

Introduction à la pathologie des animaux de laboratoire

Dr Delphine Grézel (Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon)

Règles générales en matière de médecine des animaux de laboratoire¹

Tableau 1 - démarche logique d'analyse des maladies des animaux de laboratoire

Atteinte individuelle (ou cas réguliers au sein d'un effectif syngénique)	Atteinte collective : apparition simultanée ou régulière sur un lot d'animaux soumis au même problème	Atteinte transmissible : apparition progressive, sur l'ensemble des individus sensibles d'un effectif (épidémie), ou problème persistant dans une collectivité (endémie)
Blessures, Maladies du vieillissement Tumeurs Anomalies génétiques ou congénitales Maladies auto-immunes Maladies métaboliques (souvent polyfactorielles)	Problèmes liés à l'alimentation (intoxications, carences vitaminiques, manque d'eau..) Problèmes liés à un défaut de l'environnement (coup de chaleur, taux d'ammoniac élevé, stress..)	Infections et parasitoses (% morbidité très variable selon les situations) La plupart des maladies infectieuses s'accompagnent de fièvre, et/ou d'inflammation.
La consanguinité des animaux peut augmenter la fréquence de certains troubles : c'est particulièrement le cas des souches murines inbred (maladies dégénératives, métaboliques ou auto-immunes, tumeurs..).		

Pour effectuer un diagnostic, il faut disposer à la fois de données sémiologiques (recueil d'observations cliniques chez les malades, comparaison avec les données de référence disponibles), et commémoratives (faits en rapport probable avec la maladie, comme l'introduction de nouveaux individus ou la sensibilité particulière d'une souche..).

Il est possible d'envisager le traitement des individus malades, infectés ou parasités, à la condition qu'il n'y ait pas d'incompatibilité avec les expérimentations en cours ou futures. Les traitements des animaux de laboratoire se font selon les règles thérapeutiques classiques, bien qu'il soit parfois difficile de trouver le produit adapté, une posologie² et une modalité d'administration fiable³ (absence d'AMM⁴ dans l'espèce, effets indésirables, absence de formulations adaptées aux rongeurs..).

Toutefois, il faut bien garder à l'esprit que le traitement d'une collectivité est toujours plus difficile que le traitement d'un individu isolé. En cas de maladie, il est nécessaire d'évaluer le bien-fondé d'une démarche thérapeutique, par rapport à la décision d'euthanasier les animaux, à la fois sur des critères éthiques et scientifiques. Enfin, il est utile de rappeler que le docteur vétérinaire est seul habilité à l'exercice de la médecine des animaux, à prescrire en dehors d'un protocole expérimental des médicaments à usage restreint (listes 1 et 2), et à effectuer certaines missions de protection de la santé animale et publique définies par le Code Rural (missions définies par le mandat sanitaire octroyé par la DDSV⁵).

À la différence des animaux fermiers et domestiques, les petits animaux de laboratoire ne reçoivent généralement pas de traitements prophylactiques anti-parasitaires ou

1 "Laboratory animal medicine 2nd edition" J.G. Fox et al eds ; 2002, Academic Press ISBN0122639510, 1270p ; "ferrets, rabbits and rodents : clinical medicine and surgery" E.V. Hillyer et al, Saunders 1997, ISBN0721640230, 415p et "Pathology of laboratory rodents & rabbits, 2nd edition" D.H. Percy and S.W. Barthold, 2001, Iowa state Press, ISBN0-8138-2551-2, 315p

2 "Formulary for laboratory animals - 3rd edition" C.T. Hawk and s.L. Leary (eds), 1999, Iowa State University Press, 0813824699, 152 p

3 Il est utile de rappeler ici que l'administration dans l'eau de boisson, séduisante sur le plan pratique, ne garantit pas une bonne efficacité et une bonne sécurité quand la quantité bue par individu n'est pas contrôlée ou que le produit est instable.

4 Autorisation de Mise sur le Marché

5 Direction Départementale des Services Vétérinaires

anti-infectieux. La raison en est surtout la crainte d'interférence expérimentale: c'est donc à l'expérimentateur de définir si ces moyens peuvent être employés (anti-parasitaires..). En l'absence de prophylaxie médicale, la seule prévention repose sur le confinement des animaleries, la détection et l'isolement très rapide des animaux suspects.

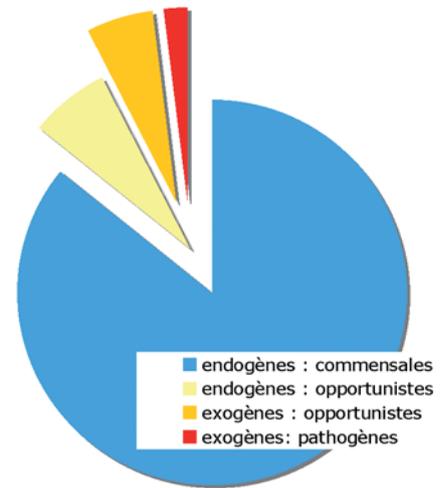
Des contraintes sanitaires particulières peuvent être imposées par les statuts des animaux (immunodépression, fragilité liée au protocole, reproducteurs..), ou par les exigences expérimentales (absence de réactions croisées ou d'interférences immunes..).

Infectiologie générale

Un individu normal héberge une multitude de bactéries, fungi et protozoaires "résidents" qui colonisent la peau et une grande partie des muqueuses, et sont saprophytes ou symbiontes : ces micro-organismes constituent la flore **commensale de la peau et des muqueuses** qui vit en équilibre avec l'hôte (leur présence est neutre, ou bénéfique pour l'individu par exemple en contribuant à la digestion ou à la protection des muqueuses). Les muqueuses colonisées (septiques) sont les muqueuses digestives, la sphère ORL et la conjonctive oculaire, les voies génitales et urinaires basses. De nombreuses barrières naturelles contrôlent ces germes commensaux pour qu'ils n'aillent pas plus loin vers les muqueuses aseptiques (poumons, utérus, vessie et reins..) et les organes profonds.

Un grand nombre de bactéries gram+ sont des commensales de la peau et des voies respiratoires hautes (staphylocoques coagulase-, streptocoques α -hémolytiques, corynebactéries.). L'intestin (ou les pré-estomacs chez les ruminants) et les voies génitales basses hébergent des milliards de bactéries commensales, généralement anaérobies, qui ne survivent pas hors de l'hôte (lactobacilles, bifidobactéries, entérobactéries..). L'individu est aussi exposé à de nombreuses bactéries présentes dans son environnement (terre et eaux de baignade, aliments, contact avec d'autres espèces..) et qui ne font que transiter sans s'implanter (clostridies..). Certaines de ces bactéries, normalement ou accidentellement présentes dans l'organisme, sont dites **opportunistes** : elles occasionnent des infections, lorsque, pour une raison ou une autre, elles franchissent les barrières naturelles et ne sont plus en équilibre avec leur hôte (inoculation traumatique dans un territoire normalement aseptique..)⁶.

Figure 1 - modalités d'infections



En revanche, un petit nombre d'espèces microbiennes, dites **pathogènes**, ont développé des capacités d'invasion et vivent aux dépens de l'hôte. Ces micro-organismes sont capables d'envahir les muqueuses et les tissus profonds, de produire des toxines et des enzymes, voire même d'entrer dans les cellules dont ils perturbent alors le fonctionnement (virus, bactéries et protozoaires intracellulaires). L'infection intracellulaire est une obligation pour les virus, qui détournent la machinerie cellulaire pour assurer leur multiplication et provoquent des lésions cellulaires. L'organisme doit alors combattre l'invasion et ses effets grâce à ses défenses immunes.

Les **parasites** sont des organismes qui sont obligatoirement tributaires pour leur développement d'un hôte. Leur monde est tellement complexe qu'on y trouve à la fois des organismes unicellulaires (protozoaires) et métazoaires (helminthes, acariens, insectes..) ; leur caractéristique commune est de présenter des formes sexuées et un développement par étapes successives, ceci dans un hôte (parasites monoxènes) ou plusieurs (parasites dixènes ou trixènes).

Placer un micro-organisme ou un parasite dans la classification permet d'identifier rapidement ses principales propriétés structurales et biologiques⁷.

Tropisme d'espèce, barrière d'espèce et zoonoses

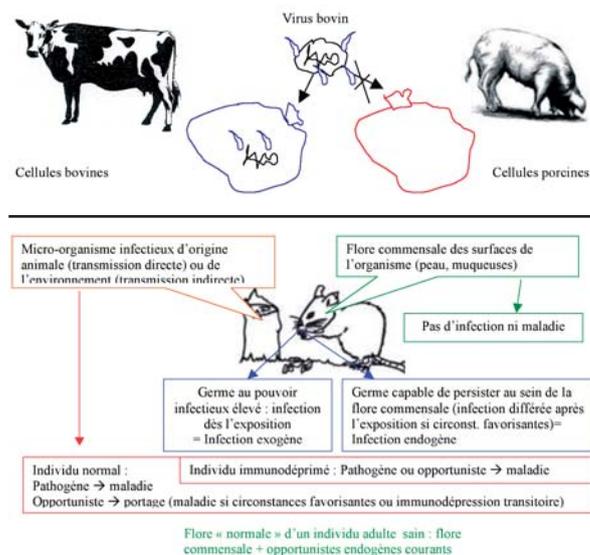
La plupart des agents infectieux et des parasites sont inféodés à une seule espèce hôte, dans laquelle ils établissent une infection fructueuse (!). Cela s'explique par des considérations épidémiologiques (biotope commun entre l'espèce hôte et le micro-organisme, modalités de transmission ciblées..), mais aussi par des

⁶ "Eléments de Microbiologie et d'immunologie" JP Regnault, 2002 (Decarie) ISBN 2-89137-098-8

⁷ <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/nomstaxons.html> , http://www.virology.net/Big_Virology/BVHomePage.html , http://www.vet-lyon.fr/ens/expa/guidelines/microbio_statuts.htm

considérations physiologiques et moléculaires (récepteurs du micro-organisme reconnaissant les portes d'entrée tissulaires ou cellulaires de l'hôte, enzymes du micro-organisme adaptées aux tissus de l'hôte, nature des barrières naturelles comme le pH gastrique, capacités de réponse immunes..).

La **spécificité d'espèce**, pour un hôte donné, est d'autant plus stricte que le micro-organisme est dépendant de facteurs protéiques, comme des récepteurs d'entrée dans les cellules (HIV/CD4), ou des enzymes (Haemophilus /facteur V de coagulation..). Généralement, les genres microbiens s'adaptent à différentes espèces hôtes en "créant" des espèces ou des souches qui présentent des propriétés similaires, mais qui se distinguent par de légères variations structurales et physiologiques et par une spécificité d'hôte plus ou moins stricte (parvovirus du rat, du chien, de la souris..). **Un grand nombre de bactéries opportunistes n'ont pas de préférence établie pour une espèce, et s'adaptent dans de nombreux hôtes une fois les barrières immunes levées.**



De nombreux parasites et micro-organismes sont tributaires de plusieurs espèces:

- les parasites dixènes ou trixènes passent dans 2 ou 3 hôtes successifs pour accomplir leur cycle biologique. L'absence d'une espèce rompt la transmission (d'où l'importance de la séparation des espèces en animalerie, et de la lutte contre les insectes et rongeurs sauvages..). On parle d'hôte définitif pour l'espèce qui héberge la reproduction sexuée du parasite, et d'hôte(s) intermédiaire(s) pour l'espèce(s) qui héberge(nt) la multiplication asexuée.

- certains micro-organismes utilisent des vecteurs vivants comme des insectes ou des tiques pour passer d'un hôte à l'autre (arboviroses, rickettsies..). Leur survie et leur transmission est limitée hors de ces vecteurs.

Le passage des parasites et agents pathogènes spécifiques à d'autres espèces, lors d'une

exposition naturelle, est généralement infructueux (infection abortive) ou au contraire, responsable d'une inflammation sévère (signant un rejet plus ou moins efficace) : On parle alors de **barrière d'espèce**. Cette barrière d'espèce n'est pas absolue, car des conditions favorisantes épidémiologiques (regroupement d'espèces..), ou accidentelles (inoculation profonde par piqure ou morsure), peuvent aboutir à l'infection et même à une adaptation du germe.

Les proximités phylogénétiques entre les rongeurs expliquent que la barrière d'espèce est peu efficace et que des contaminations interspécifiques sont souvent possibles (infections pérennes, ou transitoires et rapidement éliminées).

Les **zoonoses** sont des infections qui atteignent, naturellement, plusieurs espèces. Au sens strict, il faut parler d'anthropozoonoses pour les infections qui touchent l'homme et l'animal, mais le langage courant ne fait pas cette distinction.

Physiopathologie des infections

On distingue classiquement des germes **pathogènes** (causant une maladie chez l'animal normal, tout au moins lors d'un premier contact), des germes **opportunistes** (causant une maladie chez l'animal immunodéprimé mais contrôlés par la réponse immunitaire d'un individu normal), et des germes **commensaux** (ne causant pas de maladie bien que leur habitat naturel soit la peau ou les muqueuses septiques).

On explique que les germes commensaux sont contrôlés par l'immunité innée (ils ne franchissent pas les muqueuses ni la peau), tandis que les germes opportunistes sont arrêtés par l'immunité spécifique (ils peuvent éventuellement pénétrer les tissus et causer des réactions inflammatoires). Il faut noter aussi que certaines infections (infections nosocomiales..) sont dues à des germes dont le pouvoir infectieux ou pathogène est faible dans les situations naturelles, mais se manifeste en cas de facteurs favorisants comme l'utilisation de dispositifs médicaux invasifs (sondes..). Il apparaît ainsi utile de différencier les micro-organismes selon qu'ils sont fréquemment retrouvés dans la flore microbienne d'individus normaux ("**infections endogènes**" favorisées par des circonstances provoquant l'invasion tissulaire du germe), ou qu'ils en sont normalement absents ("**infections exogènes**" favorisées par des circonstances d'exposition ou d'inoculation).

Il existe une très grande diversité dans la physiopathologie des infections, qu'on peut décrire selon les critères suivants :

- Nature des lésions, selon que l'agent infectieux est capable de détruire des cellules et des tissus (foyers de nécrose, lésions

hémorragiques), de provoquer un dysfonctionnement organique (toux, diarrhée..), ou une atteinte générale (fièvre, choc endotoxinique..). On parle de **bactéries pyogènes** lorsqu'il y a formation de pus, abcès (réaction antibactérienne inefficace)... On parle d'infections granulomateuses quand les cellules immunes s'accumulent autour des germes en infiltrant les tissus.

- Tropisme tissulaire de l'infection (organes et tissus atteints). De nombreux germes ont une "porte d'entrée" (muqueuse, plaie, inoculation..) différente de leur organe cible, et se disséminent dans l'organisme par différentes voies (sanguine, lymphatique, nerveuse..). Les sites de multiplication conditionnent les voies de transmission (aérosols, voie oro-fécale, urinaire, sexuelle, passage lacté et/ou placentaire..). De nombreux micro-organismes sont excrétés dès la phase de multiplication à la porte d'entrée (la contagion débute donc durant l'incubation, avant même l'apparition des symptômes ; l'intensité de l'excrétion est maximale durant la phase d'état).

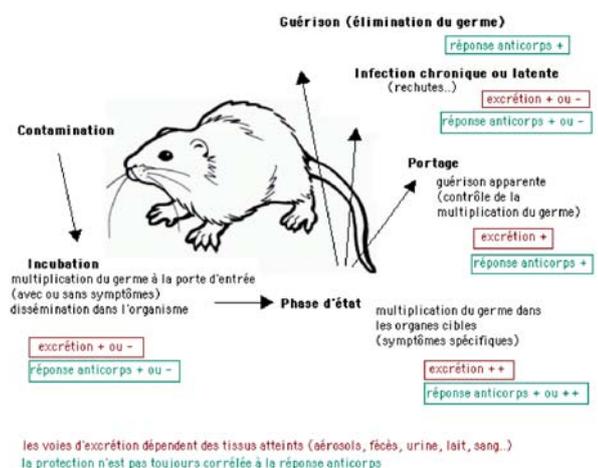
- Durée de l'infection (aiguës ou chroniques). Les variations de durée concernent aussi bien l'incubation (généralement 7 jours, variant selon les micro-organismes de 12h à 12 mois !), que la phase d'état, et la phase d'excrétion (durée pendant laquelle l'individu est contagieux : généralement 20 jours, variant de 7 jours à la vie complète de l'animal). La plupart des infections sont **résolutives** (c'est à dire que l'immunité aboutit à l'élimination en quelques semaines du germe). Certains agents ne sont jamais complètement éliminés et persistent après la guérison clinique dans un état d'équilibre avec l'hôte = **portage asymptomatique post-infectieux** (herpesviroses, rétroviroses, la majorité des parasitoses, un grand nombre d'infections bactériennes). En pratique, bien qu'il s'agit de processus différents, on confond portage sain des germes opportunistes (au sein de la flore), période d'incubation (difficultés de détection d'une infection débutante), et portage asymptomatique des germes pathogènes (multiplication contrôlée dans les tissus cibles chez un individu immun).

- Sévérité de l'infection (bénignes ou sévères), en fonction de la virulence intrinsèque de l'agent (production de toxines protéiques ou d'endotoxines, présence d'une capsule ou d'hémagglutinines..), et de l'ampleur du rejet (fièvre, inflammation, granulomes..). Les infections bénignes sont rejetées sans symptômes majeurs en quelques jours. Certaines bactéries ne provoquent une infection sévère

que lors de circonstances favorisantes, alors que de nombreux animaux en sont des porteurs sains au niveau des muqueuses digestives ou respiratoires dans des circonstances normales (fièvres liées au transport dues à *Mannheimia haemolytica* chez les ruminants, pasteurelloses⁸ du lapin en cas de stress, infections par des Clostridies ou des Corynebactéries..). On parlera de **maladies subcliniques** pour caractériser des infections pour lesquelles les anomalies et les lésions sont décelées à l'autopsie en absence de signes cliniques manifestes.

Chez les animaux de laboratoire⁹, et en particulier chez les rongeurs, les définitions des pathogènes et opportunistes sont dépassées par la très grande variabilité d'expression des maladies en fonction des caractéristiques génétiques et immunologiques des souches considérées. On distinguera donc le degré d'infectiosité (capacité à franchir les barrières naturelles et à envahir les tissus), de pathogénicité (morbidity dans une population normale ou immunodéprimée) et de spécificité (espèce microbienne adaptée au rongeur ou contamination à partir d'une autre espèce comme l'homme).

Figure 2 - étapes d'une infection et modalités d'évolution : phases cliniques, phases d'excrétion, dynamique de la réponse immune.



La réponse immune à l'infection est constituée d'un ensemble complexe de mécanismes dirigés contre le germe (inflammation, phagocytose, immunité cellulaire, anticorps neutralisants..). La réponse non spécifique initiale est destinée à retarder et bloquer l'invasion tissulaire, mais elle s'accompagne de manifestations cliniques (éternuements, toux, diarrhée, fièvre, inflammation..). La réponse spécifique est organisée grâce à la stimulation des lymphocytes T et B par des antigènes microbiens propres à chaque micro-organisme lors de l'infection. La

8 "Pasteurelloses du lapin : revue" M. Kpodékon, P. Rideaud, P. Coudert Revue de Médecine Vétérinaire, 1999 (150/3) : 221-232 <http://www.tours.inra.fr/urbase/internet/resultats/articles/pasteurellose.htm>

9 "Handbook of laboratory animal bacteriology" AK Hansen, 2000, CRC Press, ISBN0-8493-2913-2, 255 p

réponse anticorps spécifique est le versant de l'immunité le plus facile à étudier (recherche de la séropositivité), mais pas forcément le plus efficace contre le germe en cause.

L'acquisition d'une mémoire immune à long terme élimine plus ou moins l'infection et protège plus ou moins efficacement contre des réexpositions ultérieures (selon que la réponse immune produite est capable de bloquer l'invasion, la dissémination, ou les symptômes de l'infection). Ainsi des individus infectés pourront soit éliminer l'infection soit rester porteurs asymptomatiques, selon l'efficacité de la réponse immune (toute baisse de l'immunité pouvant entraîner une reprise des symptômes ou de l'excrétion en cas de portage). La dynamique d'infection est différente chez des individus " naïfs " (absence de réponse immune protectrice) et des individus " immuns " (présence d'une réponse immune procurée par un premier contact avec le germe ou par une vaccination). Les jeunes individus sont protégés pendant près de 3 mois par des anticorps apportés par le colostrum (dans la mesure où la mère est immune), et sont donc séropositifs. Les rongeurs restent fréquemment séropositifs leur vie durant après une contamination (seule une mesure quantitative de la réponse anticorps peut indiquer l'élimination de l'infection).

Le délai nécessaire à l'établissement d'une immunité protectrice, mais aussi les capacités d'échappement de certains micro-organismes, expliquent en grande partie les modalités d'évolution propres à chaque infection.

L'infection de femelles gestantes peut provoquer l'avortement, soit parce que les germes atteignent le placenta et le fœtus, soit parce que l'atteinte générale (et en particulier la fièvre) altère la physiologie de la gestation. Les mammites et autres infections des femelles allaitantes sont graves parce que 1° la production de lait chute (mortalité des jeunes par sous-nutrition), 2° les germes peuvent être transmis par le lait aux jeunes (septicémie streptococcique du nouveau-né en cas de mammite streptococcique de la femelle..).

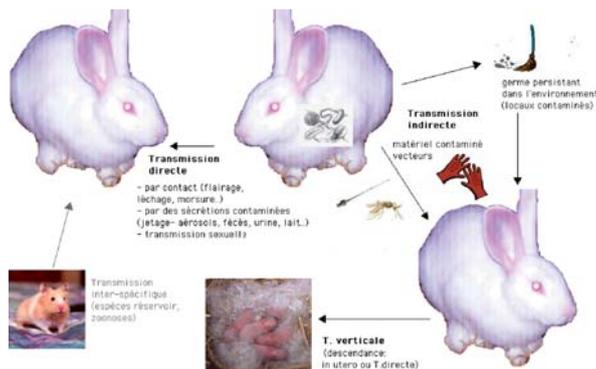
Certaines infections sont asymptomatiques chez l'adulte (séropositifs et cliniquement sains), mais sont responsables de troubles de la reproduction (diminution de la fertilité, mortalité embryonnaire et néonatale). Certains agents infectieux ne sont pathogènes que sur une partie de la population : animaux reproducteurs, nouveaux nés (surtout si les mères n'ont pas développé une immunité protectrice avant la gestation), individus immunodéprimés. La coexistence d'individus normaux porteurs sains est alors impossible avec les individus plus fragiles.

Epidémiologie

Les maladies infectieuses ont la particularité d'être transmissibles, mais le degré de transmission est très variable selon les agents en cause (nombre de microorganismes produits au cours de l'infection, voies d'excrétion..). De façon générale, la contagion des infections virales et parasitaires est beaucoup plus élevée que celle des infections bactériennes, mais il n'y a pas de règle univoque. La transmission la plus importante concerne les microorganismes libérés dans les fécès, l'urine ou des aérosols (toux, éternuement).

La prévalence et la morbidité sont très variables (prévalence dans une colonie infectée : <10% CAR Bacillus ; 30% MHV ; >70% : Sendai virus, acariens, oxyures..). Il ne faut pas confondre la prévalence réelle (% individus hébergeant effectivement le parasite ou le microorganisme) et la prévalence sérologique (% d'individus séropositifs, porteurs ou ayant été infectés mais ayant éliminé l'infection : elle peut atteindre 60-100% dans le semestre qui suit un épisode infectieux).

Figure 4 - modalités de la transmission.



La majorité de la transmission s'effectue de façon **directe (=contagion)**, par contact entre des individus infectés (même durant l'incubation) et des individus sensibles. L'isolement des animaux, et l'élimination de tous les excréta, restent les mesures les plus efficaces pour limiter la contagion. Selon la durée et l'intensité de l'excrétion, on distinguera des infections très contagieuses (Sendai virus, parvovirus..) et des infections peu contagieuses (CAR Bacillus, TMEV, reovirus type 3). Selon la viabilité de l'agent infectieux, le contact nécessaire à la contagion doit être "appuyé" (contact physique, morsure..) ou "léger" (léchage d'urine ou de fécès, transmission par des aérosols dans un rayon de quelques mètres, déplacement autonome des parasites..).

La transmission directe par voie sexuelle expose à des risques particuliers de dissémination (transmission à distance lors d'insémination artificielle par une semence contaminée).

Une modalité de la transmission directe est la transmission **verticale**, entre des géniteurs et leurs portées (la mère est plus souvent la source de la contagion). La faiblesse des contaminations in utero a permis d'établir les principes actuels de dérivation chez les rongeurs, par hystérectomie aseptique ou par transplantation embryonnaire (très peu de germes infectent les ovules, le sperme et les embryons après les techniques de décontamination effectuées in vitro). Certains agents infectieux sont capables de passer la barrière utérine (mycoplasmes, Herpesvirus, LCMV, LDHV.), ou de se réactiver au moment de la gestation (*Ascaris*, *Toxocara*..).

Parmi les risques de contagion directe, il est nécessaire d'évoquer les contaminations interspécifiques, et en particulier d'origine humaine : de nombreuses bactéries dont l'homme est un porteur fréquent, en particulier *Staphylococcus aureus*, peuvent également infecter les rongeurs, surtout quand ceux ci présentent des microlésions cutanées (surinfection des ectoparasitoses..) ou une immunodépression.

Tableau 2 - Argument de commutateur inconnu. terminologie et exemples

Incidence	Nombre d'individus infectés (ou malades) durant un intervalle de temps donné
Morbidité	Pourcentage d'individus exposés qui développent une maladie dans une collectivité
Prévalence	Pourcentage d'individus exposés qui sont infectés (malades, individus en incubation ou porteurs sains)
Portage	Infection persistante non symptomatique (l'immunité est suffisante pour contrôler la virulence et enrayer la multiplication de l'agent infectieux, mais pas pour éliminer l'infection).
Epidémie (Epizootie)	Apparition dans un effectif donné d'un nombre élevé et simultané de cas d'infection (ou de maladie), suivie d'un retour à la normale (l'introduction dans l'effectif de nouveaux individus sensibles ne permet pas ce retour à la normale).
Endémie (Enzootie)	Persistance faible mais constante de cas d'infection (ou de maladie) dans un effectif donné. L'introduction de nouveaux individus sensibles et la présence de porteurs asymptomatiques sont des facteurs favorisant l'endémie.
Transmission directe (contagion)	Transmission de l'infection entre individus présents simultanément dans un même local, par contact entre individus, et suite à la présence d'agents infectieux dans les excréta frais (aérosols, fécès, urine, salive, lait..).
Transmission verticale	Transmission directe de l'infection des géniteurs à la descendance : a) in utero ou par contamination des semences, b) au moment de la mise-bas, c) par transmission directe entre la mère et la portée (lait, léchage..).
Transmission indirecte	Transmission de l'infection à distance ou entre individus non présents simultanément, en raison a) de la persistance -voire de la multiplication- de l'agent infectieux dans l'environnement, b) de la dissémination de l'agent infectieux par l'intermédiaire de vecteurs vivants (arthropodes..), ou inanimés (matériels et litières contaminés..).

Certains agents infectieux et parasites sont également capables d'une transmission **indirecte**, en l'absence des animaux contagieux, en raison de la persistance de formes résistantes dans les locaux et sur les matériaux exposés. A l'extrême, de nombreux parasites ne sont pas capables de transmission directe naturelle, car des étapes du développement doivent nécessairement se faire dans l'environnement ou au sein d'autres espèces animales (paludisme..).

La plupart des bactéries et virus survivent plusieurs jours dans l'environnement. La transmission indirecte peut persister de quelques jours à quelques semaines, voire plusieurs mois pour les microorganismes les plus résistants, comme les parvovirus et les œufs d'oxyures, et même plusieurs années pour les spores bactériennes ! Des **vecteurs vivants ou inanimés** peuvent également transporter l'infection à distance (matériels, effluents, insectes, tiques...). On parle **d'espèce réservoir** pour une espèce qui héberge et transmet facilement l'infection, sans être malade (infection toujours asymptomatique).

Les pratiques zootechniques modifient considérablement l'épidémiologie (utilisation de cages à couvercle filtrant, désinfection quotidienne, vide sanitaire..)¹⁰. L'homme joue un rôle non négligeable dans la transmission, d'où l'importance d'une politique de circulation des personnels et des matériels. Bien évidemment une politique de désinfection et de lutte vectorielle poussée est nécessaire pour venir à bout de la transmission indirecte.

Gestion sanitaire des animaleries

Au delà des obligations minimales concernant la santé apparente des animaux et le respect de règles d'hygiène, le responsable d'une animalerie se doit de définir et de faire appliquer une stratégie visant à minimiser le risque infectieux et parasitaire. Plusieurs aspects doivent être envisagés, en fonction des espèces hébergées, afin de déterminer la liste des agents qui doivent être contrôlés et les moyens nécessaires (modalités de quarantaine et de dépistage..).

Agents de maladies animales

Un grand nombre de maladies animales transmissibles sont soumises à un contrôle réglementaire, en raison de leur gravité médicale ou économique :

10 "Transmission of murine viruses and mycoplasma in laboratory mouse colonies with respect to housing conditions." FR. Homberger et PE. Thomann, Lab Anim. 1994, 28(2):113-20.

- Surveillance sanitaire des animaux domestiques et fermiers : toute suspicion d'une maladie figurant sur les listes du Code Rural ("MRC")¹¹ fait l'objet d'une déclaration obligatoire aux Services Vétérinaires Départementaux, directement ou par l'intermédiaire du vétérinaire sanitaire. Certaines maladies animales sont soumises à un dépistage obligatoire dans les élevages et à des mesures de police sanitaire (réglementation de la vaccination et du devenir des animaux atteints ou exposés, durées d'isolement de l'élevage en cas d'infection...)

- Contrôle sanitaire à l'importation d'animaux domestiques ou sauvages en provenance de pays tiers, et mesures particulières aux animaux de laboratoire (arrêté du 19 juillet 2002¹²). Le contrôle d'un certain nombre de parasites et micro-organismes est requis, y compris pour les rongeurs de laboratoire. Les visites et documents doivent être visés par un vétérinaire officiel (DDSV¹³). Des mesures similaires sont demandées pour l'exportation vers les pays tiers.

- Certification des animaux en déplacement d'un pays à l'autre au sein de la Communauté Européenne : les animaux doivent être accompagnés dans tous leurs trajets de documents d'accompagnement établis par le vétérinaire sanitaire (vétérinaire titulaire d'un mandat auprès de la DDSV).

- Règles sanitaires concernant les transactions, regroupements et déplacements d'animaux en France (Code Rural): absence de maladies (ou vaccination obligatoire pour certaines infections, comme la grippe équine) chez les animaux mis en vente, exposés au public, ou participant à des concours.. Certaines maladies peuvent entraîner un recours en nullité de la vente (animal malade ou en incubation au moment de la vente).

La mise en place de ces mesures repose sur l'identification individuelle des animaux (sauf les petites espèces où l'identification se fait par lot), et sur la traçabilité des transports et des transactions. Les modalités du contrôle sont diverses : surveillance clinique, quarantaine, examens biologiques (sérologie..) et établissement de certificats sanitaires officiels.

La plupart des maladies touchant les animaux de laboratoire ont été décrites et identifiées dans les années 1960-1970, période durant laquelle des animaleries ont été décimées par des agents plus ou moins pathogènes, aggravés par de fréquentes mauvaises conditions d'hygiène et d'hébergement (cages en bois, stress...). Ces maladies n'ont plus une morbidité aussi importante actuellement, mais les expérimentateurs deviennent malgré tout plus exigeants, car les animaux sont aussi plus fragiles (animaux transgéniques, immunodéprimés..) et les exigences expérimentales plus contraignantes (BPL..)¹⁴.

De bonnes pratiques d'élevage permettent de réduire considérablement la pression d'infection dans les animaleries :

- Contrôle à l'entrée des animaux (quarantaine, exigences sanitaires imposées aux fournisseurs..) ; séparation des espèces (limite le portage inapparent par des espèces réservoir).

- Lutte contre les vecteurs (insectes et rongeurs sauvages). La présence d'insectes et de rongeurs sauvages dans l'environnement proche des animaleries et des stocks est souvent sous-estimée (on considère généralement que les villes renferment autant de rongeurs que d'humains, voire plus¹⁵). La lutte passe par des mesures défensives (seuils de porte, moustiquaires..) et offensives (pièges..).

- Cloisonnement des animaux en fonction des statuts (isoler les animaux reproducteurs, effectuer un dépistage..).

- Cloisonnement des animaux en fonction des besoins expérimentaux.

Agents d'anthropozoonoses

Par rapport à d'autres risques professionnels (allergies..), le risque zoonotique doit être relativisé étant donné la qualité actuelle du suivi sanitaire des animaux d'élevage. Néanmoins, la transmission d'infections de l'animal à l'homme peut survenir dans 2 circonstances :

- L'exposition humaine à des animaux naturellement porteurs de germes pathogènes pour l'homme. L'évaluation des risques biologiques est une obligation du Code de

¹¹ La réglementation des maladies animales transmissibles est établie a) au niveau international par Office International des Epizooties : <http://www.oie.org> (l'OIE liste des maladies animales qui font l'objet d'un contrôle dans tous les pays membres et de déclaration en cas de foyers), et b) au niveau national. Les maladies animales qui font l'objet d'une surveillance sur le territoire français (agents de zoonoses ou maladies sévères du bétail) sont listées dans le Code Rural ("Maladies Réputées Contagieuses" et "maladies animales à Déclaration obligatoire") : [http://www.vet-alfort.fr/envs/](http://www.vet-alfort.fr/envs;)
<http://www.admi.net/jo/20020802/AGRG0201612A.html>

¹² <http://www.cnrs.fr/SDV/Dept/arrete190702.html>

¹³ Direction Départementale des Services vétérinaires

¹⁴ "Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research" D.G. Baker, Clin Microbiol Rev. 1998, 11(2):231-66 et "Diagnostic microbiology for laboratory animals", I. Kunstner ed, 1992, GV-SOLAS volume 11, Gustav Fischer Verlag ASIN : 3437306928

¹⁵ "Mouse populations and their control in New York City" Ranjan Advani, 1995 in International Biodeterioration & Biodegradation, 36/1-2, p 135-141

Travail qui incombe à l'employeur, et des mesures de prévention adéquates doivent être prises dans tous les domaines professionnels s'exerçant au contact des animaux (dépistage, tenues de protection..)¹⁶. Le contrôle obligatoire de plusieurs zoonoses est inclus dans les règles décrites ci-dessus pour les maladies transmissibles animales (§3.1, Code Rural, arrêté du 19 juillet 2002..). De nombreux agents de zoonoses sont décrits dans les publications spécialisées, mais le risque peut être très variable en fonction de la distribution géographique, de l'origine des animaux, et des conditions d'exposition (les tableaux de cet aide-mémoire ne sont pas exhaustifs)¹⁷. Il faut rester très attentif au risque de portage d'agents zoonotiques par

des animaux hébergés à l'extérieur ou d'origine sauvage (rongeurs et lagomorphes sauvages, primates non humains.).

- La manipulation délibérée à des fins scientifiques de micro-organismes pathogènes pour l'homme^{18,19} (modèles animaux infectés). Certains germes peu pathogènes en situation naturelle peuvent voir augmenter leur pouvoir pathogène dans les conditions du laboratoire et sont donc soumis à un confinement de sécurité (A2-A4). Des risques similaires peuvent survenir lors de manipulation d'OGM susceptibles de provoquer des infections chez l'homme ou les animaux (le classement et le bioconfinement des OGM est défini au cas par cas par la Commission de Génie Génétique²⁰).

Tableau 3 - principales anthroozoonoses transmises au contact des animaux de laboratoire (d'après Dennis²¹ et ^{22, 23})

Nombreuses espèces	Tous Mammifères : Rage (probabilité d'infection des animaux de laboratoire très faible : animaux de capture ou animaux exposés au contact avec des animaux sauvages)	
	<i>Salmonella</i> (tous Vertébrés), <i>Campylobacter</i> (tous mammifères), <i>Pasteurella multocida</i> (souches pathogènes des mammifères), Mycobactéries pathogènes (tous mammifères)	
	Tous Mammifères : Teignes (<i>Microsporium</i> et <i>Trichophyton</i>)	
Primates non humains	Herpesvirus (herpes B virus)	maladie sévère chez l'homme, mais infection bénigne et difficile à dépister chez les primates (macaques)
	Filovirus	Risque variable selon l'espèce de primates, l'origine géographique et les conditions d'élevage
	Poxvirus (monkeypox)	
	Retrovirus (SIV, STLV)	
	Autres virus : Rage, hépatite, SV40..	
	Bactéries : <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Shigella</i> , <i>Yersinia</i> , <i>Leptospira</i>	
Parasites et fungi : <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Oesophagostomum</i>		
Lapins	<i>Francisella tularensis</i> , <i>Encephalitozoon cuniculi</i> (infections rares)	
Rongeurs	LCMV	Infections fréquentes des rongeurs sauvages, exceptionnelles chez les rongeurs de laboratoire
	Hantavirus	Infections possibles des rongeurs sauvages
	Bactéries : <i>Leptospira</i> , <i>Streptobacillus moniliformis</i> , <i>Yersinia</i> , <i>Spirillum minus</i> , <i>Pseudomonas pseudomallei</i>	
Carnivores	Bactéries : <i>Leptospira</i> , <i>Bartonella henselae</i> (chat), <i>Pasteurella multocida</i>	Risque variable selon les conditions d'élevage
	Parasites et fungi : <i>Echinococcus</i> , <i>Toxocara</i> , <i>Toxoplasma gondii</i> (chat)	
Ruminants	Virus : Orf virus	
	Bactéries : <i>Brucella</i> , <i>Coxiella burnetti</i> , <i>Chlamydia</i>	
Oiseaux	Virus : Virus de Newcastle, influenza aviaire hautement pathogène	
	Bactéries : <i>Chlamydophila psittaci</i>	
Certains agents pathogènes pour l'homme peuvent être transmis de l'homme porteur aux animaux de laboratoire, en particulier aux rongeurs et primates, surtout s'ils sont immunodéprimés	Virus	Primates : rougeole, hépatites, varicelle, LCMV Rongeurs : LCMV
	Bactéries	<i>Staphylococcus aureus</i> , Mycobactéries, <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> .
Les animaux "conventionnels" sont des porteurs fréquents de germes opportunistes qui sont susceptibles d'infecter des personnes immunodéprimées ²⁴ .		

Agents d'interférences expérimentales

Il existe de nombreux compte-rendus, articles et sites internet²⁵ traitant des interférences expérimentales dues aux infections, conduisant à une gestion sanitaire de plus en plus drastique des unités d'expérimentation... Il faut tout de même rappeler que l'infection asymptomatique d'une population adulte normale n'est pas obligatoirement rédhibitoire, et que les exigences des microbiologistes et des toxicologues ne sont pas forcément celles des chirurgiens ou des éthologues!

Il appartient donc à l'expérimentateur de définir les agents qui peuvent affecter ses protocoles expérimentaux, même en l'absence de maladie déclarée (infections asymptomatiques mais responsables d'anomalies histologiques..). Il peut pour cela s'appuyer sur les recommandations publiées (FELASA²⁶..), mais également sur sa propre analyse de la situation et des risques acceptables, et enfin sur les standards nécessaires pour procéder sans risque à des échanges d'animaux entre animaleries (utilisation de plate-

formes techniques, échanges d'animaux transgéniques..).

Tous les agents infectieux pathogènes ou opportunistes, mais également certains commensaux, peuvent influencer des protocoles expérimentaux. Le principal biais est **l'augmentation de la variabilité** entre les animaux (tous les animaux n'étant pas infectés de façon homogène dans une collectivité).

Il existe ensuite une multitude d'effets des microorganismes selon leur distribution, leur physiologie et les réactions immunes qu'ils suscitent. Par exemple :

- La plupart des agents infectieux créent chez l'adulte normal des infections asymptomatiques (pas de symptômes, peu ou pas de lésions macroscopiques), ou subcliniques (peu de symptômes, lésions macroscopiques) : ces infections fragilisent néanmoins les animaux. Par exemple, des infections respiratoires subcliniques peuvent provoquer des cas de mortalité à l'anesthésie.

- Certains agents infectieux ne provoquent quasiment pas de pathologie, mais modifient des normes biochimiques (LDHV de la souris), hématologiques (éosinophilie parasitaire), physiologiques (baisse de la fécondité..), ou immunologiques (réactions croisées en immunologie vaccinale, interférences en cancérologie, baisse des réponses anticorps associées aux infections virales..).



Figure 5 - Infection à MHV chez la souris (syncytia dans les villosités intestinales) photo : Dr Isabelle Bolon, Centre Médical Universitaire de Genève.

16 <http://www.sante-securite.travail.gouv.fr/dossiers/evaluations.asp>

17 http://www.phac-aspc.gc.ca/msds-ftss/index_f.html

18 Le niveau de confinement des animaleries est établi selon une échelle de 1 à 4, en référence aux arrêtés du 18/7/1994 et du 13/8/1996 ("Arrêté fixant la liste des agents biologiques pathogènes" et "Mesures techniques de prévention, notamment de confinement à mettre en oeuvre dans les industries et les laboratoires de recherche et d'enseignement où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes"). La détection de ces germes chez des animaux domestiques ou sauvages infectés naturellement fait prendre des mesures d'isolement des animaux porteurs et des mesures de prévention de la contamination humaine adaptées au niveau de risque.

19 <http://www.cnrs.fr/SDV/Dept/ogmclass2.html>

20 <http://www.recherche.gouv.fr/commis/genetique/default.htm>

21 "Infectious Hazards", MJ Dennis, in "Health and security in laboratory animal facilities" M.Wood and M.W. Smith, 1999, Laboratory Animals Handbook n°13 ISBN1-85315-421-0

22 "Les maladies animales transmissibles à l'homme" Classeur du Département des Sciences et de la Vie – CNRS, édité avec l'aide du GIRCOR.

23 "Emerging or re-emerging bacterial zoonotic diseases: bartonellosis, leptospirosis, Lyme borreliosis, plague" R. Higgins, Rev Sci Tech. 2004, 23(2):569-81

24 "Important emerging bacterial zoonotic infections affecting the immunocompromised" R.T. Trevejo Vet Res. 2005, 36(3) : 493-506

25 http://www.gv-solas.de/auss/hyg/hyg-p61_e.html

26 <http://www.felasa.org>

Tableau 4 - principaux biais expérimentaux liés aux infections et parasitoses asymptomatiques ou subcliniques (et quelques exemples chez les rongeurs)²⁷

Présence des micro-organismes ou parasites constatée lors de l'observation microscopique des tissus et prélèvements (mycoplasmes associés aux cellules, CAR Bacillus, inclusions intracellulaires d'origine virale, protozoaires tissulaires,..)	
Augmentation de la variabilité expérimentale (intra-essai, inter-essais et inter-laboratoires) : les individus étant ou non porteurs de l'infection, à des degrés divers, la réponse expérimentale devient hétérogène dans un lot, ou non reproductible d'un essai à l'autre (ou d'une équipe de recherche à une autre)	
Augmentation de la fragilité des animaux au cours du protocole : les conditions expérimentales peuvent être des facteurs favorisants provoquant le déclenchement d'une maladie chez des individus porteurs inapparents (mortalité à l'anesthésie d'animaux insuffisants respiratoires non détectés..) : SDAV/MHV, sendai virus, pasteurelloses..	
Altération des valeurs normales biochimiques, hématologiques, histologiques.. (les groupes témoins aussi bien que les groupes traités présentent des anomalies)	<p>Les infections et parasitoses provoquent classiquement des modifications des numérations formules sanguines (neutrophilie, éosinophilie, monocytose, leucopénie, thrombocytopénie..). En particulier les parvovirus sont fortement leucopéniants.</p> <p>Les tissus infectés ou parasités peuvent présenter des hyperplasies réactionnelles (augmentation des couches épithéliales..) ou des infiltrations par des cellules mononuclées</p> <p>Le virus LDHV de la souris provoque une augmentation de la lactate deshydrogénase plasmatique..</p> <p>Augmentation des valeurs basales de nombreux médiateurs de l'immunité (cytokines pro-inflammatoires, interférons..) : Parvovirus, Sendai virus, <i>Mycoplasma</i></p> <p>Anomalies comportementales d'origine parasitaire (prurit et hyperexcitabilité, augmentation des agressions, modifications de la consommation alimentaire..)</p> <p>Troubles de la croissance : parasites, SDAV.</p> <p>Troubles de la fécondité (infécondité, mortalité embryonnaire, rétention placentaire..)</p>
Modification de la réactivité expérimentale, assez fréquente en immunologie et cancérologie (les individus témoins ne sont pas modifiés, mais les individus traités ne réagissent pas comme attendu)	<p>Modification de l'orientation immune (TH1 / TH2) : oxyures</p> <p>Hyporéactivité : de nombreuses infections, en particulier virales, provoquent une immuno-dépression (diminution de la production d'anticorps, diminution de la production d'IL2..) : MHV, Sendai virus. L'augmentation des valeurs basales des médiateurs de l'immunité non spécifique modifie la prise des greffes</p> <p>Hyperréactivité : réactions immunes croisées (observation de réponses positives ou douteuses chez des individus témoins, augmentation du "bruit de fond".)</p> <p>réactions d'hypersensibilités et augmentation des manifestations inflammatoires dans les muqueuses : <i>Helicobacter</i>.</p>
<p>Au contraire, des animaux germ-free ou SOPF peuvent présenter des anomalies par rapport à des animaux SPF (diminution de la réactivité immunologique, modification du développement du gros intestin, réduction des réactions inflammatoires ou auto-immunes attendues lors du protocole expérimental..)²⁸</p>	

Définition des statuts sanitaires des animaux de laboratoire

Pour faciliter les échanges et harmoniser les pratiques, les éleveurs et les expérimentateurs s'accordent sur des statuts sanitaires, qui sont des listes d'agents pour lesquels une politique de dépistage et d'exclusion est mise en place.

Ces statuts font l'objet de publications régulières, mais malgré cela il n'en existe pas de définition stricte en raison de la complexité du sujet.

Un statut sanitaire est défini pour une collectivité et non pour un individu, et ne peut se concevoir que dans un environnement qui empêche au maximum la contamination par les agents exclus, et en pratiquant un dépistage adapté et régulier.

²⁷ <http://www.gv-solas.de/auss/hyg/hyg-p6.html>

²⁸ Symposium à l'Institut Pasteur, Paris 2003 "microbisme commensal et réactivité immune"

Tableau 5 - principaux statuts sanitaires définis, et conditions d'hébergement qui en découlent.

<p>Quarantaine</p>	<p>- Animaux arrivant dans l'animalerie, en attente de la détermination d'un statut sanitaire compatible avec leur utilisation/entrée - Animaux malades ou suspects, isolés de l'animalerie principale en cas de contamination</p>	<p>Procédures et locaux adaptés au confinement des animaux selon le risque encouru (agents de zoonoses et pathogènes de l'espèce).</p>
<p>Statut conventionnel (=holoxénique)</p>	<p>Animaux cliniquement sains, mais dont on ne peut garantir l'absence de portage asymptomatique de germes pathogènes, ni l'absence d'opportunistes (Un dépistage minimal des agents zoonotiques et principaux pathogènes est néanmoins conseillé).</p>	<p>Conditions d'animaleries standard (hygiène, séparation des espèces, lutte contre les insectes et rongeurs sauvages), quarantaine, surveillance clinique régulière, dépistage des agents zoonotiques et des maladies animales réglementées.</p>
<p>Statut SPF ("Specific Pathogen Free") = EOPS (Exempts d'organismes pathogènes spécifiques)</p>	<p>Animaux cliniquement sains et indemnes des parasites et des micro-organismes pathogènes pour l'espèce selon une stratégie de dépistage adaptée et régulière. La liste des agents exclus comprend tout micro-organisme reconnu pour causer une maladie chez des animaux normaux (listes publiées dans différentes espèces : http://www.felasa.org).</p>	<p>Conditions d'animaleries protégées, permettant de limiter toute contamination depuis l'extérieur et toute transmission dans l'animalerie ("barrières" : surpression, autoclavage ou irradiation..) Obtention des animaux fondateurs de colonies par césarienne aseptique ou transfert d'embryons, avec adoption par des mères SPF.</p>
<p>Statut SOPF ("Specific Pathogen and Opportunistic Free")</p>	<p>Animaux indemnes des agents pathogènes pour l'espèce ainsi que des principaux agents opportunistes susceptibles de poser des problèmes expérimentaux, en particulier chez des animaux immunodéprimés. Stratégie de dépistage poussée, confinement élevé, et conditions de manipulation des animaux limitant le contact avec l'homme (manipulation sous PSM..)</p>	<p>Conditions d'animaleries contrôlées, permettant de limiter toute contamination depuis l'extérieur (IVC, isolateurs..) et au contact du personnel, ainsi que toute transmission dans l'animalerie. Obtention des animaux par césarienne aseptique ou transfert d'embryons, avec adoption par des mères SOPF.</p>
<p>Statut axénique ou gnotoxénique</p>	<p>- Axéniques : Animaux indemnes de micro-organismes détectables - Gnotoxéniques : animaux axéniques inoculés par un ou plusieurs micro-organismes définis. Utilisation limitée à quelques domaines (recherche en microbiologie).</p>	<p>Isolateur en condition stérile Obtention par césarienne aseptique ou transfert d'embryons, avec adoption par des mères axéniques. La "flore altérée de Schaedler", déterminée par un consensus NIH-éleveurs en 1987, est une flore commensale de référence utilisée chez les rongeurs pour le réensemencement des animaux fondateurs de colonies d'élevage : "animaux à flore définie" (8 germes identifiés, assurant le fonctionnement digestif normal, la production des vitamines et le rôle de barrière)³⁰.</p>

Les listes d'exclusion publiées^{31, 32} font l'objet de consensus, mais le niveau d'exigence doit ensuite être adapté au contexte local (élevage, protocoles de longue durée, animaux immunodéprimés, interférences expérimentales possibles..).

29 Les "barrières" sont les méthodes de confinement physique et chimique et les procédures qui empêchent la circulation des micro-organismes et parasites..

30 "Phylogeny of the Defined Murine Microbiota: Altered Schaedler Flora" F.E. Dewhirst et al, 1999 Applied and Environmental Microbiology vol 65, p. 3287-3292, <http://aem.asm.org/cgi/content/full/65/8/3287?view=long&pmid=10427008>

31 <http://www.lal.org.uk/pdffiles/LAFel2.PDF> "FELASA Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies" Laboratory Animals 2002/36

32 http://jaxmice.jax.org/health/health_communication.html