

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX.....	4
INTRODUCTION.....	7
PREMIERE PARTIE : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES.....	9
I - LEPTOSPIROSE.....	11
1. Importance, espèces affectées, répartition géographique.....	11
2. Agent responsable	11
3. Epidémiologie	12
3.1. Epidémiologie descriptive.....	12
3.2. Epidémiologie analytique.....	12
3.2.1. Sources de bactéries	12
3.2.2. Résistance des bactéries	13
3.2.3. Modes d'infection	13
3.2.4. Causes favorisantes	14
4. Symptômes.....	14
4.1. Chez l'animal	14
4.2. Chez l'homme	14
5. Lésions	15
6. Pathogénie	15
7. Diagnostic.....	16
7.1. Diagnostic clinique.....	16
7.2. Diagnostic expérimental.....	16
8. Pronostic.....	17
9. Méthodes de lutte	17
9.1. Traitement	17
9.2. Prophylaxie.....	18
10. Historique de la leptospirose au parc zoologique de La Palmyre	18
II - PSEUDOTUBERCULOSE.....	19
1. Importance, espèces affectées, répartition géographique.....	19
2. Agent responsable	19
3. Epidémiologie	21
3.1. Epidémiologie descriptive.....	21
3.2. Epidémiologie analytique.....	21
3.2.1. Sources de bactéries	21
3.2.2. Résistance des bactéries	21
3.2.3. Modes d'infection	21
3.2.4. Causes favorisantes	22
3.2.5. Réceptivité.....	22
4. Symptômes.....	23
5. Lésions	24
6. Pathogénie	25
7. Diagnostic.....	25
7.1. Diagnostic clinique.....	25
7.2. Diagnostic post-mortem	25
7.3. Diagnostic différentiel.....	25
7.4. Diagnostic expérimental.....	25
8. Pronostic.....	26
9. Méthodes de lutte	26

9.1. Traitement	26
9.2. Prophylaxie.....	26
10. Historique de la pseudotuberculose au parc zoologique de La Palmyre.....	26
10.1. Primates	27
10.2. Rongeurs.....	28
10.3. Oiseaux.....	28
III - TOXOPLASMOSE.....	31
1. Importance, espèces affectées, répartition géographique.....	31
2. Agent responsable : morphologie, cycle évolutif.....	31
3. Epidémiologie	32
3.1. Epidémiologie descriptive.....	32
3.2. Epidémiologie analytique.....	33
3.2.1. sources de parasites	33
3.2.2. résistance des parasites.....	33
3.2.3. modes d'infection.....	33
3.2.4. causes favorisantes	34
3.2.5. réceptivité	34
4. Symptômes	35
4.1. Toxoplasmose congénitale	35
4.2. Toxoplasmose acquise.....	35
4.2.1. formes aiguës.....	35
4.2.2. formes chroniques	36
5. Lésions	36
5.1. Lésions macroscopiques.....	36
5.2. Lésions microscopiques	37
6. Pathogénie et immunité.....	37
6.1. Prolifération.....	37
6.2. Réponse immunitaire.....	37
7. Diagnostic.....	38
7.1. Du vivant de l'animal	38
7.1.1. diagnostic clinique.....	38
7.1.2. diagnostic expérimental.....	38
7.2. Post-mortem	38
8. Pronostic.....	39
9. Méthodes de lutte	39
9.1. Traitement	39
9.2. Prophylaxie envisageable dans le cas d'un parc zoologique.....	39
10. Historique de la toxoplasmose au parc zoologique de La Palmyre.....	39
10.1. Primates	39
10.2. Marsupiaux.....	40
10.3. Bovidés.....	40
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE.....	41
I - OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	43
II - ANIMAUX, MATERIEL ET METHODES.....	45
1. Le parc zoologique de La Palmyre.....	45
2. Capture des animaux exogènes	46
2.1. Contexte réglementaire	46
2.1.1. Statut des espèces animales en France	46
2.1.2. Réglementation du piégeage	48
2.2. Espèces cibles et pièges utilisés	48

3. Protocole d'anesthésie, de prélèvements, d'euthanasie	50
3.1. Anesthésie, prise de sang, euthanasie.....	50
3.2. Prélèvements post-mortem et autopsie.....	52
3.3. Cas particuliers des animaux retrouvés morts.....	52
4. Recherche d'anticorps anti- <i>Leptospira</i> et d'ADN de leptospires	52
4.1. Sérologie.....	52
4.2. PCR	54
5. Recherche de <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> par culture.....	54
6. Recherche des anticorps anti- <i>Toxoplasma gondii</i>	55
III - RESULTATS	57
1. Animaux piégés, résultats des autopsies	57
2. Bilan par maladie	64
2.1. Leptospirose	64
2.2. Pseudotuberculose.....	66
2.3. Toxoplasmose.....	68
3. Données physiopathologiques et épidémiologiques des animaux testés positifs pour au moins une des trois maladies étudiées.....	68
IV - DISCUSSION.....	71
1. Bilan de la récolte des animaux et des autopsies	71
1.1. Récolte d'animaux.....	71
1.2. Bilan des autopsies	71
2. Leptospirose	74
2.1. Leptospirose chez les rongeurs	74
2.2. Leptospirose chez les autres mammifères.....	76
2.3. Bilan de la leptospirose au parc zoologique de La Palmyre	78
3. Pseudotuberculose.....	81
3.1. Interprétation des résultats	81
3.2. Contrôle de la pseudotuberculose en parc zoologique	81
4. Toxoplasmose.....	84
4.1. Interprétation des résultats	84
4.2. Hypothèses de sources de contamination par <i>Toxoplasma gondii</i> au parc zoologique de La Palmyre.....	87
CONCLUSION	93
BIBLIOGRAPHIE	95
ANNEXES	103
ANNEXE I : Arrêtés relatifs au piégeage des populations animales.....	103
ANNEXE II : Déclaration de piégeage	106
ANNEXE III : Fiche individuelle d'autopsie.....	107
ANNEXE IV : Composition des milieux utilisés pour l'isolement de <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	108
ANNEXE V : Protocole de la réaction d'agglutination directe pour le diagnostic de la toxoplasmose.....	109
ANNEXE VI : Plan du Zoo de La Palmyre	110

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

Figures

Figure 1 : schéma épidémiologique de la leptospirose	13
Figure 2 : coupe longitudinale de rein de chien : néphrite leptospirosique.....	15
Figure 3 : coloration à l'encre de chine d'urine humaine contenant des leptospores (x 600)...	16
Figure 4 : proposition de schéma épidémiologique de la pseudotuberculose	22
Figure 5 : organes abdominaux de tamarin à mains rousses (<i>Saguinus midas midas</i>) mort de pseudotuberculose	24
Figure 6 : poumon avec des micro-abcès lors de pseudotuberculose chez un cabiai (<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>)	24
Figure 7 : foie pseudotuberculeux de calao ridé (<i>Aceros corrugatus</i>)	24
Figure 8 : cycle de base hôte définitif-hôte intermédiaire de <i>Toxoplasma gondii</i>	31
Figure 9 : cycle hôte intermédiaire-hôte intermédiaire de <i>Toxoplasma gondii</i>	32
Figure 10 : cycle hôte définitif-hôte définitif de <i>Toxoplasma gondii</i>	32
Figure 11 : schéma du cycle épidémiologique de la toxoplasmose	34
Figure 12 : production d'anticorps lors de toxoplasmose	37
Figure 13 : situation géographique du parc zoologique de La Palmyre.....	45
Figure 14 : nasse à souris	49
Figure 15 : belettière	49
Figure 16 : piège à double entrée	49
Figure 17 : piège à lacets.....	50
Figure 18 : cage à pies.....	50
Figure 19 : cage à corneilles.....	50
Figure 20 : nombre d'animaux récoltés par espèce ou groupe d'espèce entre septembre 2002 et septembre 2003 au parc zoologique de La Palmyre.....	57
Figure 21 : nombre de mâles et de femelles récoltés pour chaque espèce ou groupe d'espèces d'animaux piégés au parc zoologique de La Palmyre.....	57
Figure 22 : nombre d'animaux récoltés par mois, par espèce et groupe d'espèces, au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003 (la campagne de récolte n'incluant pas les mois de novembre 2002, février 2003 ainsi que la période du 15 mars au 15 avril 2003).....	59
Figure 23 : répartition du nombre d'oiseaux récoltés par mois, par espèce ou groupe d'espèces, au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003 (la campagne de récolte n'incluant pas les mois de novembre 2002, février 2003 ainsi que la période du 15 mars au 15 avril 2003).....	59
Figure 24 : protocole d'isolement de <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> recommandé par l'Institut Pasteur	83
Figure 25 : hypothèses de sources de contamination par <i>Toxoplasma gondii</i> au parc zoologique de La Palmyre et de leurs importances relatives	89

Tableaux

Tableau I : caractéristiques biochimiques à 28°C (sauf mobilité, la température est alors précisée) des espèces de <i>Yersinia</i>	20
Tableau II : sérogroupes et sérovars de <i>Leptospira interrogans</i> testés par microagglutination sur les sérums de rongeurs et de carnivores capturés au parc zoologique de La Palmyre en 2002-2003.....	53
Tableau III : interprétation du degré de la réaction de microagglutination de leptospires.....	53
Tableau IV : répartition du nombre, du sexe et des prises de sang effectuées par espèce d'oiseaux récoltés entre septembre 2002 et septembre 2003 au parc zoologique de La Palmyre.....	58
Tableau V : récapitulatif des découvertes pathologiques et physiologiques faites lors de l'autopsie des souris piégées au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003	61
Tableau VI : récapitulatif des découvertes pathologiques et physiologiques faites lors de l'autopsie des campagnols piégés au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003.....	62
Tableau VII : récapitulatif des découvertes pathologiques et physiologiques faites lors de l'autopsie des oiseaux piégés au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003	63
Tableau VIII : récapitulatif des résultats de la recherche de la leptospirose par PCR et MAT sur les mammifères piégés au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003	65
Tableau IX : récapitulatif de la recherche bactériologique de <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> sur les fèces d'animaux récoltés au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003	67
Tableau X : récapitulatif des résultats de sérologie de toxoplasmose obtenus par agglutination directe sur des sérums non traités et traités au 2-mercaptoéthanol (2-ME) des différentes espèces de mammifères et oiseaux récoltés au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003	69
Tableau XI : récapitulatif des données physiopathologiques et épidémiologiques des animaux testés positifs pour la leptospirose et/ou la toxoplasmose et/ou la pseudotuberculose	70
Tableau XII : mesures de pH effectuées sur 6 plans d'eau du parc zoologique de La Palmyre par des entreprises spécialisées (sauf précisé) depuis 1992	79

INTRODUCTION

La mission des parcs zoologiques a bien évolué depuis les années 1950. Longtemps considérés comme des trafiquants d'animaux, les parcs du monde entier travaillent actuellement de concert pour assurer la survie et la réintroduction d'espèces en voie de disparition. Chaque parc abrite quelques centaines à quelques milliers d'animaux, et bien évidemment, entretenir autant d'animaux dans un espace restreint suppose la mise en place de nombreuses mesures de prévention. En particulier, les parcs zoologiques sont des espaces que nous pouvons qualifier de « semi fermés » : en effet, s'il existe des clôtures tout autour de ces espaces, de nombreux animaux sauvages tels que des oiseaux, des rongeurs ou des carnivores peuvent toutefois y pénétrer. Cette faune sauvage exogène (ce terme désignant des animaux sauvages n'appartenant pas à la collection du parc mais étant présents de façon permanente ou intermittente dans l'enceinte du parc) est susceptible d'importer ou d'exporter de nombreux agents pathogènes, mais également d'entretenir des maladies au sein d'un parc.

Une étude sur les interactions possibles entre la faune sauvage exogène et les animaux du parc zoologique de Paris a été menée par le Dr Franck Savary [59] de septembre 2000 à août 2001 : des oiseaux, des rongeurs et des carnivores sauvages ont été piégés pendant cette enquête, et 13 organismes pathogènes agents de maladies bactériennes, parasitaires, fongiques ou virales ont été recherchés. Le but de ce travail était de préciser d'une part quels animaux exogènes peuplaient effectivement le parc, et d'autre part quels agents pathogènes pouvaient être transmis par ces animaux. Notre thèse s'insère dans la continuité de son étude : le Dr Thierry Petit, vétérinaire du parc zoologique de La Palmyre, a accepté que notre recherche se déroule dans le parc où il exerce, entre septembre 2002 et septembre 2003 dans le cadre d'un projet personnel de cinquième année d'études à l'Ecole Vétérinaire d'Alfort. En nous appuyant sur les résultats obtenus par le Dr Savary et sur le passé médical des animaux du parc zoologique de La Palmyre, nous avons choisi de centrer notre étude sur trois maladies potentiellement transmises par la faune sauvage, et présentant un intérêt pour les animaux et pour la santé humaine :

- la leptospirose : 20 p.cent des rongeurs peuplant le parc zoologique de Paris ont été découverts excréteurs de leptospores. Cette maladie n'a jamais été diagnostiquée au parc de La Palmyre, mais il s'agit d'une zoonose majeure.
- la pseudotuberculose : aucune conclusion n'a pu être tirée de l'étude à Paris, mais cette maladie a été à l'origine de nombreux décès à La Palmyre.
- la toxoplasmose n'a pas été investiguée au parc zoologique de Paris, mais de même que la pseudotuberculose, elle a été à l'origine de plusieurs décès à La Palmyre.

Notre étude est une enquête préliminaire à une enquête descriptive. Notre objectif est de savoir dans un premier temps quels animaux exogènes sont présents dans le parc, lesquels peuvent être porteurs des agents de ces maladies, de proposer des pistes de recherches pour évaluer les dangers et les risques pour les animaux captifs et pour l'homme (employés du parc et visiteurs).

Après quelques rappels bibliographiques sur la leptospirose, la pseudotuberculose et la toxoplasmose, nous exposerons les protocoles d'étude mis en place, puis les résultats que

nous avons obtenus. La discussion de ces résultats sera dirigée principalement vers la proposition de mesures concrètes applicables par le vétérinaire et d'études complémentaires.

PREMIERE PARTIE : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

I - LEPTOSPIROSE

1. Importance, espèces affectées, répartition géographique

La leptospirose est une anthroponose, c'est-à-dire une maladie animale transmissible à l'homme. Elle sévit dans le monde entier particulièrement en Asie, en Amérique latine et en Afrique. La leptospirose est aussi présente en Europe, notamment en France avec des régions particulièrement touchées comme les DOMTOM, l'Île de France, l'Aquitaine, les Pays de Loire, le Nord Pas de Calais [63,93].

Cette maladie infectieuse à déclaration obligatoire est provoquée par une bactérie du genre *Leptospira* qui vit essentiellement parmi les rongeurs mais également dans les zones humides [63,76,84,93].

La leptospirose est reconnue comme maladie professionnelle chez certains travailleurs qui doivent bénéficier d'une vaccination systématique. C'est le cas notamment du personnel de traitement des eaux usées, des personnes travaillant dans les abattoirs, des pisciculteurs, des pêcheurs [63,76,84,92,93]. Et il ne faut pas oublier les personnes pratiquant des activités de loisirs aquatiques (baignades, planche à voile, canoë-kayak,... dans des eaux d'étangs, de lacs ou de rivières contaminées) qui contractent de plus en plus souvent la leptospirose. Cette dernière catégorie représente en effet 75 p.cent des 1000 cas déclarés en 1996 [3,92,93].

Les leptospires sont observées chez de nombreuses espèces de mammifères ; elles sont à l'origine de troubles plus ou moins graves en fonction de l'espèce touchée et du sérovar en cause, et peuvent avoir de fortes répercussions économiques en particulier chez les bovins [92,98]. En revanche, elles ne semblent pas exister chez les oiseaux et, expérimentalement, il est impossible d'infecter les oiseaux adultes [92].

2. Agent responsable

Les leptospires sont des bactéries appartenant au sous-embranchement des *Protozoobacteria*, à l'ordre des Spirochètales, à la famille des *Leptospiraceae* et au genre *Leptospira*. Ce dernier comprend un grand nombre d'espèces regroupées en deux entités :

- *Leptospira interrogans (sensu lato)*, qui regroupe au moins 8 espèces pathogènes pour de nombreux mammifères dont l'homme, et qui comprend approximativement 230 sérovars répartis en 23 sérogroupes. Le sérovar est le taxon de base du genre *Leptospira*. Chaque sérovar est défini sur des critères sérologiques, c'est-à-dire par ses réactions croisées ou non avec des sérums de référence [22].

- *Leptospira biflexa (sensu lato)* comprend des espèces non pathogènes et saprophytes des eaux douces [21,63,84,92,93,95].

Morphologie

Les leptospires sont des bactéries flexueuses et mobiles, mesurant 6 à 12 µm de long et 0,1 à 0,2 µm de diamètre, finement spiralées, présentant des extrémités en crochets, mobiles grâce à deux flagelles (un à chaque pôle de la cellule) qui ne se chevauchent pas au centre de la cellule [92].

Caractères cultureux

Les bactéries du genre *Leptospira* sont aérobies strictes, catalase positives, oxydase négatives, chimio-organotrophes, capables d'utiliser les acides gras à longues chaînes comme seule source de carbone et d'énergie, incapables de métaboliser les sucres et ne nécessitant pas d'acides aminés pour la croissance. Les leptospires n'incorporent pas les bases pyrimidiques et l'adjonction de 5-fluoro-uracile (100 µg/mL) est mise à profit pour rendre partiellement sélectifs les milieux de culture.

La culture des leptospires est longue (temps de génération de 4 à 5 heures pour les sérovars saprophytes, et de 8 à 12 heures pour les sérovars pathogènes) et difficile. Elle nécessite des acides gras à longues chaînes (généralement fournis par des Tweens), des vitamines B1 et B12, du fer et de l'ion ammonium comme source d'azote. Le milieu le plus souvent utilisé est le milieu Tween-albumine ou milieu EMJH (Ellinghausen-McCullough modifié par Johnson et Harris) qui est commercialisé. Les conditions favorables au développement des leptospires sont l'obscurité, un pH légèrement alcalin, une température entre 10 et 30°C ; l'aérobiose est nécessaire. La croissance est suivie sur plusieurs semaines par une observation des cultures au microscope à fond noir [92].

Structure antigénique [73]

- Le lipopolysaccharide (LPS) est la cible des anticorps agglutinants et opsonisants. Il est également à la base de la définition des sérovars des *Leptospira*.
- Des protéines transmembranaires de la membrane externe sont exprimées lors d'infections : par exemple, OmpL1, LipL32, LipL41 ont été décrites. LipL41 et OmpL1 sont hautement conservées chez les leptospires pathogènes et sont capables d'induire ensemble une réponse immunitaire protectrice.
- Antigènes flagellaires : neuf protéines de 33 à 36 kDa ont été identifiées.
- Protéines de choc thermique (PCT) : Les opérons codant les PCT majeures (GroEL/GroES, DnaK) sont identifiés, clonés et séquencés. GroEL est un immunogène majeur lors de l'infection de l'homme ou d'un animal, mais il est prouvé qu'il ne confère pas d'immunité protectrice.

3. Epidémiologie

3.1. Epidémiologie descriptive

Les leptospires sont largement répandues dans la nature, et peuvent infecter de très nombreuses espèces de mammifères. Les cas sont généralement sporadiques ou anazootiques [3].

3.2. Epidémiologie analytique

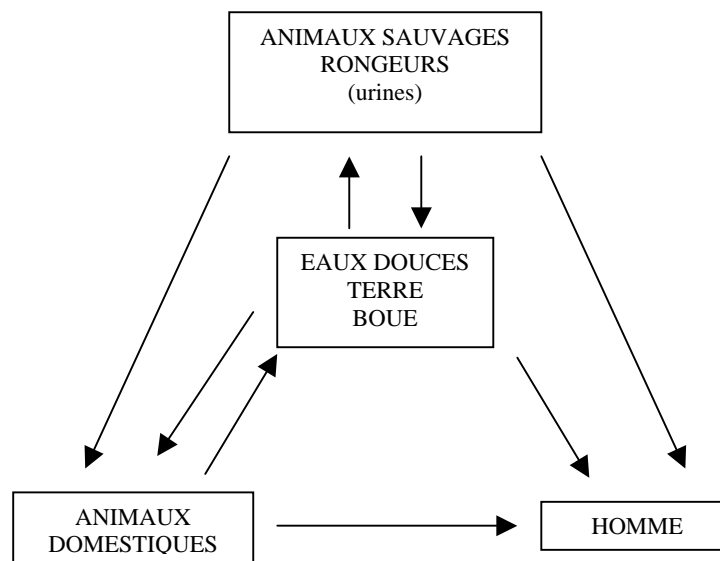
3.2.1. Sources de bactéries

Les sérovars pathogènes sont hébergés dans les tubules rénaux et parfois dans le tractus génital des animaux infectés, malades ou non. Le réservoir de germes est variable selon les sérovars : le surmulot (*Rattus norvegicus*) pour *Leptospira icterohaemorrhagiae* ; les campagnols (*Microtus* sp.) pour *Leptospira grippotyphosa* ; le chien (*Canis canis*) pour

Leptospira canicola ; les bovins et les ovins pour *Leptospira hardjo* ; les porcs (*Sus scrofa*) et les suidés sauvages ainsi que les bovins (au moins en Amérique du Nord) pour *Leptospira pomona*, ... Cette spécificité réservoir-sérovar n'est pas exclusive et de nombreuses espèces animales peuvent être des réservoirs pour de nombreux sérovars [92,98].

Les matières virulentes sont constituées par les urines des animaux infectés, ainsi que les eaux, les boues, les sols humides souillés par ces urines, et éventuellement par les écoulements utérins faisant suite à un avortement [3,22,92,98]. Le germe n'est généralement pas présent dans la salive et les morsures ne jouent pas un rôle direct dans la contamination de l'homme ; elles sont cependant à l'origine de plaies pouvant offrir une porte d'entrée à la bactérie [92].

Figure 1 : schéma épidémiologique de la leptospirose (d'après 3)



3.2.2. Résistance des bactéries

Les conditions les plus favorables à la résistance des leptospires sont les milieux ombragés, chauds et humides (température optimale de 28°C), et dont le pH est neutre ou légèrement alcalin. Les leptospires peuvent ainsi survivre pendant des mois [3,21,22,92,93,98].

3.2.3. Modes d'infection [3,22,41,93]

- Voie transcutanée : ce mode d'infection est favorisé par le ramollissement de la peau dû à une immersion prolongée, par la présence d'excoriations ou de lésions plus importantes. La contamination est directe par contact avec l'urine d'animaux porteurs ou indirecte par l'intermédiaire d'un milieu contaminé.
- Voie digestive : des carnivores peuvent s'infecter par prédation de petits mammifères porteurs.
- La transmission intraspécifique de la leptospirose est également possible lors de rapports sexuels ou d'allaitement, ou par passage transplacentaire.

3.2.4. Causes favorisantes

La transmission de la leptospirose est favorisée par la pullulation des rongeurs, un climat plutôt chaud et humide, ce qui correspond à la période estivo-automnale pour les climats tempérés, ainsi qu'un mode de vie facilitant les contacts avec des animaux porteurs : par exemple l'utilisation d'encl

individuelle que du sérovar. Tous les sérovars peuvent entraîner une forme grave voire mortelle, toutefois les sérovars hardjo, grippotyphosa ou pomona et surtout les sérovars icterohaemorrhagiae, copenhageni et bataviae sont réputés plus pathogènes [92].

La symptomatologie chez l'homme est dominée, comme chez l'animal, par un grand polymorphisme en fonction du caractère aigu ou non de l'évolution. La leptospirose aiguë se caractérise par des formes septicémiques dont l'expression clinique dominante est variable [3,22,92]. La forme ictérique sévère ou maladie de Weil est relativement rare (environ 5 p.cent des cas) mais entraîne la mort dans 15 à 40 p.cent des cas [92].

5. Lésions

Le tableau nécropsique montre dans les cas aigus un ictère avec des pétéchies diffuses sur les muqueuses, une néphrite, une hépatite et des hémorragies (pétéchies sur les plèvres, sang en nature dans le tube digestif...). Les poumons sont fréquemment congestionnés. Les lésions macroscopiques de leptospirose chez les rongeurs ne sont pas évidentes : parfois la corticale du rein apparaît pâle. L'examen histopathologique révèle une néphrite interstitielle, caractérisée par un infiltrat inflammatoire lymphocytaire, présente à des degrés variables chez des animaux sauvages infectés chroniques [22,29].

Figure 2 : coupe longitudinale de rein de chien : néphrite leptospirosique (photo Dr JP Pagès)



6. Pathogénie

Les leptospires du milieu extérieur pénètrent les muqueuses intactes ou la peau ramollie par l'eau, égratignée ou abrasée. Une bactériémie s'établit précocement et dure quelques heures à quelques jours. Les bactéries sont disséminées et se localisent dans les organes cibles, incluant les reins. Les lésions les plus précoces sont des lésions des endothéliums vasculaires conduisant à des ischémies responsables de nécrose des tubules rénaux, de lésions d'hépatite, de méningite, de myosite et de placentite. Dans les reins, les bactéries migrent hors des vaisseaux dans le tissu interstitiel (entre les tubules et les glomérules), puis pénètrent dans la lumière des tubules. Là, elles se multiplient et sont rejetées dans l'urine ; elles causent une inflammation lymphoplasmocytaire et une néphrite interstitielle. Elles contaminent le milieu environnant, à partir duquel elles infectent de nouveaux hôtes [92,98].

Des anticorps opsonisants (immunoglobulines M) apparaissent dès 6 à 8 jours après l'infection, ce qui a pour conséquence d'éliminer les leptospires de l'organisme sauf au niveau des compartiments où ces anticorps n'ont pas accès : tube contourné proximal du rein, humeur vitrée de l'œil, et liquide céphalo-rachidien. Pour certaines espèces et pour les sérovars qui leur sont adaptés, les leptospires persistent au niveau de l'appareil reproducteur : oviducte, utérus, vagin, testicule, épидидyme, prostate, vésicules séminales [92,98].

7. Diagnostic

7.1. Diagnostic clinique

Si l'étiologie leptospirosique est généralement associée au syndrome ictéro-hémorragique, il faut également l'envisager lors de formes plus atypiques : néphrite chronique du chien, atteinte oculaire et notamment uvéite chez le cheval et le chien, méningites dites aseptiques chez l'homme et l'animal, ou encore hémorragies pulmonaires (homme), avortements (ruminants, porcins), et parfois même seulement lors d'une chute de production lactée chez une femelle allaitante. Dans ces derniers cas, le diagnostic clinique est difficile si la notion de risque n'est pas évoquée [3,98].

7.2. Diagnostic expérimental

Diagnostic bactériologique

Les prélèvements doivent être effectués avant toute antibiothérapie et ne doivent pas être congelés. Pendant les cinq à sept premiers jours d'évolution (phase de bactériémie), les leptospires sont recherchées dans le sang, le liquide céphalorachidien (LCR) ou le liquide pleural. Le prélèvement de sang doit être le plus précoce possible pendant les quelques jours qui suivent l'infection car le taux de leptospires circulantes diminue rapidement. Après 10 à 12 jours, on prélève l'urine ou divers produits d'autopsie (rein, rate, foie, cerveau...) [92,93]. Les leptospires sont tout d'abord recherchées par examen direct au microscope à fond noir (test d'orientation permettant notamment d'apprécier la mobilité particulière des leptospires), ou après coloration à l'acridine orange ou simplement à l'encre de chine (figure 3), ou encore à l'aide de « colorations » faisant appel à des réactions immunologiques réservées en général à des laboratoires spécialisés. L'observation après coloration permet d'étudier la morphologie des bactéries [92,94].

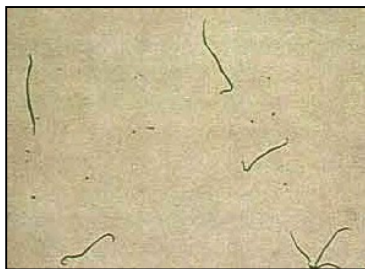


Figure 3 : coloration à l'encre de chine d'urine humaine contenant des leptospires (x 600) (d'après 94).

Les examens doivent être complétés par une mise en culture pour diagnostic définitif, réservée à des laboratoires spécialisés. La culture se fait le plus souvent sur milieu EMJH liquide ou semi-solide. Les cultures sont incubées à 28-30°C et examinées au fond noir aux jours 1, 3, 5, puis chaque semaine pendant au moins 5 semaines [92].

Le diagnostic bactériologique est impossible entre 7 et 12 jours environ, il est long, difficile, de faible sensibilité et nécessite un observateur entraîné ; de plus, l'excrétion urinaire des leptospires est intermittente [84,93].

Diagnostic sérologique [22,84,92]

Compte tenu de la difficulté la mise en évidence bactériologique des leptospires, le diagnostic des leptospiroses est assuré essentiellement par sérologie. Ce diagnostic sérologique n'est

possible qu'environ 10 jours après l'apparition des symptômes et une antibiothérapie préalable retarde l'apparition des anticorps, peut diminuer les titres et même rendre négatives des réactions comme l'Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Deux prélèvements espacés de 8 à 10 jours sont nécessaires à l'établissement du diagnostic de certitude des formes aiguës.

→ Un test ELISA faisant appel à un antigène extrait d'une souche de *Leptospira* patoc se révèle spécifique de genre mais donne fréquemment des résultats négatifs lors d'infections par des sérovars comme grippotyphosa ou australis. L'utilisation de plusieurs sérovars comme antigènes améliore les résultats mais alourdit la mise en œuvre de la réaction. Sous sa forme actuelle, l'ELISA est considéré comme un test de dépistage.

→ Le test de micro-agglutination microscopique ou MAT est la technique de référence. Le principe est de mettre en présence le sérum à tester avec des cultures vivantes de leptospires puis à évaluer le degré d'agglutination au microscope à fond noir. Cette technique de réalisation difficile (il faut entretenir les souches de leptospires au laboratoire) et d'interprétation délicate est réservée aux laboratoires spécialisés [92].

Diagnostic par Polymerase Chain Reaction (PCR)

Des techniques d'amplification génique par PCR ont été mises au point pour pallier les difficultés des autres méthodes disponibles. Par exemple, l'amplification d'une séquence de 331 paires de bases (pb) du gène *rrs*, spécifique du genre *Leptospira*, couplée à l'hybridation par une sonde complémentaire (technique mise au point par l'Institut Pasteur de Paris), permet un diagnostic rapide (36h) et précoce (dès le premier jour d'évolution de la maladie) sur des échantillons de sang ou d'urine. Sa positivité sur l'humeur aqueuse permet de plus d'effectuer le diagnostic des complications oculaires. D'autres techniques d'amplification ont été proposées notamment une technique amplifiant une séquence du gène *rrs* mais utilisant deux jeux d'amorces différents : un jeu spécifique des souches pathogènes et un jeu spécifique des souches saprophytes [92].

8. Pronostic

La plupart des infections leptospirosiques passent inaperçues. Dans les formes graves, le pronostic dépend largement de la rapidité du diagnostic et de l'instauration du traitement, avant l'installation de l'insuffisance rénale et des lésions hépatiques importantes génératrices de l'ictère. La leptospirose reste donc malgré tout une maladie grave. En revanche, la guérison, après parfois plusieurs mois de convalescence, n'engendre pas de séquelle [3]. Les animaux peuvent cependant rester porteurs et donc contaminants [21,22,68].

9. Méthodes de lutte

9.1. Traitement

Il faut associer une antibiothérapie et un traitement symptomatique, notamment en rétablissant l'équilibre hydroélectrolytique. Le traitement antibiotique doit être entrepris très précocement pour raccourcir la durée de maladie et empêcher le portage chronique, mais peut interférer avec le diagnostic. Les bêta-lactamines (pénicilline G, ampicilline) sont les plus utilisées ; les aminosides (streptomycine, dihydrostreptomycine...) et les tétracyclines

(terramycine) s'avèrent également efficaces. L'intérêt d'un traitement antibiotique dans l'uvéite isolée du cheval reste à démontrer, car cette affection résulte d'un mécanisme immunitaire [76,84,92,94].

9.2. Prophylaxie

Prophylaxie sanitaire

La prévention consiste à assécher les flaques d'eau et les mares à proximité des habitations humaines et des élevages, à lutter contre les populations d'animaux sauvages (rongeurs,...) susceptibles de contaminer ces points d'eau, à construire des bâtiments d'élevages à l'épreuve des rongeurs sauvages, et à contrôler l'infection au sein même du cheptel par un dépistage systématique, y compris des animaux domestiques en contact avec l'élevage. Des mesures d'hygiène simples, comme le port de gants lors de la manipulation des animaux ou lors de travail dans un milieu potentiellement contaminé, permettent de prévenir la contamination de l'homme [22,84,98].

Prophylaxie médicale

- **chez l'animal**

L'immunité étant généralement spécifique du sérovar, les vaccins doivent contenir les principaux sérovats susceptibles d'infecter l'espèce animale objet de la vaccination. En France, seuls des vaccins inactivés destinés aux chiens sont commercialisés. Ils contiennent des souches des sérovats icterohaemorrhagiae et canicola, ont une efficacité limitée, ne protègent que pour une durée de six mois à un an, et n'empêchent ni le portage ni l'excrétion (excrétion toutefois moins intense et moins longue que chez un non-vacciné), si bien qu'un chien vacciné peut être contaminant. Ces vaccins pourraient conférer une protection vis-à-vis de quelques autres sérovats (protection croisée due à des antigènes communs). La vaccination n'interfère pas avec le diagnostic [92].

- **chez l'homme**

Un vaccin inactivé à usage humain, fabriqué à partir de deux sérovats du sérotype Icterohaemorrhagiae, est destiné aux professionnels très exposés (égoutiers,...) [92].

10. Historique de la leptospirose au parc zoologique de La Palmyre

La leptospirose n'a jamais été diagnostiquée au parc zoologique de La Palmyre. Des cas sont cependant reportés sur des animaux d'autres parcs zoologiques, notamment sur des rhinocéros noirs (*Diceros bicornis*) [51]. La gravité potentielle de la maladie humaine pose cependant la question de l'intérêt de vacciner les employés travaillant au contact des animaux captifs et des animaux exogènes. Cette vaccination est effectuée dans certains autres établissements.

II - PSEUDOTUBERCULOSE

1. Importance, espèces affectées, répartition géographique

La pseudotuberculose est une maladie infectieuse, irrégulièrement contagieuse, inoculable, commune à l'homme et aux animaux, due à *Yersinia pseudotuberculosis* ou bacille de Malassez et Vignal. *Y. pseudotuberculosis* est rencontrée dans le monde entier chez de nombreuses espèces animales, tout spécialement les rongeurs et lagomorphes, et très souvent sous forme d'un portage latent. L'Europe occidentale et centrale représente actuellement le grand foyer homogène et actif d'infection animale et humaine [5,9]. Le nombre d'infections humaines recensées chaque année en France serait toutefois faible, avec en moyenne 10 cas par an au cours des dix dernières années. Ce chiffre est celui fourni par l'Institut Pasteur, et le nombre réel de cas est peut-être supérieur car le réseau d'épidémiologie français de la pseudotuberculose est en cours d'amélioration [39].

2. Agent responsable

Le bacille de Malassez et Vignal est un coccobacille Gram (-) de la famille des *Enterobacteriaceae*. Il mesure 1,5 à 2 µm sur 0,5 à 0,8 µm, est asporulé et acapsulé. Il est mobile à des températures inférieures à 28°C [9,69] grâce à 3 à 6 flagelles péritriches, et capable de variations de formes et de dimensions suivant la nature et les conditions de culture. En particulier, les souches conservées en laboratoire deviennent rapidement « rough » si elles sont repiquées, ce qui empêche le biotypage [39]. C'est une bactérie aéro-anaérobie facultative et intracellulaire facultative [9,69,96].

D'après WEAGANT *et al.*, il existe 6 sérogroupes, numérotés de I à VI. Les sérogroupes I, II, III et IV ont eux-même des sous-types A et B ayant des réactions antigéniques croisées (28). Le nombre de sérogroupes de *Y. pseudotuberculosis* décrits est cependant variable selon les auteurs : 5 [39], 6 [96,103] et jusqu'à 17 décrits par des chercheurs japonais [39]. Le sérotype I est le plus souvent retrouvé lors d'infections humaines en France [39,69], incriminé dans environ 85 p.cent des cas [39].

Caractères culturels

L'incubation se fait à 28°C ou à température ambiante du laboratoire (22 à 25°C). A la quarante-huitième heure, sur gélose sélective pour les entérobactéries, les colonies mesurent 1 à 2 mm de diamètre (plus les souches sont pathogènes, plus les colonies sont petites [39]), et leur bord est rond. Leur couleur varie en fonction du milieu d'isolement en raison de leur incapacité à fermenter le lactose [9,39] : par exemple sur milieu Hektoen, elles apparaissent bleu ou transparentes, alors que des colonies fermentant le lactose sont jaunes [57]. Cette couleur est parfois difficile à apprécier en raison de la petite taille des colonies. Les *Yersinia* sont psychrophiles, elles peuvent se développer, quoique plus lentement, à + 4°C [69,81].

Caractéristiques biochimiques

Les *Yersinia* sont oxydase négatives et la plupart des espèces sont uréase positives (réaction rapide). Les caractéristiques biochimiques permettant de distinguer *Y. pseudotuberculosis* des autres bactéries du genre *Yersinia* sont explicitées dans le tableau I [103].

Tableau I : caractéristiques biochimiques à 28°C (sauf mobilité, la température est alors précisée) des espèces de *Yersinia* (d'après 103)

Réaction	<i>Y. pestis</i>	<i>Y. pseudotuberculosis</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>Y. intermedia</i>	<i>Y. frederiksenii</i>	<i>Y. kristensenii</i>	<i>Y. aldovae</i>	<i>Y. rohdei</i>	<i>Y. mollaretii</i>	<i>Y. bercovieri</i>	<i>Y. ruckeri</i>
Lysine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arginine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ornithine	-	-	(a)	+	+	+	+	+	+	+	+
Mobilité à 22-26°C	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mobilité à 35-37°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urée	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Phénylalanine déaminase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+/-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-
Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inositol	-	-	+/- (+)	+/- (+)	+/- (+)	+/- (+)	+	-	+/-	-	NR
Sucrose	-	-	(a)	+	+	-	-	+	+	+	-
Rhamnose	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
Raffinose	-	+/-	-	+	-	-	-	+/-	-	-	-
Mélibiose	-	+/-	-	+	-	-	-	+/-	-	-	-
Simmons citrate	-	-	-	+/-	+/-	-	-	+	-	-	+
Voges-Proskauer	-	-	+/- (+)	+	+	-	+	-	-	-	-
Indole	-	-	+/-	+	+	+/-	-	-	-	-	-
Salicine	+/-	+/-	+/-	+	+	- (+/-)	-	-	+/-	(+)	NR
Esculine	+	+	+/-	+	+	-	+	-	(+)	(+)	-
Lipase	-	-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-	-	NR
Pyrazinamidase	-	-	+/-	+	+	+	+	+	+	+	NR

^a = certaines souches du biotype 5 sont négatives

(+) = positive après 7 jours

Certaines souches de *Y. intermedia* sont négatives pour Simmons citrate, rhamnose, ou mélibiose, ou raffinose et Simmons citrate

NR= Non référencé

3. Epidémiologie

3.1. Epidémiologie descriptive

L'homme, ainsi que de très nombreuses espèces domestiques et sauvages, et en particulier les rongeurs, sont sensibles à cette yersiniose. La sensibilité varie d'une espèce à l'autre. Les cas sont généralement sporadiques (animaux domestiques, oiseaux sauvages,...) [1,72], mais on peut assister à des épizooties plus ou moins importantes chez les animaux très sensibles à l'infection : canaris (*Serinus canarius*), cobayes (*Cavia porcellus*), maras (*Dolichotis patagonum*), ... [1,28,71,72].

3.2. Epidémiologie analytique

3.2.1. Sources de bactéries

Tous les auteurs ne s'accordent pas quant à la nature du réservoir de cette bactérie : la grande variété d'espèces animales sensibles à l'infection permet de supposer que les animaux (notamment les rongeurs et les oiseaux) constituent le réservoir de *Yersinia pseudotuberculosis* [1,7,9,80,97,98,103], mais certains auteurs considèrent que la principale source d'infection est le sol et les eaux souillées et que l'hypothèse d'un réservoir tellurique est plus pertinente [1,7,9,16]. Quoiqu'il en soit, il est indéniable que les mammifères et oiseaux sauvages malades ou porteurs latents contribuent à contaminer l'environnement par leurs excréments [1,7,9,28,71,81,98] ; les rôles des colombiformes, du surmulot (*Rattus norvegicus*), de la souris domestique (*Mus musculus*) et du campagnol (*Microtus sp.*) sont les plus souvent retenus [7].

Quelques auteurs comme KRYNSKI et BECLA en 1963, MOLLARET et PLACIDI en 1964 ou ZUREK *et al.* en 2001 ont avancé l'idée de vecteurs arthropodes, mais le rôle possible des tiques, poux, mouches et puces est loin d'être élucidé [7,9,105].

3.2.2. Résistance des bactéries

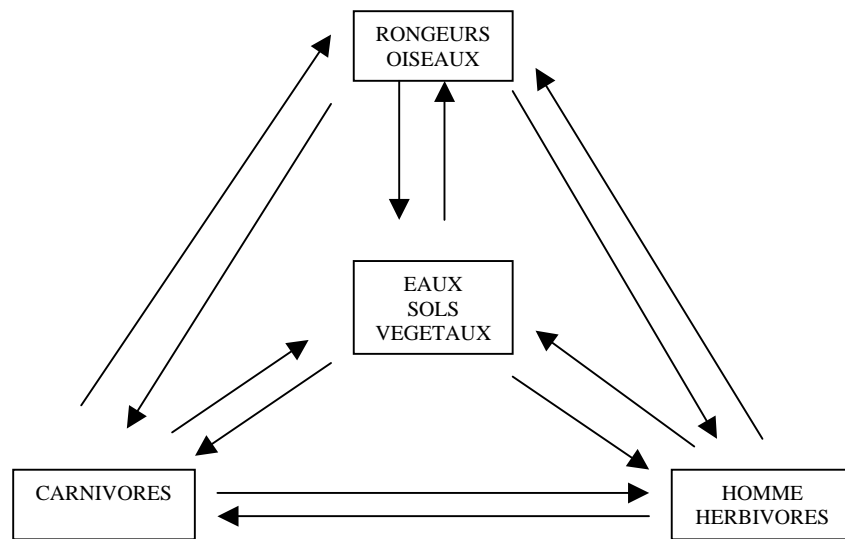
Les *Yersinia pseudotuberculosis* peuvent survivre et même se multiplier dans le sol et dans l'eau, y compris l'eau de mer [80], pendant des mois voire des années, en raison de leurs faibles exigences nutritives et de leur psychrophilie. Elles sont toutefois inféodées à un milieu humide. Elles sont sensibles à la plupart des désinfectants usuels, et sont inactivées par la chaleur (au moins une heure à 160-170°C en chaleur sèche) [1,7,8,28,80,81,96].

3.2.3. Modes d'infection

La voie de pénétration admise est la voie orale [1,7,9,28,71,80,81,96,98] :

- ingestion de végétaux ou d'eau contaminés par des fèces et/ou des urines d'animaux infectés, éventuellement contact direct avec ces matières contaminantes.
- ingestion de proies ou de viandes infectées ; le lait peut également être contaminant.

Figure 4 : proposition de schéma épidémiologique de la pseudotuberculose (d'après 9)



3.2.4. Causes favorisantes

Il existe un pic saisonnier de l'infection de novembre à mars, tant chez l'homme que chez les animaux sauvages ou captifs. Un ressaut vernal a aussi été observé chez l'homme, certains micro-mammifères et le lièvre (*Lepus europaeus*) [1,5,7,8,28,72,80,86].

Selon une étude menée par BARRE *et al.* en 1977, l'incidence annuelle de la pseudotuberculose en France semble varier en fonction des conditions climatiques automnales moyennes : l'accroissement de la pluviosité à cette période par rapport aux valeurs moyennes entraîne une augmentation parallèle dans l'intensité et la rapidité d'évolution de l'infection au niveau de la population. Ces conditions climatiques agiraient en favorisant les regroupements d'animaux vers des sources de nourritures communes contaminantes [7].

3.2.5. Réceptivité [5,7,9,96,97]

Ces facteurs sont encore mal connus :

Age et sexe

La sensibilité particulière des mâles et des individus jeunes, n'est généralement soulignée que dans l'espèce humaine [5,7,9,97]. L'Institut Pasteur de Paris recense cependant plus de cas chez les femmes que chez les hommes, mais cette différence serait probablement due à une médicalisation plus fréquente des femmes [39].

Stress

Le froid, l'humidité, la malnutrition, la captivité... sont autant de facteurs qui, diminuant la résistance de l'organisme, faciliteraient l'expression de l'infection.

Lésions intestinales

La présence de lésions intestinales d'origine parasitaire faciliteraient la pénétration et la diffusion du bacille dans l'organisme selon certains [9] mais tous les auteurs ne s'accordent pas sur ce point [7].

4. Symptômes

Le portage asymptomatique est beaucoup plus fréquent que l'expression clinique de la maladie [5,7,33,71,86].

Rongeurs

Les signes cliniques sont rares et non spécifiques : anorexie, apathie, diarrhée, fièvre typiquement biphasique (2-3 jours puis 5 jours après l'infection, correspondant aux phases de bactériémie). Lors d'infection chronique, les animaux sont amaigris et déshydratés, perdant parfois plus de 30 p.cent de leur poids [5,68,71,72,83,86].

Lagomorphes

Le lièvre est considéré comme l'animal le plus sensible, la pseudotuberculose serait responsable de 30 p.cent des mortalités de cette espèce [5,7,9]. Les signes cliniques sont cependant mal connus. Chez le lapin (*Oryctolagus cuniculus*), moins fréquemment atteint, les symptômes sont semblables à ceux décrits chez les rongeurs. De rares cas de paralysie ont été rapportés [83].

Oiseaux

La maladie aviaire est très répandue, tant chez les oiseaux sauvages que chez les oiseaux captifs, et se présente sous forme aiguë ou chronique [5,9,72,86] :

→ la forme aiguë entraîne généralement une mort foudroyante de l'oiseau ; les éventuels symptômes sont non spécifiques (abattement, anorexie, diarrhée). Cette forme est classique chez les toucans et les canaris par exemple.

→ la forme chronique se manifeste par un amaigrissement, des difficultés respiratoires, de la diarrhée, une anorexie, ainsi qu'une mobilité réduite et des boiteries, avec parfois une tuméfaction de l'articulation tarso-métatarsienne. Le plumage est ébouriffé, puis apparaît une importante diarrhée verdâtre.

Primates non humains

La symptomatologie est toujours frustrante, l'évolution rapide et la mortalité importante : les animaux sont retrouvés morts (cas le plus fréquent chez les callithricidés) ou très abattus, immobiles dans un coin de la cage, la tête sur la poitrine, le poil hirsute, les paupières gonflées, parfois une phase diarrhéique et des crises épileptiformes peuvent précéder la mort [9,50,71].

Herbivores

Les manifestations de la pseudotuberculose des herbivores sont le plus souvent génitales : avortements, mammites, orchio-épididymites... La maladie est habituellement une découverte d'autopsie dans ces espèces [5,9].

Carnivores

Les carnivores sont généralement peu sensibles, excepté le chat. Chez ce dernier, la maladie est parfois aiguë, septicémique ou gastro-entéritique, mais le plus souvent chronique, marquée par la prostration, l'anorexie et l'ictère [5,9].

Homme

Diverses formes cliniques existent chez l'homme. La plus fréquente est l'adénite mésentérique, survenant classiquement chez les garçons de 5 à 15 ans. Les formes septicémiques, bien plus rares, atteignent généralement les adultes et sont bénignes à gravissimes (forme septico-typhoïde) [5,9].

5. Lésions

Les lésions les plus communément retrouvées sont des micro-abcès de 1 mm à quelques cm, jaunâtres, blanchâtres ou grisâtres, à centre caséux, dans le parenchyme hépatique et splénique, parfois dans les poumons et les nœuds lymphatiques.

Figure 5 : organes abdominaux de tamarin à mains rouges (*Saguinus midas midas*) mort de pseudotuberculose (photo Dr T. Petit). Nombreux micro-abcès sur le foie

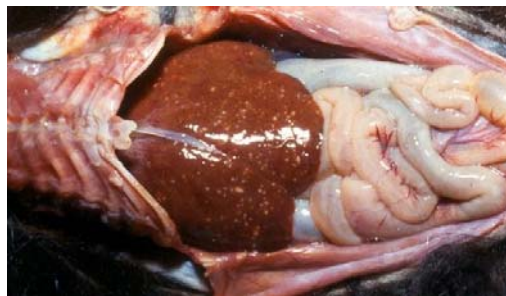


Figure 6 : poumon avec des micro-abcès lors de pseudotuberculose chez un cabiai (*Hydrochaeris hydrochaeris*) (photo Dr T. Petit).



Figure 7 : foie pseudotuberculeux de calao ridé (*Aceros corrugatus*) (photo Dr T. Petit).



Le foie et la rate sont couramment augmentés de volume (splénomégalie très importante chez les passereaux comme les canaris). Un ictère est presque toujours présent. L'hypertrophie des nœuds lymphatiques mésentériques chez les mammifères est de règle (lymphadénite rarement généralisée). Une péritonite sérofibrineuse est fréquemment associée ainsi que des lésions intestinales : entérite nécrotique chez le lièvre, pétéchies sur la muqueuse intestinale chez les primates, micro-abcès de l'intestin chez le cobaye... [5,9,28,71,72,96]. La principale lésion retrouvée sur des toucans morts de pseudotuberculose est une pneumonie hémorragique suraiguë [72].

6. Pathogénie

Les *Yersinia pseudotuberculosis* entrent dans l'organisme par voie digestive, et traversent l'épithélium intestinal généralement au niveau du jéjunum ou de l'iléon : elles adhèrent et pénètrent la couche de mucus recouvrant les cellules épithéliales de la muqueuse puis colonisent les membranes des cellules à bordure en brosse. De là, les bactéries sont transportées dans la *lamina propria*. Après un stade intracellulaire au cours duquel différents facteurs de virulence sont exprimés, les souches pathogènes sont disséminées dans tout l'organisme. Elles infiltrent préférentiellement le foie et la rate, mais peuvent être retrouvées, bien que plus rarement, dans les poumons, les reins et la moelle osseuse [28].

7. Diagnostic

7.1. Diagnostic clinique

En raison de la faible fréquence et de la non spécificité des symptômes, le diagnostic clinique est extrêmement délicat. La pseudotuberculose ne peut être que suspectée et nécessite des examens complémentaires pour être confirmée [1,9,71,83].

7.2. Diagnostic post-mortem

Le tableau nécropsique est évocateur : ictère sur un animal souvent en bon état général (sauf cas chroniques), avec lésions nodulaires hépatiques et spléniques, ou une adénite mésentérique [5,9,28,71,72,96]. Cependant d'autres agents peuvent être incriminés.

7.3. Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel doit se faire avec les autres causes possibles de septicémie ou de lésions nécropsiques semblables : par exemple peste, tularémie, maladie de Tyzzer chez les rongeurs ; pasteurellose, colibacillose, aspergillose, tuberculose aviaires... Il repose sur les commémoratifs et l'identification bactériologique ou sérologique de l'agent causal [28,68,86].

7.4. Diagnostic expérimental

Diagnostic bactériologique

L'isolement de *Yersinia pseudotuberculosis* peut être fait à partir de selles, de sang en cas de septicémie, ou de prélèvements nécropsiques (foie, poumon, rate, nœud lymphatique...) [1,8,9,68,103]. Le sérotypage des souches isolées est important du point de vue épidémiologique [1].

Diagnostic sérologique

Les tests sérologiques utilisables pour confirmer l'infection par *Yersinia pseudotuberculosis* sont la séroagglutination, et l'ELISA avec le sérotype correspondant. La persistance des anticorps serait très variable, en général quelques mois [39]. L'interprétation des tests sérologiques est délicate car plusieurs sérotypes ont en communs des antigènes avec d'autres entérobactéries [1,9,28,71,82] ; par exemple le sérotype IV a un antigène commun avec des salmonelles du groupe D, le sérotype II avec des salmonelles du groupe B...[71].

8. Pronostic

Lors de l'infection par une souche virulente d'un hôte d'une espèce sensible, le pronostic est très réservé. Cette infection se traduira par la mort rapide de l'animal ou la mise en place d'un processus chronique impliquant une réponse immunitaire massive [71].

9. Méthodes de lutte

9.1. Traitement

En médecine vétérinaire, le diagnostic est rarement suffisamment précoce pour mettre en place un traitement efficace sur un animal infecté [9]. Des antibiotiques à large spectre, agissant sur les bactéries Gram (-), peuvent être administrés pour juguler une épizootie en élevage : l'efficacité des tétracyclines est reconnue, on peut également utiliser quinolones, sulfonamides ou aminoglycosides ; ces derniers sont les antibiotiques de choix en médecine humaine [39]. A ce traitement antibiotique doivent être adjointes des mesures hygiéniques [9,68,71,72,82]. Des rechutes sont possibles quelques semaines après l'arrêt du traitement.

9.2. Prophylaxie

Prophylaxie sanitaire

La mesure préventive la plus importante consiste à protéger l'eau et les aliments contre la contamination fécale des oiseaux et des rongeurs. La lutte contre la pullulation de ces animaux est également recommandée [1,71,86].

Prophylaxie médicale

- antibioprévention : l'adjonction de sulfonamides ou de tétracyclines dans l'eau de boisson préviendrait la transmission de la pseudotuberculose [71]. Les risques d'apparition de résistance sont cependant augmentés.
- vaccination : aucun vaccin n'est à ce jour commercialisé en France, mais il en existe dans d'autres pays comme les Pays-Bas (vaccin tué PSEUDOVACND, contenant les sérotypes I, IIA, IIB, III, IV, V et VI) [87]. L'efficacité de la vaccination est sujette à controverses [8,71].

10. Historique de la pseudotuberculose au parc zoologique de La Palmyre

La pseudotuberculose est un problème récurrent au parc zoologique de La Palmyre : neuf espèces de primates, rongeurs et oiseaux ont été concernées. Les cas sont survenus entre les mois de janvier et avril. Les cercopithécidés, les callithrichidés (excepté les ouistitis pygmées (*Callithrix pygmaea*)), les lémurs aux yeux turquoises (*Eulemur macaco flavifrons*), les toucans (*Toucan toco*) et les trois espèces de calaos du parc sont vaccinés contre la pseudotuberculose depuis 2000 avec PSEUDOVACND, vaccin tué produit par le Laboratoire de Microbiologie de la section Zoo and Exotic Animals de la Faculté Vétérinaire d'Utrecht. La primovaccination se fait en deux injections à six semaines d'intervalle, et le rappel est fait tous les ans [87]. Les animaux sont vaccinés en automne, à partir de l'âge de 2 mois. Les

cabiais (*Hydrochaeris hydrochaeris*) sont vaccinés au moyen du même produit, et suivant le même protocole que les primates, depuis novembre 2002.

Le ouistiti à pinceaux blancs (*Callithrix jacchus*) décédé en 2003 est le premier animal mort de pseudotuberculose depuis la mise en place de la vaccination.

Des symptômes n'ont été observés que pour trois espèces, les autres animaux sont morts sans prodrome.

10.1. Primates

Cercopithèque de diane (*Cercopithecus diana diana*), femelle âgée de 10 ans

Les symptômes ont commencé en octobre 1990 et étaient non spécifiques : une faiblesse générale et un amaigrissement chronique ont évolué sur 1,5 an. Des traitements ont été mis en place : antibiotique (céphalosporine), ivermectine, antianémiques, complémentation minérale et vitaminique, traitement de trois mois par des corticoïdes. L'état général s'améliorait puis se détériorait. En décembre 1991, son état était plutôt bon et stable. L'évolution finale en mars 1992 fut aiguë, marquée par une grande faiblesse pendant les deux jours précédant le décès.

A l'autopsie, les lésions remarquables étaient une hépatomégalie, la présence de pyogranulomes sur le foie, et un épanchement abdominal orange. Le diagnostic de pseudotuberculose a été établi par isolement de *Yersinia pseudotuberculosis* à partir d'un prélèvement de foie. Ces éléments ne permettent pas de déterminer si ce germe était responsable de l'ensemble des symptômes ou s'il n'a été qu'un germe de surinfection causant la mort de l'animal.

Cercopithèque de de Brazza (*Cercopithecus neglectus*), âgé de 2 ans

Ce singe a été retrouvé mort en mars 1998. Les lésions étaient une nécrose de la muqueuse intestinale et une hypertrophie des nœuds lymphatiques mésentériques. *Y. pseudotuberculosis* a été isolée d'un prélèvement de nœud lymphatique.

Cercopithèque de Wolf (*Cercopithecus wolfi wolfi*), âgé de 2,5 ans

Ce singe a été retrouvé mort en février 1999. Des pyogranulomes sur le foie et la rate, ainsi qu'une splénomégalie furent observés à l'autopsie. *Y. pseudotuberculosis* a été isolée de prélèvements de foie et de rate.

Tamarin à mains rousses (*Saguinus midas midas*), âgé de 4 ans

Ce singe a été retrouvé mort en avril 1997. Des pyogranulomes sur le foie ainsi qu'une hépatomégalie furent observés à l'autopsie. *Y. pseudotuberculosis* a été isolée d'un prélèvement de foie.

Ouistiti de Geoffroy (*Callithrix geoffroyi*)

Dans cette espèce, il s'est agi d'une épizootie au début de l'année 1999 : quatre animaux sont morts en l'espace de deux mois, deux jeunes femelles de 1,5 an (des sœurs) et deux mâles adultes de 4 et 7 ans.

Trois de ces animaux ont guéri d'un premier épisode sous traitement antibiotique de 5 à 7 jours (sulfamides potentialisés ou tétracyclines), adjoint de corticoïdes (dexaméthasone) et d'une complémentation minérale et vitaminique (calcium et vitamines B12, A, D3, et E.), la

rémission était considérée parfaite en deux semaines. Ces épisodes n'ont pas eu lieu en même temps pour les trois ouistitis : septembre 1998 pour la première femelle, février 1999 pour la deuxième femelle et le premier mâle. Ils sont morts respectivement 5 mois, 3 semaines et 1 mois suivant leur première atteinte, après une évolution aiguë de 24 à 48 heures. Le quatrième ouistiti est mort d'une atteinte aiguë après 24 heures de diarrhée et d'abattement profond.

Suite au deuxième décès, le groupe entier a été mis sous traitement aux sulfamides potentialisés mais deux animaux ont eu malgré cela des symptômes (diarrhée, asthénie) et sont morts.

Le diagnostic de pseudotuberculose a été posé à chaque fois après la mort de l'animal par observation de lésions caractéristiques à l'autopsie (pyogranulomes sur le foie, hépatomégalie, splénomégalie, hypertrophie des nœuds lymphatiques mésentériques, ictère, nécrose de la muqueuse intestinale) et isolement de *Yersinia pseudotuberculosis* sur des prélèvements de foie.

Ouistiti à pinceaux blancs (*Callithrix jacchus*), femelle âgée de 2,5 ans

Cette jeune femelle était probablement atteinte d'un syndrome de dépérissement chronique. Elle a été vaccinée contre la pseudotuberculose à partir de l'âge d'un an. Après être restée isolée à l'intérieur pendant huit mois en raison de problèmes d'intégration à sa famille, elle a été mise dans un autre groupe en janvier 2003. Fin mars 2003, une baisse de l'état général est notée : faiblesse, symptômes nerveux (raideur, opisthotonos) pendant moins de 24 heures en début d'évolution. Un traitement antibiotique est mis en place : sulfamides potentialisés pendant 4 jours, puis amoxicilline pendant 15 jours. Son état était instable au départ, puis s'est maintenu pendant 10 jours, jusqu'à la détérioration finale. L'épisode a duré en tout trois semaines.

La suspicion clinique de pseudotuberculose a été confirmée à l'autopsie par observation de pyogranulomes sur le foie avec décoloration de l'organe, adénite mésentérique suppurée, et splénomégalie, et par isolement de *Yersinia pseudotuberculosis* à partir d'un prélèvement de foie et de nœud lymphatique mésentérique. Le typage de cette souche par le Centre National de Référence des *Yersinia* (Institut Pasteur de Paris) a permis d'identifier le sérotype I, sérotype pourtant intégré au vaccin utilisé.

10.2. Rongeurs

Un cabiai (*Hydrochaeris hydrochaeris*) adulte est mort subitement en janvier 1995. A l'autopsie, le foie était noir, de consistance et de couleur hétérogènes, et des pyogranulomes étaient présents dans le parenchyme pulmonaire. *Y. pseudotuberculosis* a été isolée à partir de prélèvements de poumons.

10.3. Oiseaux

Calao ridé (*Aceros corrugatus*), deux oiseaux adultes dont un âgé de plus de 17 ans

Le premier oiseau a été retrouvé mort en février 1993, le second en février 2001. Les lésions retrouvées sur ces deux individus étaient semblables : des pyogranulomes sur le foie et une

splénomégalie. L'isolement de *Y. pseudotuberculosis* a été fait à partir de prélèvements de foie et de rate.

Toucans toco (*Ramphastos toco*), 2 jeunes de la même couvée, âgés de 6 mois

Les deux oiseaux sont morts sans prodrome, à trois jours d'intervalle, en janvier 1993. L'autopsie a montré la présence de pyogranulomes sur le foie, d'une hépatomégalie, d'une splénomégalie, et d'un œdème pulmonaire. L'isolement de *Y. pseudotuberculosis* a été fait à partir de prélèvements de foie et de rate.

III - TOXOPLASMOSE

1. Importance, espèces affectées, répartition géographique

La toxoplasmose est une maladie cosmopolite affectant pratiquement tous les vertébrés à sang chaud, les mammifères comme les oiseaux. Des cas de toxoplasmose ont même été décrits chez des animaux à sang froid [58]. L'importance de la toxoplasmose est très grande :

- économiquement, par les pertes qu'elle cause dans les élevages (brebis, lapins, visons, chinchillas...);
- par la gravité des troubles qu'elle peut occasionner chez l'animal ;
- et enfin par son caractère zoonotique. En effet, elle est parfois à l'origine de troubles catastrophiques, notamment chez des fœtus ou de jeunes enfants, ainsi que chez des personnes immunodéprimées [10,19,37,65,74,102].

2. Agent responsable : morphologie, cycle évolutif

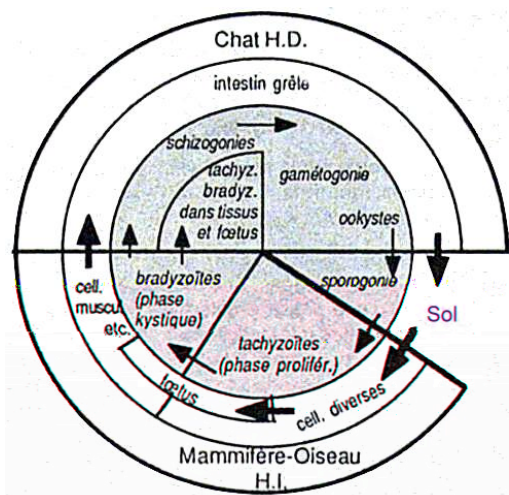
L'agent est un protozoaire appartenant à l'embranchement des *Sporozoaires*, à la classe des *Coccidea*, à l'ordre des *Eimeriida*, à la famille des *Toxoplasmatidés* : il s'agit de *Toxoplasma gondii*. Ce parasite a un cycle hétéroxène facultatif avec, chez les hôtes intermédiaires, présence des tachyzoïtes dans des tissus extrêmement variés et des kystes à bradyzoïtes dans la musculature et le système nerveux principalement. L'hôte définitif (H.D.) est toujours un féliné, mais tous les vertébrés à sang chaud sont susceptibles de jouer le rôle d'hôtes intermédiaires (H.I.), y compris les félinés [10,37,90,102].

Cycle évolutif (figure 8) : [10,27,37,65,90]

- **dans le milieu extérieur :** les oocystes subissent une sporogonie. Ils deviennent sporulés en 1 à 5 jours, quand les conditions climatiques sont favorables (chaleur et humidité).

- **chez l'hôte intermédiaire :** la plupart des infections sont acquises par absorption de kystes à bradyzoïtes ou d'oocystes sporulés. La phase de prolifération dure une à deux semaines et entraîne des destructions cellulaires graves. Les parasites sont disséminés par le réseau lymphatique et le système portal vers des tissus et des organes variés. C'est lors de cette phase que les tachyzoïtes sont susceptibles de traverser le placenta. Suite au développement de réactions immunitaires chez l'hôte, la prolifération se ralentit et l'on passe à la phase kystique : les toxoplasmes (sous forme de bradyzoïtes) se localisent préférentiellement dans les centres nerveux, la rétine, les poumons, le myocarde, les muscles squelettiques, plus rarement le foie, la rate, les reins. Ils y forment des kystes pouvant persister pendant des années, et capables de s'ouvrir et de redonner des tachyzoïtes à la faveur d'une baisse de l'immunité de l'hôte.

Figure 8 : cycle de base hôte définitif-hôte intermédiaire de *Toxoplasma gondii* (d'après 10)



- **chez l'hôte définitif** : si un félinid naïf ingère des tissus animaux contenant des kystes toxoplasmiques, les bradyzoïtes colonisent les entérocytes et présentent un développement de type coccidien. La période prépatente dure 3 à 5 jours, et le félinid est excréteur pendant 9 à 20 jours s'il s'agit d'une primo-infection. Un félinid ayant déjà été infecté ne ré-excrète généralement pas d'oocystes, ou alors moins longtemps et moins intensément [10,37,79].

Il en résulte que [10] :

- si la toxoplasmose peut se transmettre suivant un cycle régulier d'alternance entre félinidés H.D. et H.I., elle peut aussi se transmettre très facilement et indéfiniment d'H.I. à H.I. par ingestion de produits carnés, sans oublier la facilité de transmission transplacentaire chez les mammifères.
- des kystes à bradyzoïtes peuvent se développer chez les félinidés, soit en même temps que le cycle coccidien intestinal, soit avant si le félin s'est infecté en ingérant des oocystes sporulés.

La toxoplasmose peut donc s'entretenir indéfiniment même en l'absence de félinid, et inversement elle peut s'entretenir entre félinidés (figures 9 et 10). L'entretien est cependant limité car chaque félinid n'excrètera qu'une ou deux fois des oocystes, mais des kystes à bradyzoïtes peuvent persister [10,37].

Figure 9 : cycle hôte intermédiaire-hôte intermédiaire de *Toxoplasma gondii* (d'après 10)

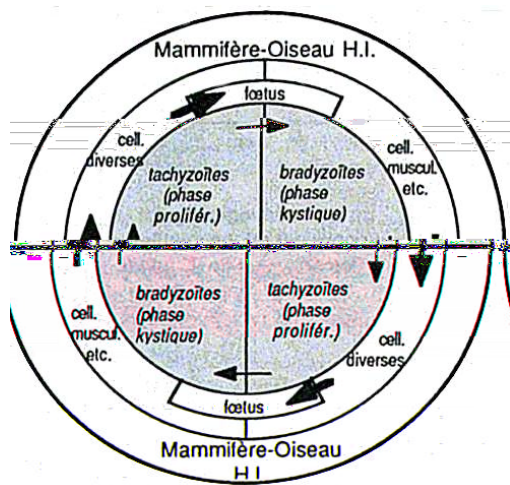
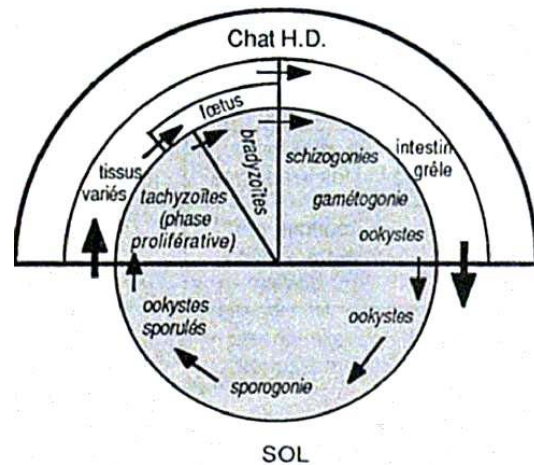


Figure 10 : cycle hôte définitif-hôte définitif de *Toxoplasma gondii* (d'après 10)



3. Epidémiologie

3.1. Epidémiologie descriptive

Les infections toxoplasmiques sont extrêmement fréquentes chez l'homme et l'animal, mais demeurent le plus souvent inapparentes, si bien que les cas cliniques apparaissent généralement de façon sporadique. Cependant, dans certaines collectivités d'animaux, la maladie peut devenir enzootique [10].

3.2. Epidémiologie analytique

3.2.1. sources de parasites [10,19,37,65,79,102]

- Les chats et certains autres félinés : les oocystes rejetés par un féliné et ayant subi une sporulation sont infectants. Cette sporulation n'ayant lieu que 24 à 48 h après l'élimination des oocystes, ce n'est pas le féliné qui est directement infectant mais les lieux de défécation : litière, bac à sable, terre, fruits et légumes du jardin, pâture, fourrage, etc... De plus, ces oocystes sporulés peuvent avoir été disséminés par le féliné lui-même, le vent, des insectes coprophages, des oiseaux...
- Les tissus animaux, issus d'hôtes intermédiaires infectés, contenant des kystes à bradyzoïtes : ils représentent un danger pour l'homme et les espèces carnivores susceptibles de les consommer. Les kystes sont très résistants dans l'organisme et dans les cadavres en putréfaction, et les herbivores sont susceptibles de s'infecter par ces kystes ainsi dispersés.
- Les mammifères femelles qui peuvent transmettre l'infection à leur descendance.

3.2.2. résistance des parasites

Les oocystes sporulés peuvent résister plusieurs mois à plusieurs années en milieu humide, et résistent également à la plupart des désinfectants usuels. En revanche, ils sont détruits par la dessiccation et la chaleur [37,79,102].

Les kystes à bradyzoïtes résistent de nombreuses années chez l'hôte vivant, et plusieurs mois sur les cadavres en putréfaction. Après la mort de l'hôte intermédiaire, ils ont une survie prolongée à +4°C, résistent quelques heures à 15 jours à la congélation, et environ 3 heures sous l'action du suc gastrique ; ils sont détruits en quelques dizaines de minutes à la chaleur [10,37].

Les tachyzoïtes, en revanche, sont très fragiles, ce qui rend la contamination par ingestion de tissus contenant ces éléments quasiment impossible [10].

3.2.3. modes d'infection [10,19,27,37,74]

Il existe deux modes d'infection.

La voie digestive

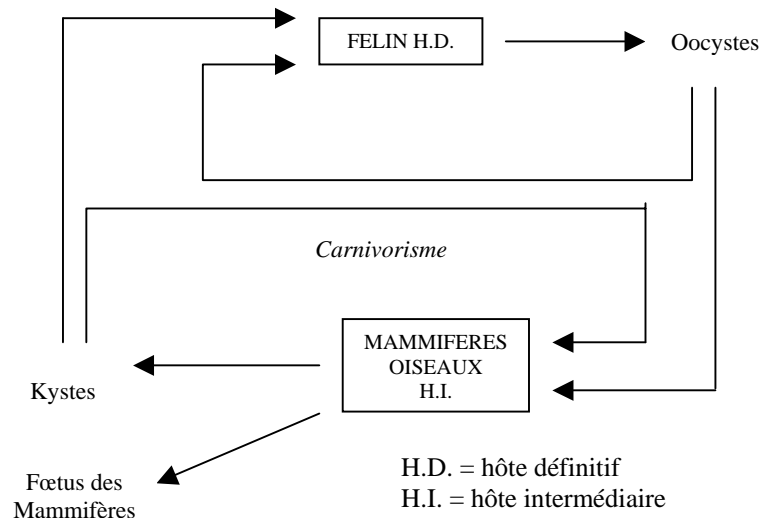
C'est la plus fréquente. L'homme et les animaux s'infectent en ingérant des oocystes sporulés ou des kystes à bradyzoïtes : consommation d'aliments ou d'eau contaminés par des oocystes, de viande ou de viscères peu cuits, de placenta après une mise-bas...

La voie placentaire

Les tachyzoïtes peuvent traverser le placenta lors d'une primo-infection survenant pendant la gestation et provoquer de très graves lésions chez le fœtus.

La possibilité d'une transmission vénérienne est évoquée, mais son incidence est certainement très faible [10].

Figure 11 : schéma du cycle épidémiologique de la toxoplasmose (d'après 10)



3.2.4. causes favorisantes [10,37,90]

- La présence de félinés est un élément favorable au maintien des infections toxoplasmiques dans une région, mais non strictement indispensable ;
- Le manque d'hygiène et la présence d'insectes coprophages favorisent la transmission du parasite, en facilitant la dispersion et l'ingestion d'oocystes sporulés par l'homme ou l'animal ;
- Le mode de vie et les habitudes alimentaires : les carnivores s'infectent essentiellement par ingestion de viande crue ou lors de chasse aux rongeurs. L'homme se contamine en mangeant de la viande peu cuite ou des légumes mal lavés. 30 à 70% de la viande d'ovins et de caprins adultes serait parasités [37], moins de 40% de la viande de porcs ; pour les autres espèces animales, la prévalence n'est pas chiffrable mais toutes peuvent contenir des kystes [90]. Les herbivores s'infectent en ingérant des végétaux souillés directement ou indirectement (insectes) par des excréments de félinés contenant des oocystes sporulés.

3.2.5. réceptivité

Espèce

Aucune espèce de mammifère ou d'oiseau n'est réfractaire à l'infection, mais certaines espèces sont plus à même de déclencher une « toxoplasmose maladie » : lapins, ovins, carnivores, gazelles et antilopes, kangourous et wallabies, nombreuses espèces de singes avec une susceptibilité plus grande des singes du nouveau monde [19,27].

Age

c'est un facteur de moindre résistance, plus l'animal est jeune, plus les troubles sont graves. Au contraire, le taux des infections inapparentes augmente avec l'âge [10].

Les immuno-déficiences

Elles favorisent le développement de la « toxoplasmose maladie » : les maladies immunodépressives (cancers,...), les traitements immunosuppresseurs, encore les situations

stressantes comme la captivité en parc zoologique. Certains tissus de l'organisme dans lesquels les anticorps et les cellules immuno-compétentes pénètrent difficilement (cerveau, œil) sont particulièrement exposés et souvent les lésions toxoplasmiques les plus graves s'y développent [10].

4. Symptômes

La majorité des cas de toxoplasmoses restent inapparents [10,27,58,65,79].

4.1. Toxoplasmose congénitale

Elle est observée surtout chez des jeunes mères, car elle correspond à l'infection du fœtus lors de primo-infection de la mère pendant la gestation. Elle peut se manifester par des avortements (surtout en fin de gestation), une rétention foetale avec momification, de la mortalité (morts-nés ou jeunes morts très peu de temps après leur naissance avec dyspnée, fièvre, signes neurologiques), des lésions graves chez les nouveaux-nés (hydrocéphalies, encéphalomyélites,...) [65]. La toxoplasmose congénitale est connue en particulier chez la femme, mais également chez les brebis, les chèvres, les truies, les chiennes, les visons et les chinchillas, avec de nombreux cas dans un même effectif. Le passage transplacentaire n'est pas obligatoire, et même s'il a lieu, le fœtus peut naître sain [10,65].

4.2. Toxoplasmose acquise

4.2.1. formes aiguës

Les symptômes sont très polymorphes, et surviennent en général sur des hommes ou des animaux jeunes ou immunodéprimés. La toxoplasmose se manifeste par de la fièvre, souvent accompagnée de broncho-pneumonie, parfois de méningo-encéphalite, de troubles digestifs. Dans la plupart des cas, l'évolution se fait rapidement vers la mort [10].

Félinés

La forme clinique est rare. Les symptômes incluent amaigrissement, pneumonie, encéphalite, fièvre [37,65,74].

Chien

Très souvent en relation avec l'apparition de la maladie de Carré. Il existe plusieurs formes cliniques en fonction de l'âge de l'animal : polyradiculonévrite chez le chiot de moins de trois mois (parésie progressive puis paralysie), forme nerveuse chez des chiots de quatre mois (atteinte du cerveau et de la moelle épinière), forme généralisée chez des chiens de sept à douze mois (fièvre intermittente, dyspnée, diarrhée, vomissements, lésions oculaires rares) [10,37].

Rongeurs et lagomorphes

Ils sont fréquemment séropositifs. La maladie peut rester latente ou provoquer des symptômes nerveux et de la fièvre [19,68].

Bovins, ovins, porcins

Les symptômes les plus fréquents sont dyspnée, fièvre, tremblements musculaires (porcins et ovins) [74].

Chevaux

Les chevaux semblent particulièrement résistants à la toxoplasmose ; cependant, l'apparition progressive de symptômes neurologiques tels qu'ataxie, parésie, marcher sur un cercle sont possibles, ainsi qu'une cécité [74].

Marsupiaux australiens

Les wallabies et kangourous sont très sensibles à la toxoplasmose, ces animaux meurent en quelques heures après l'apparition des signes cliniques (léthargie et détresse respiratoire) [19].

Primates

Tous sont susceptibles de contracter la toxoplasmose mais les primates du nouveau monde et les lémuriniens semblent plus sensibles. La maladie se manifeste généralement par une mort subite ; lorsque les signes cliniques sont visibles, ce sont des symptômes digestifs (diarrhée, émésis, anorexie), neurologiques et une détresse respiratoire [19].

Oiseaux

Lorsque des signes cliniques sont présents, ce sont la plupart du temps des symptômes non spécifiques (amaigrissement, anorexie, faiblesse) ainsi que de la diarrhée et une insuffisance respiratoire. Chez les oiseaux traités, il restera souvent des séquelles oculaires, et notamment une cécité chez les canaris (*Serinus canarius*) [20].

Homme

La plupart du temps, la toxoplasmose ne se manifeste que par une lymphadénopathie généralisée et régresse spontanément en quelques semaines. Chez des individus affaiblis, on peut observer fièvre, éruptions cutanées, malaise, myalgie, arthralgie, lymphadénopathie cervicale, pneumonie, myocardite, méningoencéphalite, et parfois des atteintes oculaires sévères (choriorétinites) [74].

4.2.2. formes chroniques

Des troubles nerveux sont possibles chez de jeunes enfants et des animaux (chinchillas...) et des troubles oculaires ont été signalés chez des enfants et des chats. Ces formes sont rarement diagnostiquées chez les animaux [10].

5. Lésions

5.1. Lésions macroscopiques [10,19,27,58,74]

- Hypertrophies viscérales : le foie, et surtout la rate et les nœuds lymphatiques.
- Lésions aiguës : ce sont des lésions inflammatoires multifocales, souvent à caractère hémorragique ou nécrotique. On les retrouve dans les centres nerveux, les poumons, le foie, les muscles, le cœur, les nœuds lymphatiques, et parfois sur la paroi d'organes creux comme le tube digestif et la vessie, où ces foyers inflammatoires évoluent en ulcères.

- Lésions subaiguës : on peut observer des nodules grisâtres de quelques millimètres, notamment dans le parenchyme pulmonaire.

Il n'y a parfois aucune lésion macroscopique [27].

5.2. Lésions microscopiques

A l'examen histopathologique, la lésion prédominante est une nécrose cellulaire, principalement dans le foie, les nœuds lymphatiques, les poumons, le système nerveux central et les muscles, et on observe de plus la présence de toxoplasmes sous forme de tachyzoïtes ou de kystes à bradyzoïtes [10,27].

6. Pathogénie et immunité

6.1. Prolifération

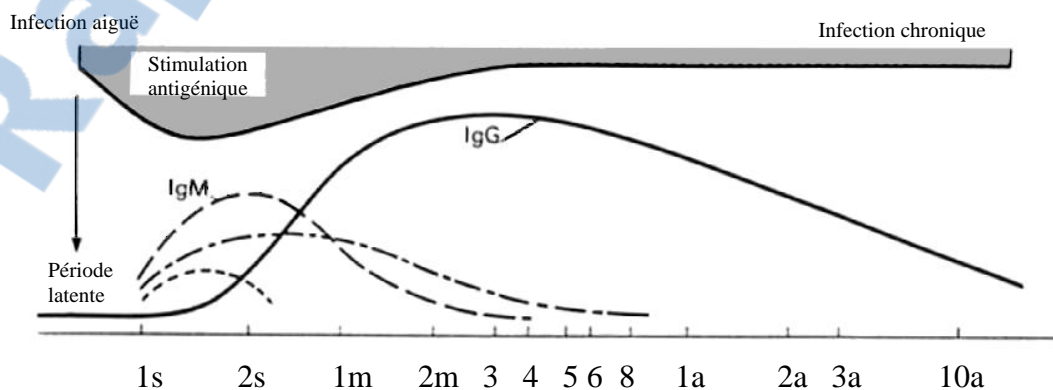
Grâce à leur appareil apical, les toxoplasmes pénètrent activement dans les cellules de l'hôte. Ils se retrouvent dans des vacuoles parasitophores qui ne fusionnent pas avec les lysosomes, les parasites échappent donc à une digestion intracellulaire. Ils prolifèrent au rythme d'une division toutes les 4-5 heures pour les souches virulentes, toutes les 7 à 15 heures pour les souches moins virulentes. Cette phase de prolifération entraîne des destructions cellulaires très importantes, avec possibilité de troubles graves et d'invasion fœtale via le placenta [10].

6.2. Réponse immunitaire

→ Une immunité acquise se développe et marque la fin de la phase de prolifération aiguë. Elle est de nature à la fois cellulaire et humorale, d'abord à immunoglobulines de type M (IgM), puis à immunoglobulines de type G (IgG), et se maintient pendant toute la phase latente (figure 12). Une baisse de l'immunité (corticothérapie, gestation,...) peut réveiller l'infection et provoquer la réapparition de tachyzoïtes [10]. Chez l'homme, les IgM atteignent leur concentration maximale au cours des premières semaines après l'infection, puis peuvent disparaître en quelques semaines, ou persister pendant des mois. Les IgG atteignent leur concentration maximale en deux mois, leur titre reste stable pendant des mois voire des années, puis diminue. Les IgG persistent généralement toute la vie, à un titre faible [35].

Figure 12 : production d'anticorps lors de toxoplasmose (d'après 35).

Les chiffres correspondent à une infection humaine. s = semaine, m = mois, a = année



→ Il existe des phénomènes d'hypersensibilité, surtout de type retardé, lors d'infections latentes : la rupture d'un kyste entraîne la libération d'antigènes, d'où la destruction des cellules voisines non parasitées ; dans les formes aiguës, seules les cellules infectées sont détruites. Cela provoque une nécrose tissulaire avec une forte inflammation locale [10,35].

→ Immunopathologie : il y a production d'auto-anticorps, expliquant en particulier certains troubles oculaires.

→ Effet immunosuppresseur, entraînant une baisse de l'immunité humorale vis-à-vis de divers antigènes.

7. Diagnostic

7.1. Du vivant de l'animal

7.1.1. diagnostic clinique

Le diagnostic clinique est très difficile. La toxoplasmose peut être suspectée dans le cas d'avortements à répétition, de maladies aiguës fébriles, de troubles oculaires ou de morts subites chez des espèces sensibles. Les données épidémiologiques sont importantes et le recours à un diagnostic expérimental, fréquemment une sérologie, est nécessaire [10,20,27,37,65,68,79].

7.1.2. diagnostic expérimental

Inoculations

L'inoculation par voie intrapéritonéale ou intracérébrale de matériel infecté à une souris déclenche chez celle-ci la maladie. Cependant, en fonction de la virulence de la souche, la maladie se déclarera plus ou moins vite, de quelques jours à quelques semaines [10,65].

Sérologies

L'examen sérologique permet de détecter la présence d'IgM spécifiques, d'IgG, ou d'anticorps "naturels" (IgM réagissant avec les antigènes toxoplasmiques chez des sujets neufs). La recherche d'IgG semble la plus intéressante : ces anticorps apparaissent précocement et peuvent persister à des taux élevés pendant plusieurs années. L'interprétation de la présence d'IgM spécifiques est délicate en raison du risque de confusion avec les anticorps « naturels » [10]. De nombreux tests sont disponibles [10,27,90], par exemple :

- test de lyse (= réaction de Sabin Feldman, détection des IgG),
- immunofluorescence indirecte (détection d'IgM, d'IgG ou d'immunoglobulines totales),
- test ELISA,
- agglutination directe de Fulton (détection d'IgG et/ou IgM, appréciation possible du taux d'IgG par traitement d'une partie du sérum à tester au 2-mercapto-éthanol),...

7.2. Post-mortem

L'examen nécropsique permet de poser une suspicion de toxoplasmose, à confirmer par la mise en évidence de tachyzoïtes ou de kystes à bradyzoïtes sur des coupes histologiques, ou encore par PCR ou immunofluorescence *in situ* [10,27,79].

8. Pronostic

Le pronostic est très variable selon les formes : de très fréquents cas asymptomatiques coexistent avec de rares cas gravissimes [10].

9. Méthodes de lutte

9.1. Traitement

Dans tous les cas, le traitement est difficile [10], il empêche la multiplication des parasites mais ne les élimine pas complètement. La toxoplasmose pourra ré-émerger à l'occasion d'un stress ou d'une immunodépression [27,65].

Les associations sulfadiazine-pyriméthamine ou sulfadiméthoxine-trimétoprime sont largement utilisées [10,27,37,65,68,74,79,90], ainsi que la clindamycine [10,27,37,65,74,90] et la spiramycine [10,74,90]. Une supplémentation en acide folique est nécessaire lors de l'utilisation de pyriméthamine [24,90]. Cette molécule est de plus toxique chez le chat [27,79] et certains chiens [10].

Lors de troubles oculaires, qui résultent essentiellement d'un mécanisme immunitaire, il faut associer au traitement antibiotique une corticothérapie locale et/ou systémique [10].

9.2. Prophylaxie envisageable dans le cas d'un parc zoologique

Prophylaxie sanitaire

Elle consiste à éviter la présence d'animaux infectés à proximité d'animaux sensibles (évaluer le risque de carnivorisme) et d'animaux excréteurs à proximité des réserves de nourriture [10,27]. Pour empêcher la contamination par des aliments d'origine animale contenant des kystes, une congélation systématique de la viande est envisageable [2,10] : la plupart des kystes musculaires sont détruits en trois jours à -15°C et en deux jours à -20°C [2].

Vaccination

Un vaccin vivant destiné aux ovins est commercialisé en France (OVILISND TOXOVAX Intervet) [66]. Aux Etats-Unis, un vaccin félin contre la toxoplasmose a été testé [44,45] : ce vaccin contient des bradyzoïtes vivants de la souche T-263, et permettrait de diminuer significativement l'excrétion d'ocystes par les chats [44].

10. Historique de la toxoplasmose au parc zoologique de La Palmyre

Sept cas ont pu être rattachés à de la toxoplasmose.

10.1. Primates

Tamarin lion à tête dorée (*Leontopithecus chrysomelas*)

Un jeune mâle âgé d'un mois est mort en 2002 de toxoplasmose. Les symptômes (abattement, hypothermie) ont duré moins de 24 h. La seule lésion macroscopique est une pneumonie avec un léger épanchement pleural. A l'examen microscopique, des tachyzoïtes sont mis en évidence dans le cerveau et dans le foie, et des kystes toxoplasmiques dans les capillaires pulmonaires. Les lésions microscopiques du foie sont compatibles avec une toxoplasmose

aiguë, mais les lésions cérébrales sont plus anciennes, probablement dues à une toxoplasmose congénitale.

La sœur de ce jeune mâle est décédée trois semaines auparavant, à l'âge de 4 jours, après une détresse respiratoire et une hypothermie ayant évolué en 24 heures. Les lésions nécropsiques étaient une bronchopneumonie purulente et un ictère, aucun toxoplasme n'a été mis en évidence à l'examen histologique.

Saimiri (*Saimiri sciureus boliviensis*), femelle adulte

Cet animal, en excellent état général, a été dyspnéique une heure avant sa mort. Les lésions nécropsiques étaient un œdème pulmonaire, une pneumonie diffuse, et des plaques hémorragiques sur la muqueuse du duodénum et de l'iléon. De très nombreux *Trichomonas* sp. ont été retrouvés à l'examen coproscopique et l'animal s'est avéré séropositif pour la toxoplasmose. Aucun toxoplasme n'a été mis en évidence à l'examen histologique, le diagnostic n'a donc pas été posé de façon formelle.

10.2. Marsupiaux

Kangourou rouge (*Macropus rufus*)

Un fœtus à terme, de mère inconnue, est retrouvé mort en mai 2000. A l'autopsie, une discrète pneumonie interstitielle aiguë, une encéphalite multifocale, une myosite chronique évolutive étaient évocatrices d'une protozoose comme la toxoplasmose ou la néosporose. Aucun élément parasitaire n'a cependant été mis en évidence à l'examen histologique.

Une jeune femelle née en novembre 2000, aveugle de naissance et faible pendant son premier mois, a été diagnostiquée séropositive à la toxoplasmose début décembre 2000. Suite à ce diagnostic, le vétérinaire l'a traitée avec des sulfamides potentialisés pendant une semaine, sans résolution du problème oculaire ; l'état général était cependant satisfaisant. Elle est morte fin janvier 2001 à l'âge de 2,5 mois après 2 jours d'anorexie. Les lésions n'étaient pas évocatrices de toxoplasmose : œsophagite et glossite (suspicion de candidose), entérite bactérienne et dysplasie oculaire.

Wallaby de Bennett (*Macropus rufogriseus*) femelle, 10 ans

Cette femelle a été retrouvée morte en février 2000. L'autopsie a conclu à une encéphalite non suppurée et une sévère entérite aiguë éosinophilique, l'origine toxoplasmique est probable. Un petit wallaby était encore vivant dans la poche, il est mort un mois plus tard de fausse déglutition. Aucune lésion compatible avec une toxoplasmose n'a été observée.

10.3. Bovidés

Une femelle blesbok (*Damaliscus dorcas*) est née en 1998 atteinte d'une affection oculaire congénitale (absence de réflexe pupillaire, mydriase permanente). L'animal a été traité par des tétracyclines pendant une semaine, et une injection de vitamines B1, B6, A, D3 et E. Aucune amélioration n'étant notée, une prise de sang pour la recherche sérologique d'affections compatibles avec les symptômes a été réalisée. L'animal est détecté séropositif pour la toxoplasmose. Un traitement d'une semaine par des sulfamides potentialisés a permis la guérison. Cet animal fait toujours partie du cheptel mais n'a jamais reproduit.

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

I - OBJECTIFS DE L'ETUDE

Nous ne savons pas exactement quels animaux sauvages exogènes (c'est-à-dire n'appartenant pas à la collection) peuplent le parc zoologique de La Palmyre, ni leur répartition à l'intérieur du parc. Pour la mise en place du protocole de piégeage, nous avons bénéficié de l'expérience des soigneurs et du vétérinaire.

Objectif de la récolte d'animaux

Il s'agit de récupérer un maximum d'espèces exogènes et un maximum d'animaux de chaque espèce (dans le respect de la législation), issus d'endroits variés du parc pour effectuer un criblage efficace et obtenir un échantillon représentatif.

Objectifs de l'étude épidémiologique des trois maladies

Nous avons choisi d'étudier trois maladies :

→ la leptospirose : les employés de certains parcs zoologiques sont vaccinés contre cette zoonose, et lors de l'étude du Dr Savary au parc zoologique de Paris [59] plus de 20 p.cent des mammifères capturés étaient excréteurs. Il s'agit ici de savoir quels animaux sont susceptibles de transmettre des leptospires pathogènes aux employés et aux animaux du parc zoologique de La Palmyre, et si la vaccination du personnel se justifierait.

→ la pseudotuberculose : 13 animaux du parc zoologique de La Palmyre sont morts de pseudotuberculose, et une campagne annuelle de vaccination a été instaurée depuis 2000, impliquant plus de quatre-vingts animaux. L'objectif est de savoir quels animaux sauvages sont porteurs de *Yersinia pseudotuberculosis*, quels sérotypes de cette bactérie circulent dans le parc, afin d'évaluer la pertinence de la campagne vaccinale et de proposer le cas échéant des moyens d'actions sur les animaux sauvages pour éviter les manipulations stressantes sur les animaux captifs.

→ la toxoplasmose : au moins quatre animaux ont été atteints de toxoplasmose parmi lesquels trois sont morts. Trois autres décès ont fait suspecter une toxoplasmose sans qu'un diagnostic de certitude n'ait pu être posé. De même que pour la leptospirose et la pseudotuberculose, il s'agit de déterminer quels animaux de la faune sauvage pourraient être à l'origine de contamination des animaux captifs et de contamination humaine, et de proposer des mesures préventives ou offensives adéquates.

Pour répondre à ses objectifs, il nous faut :

- détecter avec la plus grande fiabilité possible les animaux porteurs, c'est-à-dire les animaux qui pourraient représenter un danger pour les animaux captifs ou l'homme. Il faut donc utiliser des tests sensibles, dans la mesure des contraintes liées à la disponibilité et au coût du matériel, ainsi qu'à la distance entre le laboratoire d'analyses et le parc (acheminement des prélèvements).

- proposer des pistes d'études complémentaires, descriptives et analytiques : pour évaluer de façon précise le danger que peut représenter la faune sauvage exogène dans la transmission de *Leptospira* pathogènes, *Yersinia pseudotuberculosis* et *Toxoplasma gondii*, et ensuite la probabilité d'exposition à ce danger (le risque), il est nécessaire de disposer d'informations de bases : nature des espèces présentes, évaluation du nombre d'individus de chaque espèce, estimation du pourcentage de porteurs pour chaque agent pathogène et pour chaque espèce

animale, afin de mettre en place un protocole adapté (nombre d'animaux à prélever, sensibilité et spécificité des tests à utiliser...). Cela nécessite du temps, des moyens humains et financiers importants, et un recentrage drastique du sujet : étude d'une des maladies, sur une espèce animale. Ce recentrage n'est possible qu'après une étude préliminaire comme la nôtre.

- proposer des mesures pratiques d'action sur les animaux exogènes et les enclos, des plans prophylactiques hygiéniques et/ou médicaux, afin de limiter les risques de transmission des agents pathogènes étudiés aux animaux captifs ou à l'homme.

II - ANIMAUX, MATERIEL ET METHODES

L'étude s'est déroulée entre les mois de septembre 2002 et septembre 2003 (excepté les mois de novembre 2002 et février 2003 ainsi que du 15 mars au 15 avril 2003) au parc zoologique de La Palmyre, en Charente Maritime. Le protocole de cette étude a suivi trois étapes :

- capture des animaux de la faune sauvage exogène,
- anesthésie, prélèvements, autopsie des sujets,
- analyses de laboratoire : mise en évidence directe (culture, PCR) ou indirecte (sérologie) des agents responsables de la leptospirose, de la toxoplasmose et de la pseudotuberculose.

1. Le parc zoologique de La Palmyre

Le parc zoologique de La Palmyre a été fondé en 1966 par Irène et Claude Caillé, parents de l'actuel directeur M. Patrick Caillé, et regroupait alors environ 160 animaux. Il compte aujourd'hui près de 1600 mammifères, oiseaux et reptiles.

Le parc est situé en Charente-Maritime sur la presqu'île d'Arvert, en bordure d'un large espace forestier, à environ 1 km du village balnéaire de La Palmyre, et à quelques centaines de mètres à vol d'oiseau de la limite entre l'estuaire de la Gironde et l'océan Atlantique.

Figure 13 : situation géographique du parc zoologique de La Palmyre (carte Michelin 1/200000)



Le parc est délimité par une clôture grillagée d'environ 2 mètres de hauteur (surmontée de deux fils électriques) sur tout le périmètre en regard de la forêt, et des murs de la même hauteur le séparent de la route. La faune sauvage susceptible de fréquenter ce parc est variée, incluant :

- des espèces forestières : fouines (*Martes foina*), martres (*Martes martes*), geais des chênes (*Garrulus glandarius*)...
- des espèces de bord de mer : mouettes rieuses (*Larus ridibundus*), goélands (*Larus argentatus*),...
- des espèces occupant des territoires mixtes (forêt, proximité d'habitations,...) : renards (*Vulpes vulpes*), belettes (*Mustela nivalis*), corvidés, rongeurs, hérissons (*Erinaceus europaeus*),...

- des espèces qui trouvent dans le parc un milieu favorable, comme les ragondins (*Myocastor coypus*) ou les rats musqués (*Ondatra zibethica*) : mares artificielles,...

Ces animaux parviennent à s'introduire dans le parc zoologique en escaladant les grillages, en passant à travers des mailles, en empruntant des buses, ou encore en survolant l'enceinte. Ils trouvent ensuite à l'intérieur des lieux accueillants pour nicher (hauts arbres, buissons, bambous, plans d'eau, petits interstices dans les bâtiments...) et des réserves inépuisables de nourriture (proies, végétaux du parc, réserves de pain, de légumes et de fruits, restes de viande, miettes de pique-nique).

En plus de ces animaux extérieurs, on compte également dans le parc quelques familles de paons, ainsi que des canards de Barbarie, considérés comme faisant partie du cheptel. Ces oiseaux ne sont pas contrôlés par les soigneurs, ils trouvent seuls leur nourriture, sont tout à fait capables de voler et sont donc susceptibles d'interagir largement et sans contrôle avec le milieu extérieur. A ce titre, nous les considérons dans cette étude de la même façon que les animaux de la faune sauvage exogène, avec l'autorisation de la direction du parc.

2. Capture des animaux exogènes

Deux types de récoltes d'animaux sont effectuées pour cette étude :

Récolte « passive »

Régulièrement, des animaux et notamment des oiseaux sont retrouvés morts dans les allées du parc, tués par un choc contre une vitre, l'ingestion de raticides, ou encore morts des suites d'une maladie. Ces cadavres sont inclus dans notre étude.

Récolte « active »

Les prises de sang nécessaires pour l'étude de la leptospirose et de la toxoplasmose ne pouvant être réalisées que sur des animaux vivants, nous avons mis en place un réseau de pièges qui ne tuent pas dans le parc zoologique de La Palmyre.

2.1. Contexte réglementaire [17]

2.1.1. Statut des espèces animales en France

Les espèces animales présentes en France sont classées en quatre catégories :

Espèces protégées

La grande majorité de la faune sauvage française entre dans cette catégorie : il est strictement interdit sauf dérogation ministérielle de chasser, piéger, déplacer, détenir ces animaux.

Espèces domestiques

Par exemple le chat domestique, le chien, le canard de barbarie (*Cairina* sp.), ou le paon bleu (*Pavo cristatus*) sont considérés comme espèces domestiques. Toute intervention est prohibée sur ces espèces sans accord préalable du propriétaire. Ce statut concerne également les chats harets, c'est-à-dire les chats domestiques retournés à l'état sauvage.

Espèces chassables

Parmi ces espèces on distingue les « nuisibles » des « non nuisibles ».

→ les non nuisibles ne peuvent être régulés qu'en période de chasse et leur piégeage est interdit.

→ les nuisibles peuvent être régulés par toutes méthodes : piégeage (toute l'année), chasse (seulement aux périodes autorisées), déterrage,...

Espèces sans statut

La souris (*Mus musculus*), le surmulot (*Rattus norvegicus*), le rat noir (*Rattus rattus*) par exemple, n'ont pas de statut juridique particulier. Chacun est libre de réguler ces espèces à son gré.

Le piégeage ne concerne que les espèces nuisibles et les espèces sans statut. Il existe aujourd'hui en France une liste d'animaux susceptibles d'être juridiquement classés nuisibles dans chaque département, en fonction des conditions locales. Cette liste est fixée par le décret ministériel du 30 septembre 1988, et le préfet de chaque département définit chaque année avant le 1^{er} décembre quels seront les animaux classés nuisibles dans son département parmi cette liste, à dater du 1^{er} janvier. 18 espèces sont susceptibles d'être classées nuisibles :

12 espèces de mammifères :

- Belette (*Mustela nivalis*)
- Raton laveur (*Procyon lotor*)
- Fouine (*Martes foina*)
- Lapin de garenne (*Oryctolagus cuniculus*)
- Martre (*Martes martes*)
- Putois (*Mustela putorius*)
- Ragondin (*Myocastor coypus*)
- Rat musqué (*Ondatra zibethica*)
- Chien viverrin (*Nyctereutes procyonoides*)
- Renard (*Vulpes vulpes*)
- Sanglier (*Sus scrofa*) (piégeage interdit)
- Vison d'Amérique (*Mustela vison*)

Et 6 espèces d'oiseaux :

- Corbeau freux (*Corvus frugilegus*)
- Corneille noire (*Corvus corone corone*)
- Étourneau sansonnet (*Sturnus vulgaris*)
- Geai des Chênes (*Garrulus glandarius*)
- Pie bavarde (*Pica pica*)
- Pigeon ramier (*Columba palumbus*)

En 2003, parmi la liste ci-dessus, l'arrêté préfectoral n° 2002-3940 classait nuisibles dans la commune de La Palmyre les animaux suivants : fouine, ragondin, rat musqué, renard, belette, sanglier, corbeau freux, corneille noire, pie bavarde, et étourneau sansonnet.

Le piégeage ne peut donc viser que ces espèces (excepté le sanglier) et les espèces sans statut.

2.1.2. Réglementation du piégeage

Une synthèse des arrêtés réglementant le piégeage est présentée en annexe I. En fonction du type de piège utilisé, la réglementation diffère quelque peu. Les pièges sont classés en 6 catégories :

- 1- les boîtes à fauves et les nasses ;
- 2- les pièges à mâchoires ayant pour objet de tuer net l'animal. Les pièges à mâchoires capturant l'animal par un membre sont interdits ;
- 3- les collets à arrêtoir ;
- 4- les pièges à lacet ;
- 5- les assommoirs pour l'utilisation desquels seul le ministre peut délivrer une autorisation à la demande du préfet ; ils sont interdits en Charente Maritime ;
- 6- les pièges entraînant la mort de l'animal par noyade.

Dans tous les cas, chacun est libre de procéder ou de faire procéder à la lutte contre les nuisibles sur sa propriété mais toute activité de piégeage doit être précédée d'une déclaration annuelle en mairie, et lors de l'utilisation de collets à arrêtoirs ou d'assommoir, d'une autorisation préfectorale individuelle en plus. Les pièges de catégorie 1 sont utilisables par tous, mais il est nécessaire d'être agréé par l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS) pour tendre les pièges des catégories 2 à 6. Les modalités d'agrément sont explicitées dans l'annexe I. Les pièges de catégories 2 à 6 sont soumis à homologation et doivent porter le numéro d'agrément du piégeur agréé qui en fait usage. Il est possible de fabriquer et d'utiliser ses propres pièges de catégorie 1, mais si le piégeur qui les utilise est agréé, il doit également y inscrire son numéro d'agrément (un piégeur non agréé peut utiliser de tels pièges, il n'y a alors aucun numéro d'inscrit).

Les pièges doivent être relevés chaque jour au maximum 2 heures après le lever du soleil pour les catégories 3 et 4, et avant midi pour les autres.

Les exigences particulières relatives à la signalisation des zones de piégeage, à la distance par rapport aux habitations et aux chemins publics, à l'utilisation de pièges en coulées ne s'appliquent pas au cas d'un parc zoologique, considéré comme un enclos.

Nous avons donc, pour respecter la réglementation nationale, suivi une session de formation de piégeurs agréés auprès de la fédération de chasse du département, et rempli un formulaire de déclaration de piégeage (voir annexe II) en quatre exemplaires préalablement à notre étude. Les destinataires de ces exemplaires sont le maire de la commune, le déclarant, la préfecture et la fédération de chasseurs.

2.2. Espèces cibles et pièges utilisés

Nous avons besoin pour notre étude d'animaux vivants, afin de pouvoir réaliser une prise de sang. Nous avons utilisé des pièges de catégorie 1 (boîtes pièges et nasses) et 4 (pièges à lacets).

Nous pouvions espérer, au vu de la fréquentation du parc zoologique de la Palmyre par les espèces exogènes, capturer des micro-rongeurs, des pies bavardes, des corneilles noires, des ragondins, des fouines et des renards, espèces dont la présence avait été constatée au cours des années précédentes. L'activité de piégeage a donc été centrée sur ces espèces.

Nous avons utilisé :

- des **nasses à souris** (figure 14) contenant un appât (pain, fruit, légume), disposées en coulées à proximité ou à l'intérieur des bâtiments, et que nous changions de place régulièrement ; les espèces visées sont les micro-rongeurs (souris, campagnols, mulots...).

Figure 14 : nasse à souris (photo Dr T Petit).

On place un appât végétal dans la partie fermée (zone située à droite sur le photo). La souris entre par la partie située à gauche sur cette photo, marche sur la palette qui se baisse sous le poids de l'animal, descend dans le piège et la palette remonte grâce au contre-poids quand la souris ne pèse plus dessus.



- des **belettières** (figure 15), contenant ou non un appât, et placées en coulées à côté ou dans les bâtiments ; elles permettent d'ordinaire de capturer soit des petits rongeurs, soit des belettes, mais ces dernières ne semblent pas fréquenter le parc zoologique de la Palmyre ;

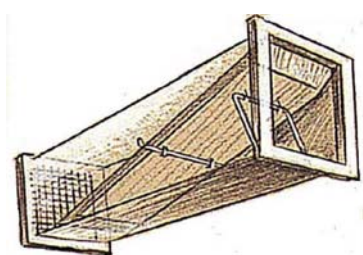


Figure 15 : belettière (d'après 17).

Le piège fonctionne sur un système de bascule. La souris ou la belette monte sur la planche qui bascule quand l'animal dépasse le centre et se bloque grâce à un pied. Sur ce dessin, la belettière est en position bloquée

- des **cages-pièges pour ragondins**, (figure 16) placées en coulées, au bord des plans d'eau. Il s'agit d'un système à double trappe avec un déclencheur au centre du piège. Aucun appât n'est nécessaire puisque ce piège est disposé en coulée, le ragondin va naturellement emprunter ce chemin, pourvu que le plancher du piège soit camouflé sous de la terre ou du sable ;

Figure 16 : piège à double entrée (photo Dr T Petit).

Le ragondin entre par l'une des entrées, pose la patte sur le déclencheur au centre du piège et les deux trappes se referment.



- des **pièges à lacet** pour capturer des renards ou des fouines (figure 17) : ces pièges ne sont pas changés de place, de manière à ce que ces animaux, par nature très méfiants, s'y habituent. Le piège prévu pour les renards n'a pas été tendu ; en effet, capturer un renard nécessite une préparation minutieuse : il faut l'appâter plusieurs semaines (technique des croquettes dans un tas de sable) puis l'habituer à la présence du piège détendu avant enfin de tendre le piège. Un renard venait visiter ce tas de sable, mais de façon très irrégulière, la suite du protocole n'a donc pas pu être mise en place. Pour les fouines, les pièges sont placés dans



des zones où des traces sont retrouvées, à proximité d'un enclos attirant ces mustélidés (volière des ibis);

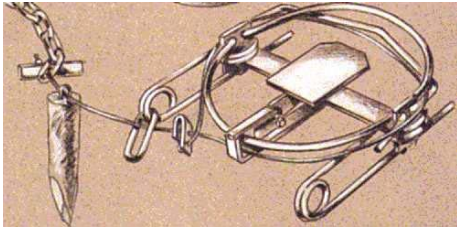
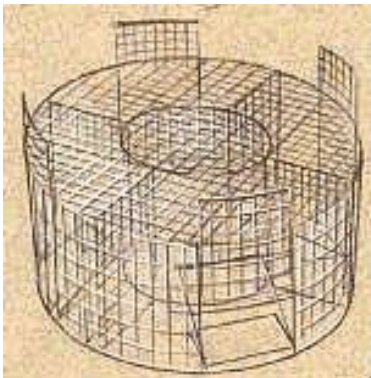


Figure 17 : piège à lacets (tendu) (d'après 17).

Le renard ou la fouine pose la patte sur la palette de déclenchement, les mâchoires se referment (étudiées pour ne pas blesser l'animal), l'animal se débat, le lacet se resserre autour du membre et la patte est libérée des mâchoires. L'animal n'est plus maintenu que par le lacet.

- deux **cages à corvidés**, une cage à pie et une cage à corneille (figures 18 et 19), placées à des endroits plans et légèrement surélevés. Le principe repose sur la territorialité de ces oiseaux. Au centre du piège se trouve un appelant, c'est-à-dire un oiseau de la même espèce venant d'un autre territoire, ayant donc un chant particulier. Cet appelant va répondre aux cris territoriaux des oiseaux autochtones et provoquer ainsi une agression de la part de ces derniers, qui vont aller à son contact et se retrouver pris dans la cage (système de trappe).

Figure 18 : cage à pies (d'après 17).



L'appelant est placé au centre. Quand la pie sauvage arrive pour attaquer l'appelant, elle entre dans une des quatre loges, appuie sur le déclencheur et la trappe se ferme. On peut attraper jusqu'à 4 pies en même temps.

Figure 19 : cage à corneilles (photo Dr T Petit).



Le système est le même que précédemment, mais la taille de ces oiseaux exige des loges plus grandes. On peut attraper 2 corneilles en même temps avec le piège présenté ici.

- cas des espèces domestiques : des paons et des canards ont été attrapés à l'épuisette lorsque l'occasion se présentait.

3. Protocole d'anesthésie, de prélèvements, d'euthanasie

Dès le relevé des pièges chaque matin, les animaux capturés ont été récupérés et ont subi, en fonction de l'espèce, une anesthésie, une prise de sang, une euthanasie et fait l'objet d'une autopsie.

3.1. Anesthésie, prise de sang, euthanasie

Micro-rongeurs

Ils étaient anesthésiés à l'Halothane (HALOTHANEND) dans la nasse où ils étaient capturés, entourée d'un sac hermétique. Cette induction durait environ six ou sept minutes en fonction

de l'état de stress des animaux et du nombre présent dans la cage. Une fois qu'ils étaient manipulables, nous leur injectons par voie intramusculaire 3 mg de tilétamine + zolazépam (0,03 mL de ZOLETIL 100ND) pour un animal d'une trentaine de grammes, soit 100 mg/kg de tilétamine + zolazépam, la dose anesthésique classique étant de 40 mg/kg IM [14]. L'animal était pesé sur une balance de cuisine (précision au gramme), puis nous effectuons une prise de sang intracardiaque pour récolter autant de sang que possible sur tube sec. La conjonction entre le surdosage de ZOLETIL 100ND et l'hypovolémie consécutive à la prise de sang provoquait une mort rapide et indolore de l'animal anesthésié.

Ragondins

Aucun ragondin n'a été capturé. Le protocole prévu était de peser l'animal avec sa cage-piège sur un pèse-personne ; le poids de la cage-piège étant connu, nous déduisons ainsi le poids du ragondin. L'animal étant captif dans le piège, il était possible de lui injecter directement du ZOLETIL 100ND par voie intramusculaire, à la posologie de 20 mg/kg de tilétamine + zolazépam. Quand l'animal aurait été manipulable, nous aurions ponctionné du sang à la veine céphalique afin d'en recueillir 2 mL. L'euthanasie aurait été effectuée par injection intraveineuse de 200 mg/kg d'embutramide, 50 mg/kg d'iodure de mébézonium, et 5 mg/kg de chlorhydrate de tétracaïne, (1 mL/kg de T61ND).

Carnivores

Les carnivores ont été piégés par des pièges à lacets, il n'était donc pas possible de les manipuler à la main directement.

→ Les fouines étaient attrapées à l'épuisette et mises dans une petite cage pour les transporter jusqu'à la salle d'autopsie. Nous induisons l'anesthésie comme pour les micro-rongeurs par voie gazeuse, au moyen d'halothane (HALOTHANEND) insufflé dans un sac hermétique contenant la cage avec la fouine. Une fois manipulable, l'animal était sorti de la cage, pesé, et recevait une injection de ZOLETIL 100ND à la posologie de 15 mg/kg par voie intramusculaire [14]. Cela permettait de prolonger l'anesthésie avant l'euthanasie, car la narcose permise par l'halothane est de courte durée et la prise de sang à la veine céphalique sur un mustélide est malaisée. Nous ponctionnions 2 mL de sang dans cette veine, puis procédions à l'euthanasie en injectant 200 mg/kg d'embutramide, 50 mg/kg d'iodure de mébézonium, et 5 mg/kg de chlorhydrate de tétracaïne (1 mL/kg de T61ND) par voie intracardiaque [66].

→ Les renards auraient été anesthésiés après estimation du poids (un renard adulte pèse entre 5 et 10 kg) par téléinjection intramusculaire de 15 mg/kg de tilétamine + zolazépam (ZOLETIL 100ND). La prise de 2 mL de sang aurait été effectuée à la veine céphalique, et l'euthanasie pratiquée par la même veine en injectant 70 mg/kg d'embutramide, 17 mg/kg d'iodure de mébézonium, et 1,7 mg/kg de chlorhydrate de tétracaïne, (0,3 mL/kg de T61ND) [66].

Corvidés

Les oiseaux étaient sortis à la main du piège et anesthésiés par une injection de tilétamine+zolazépam à la posologie de 20 mg/kg en intramusculaire dans les muscles pectoraux, l'animal étant maintenu en décubitus dorsal. L'anesthésie se faisant avant la pesée,

nous considérons qu'une corneille pèse en moyenne 500 g et qu'une pie pèse entre 200 et 250 g ; les volumes de ZOLETIL 100ND injectés étaient donc 0,1 mL pour une corneille adulte et 0,05 mL pour une pie adulte. L'induction avait lieu en moins d'une minute. Dès que l'animal était endormi (ailes relâchées, paupières mi-closes, aréactivité), l'oiseau était pesé sur une balance de cuisine précise au gramme. Nous recueillions 1 mL de sang sur tube sec par ponction intracardiaque, et laissons l'aiguille en place pour procéder immédiatement à l'euthanasie de l'animal anesthésié par injection intracardiaque de 200 mg/500 g d'embutramide, 50 mg/500 g d'iodure de mébézonium, et 5 mg/500 g de chlorhydrate de tétracaïne, soit 1 mL/500 g de T61ND [66].

3.2. Prélèvements post-mortem et autopsie

Les autopsies ont été réalisées dans une salle prévue à cet effet, avec des bottes et des gants de protection. Dès la mort de l'animal, nous pratiquons l'autopsie, et en tout premier lieu nous récoltions stérilement des selles dans le rectum ou le cloaque. Les selles étaient immédiatement mises dans des tubes stériles contenant du tampon PBS et conservées à + 4°C. Dans le cas des rongeurs et des carnivores, nous prélevions également un rein qui était placé dans un sachet en plastique et conservé à -18°C. Le sang était centrifugé. Le sérum récolté était placé dans un seul tube à culot urinaire dans le cas des oiseaux, et partagé en deux tubes pour les rongeurs et carnivores. Ces tubes ont été conservés à -18°C. Un numéro d'identification a été attribué à chaque animal, et un compte-rendu d'autopsie individuel a été rédigé (annexe III). Les prélèvements ont tous été identifiés par le numéro et la date de l'autopsie de l'animal correspondant.

3.3. Cas particuliers des animaux retrouvés morts

Pour les animaux récoltés morts par les soigneurs (accidentés contre les vitres des enclos, tués par des animaux du parc, morts suite à l'ingestion d'anticoagulants, maladies diverses,...), seuls le prélèvement de selles et l'autopsie étaient possibles, à la condition que le cadavre soit suffisamment frais.

4. Recherche d'anticorps anti-*Leptospira* et d'ADN de leptospires

4.1. Sérologie

Principe et description

La technique sérologique utilisée est le test d'agglutination microscopique (MAT), technique officielle de détection des leptospires, mise au point par Martin et Pettit en 1918 [49]. Ces sérologies ont été effectuées au laboratoire de Pathologie Infectieuse de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes sur les sérums prélevés de rongeurs et de carnivores.

Le principe est de mettre en présence le sérum à tester avec des cultures vivantes de leptospires puis à évaluer le degré d'agglutination au microscope à fond noir. On utilise pour cela une batterie de souches, comprenant une vingtaine de souches de référence représentatives des sérogroupes estimés dominants épidémiologiquement en France, ainsi qu'une souche de *Leptospira* patoc qui est agglutinée par les anticorps induits par de nombreux sérovars pathogènes. Ces souches sont des souches vivantes entretenues sur place

et utilisées entre 6 et 12 jours de culture. Pour notre étude, nous avons utilisé treize souches, répertoriées dans le tableau II.

Tableau II : sérogroupes et sérovars de *Leptospira interrogans* testés par microagglutination sur les sérums de rongeurs et de carnivores capturés au parc zoologique de La Palmyre en 2002-2003

SEROGROUPES	SEROVARs (abréviations)
AUSTRALIS	australis (AUS)
	bratislava (BRAT)
	372 munchen (372)
CYNOPTERI	cynopteri (CYN)
GRIPPOTYPHOSA	grippotiphosa (GRIP)
	vanderhoedeni (35)
ICTEROHAEMORRHAGIAE	copenhageni (COP)
	icterohaemorrhagiae (19)
PANAMA	374 panama (PAN)
SEJROE	sejroe (SJ)
	saxkoebing (SAX)
	hardjo (HJ)
	296 saxkoebing (296)

Un test de criblage est d'abord exécuté avec des dilutions sériques au 1/50, chaque sérum étant testé avec tous les sérovars. Les échantillons positifs sont titrés en doublant les dilutions sériques à partir de 1/50 et jusqu'à 1/51200 (dilution avant l'ajout d'antigène). Un volume de chaque antigène égal au volume du sérum dilué est ajouté à chaque dilution. Les plaques de microtitration sont mises à incuber à 28-30°C pendant 2 heures puis examinées au microscope à fond noir. Le protocole précis de la réaction de microagglutination pour le diagnostic de la leptospirose est détaillé par BARANTON *et al.* (1992) [6].

Interprétation des résultats

Le degré de réaction est interprété en estimant le pourcentage de leptospires agglutinées (tableau III).

Tableau III : interprétation du degré de la réaction de microagglutination de leptospires [4].

Degré de réaction	++++	+++	++	+
Pourcentage de leptospires agglutinées	100 p.cent	75 p.cent	50 p.cent	Moins de 50 p.cent

Un sérum est positif, à une dilution donnée et pour la souche testée, si au moins 50 p.cent des leptospires sont agglutinées par rapport à une souche témoin [4,92]. Le seuil de positivité retenu par l'Unité de Pathologie Infectieuse de l'École Nationale Vétérinaire de Nantes est 100 pour cette étude. En effet, la forme prédominante de leptospirose chez les rongeurs et les mammifères sauvages est chronique et la réponse sérologique est le plus souvent établie lors

de la réalisation du prélèvement. Le titre d'un sérum est donné par l'inverse de la plus haute dilution donnant un résultat positif.

4.2. PCR

Principe et description

Cette technique a été réalisée par l'Unité de Pathologie Infectieuse de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes et le laboratoire Adia-gène (Saint-Brieuc) sur les reins des rongeurs piégés. Le protocole exact de la manipulation utilisée pour notre étude est sous la protection d'Adia-gène et ne peut donc pas être détaillé ici.

L'ADN est tout d'abord extrait du prélèvement d'origine (après broyage de l'organe entier) ; le principe général consiste à faire précipiter les cellules grâce à un premier tampon, puis à ajouter de la protéinase K afin de provoquer la lyse cellulaire. Un autre tampon fait précipiter les acides nucléiques, puis un éluant est appliqué après plusieurs lavages successifs de l'ADN. Les supports sont des micro-colonnes d'extraction munies de filtres. L'ADN est finalement recueilli sur un cryotube « à jupe » de façon à minimiser les contaminations des pipettes (l'ADN se trouve à la surface et non au fond du tube) lors de l'amplification génomique.

Deux jeux d'amorces sont utilisés pour l'amplification génomique :

- les amorces « toutes *Leptospira* » correspondent aux amorces décrites par MERIEN *et al.* en 1992 [46] : elles permettent d'amplifier un fragment d'ADN codant l'ARN ribosomal 16S de 330 paires de bases (pb) spécifique du genre *Leptospira*.
- les amorces « *Leptospira* pathogènes » correspondent au brevet déposé par ANDRE-FONTAINE *et al.* en 2000. Le fragment d'ADN amplifié par ces amorces est spécifique de *Leptospira interrogans (sensu lato)*.

L'analyse des résultats se fait par migration électrophorétique. Un agent intercalant permet de visualiser la position de la bande d'ADN lorsque le gel est observé sous rayons ultra-violet. Un marqueur de poids moléculaire aide à quantifier la taille du fragment et à confirmer la spécificité de l'amplicon.

Interprétation des résultats

Un résultat est considéré comme positif (quantité de leptospires supérieure au seuil de sensibilité du test) lorsqu'une bande d'ADN est observée à la position correspondant au poids moléculaire attendu sur le gel d'agarose.

Dans le cas contraire, le résultat est considéré comme négatif et interprété comme l'absence de leptospires ou la présence d'une quantité de leptospires inférieure au seuil de sensibilité du test.

Dans des conditions optimisées, le seuil de détection évalué par le laboratoire sur culture pure est d'une bactérie par essai PCR.

5. Recherche de *Yersinia pseudotuberculosis* par culture

Le matériel nécessaire pour cette identification n'a été disponible qu'à partir de la fin du mois d'octobre 2002. Les recherches de *Y. pseudotuberculosis* n'ont donc été faites que pour les prélèvements ultérieurs à cette date.

Enrichissement

Les fèces des animaux piégés ou retrouvés morts ont été directement placés dans des tubes stériles contenant du tampon PBS (composition en annexe IV) et conservés à +4°C. Après 2 à 3 semaines d'enrichissement, les tubes sont envoyés au Laboratoire de Microbiologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (ENVA).

Isolement

A l'ENVA, trois isolements successifs à une semaine d'intervalle sont réalisés. Deux milieux de sélection sont ensemencés à chaque fois : une gélose Hektoen (« Hektoen-Enteric Agar », laboratoire Bio-Rad, Marne la coquette, France) et une gélose *Salmonella-Shigella* (« SS-Agar », laboratoire Bio-Rad, Marne la coquette, France). Les compositions de ces milieux sont données en annexe IV.

50 µL du tampon PBS sont étalés sur chacune des deux géloses. Les boîtes sont mises à incuber à 30°C, et la lecture est faite après 48h. Les colonies non glucidolytiques, de petite taille, incolores ou de couleur pâle (grise, jaune ou rosée) poussant sur les deux milieux et ne produisant pas d'H₂S sont sélectionnées et repiquées sur gélose TSA (« Trypticase Casein Soya Agar », laboratoire Bio-Rad, Marne la coquette, France) pour multiplication pendant 24 heures à 37°C (2 colonies par boîte sont repiquées).

Identification

Les colonies sont ensuite testées pour l'uréase : les colonies uréases positives sont potentiellement des *Yersinia pseudotuberculosis*, et l'identification de ces colonies est faite par galerie API20E (commercialisées par Bio-Mérieux). Les caractéristiques biochimiques discriminatoires de *Yersinia pseudotuberculosis* sont données dans le tableau I.

6. Recherche des anticorps anti-*Toxoplasma gondii*

Principe et description

La technique utilisée est une agglutination directe, et nous l'avons réalisée au laboratoire de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. Des toxoplasmes en suspension formolée (obtenus à partir de liquide d'ascite de souris) sont agglutinés lorsqu'ils sont mis en présence de dilutions de sérums contenant des anticorps spécifiques et forment ainsi un voile uniforme dans le fond de la cupule. En l'absence d'anticorps, les toxoplasmes sédimentent en bouton parfaitement arrondi. Des dilutions de 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024, 1/2048 et 1/4096 sont testées. Le titre (UI/mL) en anticorps du sérum testé est égal à l'inverse de la plus forte dilution qui entraîne une agglutination totale ou presque totale des toxoplasmes.

La réaction d'agglutination fait intervenir les antigènes membranaires de surface des toxoplasmes. Elle est très influencée par les IgM, moins par les IgG et les IgA. Deux analyses sont menées de front pour chaque sérum : l'une est une agglutination en présence de 2-mercaptoéthanol, et l'autre se fait en l'absence de ce réactif. Le traitement des sérums par le 2-mercaptoéthanol négative l'agglutination provoquée par les IgM tout en respectant le pouvoir agglutinant des IgG. Nous obtenons donc par cette méthode un titrage en anticorps

totaux (sans traitement par le 2-mercaptoéthanol) et en IgG (après traitement par le 2-mercaptoéthanol). Les réactifs utilisés ici sont ceux commercialisés par les laboratoires Biomérieux (kit Toxo-Screen DA). Le détail de la technique est donné en annexe V.

Interprétation des résultats

Les résultats sont lus deux fois indépendamment, respectivement 5 heures et 18 heures après la fin de la manipulation, par deux personnes différentes à chaque fois. Pour chaque dilution, un sérum est considéré comme « négatif » si les toxoplasmes forment un bouton de sédimentation dans le fond de la cupule et « positif » si un voile est présent dans le fond de la cupule. Les résultats sont donnés à une dilution près, en raison de la subjectivité de la lecture. Un sérum est dit « positif à une dilution donnée » s'il est positif pour cette dilution et si les toxoplasmes ont sédimenté dans la cupule correspondant à la dilution juste supérieure. Il est classique de détecter par cette méthode des anticorps dits « naturels », ne correspondant pas à une infection par *Toxoplasma gondii* ; le seuil de positivité retenu est de 32 (dilution 1/32). Des témoins positif et négatif sont testés pour chaque batterie de sérums (batterie de 10 sérums), ainsi qu'un « témoin antigène » ne contenant pas de sérum, permettant de vérifier que les réactifs n'ont pas été contaminés.

III - RESULTATS

1. Animaux piégés, résultats des autopsies

Nombre d'animaux récoltés

Cent deux animaux ont été récoltés pour notre étude, et nous avons pu prélever du sang sur quatre-vingt un d'entre eux. Outre les animaux ciblés par le piégeage, un chat et un hérisson (*Erinaceus europaeus*) ont été capturés par hasard : le hérisson a été retrouvé dans une cage à pie et le chat dans une cage à double entrée. Le hérisson étant blessé, nous lui avons prodigué quelques soins locaux et profité pour effectuer une prise de sang avant de le relâcher ; le propriétaire du chat a été averti et nous a donné son accord pour une prise de sang. Il s'agit d'un animal non médicalisé de quatre ou cinq ans. La répartition par espèce ou groupe d'espèces des animaux récoltés est donnée par la figure 20 ; la proportion de mâles et de femelles par espèce ou groupe d'espèces est donnée par la figure 21. Nous regroupons sous le terme « autres mammifères » le chat, le hérisson et la seule fouine capturée.

Figure 20 : nombre d'animaux récoltés par espèce ou groupe d'espèce entre septembre 2002 et septembre 2003 au parc zoologique de La Palmyre

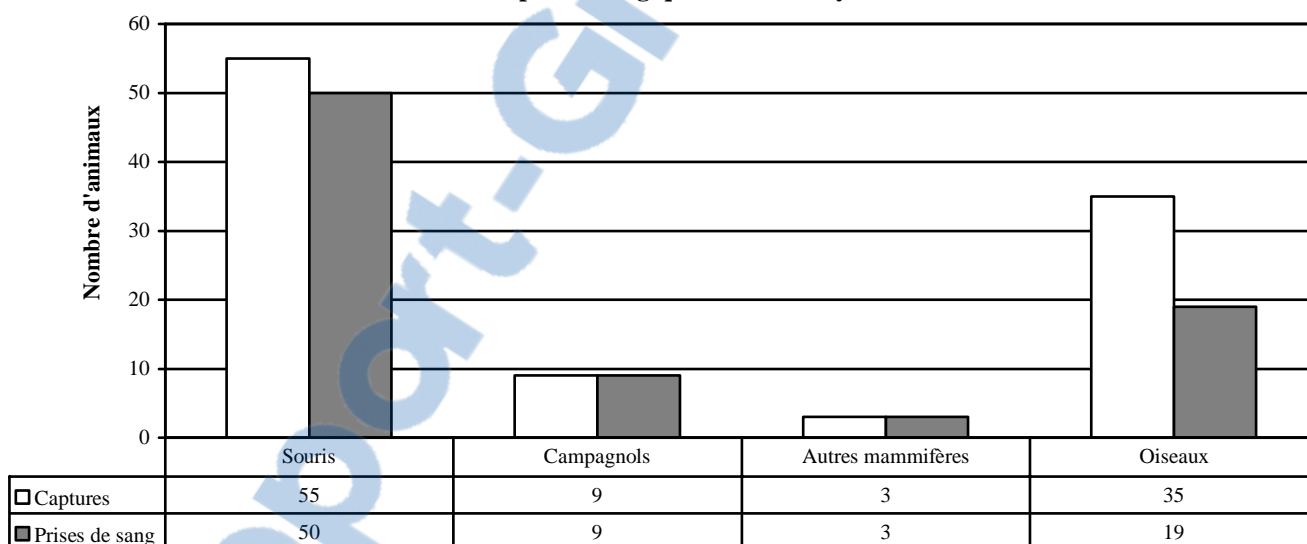
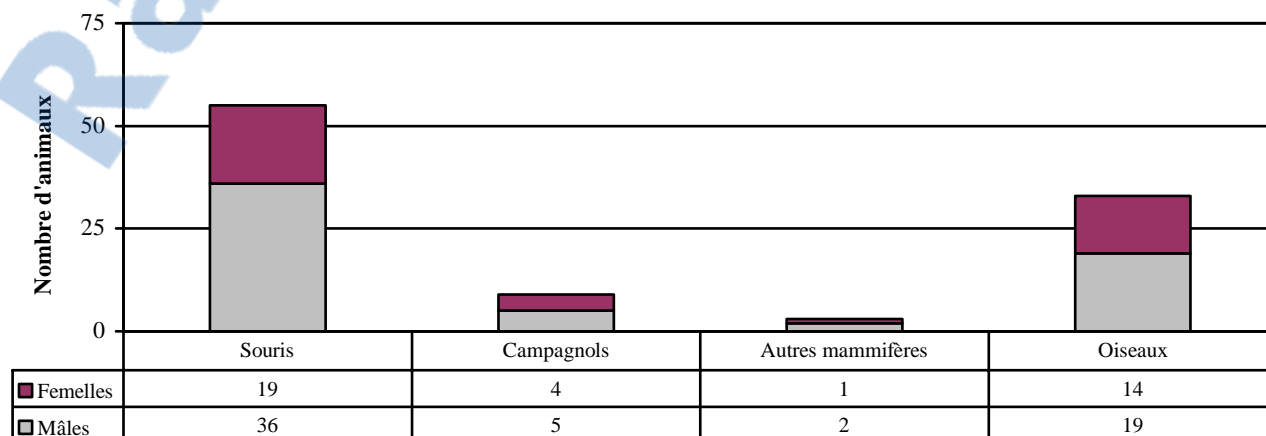


Figure 21 : nombre de mâles et de femelles récoltés pour chaque espèce ou groupe d'espèces d'animaux piégés au parc zoologique de La Palmyre



Trente-cinq oiseaux de seize espèces différentes ont été piégés ou retrouvés morts, et ont tous fait l'objet d'une autopsie. Nous avons pu prélever du sang sur les dix-neuf d'entre eux que nous avons récoltés vivants. La répartition selon les espèces est donnée dans le tableau IV.

Tableau IV : répartition du nombre, du sexe et des prises de sang effectuées par espèce d'oiseaux récoltés entre septembre 2002 et septembre 2003 au parc zoologique de La Palmyre

Regroupements utilisés pour la figure 22	Espèce	Nombre d'animaux (M.F.I)*	Nombre de prises de sang
Corneilles	Corneille noire (<i>Corvus corone corone</i>)	2.2.0	4
Pies	Pie (<i>Pica pica</i>)	3.1.0	3 (2.1.0)
Canards	Canard de Barbarie (<i>Cairina sp.</i>)	0.4.0	4
Paons	Paon bleu (<i>Pavo cristatus</i>)	2.2.0	4
Tourterelles	Tourterelle des bois (<i>Streptopelia turtur</i>)	1.0.0	1
	Tourterelle turque (<i>Streptopelia decaocto</i>)	2.0.0	2
Passereaux	Tarin des aulnes (<i>Carduelis spinus</i>)	3.0.1	0
	Moineau domestique (<i>Passer domesticus</i>)	3.0.0	0
	Pinson des arbres (<i>Fringilla coelebs</i>)	1.1.0	0
	Rouge-gorge (<i>Erithacus rubecula</i>)	0.1.0	0
	Grive musicienne (<i>Turdus philomelos</i>)	0.1.0	0
	Merle noir (<i>Turdus merula</i>)	0.1.0	0
	Chardonneret élégant (<i>Carduelis carduelis</i>)	1.0.0	0
	Etourneau sansonnet (<i>Sturnus vulgaris</i>)	1.0.0	0
Martin-pêcheur	Martin-pêcheur d'Europe (<i>Alcedo atthis</i>)	1.0.0	0
Poule-d'eau	Gallinule poule-d'eau (<i>Gallinula chloropus</i>)	0.1.0	1

* M.F.I = Mâles.Femelles.Inconnus

Répartition de la récolte des animaux sur l'année

La répartition sur l'année de la récolte des animaux au cours de l'étude est donnée par la figure 22, avec le détail pour les oiseaux sur la figure 23. Aucun dispositif de piégeage n'était tendu en novembre, février, ainsi que du 15 mars au 15 avril.

Figure 22 : nombre d'animaux récoltés par mois, par espèce et groupe d'espèces, au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003 (la campagne de récolte n'incluant pas les mois de novembre 2002, février 2003 ainsi que la période du 15 mars au 15 avril 2003)

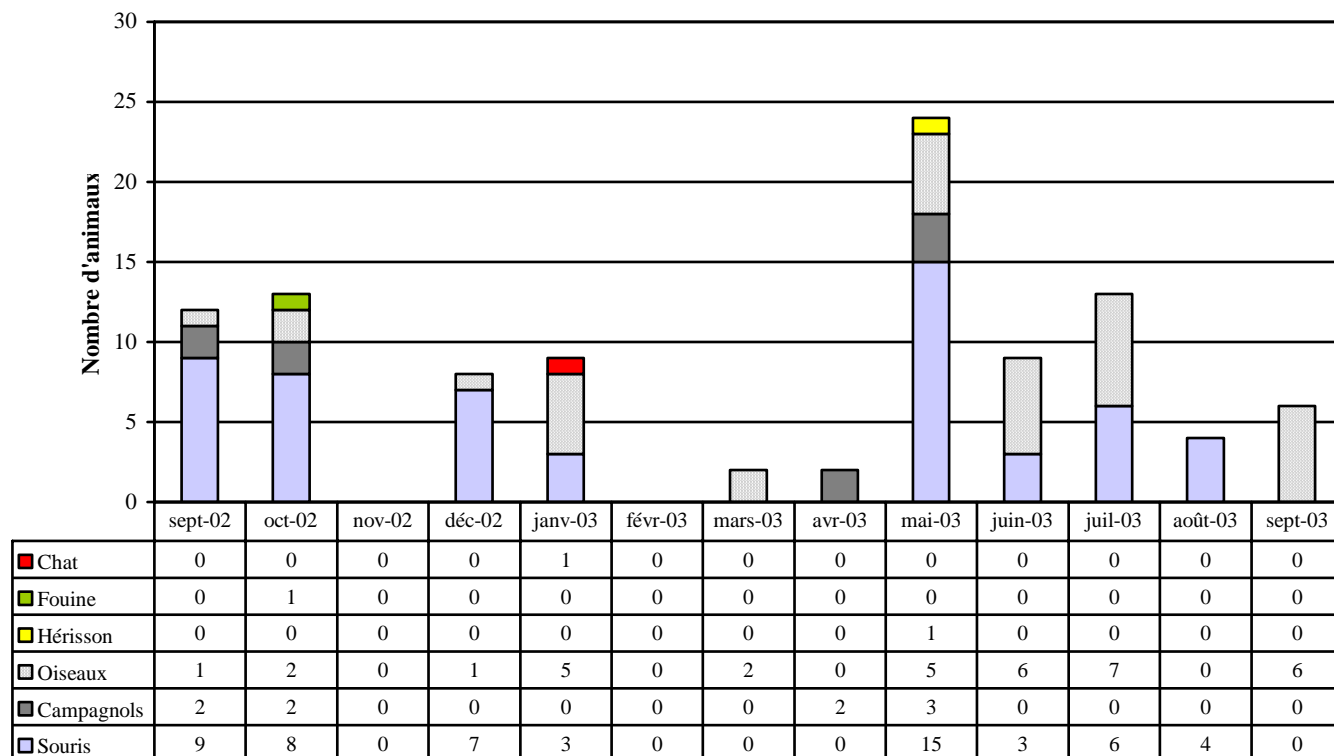
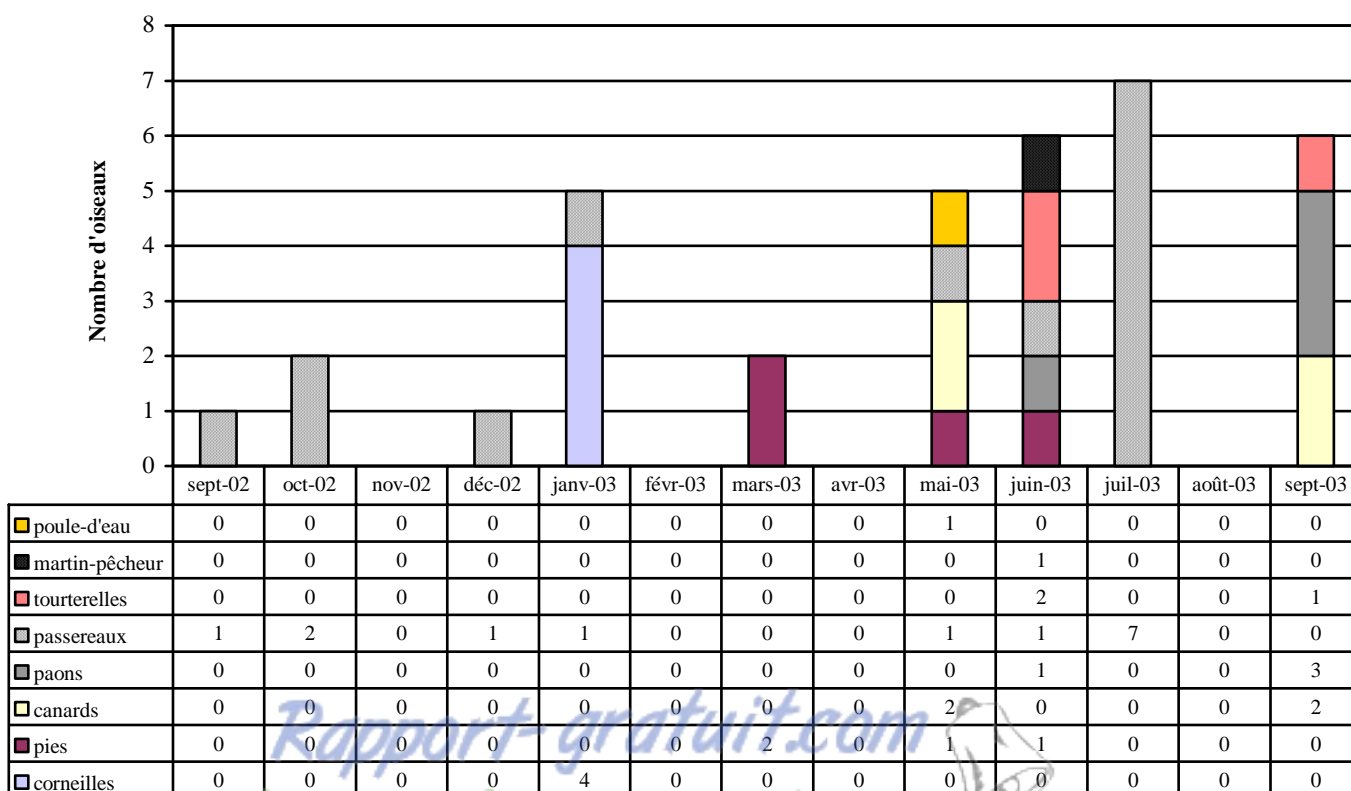


Figure 23 : répartition du nombre d'oiseaux récoltés par mois, par espèce ou groupe d'espèces, au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003 (la campagne de récolte n'incluant pas les mois de novembre 2002, février 2003 ainsi que la période du 15 mars au 15 avril 2003)



Résultats d'autopsie

- Souris :

Les résultats des autopsies des souris sont donnés dans le tableau V.

Quarante-six individus ont un poids compatible avec leur taille ou leur stade physiologique, deux sont maigres (mais aucune lésion macroscopique n'a été observée), sept sont en surcharge pondérale (poids supérieur ou égal à 30 g et grande quantité de graisse intra-abdominale).

La dominante pathologique retrouvée chez les souris est la présence de parasites internes : sur cinquante-cinq animaux autopsiés, vingt sont porteurs de cestodes (*Hymenolepis diminuta*) dans l'intestin grêle. Parmi ces vingt animaux, une souris porte en plus des douves digestives dans l'estomac (peut-être *Echinostoma* sp.) et deux autres souris portent en plus des spirures du genre *Rictularia* dans l'intestin grêle. Autres parasites retrouvés : deux souris portent des spirures (*Mastophorus muris*) dans l'estomac, une souris a des spirures du genre *Rictularia* dans l'intestin grêle. Nous avons également retrouvé chez un individu une larve de cestode sous forme d'une vésicule contenant treize boutons larvaires rattachés à une sorte de socle : ces boutons larvaires sont déjà bien développés, avec scolex à double couronne de crochets de type Taeniidés, plusieurs proglottis, et une longueur d'environ 1 cm . Cette larve était située au niveau du pôle caudal du rein droit. Il pourrait s'agir d'une larve de *Taenia crassiceps*.

En tout, vingt-quatre animaux sont porteurs d'helminthes.

Trois des individus porteurs d'*Hymenolepis diminuta* ont des lésions digestives (deux entérites chroniques, une entérite hémorragique). L'individu ayant une entérite hémorragique a de plus une splénomégalie. Aucun individu non porteur d'helminthes n'a de lésions digestives.

Deux individus retrouvés morts ont des lésions compatibles avec une intoxication aux anticoagulants.

Deux individus ont des lésions cutanées évocatrices d'une dermatophytose (confirmé par l'examen microscopique), l'un d'eux a de plus des puces (*Spilopsyllus* sp., peut-être de l'espèce *S. cuniculi*). Un individu est porteur de tiques (tique dure, méastriata longirostre, dont l'espèce n'a pas été identifiée) et de puces (*Spilopsyllus* sp.). Ces trois individus sont porteurs d'*Hymenolepis diminuta*.

Un trichobézoar non occlusif est retrouvé chez un individu.

Cinq femelles sont gestantes, l'une au stade d'ampoules fœtales et les quatre autres sont dans leur dernier tiers de gestation.

Enfin, vingt-six animaux n'ont aucune lésion.

Tableau V : récapitulatif des découvertes pathologiques et physiologiques faites lors de l'autopsie des souris piégées au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003

Divers	Conclusion
RAS	RAS
9 : RAS	Téniasis
3 : gestation	Téniasis, gestation
1 : teigne	Téniasis, teigne
1 : tiques, puces	Téniasis, pulicose, tiques
RAS	Téniasis, entérite chronique
Teigne, puces, involution utérine, lactation	Téniasis, entérite hémorragique, teigne, pulicose, lactation
RAS	Téniasis + spirurose intestinales
RAS	Téniasis + trématodose
1 : hémopéritoD(R,éAS	Spirurose stomacale Intoxication aux anticoagulants
s 3 : gestati	Spirurose stomacale Spirurose intestinale
	Mécestodose à <i>Taenia crassiceps</i>
	Trichobézoar (non occlusif)
	Gestation
	Intoxication aux anticoagulants
	RAS
	Entérite chronique avec présence d'un cestode et splénomégalie
	Kyste graisseux
	RAS

- Campagnols :

Les campagnols piégés appartiennent au genre *Microtus* mais la diagnose précise de l'espèce n'a pas été possible. Les résultats des autopsies sont donnés dans le tableau VI.

Les animaux sont tous d'un poids normal, en relation avec leur stade physiologique. Les quatre femelles piégées sont gestantes ; l'une d'elles a de plus de très nombreux spirures dans l'estomac (*Mastophorus muricola*), et une autre femelle a un petit ulcère gastrique en région pylorique. Aucune découverte n'a été faite lors de l'autopsie des cinq mâles.

Tableau VI : récapitulatif des découvertes pathologiques et physiologiques faites lors de l'autopsie des campagnols piégés au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003

Espèce	Nombre	Poids (par catégorie : -/N/+)	Parasites internes	Lésions digestives	Divers	Conclusion
Campagnol	9	N	1 : nombreux spirures dans l'estomac	Non	Gestation avancée	Spirurose stomacale massive, gestation
			8 : non	1 : ulcère gastrique en région pylorique	Gestation très avancée (mise-bas en cours)	Ulcère gastrique, gestation
				7 : non	2 : gestation avancée	Gestation avancée
					5 : RAS	RAS

- Oiseaux :

Les résultats des autopsies des oiseaux sont donnés dans le tableau VII.

Trente autopsies ont été réalisées sur les trente-cinq oiseaux récoltés. Les trois paons et les deux canards attrapés en septembre 2003 n'ont pas été sacrifiés (animaux de présentation) et ont seulement fait l'objet d'une prise de sang. Les trois tourterelles ont été retrouvées mourantes, très probablement atteintes de trichomonose. Les deux canes et la poule d'eau ont été euthanasiées suite à des fractures. Les corvidés ont été récoltés vivants, exceptée une pie, retrouvée morte. Les autres oiseaux ont été retrouvés morts avec des lésions traumatiques (chocs dans des vitres, tués par des animaux captifs...).

Quatre oiseaux sont parasités : deux pies, l'étourneau, le merle. Les cestodes n'ont pas pu être identifiés car les scolex ont été abîmés pendant le prélèvement et la conservation, et ces parasites n'avaient pas d'œufs. Les nématodes retrouvés chez une pie n'ont pas non plus pu être identifiés en raison de l'état de conservation (*Ornithostrongylus* sp.?). Le merle et l'étourneau portaient des *Ascaridia* sp., et le merle était porteur d'acanthocéphales et de cestodes (espèces non identifiées).

Le merle, avait en outre une légère aérosacculite (aucun élément bactérien ni fongique n'a été mis en évidence à l'examen histopathologique) ainsi qu'une congestion pulmonaire aiguë non spécifique, éventuellement due au choc.

Un moineau a une entérite hémorragique aiguë.

Une cane avait une entérite chronique.

Le seul paon autopsié avait une goutte viscérale très intense.

Hormis une surcharge pondérale sur deux animaux, nous n'avons observé aucune lésion sur les corneilles.

Tableau VII : récapitulatif des découvertes pathologiques et physiologiques faites lors de l'autopsie des oiseaux piégés au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003

Espèce	Nombre	Parasites internes	Lésions digestives	Divers	Conclusion
Pie	4	1 : environ 10 nématodes non identifiés, rouges, dans l'IG	Non	Anémié, très maigre	Parasites hématophages ?
		1 : 1 cestode dans l'IG 2 : non	Non	Non	Téniasis
Corneille	4	Non	Non	Stéatose hépatique	Stéatose hépatique
				1 : stéatose hépatique ; animal gras.	Stéatose hépatique
Tourterelle	3	Forte suspicion de présence de <i>Trichomonas</i> sp.	Non	1 : animal gras	Surcharge pondérale
		1 (merle) : <i>Ascaridia</i> sp. et cestode dans l'IG, acanthocéphales dans le colon	Non	2 : RAS	RAS
Autres passereaux	14	1 (étourneau) : 1 <i>Ascaridia</i> sp.	Non	Maigres	Trichomonose intense fortement suspectée
			Non	Congestion pulmonaire aiguë, aérosacculite légère ; Fracture du crâne, et plaie sur le bréchet	Choc dans vitre, congestion pulmonaire, aérosacculite, poly-parasitisme
			Non	Rupture oreillette droite	Choc dans vitre, ascaridiose
			1 (moineau) : Entérite aiguë hémorragique	Non	Attrapé par les mandrills, entérite aiguë hémorragique
Canard	2	12 : non	11 : non	Fractures, ruptures des oreillettes, ...	Choc contre vitre
		Non	1 : entérite chronique	Fracture du bassin, traces de crocs sur l'abdomen	Attrappée par les tigres
Poule-d'eau	1	Non	Non	Stéatose hépatique, fracture du fémur droit	Stéatose hépatique, fracture du fémur (euthanasiée)
Martin-pêcheur	1	Non	Non	Fracture du tibia gauche	Fracture du tibia (euthanasiée)
Paon	1	Non	Dépôts d'urates dans la séreuse	Fracture du crâne	Choc contre vitre
				Dépôts d'urates sur tous les organes et sur toutes les séreuses	Goutte viscérale intense

IG = intestin grêle (jéuno-iléon)

2. Bilan par maladie

2.1. Leptospirose

Nous avons pu prélever suffisamment de sang pour effectuer la sérologie de leptospirose sur quarante-quatre rongeurs (huit campagnols et trente-six souris), dont les reins ont été analysés par PCR. Le chat, la fouine et le hérisson n'ont fait l'objet que de la recherche de leptospirose par sérologie. Le tableau VIII récapitule les résultats obtenus chez les différentes espèces.

Résultats des PCR :

deux souris sont positives pour la PCR « toutes *Leptospira* » et tous les rongeurs sont négatifs pour la PCR « *Leptospira* pathogènes ».

Résultats des MAT :

Les trente-six souris sont toutes négatives, ainsi que sept campagnols sur huit.

Un campagnol (piégé en mai 2003 aux « ours ») est positif à 1/200 pour *Leptospira interrogans sensu lato (sl)* sérogroupe Australis sérovar 372 munchen.

Le chat (prélevé en janvier 2003, piégé au « garage ») est positif pour *Leptospira interrogans (sl)* sérogroupe Panama sérovar panama à 1/200, et pour deux sérovars de *Leptospira interrogans (sl)* sérogroupe Australis : à 1/100 pour le sérovar bratislava, à 1/200 pour le sérovar 372 munchen.

Le hérisson (prélevé en mai 2003, piégé au « spectacle des perroquets ») est positif pour deux sérovars de *Leptospira interrogans (sl)* sérogroupe Australis : à 1/200 pour le sérovar bratislava, à 1/400 pour le sérovar 372 munchen.

La fouine (prélevée en octobre 2002, piégée à « la volière des ibis ») est positive pour deux sérovars de *Leptospira interrogans (sl)* sérogroupe Sejroe : à 1/800 pour le sérovar hardjo et à 1/800 pour le sérovar 296 saxkoebing.

Tableau VIII : récapitulatif des résultats de la recherche de la leptospirose par PCR et MAT sur les mammifères piégés au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003

Espèces	Nombre d'animaux testés	Résultats du test de microagglutination	Résultats du test de Polymerase Chain Reaction	Date de piégeage des animaux positifs au moins l'un à des tests	Lieu de piégeage des animaux positifs au moins à l'un des tests
Souris	36	36 « négatif »	34 « négatif »		
			2 « positif toutes <i>Leptospira</i> » et « négatif <i>Leptospira pathogènes</i> »	23/01/03	Gorilles
Campagnols	8	7 « négatif »	7 « négatif »	06/05/03	Ours
			1 « positif 1/200 pour séro groupe Australis sérovar 372 munchen »	01/05/03	Ours
Chat	1	« Positif 1/200 séro groupe Panama sérovar panama ; positif séro groupe Australis : à 1/100 pour le sérovar bratislava, et à 1/200 pour le sérovar 372 munchen »	Non déterminé	07/01/03	Garage
Fouine	1	« Positif séro groupe Sejroe : à 1/800 pour le sérovar hardjo et à 1/800 pour le sérovar 296 saxkoebing »	Non déterminé	04/10/02	Volière des ibis
Hérisson	1	« Positif séro groupe Australis : à 1/200 pour le sérovar bratislava, à 1/400 pour le sérovar 372 munchen »	Non déterminé	22/05/03	Spectacle des perroquets

2.2. Pseudotuberculose

Le tableau IX récapitule les résultats obtenus chez les différentes espèces.

Soixante-quatre prélèvements de selles ont fait l'objet d'une recherche bactériologique de *Yersinia pseudotuberculosis* : trente-six souris, vingt-deux oiseaux, cinq campagnols et le hérisson.

Quarante-trois prélèvements sont négatifs, c'est-à-dire qu'aucune colonie compatible avec *Y. pseudotuberculosis* n'a poussé : c'est le cas de vingt-trois souris, de seize oiseaux, de trois campagnols et du hérisson.

Sur les vingt-et-un autres prélèvements, des colonies ayant les caractéristiques morphologiques et culturelles recherchées ont été retrouvées et testées par galerie API20E :

- *Yersinia pseudotuberculosis* n'a jamais été retrouvée.
- *Yersinia enterocolitica* a été isolée onze fois, soit chez neuf souris, la grive et une corneille. Trois de ces souches ont été expertisées par l'Institut Pasteur : la souche retrouvée chez la grive est une *Y. enterocolitica* de biotype 1A et de sérotype 5 (souche atypique : esculine - et saliciline -), la souche retrouvée chez la corneille est une *Y. enterocolitica* de biotype 1A et de sérotype 10-34, et une souche retrouvée chez une souris est une *Y. enterocolitica* de biotype 1A et de sérotype 10. Les souches retrouvées chez les huit autres souris n'ont pas été expertisées.
- *Yersinia mollaretii* (sérotype 48) a été isolée chez une pie.
- *Hafnia alvei* a été identifiée sur le prélèvement de fientes d'un moineau.
- Cinq souches ayant été expertisées par l'Institut Pasteur, isolées respectivement chez deux campagnols, une souris, une pie et l'étourneau, ne sont pas des *Yersinia* mais l'espèce bactérienne n'a pas été identifiée.
- les scores des galeries API20E sur des colonies issues de selles de trois souris n'ont pas permis de déterminer ni le genre, ni l'espèce de ces bactéries.

Tableau IX : récapitulatif de la recherche bactériologique de *Yersinia pseudotuberculosis* sur les fèces d'animaux récoltés au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003

Espèces	Nombre d'animaux testés	Isolement de colonies compatibles avec <i>Y. pseudotuberculosis</i>	Identification des bactéries
Campagnols	5	3 : non	
		2 : oui	Bactérie non identifiée, pas <i>Yersinia</i> Bactérie non identifiée, pas <i>Yersinia</i>
Souris	36	23 : non	
		13 : oui	3 : Non identifiées
			8 : <i>Y. enterocolitica</i>
			1 : <i>Yersinia enterocolitica</i> biotype 1A, sérotype 10
	1 : <i>Bactérie non identifiée, pas <i>Yersinia</i></i>		
Hérisson	1	Non	
Grive	1	Oui	<i>Y. enterocolitica</i> biotype 1A, sérotype 5
Pies	3	1 : non	
		2 : oui	<i>Y. molaretti</i> sérotype 48 Bactérie non identifiée, pas <i>Yersinia</i>
Corneilles	4	3 : non	
		1 : oui	<i>Y. enterocolitica</i> biotype 1A, sérotype 10-34
Canards	2	Non	
Poule d'eau	1	Non	
Paon	1	Non	
Moineaux	3	2 : non	
		1 : oui	<i>Hafnia alvei</i>
Chardonneret	1	Non	
Tarins	4	Non	
Merle	1	Non	
Etourneau	1	Oui	Bactérie non identifiée, pas <i>Yersinia</i>

En gras, souches expertisées par le Centre National de Référence des *Yersinia* de l'Institut Pasteur.

2.3. Toxoplasmose

Nous avons réalisé soixante-quinze prises de sang et analyses sérologiques sur les animaux récoltés : dix-neuf oiseaux (la répartition par espèces est donnée dans le tableau IX), quarante-cinq souris, huit campagnols, le chat, la fouine, et le hérisson. Sept animaux sont positifs parmi les soixante-quinze testés. Le tableau X récapitule les résultats obtenus chez les différentes espèces (résultats à une dilution près).

Rongeurs

Les cinquante-trois rongeurs sont négatifs : aucun sérum n'a été détecté positif à plus de 1/32 en sérum traité ou non au 2-mercaptoéthanol (2-ME). Cependant, seize animaux parmi les cinquante-trois ont donné des résultats positifs à 1/4 ou 1/8 en sérums non traités, et 4 ont donné un résultat positif à 1/4 en sérums traités.

Autres mammifères

Le chat est positif au 1/4096 en sérum non traité au 2-ME et positif au 1/2048 en sérum traité. Le hérisson est positif à 1/4 en sérum non traité et négatif en sérum traité. Le résultat est donc négatif.

La fouine est positive au 1/16384 en sérum non traité et positive au 1/8192 en sérum traité.

Oiseaux

Cinq oiseaux sont positifs (sérum traité et/ou non traité positif à plus de 1/32) : deux pies, deux tourterelles turques, et un paon.

Les quatorze autres oiseaux sont négatifs ; cependant, exceptée la tourterelle des bois, tous ont donné des résultats positifs au 1/4, 1/8 ou 1/16 en sérum traité et la poule d'eau est de plus positive à 1/4 en sérum traité.

3. Données physiopathologiques et épidémiologiques des animaux testés positifs pour au moins une des trois maladies étudiées

Ces données concernent onze animaux : deux souris, un campagnol, deux pies, deux tourterelles turques, un paon, le hérisson, le chat et la fouine. Elles sont rassemblées dans le tableau XI.

Tableau X : récapitulatif des résultats de sérologie de toxoplasmose obtenus par agglutination directe sur des sérums non traités et traités au 2-mercaptoéthanol (2-ME) des différentes espèces de mammifères et oiseaux récoltés au parc zoologique de La Palmyre entre septembre 2002 et septembre 2003

Espèces	Nombre d'animaux (date de récolte pour les animaux positifs)	Résultat en sérum non traité au 2-ME	Résultat en sérum traité au 2-ME	Conclusion de l'examen
MAMMIFERES				
Souris	29	Négatif	Négatif	NEGATIF
	12	Positif 1/4	Négatif	NEGATIF
	3	Positif 1/4	Positif 1/4	NEGATIF
	1	Positif 1/8	Positif 1/4	NEGATIF
Campagnols	8	Négatif	Négatif	NEGATIF
Chat	1 (07/01/03)	Positif 1/4096	Positif 1/2048	POSITIF
Hérisson	1	Positif 1/4	Négatif	NEGATIF
Fouine	1 (04/10/03)	Positif 1/16384	Positif 1/8192	POSITIF
OISEAUX				
Corneilles	3	Positif 1/8	Négatif	NEGATIF
	1	Positif 1/16	Négatif	NEGATIF
Pies	1	Positif 1/16	Négatif	NEGATIF
	1 (10/03/03)	Positif 1/64	Négatif	POSITIF
	1 (10/03/03)	Positif 1/64	Positif 1/32	POSITIF
Canards	1	Positif 1/4	Négatif	NEGATIF
	1	Positif 1/8	Négatif	NEGATIF
	2	Positif 1/16	Négatif	NEGATIF
Poule d'eau	1	Positif 1/8	Positif 1/4	NEGATIF
Paons	1	Positif 1/4	Négatif	NEGATIF
	2	Positif 1/8	Négatif	NEGATIF
	1 (25/09/03)	Positif 1/512	Positif 1/512	POSITIF
Tourterelle des bois	1	Négatif	Négatif	NEGATIF
Tourterelles turques	1 (05/06/03)	Positif 1/64	Positif 1/4	POSITIF
	1 (10/09/03)	Positif 1/2048	Positif 1/16	POSITIF

Tableau XI : récapitulatif des données physiopathologiques et épidémiologiques des animaux testés positifs pour la leptospirose et/ou la toxoplasmose et/ou la pseudotuberculose

Espèces	Date de récolte	Lieu de récolte	Age estimé	Sexe	Conclusion de l'autopsie ou de l'examen clinique	Résultat PCR leptospirose	Résultat MAT leptospirose	Résultat sérologie toxoplasmose	Résultat recherche de <i>Y. pseudotuberculosis</i>
Souris	23/01/03	Gorilles	Adulte	Mâle	RAS	+ « toutes <i>Leptospira</i> »	Négatif	Négatif	Négatif
Souris	06/05/03	Ours	Adulte	Femelle	Cestode dans l'IG Début de gestation	+ « toutes <i>Leptospira</i> »	Négatif	Négatif	Colonie non identifiée
Campagnol	01/05/03	Ours	Adulte	Mâle	RAS	Négatif	372 : +1/200	Négatif	Négatif
Pie	10/03/03	Spectacle des perroquets	Adulte	Femelle	Légère stéatose hépatique	SO	SO	NT : +1/64 T : Négatif	SO
Pie	10/03/03	Spectacle des perroquets	Adulte	Mâle	Stéatose hépatique	SO	SO	NT : +1/64 T : +1/32	Bactérie non identifiée, pas <i>Yersinia</i>
Tourterelle turque	05/06/03	Chèvres	Adulte	Mâle	Trichomonose intense	SO	SO	NT: +1/64 T: +1/4	SO
Tourterelle turque	10/09/03	Chèvres	Adulte	Mâle	Trichomonose intense	SO	SO	NT: +1/2048 T: +1/16	SO
Paon	25/09/03	Bar	Adulte	Mâle	RAS (examen clinique)	SO	SO	NT: +1/512 T: +1/512	SO
Hérisson	22/05/03	Spectacle des perroquets	Adulte	Femelle	RAS (examen clinique)	SO	BRAT : +1/200 372 : +1/400	Négatif	Négatif
Chat	07/01/03	Garage	4/5 ans	Mâle	Ex. clinique : TBEG, ascaris et diarrhée	SO	BRAT : +1/100 372 : +1/200 PAN : +1/200	NT : +1/4096 T : +1/2048	SO
Fouine	04/10/03	Volière des ibis	Adulte	Mâle	RAS (examen clinique)	SO	HJ : + 1/800 296 : +1/800	NT : +1/16384 T : +1/8192	SO

SO = sans objet (examen non réalisé)

BRAT, 372, PAN, HJ, 296 : abréviations des sérovars, voir tableau II (2^{ème} partie, I)-4)-a)).

MAT = test de microagglutination

PCR = Polymerase Chain Reaction

IV - DISCUSSION

1. Bilan de la récolte des animaux et des autopsies

1.1. Récolte d'animaux

Nous n'avons finalement récolté que cent deux animaux. Parmi tous les pièges mis en place, certains fonctionnaient très bien (une des nasses à souris en particulier), et d'autres n'ont rien capturé (belettières,...). Nous changions de place régulièrement les nasses à souris pour récolter des rongeurs à différents endroits du parc, mais pour des raisons inconnues, un seul de ces pièges était efficace. De plus, dans certains bâtiments, malgré la présence de traces, aucun micro-rongeur n'a été piégé dans les nasses. Pour les cages à corvidés, il était difficile de se procurer des appelants, deux sont morts, et deux autres étaient trop imprégnés par l'homme pour être efficaces.

L'échantillon d'animaux dont nous disposons est donc biaisé, beaucoup d'animaux proviennent des mêmes bâtiments (tous les campagnols ont été piégés aux « ours » (annexe VI) par exemple), nous avons peu d'animaux de chaque espèce et notamment d'oiseaux. Il s'agit d'un échantillonnage de convenance.

1.2. Bilan des autopsies

En raison de nos modalités d'échantillonnage, nous commentons les résultats des autopsies de façon indépendante, sans établir de relation analytique avec les trois maladies étudiées.

Parasites internes

- Chez les rongeurs

Vingt-quatre rongeurs sur soixante-quatre sont parasités (38 p.cent). Le parasite le plus fréquemment retrouvé est *Hymenolepis diminuta*. C'est un cestode de la famille des Hyménolépididés, parasite de l'intestin grêle des rongeurs à l'âge adulte, pouvant infecter à l'occasion des enfants [11,59]. Les larves sont cysticercoïdes, et sont présentes chez des insectes. Ce parasite est peu pathogène, toutefois lors d'infestation massive chez l'homme, une douleur abdominale, de la diarrhée et des vomissements, ainsi qu'une anorexie peuvent se manifester [59]. Le risque de contamination du personnel du parc est faible, et les mesures hygiéniques générales effectuées au parc zoologique de La Palmyre (nettoyage et désinfection des locaux, limitation de la population de rongeurs) sont certainement suffisantes.

Deux genres de spirures ont été retrouvés chez les rongeurs : *Rictularia* et *Mastophorus* :

- les *Rictularia* parasitent l'intestin grêle. Les parasites retrouvés sur les souris mesuraient 2 à 3 cm. La ou les espèces en cause n'ont pas été identifiées, la taille de ces parasites et la présence de plusieurs dents œsophagiennes ne correspondaient pas aux *Rictularia muris* et *Rictularia magna* décrites par EUZEBY sur les rongeurs en 1982 [23]. Un cas d'infection d'un tamarin lion doré (*Leontopithecus rosalia*) par *Rictularia* sp. a été rapporté par MONTALI et al. en 1983 [101], il existe donc peut-être un risque de transmission à certaines espèces captives [50].

- les *Mastophorus* parasitent l'estomac. Il s'agit vraisemblablement de *Mastophorus muris* pour les souris, et de *Mastophorus muricola* pour le campagnol [23]. Les femelles *M. muris* retrouvées mesuraient environ 3 cm, soit deux fois plus que les mâles. Nous n'avons trouvé aucune donnée concernant la spécificité d'hôte de ces parasites.

La découverte d'une larve cysticerque, très probablement de *Taenia crassiceps*, dans la cavité péritonéale d'une souris est très intéressante dans le contexte du parc zoologique de La Palmyre, puisqu'une femelle Cercopithèque de L'Hoest (*Cercopithecus lhoesti*) du parc a eu en 2003 une cysticerose à *Taenia crassiceps* : la larve se développait dans le tissu conjonctif sous-cutané au niveau de la hanche droite. Classiquement les campagnols, mais apparemment les souris également, sont des hôtes intermédiaires de ce ténia, dont l'hôte définitif est un carnivore, le plus souvent le renard. L'origine de la contamination du singe est douteuse : il a pu ingérer soit un rongeur contaminé (peu probable vu le comportement habituel de ces singes), soit un aliment contenant des œufs du parasite excrétés par un carnivore infecté. Ce parasite peut infecter l'homme selon les mêmes modalités (cysticerose à « *Cysticercus longicollis* » selon une dénomination ancienne) [11].

Des douves digestives, dont les œufs étaient semblables à ceux de *Dicrocoelium lanceolatum*, ont été retrouvées dans l'estomac d'une souris. Il pourrait s'agir du genre *Echinostoma* [23]. Ces parasites sont assez peu spécifiques d'hôtes, et peuvent infecter des carnivores, des oiseaux (ansériformes) et même l'homme. Le cycle implique deux hôtes intermédiaires, le deuxième étant un mollusque ou un poisson [11]. La source de contamination de la souris reste inconnue (possibilité d'ingestion d'un mollusque ?) mais des vers adultes étant présents dans son estomac, cette souris excrétrait probablement des œufs de douve et était donc potentiellement contaminante pour le personnel ou les animaux du parc.

- Chez les oiseaux

Des parasites du genre *Ascaridia* ont été retrouvés chez l'étourneau et le merle. Ce sont des nématodes à cycle homoxène, n'infectant que des oiseaux. Les espèces en cause n'ont pas été identifiées. Ces parasites sont généralement spécifiques d'espèces [11].

Parasites externes

Des tiques ont été retrouvées chez une souris : il s'agissait de 4 tiques femelles de type métastrinata longirostre, mais nous n'avons pas pu identifier plus précisément le genre ni l'espèce.

Deux souris portaient des puces du genre *Spilopsyllus*, dont la morphologie évoquait l'espèce *S. cuniculi*. Nous n'avons pas trouvé d'information concernant la possibilité de portage de *Spilopsyllus cuniculi* par les souris, mais cette puce peut être transmise du lapin au chat [12], elle semble donc peu spécifique d'hôte.

Bactéries isolées autres que *Yersinia pseudotuberculosis*

- *Yersinia enterocolitica*

Onze souches de *Yersinia enterocolitica* auraient été isolées. Huit d'entre elles n'ont pas été expertisées car elles n'ont pas pu être conservées au Laboratoire de Microbiologie de l'ENVA. Leur identification repose donc seulement sur les scores des galeries API20E, galeries qui ne donnent pas toujours un résultat fiable pour cette espèce bactérienne [39]. Les trois autres souches (isolées de la grive, d'une corneille et d'une souris) sont avec certitude

des *Y. enterocolitica*. Elles sont toutes trois de biotype 1A, donc non pathogènes. Les sérotypes identifiés sont O:5 pour la grive, O:10-34 pour la corneille et O:10 pour la souris. Aucune infection à *Y. enterocolitica* n'a été diagnostiquée chez les animaux du parc zoologique de La Palmyre. Les *Y. enterocolitica* sont classées selon WAUTERS en cinq biotypes, numérotés de 1 à 5, le biotype 1 étant lui-même subdivisé en 1A et 1B. Cette classification repose sur des caractères biochimiques. Le type 1A est non pathogène, et isolé de l'environnement, du lait, de fèces d'animaux... Le type 1B est le biotype le plus pathogène pour l'homme, et est fréquemment associé à des épidémies impliquant de nombreux cas. Les biotypes 2 (isolé principalement lors de septicémies chez des bovins ou sur des produits dérivés de bovins) et 4 (isolé chez le porc) sont également pathogènes pour l'homme, mais provoquent généralement des cas sporadiques ou de petites épidémies familiales. Le biotype 3 est pathogène mais moins fréquemment isolé, et enfin le biotype 5 est très rare. La transmission des *Yersinia enterocolitica* est orofécale, et les infections touchent plus particulièrement les enfants de moins de cinq ans (diarrhées persistantes parfois hémorragiques, vomissements, douleur abdominale). Chez les enfants plus âgés et les adultes, les symptômes sont très semblables à ceux d'une appendicite, et des septicémies fatales sont possibles chez des personnes prédisposés (surcharge en fer, maladie hépatique, diabète, personnes âgées...) [88].

Plus de 700 000 personnes visitent chaque année le parc zoologique de La Palmyre, et en particulier de nombreux enfants. Bien que *Y. enterocolitica* n'ait encore jamais été à l'origine de symptômes chez des animaux captifs, c'est un agent pathogène important pour l'homme. Les trois bactéries de cette espèce expertisées par l'Institut Pasteur ne sont pas pathogènes, mais des biotypes pathogènes pourraient circuler dans le parc, peut-être *via* la faune sauvage exogène, et être transmis à l'homme. Il serait très intéressant d'effectuer une étude épidémiologique ciblée sur cette bactérie en parc zoologique, afin d'évaluer le risque pour le personnel d'un parc et pour les visiteurs (notamment les enfants).

- Autres bactéries identifiées

Yersinia mollaretii a été isolée des fientes d'une pie. Cette bactérie est non pathogène [88].

Hafnia alvei a été isolée des fientes d'un moineau. Cette entérobactérie, appartenant à la flore digestive normale de nombreux vertébrés à sang chaud et en particulier des oiseaux [77], peut se comporter comme une bactérie pathogène opportuniste. Elle est rarement isolée, le plus souvent en milieu hospitalier et en association avec d'autres bactéries, lors de septicémies, de gastro-entérites, de pneumonies, d'abcès, d'infections urinaires et de plaies infectées. Son isolement a été associé à des cas d'avortements chez la jument, à des mammites chez la vache et à des pneumonies chez la chèvre. Dans un élevage de poules pondeuses, cette bactérie a été isolée en culture pure d'oiseaux présentant des septicémies. *Hafnia alvei* est également responsable d'infections généralisées chez les abeilles et les truites [91].

2. Leptospirose

2.1. Leptospirose chez les rongeurs

Interprétation des résultats chez les souris

Les deux souris positives à la PCR « toute *Leptospira* » sont négatives à la PCR « *Leptospira* pathogènes » et au MAT, elles seraient donc porteuses de souches saprophytes de leptospires (ces sérovars ne sont pas testés sérologiquement, le résultat négatif au MAT concorde donc avec la PCR), sans conséquence sur la santé des animaux du parc ou de l'homme. L'absence de souris porteuses de *Leptospira* pathogènes dans notre échantillon est en accord avec une étude menée en 2002 par STRAUBE *et al.* au Zoologisch-Botanische Garten Wilhelma à Stuttgart, où une unique souris sur cent quarante et une testées était positive à la leptospirose par PCR [61]. Cependant, dans la plupart des autres investigations sur la prévalence de la leptospirose chez la souris domestique, cette espèce est considérée comme réservoir du sérovar ballum [21,22,31,48], et les populations de souris s'avèrent régulièrement porteuses de nombreux sérovars [21,31,48,64,75,89] parmi lesquels sejroe, australis, pomona et saxkoebing, ainsi que des sérogroupes Bataviae et Grippytyphosa [15,21,31,48]. Les prévalences retrouvées dans les différents pays où ont été menées ces études varient de 10 à 30 p.cent en moyenne [31,48,64,75,89].

Interprétation des résultats chez les campagnols

Un seul campagnol a donné un résultat positif au MAT, pour le sérovar 372 munchen (séro groupe Australis) avec un titre de 200. Les PCR réalisées sur cet animal sont négatives, indiquant ainsi qu'il ne serait plus porteur ni excréteur de leptospires et que les anticorps détectés par MAT seraient significatifs d'une infection passée (et donc d'une excrétion passée). Sur cette espèce, la prévalence observée de leptospirose est faible (1 animal sur 8 en sérologie, et aucun en PCR), mais la petite taille de l'échantillon, ainsi que le fait que ces animaux aient tous été piégés au même endroit, ne permettent pas d'extrapoler ces résultats à la population locale de campagnols ni de comparer raisonnablement la prévalence observée ici à celle mesurée par les études préalables. Les campagnols sont habituellement retrouvés porteurs des sérogroupes Australis, Ballum, et Grippytyphosa [21,31,36,48,64,89] ; *Microtus agrestis* serait un réservoir de ce dernier séro groupe [21].

Discussion sur les résultats obtenus chez les rongeurs

Comme tous les tests diagnostiques, la PCR et le MAT présentent certaines limites. La sensibilité de la PCR est jugée excellente par VAN EYS *et al.* en 1989 [49] ainsi que par MERIEN *et al.* en 1992 et 1995 [46,47]. Nous avons utilisé dans cette étude deux jeux d'amorces indépendants, augmentant ainsi la probabilité de détecter des leptospires, la sensibilité de cette méthode serait donc supérieure à celle de ces tests utilisés seuls. Il existe cependant des inhibiteurs de PCR dans les échantillons, des erreurs de conditionnement possibles (congélation-décongélation) ou encore une dégradation de l'ADN dû à une extraction trop tardive de l'ADN par rapport à la date de prélèvement, qui empêchent une amplification correcte [49] : ces événements constituent des limites extrinsèques à la méthode, et peuvent être à l'origine de résultats faussement négatifs.

La spécificité de la PCR est diversement estimée, entre 60 et 100% selon les auteurs et le type de prélèvements ; là encore, l'utilisation de deux jeux d'amorces permet de s'affranchir du risque de considérer comme leptospirosique un animal porteur de souches saprophytes. Le risque majeur de résultats faussement positifs est la contamination des prélèvements par de l'ADN au laboratoire [49].

La sensibilité du MAT est conditionnée majoritairement par l'exhaustivité de la batterie de souches utilisées. Des souches non testées pourraient circuler parmi les rongeurs, donnant ainsi des faux négatifs à la sérologie. L'entretien des souches au laboratoire est également primordial à la réussite de la réaction d'agglutination, d'où la nécessité de faire appel à un laboratoire de référence, comme le laboratoire de l'Unité de Pathologie Infectieuse de l'ENVN [49]. Des rongeurs porteurs chroniques peuvent donner des résultats faussement négatifs [48]. De plus, des prélèvements trop précoces (moins de 8-10 jours après l'infection) donnent des résultats négatifs car la réponse immunitaire n'est pas encore installée [92].

Des résultats faussement positifs peuvent être obtenus en raison de la capacité d'agglutination des leptospires par des anticorps dirigés contre des légionnelles [30], éventuellement contre les *Borrelia* (hypothèse non prouvée). La part respective de la capacité d'agglutination des leptospires par des anticorps anti-*Borrelia* ou anti-légionnelles par rapport à la capacité d'agglutination des anticorps anti-leptospires est probablement faible mais jamais chiffrée à notre connaissance. Des co-agglutinines sont fréquemment présentes en début d'infection, donnant des résultats positifs pour plusieurs sérovars alors qu'un seul est présent, ou encore donnant des résultats positifs pour des sérovars pathogènes alors qu'une souche saprophyte est en cause. Ainsi, les sérogroupes mis en évidence par le MAT ne sont pas forcément ceux responsables de l'infection en cours. La spécificité du MAT est excellente selon certains (CUMBERLAND *et al.* en 1999), moyenne selon d'autres (VAN EYS *et al.* en 1989) [49].

Ainsi, les résultats négatifs obtenus à la fois par MAT et deux PCR, à partir de prélèvements différents (sérum pour le MAT, rein pour la PCR), seraient fiables. Pour le campagnol séropositif à un titre de 200 pour le sérovar 372 munchen, il s'agit probablement d'une infection ancienne, l'animal conserve des anticorps mais n'est plus porteur de leptospires au niveau des reins (ou à un niveau trop faible pour être détectable par PCR). Il peut toutefois rester porteur dans d'autres localisations (œil,...). Dans tous les cas, si cet animal est un vrai positif, il a été excréteur de leptospires et à ce titre peut être considéré comme ayant été une source potentielle de contamination pour les animaux captifs ou les employés du parc.

Dans notre échantillon, les rongeurs sauvages piégés au parc zoologique de La Palmyre sont donc très faiblement infectés par les leptospires pathogènes. Si ce fait était confirmé au niveau de la population de rongeurs du parc par une étude complémentaire et un échantillonnage représentatif, cela pourrait être le reflet de la mise en œuvre de mesures sanitaires importantes dans le parc, notamment la vidange et le nettoyage quotidien de la plupart des bassins pour les animaux semi-aquatiques, par exemple les hippopotames (*Hippopotamus amphibius*), défavorables au maintien des leptospires. Les petits rongeurs tels que les souris ou les campagnols ont des territoires de vie assez restreints, il est très probable que ces animaux

restent à l'intérieur du parc, voire dans des zones limitées du parc, et qu'ils n'aient donc pas accès à des points d'eau contaminés par des leptospires. Ils sont cependant à l'interface avec d'éventuels autres animaux sauvages excréteurs.

Un certain nombre de bassins comme celui des rhinocéros, celui présent dans la volière aux ibis et des plans d'eau plus grands comme celui entourant les îles des anthropoïdes (« gorilles ») et celui des « pélicans » sont rarement vidés et pourraient être contaminants. Sept souris ont été piégées dans le bâtiment des gorilles, quatre ont été testées pour la leptospirose. Une seule est positive à la PCR « toutes *Leptospira* », les autres sont négatives pour les deux tests. Aucun petit rongeur n'a été piégé dans les autres zones citées (des pièges ont été installés mais n'ont jamais capturé d'animaux), il serait donc intéressant d'effectuer une recherche de leptospirose plus ciblée sur ces endroits : piégeage des rongeurs pour des tests sérologiques et/ou PCR, et analyse de l'eau par des tests PCR.

Nous avons de plus piégé pour cette étude seulement deux espèces de rongeurs : les nasses mises en place avaient pour vocation de piéger toutes espèces de micro-rongeurs, mais seulement deux espèces ont réellement été prises. Nous n'avons pas de preuve qu'il s'agisse des deux seules espèces présentes dans le parc. Aucun rat n'a été vu depuis quelques années dans le parc, suite à une campagne de dératisation qui semble avoir été efficace. Les rats (*Rattus rattus* et *Rattus norvegicus*) ayant un rôle majeur dans l'épidémiologie des leptospiroses, et principalement du sérotype Icterohemorrhagiae [62,104], leur éradication pourrait avoir contribué à assainir la population de rongeurs. Les ragondins (*Myocastor coypus*), souvent incriminés dans des cas de leptospirose [100], sont habituellement absents du parc, mais la présence d'une famille de ragondins a été notée pendant les quelques mois précédant notre étude ; ces animaux ont été détruits et aucun autre n'a été observé dans l'enceinte du parc.

2.2. Leptospirose chez les autres mammifères

Pour le chat, la fouine et le hérisson, nous ne disposons que des résultats obtenus par sérologie, qui sont tous positifs. L'éventuel manque de spécificité du MAT n'est donc pas contrebalancé par la PCR.

Le chat est positif pour trois sérovars : sérovar bratislava à un titre de 100, sérovar 372 munchen à un titre de 200, et sérovar panama à un titre de 200. Les titres peu différents et la positivité à trois sérovars évoquent une infection récente, avec présence de co-agglutinines. Ces données ne nous permettent pas de déterminer le sérovar en cause, il aurait fallu procéder à une seconde sérologie deux à trois semaines après la première pour voir l'évolution des titres en anticorps, voire de compléter la batterie de souches testées. Des résultats faussement positifs au MAT sont de plus possibles comme décrit auparavant, notamment lors d'infection par des légionnelles ou éventuellement des *Borrelia*.

Les chats adultes sont fréquemment séropositifs pour la leptospirose [38,48,55] ; les sérovars détectés par MAT chez le chat sont nombreux, les plus régulièrement retrouvés sont (liste non exhaustive) : pomona, bataviae, javanica, grippotyphosa, ballum, canicola, icterohaemorrhagiae, sejroe, automnalis, bratislava, australis, sentot, et mini [38,48,55]. La prévalence varie suivant les régions et les pays où ont été menées ces études, et en fonction du

mode de vie des chats. La leptospirose-maladie, cependant, semble rare et la leptospirurie chez le chat ne durerait que quatre à cinq semaines. Les chats peuvent rester porteurs de leptospires au niveau rénal pendant des jours ou des semaines même sans excrétion, mais le portage chronique semble nettement moins fréquent que chez le chien par exemple [55].

Ainsi, le chat testé pour notre étude peut ou a pu jouer un rôle dans la transmission et la contamination du parc par des leptospires, mais pour une durée limitée. Si l'infection est effectivement récente, il pouvait être excréteur au moment de l'analyse.

Un titre élevé en anticorps, de 800, a été détecté chez la fouine pour les sérovars hardjo et 296 saxkoebing (appartenant tous deux au séro groupe Sejroe). Les anticorps ont réagi contre deux sérovars avec la même intensité ; il n'est pas possible avec les informations dont nous disposons de nommer le sérovar responsable de l'infection. Il pourrait de plus s'agir d'un sérovar non testé (éventuellement d'une souche non pathogène, mais encore une fois l'intensité de la réponse n'est pas en faveur d'une telle hypothèse), en particulier d'un autre sérovar du séro groupe Sejroe. Le titre en anticorps étant élevé, il semble que la réponse immunitaire soit déjà largement installée. La fouine était peut-être excrétrice de leptospirose au moment de la capture, ou elle l'avait été auparavant.

Nous n'avons pas trouvé d'information quant à la fréquence et la nature des infections leptospirosiques chez les fouines ; toutefois, des études portant sur d'autres mustélidés, et notamment des mouffettes (*Mephitis mephitis*) aux Etats-Unis [22,24,67] mettent en évidence une forte prévalence d'animaux porteurs d'anticorps anti-*Leptospira*. Les sérovars incriminés sont nombreux, parmi eux : grippotyphosa, pomona, ballum, hyos hyos, canicola (également mis en évidence chez des mangoustes (*Herpestes auropunctatus*) [48]), icterohaemorrhagiae, georgia, ainsi que les sérovars du séro groupe Australis. Le séro groupe sejroe a été mis en évidence chez des mangoustes par MINETTE en 1964 [48], par HIGA et FUJINAKA en 1976 [32] ou encore par MICHEL *et al.* en 2002 [99].

Le hérisson est positif à un titre de 200 pour le sérovar bratislava et à 400 pour le sérovar 372 munchen (appartenant tous deux au séro groupe Australis). Cette espèce est connue comme pouvant héberger un large spectre de sérovars et séro groupes, par exemple canicola, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa, hebdomadis, sejroe, australis, bratislava, poi ou pomona [48] ; souvent une proportion importante de la population, de l'ordre de 30 p.cent, est retrouvée porteuse [63,64,75,99]. De même que pour le chat et la fouine, nous ne pouvons déterminer avec les données disponibles, si cet animal est ou non excréteur de leptospires à partir des seuls résultats du MAT. L'espèce est cependant régulièrement incriminée comme source de contamination humaine ou d'animaux domestiques [13,31,63].

Pour des études ultérieures, il serait intéressant de prévoir d'effectuer des PCR sur les urines des mammifères quand les reins ne sont pas disponibles afin de déterminer si les animaux sont excréteurs, sachant que l'excrétion des leptospires est intermittente, et que la sensibilité de cette méthode est probablement inférieure à celle d'une PCR sur rein.

Une étude plus ciblée sur le hérisson, avec les autorisations ministérielles nécessaires, et testant conjointement des sérums par un MAT et des prélèvements d'urines par PCR,

pourrait permettre de préciser l'importance du rôle des hérissons dans l'épidémiologie de la leptospirose au parc zoologique de La Palmyre, en particulier en donnant une image plus réelle de la prévalence de cette maladie dans la population de hérissons gravitant dans et autour du parc.

2.3. Bilan de la leptospirose au parc zoologique de La Palmyre

Les territoires des carnivores sauvages, tels que la fouine ou le chat que nous avons piégés, sont bien plus étendus que ceux des petits rongeurs. Les hérissons, également, parcourent chaque nuit un à trois kilomètres en moyenne [85]. Les carnivores et les hérissons sont donc des disséminateurs de leptospires plus efficaces que les micro-rongeurs. La positivité au MAT du chat, de la fouine et du hérisson démontre la présence de leptospirose, sinon à l'intérieur, au moins aux alentours du parc. Le chat a cependant un rôle probablement mineur dans le maintien de l'infection dans un milieu donné, en raison de la courte durée de l'excrétion de leptospires dans cette espèce. Les micro-rongeurs et les hérissons, en revanche, sont tout à fait aptes à jouer le rôle de réservoirs. Les ragondins, absents du parc zoologique de La Palmyre lors de notre étude, sont cependant nombreux dans le département, et à l'origine en 2001 de cinq cas de leptospirose humaine à Rochefort [100], ville située à trente-cinq kilomètres du parc zoologique de La Palmyre. Une mère ragondin et ses petits ont été retrouvés dans le parc au printemps précédant notre étude (printemps 2002). Ils ont été piégés et détruits, mais la réintroduction de cette espèce pourrait avoir des conséquences importantes sur la prévalence de la maladie dans le parc.

Les leptospires sont capables de survivre des mois dans des milieux humides à pH neutre ou légèrement alcalin. Si la présence de leptospires pathogènes est effectivement peu importante au parc zoologique de La Palmyre, une hypothèse possible serait que les bactéries ne trouvent pas de conditions favorables à leur maintien dans le milieu extérieur : en particulier, peut-être un pH acide des plans d'eau. Pour évaluer la pertinence de cette hypothèse, nous avons répertorié dans le tableau XII les données de pH des différents plans d'eau disponibles depuis 1992, mesurées à l'occasion d'analyses hydrologiques. Le plan du zoo en annexe VI situe ces lieux.

- 2003 : les valeurs mesurées en décembre 2003 ne sont qu'indicatives en raison de l'imprécision du papier pH. Le pH est neutre (égal à 7) pour les plans d'eau « Gorilles », « Ibis » et « Flamants », il serait légèrement acide (pH 6,5) aux « Pélicans ».
- Années précédentes : les analyses n'ont pas été faites systématiquement sur tous les plans d'eau. Les pH varient d'une année à l'autre, ainsi que d'un lieu à l'autre ; ils sont généralement supérieurs à 7, modérément alcalins, excepté en 1995 où l'eau des « Gorilles », des « Roussettes » et de la « Nursery » sont acides.

Tableau XII : mesures de pH effectuées sur 6 plans d'eau du parc zoologique de La Palmyre par des entreprises spécialisées (sauf précisé) depuis 1992

Lieu	Date	pH
« Gorilles »	05/12/2003	7 (papier pH)
	27/07/1999	7,43
	31/05/1999	7,89
	01/04/1999	7,93
	02/06/1998	7,97
	13/02/1998	7,43
	24/11/1995	4,1
	10/04/1992	8,4
« Nursery puits »	24/11/1995	5,2
« Roussettes puits »	24/11/1995	5,7
« Volière des ibis »	05/12/2003	7 (papier pH)
	10/04/1992	7,5
« Pélicans »	05/12/2003	6,5 (papier pH)
	27/07/1999	7,96
	31/05/1999	7,82
	01/04/1999	7,6
	02/06/1998	8,27
	13/02/1998	7,24
« Flamants entrée »	05/12/2003	7 (papier pH)

Il semble que les conditions ne soient pas particulièrement défavorables au maintien des leptospires dans le milieu extérieur soient présentes au parc zoologique de La Palmyre.

En pratique, les mesures sanitaires prises au parc zoologique de La Palmyre, et en particulier l'éradication des rats et le nettoyage quotidien des bassins, semblent très utiles pour limiter la leptospirose dans le parc. Cependant, les plans d'eaux peu renouvelés comme celui des « gorilles » ou celui des « pélicans » pourraient favoriser le maintien de leptospires amenées par des chats, fouines, hérissons, et peuvent également attirer des ragondins ou des rats musqués porteurs. Des piégeages systématiques des gros rongeurs pouvant s'installer dans le parc, ainsi que des carnivores sauvages, limiteraient le risque d'introduction de leptospires pathogènes. Des études complémentaires, centrées sur le piégeage de rongeurs autour des plans d'eau et/ou sur les hérissons, en systématisant l'utilisation de sérologie par MAT conjointement à des PCR, ainsi qu'en effectuant des PCR sur des échantillons d'eau, permettraient de préciser l'importance et la répartition des leptospires pathogènes dans le parc. Nos résultats ne nous permettent pas de juger de l'utilité de la prophylaxie médicale des employés, mais des protections comme le port de gants lors du nettoyage des bassins au minimum devraient être de rigueur. En outre, toute introduction d'animaux « à risque », c'est-à-dire notamment ayant un mode de vie favorisant les contaminations (rhinocéros,

hippopotames...) et pouvant introduire la maladie, devrait être précédée d'un test sérologique ou PCR.

Une étude comparable, menée en 2000 et 2001 par le Dr Franck SAVARY au parc zoologique de Paris [59], aboutissait à des conclusions différentes : 21% des animaux piégés étaient positifs par PCR, soient une souris sur trois, six surmulots (*Rattus norvegicus*) sur vingt-quatre, aucune fouine sur trois et aucun renard sur trois. Les sérovars majoritairement mis en évidence étaient canicola et icterohaemorrhagiae, coïncidant avec le fait que l'animal le plus souvent positif dans cette étude est le surmulot, réservoir du sérovar icterohaemorrhagiae [22,31,48,64,92]. Les six carnivores étaient négatifs par MAT et PCR, entraînant la conclusion que des leptospires étaient bien présentes dans le parc et mais que l'infection semblait se limiter aux rongeurs.

STRAUBE *et al.* [61] ont piégé des rongeurs des espèces *Mus musculus* (cent quarante et un animaux), *Apodemus flavicollis* (cent cinquante et un animaux) et *Rattus norvegicus* (onze animaux) au Zoologisch-Botanische Garten Wilhelma à Stuttgart. Le pourcentage de prévalence observé pour la leptospirose (par PCR) était de 1,2 p.cent.

L'importance des infections leptospirosiques de la faune sauvage exogène en parc zoologique semble varier beaucoup en fonction des mesures de contrôle de rongeurs, de la situation des parcs (proximité d'une ville, d'une forêt...), et des espèces de rongeurs présentes.

3. Pseudotuberculose

3.1. Interprétation des résultats

Le protocole d'isolement utilisé présente de grandes insuffisances. Il correspond à des recommandations anciennes qui sont actuellement remises en question. Les raisons principales du choix de ce protocole sont la disponibilité du matériel, et surtout les problèmes d'acheminement des prélèvements entre le parc zoologique de La Palmyre et le Laboratoire de Microbiologie de l'ENVA. Ce protocole était le protocole conseillé il y a quelques années pour l'isolement des *Yersinia* [57].

L'enrichissement par le froid favoriserait l'isolement préférentiel d'espèces apparentées non pathogènes par rapport à *Y. pseudotuberculosis* [40]. L'intérêt pour nous était de conserver deux à trois semaines les échantillons dans le parc et pouvoir ainsi effectuer des envois groupés à l'ENVA.

Les milieux d'isolements utilisés, en particulier la gélose SS, sont très sélectifs, et pourraient tuer des *Y. pseudotuberculosis* [39]. Il s'agissait des milieux les plus adaptés à cette recherche disponibles au Laboratoire de Microbiologie de l'ENVA.

Yersinia pseudotuberculosis n'a jamais été isolé de nos prélèvements. L'inadéquation du protocole suffit à expliquer ce résultat. En outre, l'excrétion de ces bactéries n'est pas continue et sur des campagnols infectés expérimentalement, l'excrétion ne durerait que 2 à 3 semaines après l'infection [88]. Les oiseaux et les mammifères sauvages sont très largement reconnus comme porteurs dans la plupart des pays [7,28,71,72,88]. MACKINTOSH et HENDERSON en 1984 [43] ont isolé *Yersinia pseudotuberculosis* chez des chats errants, des surmulots, des souris, des lapins, des lièvres, des canards, des mouettes, des moineaux et des étourneaux, ainsi que de treize autres espèces aviaires non détaillées, tous apparemment sains et gravitant autour d'une ferme de cerfs. CORK *et al.* en 1995 [16] n'ont isolé que deux souches de *Yersinia pseudotuberculosis* sur 1370 échantillons aviaires et aucune sur 1032 échantillons non aviaires (sols, feuillages, eaux, mammifères sauvages). Il est à noter que ces prélèvements étaient placés en milieu d'enrichissement à +4°C, que quatre-vingt dix-huit échantillons étaient porteurs d'autres *Yersinia* que *Y. pseudotuberculosis* et qu'aucun cas de pseudotuberculose n'avait été décrit dans la zone étudiée.

3.2. Contrôle de la pseudotuberculose en parc zoologique

Notre étude, du fait des insuffisances de notre méthode d'isolement, ne nous autorise pas à tirer de conclusion sur le rôle des animaux sauvages comme agent de contamination pour les animaux captifs au parc zoologique de La Palmyre.

En parc zoologique, malgré le grand nombre de cas de pseudotuberculose décrits [8,28,53,59,70,71,72], peu d'études sont disponibles sur la faune sauvage exogène afin d'identifier les sources potentielles de contamination. OTSUKA *et al.* en 1994 [52] isolent *Y. pseudotuberculosis* sur des corneilles à gros bec (*Corvus macrorhynchos*) piégées au parc zoologique de Tokyo. Les enquêtes menées sur le sujet nous apprennent que la pseudotuberculose est très largement répandue chez quasiment toutes les espèces de mammifères et d'oiseaux. Il n'y a pas, à notre connaissance, d'informations dans la littérature qui nous donnent à penser qu'une espèce particulière d'animal sauvage soit plus apte que les

autres à transmettre la maladie en parc zoologique. En outre, les données concernant les capacités d'un animal à excréter des *Yersinia pseudotuberculosis* après une infection sont très peu nombreuses, cette excrétion serait généralement intermittente et/ou courte [88].

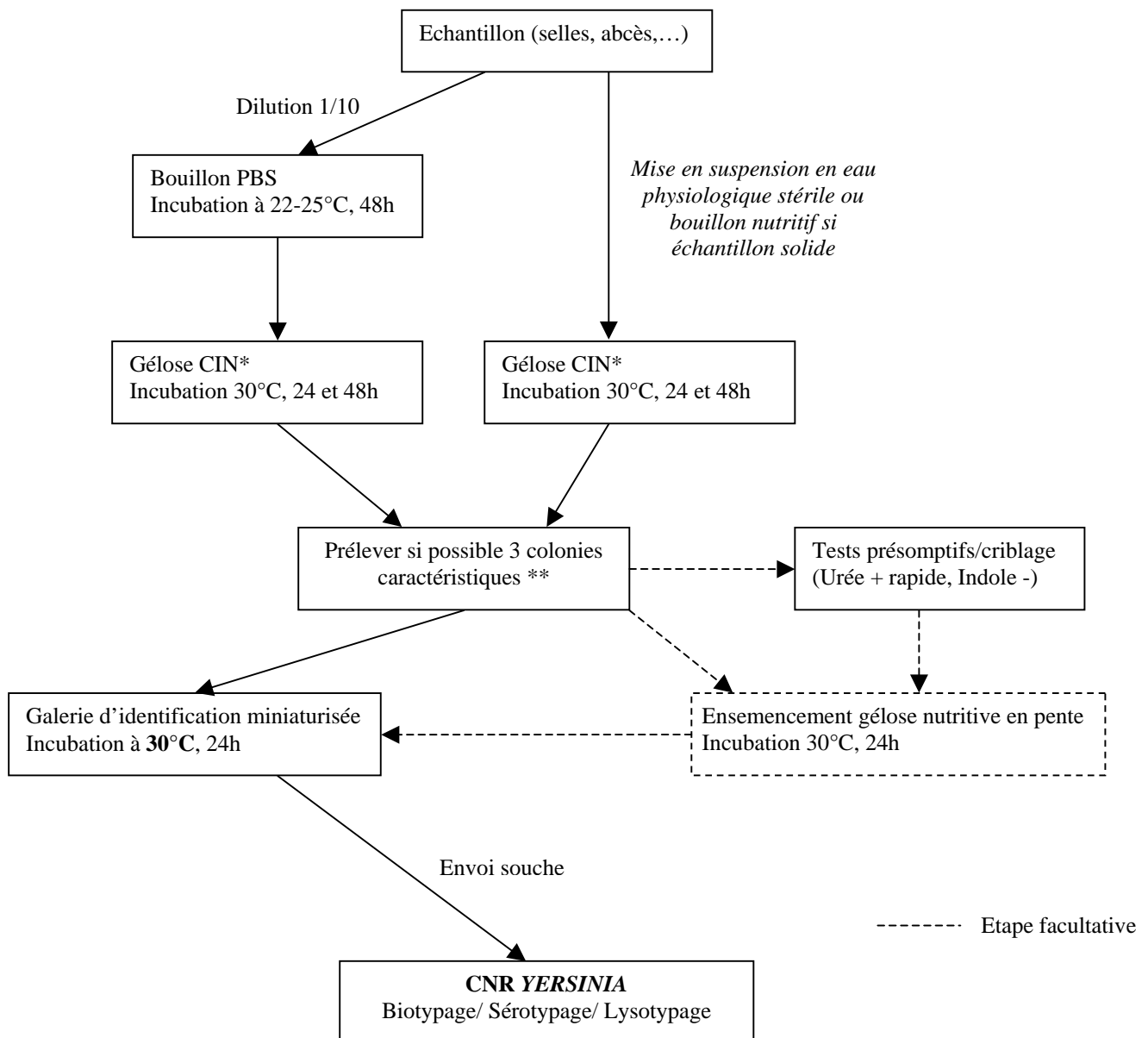
Une étude épidémiologique descriptive, même avec un échantillonnage de convenance tel que le nôtre, mais avec des méthodes d'isolement plus performantes (figure 24), permettrait de déterminer plus exhaustivement les souches de *Yersinia pseudotuberculosis* circulant parmi les animaux sauvages. D'un point de vue pratique dans le cas du parc zoologique de La Palmyre, l'intérêt est de déterminer tout d'abord si le vaccin utilisé contient les mêmes sérotypes que ceux qui circulent dans le parc. Dans un parc où la vaccination n'est pas pratiquée et où la pseudotuberculose est présente, ou bien dans un parc où le vaccin n'est pas efficace contre les sérotypes présents, il est possible de fabriquer un vaccin à partir des souches isolées localement : cela a été effectué dans certains parcs zoologiques principalement en Europe [50,70]. Toutefois, pour savoir précisément si les souches isolées d'animaux sauvages sont responsables d'infection chez les animaux captifs, le sérotypage ne suffit pas, il faudrait avoir recours à un typage moléculaire, effectué uniquement par le Centre National de Référence des *Yersinia* de l'Institut Pasteur. Ce typage n'est actuellement pas disponible en médecine vétérinaire, il est réservé à un usage dans le cadre de la santé publique humaine [39].

L'inconvénient majeur de la vaccination est le stress engendré pour les animaux : WESCHE *et al.* [70] considèrent que cette manipulation pourrait déclencher la maladie chez des animaux porteurs. A La Palmyre, la campagne de vaccination concerne environ 80 singes, répartis dans deux bâtiments : la manipulation d'un animal dans une des cages provoque une panique généralisée dans le bâtiment concerné. Cette campagne a débuté en 2000 et jusqu'à cette année, aucun cas nouveau ne s'était déclaré. Le décès du ouistiti à pinceaux blancs au mois d'avril 2003, animal vacciné, pose le problème de l'efficacité de la vaccination : l'hypothèse la plus vraisemblable est que l'injection de vaccin ait été mal faite (manipulations rapides, animaux qui se défendent). Si tel est le cas, l'utilité de la vaccination par PSEUDO-VAC n'est pas remise en cause. Cependant, si d'autres cas sur des animaux vaccinés survenaient, il s'agira de savoir s'il faut changer de vaccin, ou bien arrêter la vaccination et trouver un autre moyen de contrôle : par exemple des recherches régulières du germe dans les fèces. Des travaux sont actuellement en cours à l'Université de Bristol pour le développement de techniques PCR de détection de la pseudotuberculose chez les mammifères et les oiseaux captifs, de façon à ce que la moindre infection puisse être traitée précocement par des antibiotiques [70].

Dans tous les cas, les mesures hygiéniques sont nécessaires, en particulier le nettoyage des légumes et des fruits (réalisé systématiquement au parc zoologique de La Palmyre). La conception des enclos extérieurs des singes à La Palmyre ne permet pas de contrôler les interactions avec la faune exogène (grillages) : l'utilisation de vitres, par exemple, seraient plus adaptées au contrôle de ces interactions mais moins adaptées au bien-être des singes.

La pseudotuberculose humaine est rare en France. Des études complémentaires utilisant le protocole d'isolement décrit par la figure 24 permettraient de préciser le risque zoonotique en parcs zoologiques.

Figure 24 : protocole d'isolement de *Yersinia pseudotuberculosis* recommandé par l'Institut Pasteur [40]



PBS= Peptone-Sorbitol-Sels biliaires

CIN= Cefsulodine-IrgasanTM-Novobiocine

CNR *Yersinia* = Centre National de Référence des *Yersinia*, Institut Pasteur de Paris

* Certaines souches de *Yersinia pseudotuberculosis* ne poussent pas ou peu sur le milieu CIN.

** En 24h, colonies petites (0,5 à 1 mm) en « œil de bison », lisses, à centre rouge sombre, non irisées et entourées d'une zone translucide (aspect en cocarde). Fine granulation au centre de la colonie visible par transillumination de Henry. En 48h, un halo de précipitation des sels biliaires peut rendre cette zone opaque. La taille de la colonie, moins lisse et dont le centre rouge foncé occupe les $\frac{3}{4}$ de la colonie, est de 1 à 2 mm.

4. Toxoplasmose

4.1. Interprétation des résultats

La technique de sérologie utilisée, agglutination directe avec traitement d'une partie du sérum à tester au 2-mercaptoéthanol, permet d'apprécier d'une part le titre en anticorps totaux (sérum non traité) et d'autre part le titre en IgG (sérum traité). Une des difficultés pour poser un diagnostic sérologique de toxoplasmose est l'existence d'immunoglobulines « naturelles » appartenant à la classe des IgM : ces immunoglobulines ne reflètent pas une infection par *Toxoplasma gondii*, sont naturellement présentes chez certains individus à des titres faibles, et peuvent être à l'origine de résultats faussement positifs. Le traitement des sérums par le 2-mercaptoéthanol négative l'agglutination provoquée par les IgM (naturelles ou spécifiques) tout en respectant le pouvoir agglutinant des IgG, et permet de s'affranchir de cette limite intrinsèque de la méthode. Cependant, le titrage en anticorps totaux est intéressant à mesurer car les IgM sont produites précocément après une infection, atteignent leur maximum de concentration en quelques semaines et ne perdurent que quelques semaines à quelques mois. Au contraire, les IgG sont produites plus tardivement et persistent plusieurs années [10,35]. La différence entre le titre en anticorps totaux et le titre en IgG donne ainsi une indication sur la date de l'infection : un titre élevé en anticorps totaux et faible en IgG évoque une infection récente (part majoritaire d'IgM dans les anticorps totaux), tandis que des titres identiques ou peu différents (moins de deux dilutions) en anticorps totaux et en IgG évoquent une infection plus ancienne (part majoritaire d'IgG dans les anticorps totaux).

L'agglutination directe pratiquée ici est une technique très sensible mais moyennement spécifique pour la détection d'IgM anti-toxoplasmes, sensible et très spécifique pour la détection d'IgG anti-toxoplasmes [35,90]. Le seuil de positivité choisi (1/32 pour les sérums non traités) tient compte de l'existence des IgM naturelles, généralement présentes à des titres faibles, afin de ne pas considérer comme positif un individu qui ne présenterait que des IgM naturelles. La lecture des résultats se fait à l'œil nu et dépend donc du manipulateur. Les résultats ont été lus à chaque fois indépendamment par deux personnes (les mêmes pour tous les sérums) afin de limiter la subjectivité de la lecture. Tous les résultats sont cependant donnés à une dilution près.

Tous les rongeurs capturés ont des sérologies négatives pour la toxoplasmose, et aucune lésion évocatrice n'a été observée à l'autopsie. seize rongeurs sur cinquante-trois testés (30 p.cent) ont donné des réponses très faiblement positives (1/4 ou 1/8) lors de l'agglutination sur sérum non traité, réponses que nous attribuons aux IgM naturelles. Certains de ces rongeurs sont éventuellement en tout début d'infection, seule une seconde sérologie quinze jours après la première aurait pu le prouver.

Des cas d'individus séronégatifs mais infectés chroniques ont été rapporté notamment chez certaines espèces de petits rongeurs, faussant ainsi parfois l'image de la prévalence de l'infection par des toxoplasmes sur ces animaux [34]. DREESEN [19] rapporte en 1990 que les rongeurs sont souvent séropositifs et constituent un excellent réservoir de *Toxoplasma gondii* et une source de contamination pour les chats, alors que SANGER en 1971 [58] ne retrouve aucune souris positive sur trois cent quatre-vingt-dix-neuf testées, KAPPERUD en

1978 [34] seulement trois rongeurs positifs sur sept cent trente-deux testés (issus de huit espèces différentes) et SMITH et FRENKEL en 1995 [60] détectent seulement 3 p.cent de rats et de souris séropositifs. Les rongeurs se contaminent généralement par ingestion d'oocystes, rarement par cannibalisme. Il existe donc une relation étroite entre la présence de chats et la prévalence de la toxoplasmose chez les rongeurs [34].

Le hérisson est séronégatif, avec cependant une réponse très faiblement positive (1/4) en sérum non traité, que nous attribuons également à la présence d'immunoglobulines non spécifiques, ou aux imprécisions de lecture.

Le chat et la fouine, en revanche, sont très positifs : nous avons mesuré un titre de 4096 en anticorps totaux et de 2048 en IgG chez le chat, et respectivement 16384 et 8192 pour la fouine. Pour ces deux animaux, la différence de titre est faible (une seule dilution d'écart), les IgG sont donc majoritaires et les infections sont probablement anciennes. Nous n'avons pas pu récolter de selles du chat, or un examen coproscopique aurait permis de déterminer si cet animal excrétrait des oocystes ; il s'agissait d'un animal adulte, cet évènement est donc peu probable. Cependant, ce chat a été excréteur d'oocystes toxoplasmiques auparavant, pourrait éventuellement l'être de nouveau (mais moins intensément) à la faveur d'une baisse de l'immunité, d'une nouvelle infection par *Toxoplasma gondii* (ingestion d'oocystes sporulés ou de proies contenant des kystes à bradyzoïtes), ou d'une infection par une autre espèce de coccidie (par exemple *Isospora felis* ou *I. rivolta*).

La fouine a une toxoplasmose, elle est porteuse de kystes à bradyzoïtes ; à ce titre, elle peut être contaminante pour un carnivore mais uniquement par prédation. Sa séropositivité est de plus une preuve de la présence de la toxoplasmose dans ou autour du parc. La toxoplasmose des mustélidés est peu documentée : SANGER en 1971 [58] rapporte des isollements de *Toxoplasma gondii* chez trois furets (*Mustela putorius furo*) et deux belettes (*Mustela nivalis*), et WALLACH et BOEVER en 1983 [67] exposent que la toxoplasmose a été décrite chez des furets, des belettes et des mouffettes. Le vison d'Amérique semble également très sensible [26,60]. L'infection par *Toxoplasma gondii* chez la fouine n'a pas été étudiée à notre connaissance.

Cinq oiseaux sur dix-neuf testés (26 p.cent) possèdent des anticorps anti-toxoplasmes à des titres supérieurs ou égaux à 64 en sérum non traité. La prévalence observée est élevée, mais les biais d'échantillonnages sont importants : nous avons piégé sélectivement des pies et des corneilles, les tourterelles ont été récupérées mourantes (trichomonose), les colverts et les paons ont été attrapés à l'épuisette quand l'occasion se présentait, et tous les passereaux et autres petits oiseaux retrouvés morts n'ont pas été testés car la prise de sang était impossible. Il ne s'agit donc pas d'un échantillon aléatoire d'oiseaux.

Parmi les quatorze oiseaux négatifs, tous excepté la tourterelle des bois ont donné des résultats faiblement positifs en sérum non traité, à des titres de 4, 8 ou 16. Le seuil de positivité étant fixé à 32 comme pour les rongeurs, ces réponses sont considérées comme le reflet de la présence d'immunoglobulines naturelles. Les IgM non spécifiques des oiseaux réagissent plus fortement que celles des mammifères (voir les résultats sur les rongeurs), et la

technique utilisée semble donc moins spécifique sur des oiseaux que sur des mammifères en ce qui concerne la détection d'anticorps totaux ; le seuil de positivité devrait peut-être être fixé au-delà de 32, par exemple à 64. Pour les sérums traités, une seule réponse très faiblement positive et considérée comme non significative est notée parmi les sérums des quatorze oiseaux négatifs ; il s'agit de la poule d'eau. Le traitement des sérums par le 2-mercaptoéthanol augmente comme chez les mammifères la spécificité de la méthode, et les IgG détectés sont spécifiques de la toxoplasmose. La cinétique des anticorps anti-toxoplasmes chez les oiseaux n'est pas encore connue. Les interprétations que nous proposons ici se fondent sur la cinétique des anticorps de mammifères.

Les deux tourterelles turques, deux pies sur trois testées et un paon sur quatre testés possèdent des anticorps anti-toxoplasmes:

- tourterelle 1 : elle est positive à un titre de 64 en sérum non traité, et de 4 en sérum traité. Il s'agirait d'une toxoplasmose en tout début d'évolution, si un titre en anticorps totaux de 64 peut effectivement être considéré comme significatif.
- tourterelle 2 : elle est positive à un titre de 2048 en sérum non traité, et de 16 en sérum traité. C'est une toxoplasmose en début d'évolution, avec un titre d'IgM très élevé (7 dilutions d'écart entre sérums non traité et traité, correspondant à l'agglutination par des IgM) et un titre d'IgG faible.
- pie 1 : elle est positive à un titre de 64 en sérum non traité et négative en sérum traité. La situation est la même que pour la tourterelle 1.
- pie 2 : elle est positive à un titre de 64 en sérum non traité et de 32 en sérum traité. La différence entre ces deux résultats est faible, les anticorps totaux sont donc majoritairement des IgG et il s'agirait plutôt d'une toxoplasmose ancienne, voire très ancienne puisque les titres sont modérés (phase de décroissance du taux d'anticorps).
- paon : il est positif à un titre de 512 en sérum traité et non traité. Nous sommes plutôt en présence d'une toxoplasmose ancienne, comme pour la pie 2, mais les titres sont élevés et la réponse immunitaire encore bien présente.

Aucune lésion macroscopique compatible avec une toxoplasmose n'a été observée chez ces oiseaux (NB : le paon n'a pas été autopsié), mais leur séropositivité prouve une infection par *Toxoplasma gondii*, et donc la présence de kystes à bradyzoïtes dans un ou plusieurs organes. Les oiseaux ne sont jamais excréteurs d'oocystes, ils sont contaminants uniquement par prédation. Les paons du parc zoologique ne s'aventurent dans les enclos que de façon exceptionnelle (deux cas de paons tombés dans l'enclos des ours), la probabilité qu'ils soient attrapés et puissent contaminer un des carnivores du parc est relativement faible. En revanche, les tourterelles, notamment affaiblies par une trichomonose, sont des proies faciles. Les pies sont des oiseaux territoriaux vivant en famille. Les deux pies séropositives ont été capturées le même jour et au même endroit, elles ont pu s'infecter par une source commune, ce résultat ne nous autorise pas à mettre en avant un quelconque rôle particulier des pies dans la transmission de la toxoplasmose. Cependant, en raison de la territorialité de ces oiseaux, un nombre restreint de famille de pies sont présentes sur le parc zoologique de La Palmyre. Il serait judicieux de préciser la prévalence de la toxoplasmose chez ces oiseaux, car une seule source de contamination (une crotte de chat de quelques jours contenant des oocystes sporulés) peut infecter une famille de pies qui mangerait autour de cette source.

4.2. Hypothèses de sources de contamination par *Toxoplasma gondii* au parc zoologique de La Palmyre

Dans notre échantillon, nous n'avons pas pu mettre en évidence d'infection par *Toxoplasma gondii* chez les rongeurs, et cinq oiseaux sur treize possédaient des anticorps anti-toxoplasmes. Des études descriptives plus ciblées permettraient de déterminer si les rongeurs sont effectivement très faiblement infectés et si les oiseaux le sont plus particulièrement, et dans un deuxième temps peut-être de voir si certaines espèces d'oiseaux sont plus touchées que d'autres (pies, tourterelles ?). Si ces faits s'avéraient exacts, c'est-à-dire si les oiseaux sauvages gravitant autour du parc sont plus fréquemment porteurs de toxoplasmes que les rongeurs, ils pourraient être une source plus importante de contamination pour les félidés (et autres carnivores) que les rongeurs. Cela présuppose bien évidemment de préciser la cinétique des anticorps anti-toxoplasmes chez les oiseaux si des techniques sérologiques sont utilisées.

Au parc zoologique de La Palmyre, les animaux morts de toxoplasmose, ou testés séropositifs à la toxoplasmose suite au développement de symptômes compatibles, sont des primates (saïmiris, tamarins lions), des marsupiaux (kangourous et wallabies) et une antilope (blesbok).

Les singes ont pu s'infecter en ingérant des oocystes sporulés ou des petits rongeurs porteurs de kystes à bradyzoïtes : une anazootie a été rapportée sur des tamarins lions dorés (*Leontopithecus rosalia rosalia*) au Utica Zoological Gardens de New-York, impliquant quatre animaux ; la source d'infection a été identifiée comme une souris que se sont partagés les quatre singes treize jours avant le premier décès [56]. L'enclos de chaque espèce de singes à La Palmyre comporte deux grandes cages, une à l'intérieur d'un bâtiment a priori hermétique à la faune sauvage exogène (sauf aux souris), l'autre à l'extérieur où toutes sortes d'interactions avec les animaux sauvages sont possibles.

Compte tenu de leur comportement alimentaire, les herbivores n'ont pu être contaminés que par l'ingestion d'oocystes sporulés.

La contamination des félidés peut s'envisager selon trois modes : ingestion d'oocystes sporulés, ingestion de viande contenant des kystes à bradyzoïtes, prédation d'animaux infectés. Si les oiseaux sauvages gravitant autour du parc sont effectivement plus fréquemment porteurs de toxoplasmes que les rongeurs, ils pourraient donc être une source importante de contamination pour les félidés (et autres carnivores).

Seuls les félidés peuvent excréter des oocystes. Dans le cadre d'un parc zoologique, deux types de félidés peuvent être à l'origine d'excrétion d'oocystes : il peut s'agir des chats errants, la séropositivité du chat que nous avons piégé corrobore cette hypothèse, ou des félidés captifs. Le nombre de chats vagabondant dans le parc est inconnu, probablement faible, mais un seul animal peut excréter des millions d'oocystes [10,27,37]. Si le chat n'excrète généralement qu'une ou deux fois des oocystes au cours de sa vie [10,37], les épisodes d'excrétion peuvent être plus nombreux chez d'autres félidés [42]. Les oocystes ne sont infectants que s'il sont sporulés, ce qui nécessite au moins 24 heures. Au parc zoologique de La Palmyre, exceptés les lynx et quelques guépards, les félins sont rentrés pour la nuit à l'intérieur des bâtiments. Tous les enclos sont nettoyés chaque matin avant la sortie des animaux. Les selles émises par les félidés restent donc au maximum 24h à l'extérieur, ce qui

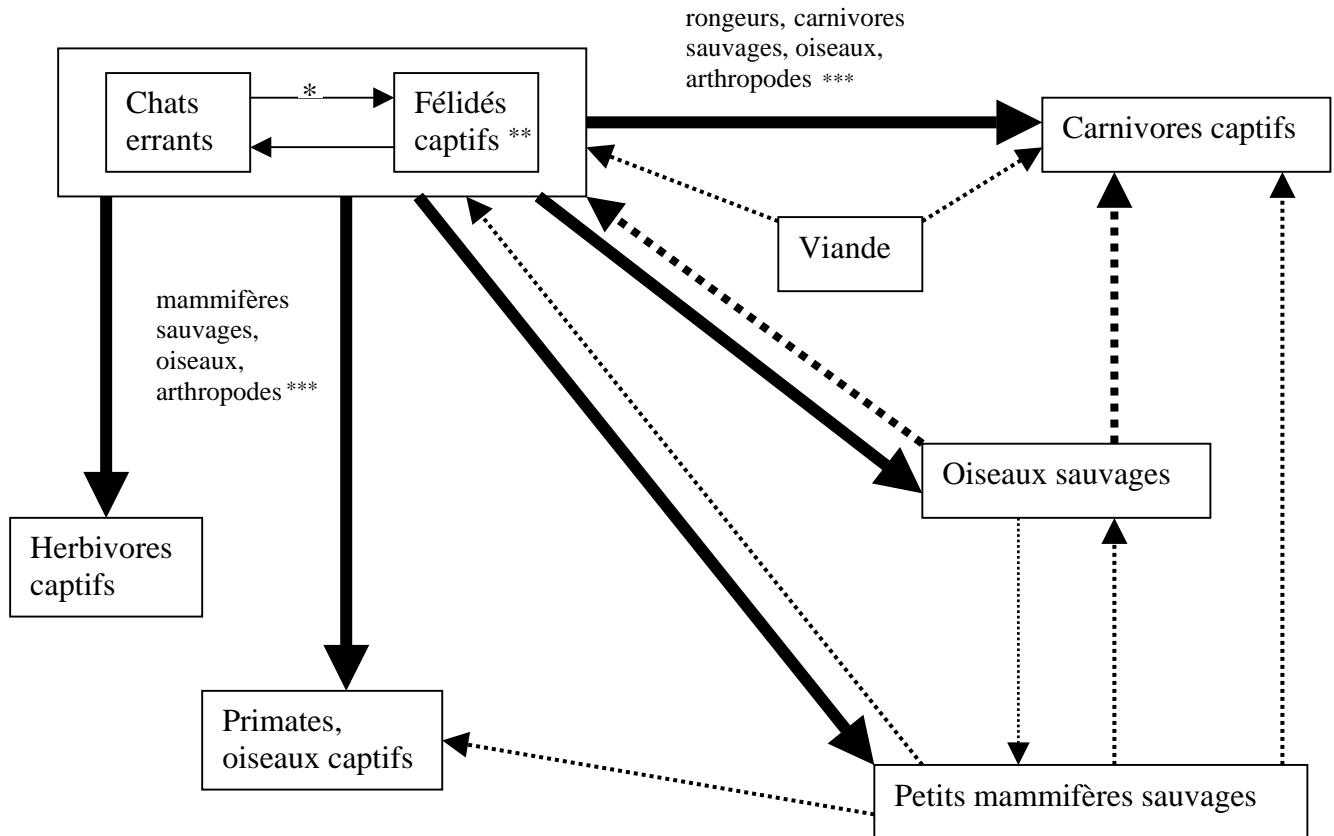
limite les possibilités de sporulation. Cependant, ces oocystes étant produits en très grand nombre, certains peuvent échapper au nettoyage, survivre et sporuler.

Les oocystes sporulés peuvent être transportés par des arthropodes, et transportés et/ou ingérés par des oiseaux, des rongeurs et des carnivores sauvages. Cette dissémination peut se faire sur de grandes distances, il n'est pas nécessaire que les oocystes aient été produits dans l'enceinte du parc. De plus, l'utilisation par les soigneurs animaliers d'un même balai pour différents enclos a déjà été incriminée dans la transmission de *Toxoplasma gondii* en parc zoologique [25]. Ceci explique la contamination et la séropositivité de la fouine, des pies, des tourterelles et du paon que nous avons mis en évidence, et c'est également le mode de contamination le plus probable de tous les animaux captifs atteints de toxoplasmose dont les cas ont été décrits.

La figure 25 expose des propositions de modalités de transmission de la toxoplasmose aux animaux du parc zoologique de La Palmyre, qui ne sont bien sûr envisageables que si les enquêtes épidémiologiques descriptives nécessaires confirment les hypothèses posées par notre étude.

A La Palmyre, les différents groupes d'animaux captifs, où ont été diagnostiqués des cas de toxoplasmose, habitent en des points variés du parc (annexe VI). Il ne semble pas y avoir de lieu plus particulièrement contaminé. La proximité avec un enclos habité par des félidés rendrait toutefois plus aisée la contamination d'un groupe d'animaux sensibles : c'est le cas en particulier de l'enclos des lynx qui jouxte celui des kangourous et des wallabies. Une surveillance de l'excrétion d'oocystes de *Toxoplasma gondii* par les félidés captifs, ainsi qu'un suivi sérologique, pourrait permettre de préciser l'importance relative du rôle des félidés du parc et du rôle des chats errants. Une étude menée en 1984 par PATTON *et al.* [54] au Knoxville Zoological Park dans le Tennessee, suite à une épizootie de toxoplasmose (treize marsupiaux décédés en 10 jours), a montré qu'un seul félin captif sur seize testés possédait des anticorps anti-toxoplasme, et qu'aucun n'excrétait d'oocystes de *Toxoplasma gondii* au moment de l'épizootie. En revanche, deux chats piégés sur huit étaient séropositifs et un des chats séronégatifs excrétrait des oocystes. Les auteurs concluent à la haute probabilité d'un chat comme source de contamination. Ce résultat est en accord avec une étude réalisée par DOBOS-KOVACS *et al.* au parc zoologique de Budapest où un chaton a été à l'origine de l'infection et du décès de trois wallabies (*Macropus eugenii*) [18].

Figure 25 : hypothèses de sources de contamination par *Toxoplasma gondii* au parc zoologique de La Palmyre et de leurs importances relatives



—▶ Contamination fécale
▶ Prédation, ingestion
 L'épaisseur des traits correspondent à des hypothèses d'importance relative des voies de contamination, à évaluer en fonction de résultats d'études descriptives ultérieures.

* avec éventuelle intervention de transporteurs mécaniques
 ** importance de leur rôle par rapport à celui des chats à préciser
 *** disséminateurs mécaniques, contamination de la nourriture dans les enclos ou dans les zones de stockage (en particulier, cas des chattes mettant bas dans les hangars à foin).

En conclusion, notre étude n'est en aucun cas suffisante pour préciser quels animaux sont les plus susceptibles de transmettre la toxoplasmose aux animaux du parc zoologique de La Palmyre. Les chats errants pourraient être au centre du cycle épidémiologique de la toxoplasmose au parc zoologique de La Palmyre, et à l'origine des cas enregistrés. Pour confirmer la source d'infection lors d'un cas de toxoplasmose chez un animal captif, il faudrait effectuer un typage de la souche de *Toxoplasma gondii*. Une meilleure connaissance de la cinétique de la réponse immunitaire contre *Toxoplasma gondii* permettrait de préciser l'importance de la contamination des oiseaux. De nombreux oiseaux, mammifères et insectes peuvent jouer le rôle de transporteurs d'oocystes. La toxoplasmose peut également être contractée par des carnivores par ingestion de viande contenant des kystes à bradyzoïtes.

Plusieurs conseils peuvent être donnés de façon à limiter la contamination d'animaux :

- dans tous les cas, un nettoyage soigné des enclos des animaux particulièrement sensibles doit être de rigueur. Cette mesure est *a priori* en œuvre à La Palmyre. Chaque balai ne devrait être utilisé que pour un enclos, et être désinfecté régulièrement.

- les fruits et légumes sont à stocker dans des pièces hermétiques à la faune sauvage, et à nettoyer avant la distribution.

- une lutte contre les chats errants dans la mesure de la législation limiterait les risques d'importation de la toxoplasmose dans le parc. La réglementation n'autorise pas le piégeage d'animaux domestiques, mais chaque propriétaire est responsable de son animal, et en particulier la divagation des animaux domestiques est interdite [78]. Une intervention dans ce cadre législatif, en accord avec la mairie, est envisageable.

- un vaccin félin contre la toxoplasmose existe actuellement aux Etats-Unis. Il a prouvé son efficacité dans la réduction de l'excrétion d'oocystes, et a en particulier permis de limiter l'infection de porcs dans des élevages. Cette limitation n'était toutefois pas aussi efficace que lors de la diminution du nombre de chats errants [44,45].

- une lutte contre les animaux sauvages exogènes, et peut-être plus particulièrement les oiseaux dans le cas du parc zoologique de La Palmyre, pourrait limiter la contamination des carnivores du parc *via* la chaîne alimentaire. Les corvidés et autres oiseaux nuisibles peuvent être régulés par piégeage, mais la limite de cette mesure est l'interdiction de destruction d'oiseaux non nuisibles mais potentiellement porteurs (exemple des tourterelles). Les espèces chassables pourront toutefois être maîtrisées en période de chasse. Cette lutte reste illusoire.

- une inconnue majeure réside dans le fait que nous ne connaissons pas exactement les possibilités d'excrétion d'oocystes par les félinidés autres que le chat : LUKESOVA et LITERAK en 1998 [42] montrent que certains félinidés sont susceptibles d'excréter au moins trois fois des oocystes. Une étude combinant des recherches d'oocystes de *Toxoplasma gondii* et un suivi sérologique des félinidés permettrait de déterminer si la présence d'anticorps anti-*Toxoplasma* chez un félinidé (autre que le chat) empêche l'excrétion d'oocystes. Cela permettrait également de déterminer s'il est plus intéressant que les félinidés soient infectés tôt, de façon à être immunisés et ne pas ré-excréter d'oocystes (avec maîtrise des périodes d'excrétions, par exemple en gardant les animaux à l'intérieur), ou s'il vaut mieux les protéger de toute infection car l'immunité n'empêchera pas l'excrétion. Une vaccination des félinidés captifs peut également être envisagée.

- la congélation de la viande pendant quelques jours avant de la distribuer aux carnivores permet la destruction des kystes à bradyzoïtes [10,37] ; l'intérêt de ce traitement pour les félinés est à démontrer.

- la conception d'un parc zoologique devrait tenir compte de la proximité entre des félinés potentiellement excréteurs d'oocystes de toxoplasmose et des animaux très sensibles comme les marsupiaux ou les callithrichidés.

Un dernier point important est que la toxoplasmose est une zoonose, ce qui implique la prise de mesures intéressant les employés du parc et les visiteurs :

- le port de gants devrait être systématisé lors du nettoyage des enclos ; ce conseil s'applique pour la prévention de la toxoplasmose mais également de nombreuses autres zoonoses comme la pseudotuberculose, les salmonelloses...

- un paon sur quatre testés est séropositif pour la toxoplasmose. Ce paon ne contaminera certainement aucun animal, puisque l'ingestion d'un paon par un carnivore du parc est peu probable. Cependant, cela signifie qu'il a eu accès à des selles porteuses d'oocystes et qu'il est potentiellement un disséminateur mécanique. Vingt à vingt-cinq de ces oiseaux sont en liberté dans le parc, et sont très fréquemment observés dans les tas de fumiers et autres zones de stockage de déchets. Ils ont de plus des possibilités de contacts indirects mais fréquents avec les visiteurs, notamment autour des tables de pique-nique. Ces conditions de présentation nous semblent particulièrement inadaptées à la prévention de zoonoses graves.

CONCLUSION

Cent deux animaux ont été piégés pour cette étude entre septembre 2002 et septembre 2003 : cinquante-cinq souris (*Mus musculus*), neuf campagnols (*Microtus* sp.), trente-cinq oiseaux issus de seize espèces différentes, un chat, une fouine (*Martes foina*) et un hérisson (*Erinaceus europaeus*).

Deux souris sur trente-six testées sont porteuses de souches saprophytes de *Leptospira* et aucune n'est porteuse de souche pathogène, un campagnol sur huit testés est séropositif pour le sérovar 372 munchen mais négatif à la PCR donc n'est plus porteur de leptospires. Le chat, la fouine et le hérisson sont séropositifs pour la leptospirose. Aucun rat ni ragondin n'a été vu ni piégé au cours de la campagne. Les pH des différents plans d'eau sont généralement neutres à légèrement basiques (analyses sur plusieurs années), les leptospires pourraient survivre dans le milieu extérieur. Ce contexte évoque la présence de leptospires pathogènes aux alentours du parc et le rôle potentiel d'importation de ces bactéries par des hérissons, des fouines et dans une moindre mesure par des chats errants. L'image de la répartition de leptospires pathogènes dans le parc zoologique de La Palmyre donnée par cette étude est à interpréter avec prudence, en raison des modalités d'échantillonnage : une étude, qui ciblerait le piégeage sur les zones « à risque » (autour des plans d'eau) et associerait ce piégeage à la recherche de leptospires par PCR sur des échantillons d'eau, donnerait des compléments d'information précieux. La colonisation du parc par des ragondins, rats ou rats musqués pourrait de plus modifier considérablement la situation.

Soixante-quatre animaux, soient trente-six souris, cinq campagnols, vingt-deux oiseaux, et le hérisson, ont fait l'objet d'une recherche bactériologique de *Yersinia pseudotuberculosis*. Le protocole d'isolement, mis en place par commodité, s'est avéré inadapté à cette recherche, et cette bactérie n'a jamais été isolée. Une étude comparable avec un meilleur protocole serait importante pour déterminer quels sérotypes circulent dans le parc, ainsi que le taux d'infection de la faune sauvage exogène. Cela permettrait d'évaluer l'intérêt de la vaccination ou de proposer l'instauration de mesures de contrôle sur les animaux particulièrement sensibles : la PCR qui sera peut-être prochainement disponible pour la recherche de *Yersinia pseudotuberculosis* sur prélèvement de selles semble une analyse d'avenir. Utilisée en routine (en fonction du prix et de la disponibilité), par exemple en prélevant régulièrement des selles des animaux les plus sensibles, elle pourrait permettre de détecter des pseudotuberculoses débutantes et de mettre en place des traitements précoces. Il faudrait bien entendu l'associer au contrôle des sources d'infection. Lors de nos isolements bactériologiques, nous avons mis en évidence principalement des *Yersinia* non pathogènes dont des sérotypes non pathogènes de *Yersinia enterocolitica*. Toutes nos souches n'ont pas été expertisées par l'Institut Pasteur, et il est possible que des *Yersinia enterocolitica* pathogènes circulent : ce sont des agents zoonotiques importants, dangereux en particulier pour les enfants.

Parmi les soixante-quinze analyses sérologiques de toxoplasmose effectuées, les quarante-cinq souris, les huit campagnols et le hérisson sont séronégatifs, mais le chat, la fouine et cinq oiseaux sur dix-neuf testés sont séropositifs. Les oiseaux pourraient avoir un

rôle plus important que les rongeurs dans la contamination des carnivores par *Toxoplasma gondii* dans le parc zoologique de La Palmyre, cette hypothèse serait à confirmer par une étude plus ciblée sur ce sujet. Les animaux captifs qui ont eu une toxoplasmose-maladie sont des herbivores et des primates, le rôle du chat comme agent principal de contamination est fortement suspecté. Cependant, le rôle des félinés captifs serait à préciser par une étude des modalités d'excrétion d'oocystes par ces espèces : recherche sérologique régulière chez différentes espèces, associée à une recherche coproscopique d'oocystes de *Toxoplasma gondii*. La proximité entre des enclos de félinés potentiellement excréteurs d'oocystes et des enclos d'animaux très sensibles (les lynx et le groupe de kangourous et wallabies dans notre cas) devrait être évitée. Les oiseaux et les rongeurs exogènes pourraient être des disséminateurs mécaniques d'oocystes très efficaces entre le parc et les alentours.

En conclusion, cette étude pose plus de questions qu'elle n'apporte de réponses. Les faiblesses méthodologiques de cette étude préliminaire limitent l'interprétation des données recueillies et ne permettent de proposer que des hypothèses et des pistes de recherche pour des études ultérieures. Il ressort toutefois de nos observations et des données de la littérature que les mesures les plus simples sont souvent les plus efficaces : l'hygiène avant tout, avec un nettoyage suffisamment fréquent des enclos (tous les jours) et des bassins, le port de gants, de bottes et le cas échéant de masques pour protéger les soigneurs animaliers, l'utilisation d'un balai par enclos pour éviter la dissémination de germes, etc... L'absence de certaines espèces de rongeurs, en particulier les rats et les ragondins, pourrait être en liaison avec une prévalence faible d'infections leptospirosiques dans un parc zoologique. Un piégeage systématique des rongeurs semble prudent. Les chats errants seraient un « carrefour » épidémiologique, à la fois agent de transmission et reflet de la présence d'infection dans une zone donnée : les moyens d'éradication sont limités par la législation, le seul recours est l'intervention dans le cadre de la divagation d'animaux domestiques. Il est beaucoup plus difficile de contrôler les interactions entre les oiseaux sauvages et les animaux captifs. De plus, si certaines espèces comme les pies, les corneilles, ou les geais des chênes sont des nuisibles, la majeure partie des espèces aviaires sont protégées et les interventions ne peuvent se faire que par dérogation ministérielle.

Si le principal souci d'un vétérinaire de parc zoologique est d'éviter l'importation de maladies à l'intérieur du parc, les animaux captifs peuvent également être des réservoirs de germes qui seront exportés du parc par la faune sauvage exogène ! Dans le cadre particulier de la santé humaine, les interactions entre les animaux du parc et les visiteurs devraient être limitées au maximum, en particulier par rapport à des animaux non contrôlés comme les paons en liberté au parc zoologique de La Palmyre.

BIBLIOGRAPHIE

1. ACHA PN, SZYFRES B, Pseudotuberculose à *Yersinia*, In : *Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux* , 2^{ème} éd., Office International des Epizooties, 1989, 1069p, 153-155.
2. ACHA PN, SZYFRES B, Toxoplasmose, In : *Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux* , 2^{ème} éd., Office International des Epizooties, 1989, 1069p, 688-689.
3. ANONYME, Leptospirose, In : TOMA B (coordinateur) : *Les zoonoses infectieuses*, photocopié rédigé de manière concertée par les enseignants de maladies contagieuses des quatre Ecoles Nationales Vétérinaires Françaises, distribué par la société Merial, Septembre 2001, 171p, 52-56.
4. ANONYME, Leptospirosis, In : *Manual of standards for diagnostic tests and vaccines for lists A and B diseases of mammals, birds and bees*, 2nd ed., The Standards Commission OIE, 1992, 788p, 186-194.
5. ANONYME, Pseudotuberculose, In : TOMA B (coordinateur) : *Les zoonoses infectieuses*, photocopié rédigé de manière concertée par les enseignants de maladies contagieuses des quatre Ecoles Nationales Vétérinaires Françaises, distribué par la société Merial, Septembre 2001, 171p, 80-82.
6. BARANTON G, MERIEN F, PEROLAT P, POSTIC D, *Diagnostic biologique leptospirose-borréliose*, Collection des Laboratoire de Référence et d'Expertise, Institut Pasteur, 2nd éd., 2000.
7. BARRE N, LOUZIS C, TUFFERY G, Contribution à l'étude épidémiologique de l'infection à *Yersinia pseudotuberculosis* chez les animaux sauvages en France, *Rev. Méd. Vét.*, 1977, **128**:11, 1545-1567.
8. BIELLI M, LAUZI S, PRATELLI A, MARTINI M, DALL'ARA P, BONIZZI L, Pseudotuberculosis in marmosets, tamarins, and Goeldi's monkeys (*Callithrichidae* and *Callimiconidae*) housed at an European zoo, *J. Zoo Wildl. Med.*, 1999, **30**:4, 532-536.
9. BOSCASSI O, *Contribution à l'étude générale de la pseudotuberculose dans différentes espèces animales* Thèse Méd. Vét., Lyon, 1980, 119p.
10. BUSSIERAS J, CHERMETTE R, *Parasitologie Vétérinaire Tome II : Protozoologie*, Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 1992, 186p, 51-54, 87-96.
11. BUSSIERAS J, CHERMETTE R, *Parasitologie Vétérinaire Tome III : Helminthologie*, Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 1995, 299p, 21, 47, 54, 65-66.
12. BUSSIERAS J, CHERMETTE R, *Parasitologie Vétérinaire Tome IV : Entomologie*, Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 1991, 163p, 91-93.
13. CACCIAPUOTI B, CICERONI L, MAFFEI C, *et al.*, A waterborne outbreak of leptospirosis, *Am. J. Epidemiol.*, 1987, **126**:3, 535-545.
14. CARPENTER JW, MASHIMA TY, RUIPIPER DJ, *Exotic Animal Formulary*, 2nd ed, WB Saunders Company, 2000, 423p.

15. CIRONE SM, RIEMANN HP, RUPPANNER R, BEHYMER DE, FRANTI CE, Evaluation of the hemagglutination test for epidemiological studies of leptospiral antibodies in wild mammals, *J. Wildl. Dis.*, 1978, 14, 193-202.
16. CORK SC, MARSHALL RB, MADIE P, FENWICK SG, The role of wild birds and the environment in the epidemiology of Yersinia in New Zealand, *New Zeal. Vet. J.*, 1995, 43:5, 169-174.
17. DAILLANT P, OUTREQUIN R, *Le guide du piéreur*, Union Nationale des Fédérations Départementales des Chasseurs, 1999, 40p.
18. DOBOS-KOVACS M, MESZAROS J, PELLERDY L, BALSAI A, Studies on source of *Toxoplasma* infection in captive kangaroos, *Act. Vet. Acad. Sci. Hung.*, 1974, 24, 293-301.
19. DREESEN DW, *Toxoplasma gondii* infections in wildlife, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1990, 196:2, 274-276.
20. DUBEY JP, A review of toxoplasmosis in wild birds, *Vet. Parasitol.*, 2002, 106, 121-153.
21. DUDEK C, *Les rongeurs sauvages : réservoirs de leptospirose* Thèse Méd. Vét., Nantes, 1989, 116p.
22. EMMET B, SHOTTS JR, Leptospirosis. in DAVIS JW, KARSTAD LH, TRAINER DO, *Infectious diseases of wild animals*, 2nd ed., Iowa State University Press, 1981, 446p, 323-329.
23. EUZEBY J, Helminthes gastrointestinaux des rongeurs de laboratoire, *In : Diagnostic expérimental des helminthoses animales (animaux domestiques-animaux de laboratoire-primates), tome II*, Paris : Informations Techniques des Services Vétérinaires, 1982, 349p, 139-144.
24. FERGUSON DV, HEIDT GA, Survey for rabies, leptospirosis, toxoplasmosis and tularemia in striped skunks (*Mephitis mephitis*) from three public use areas in northwestern Arkansas, *J. of Wild. Dis.*, 1981, 17:4, 515-519.
25. FISHBACK JL, FRENKEL JK, Toxoplasmosis, *Sem. Vet. Med. Surg.*, 1991, 6:3, 219-226.
26. FRANK RK, An outbreak of toxoplasmosis in farmed mink (*Mustela vison S.*), *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2001, 13:3, 245-249.
27. GARELL DM, Toxoplasmosis in zoo animals, *In : FOWLER ME, Zoo and Wild Animal Medicine, Current Therapy 4*, 4th ed., WB Saunders company, 1999, 747p, 131-135.
28. GASPER PW, WATSON RP, Plague and yersiniosis, *In : WILLIAMS ES, BARKER IK, Infectious diseases of wild mammals* , 3rd ed., Iowa State University Press, 2001, 558p, 313-329.
29. GREENE CE, SHOTTS EB, Leptospirosis, *In: GREENE CE, Infectious diseases of the dog and the cat*, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1990, 994p., 498-507.
30. HAARTSKEEL RA, SMITS HL, GORIS MGA, TERPSTRA WJ, International course on laboratory methods for the diagnosis of leptospirosis, *Royal Institute of Biomedical*

Research WHO/FAO Collaborating Center for Reference and Research on leptospirosis, 2002.

31. HAARTSKEERL RA, TERPSTRA WJ, Leptospirosis in wild animals, *Vet. Quart.*, 1996, **18** (suppl.3), 149-150.
32. HIGA HH, FUJINAKA IT, Prevalence of rodent and mongoose leptospirosis on the Island of Oahu, *Public Health Reports*, 1976, 91:2, 171-177.
33. HODGES RT, CARMAN MG, WOODS EP, *Yersinia pseudotuberculosis* recovered from the faeces of clinically healthy deer, *New Zeal. Vet. J.*, 1984, **32**, 79.
34. KAPPERUD G, Survey for toxoplasmosis in wild and domestic animals from Norway and Sweden, *J. Wildl. Dis.*, 1978, **14**, 157-162.
35. KRAHENBUHL JL, REMINGTON JS, Immunology of *Toxoplasma* and toxoplasmosis, in COHEN S, WARREN KS, *Immunology of parasitic infections*, 2nd ed., Blackwell Scientific Publications, 1982, 848p, 356-413.
36. KUIKEN T, VAN DIJK JE, TERPSTRA WJ, BOKHOUT BA, The role of the common vole (*Microtus arvalis*) in the epidemiology of bovine infection with *Leptospira interrogans* serovar hardjo, *Vet. Microbiol.*, 1991, **28**, 353-361.
37. L'HOSTIS M, Toxoplasme, *Encyclopédie vétérinaire, Parasitologie*, Editions techniques, Paris, 1992, 1700 : 1-5.
38. LARSSON CE, SANTA ROSA CA, HAGIWARA MK, PAIM GV, GUERRA JL, Prevalence of feline leptospirosis: serologic survey and attempts of isolation and demonstration of the agent, *Int. J. Zoonoses*, 1984, **11**:2, 161-169.
39. LECLERCQ A, communication personnelle, Centre National de Référence des *Yersinia*, Institut Pasteur de Paris.
40. LECLERCQ A, Protocole d'isolement des *Yersinia* entéropathogènes des échantillons biologiques, *Réseau National de Surveillance des Yersinia*, Institut Pasteur, 2003, **2**, 1-8.
41. LEIGHTON FA, KUIKEN T, Leptospirosis, In : WILLIAMS ES, BARKER IK, *Infectious diseases of wild mammals*, 3rd ed., Iowa State University Press, 2001, 558p, 313-329.
42. LUKESOVA D, LITERAK I, Shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by Felidae in zoos in the Czech Republic, *Vet. Parasitol.*, 1998, **74**:1, 1-7.
43. MACKINTOSH CG, HENDERSON T, Potential sources of *Yersinia pseudotuberculosis* for farmed red deer (*Cervus elaphus*), *New Zeal. Vet. J.*, 1984, **32**:12, 208-210.
44. MATEUS-PINILLA NE, DUBEY JP, CHOROMANSKI L, WEIGEL RM, A field trial of the effectiveness of a feline *Toxoplasma gondii* vaccine in reducing *T. gondii* exposure for swine, *J. Parasitol.*, 1999, **85**:5, 855-860.
45. MATEUS-PINILLA NE, HANNON B, WEIGEL RM, A computer simulation of the transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms using a feline *T. gondii* vaccine, *Prev. Vet. Med.*, 2002, **55**:1, 17-36.

46. MERIEN F, AMOURIOUX P, PETROLAT P, BARANTON G, SAINT GIRONS I, Polymerase chain reaction for detection of *Leptospira* spp. in clinical samples, *J. Clin. Microbiol.*, 1992, 30:9, 2219-2224.
47. MERIEN F, BARANTON G, PEROLAT P, Comparison of polymerase chain reaction with microagglutination test and culture for diagnosis of leptospirosis, *J. of Inf. Dis.*, 1995, **172**, 281-285.
48. MICHNA SW, Leptospirosis, *Vet. Rec.*, 1970, **86**, 484-496.
49. MIERE M., *Contribution à l'étude de la leptospirose chez le cheval : confrontation de deux méthodes diagnostiques dans le cadre des uvéites, PCR et test de micro-agglutination*, Thèse Méd. Vét., Alfort, 2002, n°185, 138p.
50. MONTALI RJ, BUSH M, Diseases of the Callithrichidae, *In : FOWLER ME, Zoo and Wild Animal Medicine, current therapy 4*, 4th ed., WB Saunders company, 1999, 747p, 371.
51. NEIFFER DL, KLEIN EC, WALLACE-SWITALSKI C, *Leptospira* infection in two black rhinoceroses (*Diceros bicornis michaeli*), *J. Zoo Wildl. Med.*, 2001, **32**, 476-486.
52. OTSUKA Y, OKADA Y, MAKINO S, MARUYAMA T, Isolation of *Yersinia pseudotuberculosis* from city-living crows captured in a zoo, *J. Vet. Med. Sci.*, 1994, **56**:4, 785-786.
53. PARSONS R, Pseudotuberculosis at the Zoological Society of London (1981 to 1987), *Vet. Rec.*, 1991, **128**, 130-132.
54. PATTON S, JOHNSON SL, LOEFFLER DG, WRIGHT BG, JENSEN JM, Epizootic of toxoplasmosis in kangaroos, wallabies and potaroos: Possible transmission via domestic cats, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1986, **189**:9, 1166-1169.
55. PEDERSEN NC, Leptospirosis, *In : Feline infectious diseases*, Goleta : American Veterinary Publications, 1988, p179-181.
56. PERTZ C, DUBIELZIG RR, LINDSAY DS, Fatal *Toxoplasma gondii* infection in golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia rosalia*), *J. Zoo Wildl. Med.*, 1997, **28**:4, 491-493.
57. QUINN PJ, CARTER ME, MARKEY B, CARTER GR, *Clinical veterinary microbiology*, Londres: Wolfe publishing, 1994, 648p.
58. SANGER VL, Toxoplasmosis, *In : DAVIS JW, ANDERSON RC, Parasitic diseases of wild mammals*, Iowa State University Press, 1971, 364p., 326-330.
59. SAVARY F, *Etude épidémiologique sur les interactions entre la faune sauvage exogène et les animaux du Zoo de Vincennes*, rapport de stage de fin d'études à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2001, texte non publié à notre connaissance.
60. SMITH DD, FRENKEL JK, Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild mammals of Missouri and east central Kansas : biologic and ecologic considerations of transmission, *J. of Wildl. Dis.*, 1995, **31**:1, 15-21.
61. STRAUBE M., BAUERFEINDT R., RIETSCHEL W, Epidemiological investigations of leptospirosis in zoological gardens, *In : Verhandlungsbericht des 41. Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere*, Rome, 28 Mai-1er Juin 2003.

62. THIERMANN AB, The Norway rat as a selective carrier of *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *J. Wildl. Dis.*, 1981, **17**:1, 39-43.
63. TRAP D. Les petits mammifères sauvages, source de leptospirose. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 1988, **7**:4, 885-892.
64. TWIGG GI, CUERDEN CM, HUGHES DM, MEDHURST P, The leptospirosis reservoir in British wild mammals, *Vet. Rec.*, 1969, **84**, 424-426.
65. URQUHART GM, ARMOUR J, DUNCAN JL, DUNN AM, JENNINGS FW, *Veterinary Parasitology*, New-York : Churchill Livingstone Inc., 1987, 286p, 226-231.
66. VEILLET F, VANDAELE E, éditeurs, *Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires*, Editions du Point Vétérinaire, 2003.
67. WALLACH JD, BOEVER WJ, Mustelidae, *In : Disease of exotic animals, medical and surgical management*, W.B. Saunders company, 1983, 1159p, 508-514.
68. WALLACH JD, BOEVER WJ, Rodents and lagomorphs, *In : Disease of exotic animals, medical and surgical management*, W.B. Saunders company, 1983, 1159p, 157-169.
69. WAUTERS G, *Yersinia* autres que *Yersinia pestis*, *In : FRENEY J, RENAUD F, HANSEN W, BOLLET C, Précis de bactériologie clinique*, éditions Eska, 2000, 1692p, 1165-1168.
70. WESCHE P, WALLIS TS, STEWARD P, Outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis* infection in callitrichid monkeys causing fatalities and subsequent intervention with an emergency vaccine, *European Association of Zoo- and Wildlife Veterinarians (EAZWV) 4th scientific meeting, joint with the annual meeting of the European Wildlife Disease Association (EWDA), May 8-12, 2002, Heidelberg, Germany*.
71. WETZLER TF, Pseudotuberculosis, *In : DAVIS JW, KARSTAD LH, TRAINER DO, Infectious diseases of wild mammals*, 2nd ed. Iowa State University Press, 1981, 446p, 253-262.
72. ZWART P, Yersiniosis in nondomestic birds and mammals, *In : FOWLER ME, Zoo and Wild Animal Medicine, current therapy 3*, 3rd ed., WB Saunders company, 1993, 644p., 52-53.

Ressources internet :

73. ADLER B, FAINE S, The Genus *Leptospira*, *In : ABBOTTS S, ABELIOVICH A, ADLER B, et al., The Prokaryotes*, 3rd ed., [en-ligne], 21 Mai 1999 (modifié le 1 Avril 2002),
[<http://141.150.157.117:8080/prokPUB/chaprender/jsp/showchap.jsp?chapnum=311>], (consulté le 10 Janvier 2004).
74. ANONYME, C612 toxoplasmosis, *In : Site of the Secretariat of the Pacific Community*, [en-ligne], mise à jour le 17 Octobre 2003,
[http://www.spc.int/rahs/Manual/Multiple_Species/TOXOPLASMOSISE.HTM], (consulté les 15 Août et 5 Décembre 2003).
75. ANONYME, Leptospirose fatale, îles des Açores ; Relevé Epidémiologique Hebdomadaire 13 Avril 2001, *In : Site de l'Organisation Mondiale de la Santé*, [en-

- ligne], [<http://www.who.int/docstore/wer/pdf/2001/wer7615.pdf>], (consulté le 29 Novembre 2003).
76. ANONYME, Leptospirose, *In : Esculape, site de médecine générale*, [en-ligne], mise à jour le 24 Février 1998, [<http://www.esculape.com/fmc2/leptospirose.html>] (consulté le 15 Août 2003).
 77. ANONYME, Pathogenic organism chart, *In : Great Smokies Diagnostic Laboratory*, [en-ligne], créé en 1998, modifié en 2002, [<http://www.gsdl.com/education/dasc/images/PathogenicOrganism.pdf>], (consulté le 25 Novembre 2003).
 78. ANONYME, Réglementation sur la divagation des animaux domestiques, articles L211-22, L221-23, L221-24, L215-5, L271-1, R211-11, R-211-12, R214-1, R271-2, R271-3 et R271-4 du Code Rural, *In: Legifrance*, [en-ligne], [<http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/RechercheSimpleArticleCode?commun=CRURAL&code=&art=&exp=divagation>], (consulté le 3 Novembre 2003).
 79. ANONYME, Toxoplasmosis in cats, *In : Cornell Feline Health Center, site of Cornell Veterinary Medicine*, [en-ligne], mise à jour le 4 Juin 2003 [<http://web.vet.cornell.edu/Public/FHC/toxo.html>] (consulté le 15 Août 2003).
 80. ANONYME, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, fiche technique santé-sécurité-matières infectieuses. *In : Site de la Direction Générale de la Santé de la Population et de la Santé Publique*(mise à jour 5 Février 2001) [<http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgsp/msds-ftss/msds168f.html>], (consulté le 15 Août 2003).
 81. ANONYME, *Yersinia pseudotuberculosis*, *In: Biology and biotechnology research program*, [en-ligne], créé en Mai 2001, [<http://bbrp.llnl.gov/bbrp/html/y.pseudo.htm>] (consulté le 18 Octobre 2003).
 82. ANONYME, Yersiniose, *In : Site de l'Université de Genève* [en-ligne], [http://www.unige.ch/sciences/biologie/public/pif/ofsp_mi/SEITEN32.PDF], (consulté le 15 Août 2003).
 83. ANONYME, Yersiniose, *In : Bulletin de l'Office Vétérinaire Fédéral, santé animale, épizooties à surveiller*, [en-ligne], [http://www.bvet.admin.ch/tiergesundheits/d/ausbildung_beratung/tierseuchen/yersiniose/yersiniose.html], (consulté le 15 Août 2003).
 84. ANONYME, Zoonose/leptospiroses, *In : Site du Centre National de Recherche Scientifique*, [en-ligne], mise à jour Novembre 1997, [<http://www.cnrs.fr/SDV/leptospirose.html>], (consulté le 15 Août 2003).
 85. BOURNE D, *Erinaceus europaeus* - West European hedgehog, *In : WildPro*, [en-ligne], [http://212.187.155.84/wnv/Subdirectories_for_Search/SpeciesKingdoms/0Families_Ac rM_Insectivora/Erinaceidae/Erinaceus/Erinaceus_europaeus/Erinaceus_europaeus.html] (consulté le 29 Novembre 2003).
 86. BOURNE D, Yersiniosis (with special reference to Waterfowl), *In : WildPro*, [en-ligne], [http://212.187.155.84/wnv/Subdirectories_for_Search/disease/Bacterial/Yersiniosis.htm#Characteristics] (consulté le 18 Octobre 2003).

87. BUITELAAR M, [m.buitelaar@vet.uu.nl] (10 Octobre 2003), Renseignements sur le vaccin Pseudovac contre la pseudotuberculose, [courrier électronique à Thierry Petit], [en-ligne].
88. CARNIEL E, AUTENRIETH I, CORNELIS G, *et al.*

99. MICHEL V, BRANGER C, ANDRE-FONTAINE G, Epidemiology of leptospirosis, *Rev. Cubana Med. Trop.*, 2002, **54**:1, 7-10, *In : Infomed*, [en-ligne], [http://www.infomed.sld.cu/revistas/mtr/vol54_1_02/mtr0202.pdf], (consulté le 29 Novembre 2003).
100. PERRA A, SERVAS V, TERRIER G, *et al.*, Clustered cases of leptospirosis in Rochefort, France, June 2001, *In : Eurosurveillance monthly archives*, [en-ligne], Octobre 2002, [<http://www.eurosurveillance.org/em/v07n10/0710-221.asp>], (consulté le 29 Novembre 2003).
101. SAVAGE A (editor), *The Cotton-top Tamarin Husbandry Manual*, 1995, Roger Williams Park Zoo, Providence, RI, *In : the Cotton-top Tamarin SSP Web Page*, [en-ligne], [<http://www.csew.com/cottontop/enhusbandry/ench7.htm>], (consulté le 17 Décembre 2003).
102. VINCENT C, La toxoplasmose, *Bulletin Zoosanitaire* du 1^{er} Mars 2002, *In : Site du Réseau d'Alerte et d'Information Zoosanitaire (RAIZO) de Québec*, [en-ligne], [http://www.agr.gouv.qc.ca/qasa/cqiasa/desa/pdf/bul_no34.pdf], (consulté le 15 Août 2003).
103. WEAGANT SD, FENG P, STANFIELD JT. Chapitre 8 : *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* *In : Bacteriological Analytical Manual On-line*, 8th Edition, Revision A., [en ligne], 1998, modifié le 24 Octobre 2001, U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition, [<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-8.html>], (consulté le 18 Octobre 2003).
104. WINCEWICZ E, Microbiological examination of wild rats living in various environments in the epizootic aspect, *In : Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Veterinary Medicine*, 2002, Vol.5, Issue1, [en-ligne], [<http://www.ejpau.media.pl/series/volume5/issue1/veterinary/art-04.html>], (consulté le 18 Octobre 2003).
105. ZUREK L, DENNING SS, SCHAL C, WATSON DW, Vector competence of *Musca domestica* (Diptera : Muscidae) for *Yersinia pseudotuberculosis*, *J. of Med. Entomol.*, 2001, **38**:2, 333-335, *In : Online journal of the Entomological Society of America* [en-ligne], [<http://esa.edoc.com/medical/v38n2/v38n2p333.pdf>], (consulté le 18 Octobre 2003).

ANNEXES

ANNEXE I : Arrêtés relatifs au piégeage des populations animales

SYNTHESE DES ARRETES SUIVANTS

Arrêté du 23 mai 1984 (J.O. des 4 et 5 Juin 1984 - p.4919) modifié par :

- Arrêté du 10 février 1986 (J.O. des 3 et 4 mars 1986 - p.3356)
- Arrêté du 4 août 1988 (J.O. du 24 Août 1988 - p.10744)
- Arrêté du 20 février 1989 (J.O. du 16 mars 1989 - p.3431)
- Arrêté du 31 Juillet 1989 (J.O. du 7-8 août 1989 - p.9963)
- Arrêté du 22 décembre 1994 (J.O. du 8 février 1994 - p.2142-2143)

Article 1 : La régulation par le piégeage, des populations animales en application du 1er alinéa de l'article 393 du Code Rural est soumise aux conditions prévues au présent Arrêté.

CHAPITRE I : CATÉGORIE DES PIÈGES AUTORISÉS

Article 2 : Seul est autorisé, sous réserve des prescriptions particulières qui leur sont applicables, l'emploi des pièges des catégories suivantes :

1. Les boîte à fauves et tous autres pièges ayant pour objet de capturer l'animal par contention dans un espace clos, sans le maintenir directement par une partie de son corps ;
2. Les pièges déclenchés par pression sur une palette ou par enlèvement d'un appât, ou tout autre système de détente, et ayant pour objet de tuer l'animal ;
3. Les collets munis d'un arrêtoir ;
4. Les pièges à lacet déclenchés par pression sur une palette, ou tout autre système de détente, et ayant pour objet de capturer l'animal par une partie de son corps, sans le tuer ;
5. Les pièges rustiques dits assommoirs ;
6. Les piège n'appartenant pas aux catégories précédentes et ayant pour effet d'entraîner la mort de l'animal par noyade.

CHAPITRE II : HOMOLOGATION DE CERTAINS PIÈGES

Article 3 : L'emploi des pièges mentionnés au 2,3,4 et 6 de l'article ci-dessus est subordonnées à l'homologation d'un modèle présenté par le fabricant ou le distributeur.

L'homologation est prononcée par arrêté du Ministre chargé de la chasse, après avis de la Commission visée à l'article 5 ci-après et consultation du Conseil National de la chasse et de la faune sauvage.

Les pièges doivent porter une marque distincte permettant l'identification du modèle.

Le refus d'homologation peut être fondé notamment sur les risques de blessures ou souffrances susceptibles d'être infligées aux animaux.

L'homologation de tout modèle peut être assortie de prescriptions d'emploi particulières fixées par Arrêté Ministériel.

Article 4 : Le retrait de l'homologation de tout modèle peut être prononcé par Arrêté Ministériel, sur le rapport de la commission visée à l'article 5 ci-dessous et après avis du Conseil National de la chasse et de la faune sauvage, en fonction de l'évolution des techniques et de la fréquence et de la gravité des souffrances et blessures infligées aux animaux telles qu'elles sont constatées à l'usage.

Article 5 : Pour l'application des articles 3 et 4 qui précèdent, il est institué auprès du Conseil National de la chasse et de la faune sauvage, une commission d'homologation comprenant :

- Le Directeur de la protection de la Nature, Président,
- Le Directeur de l'Office National de la Chasse,
- Le Directeur de la qualité du ministère de l'agriculture,
- Le Directeur du Centre National d'Études vétérinaires et alimentaires,
- Le Président de l'Assemblée permanente des chambres d'agriculture,
- Douze personnalités qualifiées, désignées par le Ministre chargé de la chasse, dont deux représentants des intérêts cynégétiques, un représentants des associations de pièges, deux représentants des gardes-

chasse privés et de leurs employeurs, trois représentants des association de la protection de la nature ou de la protection animale, deux représentants des fabricants de pièges ou des négociants spécialisés et de deux scientifiques spécialistes de l'étude des prédateurs.

En cas d'empêchement, les membres de la commission peuvent se faire représenter.

Le comité pourra s'adjoindre, sur décision de son Président, toute personne dont la présence à titre d'expert, aurait été jugée nécessaire.

CHAPITRE III : AGRÉMENT DES PIÉGEURS

Article 6 : Toute personne qui utilise des pièges d'une des catégories soumises à l'homologation prévue par l'article 3 du présent Arrêté, ou des assommoirs, doit être agréée à cet effet par le commissaire de la république du département où elle est domiciliée. Cet agrément fait l'objet d'une attestation numérotée et est valable pour l'ensemble du territoire national.

Article 7 : L'agrément visé à l'article 6 ci-dessus est subordonné à la participation du piégeur concerné à une session de formation au piégeage organisée par l'Office National de la Chasse, une Fédération Départementale des Chasseurs ou tout autre organisme habilité à cet effet par le Commissaire de la République du département où se déroule la session.

Les programmes de formation font l'objet de protocoles établis par les organismes qui la dispensent et soumis à l'approbation du Commissaire de la République.

La formation doit comporter au moins seize heures avec la répartition horaire globale suivante :

- Connaissance des espèces recherchées : *quatre heures*,
- Connaissance des différents type de pièges, de leur possibilités et condition d'utilisation : *deux heures*,
- Connaissance des mesures propre à diminuer les souffrances des animaux capturés : *deux heures*,
- Manipulation des Pièges : *quatre heures*,
- Application des connaissances : *quatre heures*

Sont dispensés de l'obligation de participer à une session pour être agréés :

- Les lieutenants de louveterie,
- Les agents assermentés de l'Office National des Forêts,
- Les gardes de l'Office National de la Chasse,
- Les titulaires d'un brevet de technicien agricole, option aménagement de l'espace, spécialité gestion de la faune sauvage ou d'un brevet professionnel agricole option cynégétique, délivrés par le Ministre de l'Agriculture.

Article 8 : Les piégeurs sont tenus de marquer leur piège au numéro qui leur est attribué par le Commissaire de la République. Ils peuvent également utiliser les pièges identifiés par une marque de leurs employeurs ; mention en est faite dans la déclaration prévue à l'article 11 ci-après.

Il n'est pas exigé que la marque soit apparente lorsque le piège est tendu.

Article 9 : Les pièges agréés doivent tenir un relevé quotidien de leur prises sur un registre coté paraphé par le Maire de la commune où ils sont domiciliés.

Ce relevé mentionne, pour chaque journée de piégeage, les communes concernées, le nombre de piège utilisés de chaque catégorie, soumise ou non à l'homologation, ainsi que l'espèce et le nombre de prises.

Ils envoient au préfet avant le premier septembre de chaque année, le bilan annuel de leurs prises au 1^{er} Juillet.

Article 10 : L'agrément est valable pour une durée illimitée. Il peut toutefois être suspendu, par décision motivée du Commissaire de la République, pour une durée n'excédant pas cinq années, au cas où l'intéressé aurait contrevenu à une des dispositions du présent Arrête ou se serait rendu coupable d'une infraction caractérisée aux disposition législatives à la police de la chasse ou à la protection de la nature et après qu'il aura été en mesure de présenter ses observations.

CHAPITRE IV : DÉCLARATION DES OPÉRATIONS DE PIEGEAGE

Article 11 : La pose des pièges, qu'elle que soit leur catégorie, doit faire l'objet, de la part du titulaire du droit de destruction ou de son délégué, d'une déclaration en Mairie, sur papier libre. Cette déclaration est préalable et au moins annuelle.

La déclaration est établie en quatre exemplaires. Elle doit indiquer l'identité et, le cas échéant, le numéro d'agrément des piégeurs, les motifs des destructions projetées, la nature des pièges, les époques de piégeage ainsi que les zones où seront tendus les pièges.

Le Maire contrôle l'exactitude des mentions portées sur la déclaration et en vise chaque exemplaire. Il en remet un au déclarant qui devra le présenter à toute demande des agents chargés de la police de la chasse , il en transmet un au Commissaire de la République, un à la Fédération Départementale des Chasseurs, conserve le quatrième et fait publier la déclaration à l'emplacement réservé aux affichages officiels.

Article 12 : Les déclarants sont tenus de signaler de manière apparente sur les chemins et voies d'accès, les zones dans lesquelles sont tendus des pièges appartenant aux catégories visées au 2 et 5 de l'article 2 ci-dessus.

Article 13 : Abrogé

CHAPITRE V : PRESCRIPTIONS GÉNÉRALES POUR LE PIÈGEAGE

Article 14 : Tous les pièges, qu'elle qu'en soit la catégorie, doivent être visités tous les matin, par le piégeur ou un préposé désigné par lui à cet effet.

Pour les pièges des catégories 3 et 4, cette visite doit intervenir au plus tard dans les deux heures qui suivent le lever du soleil.

La mise à mort des animaux capturés doit intervenir immédiatement et sans souffrances.

En cas de capture accidentelle d'animaux non visés par le 1^{er} alinéa de l'article 393 du code Rural, ces animaux sont relâchés sur le champ.

Article 15 : Les boîtes à fauves et autres engins visés au 1 de l'article 2 ci-dessus peuvent être placés en tous lieux. L'utilisation d'appelants vivants des espèces recherchées est autorisée dans les pièges-cages.

Article 16 :

1. Les pièges de la catégorie 2 ne peuvent être tendus à moins de deux cents mètres au moins des habitations des tiers et à moins de cinquante mètres des routes et chemins ouverts au public.
2. L'utilisation en coulée du piège de catégorie 2 est interdite.
3. Les pièges à oeuf ne peuvent être tendus que de nuit ; ils doivent être détendus ou neutralisés dans les deux heures suivant le lever du soleil. Toutefois, ces dispositions ne s'appliquent pas aux pièges placés en jardinet ou en caisse de telle sorte que l'oeuf ne puisse être visible de l'extérieur.

Article 17 : L'utilisation de collets est subordonnée à une autorisation spéciale délivrée aux piégeurs par le Commissaire de la République après avis de la Fédération Départementale des Chasseurs.

Seul est autorisé l'emploi de collets, de fabrication industrielle ou artisanales, homologués dans les conditions prévues à l'article 3 ci-dessus et destinés à la capture du renard. L'arrêtoir doit être inamovible et disposé de façon à ménager à la boucle une circonférence minimale de vingt et un centimètres pour éviter la strangulation des animaux.

Pour assurer le piégeage sélectif du renard, le collet après mise en place doit présenter une ouverture maximale de vingt centimètres de diamètre, la partie basse de l'engin étant disposé à dix-huit centimètre au moins et à vingt deux centimètres au plus au dessus du niveau du sol.

Article 18 : L'emploi de piège à lacet conçus pour la capture des animaux par la patte, peut être soumis à des prescriptions particulières fixées par l'arrêté d'homologation.

Article 19 : Le Ministre chargé de la chasse fixe par arrêtés pris à la demande du Commissaire de la République, après avis de la Fédération Départementale des Chasseurs, les département ou parties de département où l'utilisation des assommoirs est autorisée. Ces arrêtés peuvent en limiter les conditions d'emploi, sans préjudice des dispositions de l'alinéa suivant :

"L'ouverture dans le sens vertical des assommoirs ne peut dépasser 25 centimètres".

Article 20 : L'attache reliant les collets ou lacets visés aux article 17 et 18 ci-dessus, à un point fixe ou mobile doit comporter au moins un émerillon permettant d'accompagner les mouvements de l'animal capturé, en évitant la torsion du collet ou du lacet.

CHAPITRE VI : DISPOSITIONS DIVERSES

Article 21 : L'utilisation des pièges à loutres, des pièges à poteau ou à mâchoires placés sur poteau ainsi que celle de pièges à feu ou de batterie d'armes à feu est interdite.

Est également interdite l'utilisation des pièges à mâchoires munis de dents ou de crans susceptibles de blesser les animaux capturés vivants.

Article 21 bis : Le piégeage du sanglier est interdit.

Article 22 : Les dispositions des articles 6 à 10 des 1, 2 et 3 de l'article 16 du présent arrêté ne sont pas applicables au piégeage à l'intérieur des bâtiments, cours et jardins, installations d'élevage et, d'une façon générale, aux enclos attenants à l'habitation visée à l'article 366 du Code Rural.

Article 23 : Les dispositions des articles 6 à 10 ne sont pas applicables aux opérations collectives de destruction de rats musqués et des ragondins réalisées dans le cadre des syndicats de lutte contre les ennemis des cultures.

D'après la session de formation de piégeurs agréés par la Fédération Départementale de la Chasse de Charente Maritime (14 et 17 mai 2003)

ANNEXE II : Déclaration de piégeage

DEPARTEMENT de la CHARENTE MARITIME

DECLARATION ANNUELLE de PIEGEAGE

Selon article 11 de l'Arrêté Ministériel du 23 Mai 1984 modifié (police de la chasse)

Je soussigné,

Nom :

Prénom :

Adresse :

Propriétaire Possesseur Fermier Président d'ACCA

Déclare, afin de procéder à la destruction des animaux nuisibles,

PIEGER FAIRE PIEGER

Conformément à l'arrêté Ministériel du 23 Mai 1984 modifié

Sur ma Propriété Sur le territoire de chasse

Sis(e) sur la commune de :

La destruction sera effectuée à l'aide des pièges suivants :

Nombre	Catégorie	Type de piège
	Cat.1	Boîtes et cages pièges, belettières, nasses, mues
	Cat.2	Pièges à oeufs, à appât carné, en X
	Cat.3	Collets avec arrêtoir
	Cat.4	Pièges à lacets
	Cat.6	Pièges destinés à noyer

Les pièges seront tendus aux lieux-dits :

.....

Pour la Période du : Au :

Par Monsieur :

N° d'Agrément de piégeur :

Fait en quatre exemplaires,

A.....le.....



1 exemplaire pour le maire, 1 pour le Déclarant, 1 pour la Préfecture, 1 pour la Fédération des Chasseurs

ANNEXE III : Fiche individuelle d'autopsie

N° autopsie			
Date autopsie			
Date piégeage			
Lieu piégeage			
Espèce			
Sexe			
Age			
Mort		Euthanasié	
Remarques			
ETAT GENERAL		APPAREIL CIRCULATOIRE	
Poids-embonpoint		Cœur	
Malformations/défauts		Vaisseaux	
		Sang	
PEAU, MUQUEUSES, PHANERES		APPAREIL GENITO-URINAIRE	
Peau		Reins	
Narines		Uretères, vessie, urètre	
Yeux		Ovaires/Testicules	
Orifices		Trompes, utérus /	
PHANERES		Epididyme, canal déférent	
TISSU CONJONCTIF		Vagin, vulve / Prostate, pénis	
MUSCLES		ORGANES HEMATOLYMPHOPOIETIQUES	
SEREUSES		Rate	
TUBE DIGESTIF		Thymus	
Cav. buccale, œsophage		Nœuds lymphatiques	
Estomac		GLANDES ENDOCRINES	
Jéjuno-iléon		Thyroïdes et parathyroïdes	
Caecum et côlon		Surrénales	
Rectum		SYSTEME NERVEUX	
Foie		Encéphale	
Pancréas		Moëlle épinière	
APPAREIL RESPIRATOIRE		Nerfs et ganglions nerveux	
Sinus		SQUELETTE ET ARTICULATIONS	
Trachée et bronches			
Poumons		AUTRES	
<u>CONCLUSION ET PRELEVEMENTS EFFECTUES</u>			
Résultat culture <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>			
Résultat sérologie Toxoplasmose			
Résultats sérologie et PCR Leptospirose			
<u>CONCLUSION</u>			

ANNEXE IV : Composition des milieux utilisés pour l'isolement de *Yersinia pseudotuberculosis*

1- TAMPON PBS :

COMPOSITION	(gramme/litre)
Chlorure de sodium	7,65
Phosphate disodique	0,724
Phosphate mono potassique	0,210
pH 7,2	

2- GELOSE SALMONELLA-SHIGELLA :

COMPOSITION	(gramme/litre)
Extrait de viande de bœuf	5,0
Peptone	5,0
Lactose	10,0
Sels biliaires	8,5
Citrate de sodium	10,0
Thiosulfate de sodium	8,5
Citrate ferrique	1,0
Vert brillant	0,00033
Rouge neutre	0,025
Agar	15,0
pH 7,0 ± 0,2	

La gélose SS est un milieu sélectif différentiel pour l'isolement des *Salmonella* et *Shigella*. Les germes Gram+ et les coliformes sont inhibés par le vert brillant, les sels biliaires, le thiosulfate et le citrate. Le thiosulfate combiné au fer constitue également un indicateur de la production d'H₂S, qui se manifeste par un noircissement de centre des colonies.

3- GELOSE HEKTOEN

COMPOSITION	(gramme/litre)
Protéose peptone	12,0
Extrait de levure en poudre	3,0
Lactose	12,0
Saccharose	12,0
Salicine	2,0
Sels biliaires N°3	9,0
Chlorure de sodium	5,0
Thiosulfate de sodium	5,0
Citrate ammoniacal ferrique	1,5
Fuchsine acide	0,1
Bleu de Bromothymol	0,065
Agar	14,0
pH 7,5 ± 0,2	

La gélose Hektoen est un milieu sélectif pour l'isolement des *Salmonella* et *Shigella* dans les échantillons d'origine intestinale. Le taux élevé de peptone compense l'effet inhibiteur des sels biliaires sur les *Shigella* en particulier. L'addition de sucre (saccharose et salicine) donne une meilleure différenciation que le lactose seul, et la faible toxicité des deux indicateurs colorés améliorent la recherche. La quantité accrue de lactose permet une mise en évidence précoce des germes fermentant lentement le lactose. Le thiosulfate et le citrate ferrique permettent de détecter les germes produisant de l'H₂S.

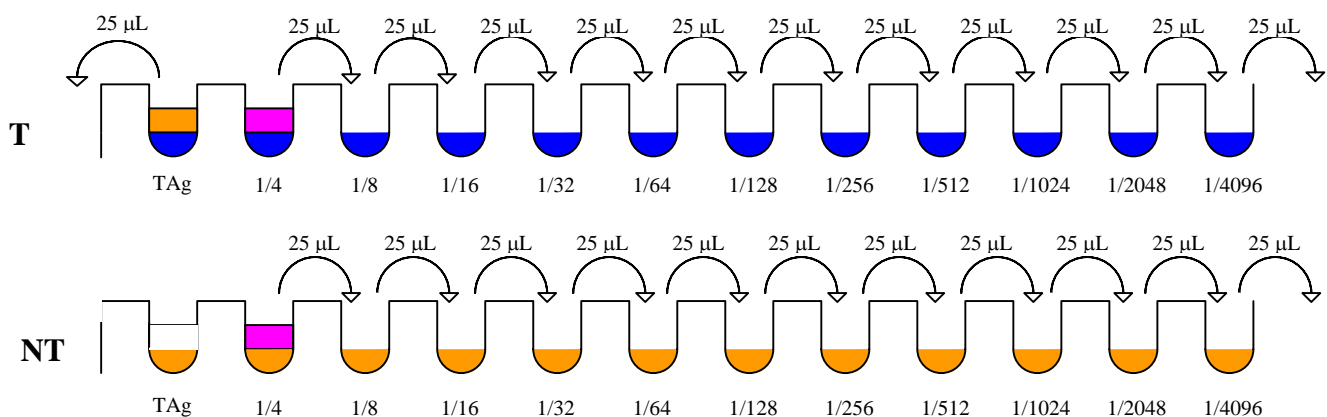
ANNEXE V : Protocole de la réaction d'agglutination directe pour le diagnostic de la toxoplasmose

Réactifs :

- Antigène toxoplasmique Biomérieux
- Tampon BABS coloré (pH 8,95)
- Solution à 0,2mol/L de 2-mercaptoéthanol (2-ME), soit 0,35 mL de 2-ME dilué dans 25 mL de PBS
- Sérum de contrôle positif Biomérieux (lyophilisat repris dans 1 mL d'eau distillée stérile) : T+
- Sérum de contrôle négatif Biomérieux (lyophilisat repris dans 1 mL d'eau distillée stérile) : T-
- Phosphate buffered saline (PBS) de pH 7,2 (lyophilisat repris dans 1 L d'eau distillée stérile)

Protocole :

- 1) Diluer l'antigène au 1/5^{ème} dans du tampon BABS.
- 2) Dans un tube à hémolyse, diluer 50 µL de sérum à tester dans 50 µL de PBS. Procéder de même pour T+ et T-. Les sérums sont donc dilués à 1/2 .
- 3) La réaction d'agglutination directe se fait sur des plaques pour microtitration à fond rond. Pour chaque sérum (et pour T+ et T-) :
 Sur une rangée, mettre 25 µL de PBS dans chaque cupule (rangée non traitée : NT) ;
 Sur la rangée suivante, mettre 25 µL de 2-ME (rangée traitée : T) ;
 Dans la première cupule de la rangée T, mettre 25 µL de PBS ;
 Enlever 25 µL du mélange PBS et 2-ME de la première cupule de la rangée T ;
 Dans la deuxième cupule de chaque rangée, mettre 25 µL de sérum à tester dilué au 1/2 ;
 Pour chaque rangée, à partir de la deuxième cupule, effectuer des passages successifs de 25 µL du mélange, afin d'obtenir des dilutions de raison 1/2 à chaque passage.



Ajouter 25 µL d'antigène dilué dans chaque cupule. La première cupule de chaque rangée est un « témoin antigène », permettant de vérifier que les réactifs n'ont pas été contaminés par des anticorps anti-toxoplasmes.

- 4) Les plaques sont agitées doucement en les tapotant sur la table pendant 5 minutes. Elles sont ensuite laissées à température du laboratoire, et couvertes pour éviter la dessiccation et le dépôt de matériel contaminant. La lecture est faite deux fois : 5 heures, puis 18 heures après la fin de la manipulation.

ANNEXE VI : Plan du Zoo de La Palmyre

FORET DE
ST AUGUSTIN

