

Mammite à « *Cryptococcus neoformans* »

par G. SÉGRETAÏN, J. VERGE, H. DRIEUX, F. MARIAT,
A. PARAF, C. LABIE et B. THÉRON

Étude clinique

Au début du mois de juin 1955, l'un de nous est consulté pour une vache qui présente une mammite dans une exploitation comprenant 11 vaches.

Un seul quartier est atteint. La glande, très hypertrophiée, est dure et semble presque fibreuse. Le ganglion rétromammaire est volumineux. La palpation de la mamelle n'est pas douloureuse. Un œdème de faible volume s'étend aux membres postérieurs. La peau des cuisses et des jambes tombe par plaques avec les poils comme si l'on avait frictionné la région avec un révulsif violent. Mais l'animal n'extériorise aucun prurit.

La sécrétion lactée, très diminuée en volume, est modifiée dans son aspect. Le lait apparaît séreux, de couleur jaunâtre et s'il est récolté dans un récipient transparent, laisse voir au sein du liquide des bourbillons qui se déposent au fond. Par décan-tation on récolte alors une sorte de magma extrêmement vis-queux, glaireux, de couleur jaune pâle. L'état général est peu altéré et la température rectale légèrement supérieure à la normale, mais l'animal conserve son appétit et les grandes fonctions ne sont pas troublées.

L'évolution est celle d'une mammite chronique. Le quartier atteint devient fibreux et reste indolore et volumineux, l'œdème des membres postérieurs s'efface. L'état général reste bon et la température rectale revient à la normale au bout de 3 ou 4 jours.

Parmi les autres bovins, un individu développe des symptômes identiques au niveau des membres postérieurs : œdème et chute de peau, sans qu'apparaissent les signes de mammite.

Enfin, il est à signaler qu'à la même époque, un bélier appartenant à la même exploitation perd progressivement sa laine, tandis que des lambeaux de peau morte se détachent par

endroits. L'animal présente en même temps des signes frustes d'ataxie locomotrice ; il sera abattu au bout d'un mois. Nous n'avons pas pu révéler la présence d'agent pathogène dans les fragments de peau prélevés sur cet animal.

Examens de laboratoire

Nous recevons, au laboratoire, un échantillon de lait provenant de la vache atteinte de mammite.

A l'examen direct, nous observons de très nombreuses levures rondes, bourgeonnantes, immobiles, de taille variable (2 à 7 μ) et pourvues de capsules. Mettant en suspension une goutte de lait dans l'encre de Chine, les capsules, beaucoup plus nettes, se montrent très épaisses, surtout autour des levures de grande taille. La coloration par la méthode de May-Grünwald-Giemsa montre avec netteté la présence d'éléments arrondis et capsulés.

Soupçonnant alors l'action pathogène possible d'un agent appartenant au genre *Cryptococcus* nous ensemençons les milieux suivants :

- Eau peptonée ;
- Gélose ordinaire ;
- Gélose glucosée ;
- Gélose maltosée.

Une partie est placée à l'étude à 37°, une autre à 32°. Au bout de 24 heures nous éliminons certains tubes où se sont développées des cultures de bacille pyocyanique. Au bout de 48 heures, la plupart des milieux gélosés présentent à leur surface de toutes petites colonies opaques, blanches. L'examen bactérioscopique permet d'observer des éléments arrondis, bourgeonnants, non capsulés. Durant les jours suivants, les cultures se développent et prennent progressivement un couleur chamois. Au bout de 3 semaines, les géloses sont recouvertes d'un enduit muqueux, ocré, plus pigmenté sur gélose maltosée ou glucosée que sur gélose ordinaire.

En milieu liquide, la levure se développe plus lentement et produit un dépôt pulvérulent. En moût de bière liquide, le milieu se trouble, puis il se forme un dépôt et des fragments de voile. Un point est intéressant à souligner : les capsules se forment tardivement et ne sont visibles que vers le huitième jour ; elles sont beaucoup plus apparentes lorsque les levures se sont multipliées en eau peptonée que sur les milieux gélosés.

Les formes levures ne filamentent pas ; elles sont entourées d'une capsule polysaccharidique et se développent à 37°.

L'identification est complétée par les auxanogrammes et la recherche du pouvoir fermentaire de l'agent pathogène. Le tableau suivant en indique les résultats :

AUXANOGRAMMES		FERMENTATIONS	
Glucose	+	Glucose	—
Galactose	+	Galactose	—
Saccharose	+	Saccharose	—
Maltose	+	Lactose	—
Raffinose	±	Raffinose	—
Lactose	—		
Sulfate d'amonium	+		
Nitrate de potassium	--		

Soulignons qu'elles ne fermentent aucun sucre et n'assimilent ni le nitrate, ni le lactose. Enfin, comme nous le démontrons plus loin, ces levures se révèlent pathogènes pour la Souris. Nous avons donc isolé une souche de *Cryptococcus neoformans* (*Torulopsis neoformans*).

Pouvoir pathogène expérimental

Pour confirmer ce diagnostic, nous avons voulu étudier la transmission de l'affection à la Souris. Nous inoculons 8 souris par voie intrapéritonéale. 4 souris reçoivent des doses croissantes de 0,1 cm³ à 0,5 cm³ de lait, 4 souris reçoivent les mêmes doses de lait auquel nous adjoignons de la pénicilline et de la streptomycine.

Une souris du premier lot, ayant reçu 0,5 cm³ de lait meurt le treizième jour ; une souris du deuxième lot meurt le dix-septième jour ; une troisième souris meurt le vingt-deuxième jour et nous sacrifions tous les animaux encore vivants le vingt-troisième jour.

L'autopsie révèle chez tous les individus des lésions identiques, moins marquées, certes, chez les souris sacrifiées. L'ouverture de l'abdomen montre une splénomégalie et une hépatomégalie avec présence de très petits nodules visibles à jour frisant ; les autres organes sont normaux.

Dans la cavité thoracique les poumons ne semblent pas lésés, mais un examen attentif permet encore, chez certaines souris,

de voir de très fins nodules disséminés sur et dans le parenchyme pulmonaire.

Des prélèvements sont effectués en vue d'un examen histologique, les coupes sont colorées à l'hémalum-éosine.

Dans le foie, de petites lésions histio-plasmocytaires sont éparpillées avec quelques rares parasites plus ou moins bien colorés.

La rate montre un parenchyme très remanié : on observe des macrophages à très gros noyaux avec quelques rares parasites.

Dans le mésentère sont disséminées plusieurs grosses lésions de type cyste avec de très nombreux gros parasites.

Le parenchyme pulmonaire est singulièrement modifié dans son aspect : les parois alvéolaires fortement épaissies diminuent le volume des alvéoles qui, par endroits, sont comblés par des cellules de type histio-plasmocytaire et quelques polynucléaires. Les parasites petits, à capsules peu colorées, sont localisés au sein de lésions à réaction cellulaire intense avec quelques épanchements sanguins.

Dans le cerveau on peut observer, soit de petits foyers de type cyste, soit de gros foyers, quelques gros parasites de formes classiques au milieu de nombreux autres plus petits de formes allongées à contour irrégulier et de couleur violette.

Nous avons complété ces examens par la recherche de la sensibilité de *Cryptococcus neoformans* à la nystatine en vue d'un traitement éventuel des bovidés atteints. Le tableau ci-dessous indique les résultats obtenus :

En milieu liquide : inhibition peu marquée.

En milieu solide :

Témoin			croissance	+++.
3,1 µg de nystatine			croissance	+
6,2	—	—	—	± (2 à 3 colonies).
12,5	—	—	—	± (2 à 3 colonies).
25	—	—	—	± (1 colonie).

Traitement

Connaissant les difficultés du traitement des Cryptococcoses humaines et animales, et l'électivité d'action de l'actidione sur *Cryptococcus neoformans*, nous avons voulu utiliser cet antibiotique, d'autant plus que la nystatine semblait peu active *in vitro*.

Nous étions ignorants de la tolérance mammaire vis-à-vis de l'actidione, de sorte que la posologie fut fixée de façon quelque peu empirique.

La vache reçoit en infusion par le trayon, dans chacun des 2 quartiers atteints, 25 mg d'actidione en une seule injection chaque jour pendant 3 jours de suite, puis 3 autres injections de 50 mg tous les 2 jours. L'animal a reçu ainsi une dose totale de 450 mg d'actidione en 9 jours.

La thérapeutique est fort bien tolérée tant au point de vue général que local; en particulier aucune trace d'inflammation de la mamelle n'est à signaler.

Les résultats obtenus sont plus discutables. En effet, si les examens bactériologiques pratiqués sur le lait de ces quartiers n'ont plus jamais permis la mise en évidence de *Cryptococcus neoformans*, en revanche la mamelle est restée volumineuse et la sécrétion lactée quasi nulle. De sorte qu'à l'encontre de la stérilisation de l'organisme, nous avons l'impression d'avoir subi un échec du point de vue clinique.

« *Cryptococcus neoformans* » chez les animaux

La cryptococcose, appelée aussi torulose animale, est connue depuis fort longtemps, mais il semble que les cas se font plus fréquents depuis une dizaine d'années. La plupart des observations de torulose animale ont été décrits aux Etats-Unis. Il est possible que l'usage exclusif des antibiotiques antimicrobiens soit une cause de l'extension de l'affection, comme il a multiplié les cas de moniliasés; STUART, d'une part, LERNAU et SHAPIRA, d'autre part, ont observé des infections par les levures, notamment des *candida* après traitement à la pénicilline.

Chez le Cheval, dès 1902, FROTHINGHAM signale des lésions pulmonaires. MEYER, en 1912, trouve le même micro-organisme qu'il nomme *Torula nasalis* dans une prolifération nasale à allure de myxome chez un cheval de Pennsylvanie. SCHELLNER, en 1905, isole de *granulomes* mycosiques des cavités nasales d'un cheval, en Allemagne, une levure pathogène pour la souris et le cobaye.

En 1935, WEIDMANN identifie le même agent dans une excroissance de la lèvre chez un cheval qui à l'autopsie se révèle atteint d'une affection généralisée.

Cryptococcus neoformans a encore été retrouvée par KIKUCHI, en 1923, dans des lésions identiques à celles décrites par SCHELLNER; par MAC GRATH, chez un animal atteint d'encéphalite en 1954.

Chez les Bovins, la cryptococcose se localise généralement à la mamelle, mais peut se rencontrer également sous d'autres formes.

SAN FELICE, en 1901, signale la présence d'un cryptocoque dans les ganglions lymphatiques d'un bœuf. En Italie également, en 1904, GROTTI et BRAZZOLA (cités par REDAELLI et CIFERRI) isolent une levure identique d'une tumeur myxomateuse de la cavité nasale d'une vache. Ces levures ont été reconnues comme responsables de mammites chez la Vache par ROLLE, en Allemagne, en 1934, qui rapporte 3 cas d'infection de la mamelle.

MURPHY et DRAKE observent, en 1947, en 6 ans, 10 cas d'infection mammaire par les levures.

En 1949, ANDERSEN et JORGENSEN signalent, à la suite du traitement de la mammite streptococcique par des injections intramammaires de pénicilline, des troubles qui seraient dus à des levures.

POUNDEN, AMBERSON et JAEGER sont les premiers, en 1952, à signaler une véritable épizootie de mammites bovines dues à *Cryptococcus neoformans*. Dans une exploitation comprenant 235 vaches, 106 animaux sont atteints en une année; les cas cliniques les plus graves se sont présentés dans les premiers mois, puis l'infection progresse presque sans symptômes. Ils observent une énorme tuméfaction mammaire avec œdème généralisé persistant durant 2 semaines ou plus dans les cas graves; les ganglions rétromammaires sont hypertrophiés. La production laitière est fortement diminuée et le lait, de coloration grisâtre, offre un aspect muqueux. Les antibiotiques se sont avérés inefficaces. Cependant, la maladie régresse spontanément. INNES, SEIBOLD et HARENDZEN montrent que les lésions rencontrées dans ces mammites sont d'un type particulier. Le processus lésionnel consiste essentiellement en une destruction, ou une véritable lyse de l'épithélium des canalicules et des canaux galactophores provoquée par une multiplication massive des micro-organismes dans leur lumière. Elle est suivie d'une réaction histiocytaire diffuse ou par une réaction franchement granulomateuse dans les stades chroniques ultérieurs. Les ganglions rétromammaires sont souvent intéressés. Une vache présentait des foyers d'infection cryptococcique dans les poumons. SIMMS, NICHOLS et MORSE, en 1953, TUCKER, en 1954, signalent aussi des mammites à *Cryptococcus neoformans*. Il est à remarquer que tous ces travaux nous viennent des Etats-Unis.

En Europe, GALLI, en 1954, observe en Italie, à la suite de traitement de mammites streptococciques par la pénicilline, 2 enzooties de mammites mycosiques, la première, à *Candida pelliculosa*, frappe 9 animaux; la seconde, due à *Cryptococcus neoformans* (Debaromyces) atteint 26 vaches laitières.

Tout récemment, BENITO TRUJILLO, BORREL et OGER relatent 2 cas de mammites où ils isolent à l'état pur une levure qu'ils supposent être *Cryptococcus neoformans*.

A la lumière des travaux de SIMON, NICHOLS et MORSE, on peut se demander si l'affection ne se généralise pas, puisque ces auteurs, à l'autopsie d'animaux sacrifiés, retrouvent *Cryptococcus neoformans* dans les ganglions et la rate.

Le traitement spécifique de ces mammites est à découvrir; les antibiotiques classiques : pénicilline, streptomycine, auréomycine, chloromycétine, terramycine, oxytétracycline... sont sans action. Les polymyxines B et E seraient très actives selon FLORESTANO et BÄHLER; la circuline et la candidine pourraient être utilisées. LEVI a montré l'augmentation considérable de l'activité fongistatique de la tyrothricine par l'iodure de potassium. SIMON, par des tests *in vitro*, accorde une valeur certaine à l'action fongicide de la polymyxine B et du sulfate de néomycine. DROUHET insiste sur la valeur de la nystatine en médecine humaine. POUNDEN, AMBERSEN et JAEGER conseillent la sulfaméazathine, le mapharsen ou le merthiolate. BENITO TRUJILLO cite l'acide undécylinique, les chlorophénols et chloronaphtols, les éthers de l'acide p. oxybenzoïque, les diamidines aromatiques (propamidine, stilbamidine), les composés à base de thiosemicarbazone et surtout l'éthylmercurithio-salicylate de sodium. Pour SIMON, sont à retenir comme inhibiteurs actifs *in vitro* : l'éthylvanillate, le n-propyl, p. hydroxybenzoate et le méthyl p. hydroxybenzoate.

Nos essais soulignent *in vivo* l'action de l'actidione et celle possible de la nystatine.

Chez le Porc, l'affection est signalée en France par VUILLEMIN.

Chez le Chien, la maladie est l'objet de plusieurs travaux aux Etats-Unis depuis 4 ou 5 ans, bien qu'elle soit assez exceptionnelle. Elle se développe sous une forme chronique et il semble que la localisation au système nerveux soit la plus commune.

SEIBOLD, ROBERTS et JORDAN relatent le cas d'un chien traité pour une otite moyenne de l'oreille, qui, sacrifié, présente une sinusite et une méningo-encéphalite dues à *Cryptococcus neoformans*. L'agent étiologique est retrouvé au niveau du quatrième ventricule et des plexus choroïdes.

SMITH, FISCHER et BARNUM signalent une stomatite ulcéreuse et une rhinite chez un chien provoquées par *Cryptococcus neoformans*, que ces auteurs mettent en évidence dans les ganglions et la rate.

Chez le Chat, HOLSWORTH et COFFIN observent un cas de coryza

chronique. Après une période d'amélioration par traitement aux antibiotiques, les auteurs voient apparaître une dilatation pupillaire, la cécité et un catarrhe nasal incoercible.

L'animal est sacrifié. A l'autopsie, une masse d'allure graisseuse intéresse les os ptéridoïdiens et présphénoïdes et comprime les nerfs optiques. Cette ostéomyélite se montre due au même agent (*Torula histolytica*).

La torulose est encore rencontrée chez le Guépard par WEIDMANN et RADCLIFFE, le Singe et la Civette palmée.

Conclusions

En conclusion, nous voyons que la cryptococcose se rencontre chez la plupart des mammifères domestiques; c'est une affection rare, qui cependant peut sévir sous une forme enzootique et provoquer des mammites chez les Vaches laitières. Les lésions se rencontrent surtout au niveau du système nerveux et du tissu lymphoïde (rate et ganglions lymphatiques). Hormis le cas de mammite, le diagnostic est difficile car la maladie, d'allure lente, ne s'extériorise souvent que par des symptômes frustes.

Le traitement, difficile dans toutes les espèces animales, peut se réaliser à l'aide d'antiseptiques ou surtout d'antibiotiques fongicides.

BIBLIOGRAPHIE

1. ANDERSEN (B.-J.) et JORGENSEN (L.-K.). — *Nordisk Veterinaermedin*, 1949, **1**, 938.
2. BARRON (C.-N.). — *J. of. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1935, **127**, 125.
3. BENHAM (R.-W.). — *Trans. Ny Acad. Sci.*, 1935, **17**, 418.
4. BENNITO TRUJILLO, BORREL (A.-J.) et OGER (C.). — *Rev. Méd. Vét.*, 1935, **18**, 586.
5. DROUHET (E.). — *Presse Médicale*, 1935, **63**, 620.
6. DROUHET (E.), SEGRETAIN (G.) et AUBERT (S.-P.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1930, **79**, 891.
7. FLORESTANO (H.-J.) et BAHLER (M.-E.). — *Proceed. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1932, **79**, 141.
8. FROTHINGHAM (L.). — *Jour. Med. Res.*, 1902, **8**, 31.
9. GALLI (G.). — *Vet. Ital.*, 1954, **5**, 587.
10. HOLSWORTH (J.) et COFFIN (D.-L.). — *Cornell Veterinarian*, 1953, **43**, 546.
11. HUTSE. — *Vet. Rec.*, 1932, **64**, 210.

12. INNES (J.-R.-M.), SEIBOLD (H.-R.) et HARENTZEN (W.-P.). — *Amer. J. Veter. Res.*, 1952, **13**, 469.
 13. JACQUET (J.). — *Rec. Vét. Méd.*, Alfort, 1953, **129**, 803.
 14. KIKUCHI (K.). — *Jour. Jap. Soc. Vet. Sci.*, 1923, **2**, 4.
 15. LERNAU (C.) et SHAPIRA (A.). — *Jour. of Amer. Med. Vet. Assoc.*, 1947, **111**, 517.
 16. LODDER (J.), KREGER et VAN RIS (N.-J.-W.). — *The yeasts Ataxonomic study. — North-Holland Publ. comp. Amsterdam*, 1952.
 17. MAC GRATH (J.-T.). — *Amer. J. Path.*, 1954, **30**, 651.
 18. MENCES (R.-W.), MAC CLELLAN (J.-T.) et AUSERMAN. — *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 1954, **124**, 202.
 19. MEYER (K.-F.). — *Proc. Path. Soc. Philadelphia*, 1913, **16**, 28.
 20. MURPHY (J.-M.) et DRAKE (C.-M.). — *Am. J. Vet. Res.*, 1947, **9**, 43.
 21. POUNDEN (W.-D.), ANDERSON (J.-M.) et JAEGER (R.-F.). — *Am. J. Vet. Res.*, 1952, **13**, 121.
 22. REDAELLI (P.) et CEFERRI (R.). — *Sansoni Edizione Scientifiche. Firenze Italia*, 1942.
 23. ROLLE (M.). — *Deutsche Tierärztl. Wochenschrift*, 1934, **42**, 385.
 24. SAUNDERS (L.-Z.). — *Cornell Veterinarian*, 1948.
 25. SCHELLNER. — *Zeitschrift für Veterinärkunde*, 1935, **47**, 111.
 26. SEIBOLD (H.-R.), ROBERTS (C.-S.) et JORDAN (E.-N.). — *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1953, **122**, 213.
 27. SIMON (J.), NICHOLS (R.-E.) et MORSE (E.-V.). — *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1953, **122**, 13.
 28. SIMON (J.). — *Amer. J. Vet. Res.*, 1955, **16**, 394.
 29. SMITH (D.-C.-T.), FISCHER (J.-B.) et BARNUM (D.-A.). — *Canad. Med. Assoc. J.*, 1955, **72**, 18.
 30. STUART (P.). — *Veterinary Record.*, 1951, **63**, 314.
 31. TUCKER (E.-W.). — *Cornell Veterinarian*, 1954, **44**, 79.
 32. WEIDMANN (F.-O.) et RATCLIFFE (H.-L.). — *Arch. Path.*, 1934, **18**, 362.
-