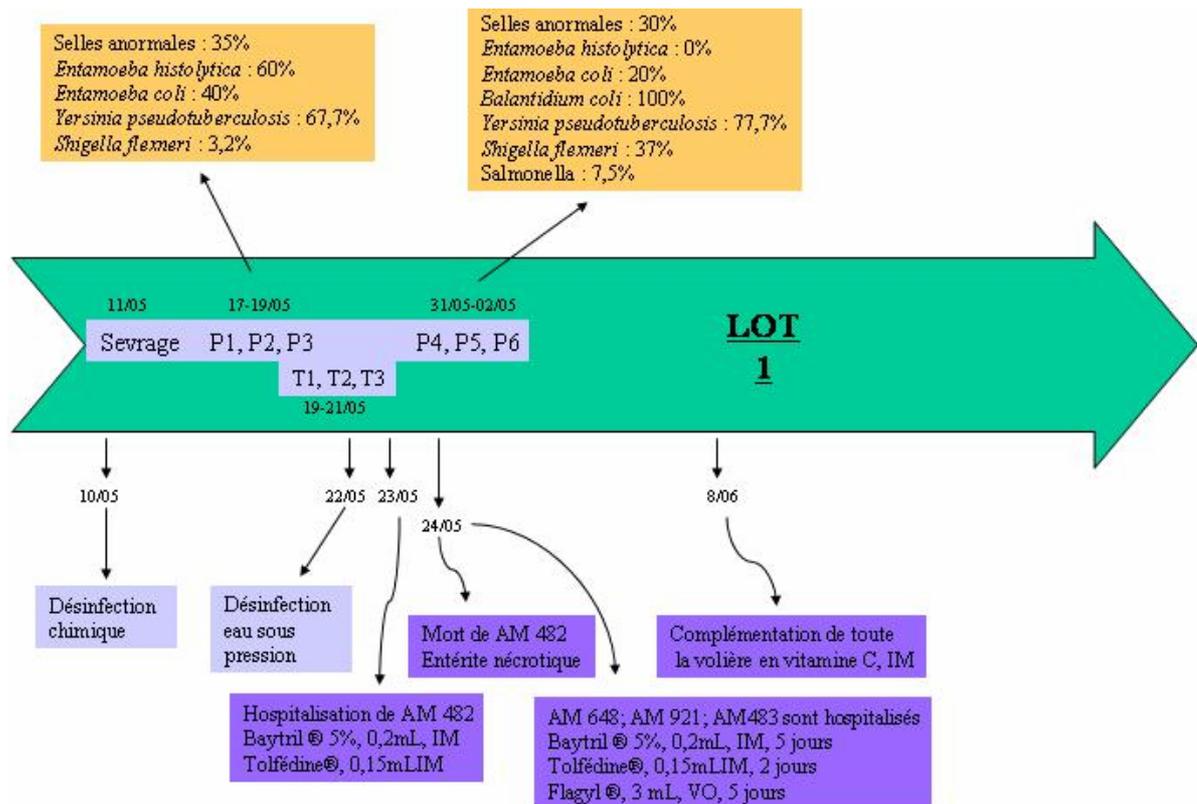


Schéma n° 4 : chronologie des étapes suivies par le lot 1

### 3.2.3. Lot 2

Ce lot est constitué de 17 mâles et de 13 femelles (poids moyen = 1,67 kg ; écart type = 0,21 kg)

#### 3.2.3.1. Première série de prélèvements (avant traitement)

- 8 animaux sur 30 ont présenté des selles anormales lors de la première série de prélèvements.
- Sur les 5 animaux dont les selles ont été examinées pour des recherches de parasites, 1 est porteur d'*Entamoeba histolytica* et 2 de *Entamoeba coli*.
- Les coprocultures bactériennes ont révélé le portage de *Shigella flexneri* sur un animal.

	Selles	P1	P2	P3	Total	Protozoaires
AM 830						EH
AM 995						EC
AN 003	A					
AM 508						
AM 728						
AM 425						EC
AM 542						
AM 808	A					
AM 731						
AM 803						
AM 902						
AM 720						
AM 771						
AM 545						
AM 555				SF	SF	
AM 804	A					
AM 837						
AM 930	A					
AM 974						
AM 729	A					
AM 862						
AN 051						
AM 512						
AM 521	A					
AM 522						
AM 662	A					
AM 881						
AM 898						
AM 989						
AN 040	A					

Tableau n° 10 : résultats de la première série de prélèvements, lot 2

### 3.2.3.2 Le traitement

(Amoxicilline + acide clavulanique + cotriméthazole)

L'appétence des principes actifs est convenable. Le premier jour, 75% de la ration a été ingérée. Par la suite, pour que la dose entière soit absorbée, la quantité de pellets distribuée est passée de 4 à 3 kg par jour. Les 3 jours suivants, toute la ration a été ingérée. Aucune répercussion n'a été remarquée sur les animaux pendant toute la durée du traitement et pendant la semaine qui l'a suivi.

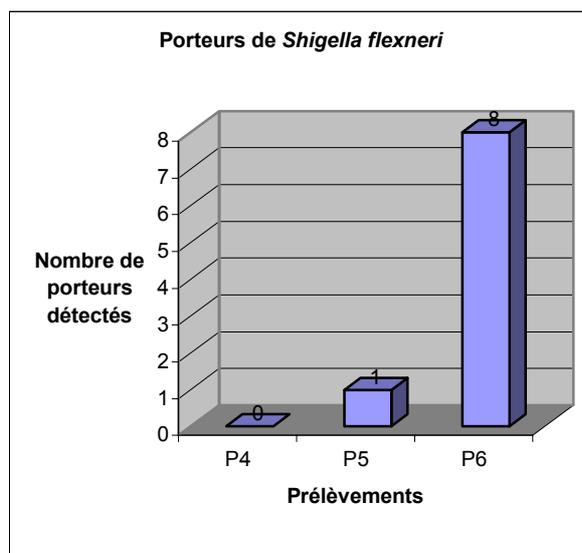
### 3.2.3.3 Deuxième série de prélèvements (après traitement)

- 15 animaux sur 30 ont présenté des selles anormales lors de la deuxième série de prélèvements.
- Sur les 5 animaux dont les selles ont été examinées pour des recherches de parasites, 2 sont porteurs d'*Entamoeba histolytica* et 5 de *Entamoeba coli*.
- Les coprocultures bactériennes ont révélé le portage de *Shigella flexneri* sur 8 animaux et de *Salmonella sp.* sur 14 animaux. Un Animal est porteur des 2 pathogènes en même temps.

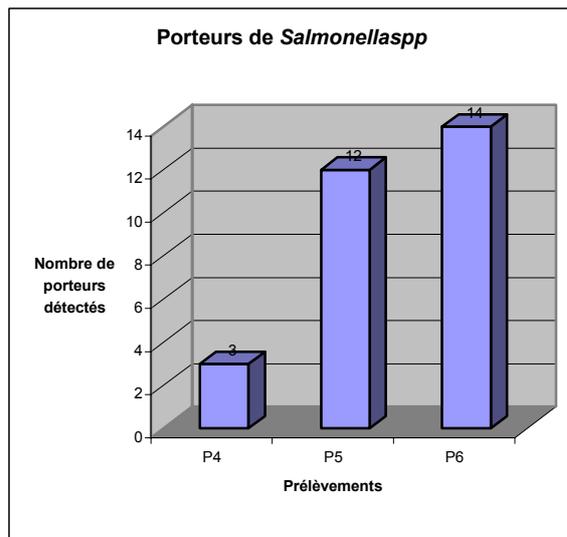
Suite à cette deuxième série de prélèvements, 4 des animaux ayant des selles aqueuses ont été hospitalisés. Ils ont d'abord été traités au Panfurex® (3 mL, VO, 4 jours de suite). Leur état s'est amélioré et la diarrhée a rétrocedé rapidement. A la fin de ce traitement, tous ces animaux et ceux de la volière ont subit 2 injections d'oxytétracycline, (Longicine® ; 0,25mL, IM, à 3 jours d'intervalle) ainsi qu'une complémentation en Vitamine C injectable (0,3 mL, IM, le premier jour du traitement antibiotique). Il n'y a pas eu de complication suite à ce traitement.

	Selles	P4	P5	P6	Total	Protozoaires
AM 830	A		S			EC
AM 995	A		S	SF	S SF	EC EH
AN 003			S		S	EC
AM 508		S			S	EC EH
AM 728	A					EC EH
AM 425						
AM 542	A	S	S		S	
AM 808	A					
AM 731		S			S	
AM 803						
AM 902			S		S	
AM 720	A		SF	SF	SF	
AM 771	A		S		S	
AM 545				SF	SF	
AM 555	A		SF	SF	SF	
AM 804	A					
AM 837	A			SF	SF	
AM 930			S	S	S	
AM 974	A					
AM 729	A			SF	SF	
AM 862						
AN 051			S		S	
AM 512			S		S	
AM 521	A			S	S	
AM 522	A					
AM 662				S	S	
AM 881		SF		SF	SF	
AM 898	A					
AM 989			S	S	S	
AN 040				SF		

Tableau n° 11 : résultats de la deuxième série de prélèvements, lot 2



Graphe n° 7: nombre d'excréteurs de *Shigella flexneri* détectés au cours de la deuxième série de prélèvements, lot 2



Graph n° 8: nombre d'excréteurs de *Salmonella spp* détectés au cours de la deuxième série de prélèvements, lot 2

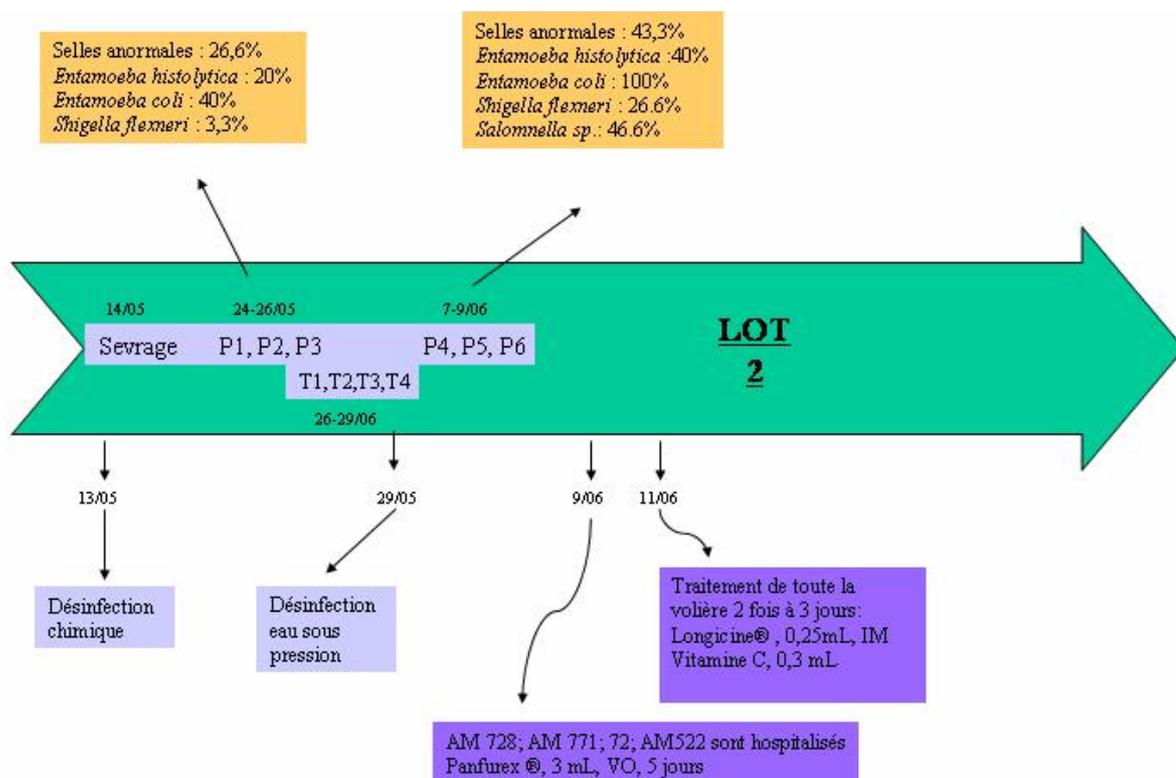


Schéma n° 5 : chronologie des étapes suivies par le lot 2

### 3.2.4. Lot 3

Ce lot est constitué de 12 mâles et de 19 femelles (poids moyen = 1,88 kg ; écart type = 0,15 kg)

#### 3.2.4.1 Première série de prélèvements (avant traitement)

- 11 animaux sur 30 ont présenté des selles anormales lors de la première série de prélèvements
- Sur les 5 animaux dont les selles ont été examinées pour des recherches de parasites, 2 sont porteurs d'*Entamoeba histolytica*
- Les coprocultures bactériennes ont révélé le portage de *Shigella flexneri* sur 2 animaux

	Selles	P1	P2	P3	Total	Protozoaires
AM 563	A					EH
AM 564						
AM 621						
AM 674						
AM 710	A					EH
AM 743	A					
AM 750	A					
AM 865						
AM 904						
AM 922						
AM 952						
AM 978						
AN 054						
AN 065						
AN 068						
AM 704						
AM 752				SF	SF	
AM 810	A					
AM 832	A					
AN 069	A					
AM 556						
AM 769	A					
AM 675						
AM 711				SF	SF	
AM 833						
AM 590	A					
AM 489						
AM 566						
AM 608	A					
AM 825	A					
AM 857						

Tableau n° 12 : résultats de la première série de prélèvements, lot

### 3.2.4.2 Le traitement

(Colistine + érythromycine + métronidazole)

L'ingestion des pellets a été très mauvaise, parfois moins de 50% de la ration ont été ingérés. On peut attribuer cette baisse d'appétit au Flagyl® qui induit une perte d'appétit et une altération du goût. Les quantités de pellets distribuées ont été diminuées de moitié pour permettre une ingestion maximale des principes actifs.

Une semaine après la fin des traitements, 3 animaux ont présenté de la diarrhée avec déshydratation et abattement. Ils ont été hospitalisés, et traités avec de l'enrofloxacin (Baytril ® 5% ; 0,2 mL, IM, 5 jours de suite) et complétés en vitamine C (0,3 mL, IM, 5 jours d suite). Pour éviter une épidémie, toute la volière a subi le même traitement pendant 5 jours.

### 3.2.4.3 Deuxième série de prélèvements (après traitement)

La deuxième série de prélèvement n'a pas été réalisée car tous les animaux ont subi un traitement injectable d'enrofloxacin. Aucune conclusion sur le traitement de ce lot ne peut donc être donnée.

Des coprocultures sur 10 animaux pris au hasard 10 jours après ce traitement n'ont révélé aucune contamination par des bactéries potentiellement pathogènes. En revanche, sur les 5 échantillons observés au microscope, 4 présentaient des protozoaires en grande quantité.

	Selles	P4	Protozoaires
AM 590	A		BC
AN 065	A		BC EH EC
AM 608	A		BC
AM 489	A		BC
AN 069			
AM 564	A		
AM 922	A		
AM 566			
AN 054	A		
AM 675	A		

Tableau n° 13 : résultats de la deuxième série de prélèvements, lot 3

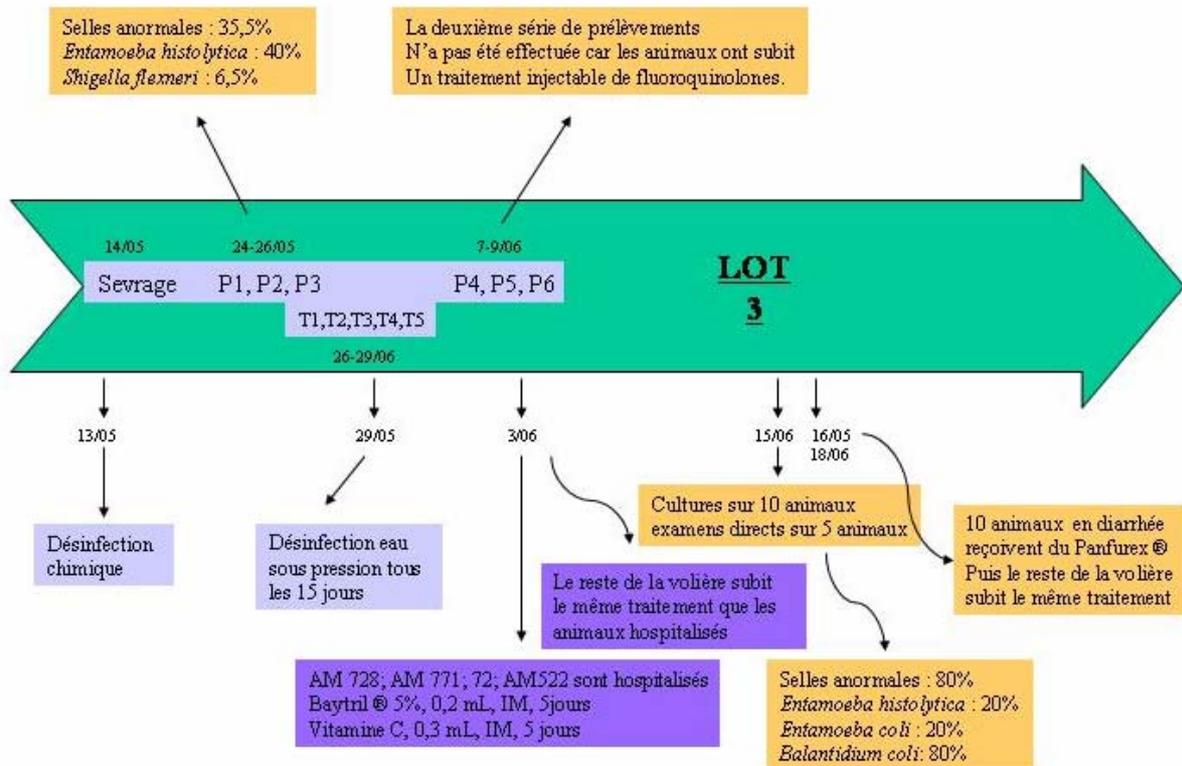


Schéma n° 6 : chronologie des étapes suivies par le lot 3

### 3.2.5 Autre examens réalisés

#### 3.2.5.1. Autres coprocultures

- Dans la volière W17 (volière de sevrage), un épisode de diarrhée est survenu 3 semaines après le sevrage.

Les coprocultures réalisées sur les 5 macaques hospitalisés ont révélé la présence de *Yersinia pseudotuberculosis* sur les 5 singes. Ces animaux provenaient de volière d'élevage de conception récente, sans défaut d'hygiène majeur.

- Des prélèvements de selles sur les mères des animaux de notre étude ont été effectués.

Sur les 84 coprocultures effectuées, seulement quatre *Shigella flexneri* ont été isolées en B 46, B 47, B 56 et B 61.

- Le protocole élevage

Des coprocultures sont effectuées en routine par échantillonnage sur les animaux d'élevage. 274 animaux ont été testés sur les 6 premiers mois de 2004. 13 macaques étaient excréteurs *Shigella flexneri* et un seul de *Yersinia pseudotuberculosis*.

- Coprocultures réglementaires

Chaque animal exporté, subit un prélèvement de selles pour analyse bactériologique. Sur les 778 testés depuis le début de l'année, 15 singes étaient excréteurs de *Shigella flexneri*, 7 de *Salmonella sp.* et 2 de *Yersinia pseudotuberculosis*.

	Export élevage (778 animaux testés)	Protocole élevage (274 animaux testés)
<i>Shigella flexneri</i>	15	13
<i>Salmonella sp.</i>	7	0
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	2	1

Tableau n° 14 : résultats des coprocultures d'export et du protocole élevage

### 3.2.5.2 Autres examens sur des éléments de l'environnement

Des cultures bactériennes supplémentaires sur des gastéropodes présents dans l'élevage n'ont pas révélé de présence de bactéries potentiellement pathogènes. Les mêmes résultats ont été obtenus sur des fientes de moineaux capturés dans une zone de l'élevage.

En revanche, des cultures de liquide des pédiluves (celui de l'entrée de la zone et celui de chaque volière) ont mis en évidence une flore très riche. Les boîtes TSA ont étéensemencées avec un écouvillon imbibé de liquide et mises à l'étuve. Après 24 heures à 37°C, il était impossible de dénombrer le nombre de colonies.

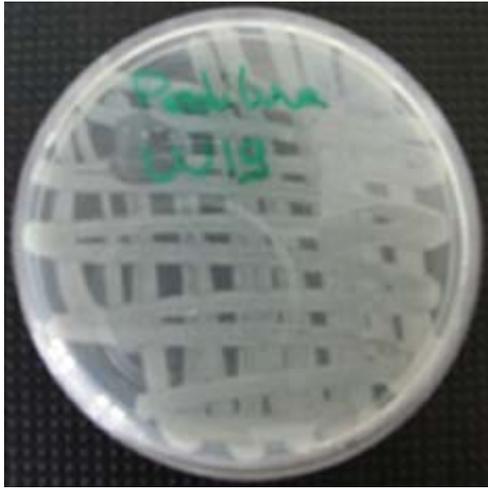


Photo 8: Culture du liquide de pédiluve W 19 (Dufour, J., 2004).

D'autres cultures après le protocole de nettoyage et de désinfection ont été effectuées. Les prélèvements ont été réalisés par pression de géloses (TSA et Mac Konkey) sur le sol et dans la mangeoire. Après 24 heures à 37°C, les colonies sur les géloses TSA étaient indénombrables.



Photo 9 : Cultures de prélèvements faits de une mangeoire après désinfection (Dufour, J., 2004)



Photo 10 : Cultures de prélèvements faits sur le sol après désinfection (Dufour, J., 2004)

### 3.2.6. Résultats des antibiogrammes

Les résultats ont été obtenus plus d'un mois après la fin des tests sur les lots. De plus tous les antibiotiques du protocole n'ont pas été testés. Seuls, la colistine, le sulfaméthoxazole et l'association amoxicilline-acide clavulanique ont été testés. D'autres antibiotiques utilisés à Noveprim ont également été testés.

Antibiotique Type bactérien	Enrofloxacin 5 µg	Colistine 10 µg	Amoxicilline, ac.clavulanique 30 µg	Amoxicilline 25 µg	Sulfaméthoxazole	Streptomycine 10 µg	Oxytétracycline 30 µg
<i>Salmonella spp.</i> (7 tests)	S	S	S, I *	R**		R	R
<i>Shigella flexneri</i> (5 tests)	S	S	S	S***		R	R
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> (7 tests)	S	S	S	S		S	S

S= sensible R= résistante I=intermédiaire

Tableau n° 15 : résultats des antibiogrammes

\* : la moitié des souches est sensible, l'autre est intermédiaire, une souche est résistante.

\*\* : en zone de sevrage, les souches isolées sont résistantes à l'amoxicilline alors qu'en zone d'élevage, les souches isolées y sont sensibles.

\*\*\* : une souche a été détectée comme étant résistante.

### 3.2.7. Synthèse

Critère	Première série de prélèvements							Deuxième série de prélèvements						
	Nombre de selles anormales	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Entamoeba coli</i>	<i>Balantidium coli</i>	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Salmonella</i>	Nombre de selles anormales	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Entamoeba coli</i>	<i>Balantidium coli</i>	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Salmonella</i>
<b>Lot 1</b> : colistine + érythromycine + sulfaguanidine + sulfadimidine	10/31 32.2%	3/5 60%	2/5 40%	0/5 0%	24/31 77.4%	1/31 3.2%	0/31 0%	8/27 30%	1/5 20%	0/5 0%	5/5 100%	22/27 81.1%	10/27 37%	1/27 3.7%
<b>Lot 2</b> : Amoxicilline + clavulanate + cotriméthazole	8/30 26.6%	1/5 20%	2/5 40%	0/5 0%	0/30 0%	1/30 3.3%	0/30 0%	15/30 50%	2/5 40%	5/5 100%	0/5 0%	0/30 0%	8/30 26.6%	14/30 46.6%
<b>Lot 3</b> : colistine - + érythromycine + métronidazole	11/31 35.5%	2/5 40%	0/5 0%	0/5 0%	0/31 0%	2/31 6.5%	0/31 0%	X	X	X	X	X	X	X
<b>Lot témoin</b>	8/30 26.6%	3/5 60%	2/5 40%	0/5 0%	19/30 63.3%	2/30 6.6%	0/30 0%	11/30 36.6%	5/5 100%	3/5 60%	1/5 20%	25/30 83.3%	3/30 10%	0/30 0%

Tableau n°16 : synthèse de tous les prélèvements effectués pour l'étude sur le sevrage

Il est très important de noter que les coprocultures réalisées ne permettent pas de mettre en évidence les bactéries du genre *Campylobacter*.

Le tableau placé en annexe 1 présente la mortalité, le nombre d'animaux hospitalisés et les traitements entrepris au cours et après l'étude pour chaque lot.

- ✓ On peut noter une très grande hétérogénéité entre les animaux qui composent un lot et entre les lots. En effet, le poids au sevrage qui est un facteur important de prédisposition aux diarrhées apparaît comme très variable. L'animal le plus léger pèse 1,2 kg et le plus lourd pèse 2,2 kg. La différence de poids moyen entre les lots est elle aussi très importante, ils sont respectivement de 1,56 kg ; 1,66kg ; 1,88kg et 1,65kg pour les lots 1, 2, 3 et témoin.
- ✓ La provenance des animaux est aussi très différente. Il faut prendre en considération l'âge de la mère et leurs antécédents. Les animaux du lot 1 proviennent de mères de captures récentes ou de mères assez âgées, c'est aussi le lot dont la moyenne des poids est la plus faible. De plus, il y a déjà eu un épisode de Yersiniose avérée dans la volière B 046 (d'où viennent quelques animaux du lot 1).
- ✓ L'aspect général des selles a été très différent entre les animaux, lors de la première série de prélèvements, 30% des animaux présentaient des selles anormales. Cette proportion a augmenté au cours de l'étude surtout dans les lots 2 et 3. Toutes les selles très molles, liquides, avec du mucus ou striées de sang ont été classées comme anormales. Le nombre de selles anormales ne semble pas relié à un facteur précis. Il n'est pas relié à l'excrétion de telle ou telle bactérie ni à la provenance des animaux. Le repérage des selles anormales le jour du sevrage aurait peut-être permis l'établissement d'un lien précis avec d'autres facteurs.
- ✓ Les animaux présentent des niveaux d'infestation et une flore potentiellement pathogène très différents entre les lots. En revanche, tous les lots, y compris le lot témoin ont suivi la même évolution générale avec une augmentation nette du microbisme après les différents traitements effectués.
- ✓ Les lots témoins et 1 sont similaires avec un fort portage de *Yersinia pseudotuberculosis*. Les lots 2 et 3 semblent eux aussi similaires avec un niveau d'infestation faible au départ, puis une flore pathogène très présente malgré les traitements entrepris. Dans ces lots, la flore est représentée par

*Shigella flexneri* et *Salmonella spp.* Le lot 3 n'a pas subi de deuxième série de prélèvements, mais on peut imaginer que l'évolution microbienne était la même que dans le lot 2. En effet, si un épisode pathologique est survenu, on peut envisager que la présence de bactéries pathogènes soit à l'origine des troubles observés.

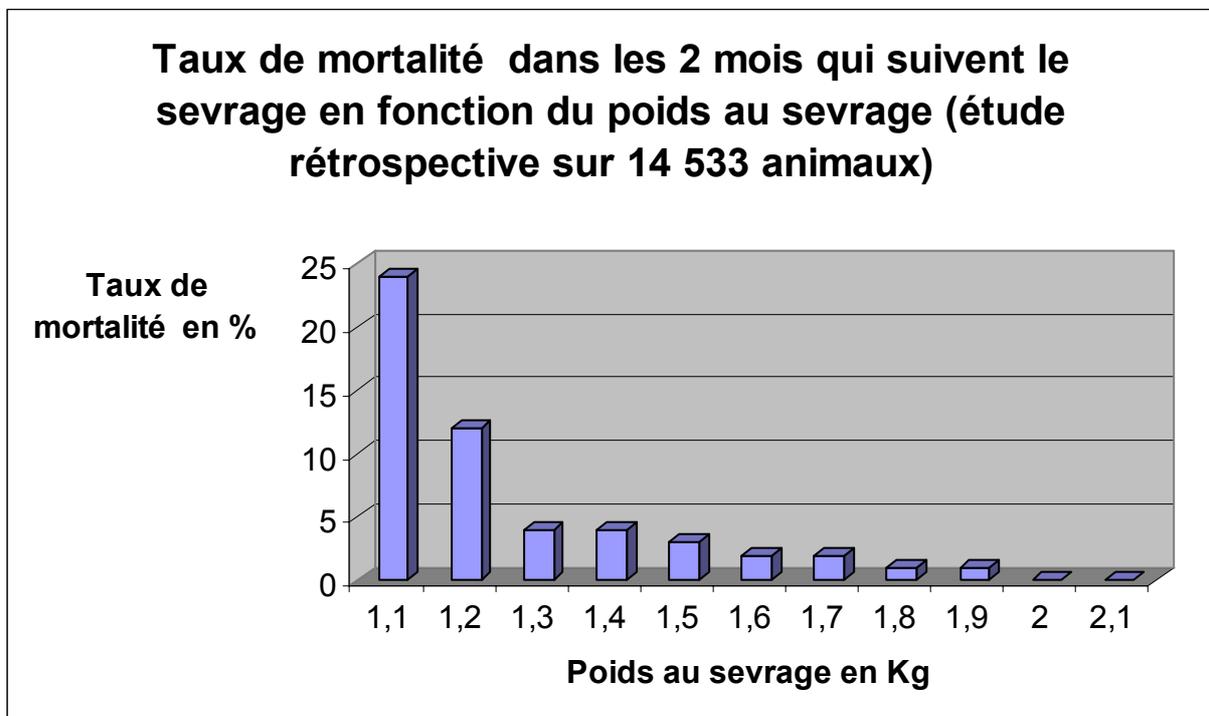
- ✓ *Salmonella spp.* et *Balantidium coli* sont deux pathogènes qui n'étaient pas détectés avant les traitements. Ce qui laisse supposer que les animaux en étaient porteurs ou qu'il y a eu contamination des volières au cours de l'étude. Toutes les volières n'ont cependant pas vu ces pathogène émerger (Pas de *Salmonella sp.* dans le lot témoin ; et pas de *Balantidium coli* dans le lot 2).
  
- ✓ Les données recueillies ne reflètent pas « l'excrétion bactérienne » de la population totale de l'élevage. Il ne faut pas confondre excréteurs et malades :
  - La population cible est fortement stressée
  - Les multiples interventions dans les volières ont ajouté un stress supplémentaire aux animaux
  - La moitié des animaux ont grandi dans des volières de conception ancienne. Celles-ci ne représentent qu'une petite partie des volières dans l'élevage.
  - Certains traitements ont permis l'excrétion de bactéries qui ne sont pas excrétées en temps normal.

Il faut garder à l'esprit que dans les zones export et élevage, seulement 38 animaux sur 1052 étaient excréteurs d'une bactérie potentiellement pathogène.

### 3.2.8. Alimentation à la dérobée

Le poids au sevrage est un élément majeur à prendre en considération pour décider du sevrage d'un animal. Un faible poids au sevrage est un facteur de risque important sur l'apparition des diarrhées. De récentes études ont mis en évidence sur *Macaca mulatta* qu'un animal sevré en dessous de 1,2 kg avait 3,4 fois plus de chance de contracter une diarrhée suite au sevrage que les animaux sevrés au dessus de ce poids (Munoz-Zanzi, A, Thurmond, M.C., Hird, D.W. et al, 1999).

Au sein de l'élevage, un lien entre la mortalité dans les 2 mois qui suivent le sevrage et le poids au sevrage est clairement établi.



Graphe 9 : Taux de mortalité dans les 2 mois qui suivent le sevrage en fonction du poids au sevrage

Les causes de mortalité peuvent varier mais les diarrhées représentent la principale pathologie à cette période de vie.

C'est pour minimiser ces pertes qu'un projet d'alimentation à la dérobée a été mené en parallèle aux essais de traitements.

Dans les volières d'élevage, les petits se nourrissent peu, l'accès aux pellets leur est limité par la compétition avec les adultes. De plus la taille des pellets est inadaptée.

La mise en place d'un dispositif accessible uniquement aux petits et de pellets de plus petite taille permet de faciliter la prise alimentaire. De plus, la transition alimentaire au sevrage sera moins brutale. Par la suite une alimentation spécifique pourra être distribuée aux jeunes par le biais de ce dispositif.



Photo 11 : la taille des granulés est inadaptée (Levallois, L., 2004).



Photo 12 : nouveau dispositif mis en place (Levallois, L., 2004).

Le dispositif a été mis en place dans 4 volières au cours du mois de juin. Pour apprécier son efficacité, une comparaison du poids au sevrage entre les petits en ayant bénéficié et les autres a été faite au cours du sevrage de août 2004.

Les animaux qui ont bénéficié du dispositif ont eu un poids au sevrage plus important que les autres.

### Analyse statistique :

On mesure une variable quantitative (poids par animal) qui permet de calculer dans chaque groupe les différents paramètres de la distribution : moyenne, écart type, variance

### Sevrage avec dispositif

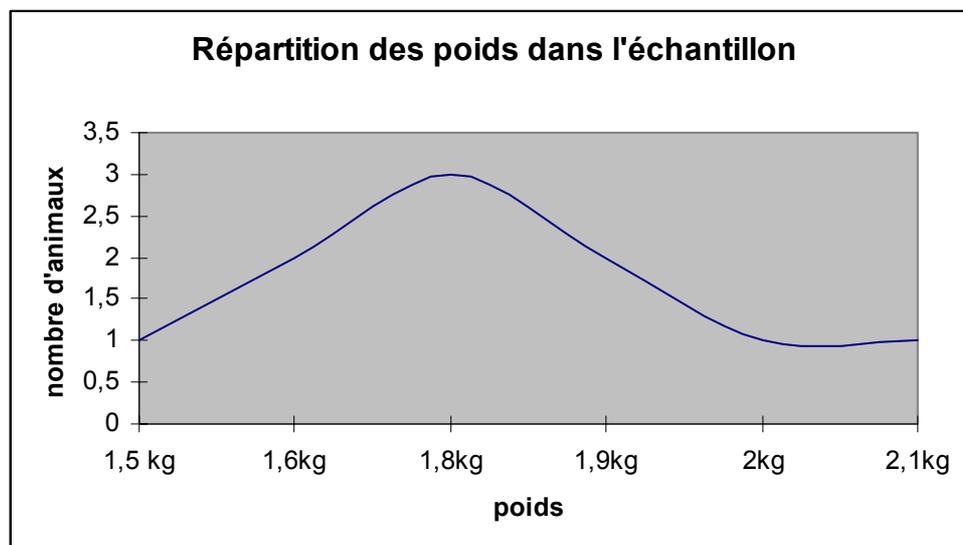
Moyenne	<b>1,800</b>
Ecart type	0,178885
Variance	0,032
Nombre d'individus	11

### Sevrage normal

Moyenne	<b>1,641</b>
Ecart type	0,20796
Variance	0,04325
Nombre d'individus	241

$x_a = 1,8$      $\sigma_a = 0,17887$      $n_a = 11$      $V_a = 0,032$   
 $x_b = 1,641$      $\sigma_b = 0,20796$      $n_b = 241$      $V_b = 0,04325$

La distribution des poids suit une loi normale, de plus les variances peuvent être considérée comme égales (leur rapport est inférieur à trois).



Graphe 10 : répartition des poids dans l'échantillon

- Hypothèse nulle : H0
  - les deux moyennes observées  $x_a$  et  $x_b$  sont des estimateurs de deux moyennes tels que  $x_a = x_b$
- Hypothèses alternatives H1 :
  - Test unilatéral  $x_a > x_b$

Calcul de la variance commune :

$$\sigma_{\text{commun}} = \sqrt{\frac{SCE_a + SCE_b}{N_a + N_b - 2}} = \sqrt{\frac{\hat{\sigma}_a^2 * (N_a - 1) + \hat{\sigma}_b^2 * (N_b - 1)}{N_a + N_b - 2}}$$

$\sigma_{\text{commun}} = 0,20688$

$$t = \frac{|X_a - X_b|}{\sqrt{\frac{\hat{\sigma}_{\text{commun}}^2}{N_a} + \frac{\hat{\sigma}_{\text{commun}}^2}{N_b}}}$$

Suit une loi de student à  $N_a + N_b - 2$  DDL

$t = 2,49$      $t_{\alpha} = 1,96$

$2,49 > 1,96$

- ✓ Si  $|t| < \text{valeur seuil} : \alpha$  on ne peut pas rejeter H0. Il n'y a pas de différence significative au seuil de risque  $\alpha$
- ✓ Si  $|t| > \text{valeur seuil} : \alpha$  les deux moyennes diffèrent au risque  $\alpha$

**Le dispositif d'alimentation à la dérobée est donc efficace et permet une prise de poids plus importante avant le sevrage.** Avec un dispositif installé dans un nombre plus important de volières et au cours de toute la croissance, notre calcul

aurait probablement pu être fait avec un risque d'erreur plus faible. En effet, le dispositif n'a été utilisé que 2 mois et demi, les animaux n'en n'ont donc pas profité pendant toute leur croissance. Toutes les volières de l'élevage ont été équipées de ce dispositif au cours du mois de septembre 2004.

En plus de son intérêt sur l'alimentation des jeunes, ce dispositif représente un enrichissement apporté aux volières.

### 3.3. Discussion

#### 3.3.1. Biais rencontrés

Il est important de noter que toutes les expériences se sont déroulées avec 30 animaux par volière. En temps normal, chaque volière est constituée de 40 animaux. La taille des échantillons a été conditionnée par des raisons financières. Les résultats obtenus, ne reflètent donc pas forcément le microbisme présent dans des volières de densité plus élevée. En effet une forte densité est un facteur de risque d'apparition de phénomènes pathologiques divers et de dissémination de germes pathogènes. La réduction de ce facteur de risque est contre balancée par les nombreuses interventions dans les volières qui représentent un fort stress pour les macaques.

#### 3.3.2. Relation faite entre les conditions de vie et le nombre d'excréteurs de bactéries potentiellement pathogènes

Il est possible de faire un rapprochement assez étroit entre les caractéristiques des volières de naissance des animaux sevrés et le portage de pathogènes par ces mêmes singes.

On met en place une notation binaire qui décrit la conception des volières où sont nés et où ont grandi les macaques de notre étude. La note 1 est attribuée aux volières considérées comme de conception récente, la note 2 aux volières les plus anciennes.

	Volière de naissance	Conception des volières	Nombre d'animaux provenant de ces volières	Nombre d'excréteurs avant tout traitement
LOT 1	B 41	2	1	0
	B42	2	10	7
	B43	2	7	5
	B44	2	1	1
	B46	2	12	11
LOT 2	B 21	1	3	0
	B 22	1	2	0
	B 23	1	3	0
	B 24	1	3	0
	B 53	1	2	0
	B 54	1	6	1
	B 55	1	3	0
LOT 3	B 56	1	8	0
	B 57	1	15	0
	B58	1	5	1
	B 59	1	2	0
	B 60	1	3	1
	B 61	1	3	0
LOT Témoin	B 62	1	5	0
	B 45	2	4	3
	B 47	2	5	5
	B 48	2	11	7
	B 49	2	2	0
	B 50	2	2	2
	B 51	2	4	3
B 52	2	2	0	

Tableau n° 17 : relation entre la conception des volières de naissance et l'excrétion de bactéries potentiellement pathogènes chez les jeunes sevrés

On s'aperçoit que *Yersinia pseudotuberculosis* est le plus souvent mise en cause dans les volières de naissance les plus anciennes. L'état de propreté dans lequel vivent les animaux apparaît comme le facteur de risque principal en ce qui concerne le portage de *Yersinia pseudotuberculosis*.

En effet, la conception des volières est sans cesse en évolution. Les conditions d'hygiène sont meilleures dans les volières les plus récentes car l'évacuation des eaux usées est plus efficace. Les évolutions de conception ont un impact direct sur la qualité sanitaire des animaux.

### 3.3.3. Raisons et conséquences de l'inefficacité des schémas thérapeutiques testés

Le portage dans les lots traités a suivi la même évolution que dans le lot témoin. La non efficacité manifeste des trois schémas thérapeutiques testés provient du fait que :

- les animaux n'ont pas ingéré la totalité des principes actifs (mauvaise appétence, stress du sevrage, certains principes actifs induisent une perte d'appétit : métronidazole)
- en parallèle avec le problème d'ingestion des principes actifs, se pose la question de leur labilité avant l'ingestion. Aucune des spécialités utilisées n'est prévue pour être administrée de cette façon. L'activité résiduelle lors de l'ingestion n'est pas mesurable. Il est probable que ces deux facteurs cumulés aient affectés l'efficacité des schémas testés
- les sujets subordonnés ont un accès restreint à la nourriture
- Les sujets correctement traités peuvent s'être recontaminés par ceux qui ne le l'étaient pas.

Cette inefficacité a conduit à une augmentation forte du nombre de porteurs d'entérobactéries potentiellement pathogènes due à :

- une contamination croisée lors de opérations de nettoyage et de désinfection (nébulisation de déchets contaminés, dissémination par les jets d'eau haute pression, transmission par le balais qui sert au nettoyage, par les bottes de l'animalier). Les barrières sanitaires sont perfectibles. En effet, les liquides de pédiluves ne jouent pas leurs rôles et c'est le même animalier qui nettoie les 4 volières avec les mêmes outils. Le nettoyage des bottes et lui aussi perfectible.
- une flambée de ces bactéries suite de l'immunodépression induite par le stress. Dans cette hypothèse, les animaux étaient porteurs latents mais non excréteurs et les bactéries auraient proliféré au cours de cette fenêtre immunologique
- la modification de l'écosystème intestinal sous l'effet de l'administration

d'antibiotiques. L'altération des effets de barrière peut en effet favoriser le développement de populations qui lorsqu'elles sont en nombre élevé exercent alors un pouvoir pathogène (Freney J, Renaud F, Hansen W et al, 2000)

#### 3.3.4. Le sevrage et les protozoaires

Dans le lot témoin, on a une augmentation de l'infestation puisque sur les 5 prélèvements, 9 protozoaires ont été détectés lors de la seconde série de prélèvements contre seulement 5 lors de la première série de prélèvements.

Dans les autres lots, les traitements ont influencés la survie de ces parasites car l'évolution est différente :

- dans le lot 1; l'utilisation de sulfamides non résorbés semble avoir inhibé la prolifération des amibes. En revanche, les *Balantidium coli* non affectés par ce principe actif ont proliféré.
- Dans le lot 2 ; l'utilisation du sulfaméthoxazole a permis d'éviter la contamination par les *Balantidium coli*. Les amibes, non affectés par ce principe actif ont quant à elles proliféré.
- Dans le lot 3, suite aux traitements expérimentaux et au traitement à base d'enrofloxacin, on a retrouvé beaucoup de *Balantidium coli* et peu d'amibes. Le métronidazole a bien limité la prolifération de amibes. Son action n'a pas été complète ou il y a eu recontamination de quelques animaux. Les *Balantidium coli* non affectés par ce principe actif ont proliféré activement.

Les deux principes actifs visant les protozoaires sont donc bien efficaces. Mais leur utilisation doit être plus rigoureuse. Une administration orale à la seringue (tous les individus) doit permettre une éradication totale si des mesures de désinfection sont prises en parallèle. Ce traitement n'empêche pas les réinfestations qui peuvent venir très facilement de l'environnement (oiseaux, nourriture, animaliers).

Il est très important de souligner que les animaux déclarés porteurs le sont dès qu'ils sont excréteurs de kystes. Seulement 3 amibes sous la forme trophozoïtique ont été observées dont une seule pour *Entamoeba histolytica*. Les protozoaires ne semblent pas jouer un rôle fondamental dans l'apparition des affections digestives graves.

En revanche, les traitements à base d'enrofloxacin semblent avoir favorisé le développement de *Balantidium coli*. Dans le lot 3, sur les 5 selles examinées après ce traitement, 4 étaient peu moulées. Les quatre animaux concernés étaient fortement infestés par *Balantidium coli*.

### 3.3.5. Le sevrage et *Yersinia pseudotuberculosis*

C'est le genre bactérien qui semble être le plus sensible aux conditions d'hygiène dans lesquelles vivent les animaux. Ce sont en effet les animaux provenant des volières dites « anciennes » qui en sont porteurs (lot 1 et témoin). Dans ces deux lots, il y a une augmentation du nombre de porteurs au cours de l'étude (lot 1 : 19 porteurs avant et 25 après ; lot 2 : 24 porteurs avant et 22 après). Les traitements effectués dans le lot 1 n'ont pas du tout influencés le nombre de porteurs. En effet, après la seconde série de prélèvements, on a 22 porteurs contre 24 avant mais 3 animaux porteurs ont subi un traitement à base d'enrofloxacin et un animal est mort de yersiniose. On retrouve donc exactement la même évolution que dans le lot témoin si on considère ces 4 animaux comme toujours porteurs lors de la seconde série de prélèvements. Un animal est mort dans chacun de ces lots, ce qui peut sembler faible étant donné le nombre d'individus excréteurs de cette bactérie pathogène.

Pour résumer, on peut dire que le portage de cette bactérie est favorisé si l'environnement n'est pas parfaitement propre et que les périodes stressantes favorisent l'augmentation du nombre d'excréteurs et permettent ainsi la dissémination du germe au sein de la colonie.

Le traitement entrepris dans le lot 1 n'a pas atteint cette souche car les polymyxines ne sont pas absorbées par voie orale. La colistine à laquelle est sensible cette

souche n'a donc pas pu atteindre les bactéries localisées dans l'organisme. Des traitements à base de colistine injectable sont envisageables pour traiter cette affection. Il existe peu de résistance à cet antibiotique et les autres types bactériens y sont également sensibles.

Les 3 animaux du lot 1 traités avec de l'enrofloxacin (5mg/kg/IM, pendant 5 jours) ont également subi la seconde série de prélèvements. Aucun n'a été retrouvé excréteur. Ce qui conforte l'idée que les traitements par voie injectable sont plus appropriés pour traiter cette affection que les traitements par voie orale et que l'enrofloxacin permet d'arrêter l'excrétion des 3 bactéries décelées au cours du sevrage.

### 3.3.6. Le sevrage et *Shigella flexneri*

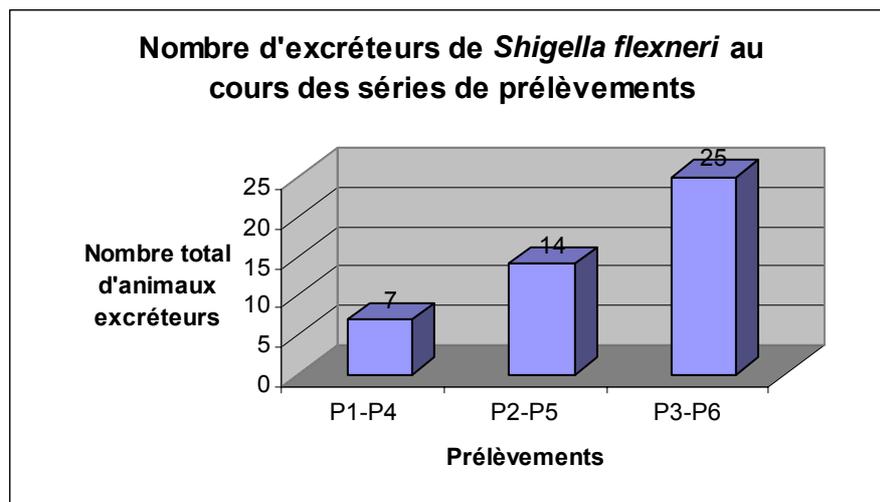
Ces bactéries étaient peu présentes au départ mais présentes dans tous les lots avec au moins un animal porteur par lot. Au cours de l'expérimentation, le portage de cette bactérie a augmenté dans les 3 lots mais pas dans les mêmes proportions. Lors de la deuxième série, 21 animaux sur 87 étaient porteurs contre 5 sur 121 au départ. Dans le lot témoin, le nombre de porteurs est passé de 1 à 3. Les lots 1 et 2 regroupent la majorité des porteurs avec respectivement 10 et 8 porteurs.

La colistine et l'association amoxicilline-acide clavulanique n'ont pas permis d'éradiquer cette bactérie. *Shigella flexneri* est pourtant sensible à ces principes actifs. Ici encore on peut envisager des problèmes :

- de dosages liés à la mauvaise ingestion (sélection d'une flore pathogène)
- de recontamination des sujets éventuellement bien traités

Les informations perdues avec le traitement prématuré du lot 3 auraient aussi sûrement permis de mettre en évidence cette bactérie sur les animaux qui présentaient de la diarrhée. La réponse au deuxième traitement entrepris (enrofloxacin) conforte cette hypothèse.

Le nombre d'excréteurs de cette bactérie semble étroitement lié au stress. Le stress du sevrage a permis une augmentation nette du nombre total de porteurs entre les deux séries de prélèvements. On peut aussi remarquer cette caractéristique si on regarde les résultats au cours d'une même série. Le fait de répéter 3 fois les prélèvements et de manipuler les animaux favorise l'excrétion de cette bactérie. Avec cette pratique, on limite le nombre de faux négatifs. On repère 3,5 fois plus de porteurs en réalisant les prélèvements trois fois de suite que sur un prélèvement unique.



Graph 11 : nombre d'excréteurs de *Shigella flexneri* détectés au cours de la totalité des séries de prélèvements

### 3.3.7. Le sevrage et le genre *Salmonella*

Le nombre de porteurs a évolué très différemment entre les lots. C'est dans le lot 2 que la quasi-totalité de ces bactéries ont été retrouvées. Les antibiogrammes réalisés permettent de justifier cette évolution. Ces bactéries ont une sensibilité souvent intermédiaire vis-à-vis de l'association amoxicilline-acide clavulanique qui a été utilisée pour traiter ce lot. L'utilisation d'un antibiotique peu adapté a permis la sélection des bactéries qui lui sont résistantes.

Dans les autres lots, ce genre bactérien est peu ou pas présent. Dans le lot 3, on peut supposer que ce genre bactérien n'est pas à l'origine des troubles rencontrés. En effet, le schéma thérapeutique testé comportait de la colistine qui semble avoir limité la dissémination du germe dans le lot 1. Dans tous les cas, l'enrofloxacin a

permis de conserver le statut « indemne de Salmonella » de cette volière.

Dans le lot 2, les traitements entrepris en aveugle (les résultats des antibiogrammes n'étaient pas encore disponibles) suite au protocole étaient particulièrement inappropriés. En effet, les deux espèces bactériennes présentes dans cette volière sont résistantes à l'oxytétracycline.

Le genre *Salmonella* semble donc proliférer lors d'utilisation d'antibiotiques face auxquels il est résistant.

### 3.4. Proposition de conduite à tenir

#### 3.4.1. Modifier les pratiques d'hygiène

##### ✓ *Modification du protocole de nettoyage et de désinfection*

Nettoyer c'est éliminer les souillures, rendre les surfaces propres ; désinfecter c'est réduire provisoirement le nombre de germes. On ne peut désinfecter une surface sale, donc mieux vaut un nettoyage sans désinfection que l'inverse (Corpet, D., 2003).

Le nettoyage doit permettre une réduction de la population bactérienne totale d'un log alors que la désinfection doit la réduire de trois. Un vide sanitaire n'est pas nécessaire (en extérieur, sous climat humide) car on a toujours une augmentation de la contamination bactérienne dans ces conditions (Corrégé, I., Cornou, C., Lenoir, H., 2003).

L'utilisation d'un détergent avant désinfection permettrait d'éliminer le biofilm (couche de matière organique se formant en périphérie des surfaces humides) et donc permettrait au désinfectant d'agir efficacement. En effet, les bactéries des biofilms secrètent des polysaccharides qui adhèrent en surface et protègent les bactéries contre les désinfectants. Le biofilm résiste au nettoyage, il exige une action mécanique importante avec un détergent.

Chaque animalier dispose d'un balai et d'un tuyau pour nettoyer les volières dont il est responsable. Pour limiter les contaminations entre les volières, il faut attribuer un balai par volière et non pas un balai par animalier. De plus, les balais doivent être

lavés et placés toutes les nuits dans les pédiluves de leur volière. Le tuyau d'arrosage doit quant à lui être soigneusement lavé et trempé dans un désinfectant entre le nettoyage de chaque volière. La meilleure solution serait ici aussi d'attribuer un tuyau par volière, et de le désinfecter régulièrement.

Les volières qui reçoivent des traitements pour un phénomène infectieux, doivent impérativement être désinfectées pour éviter la recontamination des animaux et la dissémination des germes dans l'élevage.

✓ *Améliorer l'évacuation des eaux usées dans les anciennes volières*

Les systèmes d'évacuation des eaux usées ont été identifiés comme facteur de risque pour l'excrétion des bactéries du genre *Yersinia* dans les volières de conception ancienne. Cette information était déjà connue dans l'élevage qui détruit au fur et à mesure ces volières.

Les eaux de ruissellement et les eaux usées de chaque volière ne doivent pas longer les autres volières d'un même bloc. Il ne faut pas qu'un animal rentre en contact avec les eaux usées provenant d'une autre volière. Pour cela, toutes les volières doivent bénéficier de leurs propres drains d'évacuation, le regroupement des eaux sales doit se faire en dehors du bloc de volières. Ces conditions sont respectées dans toutes les nouvelles volières construites. Les 12 volières anciennes restantes doivent être reconstruites (ou modifiées), parallèlement les animaux doivent subir un traitement antibiotique adapté (enrofloxacin, 5mg/kg, IM, au moins 6 jours de suite).

✓ *Améliorer l'hygiène du personnel pour limiter les contaminations croisées*

Tous les animaliers portent des bottes. Un animalier est responsable de plusieurs volières (4 en général). Afin de limiter la dissémination de germes entre ces 4 volières, il faut mettre en place un système de pédiluve efficace devant chaque volière. Ce pédiluve doit associer une action mécanique (brossage ou jet haute pression par exemple) et une action chimique (comme pour la désinfection des volières, il ne sert à rien de désinfecter des surfaces sales). Pour jouer son rôle, le liquide du pédiluve doit être remplacé tous les jours. Des jets d'eau de javel diluée peuvent aussi être utilisés pour désinfecter les bottes.

Pour toutes les opérations de nettoyage, les animaliers travaillent sans gants et sans masques. Des laves mains doivent également être installés afin de prévenir toute dissémination éventuelle au sein de l'élevage et tout risque de contagion à l'homme de pathogènes.

Quand un épisode pathologique survient dans une volière, l'animalier responsable de cette volière ne doit en aucun cas rentrer dans une autre volière. Si son travail le lui impose, il doit impérativement se changer, désinfecter ses bottes et se nettoyer chirurgicalement les mains. Il en est de même pour l'équipe vétérinaire qui doit se changer après une intervention dans une telle volière. Travailler dans ces volières en dernier lieu semble la meilleure solution.

Toute personne entrant dans les hôpitaux ne doit pas par la suite rentrer dans une volière. Il faut considérer cette zone comme une zone sale (principe de la marche en avant, on circule toujours des zones propres vers les zones sales). Il faut aussi y placer un système de désinfection des bottes efficace à la sortie.

✓ *Améliorer l'hygiène de la préparation des denrées alimentaires*

Pour prévenir toute contamination, la préparation des denrées alimentaires doit être effectuée dans le strict respect des bonnes pratiques d'hygiène (hygiène des locaux, hygiène du matériel, hygiène corporelle, hygiène vestimentaire, hygiène gestuelle, hygiène du conditionnement, hygiène du stockage) et elle nécessite la mise en place d'un système d'assurance qualité de type HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point). Tout doit être fait pour éviter la contamination des matières premières :

- surveillance des locaux et des conditions de stockage,
- hygiène corporelle et vestimentaire des manipulateurs,
- sélection rigoureuse de la matière première.

La formation et la sensibilisation du personnel sont particulièrement importantes.

### 3.4.2. Modifier la pratique du sevrage

- ✓ *Un poids plus important au sevrage diminue fortement le risque d'apparition de pathologies suite au sevrage*

Munoz-Zanzi, Thurmond, Hird et al (1999) ont prouvé que le risque de diarrhée après le sevrage était lié au poids au sevrage et non à l'âge au sevrage. Les risques d'apparition de diarrhées sont diminués d'un facteur 3,4 entre les animaux de moins de 1,2kg et ceux de plus de 1,2kg (*Macaca mulatta*).

Il faut éviter de sevrer les animaux de moins de 1,2kg, ceux-ci ont en effet statistiquement une chance sur quatre de mourir dans les deux mois qui suivent le sevrage (données recueillies sur l'élevage).

Les essais d'alimentation juvénile ont prouvé l'efficacité du dispositif mis en place. Une alimentation adaptée aux jeunes en croissance devrait encore accroître l'efficacité de cette installation.

Le fait de nourrir les animaux le plus tôt possible diminue également les risques d'apparition de problèmes digestifs liés à la transition alimentaire et augmente la résistance des individus face aux autres maladies.

- ✓ *Une mise en lot homogène doit être respectée*

L'homogénéité des lots de sevrage doit comporter deux volets :

- un volet poids, état général
- un volet antécédents et volière d'origine

Les volières de sevrage doivent être composées d'animaux homogènes en poids. En effet, si des différences de taille importantes sont créées, des phénomènes de dominance le seront aussi. Les sujets subordonnés auront un accès plus difficile à la nourriture. De plus l'homogénéité du lot diminuera les risques d'agression.

Les animaux qui ont eu une diarrhée avant le sevrage sont aussi des sujets à risques, il serait plus prudent de les considérer comme des vecteurs potentiels

d'agents entéropathogènes.

Les animaux qui proviennent des volières anciennes doivent également être considérés comme des vecteurs potentiels. Ils doivent être regroupés dans une même volière pour limiter la dissémination des bactéries pathogènes. Des coprocultures peuvent être effectuées sur ces animaux afin de pratiquer une thérapie adaptée (si nécessaire) et de vérifier si les modifications des volières anciennes portent leurs fruits.

En respectant ces critères, quatre types de lots peuvent être créés :

- Animaux de plus de 1,9 kg
- Animaux de 1,5 à 1,9kg
- Animaux de moins de 1,5kg
- Animaux vecteurs potentiels

Ces fourchettes de poids seront à adapter en fonctions de poids atteints lorsque les cages d'alimentation juvéniles seront installées dans tout l'élevage. En effet, notre étude a montré un gain de poids de 150 grammes avec le dispositif présent pendant les 3 derniers mois de croissance. Les poids atteints seront vraisemblablement supérieurs lorsque les animaux en auront bénéficié pendant toute leur croissance.

La volière avec les animaux dits « vecteurs potentiels » peut subir un traitement préventif à base d'enrofloxacin injectable pendant au moins 6 jours. L'efficacité de ce schéma a été prouvée sur des animaux issus de la capture.

✓ *Des coprocultures aléatoires permettront de vérifier l'efficacité des mesures mises en place*

Le jour du sevrage, il est facile, en plus de la pesée, de faire un dépistage des selles anormales (molles, liquides, sanguinolentes, mucoïdes). Ces informations, même si elles ne sont pas systématiquement liées à des pathogènes digestifs, peuvent renseigner l'équipe vétérinaire sur les risques d'apparition d'affections digestives.

Des prélèvements systématiques par échantillonnage quelques jours après le

sevrage doivent permettre d'évaluer l'efficacité des mesures mises en place et de connaître les volières à risques. Le fait de connaître le statut sanitaire de quelques animaux permet de porter une attention plus soutenue sur les volières ou le niveau de contamination semble plus élevé.

Toutes ces données (état des selles au sevrage, coprocultures aléatoires, coprocultures de diagnostic) peuvent permettre de créer une base de données. Par la suite, quand celle-ci sera assez complète, les coprocultures pourront ne plus être réalisées systématiquement. Cette base de données pourrait être créée par l'équipe du laboratoire qui centraliserait toutes les données issues des zones de sevrage.

✓ *L'alimentation qui suit la séparation maternelle doit être équilibrée et étalée dans le temps*

Les animaux jeunes n'ont pas les capacités d'ingestion des adultes. Un étalement de la prise alimentaire permet une meilleure assimilation et donc théoriquement un gain de poids plus rapide. La prise alimentaire pourrait être divisée en trois fois :

- la moitié de la ration de pellets après le nettoyage
- l'autre moitié avant midi
- et la ration de légumes vers 15h30 avant le départ des animaliers.

Une attention particulière doit être apportée aux fruits et légumes distribués. Ceux-ci doivent être murs et propres. Les besoins vitaminiques des animaux stressés sont importants. Les carences vitaminiques diminuent la résistance des individus, il faut que les besoins soient couverts par l'alimentation. La ration doit donc comporter plus de fruits que dans les volières d'élevage. A défaut, il est possible de pratiquer une complémentation minérale et vitaminique dans la nourriture.

Il faut souligner que les excès de Calcium favorisent les colibacilloses à cause de leur pouvoir alcalinisant. L'équilibre minéral de la ration est actuellement à l'étude, ce problème est un des points principaux étudiés.

### 3.4.3. Gestion sanitaire et thérapeutique des volières de sevrage

En présence de troubles digestifs dans une volière, le premier réflexe doit être d'isoler les animaux malades qui sont fortement excréteurs du pathogène en cause.

Par la suite la gestion comporte deux volets:

- un volet médecine individuelle
- un volet médecine des populations

✓ *Les animaux malades doivent recevoir une attention régulière et des traitements en rapports avec leurs symptômes doivent être prodigués.*

« Primum non nocere », Hippocrate (en français : **premièrement, ne pas nuire**).

Le plus souvent, les animaux déclarés malades sont découverts par l'animalier responsable. Le tableau clinique classique comporte :

- apathie ;
- diarrhée ;
- dépression ;
- déshydratation ;
- et blessures.

Une fois l'animal isolé, il faut rétablir l'équilibre hydro électrolytique et corriger la déshydratation en premier lieu. L'hypokaliémie et le déshydratation sont les conséquences directes de la diarrhée, elles peuvent être corrigées par des administrations orales de Ringer lactate®. Ces administration doivent être répétée au moins toutes les deux heures avec du liquide tiédi. Les animaux doivent impérativement être placés sous les lampes chauffantes.

Les bactéries en causes sont des bactéries à Gram négatif qui peuvent être responsables d'endotoxémie une fois lysées. On peut lutter efficacement contre ce phénomène avec des anti-inflammatoires non stéroïdiens.

Parallèlement à ces traitements symptomatiques, il convient de mettre en place un traitement antibiotique adéquat en respectant 3 règles :

- vite
- fort
- longtemps

Le respect de ces 3 règles permet de limiter l'apparition de souches bactériennes résistantes.

L'enrofloxacin, la colistine ou l'association amoxicilline acide clavulanique sont les antibiotiques de choix pour traiter les affections bactériennes du tube digestif des primates. Ces traitements doivent être administrés par voie injectable ou par voie orale forcée (sauf pour la colistine qui n'est pas absorbée par voie orale).

Une coproculture et un examen direct doivent être pratiqués. Ils permettent d'orienter le thérapeutique. En effet, il ne sert à rien de traiter une shigellose avec de l'oxytétracycline, une salmonellose avec de l'amoxicilline ou encore une amibiase avec des antibiotiques. De plus, il est très important de surveiller l'apparition d'éventuelles résistances bactériennes aux antibiotiques couramment utilisés au sein de l'élevage.

Les animaux malades puis guéris doivent être considérés comme porteurs latents et ils doivent subir un traitement épuratif long avant d'être réintroduits dans la volière.

La perturbation de la flore intestinale due à l'utilisation des antibiotiques peut engendrer des diarrhées (comme dans le lot 3 suite au traitement au Baytril®). Du yoghourt ou des reconstituants de flore intestinale pour carnivores domestiques peuvent être utilisés dans ce cas précis.

- ✓ *La volière doit être surveillée afin d'isoler les éventuels malades et de soigner tous les animaux si la maladie revêt un caractère contagieux.*

Les traitements par voie orale réalisés dans cet essai ne sont pas concluants. De plus, il y a un fort risque d'apparition de souches bactérienne résistantes quand les règles de l'antibiothérapie ne sont pas respectées (dose, durée, précocité).

Pour traiter l'ensemble d'une volière, la voie injectable est donc une obligation. Dans

les volières de sevrage, il est encore possible d'administrer oralement et individuellement des principes actifs.

Le choix des antibiotiques est très important ; les antibiogrammes réalisés dans l'élevage révèlent que :

- *Salmonella ssp.* est résistante à l'amoxicilline seule, à la streptomycine et à l'oxytétracycline et partiellement sensible à l'association amoxicilline-acide clavulanique
- *Shigella flexneri* est résistante à la streptomycine et à l'oxytétracycline
- *Yersinia pseudotuberculosis* ne présente pas de résistances aux antibiotiques couramment utilisés dans l'élevage
- *Yersinia enterocolitica* est résistante à l'amoxicilline seule (cette bactérie n'a jamais été isolée en zone de sevrage).
- Aucune souche bactérienne testée n'a présenté de résistance vis-à-vis de la colistine ou de l'enrofloxacin

L'utilisation d'antibiotiques présentant des résistances vis-à-vis de certaines bactéries permet la sélection de souches résistantes. Une utilisation abusive de l'oxytétracycline face à des affections parfois non liées à *Yersinia pseudotuberculosis* entraîne la sélection de souches de *Shigella flexneri* et de *Salmonella spp* résistantes à cet antibiotique. De plus certains laboratoires d'accueil désirent acquérir des animaux n'ayant jamais reçu cet antibiotique.

L'utilisation d'amoxicilline injectable non associée à l'acide clavulanique permet elle la sélection de souches de *Salmonella sp.* résistantes. Une colonie de *Shigella flexneri* a également été identifiée comme résistante à cet antibiotique. Il est indispensable d'utiliser désormais une association avec l'acide clavulanique pour limiter la propagation de ces souches résistantes.

De nouvelles maladies liées à ces souches résistantes sont à prévoir dans le futur.

Certaines diarrhées ne répondent pas aux antibiotiques. Une observation au microscope peut orienter le diagnostic vers une Balantidiose. Un traitement par voie orale à base de nitro-imidazolés peut alors être testé.

## 4. Analyse coprologique des fèces provenant de singes de capture.

### Chronologie :

#### Du 2 au 4 août:

- Prélèvements **P1, P2 et P3**

#### Du 11 au 15 août:

- Traitements individuels, tenant compte des résultats de laboratoire

#### Du 23 au 25 août :

- Prélèvement **P4, P5 et P6**

### 4.1. Matériels et méthodes

Dans cette étude, un lot de 30 animaux a subi 3 prélèvements de fèces trois jours de suite pour effectuer des analyses microbiologiques ; les prélèvements de 5 animaux seront observés au microscope pour des recherches de protozoaires.

#### 4.1.1. Matériel

Les macaques capturés arrivent sur le site de Chamouny. Ils passent 5 jours en cage individuelles afin d'être déparasités, tatoués, et tuberculinsés. Ensuite ils séjournent dans les espaces de semi-liberté avant d'entrer en quarantaine. Les animaux non conformes pour la recherche biomédicale sont "reformés" et relâchés dans le milieu naturel. Les animaux de moins de 1,5 kg arrivent directement après à Le Vallon en zone de réception.

Les macaques sont capturés sans discrimination de sexe ni d'âge. Une mise en lot homogène est effectuée. Notre échantillon est constitué d'animaux pesant entre 1,1kg et 2 kg et qui ont été capturés il y a moins de 10 mois.

Lors de l'arrivée de l'animal à Chamouny, chaque animal est ausculté, pesé et identifié par un collier gravé. Cette identification permet une analyse coprologique individuelle et nominative de tous les animaux.

Comme dans l'étude précédente, tout animal dont l'état de santé nécessite une intervention médicale est sorti de l'étude et subit le traitement médical adéquat.

Pour cette étude, il est possible d'attendre les résultats de laboratoires (cultures et antibiogrammes) avant d'entreprendre les traitements. En effet, avec la création du site de Chamouny, l'arrivée des animaux à Le Vallon est décalée dans le temps, beaucoup de volières sont donc disponibles pendant l'étude.

Le schéma choisi pourra ici être injectable, en effet les animaux de capture passent systématiquement 6 jours en cage individuelle à Chamouny. Une injection antibiotique en plus de la vermifugation et de la tuberculination ne constitue pas un stress supplémentaire très important. De plus avec cette voie d'administration on contrôle la dose administrée à l'animal et on écarte les risques de sous dosages rencontrés avec l'administration orale dans les aliments.

#### 4.1.2. Méthode de prélèvement et de conservation avant analyse

Les méthodes sont identiques à celles de l'étude précédente.

#### 4.1.3. Méthodes de diagnostic

Les méthodes sont identiques à celles de l'étude précédente.

### 4.2. Résultats : estimation des prévalences et efficacité du traitement

#### 4.2.1. Résultats des examens coprologiques avant le traitement

- 3 animaux sur 30 ont présenté des selles anormales lors de la première série de prélèvements.
- Sur les 8 animaux dont les selles ont été examinées pour des recherches de parasites, 6 étaient porteurs de *Entamoeba coli* et 2 de *Balantidium coli*.

- Les coprocultures bactériennes ont révélé le portage de *Shigella flexneri* par 17 animaux et le portage de *Yersinia pseudotuberculosis* par 13 animaux. Cinq animaux portent les deux bactéries. On a donc seulement 5 animaux qui ne portent aucune bactérie potentiellement pathogène.

A = aspect anormal des selles (liquide, molles, présence de sang ou de mucus).

Y = *Yersinia pseudotuberculosis*

EC = *Entamoeba coli*

SF = *Shigella flexneri*

EH = *Entamoeba histolytica*

S = *Salmonella spp.*

BC = *Balantidium coli*

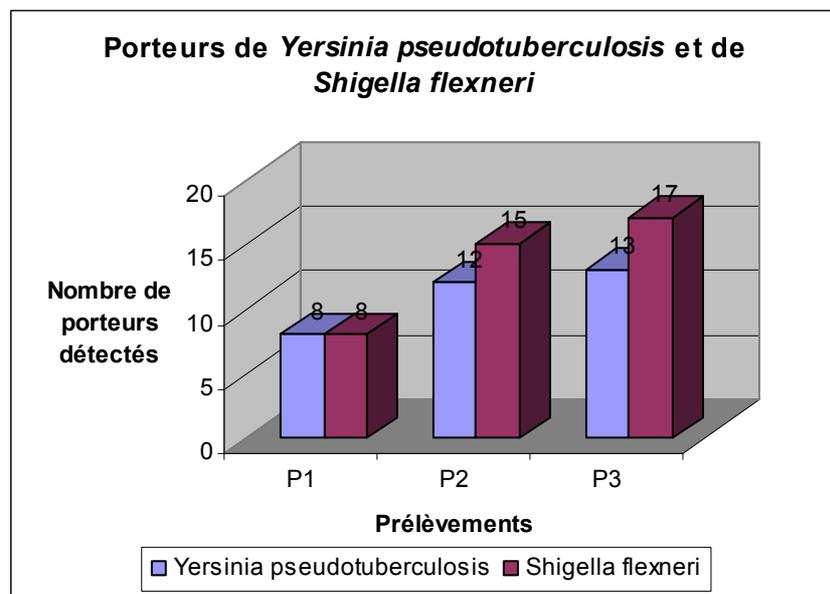
N°	Date de capture	Selles	P1	P2	P3	Total	Protozoaires
14183	18.07.04		SF			SF	BC EC
14185	18.07.04				SF	SF	EC
14180	18.07.04			SF	SF	SF	EC
14174	17.07.04			SF	SF	SF	BC EC
14172	17.07.04		SF	SF	SF	SF	EC
14170	17.07.04		SF	SF	SF	SF	
14113	25.06.04			SF		SF	EC
14115	25.06.04	A	SF	SF	SF	SF	
13850	9.01.04						
10990	11.08.03		Y	Y	Y	Y	
14076	8.06.04		SF Y	SF Y	SF Y	SF Y	
12113	6.10.03						
13905	2.02.04		SF Y	SF Y	SF Y	SF Y	
13893	27.01.04			SF		SF	
13364	22.11.03	A					RAS
13961	26.02.04		SF	Y		SF Y	RAS
14034	6.05.04		Y	Y	Y	Y	
13934	11.02.04		Y			Y	
14033	6.05.04		Y	SF Y		SF Y	
14004	30.03.04			Y		Y	
13958	26.02.04			SF		SF	
14112	25.06.04		Y	Y	Y	Y	
13782	22.12.03			SF Y	SF Y	SF Y	
13412	34.11.03			Y		Y	
<b>14129</b>	29.06.04	A	SF			SF	
13959	26.02.04				SF	SF	
14006	5.04.04				Y	Y	
13727	16.12.03						
14030	6.05.04		Y	Y	Y	Y	
11821	25.09.03						

Tableau 18 : résultat de la première série de prélèvements, lot capture

Les bactéries présentes en grand nombre sont les mêmes que sur les animaux de sevrage.

On peut remarquer que :

- les animaux récemment capturés (les 8 premiers de la liste) sont tous porteurs de *Shigella flexneri*. En revanche, aucun n'excrète *Yersinia pseudotuberculosis*. Ces animaux excrètent pour la plupart des amibes et parfois des *Balantidium coli*.
- Les animaux capturés depuis plus longtemps peuvent excréter l'un, l'autre, les deux ou aucun de ces deux pathogènes. Seulement deux selles de ces animaux ont été observées au microscope ; aucun ne présentaient de protozoaires ou de kystes d'amibes.



Graph 12 : nombre d'excréteurs de *Shigella flexneri* et de *Yersinia pseudotuberculosis* détectés au cours de la première série de prélèvements lot capture.

Les courbes de dépistage suivent la même évolution que sur les animaux de sevrage. Le nombre de faux négatif pour *Shigella flexneri* est nettement diminué lorsque les prélèvements sont réalisés trois jours de suite.

#### 4.2.2. Résultats des antibiogrammes

Toutes les souches isolées lors de cette étude ont subi un antibiogramme, les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 19.

Antibiotique / Type bactérien	Enrofloxacin 5 µg	Colistine 10 µg	Amoxicilline, ac.clavulanique 30 µg	Amoxicilline 25 µg	Sulfaméthoxazole	Streptomycine 10 µg	Oxytétracycline 30 µg
<i>Shigella flexneri</i> (17 tests)	S	S	S	S		R	R
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> (13 tests)	S	S	S	S		S	S

S= sensible R= résistante

Tableau 19 : résultat des antibiogrammes, lot capture

#### 4.2.3. Le traitement

Il est assez fréquent pour les animaux de cette classe d'âge de présenter une diarrhée fébrile dans le mois qui suit la capture, un traitement à base d'enrofloxacin et une fluidothérapie permettent dans la majorité des cas un rétablissement assez rapide.

Certains clients de Noveprim réclament un traitement à base d'enrofloxacin injectable (5mg/kg/j IM, soit 1mL/10kg de Baytril ® 5%,) pendant 10 jours avant l'exportation des animaux. Les antibiogrammes montrent une très bonne sensibilité des bactéries du genre *Yersinia* et *Shigella* vis-à-vis de cet antibiotique.

Aussi, c'est ce même principe actif qui a été choisi pour notre essai. La spécialité utilisée est le Baytril 5% ® injectable. Le médicament est injecté **6 jours** de suite par **voie intramusculaire** dans les cuisses à la dose de **5 mg/kg** soit 0,1 mL par kg de poids vif (l'injection se fait en alternance cuisse droite, cuisse gauche). La durée du traitement est de 6 jours car c'est le temps que passent théoriquement les animaux en cage individuelle sur le site de Chamouny. En effet, il faut garder à l'esprit que

cette étude à pour but premier de trouver un protocole efficace **et** applicable par la suite sur tous les animaux capturés.

Parallèlement à ce traitement, des mesures d'hygiène ont été prises

- avec la mise en place d'un pédiluve à l'entrée de la volière
- les opérations de nettoyage et de distribution de nourriture sont faites avec des vêtements propres et avant toute entrée dans une autre volière
- désinfection du balai servant à nettoyer les volières par immersion dans les pédiluves
- désinfection à l'eau chaude sous pression
  - o au début du protocole
  - o puis le dernier jour du traitement

Aucun incident n'est survenu pendant et après ce traitement.

#### 4.2.4. Résultat des examens coprologiques après le traitement

Aucune bactérie pathogène n'a été isolée lors de la seconde série de prélèvements. Sur les 5 échantillons de selles observés au microscope, 2 présentaient des *Balantidium coli* et un des kystes d'*Entamoeba coli*.

Un animal (14129) a présenté des selles molles tout au long de l'étude. L'examen microscopique a révélé une forte infestation par *Balantidium coli*. L'infestation n'avait pas de répercussion sur l'état général et l'état de vigilances mais ce singe était maigre et ne pesait que 1,1 kg.

## 4.2.5 Synthèse

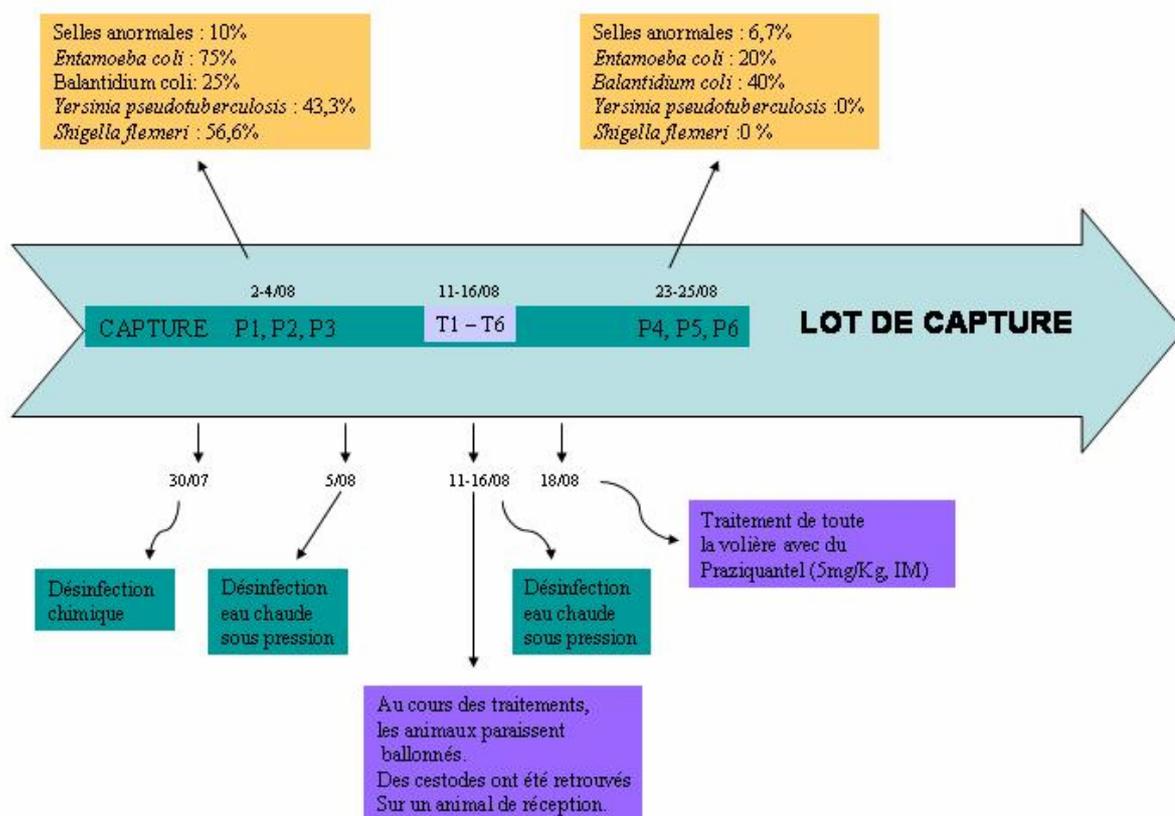


Schéma 7 : chronologie des étapes suivies par le lot de capture

Critère	Première série de prélèvements							Deuxième série de prélèvements						
	Nombre de selles anormales	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Entamoeba coli</i>	<i>Balantidium coli</i>	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Salmonella</i>	Nombre de selles anormales	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Entamoeba coli</i>	<i>Balantidium coli</i>	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Salmonella</i>
<b>R4 Lot capture</b>	3/30 10%	0/8 0%	6/8 75%	2/8 25%	13/30 43.3%	17/30 56.6%	0/30 0%	2/30 6,7%	0/5 0%	1/5 20%	2/5 40%	0/30 0%	0/30 0%	0/30 0%

Tableau 20 : Synthèse des prélèvements effectués pour l'étude sur la capture

Les ballonnements des animaux issus de la capture sont fréquents. La perturbation de la flore intestinale (adaptation à a nouvelle alimentation) en est sûrement la cause car ceux-ci ont progressivement disparus au cours de l'étude.

#### 4.2.6. Autres examens coprologiques réalisés

Des épisodes de diarrhée sont survenus sur de animaux de la zone de réception :

- dans la volière R 08, suite à un épisode de diarrhée, 5 animaux ont été testés. Un était porteur de *Yersinia pseudotuberculosis*. Ces animaux ont été capturés depuis 3 à 8 mois
- dans la volière R 03, sur 3 animaux testés (dont un en diarrhée fébrile), deux étaient porteurs de *Yersinia pseudotuberculosis* et un était également fortement excréteur de *Balantidium coli*. Un traitement à base d'enrofloxacin de tous les animaux de la volière a permis un rétablissement rapide des animaux malades. Ces animaux vivaient en captivité depuis 4 mois.
- Un animal de RF (récemment capturé) a été autopsié, il était excréteur de *Shigella flexneri* et de *Salmonella sp.* Des cestodes (*Bertiella studeri*) ont également été retrouvés dans son intestin grêle.
- Un animal récemment capturé et présentant une diarrhée aqueuse avec atteinte de l'état général était excréteur de *Yersinia pseudotuberculosis* et de *Balantidium coli*. Une réhydratation par voie orale et un traitement à base d'enrofloxacin et de cotriméthazole ont permis un rétablissement rapide et un arrêt de l'excrétion des deux pathogènes.
- En Q1, 4 animaux présentant de la diarrhée aqueuse, étaient excréteurs de *Yersinia pseudotuberculosis*. Ces animaux ont été capturés de 2 à 4 mois auparavant.

### 4.3. Discussion

#### 4.3.1. Biais rencontrés

La constitution du lot a induit un biais de sélection non négligeable. En effet, ont été écartés de la mise en lot:

- les animaux ayant déjà reçu un traitement antibiotique
- les animaux ayant déjà présentés des pathologies digestives
- les animaux non conformes (infirmités)
- les animaux de plus de 2 kg

Les résultats ne reflètent pas les prévalences dans le milieu naturel mais les prévalences sur la population de singes de moins de 2 kg qui rentrent en zone de réception.

Le fait d'écarter les animaux qui ont déjà présenté des accidents digestifs et qui ont été traités en conséquence, induit une sous estimation du nombre d'excréteurs de pathogènes. En effet, ces singes ont probablement été excréteurs avant d'être malades. Les traitements qu'ils ont reçus, ont modifié la flore intestinale qui n'est donc pas représentative d'un animal de capture.

#### 4.3.2. La capture et les protozoaires

*Balantidium coli* semble être le seul protozoaire d'importance chez les animaux capturés. Ce parasite est aussi bien retrouvé sur les animaux récemment capturés que sur ceux ayant déjà vécu quelques mois en captivité.

Après les traitements, 2 animaux sur 5 étaient excréteurs de ce parasite (très faiblement). En revanche l'animal 14129 a présenté des selles molles tout au long de l'étude et était fortement infesté par *Balantidium coli*.

Cet animal (capturé un mois avant le début de l'étude) était porteur de *Shigella flexneri* avant le traitement. *Balantidium coli* représente la seule cause infectieuse possible pouvant expliquer son faible poids et l'état de ses selles tout au long de l'étude.

*Entamoeba coli* a été souvent isolée avant les traitements mais ce parasite ne présente pas de pathogénicité particulière chez les macaques (Morelli, A., 1996).

#### 4.3.3. La capture et *Yersinia pseudotuberculosis*

Dans notre lot, aucune *Yersinia pseudotuberculosis* n'a été isolée sur les animaux très récemment capturés. Le premier animal excréteur a été capturé 40 jours avant le début de l'étude. En revanche, sur les coprocultures réalisées en dehors de l'étude, une a démontré la présence de la bactérie sur un animal capturé une semaine auparavant.

Les animaux capturés depuis plus longtemps excrètent eux très souvent ce pathogène. 10 animaux sur les 16 capturés depuis plus de 3 mois excrétaient cette bactérie.

*Yersinia pseudotuberculosis* ne semble donc pas très répandue dans la colonie sauvage. Sa prolifération apparaît liée à la vie en captivité. Les données issues de l'étude sur les animaux au sevrage appuient cette hypothèse. Les conditions d'hygiène de la vie en captivité sont totalement différentes de celles de la vie en liberté dans le milieu naturel. Le confinement apparaît comme le facteur de risque majeur de cette affection.

Le traitement entrepris montre une très bonne efficacité, aucun excréteur n'a été détecté après cette thérapeutique. Il faut réaliser des contrôles ultérieurement, il serait en effet intéressant de savoir si cette bactérie est excrétée de nouveau et au bout de combien de temps.

#### 4.3.4. La capture et *Shigella flexneri*

Cette bactérie a été retrouvée sur l'ensemble du lot. La date de capture semble également influencer le portage de cette bactérie :

- 6 animaux sur 17 capturés depuis plus de trois mois en sont excréteurs
- 10 animaux sur les 13 capturés depuis moins de trois mois en sont excréteurs

Les animaux capturés les plus récemment sont les plus stressés. Ce sont aussi eux qui excrètent le plus cette bactérie.

L'évolution du dépistage au cours de la première série de prélèvement montre la même évolution que sur les lots de sevrage. On a en effet recensé 17 excréteurs au total alors que seulement 8 l'étaient le premier jour de prélèvement.

Le traitement entrepris montre une très bonne efficacité. Aucun excréteur n'a été détecté après cette thérapeutique. Pour ce genre bactérien, il serait aussi intéressant de savoir si il y a ré émergence et au bout de combien de temps.

#### 4.3.5. La capture et le genre *Salmonella*

Ce genre bactérien ne semble pas poser de problème majeur suite à la capture. Il n'a été isolé que sur un animal autopsié qui présentait des cestodes et qui était également excréteur de *Shigella flexneri*.

### 4.4. Proposition de conduite à tenir

#### 4.4.1. Prophylaxie médicamenteuse

##### 4.4.1.1. Anti-protozoaires

*Balantidium coli* peut représenter une cause de diarrhée. Il faut en tenir compte lorsque l'on se trouve face à une diarrhée qui ne rétrocede pas aux traitements antibiotiques. On peut également envisager une infestation sur les animaux très maigres. L'usage du cotriméthazole est parfaitement adapté pour traiter cette

infestation. De plus, le portage peut être éliminé si tous les animaux sont traités et que des mesures hygiéniques sont prises en parallèle.

Les autres protozoaires ne semblent pas poser de problème particulier suite à la capture. Cependant, notre étude ne porte que sur 30 animaux, il n'est pas exclu que dans d'autres classes d'animaux, certains soient porteurs d'amibes pathogènes. Des prélèvements sur les cas de diarrhées récidivantes doivent impérativement être réalisés.

#### 4.4.1.2. Anthelminthiques

*Bertiella studeri* est un cestode d'origine asiatique qui a été importé accidentellement à Maurice avec les macaques au 17<sup>ième</sup> siècle (Bhagwant, S., 2004). Il infeste parfois les macaques mauriciens. Les 2 cestodes retrouvés sur l'animal de capture laissent penser que les vermifugations sont parfois inefficaces. La dose de praziquantel doit être strictement contrôlée pour éviter la dissémination de ces vers au sein des volières de semi liberté.

#### 4.4.1.3. Antibiotiques

Le protocole testé a montré une efficacité dans des conditions très précises (voie, dose, principe actif). Pour éviter tout problème lié à l'utilisation des antibiotiques (résistances, non efficacité, toxicité), il convient de respecter ce protocole rigoureusement.

Les bactéries isolées au cours de ce protocole montrent une sensibilité face aux antibiotiques identique à celles isolées au cours des expériences au sevrage (cependant aucune souche de *Shigella flexneri* n'a présenté de résistance face à l'amoxicilline utilisée seule).

Il serait quand même préférable de ne pas utiliser ce principe actif seul lors de maladies digestives. Une association avec l'acide clavulanique, ou l'utilisation de colistine injectable serait plus appropriée pour traiter ce type d'affection.

Les animaux qui recevront ce protocole de traitement sont en parallèle en pleine transition alimentaire. Des diarrhées dues à altération forte de la flore intestinale sont possibles. Dans ce cas précis, il faut s'assurer que *Balantidium coli* n'a pas proliféré et utiliser les reconstituants de flore intestinale commercialisés pour les carnivores domestiques.

#### 4.4.2. Mesures hygiéniques

L'hygiène des cages individuelles doit être irréprochable. Un nettoyage (avec détergent) et une désinfection efficaces des cages individuelles doivent être pratiqués à chaque rotation d'animaux.

De plus, les animaux capturés qui présentent le moindre signe clinique anormal doivent être placés à l'écart et à distance des animaux vigiles. Ils doivent être soignés et nourris en dernier (en bout de couloir par exemple avec un espace libre les séparant des autres macaques).

## Conclusion générale

Les essais thérapeutiques réalisés peu après le sevrage se sont montrés inefficaces. La voie d'administration orale représente la principale cause de cet échec. En revanche, l'essai par voie injectable sur les animaux récemment capturés est concluant avec l'arrêt total de l'excrétion des entérobactéries pathogènes présentes avant les traitements.

Tous les examens complémentaires réalisés ont souligné l'importance de l'hygiène et du stress en élevage. Les animaux peu stressés n'excrètent que très rarement des bactéries pathogènes. Le stress qui a accompagné notre étude (manipulations, forte présence de l'homme) n'a fait qu'accentuer le stress déjà fortement présent à ces périodes de vie et par ce biais l'excrétion des divers pathogènes recherchés.

Les mesures zootechniques semblent prioritaires face aux mesures thérapeutiques en zone de sevrage. En effet, la morbidité est somme toute faible et l'excrétion des pathogènes peut déjà être fortement réduite avec des mesures touchant l'alimentation avant le sevrage et l'hygiène des volières.

Le passage des macaques capturés par le site de Chamouny doit réduire sensiblement le stress lié à la capture et permettre une adaptation progressive à la vie en captivité. L'utilisation rigoureuse d'antibiotiques en plus de cette adaptation peut permettre de limiter les risques d'apparition de pathologies digestives au cours de cette période de stress.

Des espoirs importants de prévention sont apparus avec l'utilisation des probiotiques. A l'heure actuelle, tous les aspects de leur utilisation ne sont pas complètement connus même si des résultats positifs ont été enregistrés ici et là.

## Annexes :

### Annexe1:

#### Mortalité, hospitalisations et autres interventions sur les lots de sevrage

	Nombre d'animaux hospitalisés	Nombre d'animaux morts	Traitements après étude
Lot 1	4	1 (Yersiniose)	Vitamine C
Lot 2	4	0	Longicine®, Vitamine C
Lot 3	3	0	Baytril®, Vitamine C, Frédop®
Lot Témoin	2	1 (Yersiniose)	Longicine® Vitamine C

## Annexe2:

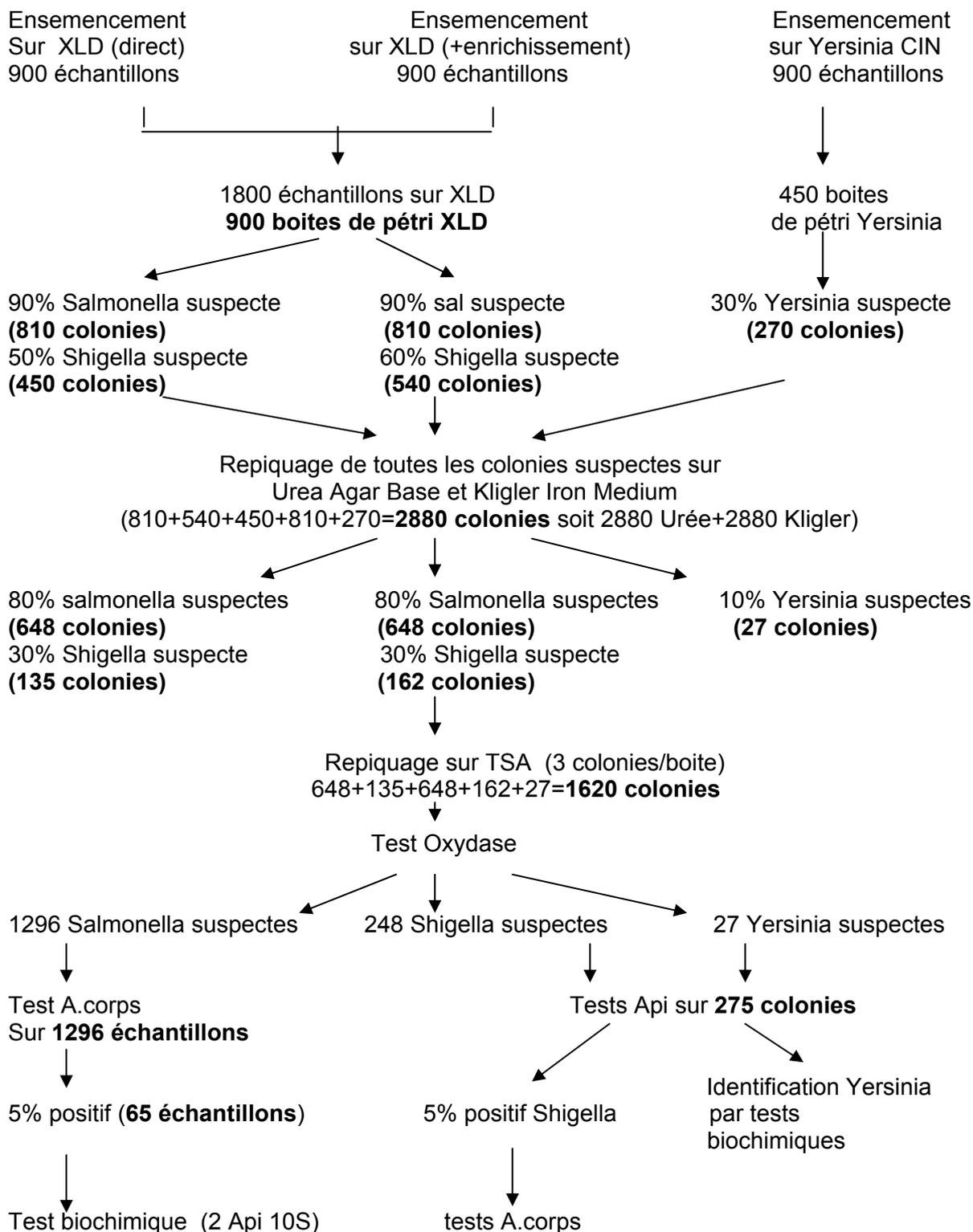
### Composition des spécialités utilisées :

- ✓ Frédop ®
  - Vitamine B1 ..... 1,500 g
  - Vitamine B2.....0,040 g
  - Vitamine B6 .....0,300 g
  - Vitamine PP.....3,500 g
  - Acide pantothénique.....1,800 g
  - Gluconate de Manganèse..... 0,0125 g
  - Gluconate de Cuivre.....0,0050 g
  - Gluconate de Cobalt.....0,0125 g
  - Excipient qsp..... 100 g
- ✓ Cofalysor®
  - Hydrolysate de poisson ..... 10 g
  - Métabisulfite de potassium.....0,15 g
  - Excipient vitaminé (B1, B2, B6, B12, Mn, Fe)..... 100 ml
- ✓ Longamox ®
  - Amoxicilline .....15 g
  - Excipient qsp.....100 ml
- ✓ Baytril ® 5% solution injectable
  - Enrofloxacin .....5 g
  - Excipient qsp ..... 100 ml
- ✓ Longicine ®
  - Oxytétracycline .....20 g
  - Excipient qsp ..... 100 ml

### Annexe 3:

#### Détail du budget alloué à l'ensemble de l'étude

- Matériel nécessaire



Items	Packaging	Capacité d'une boîte	Quantité utilisée	Nb nécessaire
<b>MILIEUX DE CULTURE &amp; COMPLEMENTS</b>				
XLD	Boite de 500g	606 boites	900 boites	2
Yersinia medium	Boite 500g	575 boites	450 boites	1
Yersinia supplément	Boite de 10			
Urea Agar base	Boite de 500g	6944 tubes	2880 boites	1
Urea complement	Boite de 10	1000 tubes	29 suppléments	4
Kligler Iron	Boite de 500g	2358 tubes	2880 tubes	2
TSA	Boite de 500g	834 boites	540 boites	1
Selenite broth base	Boite de 500g	2632 tubes	900 tubes	1
Biselenite de sodium	Boite de 100g	2500 tubes	900 tubes	1
<b>TESTS ANTICORPS</b>				
Salmonella poly O	Flacon 2mL	100 tests	1296	14
Salmonella poly H	Flacon 2mL	100 tests		3
Shigella	Flacon 2mL	100 tests		1 de chaque
<b>TESTS BIOCHIMIQUES</b>				
Api 10S	50 tests/boite	50 tests	450	9
Api 20E	20 tests/boite	20 tests	100	5
Réactifs				5 de chaque
<b>MATERIEL</b>				
Boites de pétri	600/boites	1200 tests	1890	2

- Coûts

ITEMS	Qté	Fournisseur	Prix unitaire	Prix (Rs) Total
<b>MILIEUX DE CULTURE &amp; COMPLEMENTS</b>				
Biselenite sodium	1	Ducray Lenoir	790.00	790.00
Selenite broth base	1	Ducray Lenoir	435.00	435.00
Tryptone Soya Agar	1	Ducray Lenoir	670.00	670.00
XLD medium	2	Ducray Lenoir	785.00	1,800.00
Yercinia CIN medium	1	Ducray Lenoir	1,050.00	1,050.00
Yersinia Selectice complement	3	Ducray Lenoir	600	1,800.00
Mc Conkey Agar base	1	Ducray Lenoir	1,000.00	1,000.00
Kligler Iron Agar	2	Ducray Lenoir	1,000.00	2,000.00
Urea Agar Base	1	Ducray Lenoir	939.00	939.00
Urea 40% supplement	5	Ducray Lenoir	295.00	1,475.00
<b>Total milieu et complements</b>				<b>11,959.00</b>
<b>ANTICORPS/TESTS SEROLOGIQUES</b>				
Salmonella Antisera Poly H Phase 1+2 2mL vials	14	Ducray Lenoir	1,650.00	23,100.00
Salmonella Antisera Poly O A/S 2mL vials	3	Ducray Lenoir	1,650.00	4,950.00
Shigella Boyd II Antisera Poly C (types 1-7) 2mL vials	1	Ducray Lenoir	1,650.00	1,650.00
Shigella Boyd II Antisera Poly C1 (types 8--11) 2mL vials	1	Ducray Lenoir	1,650.00	1,650.00
Shigella Boyd II Antisera Poly C2 (types 12-15) 2mL vials	1	Ducray Lenoir	1,650.00	1,650.00
Shigella disenteriae Antisera Poly A (types 1-7) 2mL vials	1	Ducray Lenoir	1,650.00	1,650.00
Shigella disenteriae Antisera Poly A (types 8-12) 2mL vials	1	Ducray Lenoir	1,650.00	1,650.00
Shigella Sonnei Antisera phase I et II 2mL vials	1	Ducray Lenoir	1,650.00	1,650.00
Shigella Flexneri Antisera Ploy B (Type 1-6) 2mL vials	1	Ducray Lenoir	1,650.00	1,650.00
<b>Total anticorps/tests sérologiques</b>				<b>39,600.00</b>

TESTS BIOCHIMIQUES				
Api 10S	9	OREGON Ltd	6,695.65	60,260.00
Api 20E	5	OREGON Ltd	4,632.17	23,160.00
NIT 1 et 2	5	OREGON Ltd	4,500.00	22,500.00
VP1 et 2	5	OREGON Ltd	2,600.00	13,000.00
JAMES	5	OREGON Ltd	1,950.00	9,750.00
TDA	5	OREGON Ltd	1,950.00	9,750.00
<b>Total tests biochimiques</b>				<b>138,420.00</b>
MATERIEL				
Bunsen burner	1			100.00
Petri dish (90mm)	2x600			3,576.00
Cotton	5			125.00
Erlenmeyer 1L	2			380.00
<b>TOTAL</b>				<b>4,181.00</b>
<b>TOTAL (1 Euro = 33 Rs)</b>				<b>194,160.00 Rs</b>

Ne sont pas pris en compte dans ce budget :

- les gants et écouillons nécessaires aux prélèvements (2940 Rs)
- les médicaments (5136 Rs)
- la main d'œuvre (pour les prélèvements et pour les analyses de laboratoire)

## Bibliographie

1. Alogninouwa, T.  
Gastroenterites Du Porc.  
*La Dépêche Technique*, 1994, 41, 26-35.
2. Amstutz, H., Anderson, D., Armour, J. et al  
Le manuel vétérinaire Merck. Deuxième édition française.  
Paris : Edition d'après, 2002, 2297p.
3. Banish, L.D., Sims, R., Bush, M. et al.  
Clearance of Shigella Flexneri Carriers in a Zoologic Collection of Primate.  
*Journal of American Medical Association*, 1993, 203, 1, 133-136.
4. Banish, L.D., Sims, R., Sack, D. et al.  
Prevalence of Shigellosis and Other Enteric Pathogens in a Zoologic Collection of primates.  
*Journal of American Veterinary Medical Association* , 1993, 203, 1, 126-132.
5. Baskins Gary. (Page consultée le 28 mai 2004)  
Pathology of nonhuman primates.  
Adresse URL : <http://www.primate.wisc.edu/pin/pola6-99.html>
6. Beaver, P.C., Blanchard, J.L., Seibold, H.R.  
Invasive amebiasis in naturally infected New World and Old World monkeys with and without clinical disease.  
*Am J Trop Med Hyg*, 1988, 39, 4, 343-52
7. Berthelot, L.  
Le macaque mauricien.  
Ile Maurice octobre 1992, 12p.
8. Bestel, E.  
Photographies réalisées à partir de coupe histologiques, 1995.
9. Bhagwant, S.  
Human Bertiella studeri (family Anoplocephalidae) infection of probable Southeast Asian origin in Mauritian children and an adult.  
*Am J Trop Med Hyg*, 2004 Feb;70, 2,225-8.
10. Bielli, M., Lauzi, S., Pratelli, A. et al.  
Pseudotuberculosis in Marmoset, Tamarins and Goeldi's Monkeys (callithrichidae/callimiconidae) Housed at European Zoo.  
*Journal of Zoo and Wildlife Medecine*, 1999, 30, 4, 532-536.
11. Black-Schultz, L., Coatney, R.W., Warnick C.L. et al.  
Lack of Reactivation of Shigellosis in Naturally Infected Enrofloxacin-Treated Cynomolgus Monkeys After Exogenous Immunosuppression.  
*Laboratory Animal Science*, 1997, 47, 6, 602-605.

12. Bonnote.S.  
Les helminthiases du macaque de l'île Maurice  
*Primatologie*, 2001, 4, 411-433
13. Bonnote.S.  
Maintien en captivité des primates simiens de l'ancien monde : problématique et proposition de solutions  
Th. : Med.Vet :Toulouse : 1997-TOU 3-4081, 195p.
14. Bosco, J.B., Innocent, R.B., Erume, J. et al.  
Campylobacteriosis, Salmonellosis, and Shigellosis in Free-Ranging Human-Habituated Mountain Gorillas of Uganda.  
*Journal of Wildlife Disease*, 2001, 37, 2, 239-244.
15. Bryant, J.L., Stills, H.F., Lentsch, H.R. et al.  
Campylobacter Jejuni Isolated from Patas Monkeys with Diarrhea.  
*Laboratory Animal Science*, 1983, 33, 3, 303-305.
16. Buhles W.C  
Y.pseudotuberculosis infection: study of an epizootic in squirrel monkeys.  
*Journal of clinical microbiology*, 1981, 13, 3, 519-525.
17. Committee on animal nutrition and committee on nonhuman primate nutrition.  
Nutrient requirement of nonhuman primates, second revised edition.  
Washington : The national academics press Washington, 2003, 286p.
18. Corpet, D.  
Nettoyage et désinfection.  
*Cours HIDAOA D3 ENVT*, 2003, 5-9.
19. Corrége,I. , Cornou, C. , Lenoir, H.  
Efficacité relative et coût des différents procédés de Nettoyage et désinfection en élevage porcin.  
*Journée De Recherche Porcine*, 2003, 35, 427-434.
20. Dufour, J.  
Photographies réalisées au sein de l'élevage Noveprim, 2004.
21. Elmore, D.B., Anderson, J.H., Hird, D.W. et al.  
Diarrhea rates and risk factor developing chronic diarrhea in infant and juveniles rhesus monkeys.  
*Laboratory Animal Science*, 1992, 42, 4, 356-359.
22. Euzeby, J.  
Protozoologie Médicale Comparée, vol 1.  
Lyon: Collection fondation Marcel Merieux, 1986.
23. Euzeby, J.P.  
Dictionnaire De Bactériologie Vétérinaire. (Page consultée le 25 mars 2004).  
URL : [http : www.bacterio.cict.fr/bacdicto/garde.html](http://www.bacterio.cict.fr/bacdicto/garde.html)

24. Fiennes, Pinkerton, M., Dzhikidze, E.K.  
Enteropathogenic Organisms.  
*Pathology of Simians Primates*, 1972, 2, 263-276.
25. Flynn, R.  
Parasites of Laboratory Animals.  
Argonne, Illinois: The Iowa state university press, 1973, 19-20; 114-118.
26. Fowler, M.E.  
Stress, 2<sup>nd</sup> edition.  
Zoo and Wild animal medicine.  
Washington, Eds Saunders, 1986, 1127p.
27. Fox, M.W.  
Laboratory animal Husbandary.  
Etology, Welfare and Experimental variables  
State University of New York Press, 1986, 261p.
28. Freney, J. , Renaud, F. , Hansen, W. et al  
Précis de bactériologie clinique,  
Paris, Edition Alexandre Lacassagne/ESKA, 2000, 1692p.
29. Hamlen, H.J. , Lawrence, J.M.  
Giardiasis in laboratory-housed squirrel monkeys: a retrospective study.  
*Lab anim Sci* , 1994 Jun; 44,3,235-239
30. Henry, Chambers, Jawetz.  
*Pharmacologie Fondamentale et Clinique* 7, 2000, 787-793.  
Padoue, Piccin Nuova Libreria, 2000, 1150p
31. Holmerg,C.A. , Leininger,R. , Wheeldon,E. et al.  
Clinicopathological Studies of Gastrointestinal Disease in Macaques.  
*Vet. Pathol* , 1982, 19, Supp 7, 163-170.
32. Kaplan, Jay R. 1986  
Psychological stress and behaviour in non human primate  
*In Comparative Primate Biology Vol 2A*, 1986, 455-492.
33. Kim, C.S., Abee, C.R., Wolf, R.H.  
Balantidiosis in a chimpanzee.  
*Laboratory Animal* , 1978,12, 231-233.
34. Lapierre, J.  
Antiamibiens. Tome 1.  
*Pharmacologie Clinique* 1, 1978, 1131-1146.
35. Levallois, L.  
Photographies réalisées au sein de l'élevage Noveprim, 2004.
36. Laudenslager, M.L., Bocca, M.L.  
Somes observation of psychosocial stressors, immunity, and individual

- differences in non human primates.  
*American Journal of primatology*, 1996, 39, 205-221.
37. Lowenstine, L.J. , Rideout, B.  
Diarrheal diseases of non human primates.  
School of Veterinary Medecine, University of California Davis, San Diego Zoo,  
2004.
38. Lucciani, P.  
Clinique et thérapeutique chez les primates.  
*Primatologie*, 1998, 1, 507-546
39. Mac Arthur, J.A., Wood, M.  
Yersiniosis in a breeding unit of *Macaca Fascicularis*.  
*Laboratory Animals* , 1983, 17, 151-155.
40. Malitte, A.  
Traitement et prévention des diarrhées du porc.  
*Recueil De Médecine Vétérinaire* , 1993, 169, 405-411.
41. Maurin-Blanchet, H.  
Des primates pour la recherche biomédicale : a la découverte d'une source  
d'approvisionnement de cynomolgus contrôlée, en provenance de l'île Maurice  
*Primatologie*, 1998, 1, 547-556
42. Morelli, A.  
Etude d'un élevage de macaques de l'île Maurice.  
Th. : Med.Vet: *Toulouse* ,1996,4095, 233p.
43. Mulder, J. B.  
Shigellosis in nonhuman primates : a review.  
*Laboratory Animal Science*, 1971, 21, 5, 734-737.
44. Munoz-Zanzi, A, Thurmond, M.C., Hird, D.W. et al.  
Effect of weaning time and associated management practices on postweaning  
chronic diarrhea in captive rhesus monkeys (*Macaca mulata*).  
*Laboratory Animal Science*, 1999, 49.6, 617-621.
45. Nakauchi, K.  
The prevalence of *Balantidium Coli* infection in fifty-six mammalian species.  
*The Journal of Veterinary Medical Science*, 1998, 61, 1, 63-65.
46. Olson, L.C., Bergquist, D.Y., Fitzgerald, D.L.  
Control of *Shigella* in celebs black macaques (*Macaca nigra*).  
*Laboratory Animal Science*, 1986, 36, 3, 240-242.
47. OMS  
Situation de la shigellose.  
Relevé épidémiologique hebdomadaire, 1997, 72, 73-80.

48. Piat, D.  
Dominante pathologique d'un élevage de cercopithecues.  
Th. : Med.Vet : *Maison Alfort*, 1995, 85p.
49. Pucak, G.J., Orcutt, R.P., Judge, R.J. et al  
Elimination of the *Shigella* carrier state in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) by trimethoprim-sulfamethoxazole.  
*J Med Primatol*, 1977, 6, 2, 127-32
50. Robert, S.  
*Pharmacologie Fondamentale Et Clinique*, 7<sup>ième</sup> édition  
Traitement de l'amibiase.  
Paris, 2000, 879-884.
51. Roche, S., Robin, S.  
*Campylobacter jejuni subsp.jejuni* (page consultée le 20/06/2004)  
URL: <http://lyon-sud.univ-lyon1.fr/bacterio-viro/DESLYON/fiches/chapitre1/robot.html>
52. Rosenberg, D.P, Lerche, N.W., Henrickson, R.V.  
*Yersinia Pseudotuberculosis* in a group of *Macaca Fascicularis*.  
*Journal of American Veterinary Medical Association*, 1980, 177, 9, 818-819.
53. Rout, W.R., Formal, S.B., Giannella, R.A. et al  
Pathophysiology of *Shigella* diarrhea in the rhesus monkey: intestinal transport, morphological, and bacteriological studies.  
*Gastroenterology*, 1975, 68, 2, 270-8
54. Russel, R.G., Krugner, L., Tsai, C-C. et al  
Prevalence of *Campylobacter* in infant, juvenile and adult laboratory primates.  
*Laboratory Animal Science* 38.6 (1988): 711-714.
55. Russel, R.G., Rosenkranz, S.L., Howard, H. et al.  
Epidemiology and etiology of diarrhea in colony-born *Macaca nemestrina*.  
*Laboratory Animal Science*, 1987, 3, 3, 309-316.
56. Russel, R.G., Sarmiento, J.I., Fox, J. et al.  
Evidence of reinfection with multiple strains of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in *Macaca nemestrina* housed under hyperendemic condition.  
*Infection and Immunity*, 1990, 58, 7, 2149-2155.
57. Sestak, K., Merritt, C.K., Borda, J. et al.  
Infectious agent and immune response characteristics of chronic enterocolitis in captive rhesus macaques.  
*Infection and Immunity* , 2003 ,71, 7, 4079-4086.
58. Sill, F.G., Reyes, J.P., Lezama, J.R. et al.  
Treatment of balantidiosis in lowland gorillas and a case complicated with salmonellosis and lead poisoning.  
*Proceedings of annual conference : American Association of Zoo Veterinarians*,

1996, 410-417.

59. Stuker, G., Oshiro, L.S., Schmidt, N.J. et al.  
Virus detection in monkeys with diarrhea : the association of adenovirus with diarrhea and the possible role of rotavirus.  
*Laboratory Animal Science*, 1979, 29, 610-616.

60. Sussman, R.W., Tattersall, I.  
A preliminary study of the Mauritian *Macaca fascicularis*,  
*Folia Primatologica*, 1980

61. Taffs, L.F. , Dunn, G.  
An outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis* infection in a small indoor breeding colony of red-bellied (*Saguinus labiatus*) tamarins.  
*Laboratory Animals*, 1983, 17, 4, 311-320

62. Takasaka, M. , Kohno, A. , Sakakibara, I. , et al  
An outbreak of salmonellosis in newly imported cynomolgus monkeys.  
*Jpn J med Sci Biol* , 1988 , 41, 1, 1-13

63. Teare, J.A., Loomis, M.R.  
Epizootic of balantidiosis in lowland gorillas.  
*Journal of American Veterinary Medical Association* , 1982, 181, 11, 1345-1347.

64. Tribe, G.W., Fleming, M.P.  
Biphasic enteritis in imported cynomolgus (*Macaca fascicularis*) monkeys infected with *Shigelle*, *Salmonelle* and *Campylobacter* species.  
*Laboratory Animals* , 1983, 17, 65-69.

65. Ullrey, D.E.  
Nutrition of Primates in captivity  
In : *Primates : The road to Self Sustaining Populations*.  
Verlåg : Kurt Bernischke, 1986, chapitre 55.

66. Vandermeersch, C.  
Diagnostic différentiel des principales affections rencontrées chez les primates non humains, contrôle des zoonoses.  
Th. : Med.Vet : Maison Alfort, 1990,N083, 413p.

67. Welsh, R.D., Ely, R.W., Holland, R.J.  
Epizootic of *Yersinia pseudotuberculosis* in a wildlife park.  
*Journal of American Medical Association*, 1992, 201, 1, 142-144.

68. Wolfensohn, S., Lloyd.  
Handbook of laboratory management and welfare. Second edition.  
Oxford: Blackwell science, University of Oxford, 1998, 247-250.

69. Wolfensohn, S.

Shigella infection in macaque colonies: case report of an eradication and control program.

*Laboratory Animal Science*, 1998, 48, 4, 330-333.