

Une enzootie de toxoplasmose caprine abortive

par MM. CALAMEL (M.) et GIAUFFRET (A.) (*)

Présentation faite par M. LAGNEAU.

Les Toxoplasmoses animales n'ont pas fait l'objet en France de beaucoup de recherches. En effet, les travaux publiés sont peu nombreux et ont uniquement porté sur des sondages sérologiques. Citons les enquêtes de :

— GUILLO et DESMONTS en 1960 sur 115 moutons (Test de lyse) (7).

— CALLOT, KREMER, GREBTO et CRANZ en 1970 sur 180 moutons (Immunofluorescence indirecte) (4).

— CAMPANA-ROUGET, LEVITTE et ASSMANN en 1972 sur 583 moutons et 890 bovins de la Côte-d'Or (Immunofluorescence indirecte) (5).

— BRIZARD, DORCHIES, MARTIN et DELORME en 1972 sur 212 chiens de la région toulousaine (Immunofluorescence indirecte) (3).

— DUBREUIL en 1972 sur 94 brebis de l'Ain et 480 de la Drôme (Test de lyse) (6).

Alors que la Toxoplasmose est considérée comme une cause importante d'avortements chez les petits ruminants dans divers pays (1-2-6), à notre connaissance aucun cas d'avortement à Toxoplasmes n'a été signalé en France. Aussi nous paraît-il intéressant de relater cette enzootie à caractère essentiellement abortif que nous avons observée durant l'hiver 1973/74 sur un

(*) Laboratoire de Recherches Vétérinaires, 63, avenue des Arènes, Nice, France, Directeur M. ROUSSEAU.

troupeau caprin des Alpes-Maritimes et de souligner l'intérêt de la technique d'immunofluorescence indirecte pour le dépistage et l'étude des avortements toxoplasmiques.

I. — OBSERVATIONS CLINIQUES

Le troupeau qui a fait l'objet de ce travail se compose de 150 chèvres sélectionnées, de race alpine chamoisée, rationnellement conduit en « zero grazing » et particulièrement bien géré tant sur le plan zootechnique que sanitaire. Ces animaux vivent soit en stabulation libre, soit dans des parcs ne comportant aucun pâturage ; ils ne sont en contact avec l'extérieur que par les aliments ou la paille qui leur sont distribués quotidiennement, par l'introduction annuelle de quelques chevreaux sélectionnés et éventuellement par l'intervention d'animaux divers (rongeurs, oiseaux, insectes, etc...).

Aucune enzootie d'avortement n'avait été enregistrée jusqu'à cet hiver 1973-1974 et ce depuis la création du troupeau, soit une dizaine d'années. A partir de décembre 1973, des cas d'avortements, d'expulsions de fœtus momifiés ou de mortinatalité ont été constatés, d'abord de façon épisodique, puis à un rythme de plus en plus rapide. Pour l'ensemble de l'enzootie, les observations suivantes doivent être retenues :

29 chèvres sur 117, soit 25 p. 100 de l'effectif, ont expulsé un chevreau mort entre le début décembre et la fin avril, dont 22 en février et mars, entraînant la perte d'une cinquantaine de chevreaux. Parmi les chèvres atteintes :

— 3 ont présenté des troubles œstraux (« cycle anarchique ») dès le mois de septembre. Deux d'entre elles, ayant par la suite été gravides, ont finalement avorté.

— 20 ont expulsé des fœtus, en général jumeaux, qui avaient subi une rétention plus ou moins prolongée. Ces fœtus étaient parfois momifiés, le plus souvent en cours de lyse ou de putréfaction. Dans certains cas, ils ont été éliminés sous forme de débris non identifiables, accompagnés de fragments d'enveloppes.

— 9 ont mis bas des jumeaux dont l'un était un avorton ou un mort-né en bon état et l'autre un chevreau vivant, apparemment sain et qui s'est ensuite développé normalement.

L'âge de ces chèvres n'a aucun rapport avec l'avortement. Elles se répartissent indifféremment entre 1 et 8 ans comme l'indique le tableau I.

TABLEAU I
Répartition des Avortements par classe d'âge

Age	Nombre de chèvres gestantes	Nombre de chèvres avortées	p. 100 de chèvres avortées *	
			A	B
1 an	19	5	22,7	17,2
2 ans	22	9	40,9	31
3 ans	13	1	7,7	3,5
4 ans	29	4	13,8	13,8
5 ans	15	7	46,7	24,1
6 ans	13	0	0	0
7 ans	5	2	40	6,9
8 ans	1	1	100	3,5

* Expression des p. 100 d'avortement dans chaque classe d'âge

A — par rapport au nombre total de chèvres gestantes

B — par rapport à l'ensemble des chèvres avortées.

Les rétentions placentaires étaient presque de règle et nous avons observé, chaque fois que nous en avons eu l'occasion des lésions congestives des enveloppes fœtales particulièrement au niveau du cotylédon. Malgré ces rétentions, aucune complication post-abortive n'a été notée.

II. — EXAMENS DE LABORATOIRE

A. Recherche des causes classiques d'avortement.

Devant la multiplication des accidents en février, des fœtus et des enveloppes placentaires (peu nombreuses en raison des rétentions) sont adressés au laboratoire. Aucun de ces prélèvements n'a permis de mettre en évidence la présence de Brucelles ou de Rickettsies par examen direct (coloration de Stamp) et de Salmonelles ou de Brucelles par culture.

Pour complément d'étude sont également adressés 15 sérums de chèvres ayant avorté. L'examen de ces sérums n'a pas permis de dégager un résultat significatif en ce qui concerne la Bru-

cellose, la Chlamydirose et la Fièvre Q (fixation du complément) ainsi que la Salmonellose (séro-agglutination), ce qui élimine l'intervention des trois principaux agents d'avortement. D'autre part, les recherches de *Listeria* par culture et de *Vibrio* à l'examen direct ont également été négatives.

B. Séro-diagnostic de Toxoplasmose.

Nous avons alors recherché sur ces 15 sérums la présence éventuelle d'anticorps anti-toxoplasmiques par la technique d'immunofluorescence indirecte en utilisant un antigène lyophilisé (*), les sérums dilués en raison de 2 à partir du 1/2 et un sérum fluorescent anti-globulines de chèvre (**) dilué au 1/100 dans une solution au 1/10.000 de bleu d'Evans. Sur ces 15 sérums d'animaux ayant avorté, les résultats ont été les suivants :

TABLEAU II
Séro diagnostic de la Toxoplasmose en Immunofluorescence indirecte pour 15 sérums de chèvres avortées

Titres I. F.	1/2 à 1/512	1/1024	1/2048	1/4096	1/8192	1/16384	1/32768	1/6553
Nombre de sérums positifs	0	1	1	2	0	2	6	3

Les sondages sérologiques effectués sur des ovins et des caprins nous avaient donné des titres dont le maximum dépassait rarement le 1/2.000, corroborant les résultats des enquêtes publiées ces dernières années (4,5). La présence de titres beaucoup plus élevés sur les 15 sérums étudiés (11 ont un titre supérieur ou égal au 1/16.000) ne pouvait qu'orienter le diagnostic vers la Toxoplasmose.

III. -- ETUDE SÉROLOGIQUE DE L'EFFECTIF

Une étude sérologique plus étendue a été entreprise dans ce troupeau sur quarante six animaux que nous avons sélectionnés et classés en 4 lots :

(*) B. D. Mérieux.

(**) Institut Pasteur.

- lot 1 : 24 chèvres ayant expulsé un fœtus mort de 0 à 12 semaines auparavant ;
- lot 2 : 5 chèvres gestantes qui ont avorté par la suite ;
- lot 3 : 13 chèvres ayant mis bas à terme des produits vivants et n'ayant présenté aucun trouble de la gestation ;
- lot 4 : 4 chevreaux jumeaux de mort-nés âgés de quelques semaines au moment du prélèvement.

Ces 45 sérums ont été soumis à l'épreuve d'immunofluorescence indirecte selon les modalités précédemment décrites. L'étude préliminaire actuellement présentée porte sur les prélèvements du 8 mars 1974.

Les résultats sérologiques ont été comparés en tenant compte des critères cliniques définis ci-dessus et de la date de l'expulsion du fœtus.

A. Expression des résultats en fonction des manifestations abortives.

1) Les résultats sérologiques exposés dans le tableau III sont exprimés pour les 4 lots précédemment définis.

Ces résultats amènent les constatations suivantes :

- Présence de titres très élevés (jusqu'au 1/130.000) sur les chèvres ayant avorté (lot 1).
- Présence de titres également élevés sur des chèvres devant avorter (lot 2).
- Présence de titres beaucoup plus faibles chez les bêtes n'ayant pas avorté (lot 3). Une partie de ces animaux présente cependant des taux d'anticorps non négligeables (supérieurs ou égaux au 1/2.000 pour 7 animaux sur 13).
- Présence d'anticorps à titre élevé chez les chevreaux du lot 4.

2) Analyse des résultats.

a) Comparaison statistique des lots 1 et 3 :

Au seuil de 5 p. 100 les variances n'étant pas significativement différentes, nous pouvons comparer les moyennes de ces lots selon la méthode des petits échantillons et nous trouvons une valeur de « t » telle que nous pouvons considérer ces 2 lots

comme significativement différents au seuil de 1 p. 1.000. Dans cet effectif, une corrélation doit donc être retenue entre le taux des anticorps toxoplasmiques en immunofluorescence et l'existence d'avortements ou de cas mortinatalité. L'origine toxoplasmique des accidents constatés peut être affirmée avec certitude dans la mesure où à des titres aussi élevés que le 1/30.000, il ne peut être question d'invoquer des réactions croisées.

b) Comparaison statistique des lots 2 et 3 :

Les résultats des lots 2 et 3 que nous avons trouvés significativement différents au seuil de 1 p. 1.000 nous donnent d'autre part la possibilité de prévoir l'expulsion d'un fœtus mort chez les chèvres gestantes présentant un taux sérologique très élevé (supérieur ou égal au 1/30.000).

c) La répartition des lots 1 et 2 est très comparable.

d) Les réponses sérologiques fortement positives pour certains animaux du lot 3 semblent indiquer une infection active bien que non abortive.

B) *Expression des résultats en fonction de la date d'avortement.*

1) Les résultats sérologiques des lots 1 et 2 sont classés dans le tableau IV selon les titres en immunofluorescence et selon leur position dans le temps par rapport à la date individuelle d'avortement.

De ces résultats découlent les constatations suivantes :

— Aucune différence significative n'apparaît entre la période pré-abortive et la période post-abortive. D'ailleurs, la comparaison des lots 1 et 2 (tableau III) permettait de prévoir un tel résultat.

— Il est impossible sur cet ensemble d'individus de montrer une cinétique des anticorps dans les limites de temps qui nous étaient offertes (— 6 semaines avant à + 13 semaines après avortement).

— Le taux des anticorps révélés est très variable d'un individu à l'autre à une même période. Ainsi, 2 à 3 semaines après l'avortement, les titres vont de 1/2.000 au 1/130.000.

— Il semble que pour la majorité des animaux, les taux d'anticorps s'établissent précocement et se maintiennent élevés plusieurs semaines, voire plusieurs mois après l'avortement.

TABLEAU III
Répartition des titres des 45 sérums examinés en Immunofluorescence

Log ₂ Titre IF	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	GMRT	M	S ²
Titre IF	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
Animaux	64	125	250	500	1.000	2.000	4.000	8.000	16.000	32.000	65.000	130.000			
Lot 1						2	1	1	2	7	9	2	30.420	9.92	2.78
Lot 2								1	1	2	1		24.330	9.60	4.75
Lot 3	1	2	1	1	1	2	1	2	2				900	4.83	6.0
Lot 4						1				1	1	1	27.120		

TABLEAU IV
Répartition des titres en immunofluorescence en fonction de la date d'avortement

Titres I. F.	Période pré-abortive				Période post-abortive							
	— 6 — 5	— 4 — 3	— 2 — 1	0 1	2 3	4 5	6 7	8 9	10 11	12 13		
1/130.000						1	1					
1/65.000		1			5	2	1				1	
1/32.000				2	3	2	1		1			
1/16.000	1							1	1			
1/8.000	1			1								
1/4.000							1					
1/2.000						1	1					
GMRT	11.314	65.000	32.000	40.666	32.250	18.500	16.000	22.630		65.000		

L'étude sérologique en cours dans ce troupeau nous permettra d'apporter plus de précision à ce sujet dans une publication ultérieure.

2) L'examen des résultats, compte tenu des observations cliniques, semble indiquer une grande variabilité de la pathogénie de la maladie dans ce troupeau. Il est probable que l'expression des taux sérologiques, non pas par rapport à la date d'avortement, mais par rapport à la date de la mort du fœtus, aurait permis une meilleure interprétation. Cette étude n'a pas été possible.

Nous pouvons cependant penser que les animaux qui présentent les taux les plus élevés à la mise bas ont subi une atteinte ancienne suivie de rétention fœtale. Des taux plus faibles pouvaient correspondre à une infection plus récente, immédiatement abortive. D'autre part, les troubles du cycle œstral signalés chez 3 chèvres pourraient être interprétés comme des résorptions embryonnaires en début de gestation.

CONCLUSIONS

L'étude de cette enzootie nous a permis de démontrer l'existence en France d'avortements toxoplasmiques chez les petits ruminants, ce que pouvait laisser prévoir le pourcentage élevé d'animaux à sérologie positive révélé lors de différents sondages.

Dans un troupeau de chèvres hautement sélectionnées, la répétition de cas d'avortements et de mortinatalité a présenté une incidence économique importante : avortement de 25 p. 100 des chèvres gestantes, perte de 50 chevreaux de valeur.

Du point de vue clinique, cette enzootie a été surtout caractérisée par la mortalité des fœtus à différents stades de la gestation et par la fréquence des cas de rétention. En effet, dans 2/3 des cas environ, nous avons noté l'expulsion d'un fœtus momifié, macéré ou en cours de lyse et la rétention des enveloppes a été à peu près constante. Quelques cas de trouble du cycle œstral semblent correspondre à des résorptions embryonnaires de début de gestation. Par contre, aucun signe pathologique pouvant correspondre à la Toxoplasmose n'a été signalé chez les chevreaux nés vivants.

La fréquence de l'avortement a été indépendante de l'âge des animaux. Ceci peut surprendre car les travaux de WATSON et

BEVERLEY en 1970 (8) ont bien démontré la valeur immunisante d'une primo-infestation, ce qui dans la pratique conduit à ne constater les avortements que chez les primipares. La contradiction que nous observons n'est qu'apparente et vient en fait confirmer cette notion d'immunoprotection. Dans ce cas, il s'agit d'un troupeau n'ayant que des contacts restreints avec le milieu environnant et il est vraisemblable que la Toxoplasmose est apparue pour la première fois dans une population indemne ce qui expliquerait que les avortements se soient manifestés quel que soit l'âge.

Ce travail démontre l'intérêt de l'examen sérologique pour le dépistage des avortements toxoplasmiques. L'immunofluorescence indirecte que nous avons utilisée apparaît comme une technique très sensible permettant d'établir un diagnostic de Toxoplasmose lors d'une enzootie abortive sans recourir à la mise en évidence des toxoplasmes par isolement sur souris qui demande un minimum de 8 semaines et une assez lourde infrastructure d'animalerie. Cette technique revêt un intérêt particulier en l'absence de prélèvements fœtaux ou cotylédonaires, ou lorsque ces prélèvements sont dans un tel état de lyse qu'il devient impossible soit d'isoler le parasite par inoculation à la souris soit de le mettre en évidence sur les tissus par les techniques de coloration ou d'immunofluorescence.

La persistance des anticorps fluorescents à des titres élevés pendant plusieurs mois laisse aux sondages sérologiques toute possibilité d'établir *a posteriori* un diagnostic de Toxoplasmose évolutive à manifestations abortives ou non.

Les examens sérologiques entrepris dans ce troupeau nous permettront ultérieurement de préciser certains éléments d'évolution et d'épidémiologie dans le cadre d'une infestation naturelle et en particulier de mieux connaître la cinétique des anticorps dans la période post-abortive.

Si *a priori* l'importance des avortements à toxoplasmes ne semble pas primordiale en France, la fréquence de l'infection latente laisse prévoir la possibilité d'une incidence abortive au moins chez les primipares des affectifs contaminés. L'éventualité d'une Toxoplasmose devra être évoquée chaque fois que la recherche des causes classiques d'avortement aura été négative. Une enquête sérologique en cours nous permettra de mieux connaître l'extension de cette zoonose chez les petits ruminants et de préciser son rôle abortif en France.

RÉSUMÉ

Une enzootie de Toxoplasmose caprine abortive

La technique d'immunofluorescence indirecte a permis d'établir un diagnostic de Toxoplasmose évolutive lors d'une enzootie abortive sévissant dans un troupeau caprin des Alpes-Maritimes.

Les résultats sérologiques obtenus démontrent l'intérêt de cette technique pour le dépistage rapide des avortements à Toxoplasmes chez les petits ruminants et pour l'étude épidémiologique de la maladie.

Mots-clés : Avortement. Caprin. Diagnostic. Immunofluorescence. Sérologie. Toxoplasmose.

SUMMARY

Enzootic caprine abortion due to Toxoplasmosis

Evolutionary Toxoplasmosis causing abortion among a flock of goats in South-East of France has been diagnosed by using indirect fluorescent antibody test.

Serological data show the interest of using this technic for quick diagnosis of abortion due to Toxoplasmosis and for epidemiological survey.

Key-words : Abortion. Caprine. Diagnosis. Fluorescence. Serology. Toxoplasmosis.

BIBLIOGRAPHIE

1. BEVERLEY (J. K. A.), WATSON (W. A.). — Further studies on Toxoplasmosis and ovine abortion in Yorkshire. *Vet. Rec.* 1972, **74**, 19.
2. BLOOD (D. C.), HENDERSON (J. A.). — *Médecine Vétérinaire, Vigot*, 1971, 414-629.
3. BRIZARD (A.), DORCHIES (Ph.), MARTIN (Ch.), DELORME (G.). — Recherche sur la fréquence de l'infection toxoplasmique du chien dans la région toulousaine par la méthode d'immunofluorescence indirecte. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 1972, **123**, 4, 447-451.
4. CALLOT (J.), KREMER (M.), GREBTO (L.), CRANZ (G.). — Etude sérologique de l'incidence de la Toxoplasmose chez les animaux de boucherie de Strasbourg. *Rev. Tech. Vét. des Abattoirs et d'Hygiène Alim.*, 1970, **69**, 30.

5. CAMPANA-ROUGET (Y.), LEVITTE (F.), ASSMANN (A. M.). — La Toxoplasmose chez les herbivores en Côte-d'Or. *Revue Méd. Vét.*, 1974, 125, 1, 99-104.
6. DUBREUIL (G.). — La Toxoplasmose congénitale de la brebis. Essais de chimio-prévention de la Toxoplasmose congénitale expérimentale chez la brebis par la spiramycine. Thèse de Doctorat Vétérinaire 1972, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.
7. GULLO (B.), DESMONTS (G.). — Diagnostic sérologique de la Toxoplasmose. Essai d'application aux animaux de boucherie. *Rev. Méd. Vét.*, 1960, 136, 385-398.
8. WATSON (W. A.), BEVERLEY (J. K. A.). — Ovine abortion due to experimental Toxoplasmosis. *Vet. Rec.*, 1971, 88, 2, 42-45.

Discussion

M. MICHEL. — Demande si la recherche du parasite lui-même a été tenté. Il lui semble souhaitable que, dans le cas du présent troupeau, une mise en évidence du parasite puisse être effectivement réalisée.

Réponse. — La mise en évidence du parasite a été effectivement tentée par isolement sur souris à partir de broyats de cotylédons et d'organes d'avortons. Mais l'isolement de la souche a été rendu impossible en raison de l'état de lyse ou de putréfaction avancée des quelques prélèvements dont les auteurs ont disposé.

M. SENTHILLE. — Les conclusions des auteurs ne font pas apparaître à quelle circonstance on peut attribuer l'apparition d'une maladie animale d'origine infectieuse dans un milieu jusque-là indemne. Il y a lieu de remarquer que dans l'espèce caprine l'activité génitale est saisonnière. La gestation débute en automne pour se terminer à la fin de l'hiver ; c'est donc seulement en hiver que les avortements peuvent être constatés.

Réponse. — Trouver une réponse satisfaisante au mode de transmission de la Toxoplasmose chez les herbivores lèverait un grand voile sur une question essentielle, actuellement sans réponse et qui préoccupe de nombreux chercheurs. Dans cette communication les auteurs se sont limités à l'aspect sérologique lors d'une enzootie abortive.

M. PERREAU. — Le titre de 1/130.000 en immunofluorescence apparaît considérable et même insolite. Dans d'autres espèces et notamment chez l'homme, les dilutions considérées comme très positives correspondent à des titres de l'ordre de 1/1.000 à 1/2.000. Il est possible que la toxoplasmose abortive de la chèvre constitue un stimulus immunitaire intense voire prolongé, entraînant des titres sériques très élevés.

Réponse. — Une étude sérologique entreprise par les auteurs et portant actuellement sur plus de 1.000 sérums de brebis ou chèvres ayant avorté, montre que des titres égaux et même supérieurs au 1/130.000 ne sont pas exceptionnels dans les effectifs où semble sévir une toxoplasmose évolutive.

M. GRIMPET. — Le travail présenté précise-t-il si les chèvres en cause ont été fécondées par I. A. ou par saillie naturelle. Dans cette dernière éventualité des recherches ont-elles été faites sur l'état de santé des mâles utilisés. Sachant que dans les parasitoses une affection intercurrente, cause des avortements, peut entraîner des indications sérologiques importantes, l'examen des mâles n'est-il pas dans ce cas à recommander ?

Réponse. — La reproduction dans cet élevage se fait exclusivement par saillie avec le concours de 8 boucs dont les titres sérologiques, contrôlés périodiquement, se sont toujours maintenus très faibles, ce qui pour cet effectif, paraît éliminer le coït comme mode de transmission du parasite. Le chat semble devoir également être éliminé. Il est possible de supposer que le parasite a été introduit par les quelques jeunes chevreaux achetés le printemps précédent. Mais cette hypothèse n'expliquerait pas une atteinte simultanée des cinq chèvreries. On pourrait incriminer également l'alimentation en eau du troupeau. En effet, des difficultés d'approvisionnement, durant l'été précédent, ont fait utiliser l'eau d'une rivière en aval d'une porcherie.
