

**Leptospirose bovine et équine
dans les fermes du Cher et du Loiret
au cours du printemps 1965. Isolement de souches
appartenant au groupe sérologique *Grippotyphosa***

B. FIOCRE

C. LATASTE DOROLLE *

(Avec la collaboration technique de M^{me} O. BERNARD
et de M^{lle} A. M. NERI d'ASTIER)

INTRODUCTION

Si la découverte du Spirochète d'INADA et IDO (16) a maintenant cinquante ans, la notion de la leptospirose des grands animaux de ferme ne s'est répandue qu'après la deuxième guerre mondiale au travers de la Russie, de la Palestine, des Amériques, de l'Europe, de l'Australie. . . .

Nous renvoyons le lecteur aux excellentes chroniques de VERGE et GORET (36,37), de BRION (2 et 3), aux remarquables travaux et parfaites rédactions de P. ROSSI et M^{me} KOLOCHINE ERBER (28, 29, 30, 31, 32).

Nous n'insisterons pas sur les controverses qu'ont suscité le dépistage d'une infection souvent inapparente chez les animaux domestiques (32, 1, 20), d'un diagnostic clinique différentiel peu aisé, d'une recherche d'étiologie particulièrement délicate dans le cas très particulier de la fluxion périodique du cheval (8), d'une répartition géographique parfois surprenante (12).

Actuellement, l'existence des leptospiroses bovines et équines est moins discutée. Les problèmes qu'elle pose du point de vue épizootologique et épidémiologique en tous pays sont très étudiés (14, 25, 13, 10, 15). L'enquête sérologique, conduite parfois à une très grande échelle (17, 6, 24, 34, 40) et l'infection expérimentale souvent difficile à réaliser (4) tendent de plus en plus à révéler et à reproduire la maladie elle-même dans tous ses aspects (35, 23).

* Nous exprimons notre vive gratitude au Docteur SILVERIE, ancien Directeur de l'Institut Pasteur de CAYENNE, qui nous a prodigué ses avis éclairés au cours de ce travail.

Poursuivant des recherches cliniques, sérologiques et microbiologiques entreprises depuis 1961 (11), dans des conditions souvent difficiles, nous apportons enfin la suite tant souhaitée aux travaux de P. ROSSI et M^{me} KOLOCHINE ERBER. Si l'isolement d'un leptospire rattaché au groupe sérologique *icterohemorrhagiae* à partir d'un liquide céphalo-rachidien, dans un cas d'encéphalose équine, avait donné la preuve irréfutable de l'existence de la leptospirose équine en France (32), l'existence de la leptospirose bovine n'avait pas eu semblable confirmation, malgré le dévouement acharné des chercheurs (30). Nous avons acquis cette confirmation dans le département du Cher, au cours du printemps pluvieux de 1965 en isolant dans un cas de forte hyperthermie et pneumonie atypique la première souche bovine française appartenant au groupe sérologique *grippotyphosa* *. Dans un département voisin, et à la même époque, deux souches de leptospire présentant les mêmes caractéristiques sérologiques ont été isolées d'une jument et d'une pouliche dans deux fermes peu éloignées. Les évidences sérologiques à l'égard du même sérotype ont été importantes et multipliées dans les deux départements.

L'ensemble de nos résultats portant actuellement sur 362 bovins et 61 équins pour lesquels le diagnostic de leptospirose pouvait être évoqué, ainsi que l'étude de quelques vecteurs (rats, animaux sauvages, arthropodes suceurs), sera détaillée prochainement. Nous ne présentons ici que les trois cas cliniques et le vecteur ayant permis l'isolement de souches dans nos conditions actuelles de travail.

MÉTHODES

Microbiologiques.

Après de nombreux essais infructueux acceptés pendant les premières années, nous nous sommes fixés des règles assez strictes. Nous avons renoncé aux tentatives d'isolement lors des manifestations cliniques d'hépto-néphrites tardives, sur les agonisants et sur les cadavres. « In vivo » comme « in vitro », les cultures, étaient dans ces cas vouées à l'insuccès. L'uroculture a été abandonnée en raison des difficultés du prélèvement chez le cheval et surtout chez la vache qui présente dans l'urèthre deux valvules, une sur le plancher et l'autre sur le plafond, en amont du méat

* Nous rappelons que la souche tunisienne dite « vache grise » de la collection de M^{me} KOLOCHINE ERBER est le fruit d'une recherche poursuivie en collaboration entre Paris et Tunis (CORDIER G. 7).

urinaire. La méthode de MENGES (22) comportant la dilution très poussée d'urines, directement émises dans le milieu de culture, sera probablement notre technique d'avenir.

Nous avons réduit nos essais à l'hémoculture pratiquée systématiquement, — et parfois un peu aveuglément —, en phase d'hyperthermie. A ce stade d'une quelconque maladie, les propriétaires d'animaux de ferme qui constatent, par exemple, une température de 41° 5 sont assez affolés pour faire appel d'urgence et accepter les prélèvements. La prise de sang faite à la jugulaire dans les meilleures conditions possibles d'asepsie est reçue directement dans un milieu de culture adéquat* et ultérieurement diluée du 1/20 au 1/20.000 en raison du pouvoir inhibiteur du sérum (JOHNSON et Coll. 18). Cette technique présente aussi l'avantage d'éloigner au fil des dilutions, le risque du développement concomitant d'un germe de contamination accidentelle. Cette technique s'est avérée très fructueuse entre nos mains au cours de la dernière année. Les cultures sont maintenues à 30° C pendant 60 jours et observées périodiquement. Des purifications et enrichissement sont éventuellement pratiqués par filtration sur bougie Chamberland L3 ou péritoine du cobaye.

Pour l'étude du vecteur, la culture du tissu rénal a remplacé l'hémoculture tenu compte de la nécessité de diluer également pour réduire l'effet inhibiteur des lipides de ce tissu (STALHEIM. 33).

Sérologiques.

Les recherches d'agglutinines antileptospire sériques ont intéressé les 14 sérotypes recommandés par le « Comité de Recherches sur les Zoonoses » de l'OMS/FAO (27).

En ce qui concerne l'identification des souches, un premier test d'orientation a été pratiqué mettant en cause 40 antisérums préparés avec des sérotypes et sous-sérotypes différents. Des épreuves de saturation permettront ultérieurement une classification selon les normes actuelles (39, 26).

RÉSULTATS

Cas « Vache N° 2.853 » ferme B..... à Subigny (Cher).

Le 3 mai 1965, l'un de nous se présentant pour une vaccination polyvalente d'un jeune chien se trouve en présence d'une génisse

* Milieu actuellement en usage à l'Institut Pasteur de Paris : Milieu « Reiter Ramme » profondément modifié par adjonction de phosphate et Neopeptone (21).

normande récemment introduite, triste, anorexique, ayant une température rectale de 41° 3 — un souffle court. L'auscultation révèle une infiltration pulmonaire avec exagération des bruits normaux, un cœur affolé (120 pulsations), une forte arythmie. L'animal émet devant nous des urines brunâtres.

Deux centimètres cubes de sang ayant été prélevés et ensemencés, l'animal est soumis à un traitement massif :

- 2 g de chlor-tétracycline par voie veineuse,
- 5 g de dihydrostréptomycine par voie intra-musculaire,
- 125 mg de Prednisolone par la même voie.

Une dose équivalente de dihydrostreptomycine est à nouveau administrée douze heures plus tard. La température rectale tombe à la normale le lendemain : 38° 6, et les signes de guérison sont très nets. Cette génisse mettra bas le 20 juin suivant deux veaux femelles dont un présentera le 2 août une diarrhée blanche et une hyperthermie : 40° C. Le traitement à l'oxytétracycline fera tout rentrer dans l'ordre et l'animal aura déjà été vendu en boucherie lorsque quinze jours plus tard nous nous présenterons pour une recherche d'anticorps. Le deuxième veau retrouvé à l'abattage présente une carcasse et une chair normales mais le foie est hypertrophié, orangé, les reins ont une teinte mastic.

Quinze jours après son épisode infectieux, cette vache n'avait présenté qu'un taux d'agglutinines antileptospire relativement peu élevé (1/500) mais exclusif contre le sérotype *grippyphosa*.

Le leptospire fut visible en culture le 17^e jour.

Cette souche dénommée « vermisseau », conformément à l'aspect qu'elle présenta dans les premières cultures, ne fut pas maintenue sans difficulté en raison de la présence d'un mycélium d'*Aspergillus Niger* qui se développa dans le délai d'apparition du leptospire. La purification a été obtenue par repiquages répétés à intervalles courts combinés avec des filtrations intermédiaires sur bougie Chamberland L3. L'essai sur le péritoine du cobaye a été infructueux en raison probablement du défaut de sensibilité de l'animal utilisé. Ce microorganisme leptospirien s'est adapté assez rapidement aux milieux artificiels et a repris une morphologie normale lorsqu'il a été séparé de l'*Aspergillus* qui ne semble pas avoir eu une action antibiotique décisive à son égard. Il appartient au groupe sérologique *grippyphosa* et sera ultérieurement classé tenu compte du récent travail de CERNUKHA (5) qui laisse entrevoir une nouveau sérotype au sein du groupe sérologique « *grippyphosa* ».

Cas « Jument N° 2.889 F », ferme A..... de Saint-Firmin/Loire (Loiret).

Le 12 juin 1965, l'un de nous est appelé pour examiner une jument ardennaise de 10 ans, pesant 850 kg, présentant depuis 3 jours une hyperthermie à 41° C. A l'inspection, on note :

- l'existence d'une iridocyclite bilatérale ancienne (1^{re} attaque il y a trois ans),
- une muqueuse oculaire de teinte capucine,
- l'impossibilité de déplacement normal (fourbure ou parésie musculaire ?) : l'animal ne peut manger que dans l'auge et ne peut lever la tête pour arracher le foin du râtelier,
- des urines foncées, des excréments ramollis,
- un cœur à 120 pulsations, arythmie, éréthisme.

L'hémoculture est pratiquée et le traitement échelonné sur un mois : 0,500 g d'oxy-tétracycline pure dissoute dans une suspension de 100 mg de Prednisolone, 3 fois par jour, 3 g d'érythromycine base en propylène-glycol — dihydrostreptomycine associée avec érythromycine ou pénicilline — facteurs lipotropes (acétyl méthionine, méthioninate de magnésium) — extrait d'artichaut..... — Ce traitement permet la rétrocession des symptômes mais la guérison est de courte durée et l'animal meurt le 14 juillet.

L'autopsie révèle un foie très atrophié, des reins hémorragiques, un cœur dilaté et aminci. Ces lésions expliquent à notre sens les rechutes constatées lors de tout arrêt des traitements antibiotiques, des facteurs lipotropes et du sérum glucosé.

L'hémoculture s'avère positive et pure dans toutes les dilutions, après 30 jours d'incubation à 30° C. Au cours d'une première épreuve d'orientation, cette souche semble appartenir au groupe sérologique *grippotyphosa*. Sa virulence n'a pas été essayée.

La recherche des agglutinines sériques chez la jument malade a été suivie quotidiennement du 3^e au 9^e jour et par la suite. Une réactivité majeure contre le sérotype *grippotyphosa* s'est manifestée rapidement à un taux élevé, 1/5.000 ; les coagglutinines contre les sérotypes *icterohaemorrhagiae* et *australis* atteignant respectivement le 1/1.000 et le 1/800. Vers le 20^e jour, le vrai support de spécificité apparaît bien être *grippotyphosa* : taux constant contre ce type et coagglutinines affaiblies. Par la suite, particulièrement à la veille de la mort, le taux s'est fortement abaissé jusqu'au 1/100.

Cas « Pouliche » N° 2.909 F de la ferme M....., St-Firmin/Loire (Loiret).

Cette ferme est située à moins de 800 mètres à vol d'oiseau de

la précédente. L'animal est une pouliche ardennaise de 15 mois qui a présenté brutalement le 16 juin 1965 une inappétence, une hyperthermie à 39° 5, un subictère de la muqueuse oculaire, un cœur à 100-110 pulsations, de l'arythmie, de l'éréthisme. Les urines sont à peine colorées. L'hémoculture est systématiquement pratiquée et le traitement suivant appliqué : 1 g d'oxy-tétracycline associé à 200 mg de Prednisolone (voie intramusculaire), acétylméthioninate de magnésium (50 ml d'une solution à 10 p. 100). La température rectale descend à 37° 5 et l'appétit revient.

L'hémoculture est positive le 23^e jour après incubation. Une contamination par un germe saprophyte non retenu par la bougie L3 (corynebactérie) fut fort heureusement éliminée par passage intrapéritonéal sur « cobaye-naissance » et hémocultures systématiques. Il s'agit d'un leptospire appartenant au groupe sérologique *grippotyphosa*.

Les agglutinines sériques antileptospires ne sont pas décelables chez cette pouliche au début de l'affection. La montée sera faible : elle atteint le 10^e jour 1/100 seulement mais exclusivement contre *grippotyphosa* ; le même taux est retrouvé au 45^e jour avec la même spécificité. La brièveté de l'atteinte, en raison de l'efficacité du traitement, nous semble ici en cause.

Sondages sur des vecteurs.

Cette étude n'a débuté que tardivement, en fin juillet.

LE RAT, qui suit les rivières et tous les ruisseaux du Cher et du Loiret, hante les mares qui servent d'abreuvoirs aux animaux de ferme, habite les greniers, assaille les auges, a d'abord été suspecté. L'étude microbiologique a porté sur les reins et la vessie de 16 rats musqués (*Fiber ziberthicus*) capturés vivants et sacrifiés par noyade (9). Deux souches de leptospires ont été isolées appartenant l'une et l'autre au groupe sérologique *icterohaemorrhagiae* (souche « Chamillard V » et « Hôpital III »).

La première d'entre elles s'est avérée d'emblée très virulente pour le cobaye de 120 g (mort le 5^e jour avec des lésions classiques d'ictère et d'hémorragie, — leptospires dans tous les systèmes). Cette souche avait évolué dans la première culture « in vitro » parallèlement à un contaminant banal, *Staphylococcus albus* et nous serions à nouveau tentés d'accorder une certaine valeur de stimulation à cette association avec un staphylocoque saprophyte telle qu'elle a été présentée par KIRSHNER (19-9).

La souche Hôpital III avait cultivé à l'état pur dans la dilution au 1/1.000. Elle s'est montrée peu virulente.

LES HÉRISSEONS et les TIQUES (divers *Ixodes*) recueillis tant sur les animaux de ferme que sur les animaux sauvages (cerfs...) ont été l'occasion d'isolement de leptospires dont l'étude actuellement en cours semble présenter un grand intérêt d'ordre épidémiologique et zootologique.

COMMENTAIRES

Il semble qu'après plusieurs années d'efforts, un heureux concours de circonstances ait favorisé l'isolement de ces premières souches françaises de *grippotyphosa* tant équines que bovines. Les conditions météorologiques propres au printemps 1965, le cycle de reproduction d'un vecteur de choix que nous n'avons pas su saisir, probablement le rat des champs *Microtus arvalis* (38), ont dû être les facteurs écologiques propices. Techniquement, le choix systématique de l'épisode septicémique et l'adoption de méthodes permettant d'échapper quatre fois sur cinq à la contamination presque obligée au cours d'un travail bactériologique effectué dans les fermes de campagne assurèrent la réussite. Nous ne saurions trop recommander désormais l'hémoculture systématique précoce pratiquée en dilutions successives.

Bien que deux grands animaux de ferme aient été atteints par un même sérotype leptospirien dans une même courte période, nous ne pouvons parler de « foyer de leptospirose à *grippotyphosa* ». Les fermes dans lesquelles nous avons pu révéler soit sérologiquement soit microbiologiquement le même type infectant étaient souvent éloignées, parfois même distantes de 50 kilomètres. Il faut penser à un vecteur capable de couvrir de grandes distances pour véhiculer lui-même de ferme en ferme le leptospire qu'il héberge à moins qu'il ne l'excrète dans le ruisseau qui assurera la transmission d'abreuvoir en abreuvoir. Si notre attention n'a pas été attirée sur un vecteur de *grippotyphosa* plus valable que le rat musqué, nous regrettons que la prolifération du campagnol n'ait pas été plus apparente et n'ait pas permis une meilleure localisation de l'infection.

Nous tenons à souligner l'aspect météorologique et saisonnier du problème des leptospiroses dans notre pays. Au cours de l'été sec et chaud 1964, les cas de leptospiroses cliniquement dépistées dans les mêmes régions du Cher et du Loiret reçurent des confirmations sérologiques différentes de celles de l'été 1965. Les réponses contre *icterohemorrhagiae* et surtout contre *australis* furent très importantes (11). Les représentants des espèces *erinacei* qui, par

les étés chauds viennent dans nos jardins et nos fermes chercher leur eau pourraient, s'ils s'avéraient, chez nous comme ailleurs, porteurs du type *australis*, éclairer d'un jour nouveau le « problème *australis français* ».

Nous aimerions enfin insister sur l'intérêt du traitement énergique précoce des leptospiroses animales. L'efficacité du traitement chez la pouliche 2909F est en raison directe de la précocité de son application lors d'une première atteinte par le leptospire : l'animal est sauvé et la montée des anticorps minime corrobore le résultat de l'hémoculture. Chez la jument 2889F, qui succomba, l'atteinte était ancienne : fluxion périodique datant de trois ans et réactivité contre divers sérotypes. On peut admettre dans ce cas l'hypothèse d'une réinfection par un nouveau sérotype (*grippotyphosa* ?) d'un organisme tellement affecté par une première atteinte leptospirienne (*icterohaemorrhagiae* ?) qu'il est incapable de supporter le traitement si bien toléré par la pouliche. D'une façon moins spectaculaire que chez la pouliche, le même type de traitement institué d'emblée chez la vache 2853F a eu des suites satisfaisantes. Du point de vue clinique et économique, la précocité du traitement, tant en leptospirose équine que bovine, apparaît donc comme un facteur de réussite. Ce mode de prévention radicale du vecteur domestique n'est-il pas également d'un très grand intérêt épidémiologique et zootologique ?

(Vailly-sur-Sauldre
et Institut Pasteur de Paris).

BIBLIOGRAPHIE

1. BABUDIERI (B.) et GASPARDIS (D.) (1965). — *Zbl. Vet. Med.* **12** (4) : 291.
2. BRION (A.) (1954). — Congrès National de Méd. Vét. : 25.
3. BRION (A.) et BERTRAND (M.) (1957). — *Concours méd.* **79** : 4505.
4. BURKI (F.) et WIESMANN (E.) (1963). — *Tier. Woschenschrift* **76** (14) : 265.
5. CERNUKHA J. G. (1965). — *J. Mikro. Epid. Imm.* **5** : 133.
6. CLARK (L. G.), KRESSE (J. I.), MARSHAK (R. R.) et HOLLISTER (C. J.) (1962). — *J. Amer. Vet. med. Ass.* **141** : 710.
7. CORDIER (G.) (1953). — *Recueil Méd. Vét. Alfort* **129** : 7.
8. DIMIC (J.), TADIC (M.), TRBIC (B.) et KOKANOVIC (R.) (1963). — *Bull. Soc. Sci. Vét. Lyon* **65** : 179.
9. DUCHASSIN (M.), LATASTE DOROLLE (C.), SILVERIE (R.) (1966). — *Bull. Soc. Path. Exot.* en cours.
10. FARINA (R.) (1965). — *G. Mal. Inf. Paras.* **17** : 439.
11. FIOCRE (B.) et LATASTE DOROLLE (C.) (1964). — *Bull. Acad. Vét. fr.*, **37** : 367.

12. GSELL (O.) (1958). — Off. Int. Epiz. Rapport XXVI Session, Bull. N° 447.
13. GORSANOVA (E. N.) (1964). — *J. Mikrob. Epid. Imm.* **10** : 120.
14. HANSON (L. E.) (1960). — *J. dairy Sci.* **43** : 453.
15. VAN DER HEDEN (J.) (1964). — « Leptospirosis in zoonoses » Elsevier *Path. Comp. Amst.* : 240.
16. INADA (R.), IDO (Y.), HOKI (R.), KANEKO (R.) et ITO (H.) (1916). — *J. exp. Med.* **23** : 377.
17. JIVOIN (P.), NICULESCU (A.), LELUTIU (C.), SOTIRIU (E.) et Coll. (1958). — *An. Ist. Pat. Ig. anim.* (Roumanie) **8** : 40.
18. JOHNSON (R. C.) et MUSCHEL (L. H.) (1965). — *J. Bact.* **89** : 1625.
19. KIRSHNER (L.) (1963). — *Trop. Geog. Med.* **15** : 65.
20. LATASTE DOROLLE (C.) (1965). — *Bull. Off. Intern. Epiz.* **63** : 891.
21. LATASTE DOROLLE (C.) (1966). — *Ann. Inst. Past.* en cours.
22. MENGES (R. W.), ROSENQUIST (B. D.), GALTON (M. M.) (1960). — *J. Amer. Vet. Med. Ass.* **137** : 313.
23. MORTER (R. L.), HERSCHLER (R. C.), FESSLER (J. F.), LAVIGNETTE (A.) (1964). — 68th. Ann. Proc. US Livestock San. Ass.
24. POPE (E. P.) et RUEDY (D. D.) (1963). — *J. Amer. med. ass.* **142** : 1395.
25. RAFYI (A.) et MAGHAMI (G.) (1959). — *Bull. Soc. Path. Exot.* **52** : 592 et (1960). — *Arch. Inst. Hessarek* **12** : 63.
26. Rapport des Comités Mixtes OMS/FAO d'Expert des Zoonoses (1959). — *Wld. Hth. org. Tech. Rep. ser.* **169**.
27. Rapport des Organisations Internationales spécialisées OMS/FAO. *Bull. org. Mond. Santé* (1965). **32** : 881.
28. ROSSI (P.) et KOLOCHINE ERBER (B.) (1954). — *Rev. Soc. Path. Gen. Com.* **656** : 432.
29. ROSSI (P.) et KOLOCHINE ERBER (B.) (1954). — *Rév. Méd. Vétér. Ecole d'Alfort* **8** : 474.
30. ROSSI (P.) et KOLOCHINE ERBER (B.) (1955). — *Bull. acad. vét.* **28** : 63
31. ROSSI (P.) et KOLOCHINE ERBER (B.) (1955). — *Bull. Acad. Vét.* **28** : 257.
32. ROSSI (P.) et KOLOCHINE ERBER (B.) (1956). — *R. Méd. Vét. Ecole d'Alfort* **1** : 22.
33. STALHEIM (O. H. V.) (1965). — *J. Bact.* **89** : 545.
34. SOVA (Z.) (1963). — *Českols. paras.* **10** : 147.
35. SOVA (Z.) (1965). — *Zbl. Bakt. 1. Abt. Orig.* **197** : 100.
36. VERGE (J.) et GORET (1951). — *Rev. Méd. Vét.* **102** : 255.
37. VERGE (J.) et QUINCHON (C.) (1958). — *Rev. du Prat.* **8** (29) : 3321.
38. WOLFF (J. W.) (1963). — *Acta Leidensia* **32** : 309.
39. WOLFF (J. W.) et BROOM (J. C.) (1954). — *Docum. Med. Geogr. Trop.* **6** : 77.
40. ZWIERZ (J.), KARMANSKA (K.), KONARSKA (D.) (1965). — *Med. Veter.* **21** : 465.

Assemblée générale

A l'issue de la Séance, l'Académie, réunie en Assemblée générale, approuve les comptes de l'exercice 1965.
