

Études sur la cowdriose à Madagascar

Première partie

par G. UILENBERG (*)

RESUME

La transmission de la cowdriose a été réussie avec des nymphes de la tique *Amblyomma variegatum*, infectées au stade larvaire. Il est confirmé que l'injection de sang infectieux par voie intraveineuse, à l'opposé de la voie sous-cutanée, transmet la maladie avec une grande fidélité, aussi bien aux bovins qu'aux petits ruminants. Le diagnostic est régulièrement positif sur frottis de cortex cérébral d'animaux morts de la maladie, à l'opposé de frottis de l'intima des vaisseaux. *Borrelia theileri*, *Anaplasma ovis* et *Eperythrozoon ovis* peuvent perturber les expériences chez les moutons; différents hématozoaires peuvent fausser les réactions thermiques chez les bovins; l'examen de frottis de sang est nécessaire lors d'une réaction thermique au laboratoire. Les mérinos sont beaucoup plus sensibles à la cowdriose que les moutons de race locale. Les agneaux de moins d'une semaine sont moins sensibles que les moutons plus âgés; l'influence de l'âge semble moins nette chez les bovins. La majorité des bovins exposés à une population relativement importante du vecteur *A. variegatum* n'a pas encore acquis une immunité à l'âge de 2 ans; une proportion des animaux est encore sensible à 5 ans; l'épizootologie de la maladie est examinée.

INTRODUCTION

La cowdriose, également appelée « heart-water », maladie des ruminants, est causée par un micro-organisme, *Cowdria ruminantium* (COWDRY, 1925), de l'ordre des Rickettsiales. La taxonomie de ce germe est discutée. Il est en général considéré comme une rickettsie, mais ses particularités le mettent à part des rickettsies typiques. MOHAN (1968) le place dans le genre *Chlamydia* et le considère donc comme membre à part entière du groupe psittacose-lymphogranulomatose-trachome; RAKE et al. (1945) et TUOMI (1966) pensent qu'il est

intermédiaire entre les rickettsies typiques et le groupe P.L.T., opinion qui nous semble mieux fondée.

DURIEUX (1930) a fait l'histoire de la maladie à Madagascar. Elle fut soupçonnée en 1924 à la suite de pertes après importation d'un troupeau de moutons à laine d'Afrique du Sud; la confirmation fut apportée par l'examen de prélèvements envoyés en Afrique du Sud (ALEXANDER, 1931).

La maladie n'a pratiquement pas été étudiée à Madagascar. Nous donnerons ci-dessous les résultats de nos expériences.

METHODES GENERALES DE TRAVAIL

Les expériences sur les ruminants au laboratoire ont principalement porté sur des moutons

(*) Service d'Entomologie et Protozoologie du Laboratoire Central de l'Elevage, Tananarive; Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux. (Adresse actuelle: I.E.M.V.T., 10, rue Pierre Curie, 94 Maisons-Alfort, France.)

de race mérinos d'Arles, dont un troupeau fut importé de France en 1966. Les chèvres et les moutons de race locale utilisés sont en partie nés au laboratoire, tandis que d'autres ont été achetés dans la région tananarivienne. Les bovins utilisés ont également des origines diverses. Tous ces animaux sont logés au laboratoire à Tananarive. Le vecteur de la cowdriose, la tique *Amblyomma variegatum* (Fabricius, 1794) (voir « Transmission »), n'existe pas à l'état normal autour de Tananarive, le climat en hiver étant apparemment trop froid sur les Hauts Plateaux pour qu'elle puisse s'y maintenir (BUCK, 1948, 1949 - RAYNAUD, 1962 - RAYNAUD et UILENBERG, 1962 - UILENBERG, 1964); cette tique n'est pas rare le long des routes suivies par les troupeaux de bœufs en provenance de régions infestées et en marche vers l'abattoir de la capitale. Au laboratoire, on ne trouve normalement pas d'*A. variegatum*, les bâtiments étant éloignés des routes infestées. Moutons et chèvres sont traités deux par mois avec une émulsion de lindane à 0,02 p. 100, principalement pour éviter l'apparition de la gale psoroptique. Leur foin est traité au bromure de méthyle, pour tuer des tiques qui pourraient s'y trouver. Sur les parois intérieures de la bergerie, on pulvérise une fois par mois une suspension de bromophos à 1,25 p. 100 pour lutter contre les insectes piqueurs. Quant aux bovins, ils sont protégés contre les tiques et insectes de la manière précédemment indiquée (UILENBERG, 1968), à la différence près que le douchage au DDT a été récemment supprimé et que le fenthion a été remplacé par le bromophos pour la pulvérisation dans l'étable.

Il semble donc certain que les animaux importés ou nés sur place n'ont pas été exposés à la cowdriose, tandis que ceux en provenance de l'extérieur ont eu des chances variables de contracter la maladie auparavant (chance très faible pour les animaux provenant des Hauts Plateaux). Nous indiquerons donc l'origine des animaux entrant dans une expérience.

La température rectale des animaux en expérience est prise vers 8 h. du matin. Dans les conditions climatologiques de Tananarive, leur température normale varie alors, en moyenne, entre 37,5° et 39° pour les bovins (UILENBERG, 1968), entre 38,5° et 39,5° pour les moutons mérinos et les chèvres, et entre 38,2° et 39° pour les moutons de race locale.

Après chaque essai d'infection, la température est prise sur les petits ruminants pendant un minimum de 3 semaines, sur les bovins pendant au moins un mois.

La température des bovins dans les conditions de la pratique (au Centre de Recherches Zootechniques de Kianjasoa) a été prise tôt le matin (entre 5 h. 30 et 8 h. environ), avant que la chaleur ambiante ne l'ait fait monter. Ici également nous avons pris 39° comme limite supérieure de la température normale et les résultats ont confirmé cette limite comme valable pour les animaux de tous âges attachés la nuit à l'étable et pour les adultes vivant en élevage extensif, tandis que les veaux en extensif ont parfois une température plus élevée causée par les manipulations.

Les injections de sang et autre matériel infectieux ont toujours été faites par la voie intraveineuse, sauf indication contraire. Le sang, prélevé sur anticoagulant, a été injecté le plus vite possible; s'il a dû être transporté d'une bergerie ou d'une étable à l'autre, il a été mis sous glace (à 0° C); l'intervalle entre le prélèvement et l'inoculation du sang infectieux n'a jamais dépassé 15 minutes au laboratoire.

En ce qui concerne les réactions positives obtenues au laboratoire, il a pratiquement toujours été vérifié, en particulier pour les moutons, qu'il s'agissait bien de réactions à la cowdriose, soit par passage de sang à d'autres ruminants, soit par examen du cortex cérébral après la mort, soit par l'épreuve d'une seconde inoculation en cas de guérison. Nous examinons actuellement aussi le plus souvent des frottis de sang (colorés au Giemsa), après certaines difficultés avec d'autres infections (parasites sanguins) causant des réactions thermiques (voir « Infections perturbatrices »).

Les souches utilisées dans les expériences ont trois origines différentes :

Souche K1

Isolée d'un cas de cowdriose naturelle à Kianjasoa en 1965, par inoculation d'un broyat de cortex cérébral à un bovin au laboratoire. La souche a été perdue en 1966.

Souche K2

Isolée en 1967 par l'inoculation de sang d'un veau de Kianjasoa, pris au hasard, à un mouton et un bovin au laboratoire. La plupart des

expériences ont été faites avec cette souche. Elle est actuellement conservée à l'état congelé et par passages sur ruminants.

Souche Mara

Souche sud-africaine, reçue en 1965 sous forme de nymphes infectées de la tique *Amblyomma hebraeum*, Koch, 1844, grâce à l'amabilité du Dr. W.O. NEITZ à Onderstepoort. Elle a été perdue en 1966.

TRANSMISSION

a) Transmission naturelle

La maladie est transmise par des tiques du genre *Amblyomma*; seule la transmission de stade à stade a été démontrée, non par l'œuf. LOUNSBURY (1900, cité par ALEXANDER, 1931) a prouvé le rôle d'*A. Hebraeum*. DAUBNEY (1930) a démontré qu'*A. variegatum* peut transmettre la maladie, tandis que NEITZ (1947, cité par HENNING, 1956, p. 1163) prouve le rôle d'*A. pomposum* Dönitz, 1909; LEWIS (in : (7), 1949) établit la transmission par *A. gemma* Dönitz, 1909. Récemment KARRAR (1966) a prouvé qu'*A. lepidum* Dönitz, 1909, est vecteur.

La seule tique du genre *Amblyomma* infestant les ruminants à Madagascar est *A. variegatum*, et son rôle de vecteur est admis depuis longtemps, toutefois sans preuve expérimentale dans le pays. Nous avons récemment pu réussir la transmission expérimentale, du stade larvaire au stade nymphal (DAUBNEY l'avait réussi avec des adultes).

Un mouton (n° 1562), acheté plus d'un an auparavant, en provenance des Hauts Plateaux, est inoculé avec du sang infectieux (souche K2) d'un mouton en réaction thermique. Sept jours après l'injection, il est infesté sur le scrotum avec quelques centaines de larves d'*A. variegatum*, écloses au laboratoire 3 semaines plus tôt; les larves sont placées dans un sac en toile enveloppant le scrotum et adhérent à sa base. Le mouton 1562 commence une réaction thermique 3 jours après l'application des larves. Les larves gorgées sont récoltées de 6 à 10 jours après l'infestation et muent au laboratoire (à une température de 27° C et une humidité relative de 90 p. 100 environ) au bout de 3 semaines en moyenne. Quatre semaines après le début de la mue, 40 nymphes à jeun

(lot récolté comme larves gorgées au 6^e jour de la réaction thermique de 1562) sont mises sur le scrotum d'un autre mouton, n° Y 2, né au laboratoire. Celui-ci commence une hyperthermie 14 jours plus tard; il est tué au 6^e jour de la réaction thermique, et nous observons des groupes typiques de *Cowdria ruminantium* dans les capillaires de son cortex cérébral.

La transmission de la souche Mara a également été réussie avec les nymphes d'*A. hebraeum*, reçues d'Afrique du Sud. Une dizaine de nymphes à jeun, récoltées à Onderstepoort 12 mois auparavant comme larves gorgées sur un mouton en réaction, sont placées sur l'oreille d'une chèvre (n° C 10), achetée quelques mois avant à Tananarive (vraisemblablement originaire du Sud de Madagascar). Les tiques sont mises dans un sac sur l'oreille, fermé autour de sa base. La réaction thermique commence 12 jours plus tard et dure 9 jours; l'animal est sacrifié 2 jours après la fin de l'hyperthermie et des groupes typiques de *C. ruminantium* sont encore trouvés dans les capillaires du cortex cérébral.

b) Transmission artificielle

DU TOIT (in ALEXANDER, 1931) trouve que l'inoculation de sang infectieux par la voie sous-cutanée ne transmet le plus souvent pas la maladie tandis que la voie intraveineuse réussit le plus souvent. ALEXANDER estime que moins de 2 p. 100 des moutons et chèvres ne réagissent pas à l'inoculation en intraveineuse d'une quantité suffisante de sang infectieux, tandis que le pourcentage de non réagissants serait plus grand chez les bovins.

Nos propres essais faits au laboratoire sur des animaux présumés réceptifs (d'après leur provenance ou leur âge), nous ont donné les résultats exposés ci-dessous. Le sang infectieux a été inoculé à la dose de 5 à 10 ml tout de suite après le prélèvement.

Dans ces conditions, ont réagi positivement à l'inoculation par voie intraveineuse :

1. 52 moutons sur 53. Un seul animal n'ayant pas réagi a été réinoculé 3 semaines plus tard avec la même souche K2 pour vérifier sa réceptivité. La deuxième inoculation a été positive. Pourtant, le sang qui lui avait été inoculé la première fois s'était révélé infectieux pour un autre mouton et un bovin inoculés en même temps.

2. 38 bovins sur 38.

3. 7 chèvres sur 7.

10 ml de sang infectieux inoculés par la voie sous-cutanée à un bovin ne lui ont pas donné la maladie; 10 ml de sang du même donneur inoculés en même temps à un autre bovin par la voie intraveineuse ont donné un résultat positif. Il a été prouvé par une autre inoculation, deux mois et demi plus tard, cette fois en intraveineuse, que le premier animal était bien sensible à la maladie.

De même, un mouton ayant reçu 10 ml de sang infectieux par voie sous-cutanée, n'a pas réagi, tandis qu'un autre mouton, inoculé par voie intraveineuse avec 10 ml du même sang, a réagi positivement; une autre inoculation en intraveineuse, 3 mois plus tard, a prouvé que le premier mouton était bien sensible à la maladie.

Dans un troupeau de bovins exposés aux infections naturelles (présence de la tique *A. variegatum*) et dont un nombre inconnu possédait donc une immunité acquise, 14 animaux ont été inoculés par voie intraveineuse et 20 d'un âge comparable par voie sous-cutanée; le sang infectieux provenait d'un même lot, prélevé sur un mouton juste avant les injections. 5 du premier groupe ont réagi, aucun du groupe inoculé en sous-cutanée. Il s'agit dans le premier groupe de 7 animaux de 4 ans, dont 3 ont réagi et de 7 de 5 ans, dont 2 ont réagi; le groupe inoculé par voie sous-cutanée comprenait un animal de 3 ans, 12 de 4 ans et 7 de 5 ans.

Nos résultats confirment donc la grande fidélité de la voie intraveineuse pour les petits ruminants, et le fait que la voie sous-cutanée ne semble pas utilisable (bien qu'aucun chiffre ne puisse être donné après les quelques essais négatifs); par contre, l'injection par la voie intraveineuse nous a donné des résultats aussi réguliers sur les bovins que sur les petits ruminants, à l'opposé de ce qu'écrivent ALEXANDER (1931) et WEISS et al. (1952).

DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE

Nous avons comparé la méthode de JACKSON (1931), qui préconise l'examen de frottis de l'intima des vaisseaux sanguins, à celle de PURCHASE (1945), qui trouve facilement les

rickettsies sur frottis de cortex cérébral. A plusieurs reprises, le diagnostic a été tenté avec les deux méthodes sur les mêmes cadavres (infections naturelles ou expérimentales); la méthode de Purchase nous a donné des résultats très supérieurs à celle de Jackson, et dans quelques cas où le cortex cérébral était riche en groupes de rickettsies, les frottis de l'intima (de la veine jugulaire ou de l'endocarde) n'ont pas permis de les mettre en évidence, bien qu'il y eut un grand nombre de cellules endothéliales.

Nous avons également comparé les résultats obtenus sur frottis de cortex cérébral à ceux sur coupes histologiques du même matériel. Ici encore les frottis donnaient les meilleurs résultats, la recherche étant beaucoup plus longue sur coupe, étant donné que les capillaires sont entièrement étalés sur frottis, mais non dans la coupe; dans les cas où les groupes de rickettsies sont rares, ils peuvent donc facilement être invisibles sur coupe. La méthode de Purchase a donc été adoptée pour le diagnostic, avec fixation à l'alcool méthylique et coloration au Giemsa (que nous avons trouvée la meilleure parmi plusieurs essayées).

Lorsque les frottis de cortex cérébral sont faits au laboratoire, la recherche des rickettsies ne pose pas de problème. 26 animaux morts de la maladie ont tous donné un résultat positif. Lorsqu'il s'agit de prélèvements envoyés pour le diagnostic de diverses régions de l'île, qui ne parviennent souvent au laboratoire qu'après un long délai, il peut y avoir des difficultés.

Nous avons d'abord vérifié que les rickettsies ne perdent pas leur affinité pour le colorant après un long séjour à la température du réfrigérateur ordinaire : la moitié d'un cerveau d'un bovin (cas naturel), riche en groupe de rickettsies, a été placée à une température de + 3° C, l'autre est laissée à la température ambiante du laboratoire (variant entre 20° et 25° environ); des frottis du cortex cérébral sont faits quotidiennement. Le diagnostic est, pour la moitié gardée à la température ambiante, encore aisé après 2 jours; la putréfaction a progressé le 3^e jour au point que les rickettsies sont presque méconnaissables, et le diagnostic est tout à fait impossible le 4^e jour. Par contre, les rickettsies gardent dans la moitié conservée au réfrigérateur, à + 3° C, une bonne affinité pour le colorant pendant trois semaines, bien

que de nombreux éléments mycosiques et bactériens commencent à se développer à partir du 18^e jour; le diagnostic devient impossible à partir du 24^e jour. Il est donc possible de conserver, si nécessaire, le cerveau au réfrigérateur pendant 2 semaines au moins, pour attendre l'occasion de l'envoyer rapidement sous glace au laboratoire. Rappelons que NEITZ (1939) trouve que le diagnostic par examen des cellules endothéliales de la veine jugulaire, conservée au réfrigérateur, reste possible pendant au moins 10 jours.

KARRAR (1959) a montré la persistance, pendant un mois, des rickettsies dans le cortex cérébral conservé à l'abri des contaminations dans un réfrigérateur ordinaire.

Néanmoins, dans beaucoup de cas, la glace dans la boîte isotherme a fondu à l'arrivée au laboratoire, et le cerveau est putréfié. Il est alors préférable que les frottis du cortex cérébral soient faits sur place et adressés au laboratoire, fixés ou non à l'alcool méthylique. Des essais nous ont montré que les rickettsies gardent leur affinité pour le colorant sur frottis non fixés ou fixés pendant au moins un mois. Dans certains cas, principalement en saison des pluies, les frottis non fixés arrivent parfois envahis par des champignons. La fixation préalable à l'envoi est donc préférable, mais non indispensable.

Une expérience a également été faite pour voir si le cerveau pouvait être conservé et envoyé dans du glycérol à 50 p. 100, comme pour le diagnostic de la rage, au cas où un réfrigérateur n'est pas disponible. Une partie d'un cerveau de mouton, riche en rickettsies, a été mise dans un bocal contenant du glycérol à 50 p. 100, à la température du laboratoire. La coloration de frottis faits 2 jours plus tard montre que la plupart des rickettsies sont mal colorées, le lendemain elles sont tout à fait méconnaissables, bien que les capillaires et autres structures du cortex soient assez bien colorés. Cette méthode n'est donc pas applicable.

Ajoutons que les rickettsies sont encore reconnaissables après conservation du cerveau au congélateur (6 jours à -15° C et 7 mois à -30° C).

INFECTIONS PERTURBATRICES

NEITZ (1939) attire déjà l'attention sur le fait que d'autres infections peuvent fausser les résultats des expériences sur la cowdriose, si l'on se fie uniquement à la réaction fébrile, et il mentionne dans ce contexte un virus « Virus A » et *Eperythrozoon ovis* Neitz, Alexander et Du Toit, 1934.

Chez les moutons nous avons eu des difficultés avec 3 infections : *Borrelia theileri* (Laveran, 1903), *Anaplasma ovis* Lestoquard, 1924, et *Eperythrozoon ovis*. La présence de *B. theileri* et d'*E. ovis* à Madagascar était déjà connue, tandis qu'*A. ovis* n'a jamais été trouvé dans le pays en dehors du troupeau de mérinos importé en 1966 du midi de la France.

Borrelia theileri : Pour isoler une souche de *C. ruminantium*, nous avons inoculé à des moutons au laboratoire du sang provenant de 10 veaux de Kianjasoa, pris au hasard. Un mouton sur 5, inoculés chacun avec le sang d'un veau, a sorti la souche K 2; le sang des 5 autres veaux a été groupé et inoculé en mélange à 2 moutons, qui réagirent thermiquement après 8 jours, réaction simulant une cowdriose bénigne, sans symptômes et sans mortalité. Par des subinoculations à des bovins et moutons il a été prouvé qu'il s'agissait de la borreliose. Elle ne nous cause actuellement plus de difficultés.

Anaplasma ovis : L'existence de cette infection parmi les mérinos importés avait déjà été mise en évidence par l'injection de leur sang à un mouton local splénectomisé, indemne de l'infection auparavant. Plus tard, l'infection est ressortie pendant nos expériences, simulant une réaction à la cowdriose bénigne, sans mortalité, sans symptômes précis, rarement avec des températures aussi élevées que celles causées par la cowdriose (une fois pourtant $41,5^{\circ}$), et avec une période d'incubation plus longue que celle qui est normale pour la cowdriose. En repérant l'origine de l'infection, et en n'utilisant plus que des mérinos nés sur place et non les adultes importés, nous avons apparemment réussi à résoudre le problème.

Eperythrozoon ovis : Cette infection s'est manifestée récemment sur 2 moutons en expérience, avec une hyperthermie de $40,3^{\circ}$ dans un cas, de $41,3^{\circ}$ dans l'autre, sans symptômes spécifiques, sans mortalité. Elle est particu-

lièrement difficile à combattre, le mode de transmission naturelle restant obscur, et elle peut causer une réaction thermique indépendamment des inoculations expérimentales. La meilleure méthode pour l'élimination des fausses réactions par ce parasite nous semble le traitement à la Néoarsphénamine, dès que l'infection a été diagnostiquée sur frottis de sang (produit actif d'après NEITZ (1937) et un essai fait sur un des moutons infectés). Il est probable que cette infection a auparavant causé quelques réactions thermiques inexplicables sur nos moutons, avec hyperthermie moins élevée que celle causée par la cowdriose, les animaux ne présentant aucun symptôme de cette maladie, et se montrant ensuite entièrement sensibles à la cowdriose.

En conclusion, il est nécessaire de faire des frottis de sang des animaux en expérience, lorsqu'une réaction thermique se déclare, de manière à identifier les infections intercurrentes.

En ce qui concerne les bovins, différents hématozoaires peuvent fausser les réactions à la cowdriose (*Babesia*, *Anaplasma*, *Eperythrozoon*, etc...). Cela ne constitue aucun problème au laboratoire, où des frottis de sang sont toujours faits en cas d'hyperthermie, mais lors d'essais de vaccination dans des circonstances pratiques, les réactions thermiques peuvent être faussées par des primo-infections à hématozoaires, surtout chez les jeunes veaux; nous en avons observé des exemples lors d'expériences sur le terrain, où le sang a été examiné dès que la température montait.

CONSERVATION DE *C. RUMINANTIUM*

Le nombre d'animaux d'expérience étant limité, il serait rapidement épuisé s'il fallait conserver la souche uniquement par passages sur ruminants sensibles.

Il est possible de conserver une souche par la tique vectrice, *A. variegatum*: infecter des larves sur un animal réagissant et mettre à

gorger les nymphes infectieuses plus tard sur un autre animal quand on en a besoin. Conservées dans notre étuve à tiques (température 27° C, humidité relative environ 90 p. 100), les nymphes à jeun ont une mortalité d'environ 50 p. 100 après 8 à 9 mois, presque toutes sont mortes après un an, tandis que la majorité est vivante après 6 mois. (A la température et l'humidité ambiante du laboratoire, toutes les nymphes sont mortes après 6 mois (températures maximales d'environ 20° C à 26° C, minimales d'environ 18° à 22°, humidité relative entre 55 et 75 p. 100). Ces observations portent sur plus de 1.000 nymphes. Il est donc en principe possible de ne faire qu'un passage tous les 6 mois par exemple, en conservant les nymphes à l'étuve. (Les adultes ont une longévité plus élevée, mais nous n'avons pas réussi à les faire fixer sur un hôte).

Par ailleurs la conservation est possible à l'état congelé, méthode plus commode que celle utilisant les tiques. Après de nombreux échecs, utilisant différentes méthodes, la congélation avec du diméthyle-sulfoxyde à 10 p. 100 comme excipient de congélation, donne enfin des résultats régulièrement positifs; la méthode est décrite en détail ailleurs (RAMISSE et UILENBERG, 1970).

DIFFERENCES DE SENSIBILITE SUIVANT L'ESPECE, LA RACE ET L'AGE

De telles différences ont été observées par plusieurs auteurs dès le début des études sur la cowdriose. Voici nos quelques observations dans ce domaine, sur animaux non traités, faisant tous une réaction nette à l'inoculation :

a) Moutons

Mérinos (tous inoculés avec la souche K 2 au laboratoire). 11 sur 26 sont morts de cowdriose, 15 ont guéri spontanément. La répartition selon l'âge (au moment de l'inoculation) est la suivante :

Age	Nombre	Morts	Guérison	Remarques
3 à 7 jours	5	0	5	2 âgés de 8 à 9 jours ont guéri, celui ayant 10 jours est mort.
8 à 10 jours	3	1	2	
16 jours	1	1	0	
6 mois et plus	17	9	8	

Il ne semble pas y avoir d'influence de l'âge après 6 mois : 10 des 17 moutons avaient entre 6 et 12 mois, 7 en sont morts; 7 des 17 animaux avaient entre 13 et 30 mois, 2 en sont morts; l'animal le plus âgé, de 30 mois, est guéri.

Moutons de race locale (tous inoculés avec la souche K 2, au laboratoire). 9 animaux, tous nés au laboratoire ou provenant de la région tananarivienne. Aucun animal n'est mort. Un seul a eu des symptômes nerveux très nets, mais a néanmoins guéri spontanément. Tous ces animaux étaient adultes (plus d'un an), à l'exception d'un seul, âgé de 6 mois (le seul ayant présenté des symptômes nerveux).

b) Chèvres

3 chèvres adultes, achetées dans la région tananarivienne mais vraisemblablement originaires du Sud de l'île, inoculées au laboratoire avec la souche K 2. Toutes les 3 en sont mortes. La race des animaux est incertaine, il s'agit probablement de mélanges de races importées et de la race locale.

2 chèvres adultes (une née au laboratoire, l'autre ayant vraisemblablement son origine dans le Sud), inoculées avec la souche K 1, sont également mortes. Ces 2 animaux étaient de race mohair pure ou métissée.

Une chèvre mohair adulte, inoculée avec la souche « Mara », a guéri spontanément.

c) Bovins

Souche K 1 : 7 animaux, âgés d'environ 2 ans, ont été inoculés au laboratoire. Tous ont guéri spontanément. Il s'agit de 2 taurins nés au laboratoire et de 5 animaux ayant au moins 50 p. 100 de sang zébu (Brahman, zébu local ou afrikander), originaires de Kianjasoa. Tous ont fait une réaction nette à l'inoculation.

Souche K 2 : Taurins : 6 animaux, nés au laboratoire ou achetés dans la région tananarivienne, trop jeunes pour avoir fait la cowdriose naturelle. 3 sur 6 sont morts, 3 ont guéri spontanément. La répartition selon l'âge se présente ainsi :

9 jours	Guéri
17 jours	Mort
33 jours	Mort
17 mois	Guéri
19 mois et demi	Guéri
25 mois	Mort

Métis taurin-zébu (frison-zébu) : 13 animaux, inoculés au laboratoire, tous en provenance de Kianjasoa. Tous ont fait une réaction nette à l'inoculation. 3 sur 13 sont morts. Voici la répartition selon l'âge :

Age	Nombre	Morts	Guéris	Remarques
18 à 20 jours	4	1	3	Cerveau positif, mais mort compliquée par une pneumonie.
32 jours	1	1	0	
38 à 57 jours	3	0	3	
73 à 88 jours	2	0	2	
5 mois à 5 mois ½	3	1	2	

Diverses races : 3 animaux inoculés au laboratoire, en provenance de Kianjasoa. Un veau âgé de 24 jours, ayant 3/4 de sang frison et 1/4 de zébu local, est guéri, mais après avoir présenté des symptômes nerveux très importants. Un animal de 12 mois, 1/2 brahman 1/2 zébu local, est également guéri. Un bovin de 2 ans, 3/4 Brahman 1/4 zébu local, est mort.

Souche « Mara » : Un animal de race Renitelo (afrikander × limousin × zébu local), âgé de 15 mois et demi, est mort.

Nos chiffres ne sont pas assez élevés pour

permettre des conclusions fermes. Il s'en dégage néanmoins pour les moutons une nette influence de l'âge, qui confirme les résultats obtenus par NEITZ et ALEXANDER (1941), les très jeunes agneaux étant moins sensibles. Une très nette influence de la race s'en dégage également, les moutons de race locale sont peu sensibles.

Le nombre limité de bovins ne permet pas de conclure fermement sur l'influence de la race et de l'âge; il semble tout au moins que l'âge n'a pas beaucoup d'influence à partir

de 17 jours. Les résultats de diagnostic sur des cerveaux de bovins du Centre de Recherches Zootechniques de Kianjasoa permettent de conclure à une plus grande résistance des zébus de race locale par rapport à d'autres races à la ferme. En effet, le centre élève un peu plus de 1.000 bovins en tout, dont presque 25 p. 100 sont des zébus locaux; or, en 1968 et début 1969, nous avons pu diagnostiquer au laboratoire 18 cas de cowdriose sur des cerveaux envoyés de Kianjasoa; un seul cas concernait un zébu de race locale, les autres cas se rapportaient à des Renitelo, des Brahmans, des Frisons, et des métis à degrés différents avec le zébu local. D'ailleurs, en général le laboratoire reçoit très peu de prélèvements positifs pour la cowdriose de zébus de race locale, par rapport à ceux d'autres races. Par contre, les zébus de races importées (Brahman, Sahiwal) paraissent aussi sensibles que les taurins.

DIFFERENCES ENTRE SOUCHES DE *C. RUMINANTIUM*

Il est bien connu en Afrique du Sud que la virulence peut être différente d'une souche à l'autre (NEITZ et al., 1947). Une comparaison de la mortalité parmi les 22 bovins inoculés avec notre souche K 2 à celle des 7 sujets ayant reçu la souche K 1 semble indiquer une plus grande virulence de la première (voir ci-dessus).

ALEXANDER (1931) pense qu'il existe des différences immunologiques partielles entre différentes souches, mais NEITZ (1939) et ALEXANDER et al. (1946) expriment une opinion contraire, les souches sud-africaines immuniseraient solidement l'une contre l'autre.

KARRAR (1960) observe au Soudan une différence immunologique partielle entre deux souches. L'une protège aussi bien contre l'autre que contre elle-même, mais l'expérience inverse ne donne pas le même résultat : la deuxième souche ne protège pas contre une réaction thermique causée par la première, bien qu'il n'y ait pas de mortalité ni même de symptômes cliniques. Nous n'avons pas pu comparer la souche sud-africaine « Mara » à une des souches malgaches, et la question n'a pas encore pu être étudiée entre différentes souches à Madagascar; la question est d'une grande importance, en particulier pour l'efficacité d'une vaccination avec une seule souche.

EPIZOOTOLOGIE

Les bovins à Kianjasoa sont exposés à des infestations relativement importantes de la tique *A. variegatum*. Nous avons pu inoculer au laboratoire ou dans le Centre de Kianjasoa des bovins de divers âges et suivre la réaction éventuelle. Nous ne donnons que les résultats nets, soit réaction thermique positive, soit absence de réaction. Quelques animaux ayant donné une réaction douteuse ne sont pas mentionnés.

Les animaux ont été inoculés par voie intra-veineuse avec 5 ou 10 ml de sang citraté d'un mouton en réaction thermique; dans tous les cas, il a été prouvé que la réaction du mouton était bien due à la cowdriose, et que son sang était bien infectieux. Aucun traitement des bovins inoculés n'a été fait avant la réaction et il a toujours été vérifié que l'hyperthermie n'était pas due à des hématozoaires. Voici les résultats sous forme de tableau.

Age	Nombre d'animaux	Réaction positive	Négative	Remarques
18 à 38 jours	8	7	1	L'animal non réagissant (âgé de 19 jours) a été inoculé plus tard une 2 ^e fois avec le même résultat négatif.
2 mois ½ à 3 mois	4	3	1	Un des animaux non réagissants n'a pas non plus réagi à une 2 ^e inoculation plus tard.
4 à 11 mois	22	16	6	
1 à 2 ans	24	22	2	
4 ans	8	4	4	
5 ans	7	2	5	
6 ans	9	0	9	
8 à 11 ans	15	0	15	

CONCLUSIONS

La majorité des bovins exposés à des nombres relativement importants de la tique vectrice, *A. variegatum*, n'ont pas encore été infectés par la cowdriose à l'âge de 2 ans, et même parmi les sujets de 4 et 5 ans, 6 sur 15 ont accusé l'inoculation par une maladie sévère (2 sur 6 sont morts, avec diagnostic microscopique positif, les 4 autres sont guéris après traitement à l'oxytétracycline). Les animaux de 6 ans ou plus avaient apparemment tous contracté l'infection naturelle (24 sur 24).

La grande majorité des tiques n'est donc pas infectieuse, étant donné que chaque animal en avait porté pendant sa vie des dizaines (jeunes veaux), voir des milliers (adultes). Chaque tique a apparemment une très faible chance de s'infecter. Ceci est d'ailleurs expliqué par la conception de l'épizootologie qui ressort des recherches d'ALEXANDER (1931), NEITZ (1939), NEITZ et al. (1947) et d'autres, qui trouvent que les rickettsies ne persistent dans le sang que pendant une période limitée; à chaque nouvelle infection, il y a de nouveau une période où le sang est infectieux; en dehors de ces périodes les tiques ne peuvent pas s'infecter. Nous avons fait 3 essais sur la période pendant laquelle le sang pourrait être infectieux après le début de la réaction : le sang d'un mouton, traité lors de sa réaction, n'était pas infectieux 156 jours après le début de sa réaction (inoculation par voie intraveineuse à un mouton sensible). Le sang de 2 autres moutons, non traités lors de leur réaction, donnait également des résultats négatifs, 37 et 126 jours après le début de leurs réactions. Par ailleurs, des résultats positifs ont régulièrement été obtenus avec le sang prélevé du 1^{er} au 4^e jour de la réaction.

L'épizootologie est donc essentiellement dif-

férente de celle des babésioses et de l'anaplasmose des bovins, où une population relativement faible de la tique vectrice (*Boophilus microplus* à Madagascar) assure l'infection de tous les veaux en bas âge, quand ils sont peu sensibles (UILENBERG, 1970). Chaque tique a une forte chance de s'infecter sur un animal pris au hasard, étant donné que les *Babesiae* et les anaplasmes persistent pendant longtemps dans le sang, et qu'en plus l'infection chez la tique est héréditaire, à l'opposé de l'infection par *C. ruminantium* chez la tique. On ne peut absolument pas compter sur l'infection naturelle par la cowdriose des jeunes veaux à un âge où ils seraient peu sensibles (une faible sensibilité des jeunes veaux n'est d'ailleurs pas confirmée par nos expériences, voir plus haut). La majorité ne contracte la maladie que plus tard et on peut s'attendre à des mortalités parmi des animaux de tous âges, même adultes, également là où le détiquage est peu efficace, s'il s'agit d'une race sensible. En effet, des cas mortels, confirmés par examen du cortex cérébral, ne sont pas rares chez des adultes, et un cas a pu être diagnostiqué à Kianjasa chez une vache de 8 ans.

L'importance de la population d'*A. variegatum* a néanmoins une grande influence sur le nombre de cas de la maladie, et par conséquent sur la proportion immunisée à chaque âge. Ainsi, parmi le groupe de veaux âgés de 4 à 11 mois (16 sensibles sur 22), il en y avait 12 appartenant à un troupeau d'expérience qui n'était pas passé au bain détiqueur et qui portait des nombres beaucoup plus importants d'*A. variegatum* que les autres sujets; or, parmi ces 12 animaux, 6 seulement ont réagi à l'inoculation (et 10 sur 10 parmi les autres du même âge). Nous avons également vu (UILENBERG, 1970), qu'une diminution du nombre de bains provoque une augmentation du nombre de cas de cowdriose.

SUMMARY

Studies on cowdriosis in Madagascar. Part I

Transmission of cowdriosis has succeeded with nymphs of the tick *Amblyomma variegatum*, infected at the larval stage. It is confirmed that intravenous injection of infective blood, contrary to subcutaneous injection, transmits the disease with great regularity, to cattle as well as to small ruminants. A positive diagnosis is regularly obtained on smears of cerebral cortex of animals that have died of the disease, contrary to smears of the intima of blood-vessels. *Borrelia theileri*, *Anaplasma ovis* and *Eperythrozoon ovis* may perturb experiments with sheep, while different blood parasites may do so in cattle; it is necessary to examine blood smears

during a fever reaction in the laboratory. Merinos are much more sensitive to cowdriosis than sheep of the local breed. Lambs of less than a week are less sensitive than older sheep; the influence of age seems less pronounced in cattle. The majority of cattle exposed to a relatively important population of the vector *A. variegatum* has not yet acquired immunity at the age of 2 years; a proportion of the animals is still receptive at 5 years; the epizootology of the disease is discussed.

RESUMEN

Estudios sobre la « heartwater » en Madagascar. Primera parte

Tuvo éxito la transmisión de la « heartwater » con ninfas de la garrapata *Amblyomma variegatum*, infectadas durante el estado larvario. Se confirma que la inyección de sangre infecciosa por vía intravenosa al contrario de la vía subcutánea, transmite la enfermedad con fidelidad a los bovinos como a los pequeños rumiantes. El diagnóstico es regularmente positivo sobre frotis de corteza cerebral de animales muertos de la enfermedad, lo que no ocurre sobre frotis del íntimo de los vasos. *Borrelia theileri*, *Anaplasma ovis* y *Eperythrozoon ovis* pueden perturbar las experiencias en la oveja; diferentes hematozoarios pueden falsear las reacciones térmicas en los bovinos. Se necesita el examen de frotis de sangre en el momento de una reacción térmica en el laboratorio. Los merinos son mucho más sensibles para con la « heartwater » que las ovejas de raza del país. Los corderos de menos de una semana de edad son menos sensibles que las ovejas más viejas. La influencia de la edad parece menos precisa en los bovinos. No ha adquirido todavía una inmunidad a 2 años de edad la mayoría de los bovinos expuestos a una población relativamente importante del vector *A. variegatum*; Un cierto número de los animales son todavía sensibles a los 5 años de edad; Se examina la epizootología de la enfermedad.

BIBLIOGRAPHIE

- ALEXANDER (R. A.), « Heartwater ». The present state of our knowledge of the disease. 17th Rept Dir. Vet. Serv. Anim. Ind., S. Afr., 1931, Part I, pp. 89-150.
- ALEXANDER (R.), NEITZ (W. O.) et ADELAAR (T. F.), « Heartwater », *Fmg S. Afr.*, 1946, **21**: 548-52.
- BUCK (G.), « Tiques des animaux domestiques à Madagascar », *Bull. agric. Madagascar*, 1948, **1** (4): 3-11.
- BUCK (G.), « Tiques des animaux domestiques à Madagascar », *Arch. Inst. Pasteur, Tananarive*, 1949: 60-63. (Extrait du Rapport Annuel, 1948.)
- DAUBNEY (R.), « Natural transmission of heartwater of sheep by *Amblyomma variegatum* (Fabricius, 1794) », *Parasitology*, 1930, **22**: 260-67.
- DURIEUX (V. M.), « L'amélioration de la race bovine malgache », Thèse, Lyon. Chambéry, Imprimeries Réunies, 1930, 110 p.
- « Heartwater », Annual Rept, 1947, Dept vet. Serv., Kenya; Nairobi, Govt Printer, 1949, p. 51.
- HENNING (M. W.), « Animal diseases in South Africa », South Africa, Central News Agency Ltd, 1956, p. 1163.
- JACKSON (C.), « The microscopic diagnosis of heartwater: A preliminary note on the value of intima smears », 17th Rept Dir. Vet. Serv. Anim. Ind., S. Afr., 1931. Part I: 161-73.
- KARRAR (G.), « Rickettsial infection (heartwater) in Eastern Sudan », Minute n° 373, 44th Ordinary General Meeting, Sudan Veterinary Association, 16 août 1959: 4 pages ronéotypées.
- KARRAR (G.), « Rickettsial infection (heartwater) in sheep and goats in the Sudan », *Brit. vet. J.*, 1960, **116**: 105-14.
- KARRAR (G.), « Further studies on the epizootology of heartwater in the Sudan », *Sudan J. vet. Sci. Anim. Husb.*, 1966, **6** (1): 83-85.
- MOHAN (R. N.), « Diseases and parasites of buffaloes. Part I. Viral, mycoplasmal and rickettsial diseases », *Vet. Bull.*, 1968, **38** (9): 567-76.
- NEITZ (W. O.), « Eperythrozoonosis in sheep », *Onderstepoort J. vet. Sci.*, 1937, **9**: 9-30.
- NEITZ (W. O.), « The immunity in heartwater », *Onderstepoort J. vet. Sci.*, 1939, **13**: 245-83.
- NEITZ (W. O.) et ALEXANDER (R. A.), « The immunisation of calves against heartwater », *J. S. Afr. vet. med. Ass.*, 1941, **12**: 103-11.
- NEITZ (W. O.), ALEXANDER (R. A.) et ADELAAR (T. F.), « Studies on immunity in heartwater », *Onderstepoort J. vet. Sci.*, 1947, **21**: 243-52.
- PURCHASE (H. S.), « A simple and rapid method for demonstrating *Rickettsia ruminantium* (Cowdry, 1925) in heartwater brains », *Vet. Rec.*, 1945, **57**: 413-14.
- RAKE (G.), ALEXANDER (R.) et HAMRE (D. M.), « The relationship of the agent of heartwater fever - *Rickettsia ruminantium* », *Science*, 1945, **102**: 424-25.
- RAMISSE (J.) et UILENBERG (G.), « Conservation d'une souche de *Cowdria ruminantium* par congélation », *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1970, **23** (3): 313-16.
- RAYNAUD (J. P.), « Prospection des hématozoaires et tiques de bovins à Madagascar. I. - Recherches dans la province de Tananarive », *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1962, **15** (2): 137-45.
- RAYNAUD (J. P.) et UILENBERG (G.), « Prospection des hématozoaires et tiques de bovins à

- Madagascar II. - Recherches complémentaires et conclusions », *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1962, **15** (2) : 147-53.
23. TUOMI (J.), « Punkin levittämien patogeenisten riketsian kaltaisten organismien asema mikrobien joukossa. (Taxonomic position of pathogenic, tick-borne *Rickettsia*-like organisms) », *Suomen Eläinlääkäri-lehti*, 1966, **72** : 414-22.
24. UILENBERG (G.), « Notes sur les hématozoaires et tiques des animaux domestiques à Madagascar », *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1964, **17** (3) : 337-59.
25. UILENBERG (G.), « Notes sur les babésioses et l'anaplasmose des bovins à Madagascar. I. - Introduction. Transmission », *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1968, **21** (4) : 467-74.
26. UILENBERG (G.), « Notes sur les babéioses et l'anaplasmose des bovins à Madagascar. V. - Immunité et prémunition. Epizootologie », *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1970, **23** (4) : 439-54.
27. WEISS (K. E.), HAIG (D. A.) et ALEXANDER (R. A.), « Aureomycin in the treatment of heartwater », *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1952, **25** : 41-50.