

Études sur la cowdriose à Madagascar

Troisième partie

par J. RAMISSE et G. UILENBERG (*)

RESUME

Des essais préliminaires sur la culture et l'adaptation de *C. ruminantium* aux animaux de laboratoire ont eu pour seul résultat l'obtention de passages alternés entre souris et moutons. Deux passages en série sur souris n'ont pas réussi.

ESSAIS D'ADAPTATION DE *COWDRIA RUMINANTIUM* AUX ANIMAUX DE LABORATOIRE ET ESSAIS DE CULTURE

Il serait souhaitable de pouvoir cultiver *C. ruminantium* ou de l'adapter à d'autres animaux que des ruminants, dans l'espoir d'obtenir une atténuation du germe pour la vaccination et de disposer d'antigène pour d'éventuelles réactions sérologiques et d'immunisation.

De nombreux chercheurs l'ont essayé. Citons parmi eux, BALOZET (1936), MASON et ALEXANDER (1938, 1940), HUDSON et HENDERSON (1941), PELLISSIER et collab. (1950), HAIG (1952), HUGHES (1953), ADELAAR (in : HENNING, 1956), KARRAR (1960) et ceux du Laboratoire de Farcha, I.E.M.V.T., République du Tchad (Rapports annuels 1965, 1968). Ces essais ont porté sur souris, rats, cobayes, lapins, rongeurs sauvages, furets, singes, cultures de tissus et embryons de poulet; dans certains cas la cortisone a été employée pour diminuer les défenses immunitaires de l'animal et il y a même eu des inoculations d'embryons de cobayes dans l'utérus.

Aucun auteur n'a réussi à obtenir la culture de *C. ruminantium* ou à l'adapter de façon permanente aux animaux de laboratoire.

NEITZ, (communication personnelle), signale que de très nombreuses expériences non publiées en Afrique du Sud n'ont pas réussi.

Quelques résultats partiels ont toutefois été obtenus : MASON et ALEXANDER (1938) observent deux fois la survie de *Cowdria ruminantium* sur animal de laboratoire, sans autres précisions. Les mêmes auteurs obtiennent, en 1940, 5 passages en série chez des furets et ils observent parfois une réaction fébrile chez le furet, et la présence de rickettsies dans des cellules endothéliales. Ils n'ont pas pu obtenir un 6^e passage. ADELAAR (in : HENNING, 1956) rapporte également des résultats sur furets, sans autres précisions qu'une augmentation de la virulence pour le furet au cours des passages, sans diminution de virulence pour les ruminants.

HUDSON et HENDERSON (1941) réussissent la conservation du germe chez le rat blanc et chez un rat sauvage (*Rhabdomys pumilio*). HAIG (1952) obtient le même résultat chez des souris blanches, mais il ne peut pas obtenir deux passages consécutifs sur souris; il n'y a apparemment pas de multiplication du germe, mais uniquement survie.

(*) Travail du Laboratoire Central de l'Elevage, Tananarive; Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux. B.P. n° 862.

Les chercheurs du Laboratoire de Farcha (Rapport Annuel pour 1968) signalent des résultats positifs chez des rats blancs, sans obtenir de passages. Ils observent même des rickettsies sur frottis de cerveau des rats. Etant donné qu'ils n'ont pas effectué l'épreuve d'inoculation de ruminants sensibles, il n'est pas possible de savoir s'ils avaient affaire chez les rats à la cowdriose ou à une autre rickettsiose.

BALAZET (1936) pense avoir obtenu des résultats positifs chez le cobaye, le rat et le lapin, même avec des passages de cobaye à cobaye. Mais il ne donne pas la preuve qu'il s'agit véritablement de la heartwater, aucun diagnostic microscopique chez les moutons inoculés n'étant signalé; par ailleurs, les moutons ayant réagi au germe transmis par les animaux de laboratoire se comportent comme animaux neufs envers la véritable cowdriose. DU TOIT (*in*: BALAZET, 1936) obtient les mêmes résultats et pense qu'il s'agit de deux infections différentes.

PELLISSIER et collab. (1950) et HUGHES (1953) ont réussi à infecter des cobayes, lapins et cercopithèques, et HUGHES a réussi des passages en série; mais ils pensent avoir affaire à une autre rickettsiose que la cowdriose.

Des chercheurs d'Onderstepoort (*in*: Rapport Annuel du Laboratoire de Farcha pour 1965) auraient réussi exceptionnellement 3 passages de *C. ruminantium* sur œuf embryonné.

Nous rapportons ci-dessous les résultats de nos quelques expériences sur ce sujet, résultats qui ne sont pas meilleurs que ceux des autres auteurs.

1. Œufs de poulets embryonnés

Aucun résultat sur embryons de 7 et 8 jours, inoculés avec du sang infectieux par voie intravitelline. Les œufs ont été ouverts 8 jours plus tard. La coloration du vitellus et des membranes n'a mis en évidence aucun élément rickettsien. Le broyat d'œuf inoculé par voie intraveineuse à un mouton neuf n'a pas transmis la maladie. 5 passages aveugles sur œuf (utilisant du vitellus ou un broyat de membranes ou d'embryons) n'ont pas apporté de résultat positif.

2. Lapins

Des lapereaux de 2 à 3 semaines ont été traités à la cortisone (2,5 mg). Ils ont été

inoculés avec du sang infectieux par voie intracérébrale (0,1 ml). Nous avons fait 7 passages aveugles sur lapereaux, utilisant du broyat de cerveaux (au 1/5) en liquide de Hanks, inoculé par voie intracérébrale (0,1 ml). Les cerveaux ont été contrôlés à chaque passage par frottis du cortex colorés au Giemsa.

Au 10^e jour suivant le deuxième passage, un lapereau est mort, présentant des granulations rouges violacées dans les cellules endothéliales des capillaires du cortex cérébral.

A partir du 3^e passage, les lapereaux mouraient en 24 heures, et présentaient toujours des granulations rouges dans les cellules endothéliales. Au 6^e passage, certains frottis de cerveau présentaient des bactéries; nous avons alors inoculé du broyat de cerveau traité aux antibiotiques. La mortalité a cessé et nous n'avons plus observé de granulations dans les cellules endothéliales.

Etant donné la rapidité de la maladie (notons que les lapereaux après le premier passage n'étaient pas traités à la cortisone), nous ne pensons pas avoir eu affaire à la cowdriose. Des inoculations de moutons n'ont malheureusement pas pu être effectuées. Les essais sont à reprendre.

3. Cobayes

Des essais sur cobayes, suivant la méthode indiquée pour les lapins, n'ont donné aucun résultat (passages aveugles, coloration de frottis de cerveau).

Par la suite, 3 groupes de cobayes sont inoculés par voie intrapéritonéale avec du sang, du broyat de cortex cérébral ou de rate d'un mouton à l'agonie; il a été prouvé par inoculation à un animal sensible que le sang du mouton était infectieux. 2 semaines plus tard, les rates des cobayes sont récoltées, broyées et inoculées par voie intraveineuse à 2 moutons neufs: un mouton reçoit l'inoculum provenant des cobayes inoculés avec le sang infectieux, l'autre, la suspension provenant des cobayes inoculés avec le cerveau et la rate du mouton. Aucun des moutons ne réagit.

4. Souris blanches

Dans un premier temps, nous avons voulu voir si *C. ruminantium* pouvait être détectée sur frottis de cortex cérébral de souris ino-

culées avec du sang infectieux. Nous nous sommes servis de souris et de souriceaux, traités ou non à la cortisone (1 mg). Les souriceaux ont été inoculés par voie intracérébrale avec 0,01 à 0,02 ml de sang, les souris par voie intrapéritonéale (0,5 ou 1 ml) et par voie intracérébrale (0,03 à 0,04 ml). Nous avons fait 4 séries de 2 passages aveugles avec des cerveaux broyés en liquide de Hanks.

Aucune inoculation n'a entraîné l'apparition de symptômes de maladie. Tous les animaux ont été sacrifiés après un délai plus ou moins long (maximum un mois); tous les frottis de cortex cérébral ont été négatifs.

Par la suite, nous avons voulu étudier la conservation du germe chez la souris, comme il a été signalé par HAIG (1952).

Des souris adultes ont été inoculées par voie intrapéritonéale avec 1 ml de matière virulente, soit du sang (avec héparine), soit du broyat de rate ou de cerveau en eau physiologique, soit un mélange de ces prélèvements, provenant de ruminants (7 moutons, 2 chèvres, 1 bovin), saignés ou sacrifiés en plein accès de cowdriose. Les souris avaient été traitées à la cortisone (1 mg). Il a été prouvé dans chaque cas qu'il s'agissait bien de la cowdriose chez le ruminant donneur (voir les méthodes de travail indiquées auparavant, UILENBERG, 1971).

Les souris ont été sacrifiées 2 semaines après l'inoculation, et les rates broyées dans de l'eau physiologique et inoculées par voie intraveineuse à un mouton, à raison de 5 rates de souris par mouton.

RESULTATS

Sept lots de souris, inoculées avec du sang de 7 donneurs différents, ont été éprouvés chez 9 moutons. Trois lots ont donné un résultat *positif*. 4 lots (dont un fut inoculé à 3 moutons) ont donné des résultats négatifs.

Un lot, inoculé avec du cerveau d'une chèvre, a donné un résultat *positif* sur mouton.

Un lot, inoculé avec de la rate de la même chèvre, a donné un résultat négatif sur mouton.

Deux lots, inoculés avec du cerveau et de la rate de 2 moutons différents, ont donné des résultats négatifs. Dans un cas, le sang du

mouton inoculé à un autre lot de souris avait pourtant donné un résultat positif sur mouton.

Un lot, inoculé avec du cerveau, de la rate et du sang d'un mouton, a donné un résultat *positif*.

Dans les cas positifs, la preuve qu'il s'agissait bien de la cowdriose chez les moutons inoculés a pu être apportée par examen microscopique ou par inoculations.

Nous avons essayé, deux fois, 2 passages aveugles sur souris et une fois 3 passages, avant de réinoculer des moutons. Les résultats ont été négatifs, bien qu'il ait été prouvé que les rates des premières souris utilisées pour les passages étaient infectieuses pour le mouton.

Une lignée de la souche a jusqu'ici été passée 3 fois sur souris, en alternant les passages sur souris et sur mouton. Toutefois, le dernier passage sur souris essayé avec cette lignée a donné un résultat négatif. Il n'y a apparemment pas eu d'atténuation de la souche, le mouton inoculé avec le troisième passage de cette lignée sur souris est mort de cowdriose.

Ajoutons qu'aucune des souris inoculées n'a présenté de symptôme de maladie et que la recherche de rickettsies de leurs organes s'est révélée négative.

5. Culture de leucocytes de veau

Une culture de leucocytes a été réalisée avec le sang d'un veau en accès thermique de cowdriose (diagnostic prouvé par inoculation à un mouton sensible). Les cellules de 7 tubes de cultures ont été décollées 8 jours plus tard avec du versène, et inoculées par voie intraveineuse à un mouton sensible. Le résultat a été négatif.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Nous avons pu confirmer le travail de HAIG (1952), c'est-à-dire que *C. ruminantium* peut survivre chez la souris, sans s'adapter à cet animal. Un travail de longue haleine sera nécessaire pour vérifier si une adaptation à la souris n'est pas possible après un grand nombre de passages alternés entre souris et ruminants.

Les essais sur lapereaux sont également à reprendre, bien que nous pensions ne pas avoir eu affaire dans ce cas à la cowdriose.

Finalement, la maladie est suffisamment préoccupante pour que d'importants moyens y soient consacrés, utilisant tous les procédés et astuces imaginables, et ne négligeant aucun animal de laboratoire, ni aucune méthode de culture.

SUMMARY

Studies on cowdriosis in Madagascar. Part. III

Preliminary trials on the cultivation and adaptation of *C. ruminantium* to laboratory animals have only resulted in obtaining alternating passages between mice and sheep. Two consecutive passages in mice have not succeeded.

RESUMEN

Estudios sobre la « heartwater » en Madagascar Tercera parte

Ensayos preliminares sobre el cultivo y la adaptación de *C. ruminantium* en los animales de laboratorio tuvieron como único resultado la obtención de pasajes alternados entre ratones y ovejas. No acertaron dos pasajes en serie sobre ratón.

BIBLIOGRAPHIE

1. BALOZET (L.), Contribution à l'étude expérimentale de la heart-water, *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1936, **25**: 251-71.
2. HAIG (D. A.), Note on the use of the white mouse for the transport of strains of heartwater, *J.S. Afr. vet. med. Ass.*, 1952, **23**: 167-70.
3. HENNING (M. W.), Animal diseases in South Africa, South Africa, Central News Agency Ltd., 1956.
4. HUDSON (J. R.) et HENDERSON (R. M.), Some preliminary experiments on the survival of heartwater « virus » in rats, *J.S. Afr. vet. med. Ass.*, 1941, **12** (2): 39-49.
5. HUGHES (M. H.), A rickettsial disease of goats in the Gold Coast, *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1953, **47**: 229-303.
6. KARRAR (G.), Rickettsial infection (heartwater) in sheep and goats in the Sudan, *Brit. vet. J.*, 1960, **116**: 105-114.
7. MASON (J. H.) et ALEXANDER (R. A.), Some aspects of rickettsial diseases of man and animals in South Africa, *Acta Conv. Tert. Trop. Malar. Morb.*, Pars L, 1938: 526-550.
8. MASON (J. H.) et ALEXANDER (R. A.), The susceptibility of the ferret to heartwater, *J.S. Afr. vet. med. Ass.*, 1940, **11** (3): 98-107.
9. PELLISSIER (A.), TROQUEREAU (P.) et TRINQUIER (E.), Etudes sur les rickettsioses humaines et animales en Afrique Equatoriale Française. III. Rickettsiose générale du bœuf différente de la heartwater, *Bull. Soc. Path. exot.*, 1950, **43**: 168-76.
10. Rapport annuel, Laboratoire de Farcha (I.E.M.V.T.), Fort-Lamy, 1965 (Ronéotypé).
11. Rapport annuel, Laboratoire de Farcha (I.E.M.V.T.), Fort-Lamy, 1968 (Ronéotypé).
12. UILENBERG (G.), Etudes sur la cowdriose à Madagascar. Première partie, *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1971, **24** (2): 239-49.

ADDENDUM

Nous venons de prendre connaissance, dans une publication récente, d'essais de passages de *C. ruminantium* chez la souris (DU PLESSIS et KUMM, 1971). Ces auteurs signalent n'avoir eu que des échecs avec deux souches, alors qu'ils pensent avoir réussi plus de 20 passages en série chez la souris avec une troisième souche isolée d'un cas naturel de cowdriose

chez la chèvre, sans toutefois apporter la preuve que la rickettsiose transmise était bien la cowdriose.

Référence :

DU PLESSIS (J.L.) et KUMM (N.A.L.), The passage of *Cowdria ruminantium* in mice, *J.S. Afr. vet. med. Ass.*, 1971, **42** (3): 217-221.