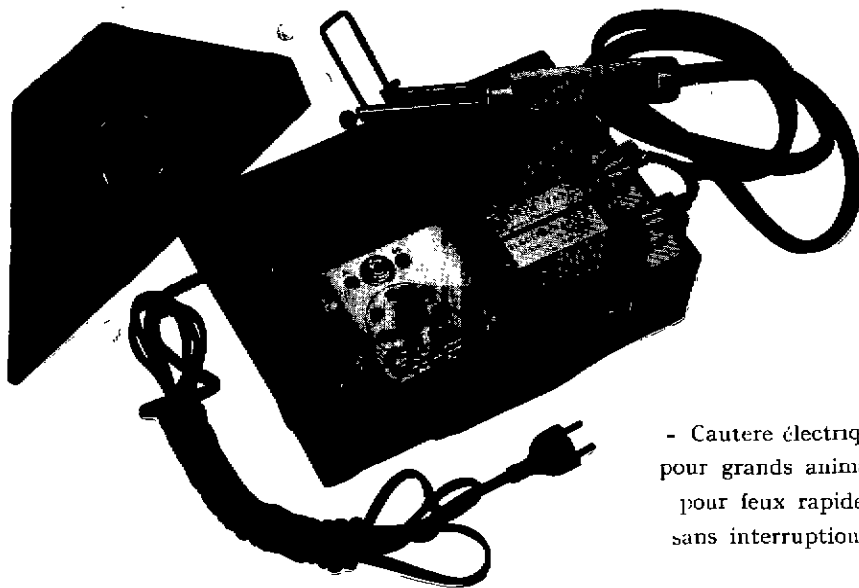


# SOMMAIRE N° 1 — 1965

## TRAVAUX ORIGINAUX

J. MONNIER (M <sup>me</sup> ). — Essai d'entretien de cellules épithéliales de reins de bovins par passages répétés .....	1
J. J. RIBOT et J. GILIBERT. — Titrages de virulence du vaccin anticharbonneux sur souris. Résultats expérimentaux et application pratique ..	9
J. CHAMBRON. — La brucellose bovine au Sénégal .....	19
M. GRABER. — Etude dans certaines conditions africaines de l'action antiparasitaire du Thiabendazole sur divers helminthes des animaux domestiques. I. Helminthes du zébu .....	39
S. GRETILLAT. — Valeur schistosomicide d'un nouveau dérivé aminonitrothiazole le CIBA 32.644/Ba ou ANT. ....	59

(Voir suite page III)



- Cautere électrique  
pour grands animaux  
pour feux rapides  
sans interruption -

**INSTRUMENTS DE CHIRURGIE MORIN**

**15. AVENUE BOSQUET - PARIS-VII<sup>e</sup>**

## Sommaire (Suite)

G. UILENBERG. — Note sur les <i>Eperythrozoon</i> des bovins à Madagascar.....	73
G. UILENBERG. — Sur la pathogénie des formes cérébrales des Babésioses bovines à Madagascar .....	83
G. UILENBERG. — Note sur la sensibilité de la tique <i>Otobius Megnini</i> (Duges, 1883) (Argasidae) à différents insecticides .....	89
J. BALIS. — L'influence de quelques corps chimiques sur la survie <i>in vitro</i> de <i>Trypanosoma evansi</i> . I. Acides aminés et quelques-uns de leurs dérivés ..	95
GAULIER. — Premières notes sur la composition en acides aminés des aliments destinés aux animaux domestiques à Madagascar .....	101

## EXTRAITS-ANALYSES

Maladies à virus (n° 1 et 2).....	109
Peste bovine (n° 3 et 4).....	110

(Voir suite page V)

**ÉTUDES**

de toutes installations

**d'abattoirs frigorifiques****Société d'Études Techniques, Industrielles et Frigorifiques**

Société à Responsabilité Limitée. Capital : 60.000 F.

**SÉTIF**17, Rue de Clichy, 17 — Paris-9<sup>e</sup> — Pigalle 39-20

Sommaire (Suite et fin)

Maladies microbiennes (n° 5 et 6).....	111
Mycoplasmoses (n° 7 à 12).....	111
Trypanosomoses (n° 13 à 19).....	114
Mycoses (n° 20 à 24).....	116
Parasitologie (n° 25 à 31).....	118
Entomologie (n° 32).....	122
Pathologie générale (n° 33 et 34).....	122
Chimiothérapie (n° 35 et 36).....	123
Technique de laboratoire (n° 37 à 40).....	124

INFORMATIONS GÉNÉRALES. — COMMUNIQUÉ

**THE SEMEN OF ANIMALS AND ARTIFICIAL INSEMINATION**

Edited by J. P. MAULE

A comprehensive and up-to-date review of progress in the artificial insemination of farm livestock, including poultry, dogs and laboratory animals

420 pp. 2000 references. 33 illustrations. Price: £ 3 or \$ 9.00

Technical Communication N° 15 of the Commonwealth Bureau of Animal Breeding and Genetics, Edinburgh

Orders may be placed with any major bookseller or sent to

Commonwealth Agricultural Bureaux, Central Sales Branch, Farnham Royal, Bucks., England



**GRANDE SOURCE**  
pour les reins

lithiases urinaires  
(urique, oxalique,  
phosphatique),  
coliques néphrétiques,  
albuminuries légères  
des arthritiques,  
albuminuries résiduelles,  
colibacillose urinaire,  
goutte, arthritisme,  
obésité, cellulite...

**VITTEL**

Station de la Cure de détente  
et du Bilan de santé  
(Centre d'Exploration Fonctionnelle)  
SAISON DU 20 MAI AU 15 SEPTEMBRE  
agrée par la sécurité sociale

RENSEIGNEMENTS: Stédes Eaux Minérales  
de Vittel (Vosges) tél. 3  
ou 44 av. George-V PARIS 8e tél. ELY 95-33

MP

# Essai d'entretien de cellules épithéliales de reins de bovins par passages répétés et modification du milieu nutritif

## Note préliminaire

Mme Josette MONNIER-CAMBON

### RÉSUMÉ

Il a été possible d'effectuer avec succès 27 passages de cellules épithéliales de rein de bovin durant une période de quatre mois.

La vitesse de croissance des cellules s'est améliorée du 1<sup>er</sup> passage au 5<sup>e</sup> et une modification du milieu de culture a permis de la maintenir jusqu'au 20<sup>e</sup>. Du 20<sup>e</sup> passage au 27<sup>e</sup>, la vitalité des cellules dans ce même milieu est allée en diminuant. Au 28<sup>e</sup> passage, le tapis cellulaire n'a pu arriver à recouvrir que 5 pour cent de la boîte de Roux.

Cette lignée cellulaire au 11<sup>e</sup> passage et 13<sup>e</sup> passage s'est montrée utilisable pour la croissance et le titrage du virus bovipestique. La souche Kabete « O » aussi bien que la souche « B » Dakar donnent des lésions identiques à celles observées sur des cellules de 1<sup>re</sup> explantation et surtout un titre égal.

Une étude des chromosomes réalisée sur des cellules du 10<sup>e</sup> passage a permis de constater que le nombre modal n'était pas modifié et que la morphologie ne paraissait pas altérée par rapport à celle des cellules de 1<sup>re</sup> explantation.

L'application de la technique de culture cellulaire pour la croissance ou l'isolement d'un virus tant dans le domaine de la recherche que dans celui du diagnostic, devient de plus en plus fréquente et il est évident que le fait de pouvoir bénéficier d'un matériel à jour fixe, est un avantage indiscutable. L'objet de cette étude a donc été d'essayer d'obtenir une lignée cellulaire par passages répétés de cellules épithéliales en notant les conditions particulières, s'il y a lieu, du développement.

### MATÉRIEL

La suspension cellulaire de reins de foetus\* bovin n° 68 présentant une grande facilité de culture, le tapis cellulaire atteint 95 p. 100 en 30 h sur une boîte de Roux, est retenue pour être à l'origine de cet essai.

### TECHNIQUE

#### 1<sup>o</sup> Préparation des cellules de 1<sup>re</sup> explantation

Les reins d'un foetus bovin (7 mois environ) sont prélevés aseptiquement. La substance corticale est hachée finement à l'aide de scalpels, lavée trois fois dans une solution tamponnée salée (PBS)\*\* et mise au contact d'une solution de trypsine Difco à 0,3 p. 100 en Hanks BSS\*\*\*. Après une prétrypsination de 20 mn à la température du laboratoire, la trypsination proprement dite est conduite à + 4° pendant 5 h. La trypsine est ensuite séparée par centrifugation.

\* Les embryons n'étant utilisés qu'agés d'au moins trois mois et plus, le terme « foetus » est préféré. Conf. BLIN et FOURNIER (1).

\*\* PBS = phosphate buffer solution (Dulbecco).

\*\*\* BSS = balanced salt solution.

Le culot cellulaire est lavé et mis en culture à raison de 1 volume pour 250 dans du Hanks LAYE\* (pH 7,2) auquel on ajoute 10 p. 100 de sérum de veau (importé de France) ainsi que des antibiotiques, pénicilline 150 U. l., streptomycine 150  $\gamma$  et mycostatine 100 U. l. par ml. Après répartition, les cultures sont incubées à 37°.

Les renouvellements ultérieurs de milieu sont effectués tous les 2 ou 3 jours à l'aide du même milieu, mais la proportion de sérum est ramenée à 5 p. 100 de sérum de bœuf (importé de France) au 1<sup>er</sup> changement et 2 p. 100 pour les suivants. Le pH est porté de 7,2 à 7,4 par adjonction d'une solution de bicarbonate. Cette méthode a été exposée plus en détail dans un précédent article (2).

## 2° Obtention de sub-culture

Huit jours après la mise en culture, le tapis d'un flacon de 250 ml est lavé trois fois avec une solution de trypsine Difco à 0,3 p. 100 en solution salée, sans calcium ni magnésium (CMFS). Au dernier lavage, le flacon incliné est placé à l'étuve à 37° pendant quelques mn de telle sorte que la quantité infime de trypsine résiduelle imprègne le tapis cellulaire, et, pour éviter toute dessiccation, la trypsine est passée sur le tapis cellulaire par inclinaisons répétées du flacon. Dès que les cellules sont décollées, elles sont remises en suspension dans une partie aliquote du milieu où elles seront cultivées (2 fois le volume initial). Pour ce premier passage, la composition est la même que pour la mise en culture de cellules de première explantation. Il est très important de pipetter et repipetter plusieurs fois afin de diviser le plus possible les amas cellulaires : leur croissance sera d'autant plus rapide que les cellules auront été plus isolées.

## RÉSULTATS

### I. Croissance cellulaire.

Cinq jours après, la croissance a été telle qu'il est possible de refaire un passage et jusqu'au cinquième passage, ce délai de cinq jours sera observé. A partir de celui-ci, trois jours seulement sont nécessaires pour obtenir un tapis complet.

\* LAYE = hydrolysate de lactalbumine et extrait de levure.

En même temps, on note que les cellules deviennent plus rondes et que leur croissance est améliorée en modifiant les conditions du milieu.

### a) Adjonction de bicarbonate.

Au jour J, trypsination d'un flacon de 250 ml (5<sup>e</sup> passage) et mise en culture dans 2 flacons. Le premier, dans les conditions habituelles, le deuxième après adjonction de bicarbonate afin d'obtenir un pH aux environs de 7,4-7,5.

Au jour J + 1, le tapis est le suivant\* :

flacon sans bicarbonate . . . . . 30 p. 100

flacon avec bicarbonate . . . . . 95 p. 100

Au jour J + 2 :

flacon sans bicarbonate . . . . . 40 p. 100

flacon avec bicarbonate . . . . . 100 p. 100

### b) Augmentation de la teneur du milieu en sérum.

Les cellules obtenues par trypsination d'un autre flacon du 5<sup>e</sup> passage sont d'abord portées à la dilution habituelle de 1 volume pour 2 volumes. La moitié de la suspension obtenue est distribuée, l'autre moitié est encore diluée à volume égal et mise en culture en quantité convenable. La proportion de sérum dans ce dernier milieu est augmentée à 12 p. 100 et 48 h après, les deux cultures ont atteint également 100 p. 100 de développement.

Au 7<sup>e</sup> passage, quelques temps de croissance sont relevés :

— A 13 h, trypsination du 6<sup>e</sup> passage et mise en culture dans un flacon de 250 ml et de tubes Leighton.

— A 19 h 30, le tapis est le suivant :

45 p. 100 dans les tubes,

60 p. 100 dans le flacon.

— A 7 h le lendemain :

80 p. 100 dans les tubes,

95 p. 100 dans le flacon.

On peut donc constater une croissance extrêmement rapide dans les premières heures, et, contrairement à ce qui se passe habituellement à un tel niveau de passage, on n'observe pas une majorité de fibroblastes. L'ensemble est bien formé de cellules épithéliales (voir photos 1, 2 et 3).

\* Le pourcentage est évalué de façon approximative en effectuant une moyenne des résultats donnés par plusieurs lectures au microscope.



Fig. 1. — Culture de cellules épithéliales de rein de fœtus bovin au 6<sup>e</sup> jour, 7<sup>e</sup> passage, X 160.



Fig. 2. — Culture de cellules épithéliales de rein de fœtus bovin au 3<sup>e</sup> jour, 7<sup>e</sup> passage, X 400.

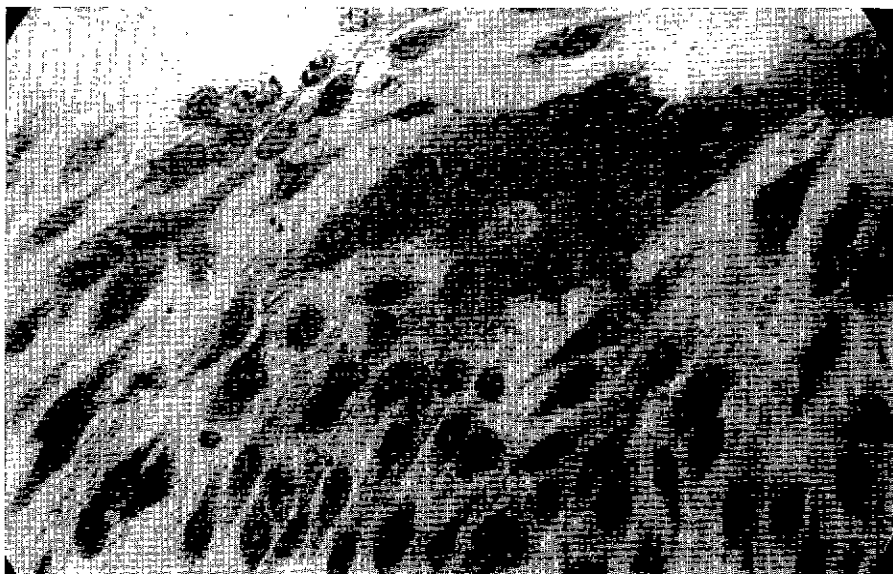


Fig. 3. — Culture de cellules épithéliales de rein de fœtus bovin (10<sup>e</sup> passage) infectées par le virus bovipestique Kabete « O » 4<sup>e</sup> jour à 37° — Cellules multinucléées avec vacuole — X 400.

Malheureusement, les passages ne sont pas poursuivis au-delà du 28<sup>e</sup>. Avant le 20<sup>e</sup> passage, la vitalité des cellules est telle qu'un flacon de 250 ml permet la mise en culture de 4 flacons de même volume. Mais depuis le 23<sup>e</sup> passage, la faculté de reproduction diminue et une composition convenable du milieu, peut-être encore à modifier, n'a pu être étudiée par suite de circonstances indépendantes de notre volonté, les cellules fibroblastiques deviennent très abondantes.

Au moment où la vitesse de croissance des cellules était maxima, une étude est entreprise

sur la valeur qualitative de ces cellules. Elle porte sur :

- la culture du virus bovipestique,
- le comportement génétique.

## II. Culture et titrage du virus bovipestique.

Des titrages comparés de virus sont effectués en utilisant la souche bovipestique « B » Dakar.

- virus sur cellules de 1<sup>re</sup> explantation,
- virus sur cellules du 11<sup>e</sup> passage titré à la fois sur cellules de 1<sup>re</sup> explantation et sur cellules du 13<sup>e</sup> passage. (Tableau).

Virus	Cultivé sur cellules 1 <sup>ère</sup> explantation		Cultivé sur cellules 11 <sup>ème</sup> passage	
	Titre (DI <sub>50</sub> Ct) sur		Titre (DI <sub>50</sub> Ct) sur	
	cellules 1 <sup>ère</sup> explantation	cellules 13 <sup>ème</sup> passage	cellules 1 <sup>ère</sup> explantation	cellules 13 <sup>ème</sup> passage
"B"	10 <sup>-5,5</sup>	10 <sup>-5,3</sup>	10 <sup>-5,2</sup>	10 <sup>-5,3</sup>



La souche bovine Kabete « O » cultivée sur cellules de 1<sup>re</sup> explantation et sur cellules du 13<sup>e</sup> passage, donne dans les deux cas un titre de  $10^{-5,2}$ .

La lignée cellulaire obtenue paraît avoir gardé vis-à-vis du virus bovine, son caractère réagissant, tout en ayant multiplié son facteur de croissance. S'agit-il d'une mutation ? Il est difficile d'affirmer ou d'infirmer ce terme, tous les moyens d'étude ne pouvant être envisagés. L'étude des chromosomes entreprise au 10<sup>e</sup> passage va cependant pouvoir nous donner une idée sur le matériel génétique de cette cellule.

### III. Etude des chromosomes.

La première expérience réalisée sur des cellules ayant à peine 24 h s'avère nulle. Aucun chromosome n'est sorti sauf sur les lames comportant des cellules normales et dont la croissance se situait entre 48 h et 3 j.

La deuxième expérience est réalisée sur des cellules de presque 3 j et cette fois avec succès. A ce propos se pose le problème de la reproduction, pourtant si rapide dans les premières heures.

Au jour J, le 9<sup>e</sup> passage est trypsiné et mis en culture notamment dans 10 tubes Leighton. Au jour J + 2 les milieux sont changés en diminuant la quantité totale (1 ml au lieu de 2) et en augmentant la teneur en sérum du milieu (20 p. 100).

6 h après, 6 tubes reçoivent 3 gouttes d'extrait embryonnaire de poussin. Au jour J + 3, on introduit une goutte à 2 gouttes d'une solution de colchicine à 0,4 mg p. 100 dans chaque tube (1). On laisse 4 h à l'étuve à 37° C. Ce produit, ainsi qu'il est connu, a pour effet de bloquer la mitose en métaphase. Au bout de ce temps, on vide le milieu et on ajoute par tube 1 ml d'un mélange réchauffé à 37 °C d'eau distillée, d'eau physiologique et de hyaluronidase. Les tubes sont agités légèrement, laissés 35 mn à la température du laboratoire. Il se produit alors un éclatement des cellules. C'est ensuite la fixation au Carmoy (alcool absolu, chloroforme, acide acétique), puis l'hydrolyse dans un bain-marie à 60° en présence d'acide chlorhydrique normal. La coloration se fait au bleu de toluidine, le

montage au baume du Canada sirupeux. Parallèlement, une série de lamelles de 1<sup>re</sup> explantation est examinée.

Immédiatement après séchage, les préparations sont observées au microscope. On repère les plaques sur lesquelles les chromosomes sont nets et séparés afin d'obtenir des photographies suffisamment démonstratives. Après agrandissement de celles-ci, les chromosomes sont découpés un à un, groupés par paire et par ordre décroissant de taille.

Une comparaison de plaques de chromosomes résultant des cellules de 1<sup>re</sup> explantation et du 10<sup>e</sup> passage montre que, malgré l'entretien en milieu artificiel et 10 passages, ni le nombre, ni la morphologie des chromosomes ne semblent altérés. Les figures « 4 » et « 5 » montrent respectivement les chromosomes en métaphase de cellules épithéliales de rein de fœtus bovin de 1<sup>re</sup> explantation et du 10<sup>e</sup> passage.

## CONCLUSION

Il a été possible d'effectuer avec succès 27 passages de cellules épithéliales de rein de bovin durant une période de 4 mois.

La vitesse de croissance des cellules s'est améliorée du 1<sup>er</sup> passage au 5<sup>e</sup> et une modification du milieu de culture a permis de la maintenir jusqu'au 20<sup>e</sup>. Du 20<sup>e</sup> passage au 27<sup>e</sup>, la vitalité des cellules dans ce même milieu est allée en diminuant. Le 28<sup>e</sup> passage n'a pu arriver qu'à 5 p. 100 de tapis.

Cette lignée cellulaire au 11<sup>e</sup> passage et 13<sup>e</sup> passage s'est montrée utilisable pour la croissance et le titrage du virus bovine. La souche Kabete « O » aussi bien que la souche « B » Dakar donnent des lésions identiques à celles observées sur ces cellules de 1<sup>re</sup> explantation et surtout un titre égal.

Une étude des chromosomes réalisée sur des cellules du 10<sup>e</sup> passage a permis de constater que le nombre modal n'était pas modifié et que la morphologie ne paraissait pas altérée par rapport à celle des cellules de 1<sup>re</sup> explantation.

*Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire  
des Pays tropicaux  
Laboratoire National  
de l'Elevage et de Recherches Vétérinaires  
Dakar-Hann*

(1) Technique pratiquée au laboratoire d'hygiène de la Faculté de Médecine (Prof. agrégé BAYLET et Mme GRATTEPANCHE que nous remercions de leurs conseils).



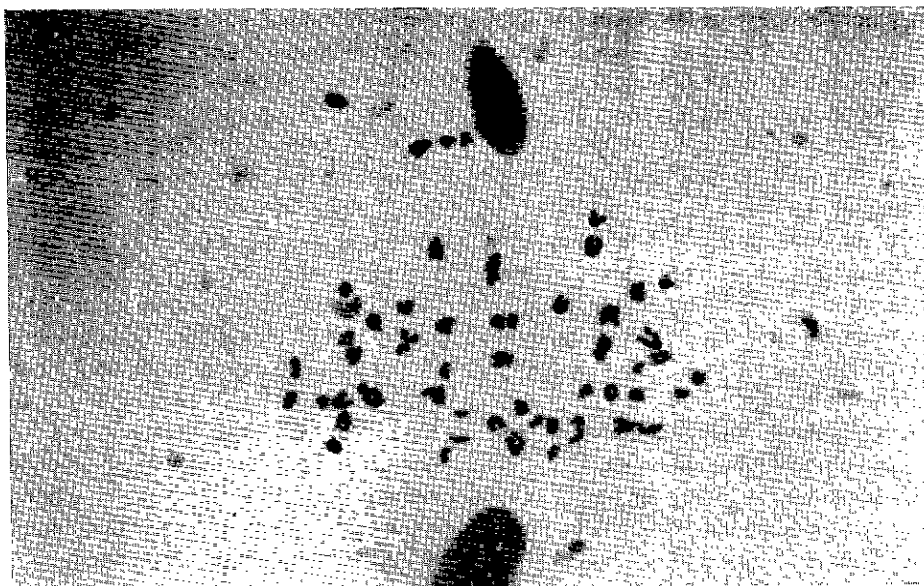


Fig. 4. — Chromosomes en métaphase de cellules épithéliales de rein de fœtus bovin de 1<sup>re</sup> explantation.

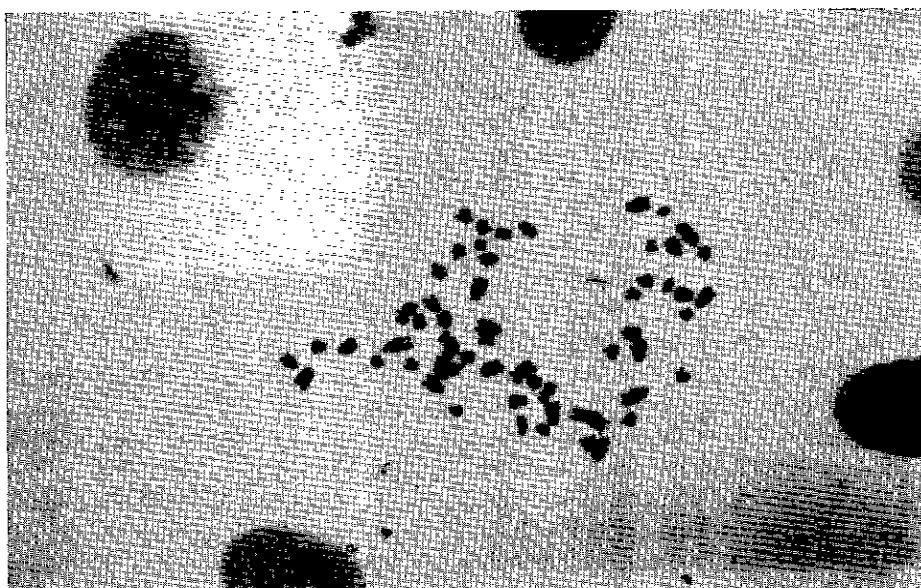


Fig. 5. — Chromosomes en métaphase de cellules épithéliales de rein de fœtus bovin de 1<sup>re</sup> explantation. 10<sup>e</sup> passage.

## SUMMARY

**Attempt to maintain bovine kidney cells by repeated passages and modification of the nutritive medium. Preliminary note.**

It was possible, to successfully carry out 27 successive passages of bovine kidney epithelial cells over a period of four months.

The rate of growth of the cells was improved from the 1<sup>st</sup> to the 5<sup>th</sup> passage and a modification of the culture medium enabled one to maintain it up to the 20<sup>th</sup>. From the 20<sup>th</sup> to the 27<sup>th</sup> passage, the vitality of the cells in this same medium progressively decreased. The 20<sup>th</sup> passage produced 5 p. 100 of the covering growth only.

This strain, at the 11<sup>th</sup> and 13<sup>th</sup> passage, proved useful for the growth and assay of the rinderpest virus. The Kabele « O » strain as well as the Dakar « B » strain produced lesions identical to those observed on cells of primary culture ; they gave also a same TCID<sub>50</sub> titer.

The study of the chromosomes carried out on cells derived from the 10<sup>th</sup> passage enabled one to ascertain that the modal number had not changed and that the morphology did not appear to be modified as compared to that of the cells of the 1<sup>st</sup> explant.

## RESUMEN

**Ensayo de conservación de células epiteliales de riñón de bovinos mediante repetidos pasajes y modificación del medio nutritivo. Nota preliminar.**

Se tuvo éxito al efectuar 27 pasajes de células epiteliales de un riñón bovino durante cuatro meses.

La velocidad de crecimiento de las células está mejorada del 1<sup>er</sup> pasaje al 5<sup>o</sup>, y una modificación del medio de cultivo permitió mantenerla hasta el 20<sup>o</sup>. Del 20<sup>o</sup> pasaje al 27<sup>o</sup>, la viabilidad de las células en este mismo medio fué disminuyendo. Con el 20<sup>o</sup> pasaje, la alfombra celular no pudo cubrir más que 5 por 100 de la superficie de la caja de Roux.

Esta línea celular con el 11<sup>o</sup> y el 13<sup>o</sup> pasaje se encontró utilizable para el crecimiento y la dosificación del virus bovipestivo. La cepa Kabele « O » así como la cepa « B » Dakar dan lesiones idénticas a las observadas en células de primer cultivo y sobretodo un título semejante.

Un estudio de los cromosomas realizado en células del 10<sup>o</sup> pasaje permitió comprobar que el número modal no estaba modificado y que la morfología no parecía alterada con respecto a la de las células de primera 'explantación.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BLIN (P. C.) & FOURNIER (C.). — **Diagnose de l'âge intra-maternel et périodisation du développement dans l'espèce bovine.** *Economie et Médecine animales* n° 1, 12-32, 1963.
2. GILBERT (Y.) et MONNIER (J.). — **Adaptation d'une souche de virus bovipestique à la culture cellulaire. Premiers résultats.** *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, 1962, 15 (4), 311-20.
3. FERGUSSON (J.) & WANSBROUGH (A.). — **Isolement et culture à long terme d'une lignée de cellules diploïdes de mammifères (Isolation and long term culture of diploid mammalian cell lines).** *Cancer Res.*, 22, 556-562, 1962.
4. GRASSE (P. P.). — **Traité de zoologie.** T. XII.
5. MEDDA (A.), MUNTONI (S.) et LODDO (B.). — **Caractéristiques de cellules rénales bovines propagées sérialelement *in vitro* (caratteristiche di cellule renali bovine propagate serialmente *in vitro*).** (Nota preventiva). *Vét. ital. suppl.* n° 6, 1962, 588-89.
6. TIJO (J. H.) & PUCK (T.). — **Génétique des cellules somatiques de mammifères II. Constitution chromosomique des cellules en culture de tissu (Genetics of somatic mammalian cells. II. Chromosomal constitution of cells in tissue culture).** *Journal of experimental Medicine*, vol. 108, n° 2, 259-268, 1958.

# Titrages de virulence du vaccin anticharbonneux sur souris

## Résultats expérimentaux et application pratique

par J. J. RIBOT, J. GILIBERT  
avec la collaboration technique de J. A. ANDRIANAVOLONA

### RÉSUMÉ

Une nouvelle méthode de titrage de vaccin anticharbonneux est exposée.

Le titrage est effectué sur souris. Quinze souris par dilution sont utilisées, pour tester la virulence de Spores diluées au 1/15 et au 1/20<sup>e</sup>. La moyenne du temps de mort des 10 premières souris sert à calculer la virulence de la série vaccinale.

Une série de référence déjà éprouvée est prise comme étalon, pour calculer la dilution finale du vaccin.

La moyenne du temps de mort des souris, avec la série de référence est de 45,3 heures. Une série à tester aura une virulence équivalente à la série de référence, si la moyenne des temps de mort est intérieure à l'intervalle  $45,3 \pm 20,9$ . Elle aura une virulence différente si la moyenne est extérieure à cet intervalle.

Dans ce cas la dilution d'emploi du vaccin est calculée par une simple règle de trois.

### I. — INTRODUCTION

Depuis 1937 (1) les bovins et ovins sont immunisés annuellement à Madagascar contre le charbon bactérien au moyen de spores de *bacillus anthracis* de souche atténuée, diluées en solution gélosée et alunée.

Une injection de 1/4 de ml en sous-cutanée à la queue procure une immunité précoce, solide et relativement durable (5). La souche employée, dite A. 43, a pratiquement la même virulence que celle du premier vaccin Pasteur (3). Cette souche est conservée sous forme de spores diluées en eau physiologique glycinée.

Les spores sont obtenues par culture de la souche A. 43 sur gélose en boîte de Roux, après une incubation de 8 jours à 37° et 8 jours à la température du Laboratoire.

Après vérification d'une bonne sporulation, on récolte dans de l'eau physiologique (25 cc par

boîte de Roux) à laquelle on ajoute 25 cc de glycérine dès que la récolte est effectuée.

Les spores en suspension dans l'eau physiologique glycinée, sont agitées et réparties en flacons de 125 cc. Elles serviront ensuite par dilution dans une solution gélosée alunée après vérification (inoculation à des animaux d'expérience) à préparer le vaccin.

Les boîtes ensemencées et récoltées à la même date constituent une série vaccinale. Chaque série est vérifiée séparément.

La vérification se fait un mois ou plus après la récolte.

En vue de cette vérification, les spores sont diluées dans une solution gélosée alunée, la dilution employée pour le vaccin est celle qui tue le cobaye de 300 g à 350 g en 72 h environ à la dose de 1/4 de ml en sous-cutanée, un ou 2 cobayes sont utilisés par dilution. Malheureusement, très souvent les résultats de la vérification sur

cobaye sont aberrants, un cobaye meurt en 60 h le 2<sup>e</sup> en 80 h, très souvent la dilution au 1/20 tue plus vite que la dilution au 1/15, parfois un cobaye ne meurt pas.

## 2. — OBJET DE LA RECHERCHE

L'objet du présent travail a été de trouver une méthode de vérification, permettant d'éliminer dans la mesure du possible ces résultats aberrants. L'augmentation du nombre des animaux en expérience doit en principe, constituer une méthode plus valable. Le cobaye est assez cher, il ne se reproduit pas très vite, la souris par contre se multiplie rapidement, son prix de revient n'est pas très élevé, aussi est-ce cet animal qui a été choisi pour vérifier la virulence des spores vaccinales. Compter les spores entrant dans le vaccin pourrait constituer une méthode de vérification, mais, d'une série à l'autre, la virulence peut varier, car la durée de séjour des spores en eau glycinée, avant vérification varie de 1 à plusieurs mois. En effet le vaccin est préparé à la demande et une réserve de spores est toujours gardée pour faire face à une commande imprévue. La vérification se fait, d'une façon générale, peu de temps avant la fabrication du vaccin. Le vaccin livré à l'utilisateur se trouvera être en fait la dilution qui présentera les caractères de virulence signalés plus haut (autrefois, mort du cobaye en 72 h environ, et maintenant étude du temps de mort des souris). En effet l'expérimentation sur animal semble le meilleur procédé de vérification, qui n'exclut d'ailleurs pas la numération des spores.

La souche A 43, à partir de laquelle on obtient les spores, est, comme déjà dit, conservée en eau physiologique glycinée. Chaque année sa virulence est vérifiée. Le bouillon de 24 h à la dose de 1/2 ml en ID et S. C. ne doit pas tuer le lapin, par contre 1/4 ml de la culture de 24 h en ID ou SC doit tuer le cobaye entre 56 et 76 h. Si la virulence a varié on peut augmenter par passage sur animal, ou la diminuer par repiquage sur gélose pauvre.

Cette virulence propre de la souche obtenue par des germes en bouillon, est à différencier de la virulence des spores récoltées en eau physiologique glycinée. Ce sont les spores qui serviront à fabriquer, par dilution en solution

gélifiée alunée, un vaccin, qui doit présenter lui-même ainsi que nous l'avons expliqué plus haut un certain caractère de virulence, sur les animaux de laboratoire. D'une façon générale, la dilution vaccinale se situe entre le 1/15 et le 1/20. C'est l'étude sur les souris de la virulence de la dilution vaccinale qui a été effectuée.

Afin de simplifier les manipulations une seule solution d'alun (\*) était préparée à 3 p. 100 et la dilution de spores ainsi effectuée :

1/15	}	2.000 ml solution gélifiée à 2 p. 100
		800 ml solution alunée (*) à 3 p. 100
		200 ml spores conservées en glycérine et eau physiologique
1/20	}	2.000 ml solution gélifiée à 2 p. 100
		850 ml solution alunée à 3 p. 100
		150 ml spores conservées en glycérine et eau physiologique.

Donc pour un volume total de 3 l de solution vaccinale, 2 variables entraînent en jeu :

- a) le nombre de spores,
- b) la quantité d'alun, qui se retrouvait être de 0,8 p. 100 pour la dilution au 1/15 soit 24 g pour 3 l et de 0,85 p. 100 pour la dilution au 1/20 soit 25,5 g.

Ce mode de dilution a permis de poser les bases d'une étude, qui sera poursuivie ultérieurement sur l'influence de la quantité d'alun et la virulence résultante (4).

C'est afin d'harmoniser les titrages, de pouvoir les multiplier sur un grand nombre d'animaux, et à la suite des travaux de Norman G. Roth, Ira A. de Armon, et David H. Lively (2) que la souris a été choisie.

La souris est d'un emploi commode pour plusieurs raisons :

- 1) économie ;
- 2) facilité de constituer des lots homogènes ;
- 3) possibilité d'emploi d'un plus grand nombre d'animaux et, de ce fait, étude statistique de la virulence ;
- 4) suppression ou, tout au moins, diminution, sur un ensemble d'animaux, du facteur idiosyncrasique.

\* Il s'agit d'alun cristallisé de formule  $(\text{SO}_4)_3 \text{Al}_2$ ,  $\text{SO}_4 \text{ k } 2, 24 \text{ H}_2 \text{ O}$ .

### 3. — TRAVAUX D'APPROCHE

a) Détermination du nombre de souris nécessaires pour un titrage valable.

Le 1<sup>er</sup> temps de ce travail a été de déterminer le nombre moyen d'animaux nécessaires pour effectuer un titrage valable et dont les résultats seraient statistiquement exploitables.

La dose injectée est de 0,25 ml en Intra péritonéale à la souris, et de 0,25 ml par voie sous-cutanée au cobaye.

Pour chaque dilution 20 souris et 2 cobayes ont été employés et les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous. Bien entendu après la mort, il a été vérifié que les animaux sont morts de charbon, par recherche et coloration au gram du frottis de sang du cœur, autopsie et ensemencement.

Les animaux étaient contrôlés pendant la journée toutes les heures, la nuit aussi fréquem-

ment que possible au moins une fois entre 21 h et 6 h du matin (tout au moins les jours de semaine, le dimanche matin et soir, quelquefois plus.

Du tableau I, on peut tirer comme première conséquence que :

1) dans tous les cas de 1 à 5 souris sur 20 ne meurent pas.

2) Il est possible d'établir une courbe de répartition par classes du temps de mort. L'observation de cette courbe montre que les 10 premières mortalités sont groupées, alors que les mortalités suivantes s'étalent d'une façon assez anarchique.

En conséquence, il a semblé rationnel pour les titrages suivants, de prendre des lots de 15 souris et de considérer les temps de mort des 10 premiers animaux. Les résultats indiqués sur le graphique I ont alors été obtenus.

## COURBE DE REPARTITION

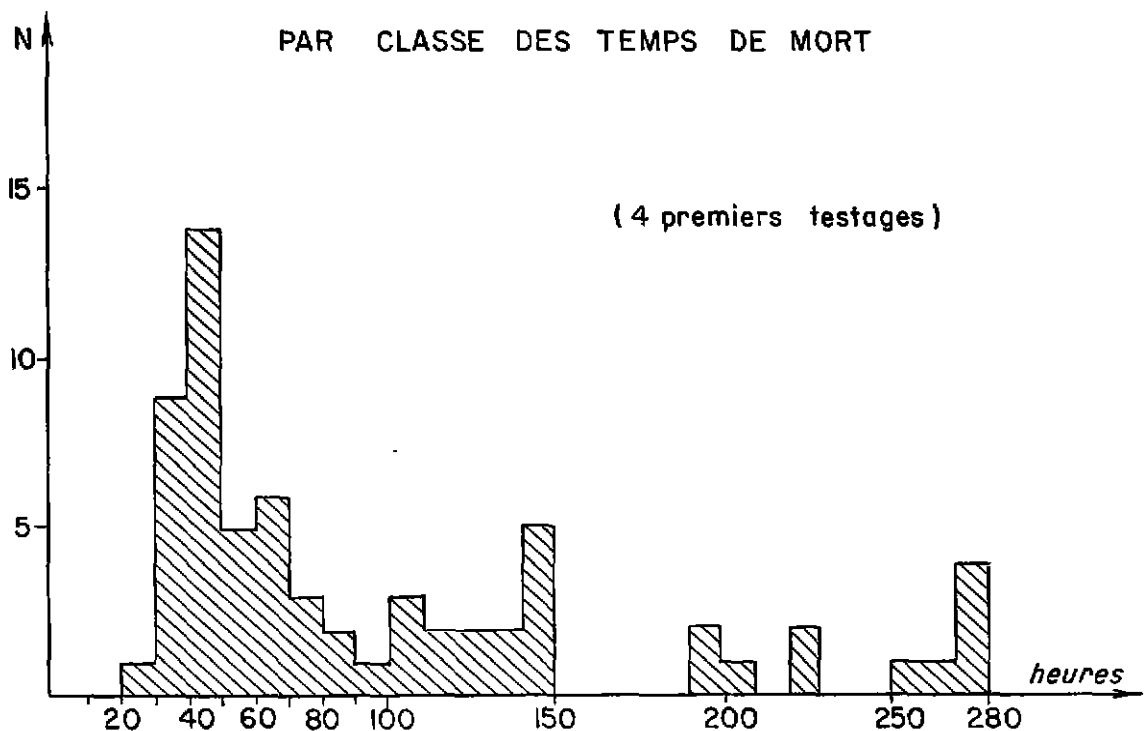


TABLEAU N° I

Détermination du nombre de souris nécessaires pour le titrage.

N° de série & date d'Inoculation	Dilution	Souris inoculées					Temps écoulé entre Inoculation et constat de mort en heures					Cobayes	Temps écoulé entre I&M
		1	2	3	4	5	25	33-37	33-37	33-37	33-37		
5/62 23 mars 1964	1/15 <sup>e</sup> taux d'Alun 0,8 p.100	1	2	3	4	5	25	33-37	33-37	33-37	33-37	207 g	68 H 80-84 H
		6	7	8	9	10	33-37	33-37	33-37	33-37	43		
		11	12	13	14	15	43	43	46	47	52	274 g	
		16	17	18	19	20	53	60	71	117			
5/61 23 mars 1964	1/20 <sup>e</sup> taux d'Alun 0,85 p.100	1	2	3	4	5	43	43	43	46	46	235 g	75 H 283 H
		6	7	8	9	10	60	60	61	75	82-85		
		11	12	13	14	15	124-133	142-147	142-147	193	250		
		16	17	18	19	20	266-278	266-278	21 j.				
6/62 mars 1964	1/15 <sup>e</sup> taux d'Alun 0,8 p.100	1	2	3	4	5	43	46	46	47	52	295 g	80-85H  pas mort
		6	7	8	9	10	53	60	60	120	124-138		
		11	12	13	14	15	202-207	217-235	217-235	257	266-278	315 g	
		16	17	18	19	20	266-278						
6/62 mars 1964	1/20 <sup>e</sup> taux d'Alun 0,85 p.100	1	2	3	4	5	33-37	46	46	52	73	224 g	92 H  142-152H
		6	7	8	9	10	96	100	107	107	113		
		11	12	13	14	15	124-138	142-147	142-147	142-147	191	370 g	
		16	17	18	19	20							



b) Influence de la concentration de l'alun.  
 Comparaison statistique des 10 premiers temps de mort pour les 2 dilutions :

Dilution 0,80 p. 100 :  $\bar{x} = 55,7$  ;  $S_m = 7,46$ .

Dilution 0,85 p. 100 :  $\bar{x} = 26,2$  ;  $S_m = 3,25$ .

$t = 2,75$ , la différence entre les deux lots est significative au seuil 0,05.

La dilution de l'alun a donc une grande importance dans la virulence.

c) Influence du poids des souris.

Dans le titrage suivant, pour une dilution au 1/15, 2 lots de souris ont été constitués. Un lot de 15 grosses souris de poids moyen 22 g et un lot

de souris plus jeunes, donc moins grosses de poids moyen 14 g, les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Comparaison statistique des 2 lots de souris :

Grosses souris =  $\bar{x} = 38,8$  ;  $S_m = 4,02$ .

Petites souris =  $\bar{x} = 28,5$  ;  $S_m = 1,58$ .

$t = 1,83$  ; la différence entre les 2 lots est donc significative au seuil de 0,10. Le calcul montre qu'il convient d'utiliser pour les expériences, des souris de taille moyenne et homogène (poids : 20 g de moyenne).

Nota = Chez le cobaye, sur deux animaux il est vrai, le plus gros est mort le premier.

TABLEAU N° II

Influence de la concentration de l'Alun

Série	Dilution	Souris inoculées	Temps de mort (en H)	cobayes inoculés	Temps de mort
Série 1/63 (Mai 1964)	1/15 taux Alun 0,80 p.100	15	26-39-41-49-51-	355 g	80 H
			51-53-67-67-113-	395 g	105 H
Série 1/63 (Mai 1964)	1/15 taux Alun 0,85 p.100	15	13-18-18-19-23-	251 g	20 H
			26-27-33-42-43-	340 g	49 H
			66-67-72-90-96-		

TABLEAU N° III

Influence du poids des souris.

N° Série Date Inoculation	Dilution	Souris inoculées	Temps écoulé entre inoculation et constat de mort (en heures)					Cobayes inoculés	Temps écoulé entre inoculation et constat de mort
			18	30	30	32	32 45		
Série 2/63 Juin 1964	1/15 taux Alun 0,85 p.100 grosses souris	15 poids moyen 22 gr	32	32	48	50	50	435 g	77 H
			45	45	67	67	67		
			50						
Série 2/63 Juin 1964	1/15 taux Alun 0,85 p.100 petites souris	15 poids moyen 14 gr	22	25	25	25	25	396 g	81 H
			30	30	32	32	32 45		
			32	32	32	71			
			45	45	45				



#### 4. — EXPLOITATION DES RÉSULTATS

a) Tableau des résultats, temps de mort des 10 premières souris.

Nota = Quand la mort d'une souris a été constatée après un intervalle de temps de plus d'une heure, nous avons pris comme temps de mort la moyenne entre les deux derniers contrôles.

b) Recherche de l'écart-type de l'erreur pour 1 cellule.

L'analyse totale des résultats donne pour l'ensemble des 8 cellules l'écart-type :

$$\text{erreur} = 39,75$$

Nota = Comparaison des  $s_e$  pour les dilutions 1/15 et 1/20.

Dilution 1/15

$$s_e = 45,43$$

Dilution 1/20

$$s_e = 33,62$$

Les  $s_e$  pour les dilutions au 1/15 et au 1/20 sont peu différents, nous aurons donc bien le droit de comparer les cellules 2 à 2.

TABLEAU N° IV

Temps de mort des 10 premières souris.

	Dilution 1/15				Dilution 1/20			
	Série 5/62	Série 6/62	Série 7/62	Série 1/63	Série 5/62	Série 6/62	Série 7/62	Série 1/63
	25	43	61	13	43	35	20	18
	35	46	67	18	43	46	55	24
	35	46	70	18	43	46	97	31
	35	47	73	19	46	52	107	35
	35	52	87	23	46	73	122	39
	35	53	87	26	60	96	125	42
	35	60	98	27	60	100	130	44
	35	60	114	33	61	107	186	44
	35	120	164	42	73	107	210	59
	43	131	250	43	84	113	312	67
<b>Totaux</b>	<b>348</b>	<b>658</b>	<b>1071</b>	<b>262</b>	<b>559</b>	<b>775</b>	<b>1364</b>	<b>403</b>
<b>Moyennes</b>	<b>34,8</b>	<b>65,8</b>	<b>107,1</b>	<b>26,2</b>	<b>55,9</b>	<b>77,5</b>	<b>136,4</b>	<b>40,3</b>
<b>Ecart Type</b>	<b>45,43</b>				<b>33,62</b>			

#### 5. — COMPARAISON DE DEUX SÉRIES

a) Cas général :

Pour comparer 2 séries quelconques (série 1 et série 2) ; nous allons comparer : les moyennes  $M_1$  et  $M_2$  des valeurs obtenues pour chaque série avec les dilutions au 1/15 et au 1/20 :

$$M_1 = \frac{m_{1(1/15)} + m_{1(1/20)}}{2}$$

et

$$M_2 = \frac{m_{2(1/15)} + m_{2(1/20)}}{2}$$

La différence entre les séries (1) et (2) sera considérée comme significative lorsque  $|M_1 - M_2|$  sera supérieur à  $t \times s_{M_1 - M_2}$ .

1) Valeur de  $s_{M_1 - M_2}$

$$\left. \begin{aligned} s_{M_1}^2 &= \frac{s_e^2}{4} \left( \frac{1}{10} + \frac{1}{10} \right) \\ s_{M_2}^2 &= \frac{s_e^2}{4} \left( \frac{1}{10} + \frac{1}{10} \right) \end{aligned} \right\} s_{M_1 - M_2}^2 = s_{M_1}^2 + s_{M_2}^2 = \frac{s_e^2}{10}$$

$$s_{M_1 - M_2} = \frac{se}{10} = \frac{39,75}{3,17} \quad s_{M_1 - M_2} = 12,50$$

2) Valeur de  $t$

On prend  $P = 0,10$ , ce qui donne  $t = 1,67$

3) Valeur de  $t_{s_{M_1 - M_2}}$

$$t_{s_{M_1 - M_2}} = 1,67 \times 12,50 = 20,9.$$

Les deux séries (1) et (2) seront considérées comme ayant des virulences différentes lorsque :

$$|M_1 - M_2| > 20,9$$

*Nota.* La valeur 20,9 est due d'une part à la dispersion des résultats à l'intérieur d'une colonne, d'autre part au nombre limité de séries testées (4 à ce jour) ; dans les années à venir, le nombre de séries testées va augmenter, la valeur de référence (20,9) va diminuer, et cette méthode de testage de virulence deviendra plus fine.

b) Série de référence.

La souche 5/62 a été choisie comme souche de référence. Elle a été effectivement employée à la dilution 1/15, sur environ 200.000 bovins au mois d'avril, et à ce jour aucun cas de charbon n'a été signalé. On peut donc considérer que cette virulence prise pour référence de vaccin, a les caractères d'un bon vaccin à savoir efficacité et innocuité sur l'espèce employée.

Les moyennes des 10 premiers temps de mort pour cette série sont :

$$\left\{ \begin{aligned} \text{dilution } 1/15 &= 34,8 \text{ h} \\ \text{dilution } 1/20 &= 55,9 \text{ h} \\ \text{moyenne générale} &= 45,3 \text{ h} \end{aligned} \right.$$

On considérera qu'une série à tester (S) est de même virulence que la série de référence (R) lorsque

$$|M_s - M_r| < 20,9$$

Dans ce cas, la série (S) sera employée à la dilution 1/15.

On considérera qu'une série (S) a une virulence différente de (R) lorsque

$$|M_s - M_r| > 20,9$$

Elle sera alors employée à la dilution.

$$\frac{1}{15} \times \frac{M_s}{M_r}$$

c) Comparaison avec la série de référence (5/62).

1) Série 5/62 et 7/62

$$M_{5/62} = \frac{34,8 + 55,9}{2} = 45,3 \text{ H}$$

$$M_{7/62} = \frac{107,1 + 136,4}{2} = 121,74$$

$$M_{7/62} - M_{5/62} = 76,44$$

$76,4 > 20,9$  les 2 séries sont différentes.

La série 7/62 est  $\frac{121,7}{45,3} \neq 2,7$  fois moins virulente

que la souche de référence (5/62) donc, dilution

$$\frac{2,7}{15} = \frac{2}{11}$$

2) Série 5/62 et 6/62.

$$m_{5/62} = 45,3 \text{ H}$$

$$m_{6/62} = 71,6 \text{ H}$$

$$m_{6/62} = m_{5/62} = 26,3 \text{ H.}$$

$26,3 > 20,9$  les 2 séries sont différentes.

La série 6/62 est  $\frac{71}{45} \neq 1,5$  fois moins virulente

que la série de référence, donc dilution :

$$\frac{1,5}{15} = \frac{1}{10}$$

3) Série 5/62 et 1/63 :

$$m_{5/62} = 45,3 \text{ H}$$

$$m_{1/63} = 33,2 \text{ H}$$

$$m_{5/62} = m_{1/63} = 12,1 \text{ H}$$

$12,1 < 20,9$ . On considère les deux séries comme semblables, d'où même dilution d'emploi au 1/15.

Volontairement, dans ces exemples, il n'a pas été tenu compte de la dose d'alun.

Le présent travail doit encore être poursuivi, et amélioré. Dans les prochains titrages, la dose d'alun sera harmonisée et sera la même pour

toutes les expériences. Pour les dilutions calculées dans les exemples précédents, le taux d'alun final a été celui de la dilution de référence soit 0,8 p. 100 pour les séries 6/62 et 7/62 mais par contre de 0,85 p. 100 pour la série 1/63.

Le calcul de comparaison de virulence a été effectué avec les résultats obtenus avec cette dose d'alun pour cette série.

En effet, et ceci a été volontaire, c'est une virulence que l'on peut qualifier de résultante (due à la souche ou due à l'alun) qui a seule été considérée.

## CONCLUSION

La méthode qui a été exposée est certainement critiquable mais sans doute moins que celle qui

consistait à prendre seulement 2 cobayes pour étudier la virulence d'une dilution. Elle semble cependant avoir l'avantage d'être moins aléatoire, d'être statistiquement plus valable, et surtout de présenter plus de sécurité car elle fait appel à un plus grand nombre d'animaux, tout en restant simple à mettre en œuvre.

En 1964 environ 1.000.000 de doses de vaccin anticharbonneux ont été livrées après avoir été testées par cette méthode et ceci sans inconvénient jusqu'à ce jour, ce qui nous encourage à continuer dans cette voie.

*Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire  
des Pays tropicaux  
Laboratoire Central de l'Elevage de Tananarive.*

## SUMMARY

### **Assay of the virulence of the anti-anthrax vaccine in the mouse. Experimental results and practical applications.**

A new method of assaying the anti-anthrax vaccine is described.

The assay is performed in the mouse. Fifteen mice are used for each dilution in order to test the virulence of the Spores diluted 1/15 and 1/20. The average of the death rates of the first 10 mice is used to calculate the virulence of the vaccinal series.

A previously tested reference series is taken as standard so as to calculate the final dilution of the vaccine.

In the case of the reference series the average time of the death rates of the mice is 45.3 hours. A series that is being tested would be considered to have a virulence equivalent to that of the reference series if the average time of the death rate is within an interval of  $45.3 \pm 20.9$ . The virulence is considered to be different if the average lies outside this interval.

In this case the dilution for the practical application of the vaccine is calculated by a simple rule of three.

## RESUMEN

### **Dosificaciones de la virulencia de la vacuna contra el carbón sintomático sobre los ratones. Resultados experimentales y aplicación práctica.**

Se expone un nuevo método de dosificación de la vacuna contra el carbón sintomático. Se efectúa la dosificación sobre ratones. Quince ratones por dilución son utilizados para testar la virulencia de esporas diluidas a 1 por 15 y 1 por 20. Con el término medio del tiempo de muerte de los diez primeros ratones se calcula la virulencia de la serie vaccinal.

Se escoge como patrón una serie testigo ya experimentada para calcular la dilución final de la vacuna. El término medio del tiempo de muerte de los ratones, con la serie testigo es de 45,3 horas. Una serie a testar tendrá una virulencia equivalente a la serie testigo, si el término medio de los tiempos de muerte está comprendido entre el intervalo,  $45,3 \pm 20,9$ . Su virulencia será diferente si el término medio está fuera de este intervalo.

En este caso, se calcula la dilución de la vacuna por una simple regla de tres.

BIBLIOGRAPHIE

- BUCK (G.). — Rapport Annuel du laboratoire central de l'élevage 1937. La vaccination des bovidés contre le charbon bactérien, : 9-22.
- NORMAN (G.) ROTH, IRA A DE ARMON (J. R.) and DAVID (H.) LIVELY. — Survival Time as a rapid method of determining virulence with *bacillus anthracis* *J. bact.* 1956, **72** : 666-72.
- RAMON (G.) et STAUB (A.). — Essais sur l'immunisation contre le charbon sur une nouvelle formule de vaccination charbonneuse. *Bull. Acad. vét. de France* 1936, **9** (7) : 375-87.
- RAMON (G.). — Sur les bases essentielles de certaines méthodes modernes d'immunisation. Les principes des anatoxines et celui des facteurs adjuvants de l'immunité et leurs applications. *Bull. Acad. vét. de France* 1942, **15** (1) : 29-41.
- RAMON (G.) et STAUB (A.). — Les nouveaux procédés de vaccination contre le charbon et contre le rouget au moyen d'une inoculation unique de virus-vaccin spécifique très atténué et additionné de substances stimulantes de l'immunité. Leur essor. *Bull. Acad. vét. de France* 1942, **15** : 50-4.

# La brucellose bovine au Sénégal

par J. CHAMBRON

## RÉSUMÉ

Une enquête sur la brucellose bovine au Sénégal vient d'être terminée. L'examen des laits par la méthode du test de l'anneau a montré que cette maladie était largement distribuée dans l'ensemble du pays.

Les tests sérologiques (séro-agglutination lente en tubes) ont permis de constater que 13,3 p. 100 des sérums éprouvés étaient positifs tandis que, dans les mêmes troupeaux, on pouvait observer 8,5 p. 100 d'animaux présentant des signes cliniques de brucellose (hygromas, avortements).

Au cours de cette enquête, ces souches ont été isolées : 5 ont les caractères de *Brucella melitensis* var. *abortus*, tandis que la sixième appartiendrait au type *Brucella melitensis* var. *intermedia* (classification de Renour).

Un programme de prophylaxie est proposé et ses modalités d'application sont discutées.

## I. — INTRODUCTION

La brucellose, maladie animale transmissible à l'homme, est une maladie assez mal connue en Afrique. Cependant, de nombreux pays la signalent dans leurs rapports techniques annuels. Le Kenya estime, en 1960, qu'elle « devient économiquement importante, bien que non signalée dans les élevages de bétail amélioré des régions d'élevage indigène ». Au Tanganyika, en 1961, elle est dépistée dans plusieurs troupeaux administratifs et dans deux fermes privées ; la vaccination au B 19 est utilisée. Au Cameroun, en 1961, après qu'elle ait été signalée, des sondages sont pratiqués à Wakwa (Ngaoundéré) ; ils révèlent de nombreux suspects (jusqu'à 60 p. 100). En 1962, l'éradication est entreprise par dépistage sérologique ou lacto-agglutination et vaccination au B 19. En Rhodésie du Sud, en 1960, on rend la brucellose responsable de la majorité des cas de stérilité bovine. La vaccination au B 19 est largement employée. Au Niger (rapport 1959-1960) une enquête par le *ring-test* donne un taux d'infection des troupeaux de 25 à 40 p. 100, et il est signalé

que « la brucellose existe à l'état endémique dans toutes les zones d'élevage ». En Côte-d'Ivoire, en 1960, le *ring-test* permet de déceler la maladie dans certaines régions. Les génisses impubères, les vaches vides et les gestantes de moins de trois mois sont vaccinées au B 19.

Si nous consultons les cartes de distribution de la brucellose bovine établies par l'I. B. E. D. en 1961 et 1962, nous constatons que la maladie est signalée de façon enzootique sporadique dans les pays suivants : Sénégal, Sierra-Léone, Ghana, Libéria, Nigeria, Niger, Tchad, Centrafrique, Congo-Léopoldville, Union Sud-Africaine, Tanganyika, Uganda, Kenya, Rhodésie du Sud

Des foyers de maladie sont signalés pour la même période dans les pays suivants : Nigeria, Angola, Congo-Léopoldville, Centrafrique, Betchuanaland, Union Sud-Africaine, Mozambique, les deux Rhodésies, Nyassaland, Rwanda-Burundi, Tanganyika (10).

De nombreux auteurs se sont intéressés à la brucellose du bétail, soit pour essayer d'en établir le diagnostic de façon certaine, soit pour essayer de préciser son épidémiologie et son rôle économique. En 1939, SISSOKO (58) observe, à la

ferme de l'Institut Pasteur de Dakar, 4 avortements dans un troupeau de 21 brebis originaires de Moro ; les signes cliniques plaident en faveur de la brucellose ; neuf séro-diagnostic positifs confirment l'observation clinique. Une enquête à l'abattoir de Dakar révèle plusieurs animaux à sérum positif (une vache, deux brebis, une chèvre). MALBRANT (35), en 1943, pense que de nombreux avortements constatés au Tchad, d'origine brucellique, sont déclenchés par une trypanosomiase primaire. CAMARA (9) au Sénégal, en 1948, étudie une maladie des bovins appelée *bakkalé* par les éleveurs et caractérisée par des lésions chroniques des bourses séreuses (hygroma ou bursite), des avortements en série.

Après avoir éliminé la trypanosomiase, il conclut qu'il s'agit vraisemblablement de brucellose. CHALUMEAU (12), en 1950, arrive à la même conclusion après une enquête dans la même région du Sénégal et en Haute-Volta. Il insiste sur la fréquence des lésions synoviales chroniques, surtout articulaires, chez des animaux atteints de brucellose clinique. En Guinée-Portugaise, TENDEIRO et GOMEZ (59), en 1952, font une étude comparative des lésions chroniques synoviales, des avortements et des résultats de séro-agglutination, chez 107 bovins. Sans pouvoir affirmer que les porteurs de lésions synoviales sont des animaux atteints de brucellose, leur travail conclut à une forte probabilité dans ce sens. En 1954, BLANCHARD et COULIBALY (4) mènent une enquête en Haute-Volta et étudient 346 laits de bovins par la méthode de l'anneau : plus de 10 p. 100 se révèlent positifs. Au Tchad, en 1955, SACQUET (56), au cours d'une enquête sur le bétail, trouve 18 p. 100 de tests de l'anneau positifs sur des laits de mélange, 12 p. 100 de séro-agglutinations positives, et il isole 12 souches. Il note la rareté des avortements. En 1956, dans le même territoire, PERREAU (43) mène une enquête en milieu bovin qui porte sur 978 *ring-tests* et 1933 séro-agglutinations. Le taux moyen d'infection de troupeau est de 12 p. 100 ; il peut aller jusqu'à 41 p. 100. Les avortements sont rares. En 1957, au Mozambique, AMARO (1) dresse un historique de la maladie et des moyens de lutte utilisés : l'éradication est envisagée en cinq ans. En 1958, DAFALLA et KHAN (13) étudient l'épidémiologie de la maladie au Sudan, à la

suite de cas de mélitococcie humaine. Ils établissent le rôle primitif des chèvres infectées qui contaminent les vaches laitières et l'homme par le lait des vaches atteintes. *Brucella melitensis* et *Brucella abortus* sont isolées. Chaque année, cinquante cas humains sont signalés. EL NASRI (19) mène en 1960 une enquête sérologique dans ce même pays et trouve 16 à 18 p. 100 de réagissants. En 1961, THIENPONT et Coll. (60) étudient l'hygroma des bovins au Rwanda-Burundi ; ils concluent à son origine brucellique certaine et notent la fréquence de cette lésion caractéristique de l'évolution clinique de la maladie. En 1962, DAFALLA (14) analyse 9.000 sérums ; 15 p. 100 sont positifs. Le pourcentage d'infection est élevé mais les avortements sont rares et l'importance économique est faible. Le danger de contamination humaine n'est pas négligeable. VAN DRIMMELEN (54) en Afrique du Sud, MAHLAU et HAMMOND au Tanganyika (34) recherchent la maladie en milieu indigène. MAHLAU trouve avec le *ring-test* un taux moyen d'infection de 13,5 p. 100 chez les zébus.

En ce qui concerne la maladie humaine, quelques cas sont relatés. A Saint-Louis du Sénégal, BOURRET (7) la décèle dès 1910, MERCIER et BORDES (36) en 1936. BOURGUIGNON (5) isole pour la première fois *B. melitensis* au Congo Belge en 1933. RENOUX (46), PERGHER et NOEL (42) signalent en 1936 des cas au Rwanda-Burundi. De nouveau à Dakar, en 1938, *B. melitensis* est isolée chez un militaire par PELTIER et Coll. (41). De nouveaux cas sont signalés par LEBLANC (30) au Kivu, SICE (57) au Soudan (Mali), ELMES (18) en Nigeria, MOUSTARDIER (39), CECCALDI et GUILHAUMOU (11) en Afrique Equatoriale française, MERLE (37) au Niger. BOURREL et SOUVESTRE (6) décrivent trois cas de mélitococcie vertébrale au Soudan (Mali). Enfin, en 1961, ARMENGAUD et Coll. (2) dépistent quatre cas de brucellose humaine (*B. melitensis*) dans le même village du Sénégal, dans la région de Diourbel.

Ainsi, cette rapide revue bibliographique montre à la fois le peu de données précises que nous possédons encore sur cette maladie, secondaire par rapport aux grandes épizooties africaines, et l'intérêt que de nombreux chercheurs lui portent vu les risques de contamination humaine par l'animal brucellique et la gravité de cette maladie humaine.

Au Sénégal, plus particulièrement, la maladie, suspectée, est mal connue. Un avortement épizootique des bovins est bien décrit avec ses symptômes cliniques très précis : avortements répétés de plus en plus près du terme, guérison apparente spontanée, séquelles chroniques possible sous forme de lésions des bourses séreuses : hygromas, bursites, etc... CAMARA (9) signale en 1948 son existence dans les cercles de Tambacounda et de Kédougou. Il semble sévir jusqu'en Guinée. CHALUMEAU (12) le signale encore « dans toute la Casamance, aussi bien dans les régions humides de la Basse-Casamance (Ziguinchor, Bignona) que dans les régions plus sèches, voir latéritiques, de la Haute-Casamance (Kolda, Velingara). Cet auteur constate la fréquence des hygromas, le plus souvent articulaires, évoluant rapidement vers la chronicité chez les femelles adultes. Pour les éleveurs, cette atteinte des bourses séreuses se traduisant par des lésions chroniques constitue une maladie qu'ils appellent « *bakkalé* ». L'auteur, faisant un rapprochement entre cette maladie et l'avortement épizootique, constate qu'il n'y a pas de parallélisme strict entre l'existence du *bakkalé* et les réactions positives enregistrées avec l'épreuve d'intra-dermo-réaction à la mélitine. Il n'ose pas affirmer catégoriquement que le *bakkalé* n'est qu'une manifestation chronique de la brucellose, mais « une forte présomption subsiste cependant en faveur d'une origine brucellique, puisque 31 p. 100 des vaches à *bakkalé* ont donné une réaction positive à la fois au test à la mélitine et à la séro-agglutination sur lame ». Les éleveurs ne font aucun rapprochement entre les deux maladies, l'avortement restant une conséquence inévitable de la pratique de l'élevage.

C'est dans le but de préciser l'importance réelle de la maladie animale qu'une enquête a été ouverte depuis 1960 au Laboratoire National de Recherches Vétérinaires de Dakar. Elle s'est déroulée en trois étapes :

— enquête préliminaire systématique, utilisant la méthode du *ring-test* sur des laits individuels ou de mélange, dans toutes les régions du Sénégal,

— enquête sérologique individuelle permettant par la séro-agglutination lente de Wright de dépister les animaux brucelliques au sein des troupeaux reconnus infectés,

— isolement de souches locales de *Brucella* et identification de l'espèce en cause par étude de ses caractères cultureux et antigéniques.

## II. — ENQUÊTE PRÉLIMINAIRE DANS TOUT LE SÉNÉGAL PAR LA MÉTHODE DU RING-TEST

### Technique

La méthode du *ring-test* fut établie par FLEISCHHÄUER (20) en 1937. Par la suite, elle a fait l'objet de très nombreuses publications. En 1951, ROSSI et DUTILLOY (55) après un rappel historique des travaux qu'elle a suscités, font une mise au point détaillée de la technique, de ses avantages et de ses limites. BRUCE (8) en 1962, précise l'importance de certains facteurs et décrit une méthode de dilution (VAN DRIMELEN, 1950) qui serait plus fidèle. Le *ring-test*, actuellement bien codifié, est très largement utilisé dans les programmes d'éradication de la brucellose de nombreux pays en tant que test de dépistage et de contrôle de routine. L'antigène est préparé selon la technique de BENTSEN (61). La technique de FLEISCHHÄUER est connue sous trois appellations différentes : *Abortus Bang Ringprobe* (A.B.R.), réaction de l'anneau, *ring-test* (R.T.) ; cette dernière appellation est couramment utilisée par les chercheurs de langue française.

Nous avons dans ce travail, adopté la méthode par centrifugation, préconisée par ROSSI et DUTILLOY, plus précise pour les laits douteux. L'antigène utilisé provient de l'Institut Mérieux.

### Les prélèvements

Il s'agit de laits de bovins. Les échantillons sont constitués par des laits de grands mélanges (marchés, collectivités), des laits de petits mélanges (5 à 6 animaux) et des laits individuels. La conservation des échantillons a été assurée par du Merseptyl à 1 p. 100 pour assurer une dilution finale en conservateur de 1/10.000 à 1/20.000. Des renseignements cliniques succincts sur les animaux accompagnent les échantillons. Un certain nombre d'animaux, pris de préférence parmi les animaux suspects *a priori* de brucellose (avortements, hygromas), a été testé dans chaque troupeau, à titre de sondage.



## Résultats

Cette enquête, commencée en 1960 et terminée en 1962, porte sur 297 prélèvements correspondant au lait de 768 vaches. Les résultats sont les suivants :

12 de grands mélanges : 3 positifs et 9 négatifs  
 136 de petits mélanges : 38 positifs et 98 négatifs  
 149 laits individuels : 60 positifs et 89 négatifs  
 9 laits de grands mélanges intéressant de 15

à 50 femelles par échantillon, qui se sont révélés négatifs, n'ont pas été comptés dans les résultats, car leur réponse est sans valeur par rapport à la technique utilisée (5 à 8 femelles au maximum par lait de mélange, pour qu'un seul animal positif soit capable de rendre l'échantillon positif). Les prélèvements proviennent de 124 troupeaux totalisant 5.349 animaux ; 56 troupeaux se révèlent infectés. Les résultats par région d'élevage sont les suivants : (Tableau I).

TABLEAU N° 1

Région	ring-test	Nombre de positifs	Nombre de troupeaux	Nombre de têtes	troupeaux infectés	troupeaux indemnes	troupeaux suspects
Sénégal oriental	94	14	31	1.251	6	3	22
Thiès	45	27	21	1.112	13	6	2
Casamance	98	35	21	962	12	4	5
Cap-Vert	12	4	18	866	4	7	7
Fleuve	27	15	21	847	15	0	6
Sine-Saloum	5	2	5	211	2	0	3
Diourbel	7	4	7	110	2	0	3
<b>Totaux</b>	<b>288</b>	<b>101</b>	<b>124</b>	<b>5.349</b>	<b>54</b>	<b>20</b>	<b>48</b>

Les troupeaux infectés sont ceux où un ring-test au moins est positif.

Les troupeaux suspects sont ceux où les ring-tests sont négatifs mais où des animaux présentent des signes cliniques suspectés d'origine brucellique (hygroma, avortement).

Le nombre élevé des réactions franchement positives observées (35 p. 100) justifie la continuation de l'enquête et permet d'orienter cette dernière dans les secteurs les plus suspects d'infection.

### III. — ENQUÊTE SÉROLOGIQUE PAR LA MÉTHODE DE SÉRO-AGGLUTINATION LENTE DE WRIGHT

Cette enquête a pour but :

— de confirmer les présomptions de brucellose obtenues par les ring-tests,

— d'étudier l'épidémiologie et la clinique de la brucellose compte tenu des conditions locales d'élevage

— de préciser le pourcentage d'infection des troupeaux des régions les plus atteintes. Pour cela, les prélèvements sont pratiqués dans une trentaine de troupeaux, sur toutes les femelles adultes. Les mâles sont écartés, bien qu'ils jouent un rôle non négligeable dans la propagation de la maladie en particulier, dans un simple souci de limitation des prélèvements.

### Technique

La séro-agglutination en tube est une méthode facile à réaliser en pratique et assez fidèle, bien qu'elle ne permette pas de distinguer les agglutinines vaccinales (B 19) des agglutinines d'infection. Le cas ne se pose pas ici, le bétail n'ayant jamais été vacciné contre la brucellose.

L'antigène est celui du Laboratoire régional des brucelloses de Montpellier. Le sérum est dilué au 1/10, 1/20, 1/40, etc... (0,2 ml de sérum dans le premier tube). La réaction se fait au

volume constant de 1 ml par tube (0,5 de sérum dilué et 0,5 ml d'antigène). Le liquide de dilution est du chlorure de sodium. La concentration a été portée de 0,85 p. 100 à 5 p. 100 (LEHNERT, 1959) pour supprimer les phénomènes de zone très fréquemment observés (31). L'agglutination est appréciée de 0 à ++++.

L'interprétation des résultats est la suivante :

**a) examen individuel :**

- agglutination au 1/10 sans signification,
- — au 1/20 (++++): suspicion,
- — au 1/40 (++) : suspicion,
- — au 1/40 (++++ ou ++++): positif.

**b) examen collectif pour l'ensemble d'un troupeau :**

— l'effectif contient au moins un animal positif : les suspects sont considérés comme positifs.

L'agglutination considérée positive en examen collectif (++ au 1/40 avec l'antigène de Montpellier) correspond à un titre agglutinant supérieur à 60 unités internationales par ml (appréciation de l'agglutination 50 p. 100 avec cet antigène de Montpellier et l'étalon international de sérum agglutinant).

Après la prise de sang à la jugulaire, le sérum est récolté dès rétraction du caillot, additionné de Merseptyl (MORTELMANS, 1953) et conservé à + 4° en brousse et à - 20° en laboratoire avant d'être analysé (38).

Au cours de l'enquête et dans le compte rendu des résultats, il nous a paru important de toujours compléter le résultat des séro-agglutinations en signalant la présence ou l'absence corrélatrice de signes cliniques pouvant être attribués à la brucellose. On peut ainsi, d'une part différencier les malades cliniques (avortement, hygroma ou bursite) à séro-agglutination positive des animaux considérés simplement comme infectés, chez lesquels seule la séro-agglutination est positive ; d'autre part, on peut mieux dégager la valeur pathognomonique exacte de ces symptômes cliniques d'après la fréquence à laquelle on les retrouve chez les animaux à sérum positif et chez ceux à sérum négatif.

Le nombre des malades cliniques permet seul de préciser l'importance de la maladie et son incidence sur l'économie.

### Résultats

Les résultats généraux des séro-agglutinations sont donnés dans le tableau II.

TABLEAU N°II

Résultats Généraux des Séro-Agglutinations (S.A.)

Lieu d'origine	Nombre de troupeaux	Nombre total de têtes	Nombre de S.A.	S.A. positives	S.A. positives + signes cliniques	S.A. négatives	S.A. négatives + signes cliniques	Nombre de troupeaux infectés	Nombre de troupeaux indemnes
Région de Thiès	17	1124	107	28	17	79	12	12	5
Région de Diourbel	5	2500	109	0	0	109	0	0	5
Région de la Casamance									
Ziguinchor.....	1	14	13	8	1	5	0	1	0
Bignona.....	4	200	13	11	11	2	2	3	1
Kolda-Vélingara.....	36	2950	809	95	38	716	9	23	13
TOTAUX.....	63	6788	1051	140	67	911	23	39	24

A sa lecture, on constate que peu de régions du Sénégal sont indemnes ; 8,5 p. 100 des animaux montrent des signes cliniques de brucellose (avortement, hygroma) et 13,3 p. 100 des analyses sérologiques sont positives.

En ce qui concerne la seule Haute-Casamance, intéressée principalement par notre enquête, notons que sur 835 sérums testés, 112 sont positifs, soit 13,4 p. 100 ; 7,4 p. 100 des animaux

montrent des signes cliniques de brucellose.

— **Appréciation du taux d'anticorps circulant chez les animaux positifs.**

Ce taux peut être apprécié en classant les différents sérums positifs, d'après leur titre agglutinant. Ces derniers se répartissent comme suit, pour le total des séro-agglutinations : (Tab. III).

TABLEAU N° III

Titre agglutinant	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120
nombre de sérums/140	9	39	33	35	6	11	5	2
pourcentage	6,4	27,8	23,5	25	4,3	7,8	3,5	1,7

Pour la plupart des sérums, la positivité est donc très nette ; elle peut atteindre des taux élevés signant des brucelloses cliniques évolutives caractéristiques. Les taux les plus bas peuvent traduire des maladies aiguës en début ou en fin d'évolution et également des infections inapparentes, sans incidence pathologique.

— **Rapports entre les résultats sérologiques et la présence de signes cliniques d'origine supposée brucellique (avortement et hygroma) en Casamance.**

Ces rapports sont donnés dans le tableau IV exprimé en nombre d'animaux présentant l'un ou l'autre de ces signes cliniques :

TABLEAU N° IV

	Hygroma		Avortement			Hygroma et Avortement	Total
	1	2 ou +	1	2	3 ou +		
112 vaches positives	15	4	7	2	2	9	39
723 vaches négatives	5	1	1	1	3	0	11

On constate que :

— 34,8 p. 100 des vaches positives présentent des signes cliniques suspects,

— 1,5 p. 100 des vaches négatives présentent de tels signes.

Nous verrons que l'isolement de 6 souches de *Brucella* à partir de liquide de ponction d'hygroma vient démontrer la réalité de l'origine brucellique (d'ailleurs classique) de ces signes cliniques. Leur apparition est toujours imprévisible

et leur évolution variable. On admet que pour un animal donné, après un premier stade d'infection brucellique aiguë accompagnée d'un ou des signes cliniques classiques, la maladie tend généralement à la chronicité, le taux d'agglutinines sériques diminue lentement puis disparaît. Dans le cas où un hygroma apparaît, cette lésion souvent parfaitement close par un tissu inflammatoire organisé tend parfois à l'auto-stérilisation ; d'autres fois, les anticorps formés sur place

ne peuvent diffuser dans la circulation générale. Ces faits expliquent la présence en zone reconnue infectée d'un certain pourcentage d'animaux ayant avorté ou présentant des hygromas brucelliques, et dont le sérum est négatif.

Il convient de noter aussi la possibilité non négligeable des avortements dus à d'autres maladies fréquentes : peste, trypanosomiase, qui peuvent interférer avec la brucellose, à l'occasion d'une malnutrition saisonnière par exemple. Mentionnons, pour mémoire, la possibilité des hygromas traumatiques.

Un fait intéressant ressort des résultats sérologiques : 65 p. 100 des femelles à séro-agglutination positive semblent cliniquement indemnes. Le nombre des brucelliques présentant des manifestations cliniques de maladie est environ deux fois moindre que celui des animaux reconnus infectés. Cette constatation rejoint celle de BURNET qui disait « qu'en matière de brucellose, il y a généralement beaucoup plus d'infectés que de malades ». PERREAU (1956) au Tchad, aboutit à la même conclusion (43).

#### — Essai d'estimation du pourcentage d'infection brucellique des troupeaux de Moyenne-Casamance.

Ce travail porte sur 30 troupeaux d'un effectif total de 2.400 têtes ; 812 prélèvements ont été effectués sur toutes les femelles adultes uniquement. Les 765 sérums soumis à la séro-agglutination donnent les résultats suivants :

70 séro-agglutinations positives } = 9,4 p. 100  
 2 séro-agglutinations suspectes }  
 693 séro-agglutinations négatives } = 90,6 p. 100

Sur ces 30 troupeaux testés :

— 17 sont estimés infectés (un ou plusieurs animaux réagissants) = 60 p. 100 ;

— 1 est suspect d'infection ;

— 12 sont estimés indemnes d'infection = 40 p. 100.

Il faut noter également l'intérêt du dépistage des infectés chroniques par la séro-agglutination. Sur les 17 troupeaux reconnus infectés :

— 11 présentent des animaux atteints de brucellose clinique :

avortement ..... 2 troupeaux

hygroma ..... 4 troupeaux

avortement et hygroma ..... 5 troupeaux

— 6 semblent cliniquement indemnes et l'infec-

tion latente de ces troupeaux serait passée inaperçue sans les contrôles sérologiques. Précisons que dans ces six troupeaux, le nombre des réagissants n'est pas toujours négligeable par rapport au nombre total des femelles soumises au test. Pour chaque troupeau, le nombre des réagissants est respectivement de : 1 sur 43, 2 sur 59, 1 sur 26, 2 sur 27, 1 sur 9 et 7 sur 30 (soit 23 p. 100 de femelles à infection latente pour ce dernier troupeau).

Le taux d'infection des 17 troupeaux reconnus infectés, c'est-à-dire le pourcentage exprimant le nombre de femelles réagissantes par rapport au nombre de femelles testées dans le troupeau, se répartit comme suit : (Tab. V).

TABLEAU N° V

Pourcentage d'infection	0 à 5	6 à 20	21 à 50	Plus de 50
Nombre de troupeaux	8	3	4	2

Les deux troupeaux les plus infectés le sont respectivement à 61 et 70,5 p. 100. Il nous paraît intéressant de donner certaines précisions à leur sujet, qui montrent mieux l'allure sévère que peut prendre la maladie dans cette région.

— Troupeau de B... S... à Sare Niakougane : 51 têtes au total ; 18 prélèvements effectués : 11 sont positifs, soit 61 p. 100, 5 vaches présentent des signes cliniques de maladie :

vache 1 : 1 avortement en 1962 ; 1 hygroma double au genou de chacun des antérieurs.

vache 2 : 2 avortements successifs, le dernier en 1962.

vache 3 : 1 mise bas normale, puis 1 avortement en 1962 ; 1 hygroma à un genou et 1 à un grasset.

vache 4 : 1 avortement récent vers le 8<sup>e</sup> mois.

vache 5 : 4 avortements successifs après un premier vêlage normal.

— Troupeau de D... S... à Nemaounda : 68 têtes au total ; 17 prélèvements effectués ; 12 sont positifs, soit 70,5 p. 100 : 5 vaches pré-

sentant des signes cliniques de brucellose ont un séro-diagnostic positif.

vache 1 : 1 hygroma au genou.

vache 2 : 1 hygroma au genou.

vache 3 : 1 veau mort-né quelques jours avant.

vache 4 : 3 avortements successifs puis un veau normal.

vache 5 : animal complètement « défiguré » par 6 hygromas simples ou doubles aux quatre membres, à la hanche et au grasset.

(Dans ce dernier troupeau de 68 têtes, le cinquième de l'effectif présente un ou plusieurs hygromas.)

#### — Rapports entre les résultats bactériologiques et sérologiques.

L'isolement d'une *Brucella* à partir du liquide d'hygroma a été tenté à plusieurs reprises, en même temps qu'un examen sérologique était pratiqué. Les résultats relatifs à 17 prélèvements sont donnés dans le tableau VI.

TABLEAU N° VI

Vache	Sérum	Liquide d'hygroma			Symptômes cliniques	
	séro-agglutination	Nombre analyses	séro-agglutination	Isolement bactériologique	HY*	AV*
1	+ 1/160	1	+ 1/320	souillé	double HY	7 veaux normaux
2	Hémolyse	1	négatif	souillé	1 HY	3 veaux normaux
3	Hémolyse	1	négatif	souillé	2 HY	1 AV puis 2 veaux normaux
4	+ 1/320	1	+ 1/320	isolement <i>Brucella</i> sp.	1 HY double	3 AV sur 4 vêlages
5	+ 1/160	1	+ 1/40	souillé	1 HY	1 AV 3 mois avant au premier vêlage
6	+ 1/40	1	+ 1/320	isolement <i>Brucella</i> sp.	1 HY double	1 AV sur 2 vêlages
7	Hémolyse	1	+ 1/320	souillé	1 HY double	2 veaux normaux
8	Hémolyse	2	2 négatifs	souillé	2 HY	
9	+ 1/320	1	+ 1/320	isolement <i>Brucella</i> sp.	génisse 3 ans	1 HY
10	+ 1/20	1	+ 1/320	souillé	1 HY	1 AV au 3 <sup>e</sup> vêlage 15 jours avant avec une rétention du délivre
11	+ 1/320	1	négatif	isolement <i>Brucella</i> sp.	1 HY	
12	+ 1/80	1	+ 1/80	souillé	1 HY	1 veau normal
13	+ 1/40	1	+ 1/80	inutilisable en raison condition de transport	2 HY	
14	+ 1/320	1	souillé	- idem -	2 HY	
15	+ 1/20	1	+ 1/20	isolement <i>Brucella</i> sp.	1 HY	2 veaux normaux
16	+ 1/60	1	+ 1/20	souillé	1 HY	3 veaux normaux
17	suspect	1	+ 1/60	souillé	1 HY	4 veaux normaux

\*HY = hygroma

\*AV = avortement

Plusieurs prélèvements, effectués avec toutes les précautions de stérilité requises, sont souillés. Cela tient au fait que de nombreux éleveurs, peu désireux de voir leurs animaux dévalués par de volumineuses lésions cutanées inesthétiques et gênantes, ponctionnent les hygromas avec leur couteau, sans aucune précaution d'asepsie. Nous avons plusieurs fois été témoins de cette pratique. L'hygroma est alors rapidement le siège d'une prolifération de germes secondaires. La *Brucella* originelle, lente à pousser, reste masquée en culture d'isolement par le germe de souillure qui envahit la gélose.

— **Rapports entre les anticorps sériques et ceux des hygromas reconnus bactériologiquement infectés.**

Ces rapports, exprimés en taux d'agglutination, sont les suivants : (Tab. VII).

TABLEAU N° VII

Séro-agglutination	sang	Liquide d'hygroma
vache n° 4	1/320	1/320
vache n° 6	1/40	1/320
vache n° 9	1/320	1/320
vache n° 11	1/320	négatif
vache n° 15	1/20	1/20

A une exception près, tous les animaux chez lesquels est isolée une *Brucella* à partir d'un hygroma présentent une agglutination positive avec le sérum et le liquide de ponction de l'hygroma. On peut penser, *a priori*, que pour les animaux 1, 5, 10, 12, 13, 16 et 17 qui présentent également cette double agglutination, l'origine brucellique de l'hygroma est plus que probable, les germes de souillure masquant le germe causal. Beaucoup d'hygromas doivent héberger des cultures pures de *Brucella* avant toute intervention. THIENPONT et Coll. isolent en 1958, au Congo-belge, le germe spécifique dans 60 p. 100 de ces lésions et en 1961, confirment que le *bakkalé* est bien une lésion chronique de brucellose (60).

Il existe souvent une discordance entre le taux des agglutinines sériques et celui des agglutinines de l'hygroma. Elle tient sans doute à la phase de la maladie, à la perméabilité circulatoire de ses

parois et aussi à la relative imprécision de la technique de l'agglutination (par rapport à la technique de fixation du complément, par exemple).

Ces discordances entre les résultats bactériologiques et sérologiques avaient déjà frappé certains auteurs. Elles montrent que pour un diagnostic précis de brucellose, l'isolement du germe et la recherche des anticorps sériques ou lésionnels, pratiqués conjointement, peuvent aider utilement à l'étude de l'infection lors d'une enquête épidémiologique.

#### IV. — SYMPTOMATOLOGIE PARTICULIÈRE DE L'INFECTION BRUCELLIQUE AU SÉNÉGAL

Le tableau symptomatologique est trop classique pour être rappelé. Cependant, il convient de souligner qu'au Sénégal et certainement dans d'autres Etats de l'Ouest africain, la maladie ne revêt pas l'aspect épizootique qu'elle revêt en Europe. Elle est essentiellement caractérisée par l'apparition plus fréquente de lésions chroniques en des points très variés du corps : bursites, arthrites, abcès sous-cutanés, groupés sous le nom général d'hygroma ; elles sont d'origine brucellique et hébergent la *Brucella*. Nous avons rencontré ces lésions en Moyenne-Casamance chez 4 p. 100 des femelles examinées (34 sur 835). La localisation, la taille, la consistance en est variable. Après ponction, elles redevennent souvent volumineuses.

L'avortement est le deuxième signe dominant, cependant relativement moins fréquent (25 sur 835, soit 3 p. 100). La symptomatologie est classique et peut revêtir plusieurs formes : soit avortements répétés après un ou plusieurs vélages normaux, soit avortements en série puis auto-stérilisation et vélages normaux par la suite, soit enfin avortement isolé se produisant le plus souvent dans la deuxième partie de la gestation.

Les autres lésions, mammaires par exemple, sont discrètes, peu fréquentes. Elles attirent peu l'attention des éleveurs.

D'une façon générale, l'aspect clinique de la maladie reste très imprécis. Les éleveurs ne font jamais le rapprochement entre les deux symptômes dominants qui évoluent souvent de façon

peu prévisible et indépendamment l'un de l'autre. L'avortement reste souvent isolé.

L'élevage en liberté, en plein air, contribue peut-être dans une large part à cette atténuation apparente du rôle pathogène de l'agent causal, grâce à une dissémination plus large du contagium subissant l'action défavorable du soleil, de la lumière, etc...

## V. — DÉTERMINATION DES SOUCHES DE BRUCELLA ISOLÉES EN CASAMANCE (Régions de KOLDA et VÉLINGARA)

Cette détermination a été effectuée en suivant les méthodes des Comités Mixtes F. A. O./O. M. S. d'experts de la brucellose 1953 (16) et 1958 (61). Les principales techniques de détermination ont été mises en œuvre ; inhibition par les colorants, production de  $\text{SH}_2$ , activité uréasique, propriétés sérologiques des souches.

### A. Les souches à étudier

Elles ont été isolées en brousse, par ensemencement direct des milieux de cultures avec le liquide ponctionné d'hygroma d'animaux suspects de brucellose. Pour des raisons d'ordre pratique, il a été impossible de faire les doubles cultures en atmosphère ordinaire et en atmosphère contenant du  $\text{CO}_2$ . Toutes les primocultures et le premier isolement ont été pratiqués systématiquement en atmosphère contenant du  $\text{CO}_2$ . Les cultures suivantes ont été faites en double, pour juger d'un éventuel besoin en  $\text{CO}_2$ , à ce stade de culture. Pour les mêmes raisons matérielles, il a été impossible d'effectuer les primocultures en étuve à 37°. Mais la température ambiante, élevée pendant la période de cette expérimentation, a permis le développement satisfaisant des cultures.

### B. Milieux de culture

Pour l'isolement des souches : Bacto-Tryptose Agar (Difco), gélose Albimi et bouillon Bacto-Tryptose Broth.

Pour les divers tests : milieu glucose-lactose  $\text{SH}_2$  de Hajna (Institut Pasteur), pour différenciation rapide des *Brucella* et des *Proteus* ;

— milieu synthétique à l'urée de Ferguson (Institut Pasteur) pour recherche de l'activité uréasique.

### C. Colonies en phase « smooth »

De nombreux auteurs et en particulier HUD- DLESON ont montré l'absolue nécessité de travailler avec des souches rigoureusement *smooth* lors des essais d'identification d'espèce. Diverses méthodes ont été préconisées pour vérifier l'état *smooth* d'une culture : par chauffage, avec l'acriflavine.

Seule, la méthode de HENRY (24) a été employée pour le présent travail. Tous les essais ont donc été pratiqués avec des souches en phase *smooth*, contrôlée à la loupe binoculaire en lumière oblique.

### D. Age des cultures

Les travaux d'identification d'espèce des souches étudiées n'ont pu être menés sur les souches dès leur isolement ce qui eut donné les meilleurs résultats d'après HUDDLESON (3) et RENOUX (49) ; mais les souches ont subi un nombre minimum de passages. Dès leur isolement en culture pure, elles ont été lyophilisées puis conservées pendant 2 mois à  $-20^\circ\text{C}$ , remises en culture et identifiées. Elles ont subi au cours de ces opérations, un maximum de cinq à sept repiquages (exception faite pour la souche 20 qui n'en a subi que trois).

### E. Résultats

#### 1° Caractères de HUDDLESON (26).

Ils révèlent le besoin de  $\text{CO}_2$ , le pouvoir d'inhibition de certains colorants, et la production de  $\text{SH}_2$ . Ils permettent de différencier les diverses espèces de *Brucella* uniquement par des réactions quantitatives et non qualitatives. Il en est d'ailleurs de même pour les caractères d'identification autres que ceux de Huddleson. Leur valeur sera discutée. Les résultats obtenus ont été les suivants :

##### a) Besoin en $\text{CO}_2$ .

Il n'a pu être apprécié lors du premier isolement, pour des raisons pratiques déjà précisées ;



toutes les primo-cultures ou le premier repiquage ont été pratiqués en atmosphère de CO<sub>2</sub> (cloche à dessiccation et méthode dite « de la bougie »).

Mais il a été systématiquement recherché dès le deuxième ou troisième repiquage, au Laboratoire : aucune des souches isolées ne manifeste un besoin en CO<sub>2</sub>. Pour deux souches, un faible ralentissement de la culture est noté tout au plus, par comparaison avec les cultures parallèles en atmosphère ordinaire.

#### b) Inhibition par des colorants \*.

Seules la thionine et la fuschine sont utilisées. Les souches sont cultivées sur gélose Tryptose Agar en boîtes de Pétri avec des dilutions des deux colorants de 1/25.000, 1/50.000, 1/75.000 et 1/100.000 calculées en poids de colorant pur. Des souches de référence : *B. abortus* 544 Weybridge et *B. melitensis* M 16 Beltsville et deux souches fournies par le Professeur Roux, de Montpellier : *B. abortus* B 55 et *B. melitensis* M 15, sont cultivées en même temps que les souches inconnues avec chacune des dilutions de colorant. Des cultures de 48 h sont récoltées sur gélose sans colorant. Une anse de platine de culture est mise en suspension dans 0,1 ml d'eau salée à 0,85 p. 100. Une anse de cette solution est ensemencée en boîte de Pétri, en stries parallèles, sans recharger l'anse de platine, selon la méthode des cadrans permettant l'étude comparative de plusieurs souches sur une même boîte de Pétri. Dans chaque boîte de Pétri correspondant à une des quatre dilutions d'un colorant donné, deux souches inconnues sont éprouvées conjointement avec les deux souches internationales 544 et M 16.

Les résultats sont les suivants :

#### 1) FUSCHINE.

Toutes les souches inconnues ou de référence, ont poussé en présence de ce colorant à toutes

(\*) Nous remercions vivement le Professeur Roux, de la Faculté de Médecine de Montpellier, le Docteur Cortes et M. Quatrefages, du Laboratoire vétérinaire départemental de l'Hérault à Montpellier, qui ont bien voulu nous expédier des souches de référence de leurs laboratoires, et les docteurs Abdussalam et Bijlenga de l'O. M. S. qui ont bien voulu procurer la Fuschine et la Thionine nécessaires à nos identifications.

les dilutions, dans chacune des séries \*. Les souches inconnues peuvent donc être des *B. abortus* ou des *B. melitensis*.

#### 2) THIONINE.

##### Souches de référence :

— *B. abortus* 544 : inhibition à toutes les concentrations dans les trois séries pratiquées (comportement classique et forte sensibilité à la thionine).

— *B. melitensis* M 16 : dans une série, inhibition au 1/25.000 (forte concentration) et culture aux trois autres concentrations.

Dans deux autres séries, culture à toutes les concentrations (comportement classique et bonne sensibilité à la thionine).

— *B. abortus* B 55 : dans une série unique, inhibition au 1/25.000 et 1/50.000 et culture au 1/75.000 et 1/100.000 (souche moins sensible que 544 vis-à-vis de ce colorant).

— *B. melitensis* M 15 : culture positive à toutes concentrations, dans une série unique (comportement classique et bonne sensibilité à la thionine).

Les souches de référence ont donc un comportement normal et peuvent servir de comparaison dans la gamme des dilutions utilisées.

##### Souches inconnues (une série de dilutions par souche) :

— B 7 : cultures négatives à toutes les dilutions ; comportement d'une *Brucella* type *abortus*.

— B 10 : cultures positives à toutes les dilutions ; comportement d'une *Brucella* type *melitensis*.

— B 13 : cultures négatives au 1/25.000, 1/50.000 et 1/75.000 et positives au 1/100.000 (très faiblement) ; comportement d'une *Brucella* type *abortus*.

— B 15 : culture faiblement positive au 1/100.000 (faible concentration en colorant) et très faiblement positive aux autres dilutions (forte concentration en colorant), le germe ne poussant alors que sur la première strie d'ensemencement, la plus concentrée en germes. L'inhibition de la culture par le colorant est

(\*) Une série est représentée par l'ensemble des quatre dilutions d'un colorant donné.

nette par rapport aux cultures sur milieu sans colorant.

Le comportement de cette souche est difficile à apprécier et sera discuté plus loin.

— *B. 20* : cultures négatives à toutes les dilutions ; comportement d'une *Brucella* type *abortus*.

— *B. Casamance 380/63* : cultures négatives à toutes les dilutions ; comportement d'une *Brucella* type *abortus*.

### c) Production de SH<sub>2</sub>.

Elle est recherchée avec du papier au sous-acétate de plomb sur des cultures sur gélose Tryptose-Agar en tubes à essais. Les tubes sont examinés quotidiennement et les papiers à test positif sont renouvelés chaque jour.

Toutes les souches sont caractérisées par une production abondante de SH<sub>2</sub>, déjà décelable après 24 h de culture, maximale les deuxième et troisième jour, encore nette le cinquième jour, visible seulement à l'état de trace le septième jour.

## 2<sup>o</sup> Autres caractères de diagnostic.

Certains n'ont pas été recherchés tels l'action du bleu de méthylène, du vert janus et de l'Erythromycine (53), l'action du Diethylthiocarbamate de soude (DEDTC) (50), la culture sur milieu de Petraghani (32).

### a) Activité uréasique.

Aux techniques de BAUER (3), de PACHECO et de MELLO (40) nous avons préféré la technique plus simple de RENOUX et QUATREFAGES (47).

Toutes les souches éprouvées par cette dernière méthode montrent une activité uréasique intense appréciable entre 6 et 9 minutes. Or, RENOUX et QUATREFAGES indiquent un virage en 2 à 5 minutes pour *B. melitensis* et 12 à 22 minutes pour *B. abortus*. Elles ont donc un comportement intermédiaire par rapport à celui de souches typiques *B. abortus* et *B. melitensis*.

### b) Epreuve sérologique.

Elle utilise des sérums mono-spécifiques obtenus

par la méthode des absorptions quantitatives de WILSON et MILES (51)\*.

Les souches à étudier en phase *smooth* sont mises en suspension d'environ 6 milliards de germes par ml (tube 4 de l'échelle d'opacité de BROWN) pour servir d'antigène dans une épreuve classique d'agglutination en tube (0,5 ml dans chaque tube de dilution). Les sérums mono-spécifiques nous ont été aimablement fournis par le Laboratoire de Weybridge, par l'entremise du Service de la Santé Publique Vétérinaire de l'O. M. S. Le sérum mono-spécifique est dilué au 1/20, 1/40, 1/80, 1/160. La technique suivie est celle de Montpellier (17). Les résultats des épreuves d'agglutinations lentes en tubes sont les suivants :

#### Souches de référence.

— *B. abortus* 544.

— Agglutination 100 p. 100 avec les quatre dilutions du sérum mono-spécifique anti-*abortus*.

— Agglutination négative avec les quatre dilutions du sérum mono-spécifique anti-*melitensis*.

— *B. melitensis* M 16.

— Agglutination 100 p. 100 avec les quatre dilutions du sérum mono-spécifique anti-*melitensis*.

— Agglutination négative avec les quatre dilutions du sérum mono-spécifique anti-*abortus*.

Le comportement des souches de référence est donc classique avec les sérums mono-spécifiques parfaitement saturés utilisés.

#### Souches inconnues.

Les six souches *B. 7*, *B. 10*, *B. 13*, *B. 15*, *B. 20* et *Casamance 380/63* :

— Agglutinent à 100 p. 100 avec les quatre dilutions du sérum mono-spécifique anti-*abortus*.

— N'agglutinent avec aucune des dilutions du sérum mono-spécifique anti-*melitensis*.

Toutes les souches inconnues ont donc les

(\*) Nous remercions vivement le Docteur Abdussalam de l'O. S. M. et le Docteur Brindley-Morgan, de Weybridge, qui ont bien voulu nous fournir les sérums mono-spécifiques de référence dont nous avons besoin.

caractères sérologiques de *Brucella* type *abortus*.

En résumé, les souches étudiées présentent les caractères suivants :

— Aucune n'a besoin de CO<sub>2</sub> pour cultiver à partir de la deuxième ou troisième sub-culture (les primo-cultures étant faites en atmosphère de CO<sub>2</sub>).

— B 7, B 13, B 20, B Casamance 380/63 poussent en fuschine, alors que la thionine inhibe leurs cultures.

— B 10 n'est inhibée ni par la thionine ni par la fuschine.

— B 15 cultive en fuschine, mais est inhibée de façon nette mais incomplète par la thionine.

— Toutes les souches produisent du SH<sub>2</sub> en quantités importantes pendant au moins 6 jours.

— Toutes les souches ont une activité uréasique importante, intermédiaire entre celle des *B. abortus* et des *B. melitensis* classiques.

— Toutes les souches ont les caractères sérologiques de *B. abortus*.

## F. Discussion

Après avoir donné ces résultats, nous voudrions préciser la valeur qu'il faut actuellement leur accorder. La classification des *Brucella*, basée sur les caractères de HUDDLESON, est une des rares classifications d'espèces bactériennes basée sur des caractères quantitatifs. Or, de très nombreux travaux et observations montrent que ces caractères d'espèce ont une stabilité très relative. Les propriétés des souches peuvent varier selon leur âge, le nombre des repiquages, les milieux sur lesquels elles sont repiquées, la phase dans laquelle elles ont été étudiées, etc... Par des procédés de laboratoire, on peut arriver à modifier *in vitro* leurs caractères biochimiques et sérologiques, ceux-là mêmes qui servent de base à la classification ; les nouvelles propriétés restent acquises (27). WILSON et EVANS (66) décrivent une souche de *B. abortus* qui se transforme graduellement *in vivo* en *B. melitensis* par passages en série sur animaux sensibles. Des transformations similaires sont signalées également avec *B. melitensis* et *B. suis* (48) (65). JACOTOT et VALLÉE (28) attirent l'attention sur la plasticité de certaines souches pouvant donner des résultats différents lors des essais d'identi-

fication par différents chercheurs également qualifiés et avertis des difficultés d'un tel travail.

En conclusion de nombreuses recherches, RENOUX (52) (54) dénonce tout l'arbitraire de l'actuelle classification des *Brucella* en espèces typiques et atypiques et souligne la difficulté de mener à bien et d'interpréter les tests dits d'identification. A la classification de Mc CULLOUGH et BEAL (33) qui ne reconnaissent que 3 espèces et des souches atypiques ou aberrantes, il oppose une espèce unique, *B. melitensis*, avec de nombreuses variétés : *melitensis*, *abortus*, *suis*, *thomseni*, *lisbonnei*, *intermedia*, *ovis*, etc...

Les quelques souches étudiées ici ne possèdent pas tous les caractères des souches classiques de référence de chaque espèce. Leur besoin en CO<sub>2</sub> s'il existe serait limité au seul isolement ou à la première sub-culture, pour des souches qui offrent par ailleurs les caractères de l'espèce *B. abortus* : B 7, B 13, B 15, B 20, B 380/63. Il est vrai que la plupart des souches typiquement *B. abortus* à l'isolement perdent très vite ce besoin en CO<sub>2</sub>.

La souche B 10 se comporte comme une *B. melitensis* avec les colorants. Elle tire pourtant son origine du même troupeau que B 7 et B 13. Le troupeau hébergerait-il des souches de plusieurs types ou variétés ? S'agit-il d'une transformation naturelle *in vivo*, ou artificielle due aux manipulations pendant les opérations d'identification ?

Malgré ses difficultés et ses imperfections, la caractérisation précise des souches isolées reste pourtant indispensable pour les recherches épidémiologiques sur la brucellose, pour l'interprétation des données cliniques, pour une meilleure connaissance générale de la maladie. L'étude de nombreuses souches d'origine bovine, l'isolement de souches caprines et ovines, permettront seuls de caractériser les souches du Sénégal.

En conclusion, sur six souches isolées de lésions chroniques chez des bovins de Casamance, cinq nous semblent appartenir à l'espèce *Brucella melitensis*, var. *abortus* (classification de RENOUX) et sont caractérisées par une production intense de SH<sub>2</sub> ; une souche semble posséder les caractères de *Brucella melitensis* var. *intermedia*. Cette dernière variété a déjà été isolée une fois au Sénégal, chez un enfant avec une origine caprine probable (2).

## VI. — MOYENS DE LUTTE CONTRE LA BRUCELLOSE APPLICABLES AU SÉNÉGAL

Cette enquête, bien que fragmentaire, permet tout de même de se faire une idée de la gravité très variable de cette affection au Sénégal.

Pour en reprendre les chiffres principaux, on constate que pour l'ensemble du Sénégal, 13,3 p. 100 des animaux sont infectés, et 8,5 p. 100 font une maladie clinique.

Dans la seule Casamance, 13,4 p. 100 des animaux sont infectés, 7,4 p. 100 font une maladie clinique avec avortement ou hygroma brucellique; sur 30 troupeaux entièrement testés, 60 p. 100 sont plus ou moins infectés. Dans la région du Ferlo, aucun réagissant n'a été trouvé, cette région semble indemne. Nous n'avons pu avoir aucune donnée sur le Sénégal Oriental.

Les chiffres trouvés au Sénégal sont à rapprocher de ceux d'enquêtes menées dans d'autres territoires. TENDEIRO et GOMES (59) à Bissao en 1952 trouvent 15,9 p. 100 de séro-réagissants pour 107 examens pratiqués. A Fort-Lamy, SACQUET (56) en 1955 trouve de 8,5 à 18,5 p. 100 (12 p. 100 en moyenne pour 500 examens) et PERREAU (43) en 1956, de 7,4 à 41 p. 100 (12 p. 100 en moyenne), sur 1933 sérums. Au Rwanda-Burundi en 1961, THIENPONT et Coll. (60) décèlent de 1 à 20 p. 100 de séro-réagissants. Dans une enquête sur 1.351 bovins, 5,7 p. 100 sont trouvés porteurs d'hygromas, 8 p. 100 des vaches ont avorté. Le taux des avortements s'élève à 32 p. 100 chez les vaches ayant des hygromas. MAHLAU et HAMMOND (34) au Tanganyika en 1962, trouvent 15 p. 100 de sérums positifs sur des animaux abattus pour la boucherie. DAFALLA (14) enfin, au Soudan en 1962, trouve 15 p. 100 de réagissant sur 9.000 bovins testés.

Ces chiffres montrent que la maladie, si elle semble assez répandue en certaines régions du Sénégal, reste cliniquement peu importante comparée aux grandes épizooties telles que la peste, la péripneumonie ou la trypanosomiose. Les avortements restent rares. Mais si son incidence générale semble faible sur l'économie du pays, certaines régions ou certains troupeaux au sein de celles-ci paient un lourd tribut.

Avant tout, la brucellose est une anthroponose. L'incidence de la maladie humaine

contractée par contamination animale est vraisemblablement assez faible, mais la brucellose humaine reste une maladie grave, entraînant des séquelles importantes. Aucune enquête n'a encore été pratiquée chez les populations des pays infectés.

Maladie humaine d'origine animale, la brucellose ne peut être combattue qu'en assainissant le bétail. Compte tenu de l'épidémiologie de cette affection, quels sont les moyens pouvant être valablement mis en œuvre au Sénégal dans les régions les plus atteintes? Disons tout de suite qu'il semble illusoire de vouloir appliquer les méthodes d'éradication employées dans les pays d'Europe ou d'Amérique. Rappelons brièvement que ces méthodes sont basées sur plusieurs principes :

— l'éradication de la maladie doit être le but, même lointain, de toute campagne de prophylaxie de la brucellose. Toutes les mesures visant simplement à contenir la maladie deviennent rapidement sans effet.

— la prophylaxie sanitaire doit être la base des mesures d'éradication; la prophylaxie médicale n'est qu'un appoint, si possible temporaire, dans la lutte menant à l'éradication.

La prophylaxie sanitaire repose essentiellement sur le dépistage des contaminés, cliniquement atteints ou non, l'élimination immédiate des malades à forme « ouverte » de maladie (avortement), l'élimination progressive des autres infectés.

— la prophylaxie médicale consiste à protéger les jeunes animaux du milieu contaminé par une vaccination utilisant un vaccin inoffensif, efficace, ne gênant pas la prophylaxie sanitaire, et d'emploi facile (6).

En dernier lieu, le plan de lutte adopté doit tenir compte essentiellement des impératifs économiques en jeu. Le coût de la prophylaxie doit demeurer inférieur au montant des pertes occasionnées par la maladie.

Il est certain que chaque pays doit tenir compte des conditions locales. De très nombreux plans ont été proposés (45) qui ont été analysés par divers auteurs et, en particulier, par les professeurs VUILLAUME (63) et JOUBERT et Coll. (29). La réalisation de tels projets demande d'énormes moyens financiers, un personnel très qualifié et nombreux, des laboratoires spécia-

lisés dans la production d'antigène en grandes quantités, l'analyse de milliers de prélèvements de sérum, de lait, une infrastructure administrative de contrôle très importante...

Ces vastes campagnes d'éradication de la brucellose sont difficilement applicables au Sénégal. En effet, la lutte contre cette affection passe bien après la lutte contre les grandes épizooties africaines ; elle se heurtera aux conditions actuelles de l'élevage, conduit de façon extensive par des éleveurs encore peu avertis des problèmes de rentabilité et de la prophylaxie d'affections dont la symptomatologie et l'importance économique leur échappent encore.

La base de toute campagne d'éradication en milieu infecté reste l'élimination des animaux infectés. Cette pratique est ordinairement très mal comprise et acceptée par les éleveurs en pays d'élevage traditionnel extensif ; ils refuseront probablement de s'y soumettre. On est donc en droit de douter à l'avance de l'efficacité d'une campagne de lutte basée sur la seule prémunition au vaccin B 19.

### Mesures proposées pour la lutte contre la brucellose au Sénégal

#### 1° Mesures de prophylaxie médicale à mettre en œuvre.

Compte tenu de la réserve importante formulée ci-dessus elles pourraient reposer sur l'emploi du vaccin B 19, dont les qualités et les défauts sont bien connus (21) (22) et (62). Cette souche est très stable. Elle confère une bonne immunité. Cependant, la production d'anticorps agglutinants peut gêner une campagne de dépistage des infectés basés sur le séro-diagnostic.

Selon les experts des Comités Mixtes F. A. O./O. M. S. sur la brucellose, la vaccination des jeunes de 6 à 8 mois protège à 97 p. 100 contre les avortements et à 80 p. 100 contre les infections. Une seule vaccination protège l'animal durant toute sa vie économique (15). Il est vrai qu'il s'agit de normes valables pour l'Europe. Sans être d'une efficacité absolue, le B 19 offre donc de bonnes garanties quant à son pouvoir immunisant.

Actuellement, au Sénégal, l'emploi du B 19 tendrait à faire régresser la maladie dans les troupeaux les plus atteints, par la vaccination systématique de tous les veaux entre 8 mois et 1 an et,

éventuellement, des femelles en début de gestation. Ces vaccinations auraient l'avantage principal de constituer ce « matelas » d'animaux vaccinés (80 p. 100 au moins) dont parlent JOUBERT et Coll. (29). Elles permettraient de diminuer efficacement la « surpollution bactérienne » sévissant dans les exploitations les plus atteintes en évitant l'avortement. L'infection persistera, certes, mais elle sera moins sévère, et les pertes économiques dues à l'avortement diminueront assez rapidement. L'apparition d'agglutinines vaccinales n'est pas gênante, en l'absence de tout programme de prophylaxie sanitaire utilisant la séro-agglutination pour le dépistage des infectés.

La fabrication du B 19 est bien codifiée, (61). La production de ce vaccin en culture dense et continue, en milieu liquide, offre des avantages tant par le nombre très élevé de germes au cm<sup>3</sup> que par l'absence de changements de type et de dissociation (23) (25) et (44). « La nécessité de présenter ce vaccin sous une forme lyophilisée augmente le prix de sa fabrication d'une façon sensible. L'emploi du glutamate de sodium doit permettre de réduire la baisse de titre importante qui accompagne la lyophilisation. Néanmoins un tel vaccin, d'un prix assez élevé, ne devrait être utilisé que dans des conditions bien définies d'efficacité et de contrôle vétérinaire si l'on ne veut pas courir au devant d'un échec. Là encore, il importe d'envisager le coût de ces opérations de contrôle. »

#### 2° La prophylaxie sanitaire

Elle reste la pierre d'achoppement de toute action efficace. Malgré les difficultés inhérentes au mode d'élevage, il convient de l'envisager sérieusement grâce à l'éducation préalable des éleveurs qui est à confier aux agents du service de l'Élevage et, sous leur contrôle, aux animateurs ruraux. Elle aura pour but une meilleure connaissance de la maladie, de ses dangers pour l'animal et l'homme, et l'acquisition des notions permettant de lutter contre elle. On insistera particulièrement sur le rôle fondamental de l'avortement brucellique, qui libère de nombreux bacilles virulents favorisant la contamination. Il conviendrait de persuader l'éleveur de se débarrasser le plus rapidement possible des vaches qui avortent et des animaux présent-

tant un ou plusieurs hygromas, d'origine brucellique le plus souvent.

Certaines règles élémentaires d'hygiène générale seront à diffuser. On rappellera les dangers de contamination humaine du fait des laits et fromages frais infectés et le rôle capital, chez l'homme, de l'infection par contact.

Ce n'est que lorsque le principe de la prophylaxie sanitaire sera compris et accepté (c'est-à-dire dans un premier temps l'élimination réelle et volontaire des malades cliniquement atteints) qu'une action médicale pourra être entreprise avec quelques chances de succès, dans un certain nombre de troupeaux témoins, avec des éleveurs de bonne volonté. Tout autre procédure semble vouée rapidement à l'échec.

On connaît l'ubiquité de l'espèce *Brucella*, la fréquence et la gravité de la brucellose humaine dans les régions où le bétail est infecté. A la lumière des résultats de cette enquête, on peut considérer que la maladie animale est très répandue au Sénégal et constitue un réel danger pour les populations d'éleveurs. Une exacte connaissance de sa répartition et de son extension, doit donc aider les médecins du Service de Santé à rechercher cette maladie souvent difficile à diagnostiquer en milieu tropical (2). Une enquête épidémiologique menée parmi les populations des zones les plus infectées permettrait de mieux apprécier la morbidité de la maladie humaine, grâce à un test allergique simple à mettre en œuvre.

## VII. — CONCLUSION

La brucellose, maladie animale transmissible à l'homme, existe dans de nombreux pays africains. Une enquête conduite en utilisant la méthode du *ring-test* a montré que dans plusieurs régions d'élevage du Sénégal, cette affection sévit de façon non négligeable. Dans les régions les plus atteintes, une enquête sérologique a permis d'en préciser les données épidémiologiques. Sur 1.051 séro-agglutinations pratiquées dans 63 troupeaux, 140 sont positives (13,3 p. 100) à un taux parfois élevé ; 61 p. 100 des troupeaux sont infectés. Dans la Haute-Casamance le taux d'infection des troupeaux a été recherché en soumettant toutes les femelles adultes de 30 troupeaux au séro-diagnostic : 9,4 p. 100 des femelles ont un sérum positif et 60 p. 100 des

troupeaux sont infectés. Leur taux d'infection varie de 1 à 70,5 p. 100 ; le 1/3 est infecté à plus de 20 p. 100. Des signes cliniques de brucellose sont observés sur 34,8 p. 100 des femelles à sérum positif, contre 1,5 p. 100 seulement des femelles à sérum négatif.

L'isolement de 6 souches de *Brucella* à partir de liquide de ponction d'hygroma confirme le diagnostic clinique. Cinq souches ont des caractères de *B. abortus* et une, ceux de *B. intermedia*.

La symptomatologie de l'affection, non rencontrée sous sa forme épizootique, est classique ; 4 p. 100 des femelles observées présentent des hygromas et 3 p. 100 avortent une ou plusieurs fois. Il y a deux fois plus d'animaux infectés (sérum positif, absence de signes cliniques) que d'animaux malades (sérum positif avec des signes cliniques).

Les moyens à mettre en œuvre au Sénégal pour lutter contre la brucellose sont étudiés. Dans une première étape, c'est essentiellement la vaccination des jeunes au vaccin B 19 qui est préconisée pour faire régresser les avortements, ainsi qu'une campagne d'information des éleveurs, pour les aider à mieux connaître la maladie et ses dangers pour l'animal aussi bien que pour l'homme.

## REMERCIEMENTS

Qu'il nous soit permis de remercier ici toutes les personnes qui nous ont aidé à mener à bien cette étude, et en particulier le Docteur J. ORUE, Directeur du Laboratoire de Recherches Vétérinaires de Dakar-Hann, qui a commencé l'enquête sur les laits en 1960, le Docteur SAR SAMBA COR, Directeur du Service de l'Elevage et des Industries Animales du Sénégal, le Docteur DELPECH, Inspecteur Régional de Thiès, les assistants vétérinaires TOURE et N'DIAYE à Kolda, FALL à Vélingara et M. THIOUNE, Aide de Laboratoire à Hann.

*Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire  
des Pays tropicaux*

*Laboratoire national de recherches vétérinaires  
de Dakar-Hann  
Service de microbiologie*



## SUMMARY

### Brucellosis in Cattle in the Senegal

An investigation on brucellosis among cattle in the Senegal has just been completed.

The examination of the milk by the ring test method shows that this disease is widely distributed throughout the country.

The serologic test (slow sero-agglutination in tubes) enabled one to ascertain that 13,3 out of 100 sera tested were positive, whereas, in the same herd, 8,5 out of 100 animals were found to show clinical symptoms of brucellosis (hygromas, abortions).

During this investigation, these different strains have been isolated ; 5 showed the characteristics of *Brucella melitensis* var. *abortus*, whereas the sixth belonged to the type *Brucella melitensis* var. *intermedia* (Renoux's classification).

A prophylactic schedule is suggested and its means of application discussed.

## RESUMEN

### La Brucelosis bovina en el Senegal

Una encuesta sobre la brucelosis bovina en el Senegal acaba de terminarse.

La observación de las leches por el método del test del anillo mostró que esta enfermedad estaba encontrada en todo el país.

Los test serológicos (sero-aglutinación lenta en tubos) permitieron comprobar que 13,3 por 100 de los sueros probados eran positivos mientras que, en los mismos rebaños, se podía observar 8,5 por 100 de los animales presentando signos clínicos de brucelosis (higromas, abortos).

Durante esta encuesta, estas cepas fueron aisladas ; 5 de ellas tienen los caracteres de *Brucella melitensis* var. *abortus*, mientras que la sexta sería del tipo *Brucella melitensis* var. *intermedia* (Clasificación de Renoux).

Se propone un programa de profilaxis y se discuten sus modalidades de aplicación.

## BIBLIOGRAPHIE

1. AMARO (Ed.). — **La lutte contre la brucellose bovine au Mozambique.** *Bull. Off. inter. Epiz.*, 1957, 47, 681.
2. ARMENGAUD (J.), CHAMBRON (J.), CADILLON (J.), CHAMBON (L.), GUERIN (M.), BOURGOIN (J. J.) et DIOP MAR (I.). — **Un foyer de brucellose à *Brucella melitensis* au Sénégal (région de Diourbel). A propos de deux observations de malades hospitalisés et d'une enquête épidémiologique effectuée à leur village.** *Bull. Soc. méd. Afr. noire*, 1963, 8 (1), 109.
3. BAUER (H.). — **A study of *Brucella* and *Proteus urease*,** Ph. D. Thesis, 1949, Université de Minnesota.
4. BLANCHARD (A.) et COULIBALY (S.). — **Recherches sur la brucellose bovine en Haute-Volta (A. O. F.).** *Rev. Elev. Méd. vét. Pays Trop.*, 1954, 7, 153.
5. BOURGUIGNON (G.). — **Le premier cas de fièvre ondulante diagnostiqué bactériologiquement au Congo-Belge et ses affinités sérologiques avec *Brucella melitensis*.** *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1933, 13, 249.



6. BOURREL (P.) et SOUVESTRE (R.). — Premiers cas africains de méliococcie vertébrale à propos de 3 cas dépistés au Soudan. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1960, **53** (1), 67.
7. BOURRET (G.). — La fièvre méditerranéenne en A. O. F. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1910, **3**, 490.
8. BRUCE (W.). — Brucellosis. *Bull. epiz. Dis. Afr.*, 1962, **10**, 187.
9. CAMARA (A.). — Le Bakalé est-il de la brucellose ? *Bull. Serv. zootechn. Epiz. A. O. F.*, 1948, **1**, 24.
10. Cartes de distribution de la brucellose bovine *Bull. epiz. Dis. Afr.*, 1962, **10** (3), 484, et 1963, **11** (4), 487.
11. CECCALDI (J.) et GUILHAUMOU (F.). — La brucellose humaine en A. E. F. Isolement d'une souche de *Brucella melitensis* à l'occasion du premier cas constaté au Tchad dans l'Ennedi. *Rev. Sci. méd. pharm. vét. afr. fr. libre*, 1942, **1**, 11.
12. CHALUMEAU (P.). — Bakalé et brucellose au Sénégal et en Haute-Volta. *Bull. Serv. Elev. Ind. anim. A. O. F.*, 1950, **3** (1), 7.
13. DAFALLA (E. N.) et KHAN (A.). — The occurrence, epidemiologie and control of animal brucellosis in the Sudan. *Bull. epiz. Dis. Afr.*, 1958, **6** (3), 243.
14. DAFALLA (E. N.). — The importance of animal and human brucellosis in the Sudan. *Sudan J. vet. Sci.*, 1962, **3** (2), 80.
15. DAFNI (I.). — Bovine brucellosis and vaccination with strain 19 vaccine. *Refuah Vet.*, 1958, **15** (1), 49.
16. Deuxième rapport du Comité Mixte F. A. O./O. M. S. d'experts de la brucellose. *Org. mond. Santé*, 1953, sér. rap. techn., n° 67.
17. Direction des Services vétérinaires de l'Hérault « Le laboratoire régional des brucelloses de Montpellier ». 1962, bull. n° 3.
18. ELMES (B. G. T.). — Undulant fever in Nigeria. *Ann trop. Med. Parasit.*, 1941, **35**, 1.
19. EL NASRI (M.). — Brucellosis in south Sudan. *Vet. Rec.*, 1960, **72**, 1200.
20. FLEISCHHAÜER (G.). — Die Abortus Bang Ringprobe (A. D. R.) zur Feststellung von Bangverdächtigen Vollmilchproben. *Berl. tierärztl. Woch.*, 1937, **53**, 527.
21. GORET (P.) et PILET (C.). — La vaccination des bovins par le vaccin B 19 et les vaccins semblables. *Ann. Inst. Pasteur*, 1962, **102**, 774.
22. GORET (P.) et PILET (C.). — Le vaccin B 19 dans la prémunition antibrucellique des bovins. *Rec. Méd. vét.*, 1963, **139**, 371.
23. HAUSCHILD (A. H. W.) et PIVNICK (H.). — Continuous culture of *Brucella abortus* B 19. *Canad. J. Microbiol.*, 1961, **7**, 491.
24. HENRY (B. S.). — Dissociation in the genus *Brucella*. *J. infect. Dis.*, 1933, **52**, 374.
25. HOFFMANN (F.), SZABO (A.) et SZAKMARY (G.). — The grown of *Brucella* B 19 strain in fermentation apparatus. *Acta vet. Acad. sci. Hungaricae*, 1959, **9** (4), 418. Analyse n° 180 dans *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.* 1960, **13**, 351.
26. HUDDLESON (I. F.). — Differentiation of the species of the genus *Brucella*. Symposium on undulant fever, Annual meeting of the *Am. Publ. Hlth. Ass.*, 1928, **18**, et *Am. J. publ. Hlth. Ass.*, 1931, **21**, 491.
27. HUDDLESON (I. F.). — Emergency during growth of *Brucella* strains on dye-agar media of cells that show changes in sulfur metabolism. *Bull. Org. mond. Santé*, 1961, **24**, 91.
28. JACOTOT (H.) et VALLÉE (A.). — Quelques considérations sur la brucellose du lièvre à propos de 8 cas identifiés en France. *Ann. Inst. Pasteur*, 1954, **87**, 218.
29. JOUBERT (L.), BERTRAND (M.) et FERNEY (J.). — La prophylaxie de la brucellose. Proposition d'un programme de lutte anti-brucellique en France. *Cahiers méd. vét.*, 1964, **33** (3), 69.
30. LEBLANC (J.), LAMBILLON (J.) et DENISOFF (N.). — Note préliminaire au sujet de quatre cas de brucellose identifiée au Centre médical de la Formulac, au Kivu (Congo belge). *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1939, **19**, 197.
31. LEHNERT (C.). — Über den Einfluss hypertotonischer Kochsalzlösung auf den Allgutinationstiter bei Rinderbrucellose. *Arch. exp. veterinärmed.* 1959, **13**, 851.

32. LISBONNE (M.) et ROMAN (G.). — Recherches sur la différenciation des *Brucella* par le milieu de Pétragnani. *Rev. microbiol.*, Paris, 1936, 2, 57-61
33. Mc CULLOUGH (N. B.) et BEAL (G. A.). — The biological stability of the genus-*Brucella*. *Bull. Org. mond. Santé*, 1958, 19, 725.
34. MAHLAU (E. A.) et HAMMOND (J. A.). — A brucellosis survey of the western areas of Tanganyika. *Bull. epiz. Dis. Afr.*, 1962, 10, 511.
35. MALBRANT (R.), CECCALDI (H.), GUILHAUMOU (J.) et GROSPELLIN (R.). — Brucellose bovine, trypanosomiase et prémunition. *Rev. Sci. méd. pharm. vét. Afr. fr. libre*, 1943, 2, 199.
36. MERCIER (L.) et BORDES (L. A.). — Deux cas de méliococcie contractée en Indochine et en Afrique Occidentale française. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1936, 640.
37. MERLE (F.). — Apparition de la fièvre de Malte au Niger. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1953, 46 (2), 211.
38. MORTELMANS (J.). — Sur une méthode pratique pour la conservation de sérum destiné au diagnostic de la brucellose. *Bull. agric. Congo belge*, 1953, 44 (4), 779.
39. MOUSTARDIER (G.). — Premier cas de méliococcie observé en A. E. F. *Rev. Sci. méd. pharm. vét. Afr. fr. libre*, 1942, 1, 3.
40. PACHECO (G.) et MELLO (M. T. DE.). — A urease test for the differentiation of *Brucella suis*. *J. Bact.*, 1950, 59, 689-691.
41. PELTIER (E.), ARQUIE (E.), DURIEUX (C.) et JONCHÈRE (H.). — Brucellose humaine en Afrique Occidentale française. Isolement d'une souche de *Brucella melitensis*. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1938, 31, 575.
42. PERGHER (G.) et NOËL (G.). — Note sur la fièvre ondulante au Ruanda-Urundi. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1936, 16, 217.
43. PERREAU (P.). — La brucellose bovine au Tchad. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1956, 9, 247.
44. PERREAU (P.). — Note sur la culture dense en milieu liquide de *Brucella abortus*, souche 19. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1962, 15, 133.
45. **Projet du Ministère de l'agriculture. Plan de prophylaxie de la brucellose.** *Bull. synd. nat. vét.*, 1964, 43 (5), 337.
46. RENOUX (G.). — Note sur la fièvre ondulante au Ruanda-Urundi. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1936, 16, 217.
47. RENOUX (G.) et QUATREFAGES (H.). — Identification des *Brucella* par leur activité uréasique ; comparaison avec les autres méthodes de différenciation. *Ann. Inst. Pasteur*, 1951, 80 (2), 183.
48. RENOUX (G.) et CARRÈRE (L.). — De la valeur des caractères d'identification des *Brucella*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, 82, 277.
49. RENOUX (G.). — La classification des *Brucella*. Remarque à propos de l'identification de 2.598 souches. *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, 82 (3), 289.
50. RENOUX (G.). — Une nouvelle méthode de différenciation des variétés de *Brucella*. Action du Diethyldithiocarbamate de soude (DETC). *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, 82, 556.
51. RENOUX (G.). — Préparation des sérums mono-spécifiques anti-*abortus* et anti-*melitensis*. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1958, 35 (1), 87.
52. RENOUX (G.). — La notion d'espèce dans le genre *Brucella*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, 94 (2), 179.
53. RENOUX (G.). — Nouvelles épreuves bactériostatiques pour différencier les *Brucella*. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1960, 37 (1), 23.
54. RENOUX (G.). — Brucellose. Taxonomie des *Brucella*. Étiologie et épidémiologie de la brucellose humaine. Sa prophylaxie. *Rev. Path. gén.* 1961, 61, 439 et 457.
55. ROSSI (P.) et DUTILLOY (Y.). — L'épreuve de l'anneau *Abortus-Bang-Ring-probe* (A. B. R.) ou *ring-test* (R. T.) dans la brucellose bovine. *Bull. Acad. vét. Fr.*, 24, 485 et 525.
56. SACQUET (E.). — La brucellose bovine au Tchad (note préliminaire). *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1955, 8, 5.
57. SICE (A.), ROBIN (C.) et BERNARD (Y.). — A propos de deux cas de méliococcie contractés au Soudan français (cercle de GAO) et provoqués par *B. Melitensis*. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1939, 32 (4), 409.

58. SISSOKO (B.). — Note sur les brucelloses bovines, ovines et caprines en A. O. F. *Bull. Serv. zootechn. Epiz. A. O. F.*, 1939, 2 (1), 27.
59. TENDEIRO (J.) et GOMES (F.). — Lesoes articulares na brucelose bovina oeste-africana. *Bol. cult. Guinée port.*, 1952, 7, 773.
60. THIENPONT (D.), VANDERVELDEN (M.), FAGARD (P.) et MORTELMANS (J.). — L'hypogroma brucellique : l'aspect clinique caractéristique de la brucellose bovine au Ruanda-Burundi. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1961, 14 (3), 257.
61. Troisième rapport du Comité mixte F. A. O./O. M. S. d'experts de la brucellose. *Org. mond. Santé*, 1958, sér. rap. tech., n° 148.
62. ULBRICH (F.). — Die Rolle der verschiedenen Vakzinationsmethoden im Kampf gegen die Rinderbrucellose. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1960, 54, 418.
63. VUILLAUME (H.). — Méthodes de lutte mises en œuvre dans les pays d'Europe. *Encycl. vét. périod.*, 1962, 19 (6), 1.
64. VAN DRIMMELEN (G. C.). — Recent developments of the epidemiology of brucellosis in south Africa. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1961, 41, 73.
65. WASHKO (F. V.), BAY (W. W.), DONHAM (C. R.) et HUTCHINGS (L. M.). — Studies of the pathogenicity of *Brucella abortus* for swine. *Am. J. vet. Res.*, 1951, 12, 320.
66. WILSON (D. E.) et EVANS (S. A.). — Results of passage of human and monkey strains of *Brucella melitensis* through pregnant heifers. *J. comp. Path. Therap.*, 1936, 49, 336.
67. Zoonoses. — Méthodes de laboratoire pour le diagnostic de la brucellose. *Org. mond. Santé*, 1954, série des monographies, n° 19, 101.

# Étude dans certaines conditions africaines de l'action antiparasitaire du Thiabendazole sur divers Helminthes des animaux domestiques

## I. — Helminthes du zébu

par M. GRABER

(Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux  
Laboratoire de Farcha-Fort Lamy)

### RÉSUMÉ

L'auteur, après avoir réalisé une série d'essais sur 169 jeunes zébus du Tchad et de R. C. A., estime que, sur le terrain, il faut au moins une dose de 100 mg/kg par animal pour détruire *Cooperia punctata*, *Cooperia pectinata*, *Haemoncus contortus*, *Haemoncus placei*, *Bosicola radiatum* et *Bunostomum phlebotomum* adultes mûrs ou immatures, surtout lorsque ces Nématodes sont associés entre eux, ce qui se produit dans 90 % des cas.

Les formes L<sub>4</sub> de *Bosicola radiatum* enkystées dans la muqueuse intestinale semblent réfractaires à tout traitement

Le Thiabendazole peu toxique se prête bien à des traitements de masse, qui, dans les conditions africaines doivent être effectués en une seule fois, être simples et ne pas nécessiter une mise à la diète préalable. Lors de parasitisme massif, le traitement sera renouvelé dans les 15 jours qui suivent la première intervention. En milieu tropical sec où, de mars à juin, les possibilités d'alimentation du bétail sont faibles, le Thiabendazole, en détruisant les Nématodes les plus dangereux pour les jeunes animaux, permet une meilleure utilisation du pâturage restant, avec comme conséquence une sensible augmentation de poids des animaux traités.

Les Helminthiases de l'intestin et de la caillette du zébu sont, tant au Tchad qu'en R. C. A., fort répandues. Elles sont dues à la présence dans ces organes de Nématodes, seuls ou associés, appartenant aux espèces suivantes : *Strongyloides papillosus* (Weld, 1856), *Oesophagostomum* (*Bosicola*) *radiatum* (Rudolphi, 1803), *Bunostomum phlebotomum* (Railliet, 1900), *Cooperia punctata* (Von Linstow 1907), *Cooperia pectinata* (Ransom, 1907), *Haemoncus contortus* (Rudolphi, 1803), *Haemoncus placei* (Place, 1893) et *Buckleyuris globulosa* (Von Linstow, 1901).

Surtout dangereuses chez les animaux de moins de 2 ans, elles déterminent, du point

de vue économique, une mortalité plus ou moins élevée selon les années et, chez les survivants, des pertes de poids accompagnées de retards de croissance sérieux.

Au cours des 10 dernières années, un grand nombre de médicaments susceptibles de détruire les espèces en cause ont été expérimentés au Laboratoire de Farcha : Phénothiazine normale, Phénothiazine extra fine, dérivés de la Pipérazine, Hydroxynaphtoate de Bephenium, composés phosphoro-organiques (Neguvon Etrolène), Methyridine. Ils feront l'objet d'une prochaine étude comparative.

Plus récemment, l'attention s'est portée sur

un dérivé de l'imidazole, le 2-(4-thiazolyl) benzimidazole \* dont les propriétés anthelminthiques ont été étudiées, dès l'année 1961, par Anderson et coll. Brown et coll., Cuckler, Bailey et coll., en Amérique, par Gordon et par Hebden en Australie et par Muller en Afrique du Sud.

Depuis, l'emploi du Thiabendazole dans la lutte contre les Helminthoses gastro-intestinales des bovins s'est largement répandu, sinon généralisé.

Le but du présent travail est de donner un aperçu de la valeur anthelminthique et économique du médicament, en particulier à l'égard des formes larvaires de *Bosicola radiatum* ou de formes adultes et immatures de *Bunostomum phlebotomum* et de *Bosicola radiatum*, lorsqu'il est utilisé dans les conditions particulières de l'Élevage en Afrique Centrale.

## I. — MATÉRIEL ET MÉTHODE

### A. — L'Anthelminthique

Le Thiabendazole, de formule  $C_{10}H_7N_3$  (poids moléculaire 201,3), se présente sous l'aspect d'une poudre cristallisée, incolore ou légèrement teintée de brun, dépourvue d'odeur et de goût. Elle est assez peu soluble dans l'eau. Les préparations commerciales renferment environ 25 p. 100 d'excipient, ce qui rend le produit plus dispersible et en facilite l'administration au moyen du pistolet doseur.

Le Thiabendazole est un composé stable. Il ne s'accumule pas dans l'organisme, ne colore pas l'urine et ne provoque aucun accident de photosensibilisation. Il est sans danger pour le manipulateur.

### B. — Les animaux d'expérience

Au total, 169 jeunes zébus de 12 à 28 mois et pesant de 95 à 289 kg ont été utilisés. 93 d'entre eux étaient originaires du Tchad et 76 de République Centrafricaine (R. C. A.).

La plupart (95 p. 100) hébergeaient, à l'état naturel, un grand nombre d'Helminthes :

	Tchad R.C.A.	
	—	—
<i>Dicrocoelium hospes</i> .....	0	3
<i>Fasciola gigantica</i> .....	11	17
<i>Paramphistomum microbothrium</i> ....	8	3
<i>Cotylophoron cotylophorum</i> .....	1	18
<i>Shistosoma bovis</i> .....	42	0
<i>Moniezia expansa</i> .....	1	0
<i>Moniezia benedini</i> .....	3	0
<i>Thysaniezia ovilla</i> .....	6	0
<i>Cysticercus bovis</i> .....	22	14
<i>Strongyloides papillosus</i> .....	4	0

	Tchad R.C.A.	
	—	—
<i>Bosicola radiatum</i> .....	38	37
<i>Bunostomum phlebotomum</i> .....	18	46
<i>Cooperia punctata</i> .... } .....	42	50
<i>Cooperia pectinata</i> .... } .....		
<i>Cooperia sp.</i> .....		
<i>Haemoncus contortus</i> .. } .....	13	30
<i>Haemoncus placei</i> .... } .....		
<i>Artionema labiato-papillosa</i> .....	34	
<i>Onchocerca gutturosa</i> .....	13	1
<i>Onchocerca armillata</i> .....	13	
<i>Buckleyuris globulosa</i> .....	6	24

Dans 90 p. 100 des cas, ces parasites étaient associés par 2 ou 3 espèces, plus rarement par 5 ou 6. Dans l'ensemble, l'état des animaux était assez médiocre.

Les bouvillons ont été divisés en 2 lots, le premier destiné aux essais en station, au laboratoire de Farcha (animaux du Tchad), le second (animaux de R. C. A.) au traitement de masse, seul applicable en Afrique noire.

Les expériences ont été menées en 4 étapes de septembre 1962 à juin 1964 (septembre 1962, mars-avril 1963, décembre 1963, janvier 1964, mars-avril-mai 1964), ce qui a permis de suivre le comportement des zébus traités aux époques favorables où la nourriture est abondante (d'août à mars) et aux époques défavorables (d'avril à juillet) et d'apprécier la valeur anthelminthique réelle du Thiabendazole selon que l'on a affaire à des Nématodes adultes mûres, à des Nématodes adultes immatures ou à leurs formes larvaires.

### C. — Méthode

Le protocole expérimental est demeuré classique. Il comprend 5 séries d'opérations :

\* = M. K. 360 = Thiabendazole = Thibenzole (Merck, Sharp et Dohme).

1° Des examens coprologiques effectués dès l'arrivée des animaux, c'est-à-dire 3 à 4 jours avant le traitement. Ces examens sont poursuivis régulièrement jusqu'au sacrifice de l'animal. Bien que le procédé ne soit plus actuellement considéré comme entièrement satisfaisant, il n'en demeure pas moins que la différence entre la moyenne du nombre d'œufs au g de matière fécale avant et après le traitement permet d'avoir un premier aperçu de l'efficacité du médicament.

2° Après traitement, mise en évidence des parasites expulsés. Les crottes ont été ramassées 3 fois par jour, broyées dans un filet d'eau et soigneusement examinées, de manière à faire apparaître les Helminthes évacués après l'administration du Thiabendazole, les compter et en déterminer l'espèce.

3° Autopsie de l'animal de 7 à 9 jours après la fin du traitement. Les bouvillons ont été abattus et examinés complètement, organe par organe. Les parasites présents ont été recueillis et dénombrés. La comparaison entre ce qui est rejeté après traitement et ce qui reste à l'autopsie donne une idée exacte de la valeur de l'anthelminthique.

4° On pratique des cultures d'œufs faites avant et après le traitement jusqu'au jour de l'autopsie ; la présence des *Cooperia*, s'ils existent, ne fait alors aucun doute. De même, les larves L<sub>3</sub> de *Bunostomum phlebotomum*, de *Basicola radiatum* et d'*Haemonchus contortus* sont tout à fait caractéristiques. La coproculture complète alors les éléments d'appréciation fournis par l'examen coprologique.

5° Immédiatement après l'abattage, la muqueuse intestinale (duodénum) est grattée sur une longueur de 25 cm. L'examen au microscope du produit de raclage, placé entre lame et lamelle, confirme ou non la présence de *Cooperia*.

6° Ces deux dernières opérations ont été ajoutées, dans le but d'obtenir une plus grande précision : en effet, lors de faible parasitisme, l'élimination des œufs n'est point régulière ; elle est même quelquefois nulle. Dans ce cas, le diagnostic de l'espèce en cause présente quelque difficulté. De plus, si les Bunostomes, les Oesophagostomes et les *Haemonchus* peuvent facilement être reconnus dans les crottes après le traitement, il n'en est pas de même pour les *Cooperia* qui demeurent totalement invisibles.

## II. — ACTION DU THIABENDAZOLE SUR LES PRINCIPAUX HELMINTHES DU ZÉBU ESSAIS SUR LES ANIMAUX D'EXPÉRIENCE

### A. — Action sur les Trématodes

Aux doses utilisées, le Thiabendazole est donc dépourvu de toute activité à l'égard de *Fasciola gigantica*, *Paramphistomum microbothrium*, *Cotylophoron cotylophorum* et *Chistosoma bovis*. *Dicrocoelium hospes* n'est pas touché à la dose de 60 mg/kg. (Tab I)

### B. — Action sur les cestodes

Même à très forte dose, le Thiabendazole est totalement inefficace sur *Moniezia benedeni*, *Thysaniezia ovilla* et *Cysticercus bovis* (GRABER et THOME, 1964). (Tab II)

### C. — Action sur les nématodes

1° Sur les formes adultes mûres.

a) *Strongyloides papillosus* : tableau n° 3.

b) *Basicola radiatum* : tableau n° 4.

c) *Bunostomum phlebotomum* : tableau n° 5.

d) *Cooperia pectinata*, *Cooperia punctata* et *Cooperia sp.* : tableau n° 6.

e) *Haemonchus contortus* : tableau n° 7.

f) *Buckleyuris globulosa* : tableau n° 8.

g) Filaires : tableau n° 9.

h) Témoins : tableau n° 10.

2° Sur certaines formes adultes immatures et sur les formes E<sub>4</sub> de *Basicola radiatum*.

Il ne sera question ici que de *Basicola radiatum* et de *Bunostomum phlebotomum* dont les formes larvaires en kystées dans le premier cas et les formes adultes immatures dans le second sont, au Tchad et en R.C.A., nombreuses, dangereuses pour la santé de l'animal et très difficiles à éliminer.

a) Lorsqu'il s'agit de *Bunostomum phlebotomum*, on sait que la pénétration des larves infestantes L<sub>3</sub> se fait soit par la voie buccale, soit le plus souvent par la voie transcutanée. Les larves effectuent alors dans l'organisme des migrations avec passage dans le poumon et retour dans l'intestin sous forme de larves L<sub>4</sub>. Il faut 3 se-

TABLEAU N° I

## Trématodes

Nombre d'animaux déparasités après traitement au Thiabendazole

Doses mg/kg	Dicrocoelium hospes	Fasciola gigantica	Shistosoma bovis	Paramphistomum microbothrium	Cotylophoron
1° Pas de diète					
45	0 sur 1 (1)*	0 sur 1*			
60	0 sur 1 (10)		0 sur 6 (24)*		0 sur 3 (1g)**
65		0 sur 2 (9)			
70		0 sur 3 (3)	0 sur 8 (6)		sur 1 (2g)
75		0 sur 2 (5)			0 sur 2 (1,2g)
80		0 sur 2 (7)			
Témoins					
R.C.A.	1 (1)	9 (5)			12 (1,2g)
Tchad		1 (17)	9 (6)		
2° Diète de 20 heures					
50		0 sur 3 (20)	0 sur 6 (6)	0 sur 5 (30g)**	
100			0 sur 1 (5)		
300			0 sur 1 (4)	0 sur 2 (4g)	
500			0 sur 1 (12)	0 sur 1 (1g)	
750			0 sur 1 (5)	0 sur 1	
1000			0 sur 1 (12)		
Témoins					
Tchad		6 (26)	6 (26)	2 (19g)	

\* Le nombre entre parenthèses indique la moyenne du nombre de Trématodes rencontrés

\*\* Pour les Paramphostomes, l'évaluation moyenne est donnée en grammes.

maines pour que les vers adultes immatures soient formés. La période pré-patente des Bunostomes est d'environ 8 semaines, quelquefois de 2 mois et demi.

b) Pour *Bosicola radiatum*, il existe 2 possibilités :

— Le bouvillon est neuf. Les larves  $L_3$  absorbées s'enfoncent dans la sous muqueuse de l'intestin où elles restent de 5 à 8 jours. Puis elles subissent une mue qui les fait passer au stade  $L_4$

avec les 2 types décrits par Marotel, le type ancylostomiforme et le type Oesophagostomiforme.

Les larves  $L_4$  libres dans l'intestin se transforment en larves  $L_5$  semblables au parasite adulte, mais immature. Dans ces conditions la période pré-patente de l'infestation est de 30 à 40 jours.

Au Tchad, ce schéma est « grosso modo » valable en saison des pluies (de juillet à septembre) pour les animaux nés au cours de l'hiver précédent.



TABLEAU N° II

## Cestodes

Nombre d'animaux déparasités après traitement au Thiabendazole.

Doses mg/kg	<i>Moniezia</i> <i>benedeni</i>	<i>Thysaniezia</i> <i>ovilla</i>	<i>Cysticercus</i> <i>bovis</i>	<i>Cysticercus</i> <i>dromedarii</i>
1° Après diète de 20 heures				
50	0 sur 1 (3g)*		0 sur 2 (1)**	0 sur 1 (1)**
65		0 sur 1 (4g)*		
100			0 sur 2 (1)	
150			0 sur 1 (1)	
300	0 sur 1 (7,5g)		0 sur 2 (1)	
500			0 sur 1 (3)	
750			0 sur 1 (3)	
Témoins				
Tchad	1 (3g)		2 (2)	
2° Pas de diète				
60			0 sur 4 (3)	
65		0 sur 2 (4g)	0 sur 2 (2)	
70	0 sur 1 (2g)	0 sur 2 (2g)	0 sur 5 (2)	
80			0 sur 1 (1)	
Témoins				
Tchad	2 (11g)	2 (6g)	2 (5)	
R.C.A.			2 (4)	

\* Poids moyen évalué en grammes

\*\* moyenne du nombre de *Cysticercus* encore vivants, après évagination dans la bile de boeuf à 39° C.

— Les animaux ont déjà subi une première atteinte par *Bosicola radiatum* : le cycle évolutif est alors, dans ses grandes lignes, celui décrit par Marotel (1908) pour les pays tempérés. Il est caractérisé par l'infestation des jeunes en août-septembre, la présence de larves L<sub>4</sub> dans la sous-muqueuse intestinale comme les larves L<sub>3</sub>, avec comme conséquence formation de nodules d'aspect pseudo-tuberculeux résultant d'un processus inflammatoire de nature subaigue.

L'évolution se poursuit pendant tout l'hiver et les Oesophagostomes adultes immatures n'apparaissent dans la lumière intestinale que vers mars-avril de l'année suivante. La maturité sexuelle est atteinte en juin. La période prépatente de l'infestation est, dans ce cas, de 7 à 9 mois. L'origine de cet état de choses doit être

recherchée dans l'action allergisante des antigènes larvaires de *Bosicola* sur les tissus de l'hôte et singulièrement sur le chorion intestinale. La première infestation prépare le terrain et les surinfestations ou les réinfestations déclenchent la réaction allergique (Euzéby, 1963).

Ce processus joue également au Tchad : selon les régions et en fonction des précipitations enregistrées, de 10 à 40 p. 100 des animaux montrent sur l'intestin des nodules parasitaires à des stades d'évolution variable et renfermant à l'intérieur des larves L<sub>4</sub> vivantes. La sortie des jeunes Oesophagostomes adultes immatures va de janvier à début avril, avec un maximum de la mi-février à la mi-mars. Les *Bosicola* atteignent la maturité sexuelle vers la mi-avril début mai, c'est-à-dire au moment où les toutes premières chutes de pluie se manifestent.



TABLEAU N° V

Action du Thiabendazole sur *Bunostomum phlebotomum* adulte mûr.

Doses mg/kg	Nombre d'animaux parasités	Examens coprologiques		Nombre de parasites expulsés	Animaux encore parasités	A u t o p s i e		Efficacité	Epoque des traitements
		avant traitement	après traitement			Nombre de parasites rencontrés	Présence ou absence de larves L <sub>3</sub>		
1° Pas de diète									
60	2	150*	0	36	0	0	0	100 p.100	Mars-Avril 1964
70	4	90	0	13	0	0	0	100 "	Mars-Avril 1964
De 150 à 1.000 mg/kg, il n'existe plus de <i>Bunostomum</i> adultes mûrs (10 animaux)									
2° Après diète de 20 heures									
50	3	516	0	64	0	0	0	100 p.100	Septembre 1962
100	1	70	0	10	0	0	0		Mars-Avril 1963 Septembre 1962

\* Nombre d'œufs au gramme de matière fécale (moyenne)

TABLEAU N° VI

Action du Thiabendazole sur *Cooperia punctata*, *Cooperia pectinata* et *Cooperia* Sp.

Doses mg/kg	Examens coprologiques		Culture d'oeufs		Nombre de parasites à l'autopsie (moyenne)	Nombre d'animaux totalement déparasités	Epoques des traitements
	avant traitement	après traitement	Présence des larves				
			avant traitement	après traitement			
1° Diète de 20 heures							
50 (9)*	283**	15	8 sur 9	1 sur 9	3	4 sur 9	Septembre 1963 Mars-Avril 1963
60 (2)*	55	0	2 sur 2	0 sur 2	0	2 sur 2	Mars-Avril 1963
65 (4)	9	0	4 sur 4	0 sur 4	0	4 sur 4	Mars-Avril 1963
70 (4)	92	14	4 sur 4	0 sur 4	0	4 sur 4	Mars-Avril 1963
-Plus aucun <i>Cooperia</i> de 100 à 1.000 mg/kg.							
2° Pas de diète							
60 (4)	74	0	2 sur 4	0 sur 4	4	0 sur 4	Mars-Avril 1963 Décembre 1963
70 (6)	80	2	5 sur 6	0 sur 6	1	4 sur 6	Janvier 1964

\* Nombre d'animaux parasités et traités.

\*\* Nombre d'oeufs au gramme de matière fécale.

TABLEAU N° VII

Action du Thiabendazole sur *Haemonchus contortus* adulte.

Doses mg/kg	Nombre d'animaux parasités	Examens coprologiques		Nombre de parasites expulsés	Autopsie			Efficacité	Epoque des traitements
		avant traitement	après traitement		Animaux encore parasités	Nombre de parasites rencontrés	Présence ou absence de larves L <sub>3</sub>		
1° Diète de 20 heures									
50	4	411*	19	10	0	0	0	100 p.100	Septembre 1962 Mars-Avril 1963
100	2	85*	0	0	0	0	0	100 "	Septembre 1962
2° Pas de diète									
50	3	123	0	6	0	0	0	100 "	Mars(Avril 1964
70	2	0	0	2	0	0	0	100 "	Mars-Avril 1964

- Au delà de cette dose, les *Haemonchus* ont tous disparu de la cailllette à l'autopsie.

\* Nombre d'œufs au gramme de matière fécale (moyenne).

TABLEAU N° VIII

Action du Thiabendazole sur *Buckleyuris globulosa*.

Doses mg/kg	Nombre d'animaux parasités	Examens coprologiques		Nombre de parasites expulsés	Autopsie		Efficacité	Epoque des traitements
		avant traitement	après traitement		Nombre de parasites rencontrés	Nombre d'animaux encore parasités		
1° Diète de 20 heures								
50	2	0*	0	0	3	2 sur 2	0 p.100	Septembre 1962 Mars-Avril 1963
2° Pas de diète								
70	1	0	0	0	2	1 sur 1	0 "	Décembre 1963 Janvier 1964

\* Nombre d'œufs au gramme de matière fécale

TABLEAU N° IX  
 Filaires  
 Nombre d'animaux déparasités après traitement au Thiabendazole.

Doses mg/kg	<i>Artionema labiato papillosa</i>	<i>Onchocerca armillata</i>	<i>Onchocerca gutturosa</i>
1° Pas de diète			
60	0 sur 5 (5)*	0 sur 2	0 sur 1
70	0 sur 7 (3)*		
2° Diète de 20 heures			
50	0 sur 5 (5)*	0 sur 1	
150	0 sur 1 (1)	0 sur 1	
300	0 sur 2 (1)	0 sur 1	
500		0 sur 1	
750	0 sur 1 (1)		

\* Nombre de Filaires (moyenne)

TABLEAU N° X  
 Témoins - Nématodes  
 Moyenne du nombre de parasites.

E s p è c e s	Septembre 1962	Mars-Avril 1963	Décembre 1963 Janvier 1964	Mars-Avril 1964
<i>Bosicola radiatum</i>	171	30	16	15
<i>Bunostomum phlebotomum</i>	2	6	3	75
<i>Cooperia pectinata</i>				
<i>Cooperia punctata</i>	150	35	70	27
<i>Cooperia</i> sp.				
<i>Haemoncus contortus</i>	114	5	7	
<i>Buckleyuris globulosa</i>		1	3	2
<i>Artionema labiatopapillosa</i>	1	2	2	3
Nombre d'animaux	2	9	10	3

c) Quelques essais ont été tentés pour déterminer l'effet du Thiabendazole sur les formes larvaires L<sup>2</sup> de *Bosicola radiatum* et sur les formes adultes immatures de *Bosicola radiatum* et de *Bunostomum phlebotomum*. (Tab. XI et XII)

### 3° Discussion.

a) Le Thiabendazole, quelle que soit la dose

utilisée (de 50 à 70 mg/kg \*) est totalement inactif sur *Artionema labiato-papillosa*, *Onchocerca armillata* et *Onchocerca gutturosa*.

b) L'anthelminthique, vers 60 mg/kg, assure la destruction de *Strongyloides papillosus*, *Haemoncus*, *Bosicola radiatum* et *Bunostomum phlebotomum*.

\* Il s'agit de Thiabendazole pur.

TABLEAU N° XI

Action du Thiabendazole sur les formes larvaires L<sub>4</sub> et sur les formes adultes immatures de *Bosicola radiatum*

Doses mg/kg	Nombre animaux traités	Présence de larves L <sub>4</sub>		Présence de formes adultes immatures	
		traités	témoins	traités	témoins
1° Diète de 20 heures					
60	3	1 sur 3	2 sur 9*		
65	5	1 sur 5	2 sur 9*		
2° Pas de diète					
70	13	2 sur 13	1 sur 13	animaux 8 sur 13**	animaux 5 sur 13
De 100 à 1.000 mg/kg les formes adultes immatures ont disparu					

\* de 1 à 10 (Mars-Avril 1963)

\*\* de 1 à 80 (Décembre 1963-Mars 1964).

TABLEAU N° XII

Action du Thiabendazole sur les formes adultes et immatures de *Bunostomum phlebotomum*.

Doses mg/kg	Nombre animaux traités	E p o q u e	Présence de formes immatures	
			traités	témoins
1° Diète de 20 heures				
50	17	Septembre 1962	animaux 1 sur 17	animaux 1 sur 9
2° Pas de diète				
60	9	Décembre 1963 Janvier 1964	2 sur 9*	1 sur 10
70	9	Mars-Avril 1964	3 sur 9	1 sur 3
De 100 à 1.000 mg/kg il n'existe plus de <i>Bunostomes</i> adultes immatures (10 animaux)				

\* de 1 à 30 parasites.

adultes. En ce cas, la diète ne joue pratiquement aucun rôle.

c) Le Thiabendazole jusqu'à 70 mg/kg que l'animal soit à jeun ou non, n'atteint pas les formes larvaires L<sub>4</sub> de *Bosicola radiatum*, issues de réinfestations ou de surinfestations et profondément enkystées dans la muqueuse intestinale.

d) Aux mêmes doses et sans diète, l'action du dérivé de l'imidazole paraît faible et irrégulière sur les formes adultes immatures de *Bosicola*

*radiatum* et de *Bunostomum phlebotomum* rencontrées à la phase terminale de la période prépatente. La mise à la diète des animaux à traiter semble augmenter le pouvoir anthelminthique du Thiabendazole, tout au moins sur *Bosicola radiatum* adulte et immature. Au-delà de 100 mg/kg, ces mêmes formes disparaissent.

e) *Cooperia pectinata* et *Cooperia punctata* résistent encore à des doses de 70 mg/kg sans diète (2/3 des animaux déparasités). La prépa-



ration de l'animal avant le traitement a des conséquences heureuses, puisque, vers 65-70 mg/kg, ces Nématodes sont à peu près totalement tués. A partir de 100 mg/kg, les *Cooperia* ne peuvent plus être mis en évidence lors du grattage de la muqueuse duodénale.

f) Il en résulte que 2 dosages sont susceptibles d'être préconisés, si l'on veut éliminer en une seule fois les 5 Nématodes les plus fréquents de l'appareil digestif du zébu tchadien :

— L'animal est soumis à une diète préalable de 20 h, la dose de 70-75 mg/kg suffit, sauf pour les Larves L<sub>4</sub> intranodulaires de *Bosicola radiatum*.

— L'animal est traité directement sur le terrain sans préparation, la dose sera alors plus forte, de l'ordre de 100 mg/kg environ \*. La plupart des auteurs d'ailleurs, en cas de polyparasitisme par Nématodes, recommandent, chez le bœuf, le dernier dosage (AMES et Col. 1963 KEITH 1963, LEIPER et CROWLEY 1963, BAKER et DOUGLAS 1962, ENIGK et ECKERT 1963, ECKERT 1963, BELL et Coll. 1962).

Les doses plus faibles (entre 50 et 75 mg/kg) ne permettent sûrement que la destruction des *Haemoncus contortus* adultes et d'une grande partie des *Ostertagia*, *Cooperia* et *Trichostrongylus* implantés dans l'intestin.

### III. — ESSAIS SUR LE TERRAIN EFFECTUÉS DANS LES CONDITIONS D'UN TRAITEMENT DE MASSE EN AFRIQUE CENTRALE.

Les résultats expérimentalement acquis sur les animaux traités en station, à Farcha, ont été confirmés à l'occasion du traitement de masse entrepris dans les conditions pratiques d'intervention en brousse, sur 70 zébus peulhs, originaires des régions de Bouar et de Paoua, en R. C. A., amenés en camion au laboratoire. Ces bouvillons de 115 à 289 kg étaient, dans l'ensemble, en meilleur état que les animaux du Tchad, quoique porteurs de très nombreux Nématodes intestinaux, principalement des *Bosicola radiatum* et des *Bunostomum phlebotomum*. Ils ont été répartis en 3 lots au fur et à mesure de leur arrivée :

\* Ce qui correspond à 125 mg/kg du produit commercial.

- Lot n° 1 : février-mars 1964 ;
- Lot n° 2 : avril 1964 ;
- Lot n° 3 : mai-juin 1964.

Chaque lot a lui-même été scindé en deux, la première série composée des animaux traités (40 au total) et la seconde des témoins (36). Les bouvillons du lot 1 ont reçu 10 g, ceux du lot 2, 12 g et ceux du lot 3, 13 g de Thiabendazole à 75 p. 100, tout en respectant les conditions inhérentes à un traitement de masse en Afrique Centrale, c'est-à-dire : distribution de l'anthelminthique sur place sans déplacement d'animaux pas de préparation ; dose unique facile à administrer par un personnel peu compétent et, autant que faire se peut, valable pour l'ensemble des zébus du lot dont le poids devra être à peu près équivalent.

L'intervention terminée, certains bouvillons ont été laissés dans des parcs recouverts de sable, soigneusement nettoyés et munis d'étables adjacentes cimentées, pour éviter, dans toute la mesure du possible, d'éventuelles réinfestations ou sur-infestations.

Les autres ont été mis directement dans des stalles d'expérience, également cimentées. Dans tous les cas, au cours de l'expérience, la nourriture était à base de paille et de graines de coton, sans aliments vers venus à l'extérieur. Les animaux ont été sacrifiés à trois semaines et à un mois après la fin du traitement.

A l'autopsie, les parasites du tube digestif ont été recueillis, formolés et comptés et une moyenne a été établie par espèce et par lot. La comparaison entre la moyenne du nombre de Nématodes récoltés dans l'intestin des zébus traités et des zébus témoins donne une idée suffisante de la valeur du Thiabendazole dans un traitement de masse. Les résultats figurent aux tableaux n° 13, 14 et 15.

Il apparaît donc que, lorsque les formes adultes et immatures de *Bosicola radiatum* et de *Bunostomum phlebotomum* ne sont pas trop nombreuses dans un lot considéré, des doses de 70-80 mg/kg sans diète paraissent aboutir à l'élimination d'environ 95 p. 100 des *Bosicola radiatum*, 84 à 94 p. 100 des *Bunostomum phlebotomum*, 90 à 93 p. 100 des *Cooperia punctata* et *Cooperia pectinata* et de la totalité des *Haemoncus placei* et des *Haemoncus contortus* présents dans le tube digestif des bouvillons traités. A la même dose et

TABLEAU N° XIII

Lot n° 1 (Février-Mars 1964)

10 grammes Thiabendazole. Pas de diète.

Nombre de parasites adultes mûrs et immatures retrouvés à l'autopsie (moyenne) et pourcentage de réduction par rapport aux témoins.

Nématodes en cause	Témoins	60 à 70 mg/kg		70 à 80 mg/kg	
		Nombre de parasites recueillis	Pourcentage de réduction	Nombre de parasites	Pourcentage de réduction
<i>Bosicola radiatum</i> **	71 (3)*	14 (1)*	80 p. 100	2 (1)*	97,3 p. 100
<i>Bunostomum phlebotomum</i> **	194 (2)*	36 (2)	80,5 "	31 (3)	84,1 "
<i>Cooperia punctata</i> <i>Cooperia pectinata</i>	21 (2)			2 (1)	90,5 "
<i>Haemoncus contortus</i> <i>Haemoncus placei</i>	90 (1)			0 (3)	100 "
<i>Buckleyuris globulosa</i>	5 (2)	2 (1)	60 "	1 (1)	30 "

\* Le chiffre "entre parenthèses" indique le nombre d'animaux utilisés.

\*\* Chez les témoins, comme chez les adultes, les formes adultes et immatures de *Bosicola radiatum* et de *Bunostomum phlebotomum* étaient en très petit nombre.

dans les mêmes conditions, le pourcentage d'efficacité sur *Bunostomum phlebotomum* baisse sensiblement si les formes adultes immatures sont très abondantes.

La conclusion logique de ces essais est que, dans les pays où le parasitisme par les Nématodes intestinaux est massif, comme la R.C.A. et où, à certaines époques de l'année, les formes immatures de *Bunostomum*, les plus nocives pour la santé de l'animal, sont en grand nombre, il importe de forcer la dose (au moins 100 mg/kg) et de renouveler, si possible, le traitement 15 jours plus tard, car il n'est pas absolument certain qu'une seule dose de 100 mg/kg suffise à éliminer tous les Ancylostomidés immatures.

#### IV. — ACTIVITÉ DU MÉDICAMENT

Le Thiabendazole agit rapidement sur les Nématodes qui, sauf pour les *Cooperia*, sont expulsés entiers dans les délais suivants :

— 7/10 en 24-48 h,

— 2/10 en 72 h,  
— 1/10 en 9 h.

Les œufs de Nématodes mûrs dans les selles, après traitement à la dose de 70 mg/kg, sont encore capables d'évoluer pendant un certain temps et de donner des larves infestantes L<sub>3</sub>, 48 h au moins après l'administration du médicament.

Par sécurité, les animaux traités au Thiabendazole ne sont donc remis sur un pâturage neuf que 4 jours plus tard.

#### V. — CONSÉQUENCES DU TRAITEMENT SUR LA SANTÉ DE L'ANIMAL

a) Conséquences visibles.

Le médicament est bien supporté et ne cause pas de perturbations sensibles sur le comportement habituel de l'animal. L'appétit croît rapidement, le foin ayant tendance à être consommé en plus grande quantité par les animaux traités que par les témoins.

TABLEAU N° XIV

Lot n° 2 (Avril 1964)

-12 grammes de Thiabendazole. Pas de diète.

Nombre de Nématodes adultes mûrs et immatures (moyenne)  
retrouvés à l'autopsie et pourcentage de réduction par  
rapport aux témoins.

Nématodes en cause	Témoins	60 à 70 mg/kg		70 à 80 mg/kg		90 mg/kg
		Nombre de parasites recueillis	Pourcentage de réduction	Nombre de parasites recueillis	Pourcentage de réduction	
<i>Bosicola radiatum</i> **	27 (11)*	13 (4)*	51,9 p.100	3 (3)*	95,7 p.100	0 (2)
<i>Bunostomum phlebotomum</i> **	43 (8)*	34 (6)	21 "	24 (5)	44,2 "	0 (2)
<i>Cooperia punctata</i> <i>Cooperia pectinata</i> <i>Cooperia sp.</i>	54 (8)	10 (3)	81,5 "	1 (1)	98,2 "	0 (2)
<i>Haemoncus contortus</i> <i>Haemoncus placei</i>	30 (10)*	7 (4)*	76,7 "	2 (7)*	93,4 "	1 (1)
<i>Buckleyuris globulosa</i>	3 (2)*	4 (6)	0 "	2 (6)	33 "	1 (1)

\* Le chiffre "entre parenthèses" indique le nombre d'animaux utilisés.

\*\* Forte proportion, tant chez les traités que chez les témoins, de formes adultes immatures de *Bosicola radiatum* et de *Bunostomum phlebotomum*.

TABLEAU N° XV

Lot n° 3 (Mai-Juin 1964)

- 13 grammes de Thiabendazole. Pas de diète.

Nombre de Nématodes adultes mûrs et immatures (moyenne)  
retrouvés à l'autopsie et pourcentage de réduction par  
rapport aux témoins.

Nématodes en cause	Témoins	45 à 55 mg/kg		60 à 70 mg/kg		70 à 80 mg/kg	
		A	B	A	B	A	B
		<i>Bosicola radiatum</i> **	59 (7)*	12,5 (2)*	78,8 p.100	9 (4)*	84 p.100
<i>Bunostomum phlebotomum</i> **	83 (11)*	39,5 (2)	52,4 "	10 (5)	88 "	5 (2)	94 p.100
<i>Cooperia punctata</i> <i>Cooperia pectinata</i> <i>Cooperia sp.</i>	79 (16)	15 (1)	81,2 "	5,5(4)	93,1 "	5 (4)	93,7 "
<i>Haemoncus contortus</i> <i>Haemoncus placei</i>	36 (15)	9 (1)	89,5 "	5 (3)	94,2 "	0 (5)	100 "
<i>Buckleyuris globulosa</i>	5 (4)	1 (1)	80 "	6 (2)	0 "		

A Nombre de parasites recueillis

B Pourcentage de réduction

\* Nombre d'animaux utilisés

\*\* La proportion de formes adultes immatures de *Bosicola* et de *Bunostomum* était, dans l'ensemble, faible.

## b) Action sur les Protéines du sang.

Deux séries de recherches ont été effectuées :

— la première sur 5 bouvillons ayant reçu 60 mg/kg.

— la seconde sur 5 bouvillons témoins entretenus dans les mêmes conditions, c'est-à-dire sur aire cimentée avec une nourriture sèche. Les protéines totales, les albumines et les globulines ont été mesurées 5 jours avant et 5 jours après le traitement et les moyennes calculées.

Le Thiabendazole n'a pratiquement guère d'influence sur les Protéines totales. Les Albumines diminuent et les Globulines augmentent, les modifications étant peu sensibles, tant chez les animaux traités que chez les témoins (Tab. XVI).

## c) augmentation de poids.

5 animaux diversement parasités par *Cooperia*, *Bosicola*, *Bunostomum* et *Haemoncus* ont été remis, après administration du Thiabendazole à la dose de 70 mg/kg (diète de 20 h) sur un pâturage de fin de saison sèche maigre et très clairsemé, composé d'herbes grossières desséchées et de chaumes de mil.

Ils ont été pesés tous les mois du 18 janvier au 10 avril 1964 (Tab. XVII).

Ces chiffres se passent de commentaires. Le parasitisme par les Nématodes une fois disparu grâce à l'action du Thiabendazole, les bouvillons profitent mieux de la nourriture, même médiocre, mise à leur disposition. Ce fait est très intéres-

TABLEAU N° XVI

Protéines totales, Albumines et Globulines du sang.

	Animaux traités (moyenne)		Animaux témoins (moyenne)	
	avant traitement	après traitement	avant traitement	après traitement
Protéines totales	78,543	79,036	78,948	79,297
Albumines	31,986	27,121	33,039	29,344
Globulines	46,557	51,915	45,909	49,953

TABLEAU N° XVII

Augmentation de poids (en kilogrammes)

Bouvillon n°	18.1.64	21.2.64	20.3.64	10.4.64
1	133,9	139,5	142	149,9
2	109,3	113	117	123,4
3	115,3	123,6	124,3	136,2
4	111,8	119,4	119	128,3
5	133	137	143	154
Total (moyenne)	120,6	126,5	129	138,5
Pourcentage d'accroissement		+ 4,8 p.100	+ 6,9 p.100	+ 14,8 p.100
Témoins (5) moyenne	135,2			135,3

sant dans certains pays tropicaux où pendant 6 mois de l'année, du fait de l'absence de pluies, sévit une sécheresse redoutable. Le pâturage tend à se réduire considérablement et l'alimentation des animaux devient difficile. L'amaigrissement du bétail est presque général et cet amaigrissement sera d'autant plus prononcé que les Helminthes intestinaux sont plus nombreux.

En supprimant les Nématodes par du Thiabendazole distribué au moment opportun, l'équilibre hôte-parasites est rétabli au profit de l'animal qui tire alors profit au maximum de ce qu'il est susceptible de trouver pour se nourrir.

Le même phénomène a été observé en 1962 par Mancisidor et Hagen au Mexique chez des zébus traités au Thiabendazole et placés sur de pauvres pâtures naturelles de pleine saison sèche.

## VI. — ÉPOQUE DES TRAITEMENTS

1<sup>o</sup> Pour le Tchad, on sait que, du fait de leur cycle évolutif particulier, les Oesophagostomes adultes, mûrs ou immatures se rencontrent surtout de janvier à la mi-mai. Pour les Bunostomes, des renseignements fournis par les enquêtes menées en 1957 indiquent que le plus grand nombre de *Bunostomum phlebotomum* par tête (42 à 92) se voit de mars à la fin mai.

Le traitement à la dose de 100 mg/kg au moins aura donc lieu à cette époque qui se situe vers la fin de la saison sèche, les traitements plus précoces ne paraissant pas devoir entraîner la destruction des larves L<sub>4</sub> intranodulaires de *Bosicola radiatum*.

Un second traitement sera instauré en septembre pour éliminer les Oesophagostomes issus des premières infestations d'animaux neufs, les *Haemoncus* toujours très nombreux en fin d'hivernage et les Bunostomes dont la saison des pluies favorise le développement (34 en moyenne par animal).

2<sup>o</sup> Pour la R.C.A., on ne connaît pas encore l'épidémiologie exacte de l'Oesophagostomose, des Trichostrongyloses et de la Bunostomiase bovine. Cependant, les résultats enregistrés semblent montrer que le traitement à la dose de 100 mg/kg doit être instauré très tôt dans la saison vers février-mars. Comme le parasitisme est souvent important, il devra être renouvelé

une quinzaine de jours plus tard, si l'on veut obtenir l'élimination à peu près totale des Nématodes, avant de remettre les animaux sur des parcs neufs.

## VII. — TOXICITÉ

Le Thiabendazole a été administré à des doses progressivement croissantes :

— 150 mg/kg	:	deux animaux		
— 300	—	—	—	—
— 500	—	—	—	—
— 750	—	—	—	—
— 1.000	—	—	—	—

Les dix bouvillons ont été mis en observation durant 10 jours. Le médicament est bien toléré, sauf à 750 mg/kg, où l'un des deux animaux est mort en 24 h. Il s'agissait, il est vrai, d'une bête en mauvais état, maigre et très anémiée.

Si l'on adopte comme dose minimum 100 mg/kg l'écart entre la dose thérapeutique préconisée et la dose où les premiers accidents toxiques mortels se font jour, est de 7,5, ce qui, chez le zébu tchadien, laisse une grande marge de sécurité qui n'est atteinte ni par la Phénothiazine normale ou la Phénothiazine extra-fine, ni par la Methyridine, ni par divers composés phosphorés organiques.

Le Thiabendazole pourra donc, sans inconvénient majeur, être manipulé par des mains peu expertes, ce qui est important, dans les pays en voie de développement manquant de personnel qualifié.

Les auteurs sont unanimes à reconnaître la faible toxicité du Thiabendazole pour le bovin. BELL et coll. (1962), vers 100 mg/kg, notent une légère élévation de température et, vers 200 mg/kg, de l'essoufflement, de la salivation et un peu de diarrhée. Tous ces signes disparaissent en 24 h.

REINECKE et ROSSITER (1962), en Afrique du Sud, avec des doses de 600, 800 et 1.000 mg/kg, ne remarquent pas de modifications des transaminases du plasma, ce qui montre bien que le foie n'est pas touché.

L'anthelminthique est bien toléré par les vaches gestantes jusqu'à 150 mg/kg (GUG et CHODKIEWICZ, 1963).

## VIII. — ASSOCIATIONS MÉDICAMENTEUSES

Le Thiabendazole s'associe sans difficulté à d'autres médicaments employés pour la destruction des Distomes stomacaux ou hépatiques et des Cestodes de l'intestin, notamment à l'Actamer ou Bithionol ou 2,2'-Thiobis (4,6-Dichlorophenol).

Plus de 30 animaux de tous âges ont ainsi reçu sans inconvénient l'association suivante :

— Thiabendazole : 70 mg/kg,

Actamer : 15 ou 25 mg/kg selon le cas.

association qui a pour effet de tuer plus de 80 p. 100 des *Fasciola gigantica* du foie, tous les Cestodes de l'intestin et la quasi-totalité des Nématodes du tractus digestif.

### CONCLUSIONS

Lors d'essais effectués sur 169 jeunes zébus originaires du Tchad et de R.C.A., il a été constaté que :

1° Le Thiabendazole, quelle que soit la dose utilisée, est complètement inactif sur *Cysticercus bovis*, sur les Cestodes et les Paramphistomes du tube digestif et sur *Fasciola gigantica* des canaux biliaires.

Il en est de même sur les Filaires du péritoine, de l'aorte et du Ligament cervical.

2° Son action est faible et irrégulière sur *Buckleyuris globulosa* du caecum.

3° Sur les associations à base de *Cooperia pectinata*, *Cooperia punctata*, *Haemoncus placei*, *Haemoncus contortus*, *Bosicola radiatum* et *Bunostomum phlebotomum* adultes mûrs ou immatures, lorsque l'animal subit une diète préalable de 20 h, des doses allant de 70 à 75 mg/kg paraissent suffisantes.

4° Dans les conditions africaines où il faut intervenir très rapidement, si possible en une seule fois et sans que l'animal ait subi une quelconque préparation, des doses plus élevées doivent être employées, de l'ordre de 100 mg/kg environ\*.

\* 125 mg/kg de Thiabendazole commercial.

En cas de parasitisme massif, surtout s'il comprend une majorité de *Bosicola radiatum* ou de *Bunostomum* adultes et immatures, le traitement sera renouvelé une quinzaine de jours après la première intervention.

5° Les larves L<sub>4</sub> de *Bosicola radiatum*, provenant de ré-infestations ou de sur-infestations et profondément enkystées dans la muqueuse intestinale, ne semblent pas touchées par le Thiabendazole.

6° Le médicament est peu toxique. La marge de sécurité est grande, de l'ordre de 7,5 pour le Tchad, avant que les premiers accidents toxiques mortels ne se manifestent.

L'animal supporte bien les doses thérapeutiques recommandées. Les variations que présentent les Protéines du sang après traitement sont négligeables.

7° En milieu tropical, dans le cas où il ne pleut pas 6 mois de l'année, le Thiabendazole, en chassant les principaux Nématodes du tractus digestif, assure une meilleure utilisation par l'animal des médiocres réserves fourragères existant encore en fin de saison sèche, avec comme conséquence une sensible reprise de poids qui permet au jeune zébu de franchir un cap alimentaire difficile avant que le pâturage ne repousse.

8° Le Thiabendazole, en milieu tropical sec, du fait de sa faible toxicité, bien inférieure à celle de la Phénothiazine, de la Methyridine ou des composés phosphorés organiques, et de sa très grande efficacité sur les Nématodes intestinaux qui, très nombreux, gênent la croissance normale des jeunes animaux, constitue actuellement, en matière d'élevage un médicament d'une grande valeur économique.

Pour que le traitement soit pleinement efficace, il importe cependant de connaître exactement le cycle évolutif des principaux Nématodes présents dans la zone considérée, notamment, en ce qui concerne le Tchad et la R.C.A., celui de *Bosicola radiatum* et de *Bunostomum phlebotomum*. Le Calendrier des traitements pourra être alors fixé avec précision.

## SUMMARY

### **Study, under certain african conditions, of the antiparasitic effect of thiabendazole on various helminths in domestic animals, 1) helminths in the Zebu**

The author after having carried out a series of tests in 169 young zebus of the Tchad and R. C. A. estimates that, in the field, a dose of at least 100 mg/kg per animal is required in order to destroy *Cooperia punctata*, *Cooperia pectinata*, *Haemonchus contortus*, *Haemonchus placei*, *Bosicola radiatum* and *Bunostomum phlebotomum* whether in the immature or fully developed adult stage, particularly when these different Nematodes are associated with each other, and this occurs in 90 per 100 of the cases.

The forms L<sub>4</sub> of *Bosicola radiatum* that are encysted in the intestinal mucosa seem resistant to all treatment.

Thiabendazole of low toxicity lends itself to massive treatments, which, under the conditions encountered in Africa, should be effective in one single stage, should be simple and should not require previous dieting. When there is extensive parasitism, the treatment should be renewed within the 15 days following the first attack. In dry tropical regions where, from May to June, the feeding possibilities of the cattle are slight, Thiabendazole, by destroying the Nematodes that are the most dangerous to the young animals, enables a better use to be made of the remaining pastures, the outcome of which is a considerable increase in weight of the animals treated.

## RESUMEN

### **Estudio, en ciertas condiciones africanas, de la acción antiparasitaria del Tiabendazola sobre diferentes helmintos de los animales domésticos. I. Helmintos del cebú**

Con arreglo a una serie de pruebas en 169 jóvenes cebús del Tchad y de la República Centroafricana, el autor piensa que, sobre el terreno, a lo menos una dosis de 100 mg/kg por animal es necesaria para destruir *Cooperia punctata*, *Cooperia pectinata*, *Haemonchus contortus*, *Haemonchus placei*, *Bosicola radiatum* y *Bunostomum phlebotomum* adultos maduros o inmaduros, sobretudo cuando estos nemátodos están asociados entre ellos, lo que ocurre en 90 por 100 de los casos.

Las formas L<sub>4</sub> de *Bosicola radiatum* enquistadas en la mucosa intestinal parecen ser refractarias a todo tratamiento. Se puede utilizar el Tiabendazola poco tóxico para tratamientos en masa, que, en las condiciones africanas, deben ser efectuados en una sola vez, ser simples y no necesitar una dieta previa. Cuando se trata de parasitismo masivo, el tratamiento volvera a empezarse en los 15 días que siguen la primera intervención. En zona tropical seca donde, de marzo a junio, las posibilidades del ganado son poco importantes, el Tiabendazola, destruyendo los nemátodos más peligrosos para los jóvenes animales, permite una mejor utilización del pasto restante, y en consecuencia un aumento de peso de los animales tratados.

## BIBLIOGRAPHIE

1. ALLEN (P. H.), PARK (S. E.), AMES (E. R.), ZEISSIO (A.) and GREEN (D. F.). — Preliminary report on Thiabendazole in cattle. *J. Anim. Sci.* 1962, 21 (4), 1038.
2. AMES (E. R.), CHENEY (J. M.) and RUBIN (R.). — The efficacy of Thiabendazole and Bephenium hydroxynaphthoate against *Ostertagia* and *Cooperia oncophora* in



- experimentally infected calves. *Amer. J. Vet. Res.*, 1963, **24** (99), 295-299.
3. ANDERSON (G. C.), AMES (E. R.), WELCH (J. A.), CUNNINGHAM (C. J.) AND OLSON (N. O.). — The comparative anthelmintic efficacy of Thiabendazole and Phengthiazine for lambs. *Mts. East. Sect. Soc. Anim. Prod. Pennsylvania State Univ.*, 1961, **8**, 22 pp.
  4. ANDERSON (G. C.), AMES (E. R.), WELCH (J. A.), CUNNINGHAM (C. J.) and OLSON (N. O.). — Anthelmintic efficacy of Thiabendazole. *Feedstuffs U. S. A.*, 1962, **34** (26).
  5. BAILEY (W. S.), DIAMOND (D. L.) and WALKER (D. F.). — Observations on the use of Thiabendazole in sheep and cattle. *J. Parasitol.*, 1961, **47** (4) (sect 2), 40-1.
  6. BAILEY (W. S.) AND DIAMOND (D. L.). — Parasitic gastritis of cattle and its treatment with Thiabendazole. *IV Pan Amer. Cong. Vet. Sci. Sem. parasitic dis. Mexico*, 1962.
  7. BAKER (N. F.) and DOUGLAS (J. R.). — Critical trials with Thiabendazole as an anthelmintic in the gastrointestinal tract of cattle and sheep. *Am. J. Vet. Res.*, 1962, **23** (97), 1219-1223.
  8. BELL (R. R.), GALVIN (T. J.) and TURK (R. D.). — Anthelmintics for ruminants VI Thiabendazole. *Am. J. Vet. Res.*, 1962 a, **23** (93), 195, 200.
  9. BELL (R. R.) AND GALVIN (T. J.). — Thiabendazole clinical observations in cattle. *Southwestern Vet.*, 1962 b, **15**, 297-298.
  10. BROWN (H. D.) : 2 — (4'-Thiazoly). — Benzimidazole a new anthelmintic. *140 th Mtg Am. Chem. Soc. Chicago*, 1961 a, 28-30.
  11. BROWN (H. D.), MATZUK (A. R.), ILVES (I. R.), PETERSON (L. H.), HARRIS (S. A.), SARETT (L. H.), EGERTON (J. R.), YAKSTIS (J. J.), CAMPBELL (W. C.) and CUCKLER (A. C.). — Antiparasitic drugs IV 2- (4' -thiazoly) benzimidazole, a new anthelmintic. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1961 b, **38** (7), 1764-1765.
  12. CAIRNS (G. C.) and GALLAGHOR (R. M.). — The effect of drenching with thiabendazole and moutrel on Werght gains in cattle. *N. Z. vet. J.*, 1964, **12** (26), 8.
  13. CUCKLER (A. C.) — Thiabendazole, a new broad spectrum anthelmintic. *J. Parasitol.*, 1961, **47** (4) (sect 2), 36-37.
  14. CUCKLER (A. C.), CAMPBELL (W. C.) and EGERTON (J. R.). — Evaluation of the anthelmintic potentialities of Thiabendazole and related compounds. *IV Pan Am. Cong. Vet. Sci. Sem. Parasitic Dis. Mexico*, 1962.
  15. ECKERT (J.). — Zur Therapie des Trichostrongylidenbefalles beim rind. *17 th Int. Vet. Cong. Hanovre*, 1963, **1**, 725-731.
  16. ENIGK (K.) et ECKERT (J.). — Versuche zur behandlung des Trichostrongylidenbefalles des rindes mit Thiabendazole. *Deutsch. Tierärztl Wschr.*, 1963, **70** (1), 6-13.
  17. EUZEBY (J.). — Thérapeutique anthelminthique des Strongyloses gastro-intestinales des ruminants. *Rec. Med. Vet.*, 1963 a, **263**, 171, 183 et 4, 277-289.
  18. EUZEBY (J.). — Les Maladies vermineuses des animaux domestiques maladies dues aux Némathelminthes, 1963 b, fasc. 11, 205 et 396.
  19. GORDON (H. M.) : Thiabendazole: a highly effective anthelmintic for sheep. *Nature*, 1961, **191**, 4796, 1409-1410.
  20. GRABER (M.). — Premiers résultats obtenus avec le Thiabendazole. *Rap. ann. Lab. Farcha*, 1962, 99-100.
  21. GRABER (M.) et THOME (M.). — La Cysticercose bovine en République du Tchad. — Quelques réflexions sur la situation présente, l'étiologie, le diagnostic, l'immunité et le traitement de cette zoonose. *1 th cong. Int. Parasitol. Rome et Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.* 1964, **17** (3).
  22. GUILHON (J.). — Action d'un dérivé de l'imidazole sur la petite douve. *Bul. Acad. Vet.*, 1962 a, **35** (7), 271, 274.
  23. GUILHON (J.). — Propriétés anthelminthiques d'un dérivé de l'imidazole. *Bul. Acad. Vet.*, 1962 b, **35** (2), 49-54.
  24. GUG (M.) et CHODKIEWICZ (M.). — Le Thiabendazole en médecine vétérinaire. *Encyclop. Vét. Per.*, 1963, **20** (4).
  25. HEBDEN (J. P.). — The anthelmintic activity of Thiabendazole (M. K. 360). *Austral. Vet. J.*, 1961, **37** (7), 264-269.
  26. HERLICH (H.). — The efficacy of Thiabendazole, Ruélène and Phenothiarine as anthelmintics in ruminants. *J. Parasitol.*, 1962, 48-49.

27. HOTSON (I. K.). — Anthelmintics for cattle. *Austral. Vet. J.*, 1963, **39**, 108-115.
28. ITARD (J.). — Lutte contre les affections gastro-intestinales des bovins et des ovins. — Traitements conseillés dans les conditions des interventions en brousse. *Mémoire Ins. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, 1964, Alfort 43 pp.
29. KEITH (R. K.). — Efficiency of Thiabendazole against some gastro-intestinal Helminths of cattle. *Austral. Vet. J.*, 1963, **39** (7), 264-267.
30. LEIPER (J. W. G.) and CROWLEY (J.). — Thiabendazole tested against the gastro-intestinal Nematodes of British farm animals (excluding sheep). *J. helm.*, 1962, **37** (1/2), 47-56.
31. MANCISIDOR (A.) and HAGEN (D. D.). — The evaluation of the anthelmintic activity of Thiabendazole in Zebu-type cattle being fattened under tropical conditions in feed-lot. Universidad Veracruzana, 1962.
32. MULLER (G. L.). — Helminth research in South Africa IV. Field trials on Thiabendazole (M. K. 360) as an anthelmintic for sheep, with a note on the assesment of diagnostic methods. *J. South. Afr. Med. Ass.*, 1962, **32** (2), 175-180.
33. MUSKUS (C. E.), TUNON SUAREZ and GONZALEZ (D.). — Anthelmintic activity of Thiabendazole in young cattle. *Rev. Vet. Venez.*, 1963, **14**, 244-247.
34. REINECKE (R. K.). — Three new anthelmintics. *J. South. Afric. Vet. Med. Ass.*, 1962, **33** (2), 245-247.
35. REINECKE (R. K.) and ROSSITER (L. W.). — Anthelmintic trials with Thiabendazole. *J. South Afr. Vet. Méd. Ass.*, 1962, **33** (2), 193-199.

# Valeur schistosomicide d'un nouveau dérivé aminonitrothiazole le Ciba 32.644-Ba ou ANT

## (Essais faits sur des petits ruminants atteints de schistosomiase intestinale)

par Simon GRETILLAT

### RÉSUMÉ

Des essais thérapeutiques et toxiques faits avec un nouveau dérivé aminonitrothiazole, le 32.644/Ba CIBA ou ANT, sur ovins et caprins infestés naturellement de schistosomiase intestinale démontrent l'excellente action anti-bilharzienne de ce produit

Un traitement étalé sur 5 jours à raison de 25 mg/kilo/jour permet d'obtenir une guérison clinique, alors que 10 mg/kilo/jour pendant 10 jours consécutifs suffisent pour aboutir aux mêmes résultats.

Une cure de 5 jours à raison de 35 mg/kilo/j ne permet pas d'obtenir une guérison parasitologique (destruction de tous les parasites avec leurs pontes) alors qu'une cure de 10 jours à raison seulement de 25 mg/kilo/j débarrasse l'animal de tous ses schistosomes, fait disparaître toutes les pontes, et permet chez les sujets moyennement parasités, la régression des lésions hépatiques (sclérose).

Au point de vue toxicité, les doses curatives de 25 mg/kilo/j.10 j. (soit une dose globale de 250 mg/kilo) ne provoquent aucun trouble digne d'être signalé. 75 mg/kilo/j /5 j. et 50 mg/kilo/j.5 j. amènent une diminution voire une inhibition passagère de la spermatogénèse dans les 10 jours suivant le traitement avec retour à la normale un mois après environ.

Le produit Ciba 32.644/Ba ou ANT est un nouveau dérivé aminonitrothiazole, 1-(5 nitro-2 thiazoly) imidazolidinone (2), synthétisé par WILHELM & SCHMIDT dans les Laboratoires de la Société Anonyme Ciba de Bâle.

Testé *in vitro* sur *Sch. mansoni* à la dilution de  $10^{-6}$ , il inhibe momentanément la ponte ovulaire et à  $10^{-5}$ , l'arrête complètement et tue les femelles et les mâles en 100 h de contact (LAMBERT, 1964).

*In vivo*, d'après STRIEBEL (1964), il pénètre d'abord au niveau de l'ovaire et des glandes vitellogènes de l'adulte, mais semble sans effet sur les schistosomules de 1 à 2 semaines d'âge (premiers stades chez l'hôte définitif).

Chez le mâle adulte, la région testiculaire semble être la première atteinte.

La souris infestée par 100 furcocercaires de

*Sch. mansoni* est guérie parasitologiquement si on la soumet à un traitement de longue durée (3 mois) à la dose journalière de 25 mg/kg. Par contre, une cure de 15 jours avec des doses identiques est suivie de récurrence 3 à 4 semaines après la fin du traitement (réapparition des œufs de parasites dans les fèces) (LAMBERT, 1964).

Au point de vue toxicité chez le singe vierge d'infestation, 50 mg/kg/jour *per os* pendant 10 jours ne provoquent aucun trouble clinique décelable. 100 mg/kg/jour pendant 10 jours font apparaître de l'inappétence de l'adynamie et une perte de poids sensible.

Chez les sujets sacrifiés quelques jours après la fin du traitement, on note une légère diminution de la spermatogénèse, et de petites lésions dégénératives des tubuli rénaux, mais sur ceux

sacrifiés un mois après, on constate une nette réversibilité de ces atteintes tissulaires qui ne sont que passagères (HESS, 1964).

Ces premiers résultats étant très encourageants, des essais de traitement ont été réalisés sur des petits ruminants infestés naturellement de schistosomiase intestinale.

Nous donnons ci-dessous le compte rendu de ce travail.

## MATÉRIEL D'EXPÉRIENCE

50 chèvres et moutons furent achetés en région de Kaédi, Mauritanie, fin janvier 1964.

Parmi ces animaux, 42 étaient infestés de bilharziose et 8 étaient indemnes, soit un décompte de :

- moutons positifs : 27,
- mouton négatif : 1,
- chèvres positives : 15,
- chèvres négatives : 7.

Le diagnostic d'infestation est établi sur les lieux d'achat au moyen de la technique de biopsie rectale (prélèvement d'un fragment de muqueuse et de mucus rectaux à environ 8 à 10 cm en avant de l'anus).

Le fragment est examiné après écrasement entre lame et lamelle sans éclaircissement. Par mesure de précaution et pour confirmer les résultats obtenus, 2 à 3 prélèvements sont faits sur chaque animal.

Cette technique mise au point et contrôlée aux abattoirs de Dakar, montre que la présence d'œufs au niveau de la muqueuse rectale coïncide toujours avec celle d'œufs dans les muqueuses de l'intestin grêle, du colon et du cæcum.

Un très grand nombre d'œufs de bilharzies trouvé à l'examen d'une biopsie rectale permet donc de poser le diagnostic d'infestation plus ou moins massive au niveau du grand mésentère et du mésentère colique.

## PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX

**Répartition des animaux par lots.** Deux groupes sont constitués : l'un renfermant des animaux parasités, l'autre des sujets vierges d'infestation. Les tests d'efficacité seront réalisés sur le premier groupe, et les tests de toxicité sur le second.

a) *Tests d'efficacité* : 7 lots soit 21 animaux, sont soumis à un traitement étalé sur 5 jours.

6 lots soit 17 animaux, sont soumis à un traitement étalé sur 10 jours.

Pour chaque lot, les doses suivantes sont administrées :

	marque des animaux		
	ovins	caprins	
Lot n° 1 (5 mg/kg/5 j) . . . .	878	876	364
Lot n° 2 (10 mg/kg/10 j) . . .	770	877	762
Lot n° 3 (5 mg/kg/10 j) . . . .	873	977	
Lot n° 4 (10 mg/kg/10 j) . . .	881	871	365
Lot n° 5 (15 mg/kg/5 j) . . . .	879	875	767
Lot n° 6 (20 mg/kg/5 j) . . . .	874	882	363
Lot n° 7 (15 mg/kg/10 j) . . .	991	993	761
Lot n° 8 (20 mg/kg/10 j) . . .	859	996	769
Lot n° 9 (25 mg/kg/5 j) . . . .	994	999	361
Lot n° 10 (30 mg/kg/5 j) . . .	858	367	768
Lot n° 11 (35 mg/kg/5 j) . . .	995	998	366
Lot n° 12 (25 mg/kg/10 j) . .	992	872	755
Lot n° 13 (30 mg/kg/10 j) . .	751	1000	763
	13	13	12

38 moutons et chèvres

b) *Tests de toxicité.* 7 lots totalisant 12 animaux sont traités à raison de 20 à 75 mg/kg/pendant 5 j ou pendant 10 j.

	marque des animaux	
Lot n° 14 (75 mg/kg/5 j) . . . . .	875	
Lot n° 15 (50 mg/kg/5 j) . . . . .	370 (*)	
Lot n° 16 (50 mg/kg/10 j) . . . . .	754	166
Lot n° 17 (40 mg/kg/5 j) . . . . .	175	753
Lot n° 18 (40 mg/kg/10 j) . . . . .	369	855
Lot n° 19 (25 mg/kg/10 j) . . . . .	752	856
Lot n° 20 (20 mg/kg/10 j) . . . . .	852	854

## PRODUIT ET CONDITIONNEMENT

Le 32.644/Ba ou ANT utilisé pour cette expérimentation se présente sous la forme d'une poudre jaune ocre, insoluble dans l'eau.

Pour faciliter son administration *per os* et permettre un dosage exact des quantités de produit à donner à chaque animal, cette poudre est répartie dans des gélules.

\* Le n° 370 est un bélier, tous les autres animaux sont des boucs.

## ADMINISTRATION DU PRODUIT

Faite tous les matins entre 10 et 11 h, les animaux ne sont soumis à aucune diète préalable et l'abreuvoir est fait vers 4 h de l'après-midi.

## TROUBLES GÉNÉRAUX OBSERVÉS CHEZ LES ANIMAUX EN EXPÉRIENCE

Pendant toute la durée des essais, les troubles intestinaux dus aux changements d'alimentation mis à part, aucun signe clinique ne mérite d'être signalé. L'appétit reste normal, sauf cependant chez 2 chèvres présentant depuis leur départ de Kaédi des troubles de la rumination, et sur un bouc soumis à une dose de 75 mg/kg par jour pendant 5 j, où l'on notera un peu d'inappétence quelques jours après la fin du traitement.

## AUTOPSIES DE CONTROLE

Pour vérifier les résultats obtenus tant pour les tests d'efficacité que pour les tests de toxicité, les animaux de chaque lot sont autopsiés à raison d'un animal quelques jours après la fin de la période de vermifugation, un autre 15 j après, le dernier 30 à 45 j environ après la fin du traitement. Cette méthode de contrôle permet de se rendre compte des effets du produit sur les parasites adultes, éventuellement sur les œufs de schistosomes, et sur l'évolution des lésions provoquées soit par la bilharziose, soit par le produit lui-même.

Les tableaux n° 1, 2, 3, 4 et 5 donnent les résultats obtenus à la suite de ces autopsies de contrôle.

**Technique d'autopsie de contrôle.** L'animal une fois sacrifié, l'état du cadavre est examiné ainsi que l'aspect général de la cage thoracique et de la cavité abdominale. Examen de la plèvre, des poumons et du cœur ; examen du foie, de la rate, des reins, des surrénales, de la vessie, de l'intestin. Recherche des schistosomes adultes ayant éventuellement résisté au produit et encore présents dans les veines du grand mésentère, du mésentère colique et des mésentères coecal et rectal.

Prélèvements de raclats de muqueuse intestinale au niveau de l'intestin grêle, du colon, du coecum pour recherche éventuelle des pontes de schistosomes.

Prélèvements d'organes pour histologie et anatomo-pathologie, tels que foie, intestin grêle, rectum, testicule, ovaire, poumon, pour rechercher les lésions provoquées soit par les bilharzies, soit par le produit lui-même.

Les contrôles biologiques suivants ont été faits pour voir dans quelle mesure le produit est capable de supprimer ou de diminuer le pouvoir infectant du miracidium vis-à-vis du mollusque, hôte intermédiaire :

— Evaluation du pouvoir d'éclosion des œufs d'après le nombre de miracidia éclos au bout de 2 h, contrôle de la mobilité du miracidium, puis mise en contact avec des *Bulinus neufs* (*Bulinus truncatus*) pour essais d'infestation expérimentale (voir tableaux III et IV).

— 10 à 15 jours après, dissection des mollusques pour évaluer leur taux d'infestation par les formes larvaires.

Les tests d'éclosion sont faits à partir de raclats de muqueuse intestinale prélevés sur toute la longueur de la paroi rectale et éventuellement sur 5 à 6 m de paroi d'intestin grêle. Le taux d'éclosion est évalué par comparaison avec les résultats obtenus à l'examen microscopique direct des raclats de muqueuse où se rencontrent encore des œufs viables.

## ÉVALUATION DU TAUX D'EFFICACITÉ DU PRODUIT D'APRÈS LES RÉSULTATS OBTENUS AUX AUTOPSIES DE CONTROLE

Pour évaluer l'efficacité d'un vermifuge, il est en général très malaisé de pouvoir fixer un chiffre permettant de juger de l'activité du produit. Dans le cas présent, on ne possède comme seul critère que l'absence ou la présence d'adultes mâles et femelles dans les veines mésentériques et le système porte et la destruction ou la persistance des œufs dans les parois du tractus intestinal.

Le taux compris entre 80 et 100 correspond à la guérison clinique de l'animal, le taux 100 étant la guérison parasitologique. Des recherches entièrement négatives en ce qui concerne les adultes de schistosomes et les œufs dans les raclats de muqueuse intestinale correspondent au nombre 100.

Dans les tableaux 1 et 2, une croix dans chaque colonne de recherches de schistosomes corres-

pond à 50 schistosomes mâles et femelles, une croix dans la colonne relative à l'examen des raclats de muqueuse intestinale pour recherche d'œufs correspond à 2 pontes en chaîne d'œufs vivants, présents dans une surface de paroi égale à 4 cm<sup>2</sup> environ. Au nombre 100 est retiré 2 points pour chaque groupe de 5 schistosomes du même sexe dans chaque colonne considérée.

Une croix dans la colonne des schistosomes enlève 10 points, une croix dans la colonne des raclats de muqueuse enlève 1 point.

### INTERPRÉTATION GÉNÉRALE DES RÉSULTATS OBTENUS AU COURS DES TESTS D'EFFICACITÉ.

Les 2 courbes A (traitement étalé sur 5 j) et B (traitement étalé sur 10 j) sont établies en prenant la moyenne arithmétique des valeurs des taux d'efficacité relatifs à chacun des animaux de chaque groupe.

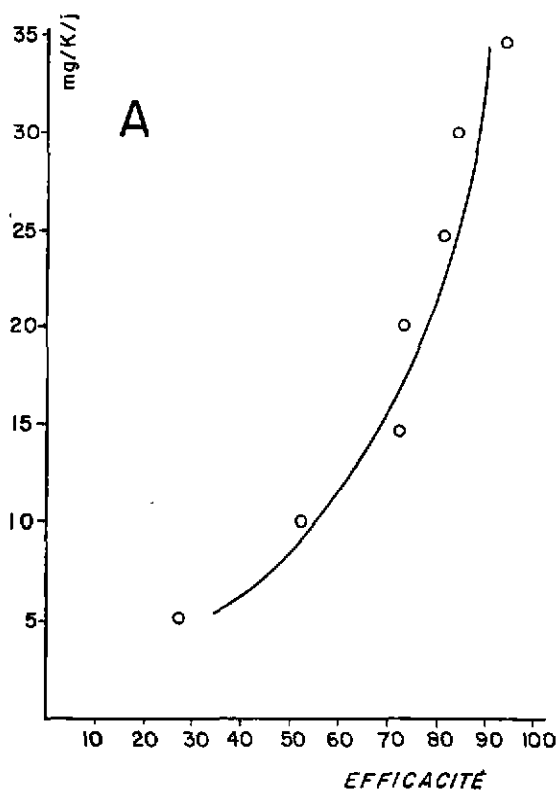
La courbe A (traitement étalé sur 5 j) montre qu'il faut atteindre 25 mg/kg pendant 5 j pour

obtenir une guérison clinique de l'animal. 35 mg/kg pendant 5 j ne débarrassent pas l'animal de tous ses parasites.

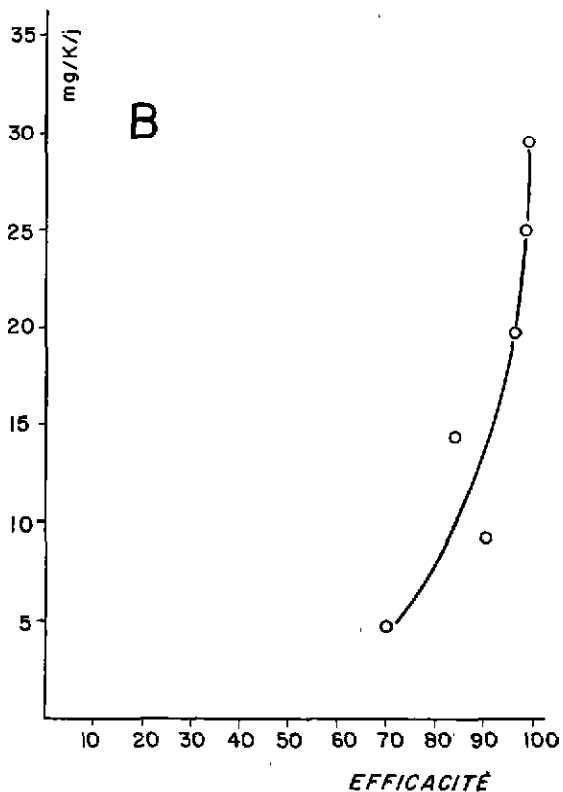
La courbe B (traitement étalé sur 10 j) montre qu'une dose de 6 à 7 mg/kg pendant 10 j permet d'obtenir une guérison clinique (taux d'efficacité 80). Avec une dose de 20 mg/kg pendant 10 j, le taux d'efficacité est de 97.

A raison de 25 à 30 mg/kg pendant 10 j, le produit détruit tous les parasites adultes et tous les œufs présents dans la muqueuse intestinale.

A ce sujet, il est intéressant de signaler que ce sont d'abord et principalement les femelles de schistosomes qui sont tuées par l'anti-bilharzien. Cette remarque a pu être faite au cours des autopsies pratiquées quelques jours après la fin du traitement et au cours desquelles il a été possible de trouver de très nombreux œufs à coque plus ou moins déformée dans les muqueuses et sous-muqueuses intestinales alors qu'aucune femelle n'était présente dans les veinules. Quelques mâles sont encore vivants dans les principaux troncs mésentériques.



Traitement pendant 5 jours



Traitement pendant 10 jours

Les œufs semblent être détruits en 5 ou 6 j dans la sous-muqueuse de l'intestin. Lors de la persistance des femelles dans les veinules mésentériques, il n'a pas été possible de mettre en évidence une baisse quelconque dans les cadences de ponte chez celles-ci. En effet, pour des doses de 15 à 25 mg/kg pendant 5 j et 5 à 15 mg/kg pendant 10 j chez des animaux autopsiés 15 j environ après la fin du traitement, l'examen des raclats de muqueuse intestinale (surtout rectale) montre que malgré l'administration du produit, il existe parmi des masses d'œufs à coque plus ou moins déformée et lysée, des chaînes d'œufs

vivants parfois nombreuses, montrant que les femelles ayant résisté à l'antibilharzien, sont capables de poursuivre normalement leur ponte. Il est possible d'infester des bulins à partir de ces œufs ; cependant un très grand nombre de miracidia est nécessaire pour réaliser cette opération.

Au sujet de la vitesse d'absorption et du pouvoir de diffusion du 32.644/Ba dans le milieu intestinal des petits ruminants, les remarques suivantes s'imposent :

1° L'examen des résultats consignés dans les 2 tableaux montre que ce sont les schistosomes

TABLEAU N° I

Traitement étalé sur cinq jours.

numéro animal	doses mg/kilo	Recherches schistosomes				Examens raclats muqueuse				Efficacité
		Int. gr.	colon	coecum	rectum	Int.gr.	colon	coecum	rectum	
M 995	35	0	0	0	I ?	0	0	0	0	98
M 998	35	0	0	0	I ?	0	0	0	0	96
C 366	35	2 ♂ I ?	0	3 ♂ I	5 ♂ 5 ?	0	0	0	++	86
C 768	30	2 ♂	0	0	2 ♂ I ?	0	0	0	0	94
C 367	30	5 ♂ 3 ?	10 ♂ 3 ?	20 ♂	0	+	+	0	0	80
M 858	30	20 ♂ 5 ?	6 ♂ 7 ?	2 ♂	5 ♂ 5 ?	0	0	0	+	75
M 994	25	5 ♂ 4 ?	0	0	15 ♂ & ?	0	0	0	++	82
C 361	25	6 ♂ I ?	4 ♂ I ?	I ♂	3 ♂ 2 ?	0	0	0	++	82
M 999	25	10 ♂ & ?	12 ♂ & ?	0	3 ♂	0	0	0	0	81
C 363	20	0	0	0	I ♂ I ?	0	0	0	+	95
M 882	20	4 ♂ & I ?	3 ?	0	7 ♂ & ?	0	0	0	+	85
M 874	20	70 ♂ & 40 ?	I ♂ I ?	2 ♂	3 ♂ I ?	0	0	0	+++	43
M 879	15	0	I ♂	0	2 ♂ i ?	0	0	0	+	93
C 767	15	12 ♂ & ?	15 ♂ & ?	0	I ♂	0	0	0	+++	73
M 875	15	I ♂ I ?	2 ♂	0	+++	0	0	0	0	64
						œufs lysés				
M 770	10	0	0	0	I ♂	0	0	0	0	98
C 762	10	+	+	+	++	0	0	0	+	49
						œufs lysés				
M 877	10	++	++	++	++	++	++	++	++	12
C 364	5	+	+	+	++	+++	+	0	+++	43
M 876	5	++	+	+	++	0	0	0	++	38
M 878	5	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	0
		mauvaise rumination								

M = ovin C = caprin



situés dans les veines rectales qui paraissent résister le mieux à l'action toxique du produit, de même que ce sont les œufs présents dans la muqueuse rectale qui persistent le plus longtemps et sont lysés beaucoup plus tardivement que ceux situés dans les muqueuses de l'intestin grêle, du côlon et du cæcum.

Un transit intestinal très lent chez les ruminants (8 à 10 j) surtout chez des animaux buvant très peu, est sans doute à l'origine des différences d'efficacité constatées en tenant compte de la position des parasites et de leurs œufs dans les différentes parties du tube intestinal (schistosomes et pontes ayant résisté au traitement).

2° La courbe B (résultats du traitement étalé sur 10 j), présente un point aberrant (taux d'efficacité 84 pour une dose de 15 mg/kg) expliqué par le mauvais résultat obtenu chez le mouton

n° 993 (efficacité : 70). Cet animal présentait des troubles digestifs pouvant avoir provoqué cet échec partiel.

Il n'a pas été fait mention dans le tableau (Traitement étalé sur 10 j), des 2 chèvres n° 761 et 755 traitées respectivement à raison de 15 mg/kg et 25 mg/kg, et où les taux d'efficacité ont été respectivement de 60 et 50. Ces deux animaux étaient atteints de troubles de la rumination très marqués et avaient un transit intestinal perturbé.

En résumé, une administration quotidienne de 20 à 25 mg/kg pendant 10 j consécutifs semble être chez le petit ruminant la posologie curative, alors que des doses plus élevées 30 à 35 mg/kg/j, mais seulement pendant 5 j, ne suffisent pas à obtenir une guérison parasitologique.

Une dose de 20 mg/kg/j tous les 2 j pendant

TABLEAU N° II

Traitement étalé sur dix jours.

numéro animal	doses mg/kilo	recherches schistosomes				raclats muqueuse intestinale (œufs)				Efficacité
		int. gr.	colon	coecum	rectum	int.gr.	côlon	coecum	rectum	
M 751	30	0	0	0	0	0	0	0	0	100
M 1000	30	0	0	0	0	0	0	0	0	100
C 763	30	0	0	0	0	0	0	0	0	100
M 992	25	0	0	0	0	0	0	0	0	100
M 872	25	0	0	0	0	0	0	0	0	100
M 859	20	0	0	0	0	0	0	0	0	100
M 996	20	2♂	0	0	4♂	0	0	0	0 lysés	96
C 769	20	0	0	0	2♂ 2♀	0	0	0	+ lysés	95
M 991	15	0	0	0	5♂	0	0	0	0	98
M 993	15	23♂ & 1♀	18♂ & 15♀	5♂ & 2♀	2♂ & 2♀	0	++	++	++	70
M 871	10	1♂ & 4♀	2♀	0	0	+	0 lysés	0	0 lysés	93
M 881	10	1♂	0	1♂	6♂ & 3♀	0 lysés	0 lysés	0	0 lysés	90
C 365	10	2♂	1♂	0	4♂ & 2♀	0	0	0	++	90
M 997	5	0	0	0	10♂ & 10♀	0	0	0	+	91
M 873	5	+++	0	5♂ & 1♀	7♂ & 3♀	0 lysés	0 lysés	0 lysés	++++	52

M = ovin

C = caprin

10 J (dose totale 100 mg/kg) ne détruit pas tous les schistosomes (ovin 880, résultats donnés en bas du tableau IV).

Ces résultats concordent avec ceux obtenus aux cours des premiers essais faits chez l'homme, où une administration de 25 mg/kg/j en 2 prises quotidiennes pendant 7 J (LAMBERT et coll., 1964) délivre le malade de tous ses parasites.

#### EXAMEN ET INTERPRÉTATION DES COUPES HISTOLOGIQUES D'ORGANES CHEZ LES ANIMAUX SOUMIS AUX TESTS D'EFFICACITÉ.

— **Tube intestinal** : Intestin grêle, cæcum, rectum.

Les parois de 14 intestins grêles, 1 cæcum et 20 rectums présentant encore des œufs de schistosomes vivants dans leur muqueuse, ont été examinés sur coupes histologiques colorées à l'hémalun-éosine.

On note, principalement au niveau du rectum de petites réactions granulomateuses entourant les amas d'œufs situés dans les couches sous-muqueuse et musculuse.

Certains œufs présentent un miracidium apparemment viable alors que d'autres sont en voie de lyse plus ou moins avancée avec coque déformée.

Les œufs vivants sont en général alignés en chaîne, alors que les œufs en partie détruits sont disposés en amas irrégulièrement distribués.

S'agit-il pour les premiers de pontes récentes effectuées par des femelles ayant résisté à l'action schistosomicide du produit ? (doses trop faibles ou absorption irrégulière de l'antibilharzien au niveau de la muqueuse intestinale). Le nombre des œufs en partie détruits ainsi que leur répartition par groupes, peut faire penser à une action ovicide possible du ANT sans que l'on puisse cependant affirmer qu'il les détruit « in mucosa ». Comparativement, sur coupes ou raclats de muqueuse d'ovins et de caprins non traités, on rencontre toujours parmi les pontes, un certain pourcentage d'œufs à coque déformée et plissée avec miracidium atrophié à leur intérieur, mais sans lyse véritable et en général sans éclatement de la paroi.

STRIEBEL en 1964, a montré à l'aide du 32.644/Ba marqué au C<sup>14</sup> que ce produit se con-

centrait au niveau de l'œuf et des cellules vitello-gènes de *Schistosoma mansoni*.

#### Foie.

A l'examen de 44 coupes histologiques de tissu hépatique (23 ovins et 11 caprins parasités et traités au 32.644/Ba), on trouve de nombreux îlots de sclérose plus ou moins étendus chez les sujets autopsiés quelques jours après la fin du traitement et chez ceux où la dose de 32.644/Ba n'a pas été suffisante pour détruire tous les parasites.

Ces lésions sont beaucoup plus rares et semblent en voie de régression chez les sujets autopsiés 3 semaines à 1 mois après le traitement et soumis à une dose suffisante pour les débarrasser de presque tous leurs parasites.

Le foie des animaux guéris parasitologiquement, et autopsiés environ 1 mois après le traitement est normal ou ne présente plus que quelques rares zones de fibrose en voie de régression.

La présence de blocs et amas de pigment brun dans les cellules de KUPFFER va en général de pair avec des lésions importantes de sclérose. Quand ces dernières diminuent d'importance, le pigment devient plus rare jusqu'à disparaître complètement.

Ces résultats concordent avec ceux donnés par GÖNNERT en 1955 sur souris infestées expérimentalement par *Sch. mansoni* et traitées au Miracil D. Cet auteur remarque sur les sujets guéris un changement dans la distribution du pigment qui disparaît d'autant plus tardivement que la durée d'infestation a été plus longue et la date de l'autopsie plus proche de la fin du traitement.

Au sujet de la nature chimique de ces dépôts pigmentaires, MELENEY et coll. en 1953 les appellent « Hematin-pigment » alors que Toshisatta SADAWA et coll. en 1956, les placent dans le groupe des mélanines.

Nous avons montré tout récemment (GRETIL-LAT & PICART, 1964) par colorations différentielles faites sur coupes de tissu hépatique et pulmonaire ainsi que sur sections transversales de femelles gravides de schistosomes, que ce pigment est bien de nature mélanique et qu'il est aussi présent dans la lumière des coeca des femelles mûres de schistosomes.

A titre purement indicatif, nous signalons les résultats suivants trouvés à l'autopsie du mouton

TABLEAU N°III

numéro animal	dose mg/k./50.	date fin traitement	date autopsie	tests éclosion miracidia	mobilité miracidia	pouvoir infectant miracidia	Lésions observées sur coupes histologiques					
							foie	Poumons	Reins	Ovaire	Testicules	
M 878	5	8-2-64	10-2-64	++	++	+		Hepat. Mel.+++			N.	
M 876	5	8-2-64	20-2-64	+	+	0				Mel.+++		
C 364	5	8-2-64	20-2-64	++++	++++	++						
M 770	10	8-2-64	21-2-64	0							N.	
M 877	10	8-2-64	11-2-64	0						Mel.+++		
C 762	10	8-2-64	10-3-64									
M 879	15	8-2-64	27-2-64	+	+	0					N.	
M 875	15	8-2-64	12-2-64	0								
C 767	15	8-2-64	24-2-64	+++	+++	+++				Mel.++		N.
M 874	20	8-2-64	4-3-64	0								
M 882	20	8-2-64	4-3-64									
C 363	20	8-2-64	11-2-64									
M 994	25	8-2-64	13-2-64									
M 999	25	8-2-64	19-2-64							Mel. +		
C 361	25	8-2-64	9-3-64	+	+	0						
M 858	30	8-2-64	17-2-64									
C 367	30	8-2-64	12-2-64	0								
C 768	30	8-2-64	11-3-64									
M 995	35	8-2-64	22-2-64									
M 998	35	8-2-64	13-2-64									
C 366	35	8-2-64	24-2-64									

N = ovin C = caprin Scl.=sclérose Mel.= pigment mélanique N: normal ++++: Massif +++= très important ++: important +: moyen -: en régression

TABLEAU N° IV

numéro animal	dose mg/k./10j.	date fin traitement	date autopsie	tests éclosion miracidia	mobilité miracidia	pouvoir infestant miracidia	Lésions observées sur coupes histologiques				
							Foie	Poumons	Reins	Ovaire	Testicules Spermato-génèse
M 673	5	13-2-64	14-2-64	0			Scl.+++ Mel.+++				
M 997	5	13-2-64	22-2-64	+	+	0	Scl. ++ Mel. ++		Mel.+++ - Dépôt de mélanine emplissant le bassinnet		
M 881	10	13-2-64	14-2-64	+++	+++	++	Scl. ++ Mel. +				
M 871	10	13-2-64	9-3-64	++	+	0	Scl. + Mel. +		Mel. +		
C 365	10	13-2-64	11-2-64				Scl.-		N.		
M 991	15	13-2-64	17-2-64				Mel. ++ Scl.+++		Mel. +		
M 993	15	13-2-64	21-2-64				Scl.- Mel. +	Mel. +			
M 859	20	13-2-64	10-3-64				N.		N.		
M 996	20	13-2-64	17-2-64				Scl.-		N.		
C 769	20	13-2-64	24-2-64	0			Scl.-		N.	N.	
M 992	25	13-2-64	22-2-64						Cong.ren		nulle
M 872	25	13-2-64	9-2-64				N.		N.		
M 751	30	13-2-64	9-3-64				Scl.-		N.		
M1000	30	13-2-64	18-2-64				Scl.-		N.		
C 763	30	13-2-64	27-2-64				Scl.-		N.		N.
C 761	15	13-2-64	10-3-64	+	+	0	Scl.+ Mel. ++		Mel. +		
C 755	25	13-2-64	18-2-64	+	+	0	Scl.+++ Mel.+++				
M 880	20 mg/k. ts les 2 j. pd. 10 j.	18-3-64	21-3-64	++	+	0	Scl. ++	Mel.++	Mel. +	N.	

M = ovin C = caprin Scl.=sclérose Mel.=pigment mélanique N.: normal ++++= massif +++: très important ++: important +: faible - : en régression.

n° 997 traité à raison de 5 mg/kg pendant 10 j : dépôts massifs de pigment mélanique (détermination par tests différentiels) au niveau du bassinet rénal (autopsie pratiquée 9 j après la fin du traitement). Serait-on en présence d'un cas d'élimination massive de pigment bilharzien chez un sujet guéri ? Nous ne pouvons l'affirmer.

#### **Poumons.**

Macroscopiquement, les poumons des animaux autopsiés quelques jours après la fin du traitement et soumis à des doses sub-curatives, ont une coloration brune (piqueté noirâtre) qui va jusqu'au noir franc chez les ovins et caprins encore très parasités.

Sur coupes histologiques (5 moutons et 5 chèvres), il est facile de mettre en évidence, la présence de dépôts de pigment mélanique au niveau des capillaires péri-alvéolaires dans les histiocytes du S.R.E. pulmonaire (GRETILLAT et PICART, 1964). Ce sont eux qui donnent aux lobes pulmonaires, cette coloration plus ou moins foncée.

Chez les animaux guéris parasitologiquement ce pigment disparaît complètement au bout de 3 semaines à 1 mois, alors qu'il persiste en partie chez les sujets où un certain nombre de femelles a résisté à une dose trop faible d'antibilharzien.

Tout se passe comme si l'organisme était capable d'éliminer ce pigment mélanique dès que les femelles de bilharzies sont supprimées.

Sur le mouton n° 997 cité précédemment (élimination massive de pigment au niveau du bassinet rénal), les poumons ont un aspect marbré noir et rose avec des plages pigmentées à contours plus ou moins précis.

#### **Rein.**

Parmi 30 reins examinés (21 ovins et 9 caprins) sur coupes histologiques, 15 ne présentent aucune lésion, 1, une légère congestion de la médullaire, 2, une néphrite interstitielle subaiguë au niveau des tubuli, et 11, quelques mottes et dépôts de pigment mélanique autour des tubules rénaux.

Les 15 reins normaux correspondent à des animaux complètement ou presque totalement guéris, autopsiés en général au moins 2 semaines après la fin du traitement et sur lesquels les îlots de sclérose hépatique sont en nette régression.

Les 2 reins avec néphrite interstitielle subaiguë appartiennent à 2 moutons en mauvais état

général sacrifiés peu de temps après avoir été traités. Même remarque pour le rein présentant un peu de congestion sans que l'on puisse incriminer l'action toxique du 32.644/Ba.

Sur les 11 coupes de reins renfermant des blocs de pigment, la plupart d'entre elles correspondent à des sujets mal déparasités ou autopsiés dans les quelques jours suivant la fin du traitement. Le foie de ces ruminants est lui aussi très fortement chargé en pigment bilharzien.

#### **Ovaire.**

Rien d'anormal à signaler sur les 6 ovaires examinés (4 ovins et 2 caprins).

#### **Testicules.**

Examen de 5 coupes de testicules (3 béliers et 2 boucs). Spermatogenèse normale sauf pour un bélier traité à 25 mg/kg/10 j, autopsié 9 j après le traitement et dont les tubes séminifères semblent au repos.

En résumé, les lésions de sclérose hépatique propres à la schistosomiase ovine, régressent puis disparaissent à peu près complètement chez les animaux débarrassés de leurs parasites par le 32.644/Ba en même temps que se raréfie le pigment bilharzien présent dans les cellules de KUPFFER, les histiocytes des capillaires péri-alvéolaires du poumon et autour des tubuli urinaires.

### **INTERPRÉTATION GÉNÉRALE DES RÉSULTATS OBTENUS AU COURS DES TESTS DE TOXICITÉ.**

Ces tests ont été faits sur 11 caprins et 1 ovin mâles, vierges d'infestation bilharzienne.

Cette expérimentation avait pour but principal de voir dans quelle mesure le CIBA 32.644/Ba utilisé à des doses supérieures et égales à la dose reconnue curative, pouvait provoquer l'apparition de troubles généraux et éventuellement une diminution ou une annulation de la spermatogenèse.

Le ANT est administré *per os* à raison de 20 à 75 mg/kg/j pendant 5 ou 10 j (voir tableau n° V).

Les animaux en expérience ont un état général satisfaisant. Ils sont surveillés journalièrement pendant toute la durée de l'expérimentation et pesés régulièrement jusqu'au jour où ils sont sacrifiés pour examen et prélèvement de certains

TABLEAU N° V  
Tests de Toxicité

numéro animal	dose mg/k.	durée de l'administration en jours	date fin traitement	date autopsie	poids initial en k.	poids 10 j. après en k.	poids au jour de l'autopsie en k.	comportement de l'animal	Lésions			
									Testicules Spermato-génèse	Epididyme Spermato-zoïde	Foie	Rein
C 857	75	5	8-2-64	19-2-64	23	23,300	22,900	diminution légère appétit 8 jours après administration Puis appétit redevient normal.	diminution légère	rare	hépatite inst. subaiguë	N.
M. 370	50	5	8-2-64	23-3-64	23,700	22	23	appétit capricieux les 8 premiers jours.	N.		N.	N.
C 754	50	10	13-2-64	18-2-64	17,250	17,900	17,350	N.	N.		N.	N.
C 166	50	10	13-2-64	3-3-64	11,550	10,700	11	N.	N.		N.	N.
C 175	40	5	8-2-64	18-2-64	16,700	16,550	16,450	N.	inégaie d'un tube		N.	N.
C 753	40	5	8-2-64	3-3-64	15,900	15,700	15,800	N.	N.		N.	N.
C 369	40	10	13-2-64	24-2-64	22	24,400	23,200	N.	inégaie & faible		N.	N.
C 855	40	10	13-2-64	9-3-64	19	20	18,800	N.	N.		N.	N.
C 752	25	10	13-2-64	24-2-64	21,850	22,100	20,400	N.	inégaie & faible	absence		N.
C 856	25	10	13-2-64	23-3-64	21,500	21,200	20,200	amaigrissement tardif au bout d'un mois	N.		N.	
C 852	20	10	13-2-64	24-2-64	17,900	18,500	17,900	N.	N.		N.	N.
C 854	20	10	13-2-64	21-3-64	26,100	26,400	25,100	Léger amaigrissement en fin d'expérimentation	N.			N.

viscères à examiner sur coupes histologiques (foie, rein, testicule).

#### **Troubles généraux observés.**

Au point de vue poids, le tableau n° V montre que dans les premiers 10 j, il n'est pas possible de mettre en évidence une chute sensible, même chez les sujets soumis à des doses de 40,50 et 75 mg/kg/j.

Les 2 boucs n° 856 et 854 autopsiés 31 et 37 j après la fin du traitement, présentent un amaigrissement tardif non imputable à l'action du produit mais plutôt dû à une stabulation prolongée toujours néfaste à des animaux habitués à vivre en liberté.

Le bouc 857 et le bélier 370 traités à raison de 75 mg/kg/j et 50 mg/kg/j pendant 5 j (3 et 2 fois la dose curative) ont un appétit capricieux pendant les 8 premiers jours, avec refus d'abreuvoir, puis tout redevient normal, sans que l'on remarque de dérèglement intestinal.

### **EXAMENS DES COUPES HISTOLOGIQUES D'ORGANES PRÉLEVÉS AUX AUTOPSIES DE CONTROLE CHEZ LES ANIMAUX SOUMIS AUX TESTS DE TOXICITÉ.**

#### **Foie.**

Aucune remarque ne s'impose, sauf chez le bouc n° 857 (75 mg/kg/j/5 j) où on note une légère hépatite interstitielle subaiguë. L'autopsie ayant été faite 11 jours après le traitement, il s'agit peut-être d'une action toxique du produit.

#### **Rein.**

L'examen des coupes histologiques ne révèle rien de particulier, même chez les sujets sacrifiés 5 à 10 j après la fin de la période d'administration du produit.

Contrairement à ce qui a été observé chez le singe et la souris (LAMBERT, 1964) le 32.644/Ba ne semble pas provoquer de lésions au niveau des tubuli rénaux chez le petit ruminant, du moins à des doses de 75 mg/kg/j/5 j et 50 mg/kg/j/10 j.

#### **Testicules.**

Les résultats obtenus sur petits ruminants semblent concorder avec ceux signalés chez la souris et chez le singe (LAMBERT, HESS et SINARI, 1964).

Diminution, voire inhibition passagère de la spermatogenèse au cours de la première quinzaine suivant la fin du traitement, puis retour progressif à la normale au bout de 30 à 40 j.

Seuls en effet, les sujets n° 857, 175, 369 et 752, autopsiés 11 j, 10 j et 11 j après la fin de l'administration du 32.644/Ba ont une diminution plus ou moins importante de leur spermatogenèse avec absence de spermatozoïdes dans certains tubes séminifères alors que chez les autres animaux sacrifiés plus tardivement, le testicule a un aspect normal.

Le 32.644/Ba par son action inhibitrice passagère et réversible sur la spermatogenèse, se comporte à la manière de tous les nitrofuranes (LAMBERT, 1964).

En résumé, les résultats obtenus au cours de ces tests de toxicité montrent que les doses de 50 mg/kg/j administrées pendant 10 j consécutifs (2 fois la dose curative), n'amènent aucun trouble toxique décelable chez le petit ruminant et que l'inhibition ou la diminution de la spermatogenèse avec atteinte de l'épithélium germinatif, observée au cours de la première décade suivant le traitement n'est que passagère, les lésions étant réversibles.

Au cours de cette expérimentation, il n'a malheureusement pas été possible de tenir compte du facteur représenté par les périodes d'activité sexuelle de chacun des animaux.

Il faut atteindre 75 mg/kg/j/5 j pour enregistrer chez l'animal une légère inappétence qui d'ailleurs ne dure que quelques jours, l'appétit et le comportement du sujet redevenant normaux dans la semaine qui suit l'administration de 32.644/Ba.

### **RÉSUMÉ ET CONCLUSION**

Des essais thérapeutiques et toxiques faits avec un nouveau dérivé aminonitrothiazole, le 32.644/Ba/CIBA ou ANT, sur ovins et caprins infestés naturellement de schistosomiase intestinale démontrent l'excellente action antibilharzienne de ce produit.

Un traitement étalé sur 5 jours à raison de 25 mg/kg/j permet d'obtenir une guérison clinique, alors que 10 mg/kg/j pendant 10 j consécutifs suffisent pour aboutir aux mêmes résultats.

Une cure de 5 j à raison de 35 mg/kg/j ne per-

met pas d'obtenir une guérison parasitologique (destruction de tous les parasites avec leurs pontes) alors qu'une cure de 10 j à raison seulement de 25 mg/kg/j débarrasse l'animal de tous ses schistosomes, fait disparaître toutes les pontes, et permet chez les sujets moyennement parasités, la régression des lésions hépatiques (sclérose).

Au point de vue toxicité, les doses curatives de 25 mg/kg/j/10 j (soit une dose globale de 250 mg/kg) ne provoquent aucun trouble digne d'être signalé. 75 mg/kg/j/5 j et 50 mg/kg/j/5 j amènent une diminution voire une inhibition passagère de la spermatogenèse dans les 10 j suivant le traitement avec retour à la normale 1 mois après environ.

*Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire  
des Pays tropicaux.  
Laboratoire national de l'Elevage et de  
Recherches vétérinaires, Dakar (Sénégal).*

#### REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre reconnaissance au Docteur PAGOT, Directeur général de l'Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux à Maisons-Alfort, et au Docteur ORUE

Directeur du Laboratoire national de l'Elevage et de Recherches vétérinaires de Dakar, pour nous avoir facilité l'accomplissement de ce travail.

Nous remercions Monsieur le Professeur TISSEUR de l'Ecole nationale Vétérinaire d'Alfort, et Monsieur le Docteur HESS, CIBA, Bâle, d'avoir examiné et interprété les préparations histologiques que nous leur avons confiées pour étude.

Grâce aux documents techniques fournis par les Docteurs LAMBERT et STRIEBEL, CIBA, Bâle, nous avons pu rédiger cette note, et interpréter certains résultats en les comparant avec ceux obtenus à Bâle sur animaux de laboratoire. Nous les remercions de cette collaboration.

Nous devons signaler que c'est par l'intermédiaire de Monsieur le Professeur LARIVIERE de la Faculté de Médecine de Dakar et de Monsieur LAVARINO, CIBA, Abidjan que nous avons été pressentis par la Société CIBA de Bâle, pour effectuer ces essais thérapeutiques sur ruminant domestique. Nous les en remercions.

Nous remercions également le Docteur ALLOUI, vétérinaire chef du Secteur d'Elevage de Kaédi (Mauritanie) pour l'aide qu'il nous a fournie lors de l'achat des animaux ayant servi à cette expérimentation.

#### SUMMARY

**The schistosomicide value of a new aminonitrothiazole derivative  
the CIBA 32.644/Ba or ANT  
(Tests carried out on small ruminants affected by intestinal  
schistosomiasis)**

Therapeutic and toxicity tests carried out with a new aminonitrothiazole derivative, 32.644/Ba CIBA or ANT, on sheep and goats naturally infested with intestinal schistosomiasis demonstrate the excellent antibilharzial action of this product

A treatment spread out over 5 days at the rate of 25 mg/kilo/day makes it possible to obtain clinical cure, whereas 10 mg/kilo/day during 10 consecutive days suffice to produce the same results.

A 5 days cure of 35 mg/kilo/day does not enable one to obtain a parasitological cure (destruction of all the parasites together with their eggs) whereas a 10 days cure of only 25 mg/kilo/day frees the animal of all of its schistosomes, causes all the eggs to disappear, and enables the regression of the hepatic lesions (sclerosis) in animals that are moderately infested by the parasite.

From the point of view of toxicity, the curative doses of 25 mg/kilo/day/10 days (i. e. a total dose of 250 mg/kilo) do not cause any after effects worth mentioning, 75 mg/kilo/day/5 days and 50 mg/kilo/day/5 days cause a decrease or even a temporary inhibition of spermatogenesis in the 10 days following the treatment with return to the normal one month afterwards.



## RESUMEN

**Valor esquistosomicida de un nuevo derivado aminonitrotiazolo el CIBA 32.644/Ba o ANT (Ensayos hechos en pequeños ruminantes atacados por la esquistosomiasis intestinal)**

Ensayos terapéuticos y tóxicos hechos con un nuevo derivado aminonitrotiazolo, el 32.644/Ba CIBA o ANT, en ovinos y caprinos infectados naturalmente por la esquistosomiasis intestinal demuestran la excelente acción antibilaziana de este producto.

Un tratamiento durante 5 días con 25 mg/kg/día permite obtener una curación clínica, mientras que 10 mg/kg/día durante 10 días consecutivos son suficientes para tener mismos resultados.

Una cura de 5 días con 35 mg/kg/día no permite obtener una curación parasitológica (destrucción de todos los parásitos con sus huevos) mientras que una cura de 10 días con sólo 25 mg/kg/día desembaraça el animal de todos sus esquistosomas, hace desaparecer todos los huevos, y permite en los animales medianamente parasitados la regresión de las lesiones hepáticas (esclerosis).

En cuanto a la toxicidad, las dosis curativas de 25 mg/kg/día/10 días (es decir una dosis global de 250 mg/kg) provocan ningún desorden importante para ser notado 75 mg/kg/día/5 días y 50 mg/kg/día/5 días provocan una disminución y también una inhibición pasajera de la espermatogénesis durante los 10 días luego del tratamiento con regreso al comportamiento normal después de un mes.

## BIBLIOGRAPHIE

- GÖNNERT (R.). — Schistosomiasis-Studien-3- Ueber die Einwirkungen von Miracil D auf *Schistosoma mansoni* im Mäuseversuch und die Verteilung des Pigmentes in der Wirtsleber. *Z. Tropenmed. Parasit.*, 1955, 6, 257-279.
- GRETILLAT (S.) et PICART (P.). — Premières observations sur les lésions provoquées chez les Ruminants infestés massivement par *Schistosoma curassoni*. *Premier Congrès Int. Parasit.*, septembre 1964, Rome.
- LAMBERT (C. L.). — Activité et tolérance du Ciba 32.644 dans la schistosomiase expérimentale de la souris et dans la bilharziose vésicale humaine. *Premier Congrès Inter. Parasit.*, septembre 1964, Rome.
- LAMBERT (C.) et FERREIRA (D. A.), CRUZ (F. S.). — Résultats du premier essai thérapeutique de la bilharziose vésicale par le Ciba 32.644-Ba (à paraître) *Bul. O. M. S.*, 1964.
- LAMBERT (C.), HESS (R.) et SINARI (V. S. P.). — Action du CIBA 32.644-Ba sur la spermatogénèse (à paraître), 1964.
- LAMBERT (C.) et STAUFFER (P.). — Chemotherapy of experimental *Schistosoma mansoni* infections with a nitro-thiazole derivative, Ciba 32.644-Ba (à paraître) *An. Trop. Med. Parasitol.*, 1964.
- LAMBERT (C.), WILHELM (M.), STRIEBEL (H.), KRADOLFER (F.) et SCHMIDT (P.). — Eine neue gegen Bilharziose und Amoebiose wirksame Verbindung. *Experientia*, 1964, 20, 452.
- STRIEBEL (H.). — Mode d'action du Ciba 32.644-Ba sur *S. mansoni*. *Premier Congrès Inter. Parasit.*, septembre 1964, Rome.
- WILHELM (M.) et SCHMIDT (P.). — Synthèse du Ciba 32.644-Ba (à paraître), 1964.
- Notes d'orientation du Ciba 32.644-Ba. Ciba, Bâle, 1964.
- Addenda aux notes d'orientation. Ciba, Bâle, 1964.

# Notes sur les *Eperythrozoon* de bovins à Madagascar

par G. UILENBERG

avec la collaboration technique de G. ROSAONA

## RÉSUMÉ

Les *Eperythrozoon* se sont montrés des parasites capricieux, difficiles à expérimenter. L'espèce *E. teganodes* Hoyte, 1962 est considérée comme valable. Quelques détails sont donnés sur la morphologie d'*E. wenyoni* et d'*E. teganodes*. Mention est faite d'un troisième type d'accès, dans lequel les *Eperythrozoon* infestent exclusivement les thrombocytes. Le pourcentage de bovins infectés est élevé, et augmente avec l'âge. L'évolution des infections ne suit pas de règle ; des rechutes peuvent être observées jusqu'à plus de 200 jours après l'infection, même sur des veaux non splénectomisés. Le mode de transmission naturelle reste inconnu ; des infections spontanées se sont produites en l'absence de tiques, de poux et de puces. Les deux parasites peuvent causer de la fièvre et de l'anémie, même sur des animaux splénectomisés, mais la maladie n'a jamais été mortelle. Des 10 produits expérimentés, seuls la neoarsphénamine et le Spirotrypan (®) se sont montrés actifs, mais ne semblent pas stériliser les animaux de l'infection.

## HISTORIQUE

Le genre *Eperythrozoon* fut créé par SCHILLING en 1928 par un micro-organisme sanguin de la souris blanche. Des parasites semblables ont, depuis, été signalés chez d'autres rongeurs, chez des ruminants, chez le porc, et chez le chat. WEINMAN reconnaît, en 1957, sept espèces.

ADLER et ELLENBOGEN (1934) trouvaient un *Eperythrozoon* chez un bovin ; le parasite, qu'ils nommaient *E. wenyoni*, infestait les globules rouges et ces auteurs ne mentionnent pas de formes libres, de même que plus tard NIESCHULZ (1938). DELPY et RAFYI (1938) décrivent par contre *E. wenyoni* comme un parasite très polymorphe, donnant des infections du type « annulaire épi-globulaire » et du type « filamenteux plasmatique » ; dans ce dernier type, les *Eperythrozoon* ont une autre morphologie, et sont libres dans le plasma. NEITZ (1940), BROCKLESBY (1958) et ISHIHARA (1962) mentionnent également, outre les parasites érythrocytaires, des formes extracellulaires.

Finalment HOYTE (1962) réussit à faire six passages des formes libres, sans jamais voir apparaître des formes érythrocytaires ; se basant sur cette expérience et sur la différente morphologie des formes libres et des formes érythrocytaires, il crée une nouvelle espèce, *E. teganodes*, pour les parasites plasmatiques, et conserve le nom *E. wenyoni* ADLER et ELLENBOGEN, 1934, pour les parasites érythrocytaires.

L'existence d'*Eperythrozoon* sur les bovins à Madagascar fut découverte par notre confrère RAYNAUD, à la suite d'une splénectomie (Rapport Annuel du Laboratoire Central de l'Élevage de Tananarive, 1960). Plus tard, il a été reconnu que ces micro-organismes sont très fréquents dans le pays (RAYNAUD 1962 a, 1962 b, RAYNAUD et UILENBERG, 1962). A cette époque, seule l'espèce *E. wenyoni* était reconnue. Nous avons pu voir par la suite que la nouvelle espèce de HOYTE, *E. teganodes*, existe, avec *E. wenyoni*, à Madagascar, et y est très répandue (Rapport Annuel, 1963, UILENBERG, 1964).

Nous rapportons ici quelques observations sur ces parasites, que nous avons eu l'occasion de faire.

### Méthodes de travail et remarques générales

La plupart de nos observations ont été faites accessoirement, lors des expériences sur d'autres parasites sanguins. Le sang de tous nos bovins est examiné quotidiennement pendant plusieurs semaines après une splénectomie ou un essai de transmission, au moins deux fois par semaine ensuite ; l'examen quotidien est repris en cas d'inoculation ou de multiplication d'un parasite sanguin. Les frottis sont fixés à l'alcool méthylique, et colorés au Giemsa. Les animaux sont logés dans une étable à l'abri de tiques, et ils sont, en outre, soigneusement deux fois par semaine au 1-naphthyl-N-méthyle-carbamate (Sevin <sup>®</sup>), à 0,4 p. 100 ; des expériences (non publiées) nous ont montré que ce produit est très actif contre les poux, les puces et la tique *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887), le seul ixodidé infestant les bovins du Laboratoire. Sa remanence est importante. (La protection contre les larves de *B. microplus* est, à 0,4 p. 100, d'au moins 7 jours). Pour combattre les insectes piqueurs ailés, nous pulvérisons, une fois tous les deux mois, une émulsion de Baytex <sup>®</sup> à 1 p. 100 sur les parois intérieures de l'étable.

Nous nous sommes aperçus que les *Eperythrozoon* sont des parasites très capricieux, difficiles à expérimenter. La période d'incubation après la splénectomie ou après une inoculation de sang infecté est très variable. Les accès parasitaires sont parfois très importants, d'autres fois ils restent limités à de rares parasites, qui échappent facilement à l'attention. Les parasites font souvent, tout au moins sur les splénectomisés, des sorties fréquentes, toujours irrégulières. Il est difficile d'être sûr si un animal est indemne ou non, même lorsque le sang est examiné quotidiennement. Nous avons vu apparaître, inexplicablement, ces parasites sur des animaux qui n'en avaient jamais montrés, plusieurs mois après leur splénectomie ; *E. teganodes* a même été observé sur des veaux tenus dès la naissance à l'abri d'ectoparasites (voir plus loin). L'on ne peut être entièrement certain qu'un accès que l'on croit être le résultat d'une inoculation de

sang infecté, n'est pas dû à une rechute accidentelle d'une infection non décelée. Le mode de transmission n'a pas encore été élucidé. Les conclusions de nos observations sont donc données sous réserve et ne peuvent pas toujours être acceptées comme définitives.

### Validité de l'espèce *E. teganodes* Hoyte, 1962

La morphologie des *Eperythrozoon* individuels est, en effet, différente dans les accès du type érythrocytaire de celle dans les accès du type plasmatique. Ceci ne prouve pas nécessairement l'existence de deux espèces différentes ; la morphologie d'une seule espèce pourrait changer avec la localisation. La question est encore compliquée par l'existence d'un troisième type d'accès que nous avons observé sur certains animaux, type thrombocytaire (voir plus loin). (La morphologie du type plasmatique n'est d'ailleurs pas identique sur tous les animaux ; sur certains bovins les anneaux d'*E. teganodes* sont nettement plus petits que d'habitude, et cela durant tout un accès et même pendant des rechutes suivantes).

Plus important que la morphologie est, à notre avis, le fait que nous croyons avoir transmis *E. teganodes* à un veau splénectomisé sur lequel nous n'avions observé qu'*E. wenyoni* ; l'expérience inverse a également réussi.

#### Expérience I :

Veau B 7. Splénectomie le 8/1/1963, à l'âge de 3 mois. Inoculation de sang d'un animal supposé indemne d'*Eperythrozoon* (contenant *Anaplasma centrale* THEILER, 1911), le 20/3/1963. Aucune autre inoculation n'est effectuée, mais *E. wenyoni* apparaît, inexplicablement, pour la première fois dans le sang de B 7 le 17/6/63 (Voir « Transmission »). Ce parasite détermine quelques rechutes par la suite, mais *E. teganodes* n'est pas observé. Le veau est inoculé, le 22/2/1964, avec du sang d'un bovin (B 12) en plein accès d'*E. teganodes*. Cette dernière espèce apparaît dans le sang de B 7 le 24/2/1964, persistant en accès important jusqu'au 28/2.

#### Expérience II :

Veau B 36. Splénectomie le 15/5/1964, à l'âge d'environ 6 mois. Se montre porteur d'*E. teganodes*, *E. wenyoni* n'est pas observé. On lui injecte,

le 21/7/1964, du sang d'un bovin (B 24), ayant un léger accès d'*E. wenyoni*. *E. wenyoni* apparaît dans le sang de B 36 le 1/8/1964, persistant, en accès peu important jusqu'au 4/8.

**Conclusion :** Nous croyons avoir provoqué par l'inoculation du type plasmatique un accès plasmatique chez un veau n'ayant montré que le type érythrocytaire, et vice-versa. Les deux types se sont comportés comme deux espèces différentes.

D'autres faits viennent renforcer l'opinion qu'il s'agit de deux espèces :

Plusieurs animaux n'ont montré qu'un seul type dans le sang après splénectomie (voir plus loin, sous « Incidence des *Eperythozoon* ».)

Lorsqu'on a affaire à un porteur des deux types d'infection, les premiers accès de chaque type après splénectomie et leurs rechutes respectives par la suite, ne coïncident pas, le plus souvent.

Quand on inocule du sang d'un porteur des deux types d'infection à un veau indemne, les premiers accès et les rechutes respectives sont également, le plus souvent, séparés.

Ces observations semblent confirmer l'expérience de HOYTE, et nous croyons que *E. teganodes* est une espèce valable.

### Identification dans le sang

Il n'y a aucune difficulté lorsque les accès sont importants.

*E. wenyoni* se présentent essentiellement sous formes annulaires et coccoides, posées sur les érythrocytes ou accolées à la périphérie de ceux-ci. Les formes périphériques paraissent bacillaires et plus intensément colorées que les parasites posés sur les hématies ; nous pensons, avec SCHILLING (1928) et DELPY et RAFYI (1938), que ce sont des anneaux qui se présentent de profil et de ce fait paraissent bacillaires et plus foncés.

*E. teganodes* est essentiellement un parasite du plasma, libre entre les hématies ; il se présente sous forme d'anneaux (souvent possédant des nœuds à la périphérie), de « raquettes » (les formes « en poêle » de HOYTE), de filaments (quelquefois ressemblant à un petit spirochète), etc. (La morphologie d'*E. teganodes* est parfois différente dans deux frottis faits d'une

même goutte de sang. Ainsi nous avons trouvé une fois une grande prédominance de formes annulaires sur plusieurs étalements confectionnés de la même goutte de sang, sauf sur un, où pratiquement tous les organismes se présentaient sous forme de filaments. Cette observation nous fait penser qu'une partie des formes filamenteuses (ou même toutes) sont peut-être toujours formées mécaniquement, lors de la confection des frottis, à partir de formes annulaires ou « en raquette »).

Il est, par contre, souvent difficile, parfois impossible, d'identifier l'espèce lorsqu'il n'y a que de rares parasites. L'on trouve, toujours lors des accès d'*E. wenyoni* un certain nombre de parasites libres entre les hématies. (Ces formes extracellulaires se rencontrent presque exclusivement dans la queue du frottis et il s'agit sans doute de parasites détachés des hématies par une action mécanique, lors de la confection de l'étalement). D'autre part, nous avons vu rarement d'accès d'*E. teganodes* sans que nous n'ayons observé quelques parasites accolés à la périphérie des érythrocytes ou localisés sur la surface de ceux-ci. (Ces formes épi-érythrocytaires sont vraisemblablement accidentelles, tombées sur les hématies lors de la confection du frottis ; par ailleurs, l'on voit souvent de petits artéfacts (précipités de colorant, etc...) accolés à la périphérie des globules, ou posés sur ceux-ci, et l'on peut s'imaginer que des parasites plasmatiques puissent parfois être attirés aux globules de façon semblable).

Ces formes à localisation atypique sont toujours en minorité, et ne faussent pas le tableau total dans les accès importants. Il n'en est pas de même lorsqu'il n'y a que de rares parasites ; du fait que des formes libres se trouvent sur frottis pendant les accès d'*E. wenyoni*, et des formes érythrocytaires pendant ceux à *E. teganodes*, l'identification de l'espèce devient alors difficile. Comment identifier un ou quelques anneaux libres, ou bien de très rares formes érythrocytaires ? Certes, il nous semble y avoir certaines différences morphologiques entre les anneaux libres d'*E. teganodes* et ceux d'*E. wenyoni*, de même qu'entre les formes à la périphérie des érythrocytes des deux espèces :

Les anneaux d'*E. teganodes* ont le pourtour plus net et l'intérieur plus clair (comme vidé) que les anneaux libres d'*E. wenyoni*. Les formes

accollées, périphériques, d'*E. wenyoni* prennent une coloration plus foncée que celles d'*E. teganodes*. Mais ces différences ne sont pas toujours très franches, et nous avons quelquefois été dans l'impossibilité d'identifier l'espèce en présence de très rares parasites. Les formes « en raquette » sont considérées par HOYTE comme typiques d'*E. teganodes* ; nous ne sommes pas convaincus qu'elles n'existent jamais chez *E. wenyoni*, et nous hésiterions à faire l'identification d'*E. teganodes* sur la base de très rares parasites libres, même si nous en trouvions « en raquette ».

### Accès de type thrombocytaire

Nous avons récemment vu des accès de ce type sur plusieurs veaux, après leur splénectomie. Nous n'avions jamais remarqué ce type d'infestation auparavant et nous n'en avons pas trouvé mention dans la bibliographie. Etant donné que nous l'avons observé sur plusieurs animaux, peu après que notre attention avait été éveillée par le premier cas, nous pensons que l'infestation thrombocytaire ne doit pas être rare, et qu'elle a simplement échappé jusqu'ici à notre attention et à celle d'autres chercheurs.

Les accès ressemblent à ceux d'*E. wenyoni*, avec cette différence que les thrombocytes sont infestés et non les érythrocytes. Les parasites sont accolés à la périphérie des plaquettes (rarement posés sur celles-ci), formant parfois des couches épaisses à bord éraflé (exactement comme le fait *E. wenyoni* à la périphérie des érythrocytes). L'on trouve des formes libres dans la queue du frottis, avoisinant les agglomérations des thrombocytes (sans doute détachées de ceux-ci).

Nous espérons avoir l'occasion d'expérimenter ces *Eperythrozoon* thrombocytaires, et de déterminer à quelle espèce ils appartiennent.

### Incidence des infections à *Eperythrozoon*

Nous pensons que l'incidence réelle est plus élevée que n'indiquent les chiffres ci-dessous. Les accès d'*Eperythrozoon* sont souvent fugaces et limités à de rares parasites, qui échappent facilement à l'attention. Nous ne notons, arbitrairement, que les accès observés pendant le

mois suivant la splénectomie, la plupart des animaux ayant été inoculés plus tard avec le sang d'autres bovins, et les accès obtenus après un mois ne donnent alors pas d'indication pour l'incidence originelle. Il est possible qu'une infection à *Eperythrozoon* se montre quelquefois plus d'un mois après la splénectomie.

*Veaux nés au Laboratoire et gardés dès la naissance, à l'abri d'ectoparasites :*

Sur 5 veaux, respectivement splénectomisés à l'âge de 42, 58, 60, 71 et 87 jours, un seul a eu un accès d'*Eperythrozoon* dans le mois suivant l'opération ; il s'agit d'*E. teganodes* ; ce veau avait été opéré à l'âge de 87 jours. (Nous avons observé de très rares *E. teganodes* sur un autre veau, non splénectomisé, gardé dès la naissance à l'abri d'ectoparasites ; ce veau était alors âgé de 10 jours ; il a été splénectomisé à l'âge de 68 jours, mais est mort 13 jours après l'opération, avant que des *Eperythrozoon* ne soient de nouveau apparus dans le sang).

*Veaux en provenance du Centre de Recherches Zootechniques de Miadana (Province de Majunga), détiés régulièrement au Centre par douchage à l'H. C. H. (ce qui n'empêche pas le développement de quelques *B. microplus* et de plus nombreux *Amblyomma variegatum* (FABRICIUS, 1794) sur les bovins du Centre) :*

Aucun des 6 veaux, arrivés au Laboratoire à l'âge de 4 à 6 semaines, gardés dès l'arrivée à l'abri d'ectoparasites, et splénectomisés à l'âge de 3 à 3 mois  $\frac{1}{2}$ , n'a montré des *Eperythrozoon* dans le mois suivant l'opération.

Un veau plus âgé que les précédents (6 mois) du Centre de Recherches Zootechniques de Miadana, se montrait porteur d'*E. teganodes* dans le mois suivant la splénectomie.

*Veaux en provenance du Centre de Recherches Zootechniques de Kianjasoa (Province de Tananarive), détiés régulièrement au Centre au bain arsénical (ce qui empêche presque entièrement le développement de *B. microplus* sur les bovins du Centre, mais non celui d'*A. variegatum*) :*

28 veaux, arrivés au Laboratoire à l'âge de 5 à 8 mois, gardés dès l'arrivée à l'abri d'ectoparasites, et splénectomisés dans les deux mois suivant l'envoi. 11 des 28 animaux ont montré des *Eperythrozoon* moins d'un mois après la splénectomie. Sur 4 animaux il s'agissait d'*E. teganodes* seul, sur 3 d'*E. wenyoni* seul, 2 mon-

traient les deux espèces, sur deux autres animaux l'espèce n'a pas été déterminée (il s'agit de veaux splénectomisés avant que nous n'ayons eu connaissance de l'article de HOYTE, alors que nous ne faisons pas particulièrement attention à la localisation des *Eperythrozoon*).

L'inoculation de sang d'une vache adulte de Tananarive à deux veaux splénectomisés, qui n'avaient jamais montré d'*Eperythrozoon*, a été suivie par l'apparition des deux espèces, *E. wenyoni* et *E. teganodes*, sur les deux veaux.

#### Observations antérieures

RAYNAUD (1962 a) a trouvé un seul porteur d'*Eperythrozoon* (d'espèce indéterminée) sur 11 veaux de la région de Tananarive, splénectomisés à l'âge de 2 à 4 mois. Le seul bovin plus âgé (14 mois) de la même région se montrait porteur après la splénectomie.

Des bovins adultes, de diverses régions de Madagascar (RAYNAUD, 1962 a, RAYNAUD et UILENBERG, 1962) ont révélé, après splénectomie, des *Eperythrozoon* (d'espèce indéterminée), dans la proportion de 12 sur 19. (Ces bovins n'ont, souvent, pas pu être observés pendant un mois).

Il semble, d'après ces observations, que l'incidence augmente avec l'âge.

#### Evolution des infections

L'incubation après l'inoculation de sang infecté est assez variable. Les périodes observées sont de 1 à 24 jours ; l'incubation d'*E. teganodes* nous semble, en moyenne, plus longue que celle d'*E. wenyoni*, mais la différence n'est pas nette, étant donné les variations pour chaque espèce. Il ne semble pas y avoir de différence entre les veaux splénectomisés et les veaux normaux, en ce qui concerne la durée de l'incubation.

L'incubation de la première rechute après splénectomie est également variable. Elle a été de 1 à 31 jours pour *E. teganodes* et de 4 à 8 pour *E. wenyoni*.

L'importance du premier accès après une inoculation ou une splénectomie ne suit pas de règle (pour les deux espèces). Parfois l'on ne trouve que de rares parasites pendant un jour, d'autres fois les *Eperythrozoon* augmentent en

nombre (jusqu'à plusieurs centaines par champ microscopique), et l'accès peut parfois durer jusqu'à 2, même 3 semaines. Il y a, sur les splénectomisés, des sorties irrégulières par la suite, parfois fréquentes ; l'importance et la durée de ces rechutes sont aussi variables que celles du premier accès. Ces sorties peuvent être observées pendant au moins 7 mois après la splénectomie ou une inoculation de sang infecté.

Les rechutes sont rares et peu importantes sur les veaux non splénectomisés, où l'on n'observe en général que le premier accès (qui peut être aussi important que sur les splénectomisés). Sur un veau normal nous avons pourtant vu de faibles rechutes d'*E. wenyoni* jusqu'à 200 jours après l'inoculation de sang infecté.

#### Transmission

Le seul point qui est certain, c'est que l'on peut facilement transmettre les deux espèces avec du sang infecté, par voie parentérale.

DONATIEN et LESTOQUARD (1937) accusent des tiques (*Hyalomma* sp.) ; NEITZ (1940) signale que des expériences préliminaires semblaient lui donner des indications dans la même direction (infestations mixtes de divers genres d'Ixodidae), mais que, plus tard, il a trouvé des *Eperythrozoon* sur des veaux élevés à l'abri de tiques. Il ne considère pas l'observation isolée de DONATIEN et LESTOQUARD comme concluante. Nous sommes du même avis, étant donné les difficultés d'expérimentation avec les *Eperythrozoon* ; rien ne prouve que les deux bovins utilisés par DONATIEN et LESTOQUARD n'étaient pas infectés à l'état latent, et qu'une rechute ne coïncidait pas accidentellement avec l'infestation par les *Hyalomma*, ou qu'une infection latente n'ait été réveillée par la theilériose aiguë concomitante, transmise par ces *Hyalomma*. (Voir THURSTON, 1955, pour l'influence d'une maladie à hématozoaires concomitante sur l'infection à *Eperythrozoon coccoides* SCHILLING, 1928, de la souris).

Nos observations prouvent également que les tiques au cas où elles joueraient un rôle, ne jouent certainement pas de rôle exclusif dans la transmission des *Eperythrozoon*. Comme nous l'avons signalé plus haut, nous avons trouvé des *E. teganodes* sur 2 veaux élevés à l'abri d'ecto-



parasites. Nous avons, de plus, observé l'apparition d'*Eperythrozoon* sur 3 veaux splénectomisés, dans des circonstances qui nous font croire qu'ils ont été infectés au Laboratoire, à l'abri de tiques. Les détails d'un de ces 3 cas ont été donnés plus haut, au paragraphe « Validité d'*E. teganodes* » ; il s'agit du veau B 7, sur lequel *E. wenyoni* est apparu pour la première fois plus de 5 mois après la splénectomie, et 3 mois après une inoculation de sang d'un veau supposé indemne d'*Eperythrozoon*. Voici les détails des deux autres cas :

Veau B 12. Splénectomie le 18/1/1963, à l'âge de 3 mois et demi. Inoculation de sang d'un veau supposé indemne d'*Eperythrozoon* (contenant *A. centrale*), le 20/3/1963. *E. wenyoni* apparaît brusquement pour la première fois le 3/9/1963 et *E. teganodes* le 21/2/1964, donc respectivement 7 mois et demi et 13 mois après la splénectomie et 5 mois et demi et 11 mois après l'inoculation de sang.

Veau B 13. Splénectomie le 14/5/63, à l'âge d'un mois et demi (ce veau était né au Laboratoire, à l'abri d'ectoparasites ; B 7 et B 12 sont arrivés au Laboratoire à l'âge de 4 et 6 semaines, en provenance du Centre de Recherches Zootechniques de Miadana). Inoculation de sang de B 12 le 18/6/1963, donc bien avant l'apparition d'*Eperythrozoon* sur ce dernier. L'on n'observe pas d'*Eperythrozoon* sur B 13 pendant plusieurs mois (ce qui confirme que B 12 n'en était pas porteur à cette époque). *E. wenyoni* apparaît brusquement pour la première fois le 30/12/63 et *E. teganodes* le 3/2/1964, respectivement 7 mois et demi et 8 mois et demi après la splénectomie et 6 mois et demi et 7 mois et demi après l'inoculation du sang.

Une autre indication que les tiques, tout au moins l'espèce *B. microplus*, ne peuvent jouer de rôle exclusif, est donnée par le fait que nous avons trouvé 11 sur 28 veaux du Centre de Recherches Zootechniques de Kianjasoa infectés (voir « Incidence des infections »), or, l'espèce *B. microplus* est pratiquement absente du Centre (observation personnelle), fait qui est encore confirmé par la rareté des infections à *Babesia* sur les animaux du Centre. (Seulement 4 des 28 veaux se montraient porteurs de *B. bigemina* après leur splénectomie ; RAYNAUD (1962 a) n'a pu observer

aucune infection à *B. bigemina* sur 16 bovins splénectomisés du même Centre).

NEITZ (1940) pense que des poux pourraient intervenir ; il trouve des *Eperythrozoon* sur des veaux élevés à l'abri de tiques, mais infestés par des poux (*Bovicola* (= *Damalinia*) et *Linognathus*). Il se réfère aux expériences d'ELIOT (1936, cité par NEITZ, 1940, et THURSTON, 1955), qui a pu transmettre *E. coccoides* de la souris par un poux, *Polyplax*. ; mais, d'après THURSTON (1955), il ne s'agit pas de transmission naturelle dans ce cas, mais d'une transmission mécanique, les poux n'ayant pu transmettre le parasite que si le délai était moins de 24 h.

Nos observations permettent, avec toute certitude, d'écarter non seulement la possibilité de transmission par des tiques, mais également celle par des poux ou des puces (voir « Méthodes de travail »). (Nous ne nions pas la possibilité que ces arthropodes pourraient jouer un rôle dans la transmission naturelle, mais ce rôle ne peut pas être exclusif).

Il faut également envisager la transmission par des insectes ailés (la pulvérisation du Baytex et du Sevin n'offrant pas de garantie absolue que des *Stomoxys* etc... ne parviennent jamais à s'attaquer aux animaux), ou de transmission accidentelle, lors de la confection des frottis de sang. Mais nous n'avons jamais eu de telles transmissions d'autres espèces de parasites sanguins, bien que le manque d'espace nous force à loger ensemble des animaux ayant différentes espèces d'hématozoaires ; une épingle différente est, bien entendu, utilisée pour prendre du sang de chaque animal.

La transmission congénitale est une autre possibilité ; sans la nier, nous ne pensons pas qu'elle puisse être la règle, étant donné la faible incidence sur les jeunes veaux, et le fait que les veaux B 7, B 12 et B 13 ont apparemment acquis leurs infections après la naissance.

La possibilité d'infection par voie orale n'est pas à rejeter ; elle pourrait s'effectuer soit par des sécrétions naturelles, soit par du sang infecté (sang resté sur l'oreille d'un animal infecté après confection d'un frottis). THURSTON (1955) a réussi à transmettre par voie buccale *E. coccoides* aux souris avec du sang infecté. Le lait et les fèces n'étaient pas infectieux. SEAMER (1960) a pu infecter des porcs par voie orale avec du sang infecté d'*Eperythrozoon parvum* SPLITTER,

1950. Ajoutons que SPLITTER (1952) a montré que l'urine ne contient pas l'autre *Eperythrozoon* du porc, *E. suis* SPLITTER, 1950.

**En conclusion :** le mode de transmission naturelle est toujours inconnu. Des transmissions peuvent se faire en l'absence de tiques, de poux et de puces.

### Symptômes

Nous n'avons pas vu de cas de maladie imputable avec certitude aux *Eperythrozoon* chez un bovin vivant dans des conditions naturelles. L'infection ne semble pas avoir une grande importance dans la pathologie bovine. Au laboratoire, les deux espèces se sont montrées capables de causer de la fièvre et de l'anémie plus ou moins prononcées, même sur des veaux non splénectomisés ; les symptômes sont rarement alarmants, et les animaux ont toujours guéri, même les splénectomisés, bien que nous ayons le plus souvent laissé l'évolution des accès suivre son cours naturel. (Ajoutons que les accès thrombocytaires peuvent également causer une hyperthermie). Les observations de NEITZ (1940) et d'ISHIHARA (1962) correspondent aux nôtres ; HOYTE (1962) a, par contre, vu 2 veaux splénectomisés sur 31, mourir des suites d'infections à *Eperythrozoon* et il nous a écrit que des chercheurs australiens auraient observé la mort de quelques bovins adultes, non splénectomisés, à la suite d'une infection aiguë à *E. teganodes*.

La plus grande importance pratique des *Eperythrozoon* pour nous, tient dans le fait qu'ils interviennent fréquemment, en perturbateurs, dans les expériences sur d'autres hématozoaires, et que certains de nos donneurs de souches prémunisantes (*A. centrale*, *Babesia*) se sont inexplicablement infectés ; ce dernier fait est gênant pour la prémunition (bien que nous le croyons sans danger) puisqu'un accès de fièvre après la prémunition peut être causé par les *Eperythrozoon* aussi bien que par la souche prémunisante. Bien que nous traitons ces donneurs contre les *Eperythrozoon*, nous ne croyons pas pouvoir les stériliser de l'infection.

### Traitement

DELPY et RAFYI (1938) indiquent que le Zothé-lone <sup>®</sup> (quinuronium sulfate) serait très actif

contre ces parasites. NEITZ (1940) et RAYNAUD (1962 b) signalent que la néoarsphénamine est spécifique.

Nos observations peuvent être résumées comme suit : (tous les produits ont été administrés par voie parentérale ; la dose est exprimée en produit pur) :

Ont semblé sans action :

Sur *Eperythrozoon* d'espèce non déterminée =  
L'Auréomycine (5 mg/kg), la Lomidine <sup>®</sup> (3 mg/kg), la Terramycine <sup>®</sup> (8 mg/kg).

Sur *E. wenyoni* —

L'Auréomycine (7 mg/kg), la Gonacrine (7 mg/kg), le Trypanbleu (3 mg/kg).

Sur *E. teganodes* —

La Gonacrine (5 mg/kg), la Lomidine <sup>®</sup> (3 mg/kg), la Penicilline (20.000 U/kg), la Streptomycine (7 mg/kg), la Terramycine (6 mg/kg), le Zothé-lone (1,25 mg/kg).

La néoarsphénamine (Novarsénobenzol <sup>®</sup>) agit de façon spécifique sur *E. teganodes*. Les accès sont coupés par des doses de 0,5 — 1,5 g/100 kg ; les parasites ont disparu après 24 heures et la température a baissé.

L'action sur *E. wenyoni* semble moins grande. 0,7 g/100 kg baisse le taux de parasitémie, mais il reste assez important ; 1 g/100 kg fait disparaître la plupart des *Eperythrozoon* en 24 h, mais un plus ou moins grand nombre de parasites persistent et peuvent même se multiplier de nouveau dès le jour suivant. Ce n'est qu'à la dose de 1,5 g/100 kg que tous les parasites ont disparu après 24 h.

Un autre produit arsénical, le Spirotrypan <sup>®</sup>, nous a semblé être actif contre les *Eperythrozoon*. (La dose indiquée est en ml/100 kg de la solution commerciale du Spirotrypan « fort »). 8 cc/100 kg ont fait disparaître tous les *Eperythrozoon* (d'espèce indéterminée) en 24 h. Des doses de 15 et 18 cc/100 kg ont coupé de la même façon des accès à *E. wenyoni*.

La stérilisation complète de l'animal n'est vraisemblablement pas obtenue avec ces produits ; nous en sommes certains en ce qui concerne l'espèce *E. wenyoni* et la néoarsphénamine aux doses de 0,7 et 1 g/100 kg, également en ce qui concerne les *Eperythrozoon* d'espèce indéterminée et le Spirotrypan à la dose de 8 cc/100 kg, puisque les parasites ont été observés de



nouveau dans le sang quelques jours après le traitement.

En jugeant de l'activité d'un produit donné, l'on ne doit pas se baser sur une seule observation. Les accès disparaissent parfois brusquement d'un jour à l'autre, en l'absence de traitement. Ainsi nous avons cru devoir conclure à l'efficacité de la Lomidine sur *E. tejanodes* après une première expérience, mais ce produit s'est montré par la suite dépourvu d'activité.

Nous remercions Monsieur G. ANDRIANJAFY de sa collaboration.

Institut d'Elevage et de Médecine  
Vétérinaire des Pays tropicaux  
Laboratoire Central de l'Elevage  
de Tananarive  
Service d'Entomologie et de  
Protozoologie

## SUMMARY

### Notes on the Eperythrozoon of bovines in Madagascar

The *Eperythrozoon* were found to be capricious parasites, difficult subjects for research. The species *E. tejanodes* Hoyte, 1962 is considered to be valid. A few details are given on the morphology of *E. wenyoni* and *E. tejanodes*. Mention is made of a third type of access, in which the *Eperythrozoon* exclusively infest the thrombocytes. The percentage of bovines infected is high and increases with age. The development of the infection does not follow a general rule; relapses may recur up to more than 200 days following infection, even in non splenectomized calves. The natural mode of transmission still remains unknown; spontaneous infections may occur even in the absence of ticks, lice or fleas. Both these parasites can cause fever and anaemia, even in non splenectomized animals, but the disease was never found to be mortal. Of the 10 products tested, only neoarsphenamine and Spirotrypan <sup>®</sup> were found to be active, but do not appear to sterilize the animals from infection.

## RESUMEN

### Nota sobre los Eperythrozoon de bovinos en Madagascar

Los *Eperythrozoon* son parásitos caprichosos, difíciles para la experimentación. Se considera la especie *E. tejanodes* Hoyte, 1962, como valedera. Algunos detalles son dados en cuanto a la morfología del *E. wenyoni* y del *E. tejanodes*. Se nota un tercer tipo de acceso, en el cual los *Eperythrozoon* infestan exclusivamente los trombocitos. El porcentaje de los bovinos infectados es importante, y crece con la edad. La evolución de las infecciones no sigue una regla; se pueden observar recaídas hasta más de 200 días después de la infección aun en los terneros esplenectomizados. El medio de transmisión natural permanece desconocido; se producen infecciones espontáneas durante la ausencia de los ixodos, de los piojos y de las pulgas. Los dos parásitos pueden provocar fiebre y anemia, aun en animales no esplenectomizados, pero jamás la enfermedad fué mortal. Entre los 10 productos experimentados, solos la Neoarsfenamina y el Spirotrypan R son activos, pero no parecen esterilizados los animales contra la infección.

## BIBLIOGRAPHIE

- ADLER (S.) et ELLENBOGEN (V.). — A note on two blood parasites of cattle, *Eperythrozoon* and *Bartonella*. *J. Comp. Path.*, 1934, 47 : 219-221.
- BROCKLESBY (D. W.). — The occurrence of *Eperythrozoon wenyoni*, *Bartonella bovis* and *Anaplasma marginale* in an ox in Kenya. *J. Parasit.*, 1958, 44 : 51.
- DELPY (L.) et RAFYI (A.). — Sur la morphologie, l'évolution et la différenciation d'*Eperythrozoon wenyoni* (Adler, 1934). *Bull. Acad. vét.*, 1938, 11 : 203-208.

- DONATIEN (A.) et LESTOQUARD (F.). — Transmission naturelle d'*Eperythrozoon wenyonii* par une tique du genre *Hyalomma*. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1937, 30 : 459-460.
- HOYTE (H. M. D.). — *Eperythrozoon tejanodes* sp. nov. (Rickettsiales), parasitic in cattle. *Parasitology*, 1962, 52 : 527-532.
- ISHIHARA (T.). — Eperythrozoonosis in cattle in Japan. *Nat. Inst. Anim. Hlth Quart.*, 1962, Tokyo, 2 : 21-30.
- NEITZ (W. O.). — Eperythrozoonosis in cattle. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1940, 14 : 9-28.
- NIESCHULZ (O.). — Über eine *Bartonella* Infektion beim Rinde. *Z. Infektkr. Haustiere*, 1938, 53 : 175-179.
- RAPPORT ANNUEL laboratoire central de l'élevage, Tananarive, 1960 : 68.
- RAPPORT ANNUEL; laboratoire central de l'élevage, Tananarive, 1963 : 188.
- 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 a, 15 : 137-145.
- RAYNAUD (J. P.). — Splénectomie des bovins et parasites sanguins. *Ann. Parasit. hum. comp.* 1962 b, 37 : 755-766.
- 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 : 147-153.
- SCHILLING (V.). — *Eperythrozoon coccoides*, eine neue durch Splenektomie aktivierbare Dauerinfektion der weissen Maus. *Klin. Wschr.* 1928, 7 : 1853-1855.
- SEAMER (J.). — Studies with *Eperythrozoon parvum* Splitter, 1950. *Parasitology*, 1960, 50 : 67-80.
- SPLITTER (E. J.). — Eperythrozoonosis in swine. Filtration studies. *Amer. J. vet. Res.*, 1952, 13 : 290-297.
- THURSTON (J. P.). — Observations on the course of *Eperythrozoon coccoides* infections in mice, and the sensitivity of the parasite to external agents. *Parasitology*, 1955, 45 : 141-151.
- UILENBERG (G.). — Notes sur les hématozoaires et tiques des animaux domestiques à Madagascar. (Avec une liste des protozoaires, rickettsiales et arthropodes parasites, identifiés dans le pays.) (Communication au Premier Congrès International de Parasitologie, Rome), *Rev. Elev. Méd. vét. pays trop.* 1964, 17, 337-359.
- WEINMAN (D.). Dans : BREED, R. S., MURRAY, E. G. D. et SMITH, N. R. — *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 7<sup>e</sup> Edition. Londres ; Baillières, Tindall & Cox, Ltd., 1957, Pages 977-980.

# Sur la pathogénie des formes cérébrales des babesioses bovines à Madagascar

par G. UILENBERG

## RÉSUMÉ

L'auteur décrit quelques cas de babésiose cérébrale de bovins, associée à des infections par des virus ou des rickettsies (rage, heartwater, rickettsies non identifiées). Les premiers cas de babésiose cérébrale à *B. bigemina* à Madagascar sont signalés. L'évolution normale des babesioses est discutée : L'infection à *B. argentina* se caractérise normalement par la multiplication des parasites dans les organes internes, y compris le cerveau, à l'opposé de *B. bigemina*.

L'évolution a été anormale dans les cas décrits, et il semble qu'une maladie intercurrente, intéressant le cerveau (virus, rickettsies) puisse permettre aux *Babesiae* de se multiplier électivement dans cet organe. Le diagnostic « babésiose cérébrale » dans ces cas atypiques ne suffit pas ; il faut rechercher si une infection à virus ou à rickettsies n'est pas en cause.

Plusieurs auteurs ont décrit des formes cérébrales des babesioses bovines, tant par *Babesia argentina* (LIGNIÈRES, 1909), que par *Babesia bigemina* (SMITH et KILBORNE, 1893). CLARK (1918) attirait déjà l'attention sur le fait que l'on peut trouver les *Babesiae* en très grand nombre dans le cerveau ; d'autres auteurs l'ont confirmé, par exemple TCHERNOMORETZ (1943), VOGELANG e. a. (1948), ZLOTNIK (1953), DUMITH ARTEAGA (1960) et CALLOW et MCGAVIN (1963). RAYNAUD (1962) mentionne un cas de babésiellose cérébrale à Madagascar. La forme cérébrale de la piroplasmose vraie n'avait pas encore été signalée à Madagascar jusqu'alors.

La pathogénie des babesioses (\*) cérébrales

\* Bien que nous n'admettons pas comme valables les genres *Piroplasma* Patton et *Babesiella* Mesnil, nous utilisons la désignation « piroplasmose vraie » pour la maladie causée par *B. bigemina* et « babésiellose » pour celle causée par *B. argentina* ; ces termes sont commodes et ne pourraient prêter à la confusion à Madagascar, où *B. argentina* est la seule petite espèce de *Babesia* trouvée jusqu'ici ; il n'en serait pas de même, évidemment, dans plusieurs autres pays, où l'on rencontre également *B. divergens* et *B. major*. Nous réservons le mot « babésiose » comme terme général.

est obscure (NEITZ 1962). Nous en rapportons ici quelques cas qui pourraient élucider partiellement la question.

### Premier cas

Nous recevons, en janvier 1964, des frottis du cortex cérébral (fixés à l'alcool méthylique dès leur confection), des frottis du sang du cœur et des calques du foie, de la rate et du rein d'une génisse métissée Brahman-zébu local, en provenance de la région de Diégo-Suarez. Anamnèse : troubles nerveux, démarche raide et vacillante, par la suite décubitus latéral et tremblements musculaires ; l'animal meurt après 2 j en décubitus. L'on signale à l'autopsie, entre autres, une rate normale, un foie hypertrophié, des pétéchies sur le cœur. L'examen des frottis du cortex cérébral, coloré suivant GIEMSA, nous permet de trouver dans les capillaires de très nombreuses *Babesiae*, que nous croyons devoir identifier à *B. argentina*, à cause de leur petite taille et malgré la contraction *post mortem* qu'elles ont subies. Aucun parasite n'est trouvé sur les prélèvements du sang du cœur, du foie, de la rate et du rein,

après un examen prolongé. De plus, nous constatons la présence dans les capillaires cérébraux d'agglomérations typiques de *Cowdria ruminantium* (COWDRY, 1925) (Ajoutons que nous avons diagnostiqué auparavant la heartwater sur des bovins du même propriétaire).

Ainsi nous nous trouvons en présence de 2 maladies associées, la heartwater et la forme cérébrale de la babésiellose ; l'on ne trouve pas de *Babesia* dans les autres organes internes, et, comme nous le verrons, il faut considérer cette évolution de la babésiellose comme anormale.

### Deuxième cas

Un taurillon de race zébu local, âgé d'environ 1 an et demi, est envoyé vivant, en juillet 1964, au Laboratoire, en provenance de la région de Miarinarivo.

Anamnèse : L'animal bave et beugle continuellement et il est agressif envers les autres bovins ; épuisé, il tombe en décubitus latéral, toujours beuglant, et présente du rictus des lèvres. Un traitement à l'auréomycine (1 g en intraveineuse) n'amène pas d'amélioration. Il est envoyé au Laboratoire, après 11 j de maladie, comme suspect de rage. L'animal, à l'arrivée au Laboratoire, est incapable de se lever, mais ne présente pas d'autres symptômes frappants. L'examen du sang périphérique, coloré suivant GIEMSA, montre de très rares *B. bigemina* (2 parasites trouvés sur un frottis). Le taurillon est tué le même jour, des frottis du cortex cérébral sont colorés (GIEMSA), et le cerveau est envoyé à l'Institut Pasteur pour le diagnostic de la rage. Nous trouvons les capillaires cérébraux remplis d'érythrocytes infestés de *B. bigemina*, en très grand nombre. L'Institut Pasteur nous communique plus tard le résultat de son examen : Rage positive (Examen histologique douteux, inoculations de souris positives).

Ici nous avons donc une association de la rage et de la piropasme vraie cérébrale ; l'évolution de cette piropasme est, comme nous le verrons, également exceptionnelle ; le cerveau est bourré de parasites, le sang périphérique en contient infiniment peu (Remarquons qu'il s'agit du premier cas de forme cérébrale de piropasme vraie, que nous ayons observé à Madagascar ; l'identification du parasite ne fait aucun doute, le cerveau ayant été prélevé immédiate-

ment après la mort et les *Babesiae* n'étant pratiquement pas altérées).

### Troisième cas

Un bouvillon splénectomisé (B 7), métis Brahman-zébu local, est inoculé avec *B. bigemina* en avril 1964.

La réaction clinique est traitée (au Bérénil <sup>®</sup> (à 3mg/kg) en intramusculaire), les parasites disparaissent du sang et l'animal est guéri. Pour éprouver si le médicament utilisé a stérilisé le bouvillon de l'infection ou s'il a laissé l'état de prémunition, nous inoculons, à 3 reprises, dans le courant de mai et juin, du sang de B 7 à des veaux splénectomisés, indemnes de *B. bigemina*, et nous injectons B 7, à 4 occasions, avec du sang contenant le même hématozoaire. Ni B 7, ni les veaux inoculés avec son sang, ne montrent *B. bigemina* dans le sang (examen quotidien). B 7 est également infecté, pendant cette période, avec *B. argentina*, qui lui donne un accès parasitaire et thermique ; le malade est traité (au Pirodia <sup>®</sup> (à 10 mg/kg en sous-cutanée), les parasites disparaissent du sang et la température redevient normale. L'on remarque toutefois que l'animal perd du poids depuis quelque temps et semble plus ou moins abattu. Il est finalement sacrifié à l'âge de 21 mois, au début de juillet 1964, les expériences sur l'animal étant terminées. Nous sommes étonné de trouver dans les capillaires du cortex cérébral (coloration de GIEMSA) de très nombreuses *B. bigemina* et *B. argentina* (L'identification des 2 espèces ne fait pas de doute, les prélèvements ayant été faits tout de suite après que l'animal a été sacrifié). Aucune *Babesia* n'est trouvée dans le sang périphérique, ni sur les calques des organes internes, sauf du rein, où l'on observe de très rares *B. argentina*. Les capillaires cérébraux contiennent en même temps des éléments rickettsiformes ; ces éléments ne se trouvent pas en agglomérations typiques de la heartwater, mais sont beaucoup moins serrés. La coloration de MACCHIAVELLO les colore en rouge. Dans le sang périphérique, l'on constate la présence d'éléments semblables dans de nombreux leucocytes à noyau segmenté, probablement des granulocytes neutrophiles (En réexaminant des frottis antérieurs, nous nous rendons compte que ces inclusions existaient déjà pendant quelques jours avant la mort de

l'animal). Nous avons peut-être affaire à une infection semblable à celle décrite, principalement en Grande-Bretagne, sous le nom de « tick-borne fever » (mise au point par Gordon e. a., 1962, et par FOGGIE, 1962).

Il y a donc, dans ce cas, une association d'une infection à éléments rickettsiformes d'une espèce indéterminée et d'une babésiose cérébrale à *B. bigemina* et *B. argentina*. C'est également une babésiose à évolution anormale (voir plus loin), vraiment cérébrale, puisqu'il n'y a pas de parasites dans le sang périphérique, ni dans les organes, sauf de très rares *B. argentina* dans le rein.

#### Quatrième cas

Nous recevons, en juillet 1962, un cerveau sous glace d'une vache de race non spécifiée de la région de la Sakay. L'animal a présenté des symptômes suspects de la rage (accès de fureur, autophagie, impossibilité de déglutir), et est mort après 6 jours de maladie. Nous trouvons dans les capillaires du cortex cérébral des *Babesiae*, vraisemblablement des *B. argentina*, mais la contraction post mortem ne nous permet pas d'être tout à fait certain de l'identification spécifique. Le nombre des parasites, assez important, ne nous semble pas toutefois suffisamment élevé pour que nous puissions parler d'une babésiose cérébrale. Le cerveau est envoyé à l'Institut Pasteur, qui fait le diagnostic de rage (examen histologique positif, inoculations de souris positives).

Nous avons donc affaire à un cas de rage, avec la présence simultanée de *Babesiae*, vraisemblablement des *B. argentina*, dans les capillaires cérébraux, en nombre assez considérable, sans que nous puissions l'appeler une véritable forme cérébrale de babésiose (CALLOW et JOHNSTON (1963) ont montré que l'on peut trouver *B. argentina* dans le cortex cérébral de la plupart des porteurs d'une infection latente en l'absence de tout symptôme clinique ; le nombre qu'ils trouvent dans de tels cas, est toutefois faible).

#### Cas de babésiose à évolution normale

De nombreux auteurs, par exemple LIGNIÈRES (1909), BRUMPT (1920), REES (1934), SERGENT e.a. (1945), écrivent que la maladie à *B. argentina* dans les cas graves, se caractérise normalement par la multiplication des parasites dans les

organes internes. Cela résulte également de notre expérience à Madagascar. Les parasites restent toujours rares dans le sang périphérique, même dans les cas à évolution mortelle. A l'autopsie, nous trouvons habituellement un grand nombre de *Babesiae* dans les capillaires du cortex cérébral, et également dans le foie, le cœur, le poumon, et surtout le rein et la rate. Il ne s'agit pas, normalement, d'une babésiose exclusivement cérébrale (tout au moins sur des animaux non traités). Ces cas mortels, où l'on trouve un grand nombre de *B. argentina* dans le cerveau et les autres organes, sont fréquents à Madagascar, et nous préférons de beaucoup, pour le diagnostic de la babésiose, des prélèvements du cerveau, du rein, ou de la rate, à un frottis de sang.

Quant à *B. bigemina*, l'on en trouve un grand nombre dans le sang périphérique pendant l'évolution de la maladie aiguë. D'après plusieurs auteurs *B. bigemina* ne s'accumule pas dans les organes, à l'opposé de *B. argentina* : REES (1934), CALLOW et JOHNSTON (1963), CALLOW et McGAVIN (1963) ; seul BRUMPT (1920) dit que l'on peut rencontrer *B. bigemina* en grand nombre dans le cœur et le rein. Notre expérience personnelle nous a montré que l'on peut trouver de nombreux parasites dans les organes internes (cœur, foie, rein, poumon), mais seulement lorsque la mort survient pendant la phase aiguë de la maladie et qu'il y a simultanément de nombreuses *Babesiae* dans le sang périphérique (Il s'agit d'animaux splénectomisés ; nous ne savons donc pas combien de parasites la rate peut contenir). Curieusement, les capillaires cérébraux ne contiennent pas beaucoup de *B. bigemina* dans ces cas, à l'opposé des autres organes et du sang périphérique ; il est parfois nécessaire de parcourir un frottis de cortex pendant plusieurs mn avant d'en trouver. Notre expérience concorde ici avec celle de CALLOW et JOHNSTON (1963). CALLOW et JOHNSTON (1963) et CALLOW et McGAVIN (1963) croient que CLARK (1918) et ZLOTNIK (1953) se sont trompés dans l'identification à *B. bigemina* du parasite de leurs cas cérébraux, le diagnostic étant difficile à cause de la contraction post mortem ; les auteurs australiens basent leur opinion, que seule *B. argentina* peut être la cause des cas de babésiose cérébrale, sur de nombreuses expériences. Nous étions, jusqu'ici, du

même avis, en nous basant sur nos observations à Madagascar (UILENBERG, 1964) mais, comme nous l'avons vu, il peut y avoir des cas exceptionnels de piroplasmose vraie cérébrale, quand il y a association à une infection à virus ou à rickettsies (L'Australie ne connaît ni la rage, ni la heartwater ; les 2 maladies existent au Nyassaland, où Zlotnik a décrit ses cas ; bien qu'il n'ait pas trouvé de heartwater, les rickettsies peuvent être très rares dans le cerveau et échapper à l'observation ; quant aux cas décrits par CLARK au Panama, il est possible que l'auteur se soit trompé dans l'identification de l'espèce, les différentes *Babesiae* n'étant pas toujours bien séparées par les chercheurs à cette époque).

L'opinion que *B. argentina* se trouve fréquemment en grand nombre dans le cerveau, à l'opposé de *B. bigemina*, est renforcée par les observations cliniques ; il y a souvent des symptômes nerveux dans la babésiellose, rarement dans la piroplasmose vraie.

## CONCLUSIONS

Il ressort de nos observations qu'une maladie intéressant le cerveau (rage, heartwater, rickettsies indéterminées sur le veau B 7) peut permettre la multiplication de *Babesiae*, tant *B. bigemina* que *B. argentina*, dans les capillaires du cerveau, en l'absence d'une multiplication dans les autres organes et le sang (Nous ne savons rien du dernier point en ce qui concerne le quatrième cas, puisque nous n'avons pas pu examiner d'autres prélèvements que le cerveau ; ce cas ne rentre d'ailleurs pas tout à fait dans la catégorie que nous décrivons, les parasites n'étant pas présents en très grand nombre ; ce nombre était toutefois

plus important que celui indiqué par CALLOW et JOHNSTON sur leurs porteurs latents).

Il est connu que des infections intercurrentes peuvent réveiller une babésiose latente, comme l'ont signalé de nombreux auteurs dont nous ne citerons que NICOLLE et ADIL-BEY (1899), CARPANO (1930), GIRARD e.a. (1938), ROUSSELOT (1953). Mais dans ces cas, il s'agit de babésioses généralisées et non de la forme cérébrale ; les maladies intercurrentes sont également des infections généralisées, qui n'intéressent pas particulièrement le cerveau ; il s'agit le plus souvent de la peste bovine, tandis que GIRARD e.a. incriminent la vaccine.

L'on peut penser que le développement d'un virus ou d'une rickettsie dans le cerveau diminue la résistance locale envers les *Babesiae* qui alors se multiplient électivement dans cet organe ; une telle explication est assurément très vague, en l'absence de connaissances précises sur les réactions immunitaires générales et locales de l'organisme envers les *Babesiae*.

Une partie des cas de babésiose à localisation exclusive dans le cerveau, pourraient ainsi être expliqués par des maladies intercurrentes à localisation cérébrale ; il est important de ne pas se contenter dans ces cas, du diagnostic « babésiose cérébrale », mais de s'assurer que cette dernière n'est pas secondaire à une infection à virus ou à rickettsies. La possibilité d'un cas de rage, doit être toujours envisagée, et les méthodes classiques de diagnostic de cette maladie ne doivent pas être omises.

*Institut d'Élevage et de Médecine  
vétérinaire des Pays tropicaux  
Laboratoire Central de l'Élevage de Tananarive,  
Service d'Entomologie et de  
Protozoologie*

## SUMMARY

### Concerning the pathogeny of cerebral babesiosis

The author describes some cases of cerebral babesiosis in cattle, associated with viral or rickettsial infections (rabies, heartwater, unidentified rickettsiae). The first cases of cerebral babesiosis due to *B. bigemina* are reported in Madagascar. The normal development of these babesiosis is discussed : infection by *B. argentina* is normally characterized by the multiplication of the parasites in the internal organs, including the brain, as opposed to *B. bigemina*.

Development was found to be abnormal in the cases described, and it appears that an intercurrent disease, involving the brain (virus, rickettsia) may enable the *Babesia* to multiply electively in this organ. The diagnosis of « cerebral babesiosis » in these atypical cases is insufficient ; it is necessary to ascertain whether a viral or rickettsial infection is the cause of this

## RESUMEN

### La patogenia de las babesiosis cerebrales

El autor describe algunos casos de la babesiosis cerebral, asociada con infecciones por virus o rickettsias (rabia, heartwater, rickettsias no identificadas) se señalan los primeros casos de babesiosis cerebral con *B. bigemina* en Madagascar. Se discute la evolución normal de las babesiosis : La multiplicación de los parásitos en los órganos internos, incluso en ello el cerebro, caracteriza normalmente la infección con *B. argentina*, al contrario de *B. bigemina*.

La evolución fué anormal en cuanto a los casos descritos, y parece que una enfermedad intercurrente, concerniendo al cerebro (virus, rickettsias), pueda permitir a las *Babesiae* de multiplicarse electivamente en este órgano. El diagnóstico « Babesiosis cerebral » en estos casos atípicos no es suficiente. Hay que buscar si no se trata más bien de una infección por virus o rickettsias

## BIBLIOGRAPHIE

1. BRUMPT (E.). — Les piroplasmoses des bovidés et leurs hôtes vecteurs. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1920, 13 : 416-460.
2. CALLOW (L. L.) et JOHNSTON (L. A. Y.). — *Babesia* spp. in the brain of clinically normal cattle and their detection by a brain smear technique. *Aust. vet. J.*, 1963, 39 : 25-31.
3. CALLOW (L. L.) et McGAVIN (M. D.). — Cerebral babesiosis due to *Babesia argentina*. *Aust. vet. J.*, 1963, 39 : 15-21.
4. CARPANO (M.). — Infecciones latentes à hémoprotozoaires. *Maladies intercurrentes et récidives. Ann. Parasit. hum. comp.*, 1930, 8 : 638-658.
5. CLARK (H. C.). — Piroplasmosis of cattle in Panama. Value of the brain film in diagnosis. *J. Infect. Dis.*, 1918, 22 : 159-168.
6. DUMITH ARTEAGA (G.). — Estudio sobre algunos casos de babesiellosis intracerebral en bovinos de Venezuela. *Bol. Inst. Inv. Vet.*, 1960, Caracas, 12 : 47-51.
7. FOGGIE (A.). — Studies on tick pyaemia and tick-borne fever ; Aspects of Disease Transmission by Ticks, Symposia of the Zoological Society of London, 1962, n° 6 : 51-58.
8. GIRARD (G.), ROBIC (J.) et BUCK (G.). — Vaccine et piroplasmoses. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1938, 31 : 441-444.
9. GORDON (W. S.), BROWNLEE (A.), WILSON (D. R.) et MACLEOD (J.). — The epizootiology of louping-ill and tick-borne fever with observations on the control of these sheep diseases ; Aspects of Disease Transmission by Ticks. Symposia of the Zoological Society of London, 1962, n° 6 : 1-27.
10. LIGNIERES (J.). — La prophylaxie et la pathologie des maladies protozoaires (piroplasmoses, trypanosomoses, etc...) avec démonstration des parasites spécifiques et des animaux transmetteurs (tiques, moustiques, etc...). 9<sup>e</sup> Congrès International de Médecine Vétérinaire à la Haye, 1909, S. G. 7, 3 : 1-18.
11. NEITZ (W. O.). — Rapport de la deuxième Réunion du Groupe d'Experts FAO/OIE sur les maladies du bétail transmises par des tiques, le Caire : 36-37. F. A. O., Rome, 1962.
12. NICOLLE et ADIL-BEY. — Etudes sur la peste bovine. *Ann. Inst. Pasteur*, 1899, 13 : 319-336.



13. RAYNAUD (J. P.). — **Splénectomie des bovins et parasites sanguins.** *Ann. Parasit. hum. comp.*, 1962, **37** : 755-766.
14. REES (Ch. W.). — **Characteristics of the piroplasms *Babesia argentina* and *B. bigemina* in the United States.** *J. agric. Res.*, 1934, **48** : 427-438.
15. ROUSSELOT (R.). — **Notes de Parasitologie Tropicale. Tome I. Parasites du sang des animaux.** Vigot Frères, Editeurs, Paris, 1953.
16. SERGENT (E.), DONATIEN (A.), PARROT (L.) et LESTOQUARD (F.). — **Etudes sur les Piroplasmoses Bovines.** Institut Pasteur d'Algérie, Alger, 1945.
17. TCHERNOMORETZ (I.). — **Blocking of the brain capillaries by parasitized red blood-cells in *Babesiella berbera* infections in cattle.** *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1943, **37** : 77-79.
18. UILENBERG (G.). — **Notes sur les hématozoaires et tiques des animaux domestiques à Madagascar. (Avec une liste des protozoaires, rickettsiales et arthropodes parasites, identifiés dans le pays).** (Communication au Premier Congrès International de Parasitologie, Rome. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.* 1964, **17** (3) : 337-59).
19. VOGELSANG (E. G.), RODIL (T.), GALLO (P.) et ESPIN (J.). — ***Babesia argentina*. Localización cerebral en el bovino.** *Bol. Inst. Inv. Vet., Caracas*, **3** : 505-527 et *Rev. Grancolomb. Zootec. Hig. y Med. Vet.*, 1948, **2** : 269-284.
20. ZLOTNIK (I.). — **Cerebral piroplasmosis in cattle.** *Vet. Rec.*, 1953, **65** : 642-643.



# Note sur la sensibilité de la tique *Otobius megnini* (Dugès, 1883) (Argasidae) à différents insecticides ; emploi du Sevin <sup>®</sup> (1-Naphthyl-N-Méthyle-Carbamate) dans la lutte contre cette tique

par G. UILENBERG \*

## RÉSUMÉ

Des tests *in vitro* ont montré : Les adultes d'*otobius megnini* sont insensibles à l'H. C. H., au Sevin et au D. D. T., employés dans des concentrations actives contre d'autres espèces de tiques ; la dieldrine et le toxaphène ont une très lente action ; le malathion et le Baytex donnent de bons résultats. Les nymphes sont peu sensibles au D. D. T. ; le Baytex, l'H. C. H., le malathion, le toxaphène et le Sevin sont actifs ; le Sevin est encore efficace dans de très faibles concentrations. Le Sevin empêche la mue des larves gorgées. Des tests *in vivo* ont montré que l'application d'une poudre de Sevin, mélangé à 5 p. 100 à du talc, dans les oreilles, débarrasse les chevaux de l'infestation, et protège pendant environ une semaine ; si le traitement n'est fait que tous les quinze jours, de nouvelles infestations, sous forme de larves, apparaissent. La pulvérisation des écuries au malathion n'a pas eu d'influence apparente sur les infestations des chevaux.

*Otobius megnini*, la tique épineuse de l'oreille, a été signalée pour la première fois à Madagascar par BÜCK (1948), vraisemblablement importée d'Afrique du Sud.

Aucune transmission de maladie par *O. megnini* n'a été signalée à notre connaissance ; la tique a toutefois été trouvée infectée de *Coxiella burnetii* (Jellison et al., 1949, cités par NEITZ, 1956). Habituellement, elle ne semble pathogène que par l'irritation locale dans les oreilles de l'hôte, et par le fait qu'elle puisse, d'après PARISH (1949), créer des conditions favorables à la myriase. Il est vrai que RICH (1957) signale parmi des bovins des cas de mortalité, associés à la présence de cette tique, et qu'il attribue à celle-ci ; il n'apporte toutefois pas de preuve à notre avis, et n'indique pas si d'autres bovins, non malades, des mêmes troupeaux, n'étaient pas aussi porteurs d'*O. megnini*.

La tique est commune à Tananarive, et les infestations des bovins et chevaux y sont souvent très fortes, sans que des cas de mortalité, ni de symptômes importants, aient été signalés.

La tique a toutefois une importance pour les chevaux ; ceux de la gendarmerie à Tananarive sont très parasités, ce qui les rend difficiles à mener, à cause de l'irritation dans les oreilles.

Il semble que les chevaux de la gendarmerie soient principalement infestés dans leurs écuries ; ils y passent la plus grande partie de leur vie, et la plupart des nymphes gorgées doivent tomber là ; nous y avons trouvé des adultes sur le sol.

Les gendarmes ont essayé de combattre les

\* Nous remercions le Dr LANG de son aimable coopération.

tiques depuis quelques années, par l'application dans les oreilles d'une émulsion d'H. C. H., mélangée à un mouillant. Les résultats ont été pauvres, sans doute parce que l'application a été très irrégulière et mal faite ; nous avons inspecté les chevaux de temps en temps, et ils étaient toujours fortement infestés. On nous a demandé d'indiquer un traitement efficace.

Des essais préliminaires *in vitro*, sur la sensibilité des différents stades d'*O. megnini* à plusieurs insecticides, ont d'abord été exécutés, pour pouvoir choisir un insecticide convenable.

### ESSAIS IN VITRO

#### Adultes.

Ils ont été obtenus par la mue, au laboratoire, de nymphes gorgées, récoltées sur les chevaux.

De petits lots de 10 à 20 adultes ont été traités aux insecticides suivants :

*Baytex* <sup>(R)</sup> (liquide émulsionnable) ; *D. D. T.* (poudre mouillable) ; *dieldrine* (poudre mouillable) ; *H. C. H.* (liquide émulsionnable) ; *malathion* (liquide émulsionnable) ; *Sevin* (poudre mouillable) ; *toxaphène* (liquide émulsionnable).

Les tests ont été exécutés par immersion pendant 5 mn dans les suspensions ou émulsions aqueuses à éprouver ; les tiques étaient ensuite rapidement séchées sur papier buvard, et conservées, sur papier buvard, à température et humidité ambiantes du laboratoire (les extrêmes étaient respectivement de 18° C et 26° C, l'humidité relative était en moyenned'environ 65 p. 100). L'observation des tiques durait au moins un mois après le traitement, et était faite à la loupe, sous une forte lumière, pour inciter les tiques à bouger, celles-ci pouvant rester parfaitement immobiles sans cela.

#### Résultats :

Le *D. D. T.* à 1 p. 100, le *Sevin* à 0,15 p. 100 et l'*H. C. H.* à 0,02 p. 100 d'isomère gamma n'avaient aucune influence sur les adultes. Les mâles fécondaient même normalement les femelles, et celles-ci pondaient et donnaient les larves vivantes (ceci pour les 3 produits).

Le *toxaphène* et la *dieldrine*, testés respectivement à 0,25 p. 100 et à 0,05 p. 100, agissaient très lentement. Les effets ne commençaient à être visibles qu'après une semaine pour la *dieldrine*

et après 2 à 3 semaines pour le *toxaphène*. Les tiques devenaient alors incoordonnées et faibles, mais la mortalité après un mois n'était pas importante, surtout en ce qui concerne le *toxaphène*. Les femelles traitées n'étaient pas capables de se reproduire, bien que des mâles non traités leur aient été ajoutés (Ceci pour les 2 produits).

Le *Baytex* à 1,25 p. 100, avait une action plus rapide ; les tiques devenaient incoordonnées après 1 à 2 jours, et la mortalité commençait le 4<sup>e</sup> jour, mais n'était pas complète après un mois.

Le *malathion* à 0,5 p. 100 agissait encore plus rapidement et toutes les tiques étaient faibles et incoordonnées le lendemain du traitement. La mortalité commençait le 3<sup>e</sup> jour, et était presque complète après un mois.

#### Nymphes.

Les nymphes étaient traitées le jour même, ou le lendemain de la récolte dans les oreilles des chevaux. Seules les nymphes gorgées ont été utilisées, les plus jeunes ne convenant pas, parce qu'elles ne muent pas et meurent trop rapidement *in vitro* pour constituer des témoins valables.

Les insecticides suivants ont été éprouvés sous forme liquide (émulsion ou suspension) :

*Baytex*, *D. D. T.*, *H. C. H.*, *malathion*, *Sevin* et *toxaphène*.

Les essais ont été faits suivant la méthode employée pour les adultes.

Le tableau I indique les résultats obtenus après 1 mois.

Pour des raisons d'ordre pratique, indiquées plus loin, nous avons été amené à tester *in vitro* l'action du *Sevin* sous forme de poudre, mélangé à du talc. Le pourcentage du *Sevin* dans le talc était de 3,75 p. 100. Les nymphes étaient saupoudrées avec le mélange et mises dans des boîtes de Petri. Une partie de la poudre restait collée à la peau des tiques ; la même chose se passe *in vivo* (voir plus loin), puisque les nymphes sont couvertes d'une couche grasse, vraisemblablement du cérumen de l'hôte.

Les résultats furent bons : 39 nymphes sur 39 étaient mortes après un mois, aucune n'avait mué. Le talc seul n'avait pas, ou presque pas d'action : 21 sur 23 nymphes avaient mué, 2 étaient mortes.

TABLEAU I

Produit	Concentration (p.100)	Nombre de nymphes	Muées	Non muées	
				Vivantes	Mortes
Eau (témoins)		82	75	0	7
Baytex	0,5	13	0	1	12
D.D.T.	0,1	19	17	0	2
id.	0,5	23	11	5	7
H.C.H.	0,02 ( <i>gamma</i> )	13	0	1	12
Malathien	0,125	19	0	4	15
Sevin	0,0075	11	0	4	7
id.	0,0375	11	0	1	10
id.	0,075	24	0	1	23
id.	0,15	11	0	1	10
Toxaphène	0,075	19	0	0	19

(Dans tous les cas où des nymphes survivaient, sans avoir mué, après un mois, elles étaient faibles et incoordonnées ; les témoins muèrent toujours en moins de 20 jours, la plupart en moins de 2 semaines).

### Larves.

Nous n'avons éprouvé que des larves gorgées, prélevées sur les chevaux. Elles ne constituaient pas de bons témoins : seulement 12 larves sur 40 non traitées avaient mué au bout d'un mois. La mortalité n'était pas un critère utilisable ; la morphologie des larves gorgées (un « sac » avec de très courts appendices) fait qu'il n'est guère possible de juger si une larve est morte ou non.

D'autres lots ont été traités par saupoudrage avec du talc seul et avec du Sevin à 3,75 p. 100 dans du talc. 11 larves sur 40 traitées au talc seul avaient mué au bout d'un mois, aucune sur 40 traitées au mélange du Sevin et du talc.

Ces résultats sont moins nets, que ceux obtenus sur les nymphes, du fait que les témoins étaient moins valables ; l'on peut néanmoins conclure que le Sevin est actif contre les larves, les différences étant statistiquement significatives, comme l'indiquent les limites de confiance des pourcentages (d'après les tables de Lamotte, 1957) :

Pourcentage de larves muées, avec limites de confiance ( $P < 0,05$ ).

Témoins ..... 30 p. 100 (16,6 — 46,5 p. 100)  
 Talc ..... 27,5 p. 100 (14,6 — 43,9 p. 100)  
 Sevin + Talc 0,0 p. 100 ( 0 — 8,8 p. 100)

### CONCLUSIONS DES ESSAIS IN VITRO

Il existe des différences frappantes et inatten-

dues entre la sensibilité aux insecticides des adultes et celle des nymphes. L'H. C. H. et le Sevin ne conviennent pas du tout pour la lutte contre les adultes, tandis que les nymphes sont très sensibles à ces produits. Des insecticides testés, seuls les organophosphorés, le malathion et le Baytex, semblent convenir contre les adultes ; la dieldrine et le toxaphène agissent, mais très lentement ; le D. D. T. est sans action. En ce qui concerne les nymphes, à l'exception du D. D. T. dont l'action est faible, tous les insecticides testés semblent être dotés d'une bonne activité. Le Sevin, seul insecticide éprouvé, est actif contre les larves, mais notre test ne nous a pas permis de juger du degré de l'activité.

\* \* \*

### ESSAIS IN VIVO

Ils ont été faits uniquement avec le Sevin, doué d'une bonne activité contre les nymphes, et dont nous étions déjà en train d'étudier les qualités ixodocides sur d'autres espèces de tiques. Nous n'avons pas trouvé de référence bibliographique sur l'utilisation du Sevin contre *O. megnini*.

Il s'avérait difficile de traiter régulièrement les chevaux en leur versant un liquide dans les oreilles ; les animaux se débattaient de plus en plus à chaque traitement. C'est la raison pour

laquelle nous avons testé *in vitro* le Sevin sous forme de poudre, mélangé à du talc ; les résultats sont rapportés plus haut. Nous avons d'abord essayé d'insuffler la poudre avec une boîte souffleuse ; les chevaux se débattaient encore plus qu'avec un liquide. Par la suite, nous avons mis la poudre dans les oreilles avec une cuillère à café ; quelques chevaux se débattaient au début, craignant encore les traitements au liquide et à la boîte souffleuse ; par la suite cette application ne présentait pas de difficulté, les animaux ne la ressentant apparemment pas comme très désagréable. L'on secouait quelque peu les oreilles après l'application, pour faire tomber une partie de la poudre au fond. Après que l'animal fut libéré, il secouait toujours la tête, et une partie de la poudre s'envolait ; une couche de poudre adhérait toutefois à la surface intérieure des oreilles et sur le tégument gras des tiques et demeurait encore visible une semaine plus tard.

Les expériences *in vivo* ont été faites de la façon suivante :

Un groupe de 15 chevaux, logés ensemble dans une seule écurie, était divisé en un lot de 6 témoins non traités et un lot de 9 autres chevaux. Ces animaux n'avaient pas été traités depuis plusieurs mois. L'infestation était observée à l'aide d'une lampe frontale, avec laquelle on pouvait regarder la plus grande partie de l'intérieur de l'oreille. Seule l'oreille gauche était inspectée à chaque séance. Le traitement consistait en l'application dans chaque oreille d'une cuillerée à café de Sevin à 5 p. 100 comme décrit ci-dessus.

Les résultats sont résumés dans le tableau II.

Le degré de l'infestation est indiqué comme suit : (+) = moins de 5 tiques observées ; + = 5 à 10 ; ++ = 10 à 20 ; +++ = plus de 20 L = uniquement des larves (plus ou moins gorgées) observées ; dans les autres cas il y avait des nymphes ou des nymphes et des larves.

Le lot des 6 témoins (ainsi que tous les autres chevaux de la gendarmerie) a été traité après le 9/3/1964 ; nous avons pu observer que tous les 6 chevaux étaient indemnes de tiques une semaine après le traitement, mais qu'ils étaient tous porteurs de nombreuses larves plus ou moins gorgées après 2 semaines.

## TRAITEMENT DES ÉCURIES

Après ces essais sur les chevaux, les écuries ont été traitées 2 fois, avec un intervalle de 3 semaines, au malathion à 1 p. 100 (émulsion aqueuse), dans l'espoir d'atteindre les adultes et les larves à jeun ; le sol et les murs ont été traités jusqu'à une hauteur d'environ 1 m, en faisant attention aux coins cachés, crevasses, etc...

Il n'y a pas eu de résultat apparent ; les chevaux étaient infestés par les larves aussi fortement qu'avant ces pulvérisations, si le traitement des oreilles au Sevin était supprimé pendant 2 semaines ou plus.

Nous avons déjà, un an plus tôt, pulvérisé du Baytex dans les écuries, également sans résultat apparent.

## CONCLUSIONS DES ESSAIS *IN VIVO*

Le tableau II (ainsi que les traitements du groupe des 6 témoins, après le 9/3/1964) montre que le Sevin fait disparaître les tiques (nous avons d'ailleurs vu des nymphes tomber des oreilles, un quart d'heure après l'application de la poudre) ; mais une nouvelle infestation, consistant uniquement en larves, s'est installée 2 semaines plus tard. Il n'y a pas d'infestation apparente, lorsque le traitement est répété après 7, 8 ou 10 j.

Nous ne pouvons pas tirer de conclusion précise quant à la durée de protection conférée par le traitement (nous ne pouvons pas observer, à l'œil nu, la présence éventuelle de larves non gorgées) ; cette durée semble être de l'ordre d'une semaine, mais ne dépasse vraisemblablement pas beaucoup ce délai, puisque les larves prennent une période de 5 à 10 j pour se gorger (PARISH, 1949), et puisque les larves plus ou moins gorgées ont été observées 2 semaines, mais non 10 j, après le traitement.

Les pulvérisations aux organophosphorés dans les écuries, contre les stades libres, n'ont pas donné de résultats apparents. Elles n'ont peut-être pas atteint toutes les cachettes des adultes (les murs et le sol dans les écuries portant de nombreux trous dans les crevasses) ; d'autre part, il est possible que la cour autour des écuries soit également infestée (on n'avait traité que l'intérieur des écuries).

Les gendarmes ont observé une nette diffé-

TABLEAU II

N° de l'animal	14 Jours		7 Jours	8 Jours	10 Jours	
	30/1/1964	1 3/2/1964	20/2/1964	28/2/1964	9/3/1964	
<b>Lot témoin (non traité)</b>						
1	+++	+++	++	+++	+++	
2	+++	+++	+++	+++	+++	
3	++	+	0	(+)	0	
4	+++	+++	+++	+++	+++	
5	+++	++	+	+++	++(L)	
6	+++	+++	+	++	+(L)	
<b>Lot traité (un traitement a été effectué à chaque date indiquée ci-dessus)</b>						
7	+++	++(L)	0	0	0	
8	+++	+(L)	0	0	0	
9	+++	+++ (L)	0	0	0	
10	+++	+(L)	0	0	0	
11	+++	+++ (L)	0	(animal vendu après le 20/2/1964)		0
12	+++	+++ (L)	0	0	0	
13	+++	++ (L)	0	0	0	
14	++	+(L)	0	0	0	
15	+++	(+)(L)	0	0	0	

rence dans le comportement des chevaux ; ceux-ci sont beaucoup plus faciles à mener après la disparition des nymphes des oreilles.

Nous avons conseillé d'appliquer la poudre au Sevin une fois toutes les 2 semaines ; ceci ne suffit pas, comme nous l'avons vu, à tenir les chevaux libres de l'infestation, mais il ne s'agit que de petites larves, qui ne gênent pas les animaux comme les nymphes, et le cycle du parasite est coupé. En continuant ce traitement pendant longtemps, l'on doit arriver à débarrasser les écuries de l'infestation par les adultes. Le temps nécessaire peut toutefois être très long, puisqu'il est connu que les adultes peuvent vivre et se reproduire pendant longtemps. PARISH (1949) note des survies de 375 à 472 j ; nous avons vu des adultes survivre pendant plus d'un an, et un mâle est actuellement en vie après plus de 17 mois, BRUMPT (1936) a même pu conserver des femelles vivantes pendant 3 ans et 8 mois.

Nous ne savons pas si les femelles restent capables, pendant toute leur vie, de se reproduire ; un mâle a toutefois, après une survie de 15 mois, fécondé une (jeune) femelle, qui pondait normalement par la suite. Une fois les adultes disparus, un traitement mensuel suffira pour empêcher une nouvelle infestation des écuries de l'extérieur ; les nymphes restent, d'après PARISH (1949), au moins 2 mois dans les oreilles.

Des pulvérisations périodiques dans les écuries, au malathion ou au Baytex, aideraient peut-être quelque peu pendant la période d'éradication, surtout si l'on améliorerait la maçonnerie des écuries, pour boucher les cachettes possibles.

Laboratoire central de l'Elevage de Tananarive  
Service d'Entomologie-Protozoologie  
Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire  
des Pays Tropicaux.

### SUMMARY

**Note on the sensitivity of the tick *Otobius megnini* (DUGES, 1883) (Argasidae) to different insecticides ; use of Sevin ® (1-Naphthyl-N-Methyl-Carbamate) in the control of this tick**

Various tests *in vitro* demonstrate : That the adult *Otobius megnini* are unaffected by H. C. H., Sevin and D. D. T., when used at concentrations where they would be active against other species of ticks ; dieldrine and toxaphene have a very

slow action ; malathion and Baytex give good results. The nymphs are hardly affected by D. D. T. ; Baytex, H. C. H. malathion, toxaphene and Sevin are effective ; Sevin is even effective at low concentrations. Sevin prevents the moulting of the engorged larvae. Tests *in vitro* demonstrate that the application of Sevin in powder form, mixed at 5 per cent in talc, in the ears, frees the horses of this infestation and affords protection for approximately one week ; if the treatment is only applied every fortnight, new infestations occur in the form of larvae. The spraying of the stables with malathion, has no apparent influence on the infestation of the horses.

### RESUMEN

**Nota sobre la sensibilidad del ixodo *Otobius megnini* (Duges, 1883) (Argasidae) a diferentes insecticidas ; Empleo del Sevin ® (A-Naphthyl-N-Methyle-Carbamate) en la eradicación de este ixodo**

Ensayos *in vitro* mostraron : los adultos de *Otobius megnini* son insensibles al H. C. H., al Sevin y al D. D. T., utilizados en concentraciones activas contra otras especies de ixodos ; la Dieldrina y el Toxafen tienen una acción muy lenta ; el Malation y el Baytex dan buenos resultados. Las nimfas son poco sensibles al DDT ; Baytex, H. C. H., Malation, Toxafen y Sevin son activos ; El Sevin es todavia eficaz en concentraciones muy ligeras. El Sevin impide el cambio de las larvas bien nutridas. Los tests *in vivo* han demostrado que un polvo de Sevin, mezclado a 5 por 100 de talco, en las orejas, desembaraza los caballos de la infección y protege durante una semana más o menos ; Si el tratamiento no se hace más que todos los quince días, nuevas infecciones aparecen bajo forma de larvas. La pulverización de las cuadras con malation no ha tenido influencia aparente sobre las infecciones de los caballos.

### BIBLIOGRAPHIE

- |  |  |
|--|--|
| <p>BRUMPT (E.). — Contribution à l'étude de l'évolution des ornithodores. Biologie et longévité de l'<i>Ornithodoros megnini</i>. Ann. Parasit. hum. comp. 1936, 14, 647-51.</p> <p>BUCK (G.). — Existence d'<i>Ornithodoros megnini</i> Dugès à Madagascar. Bull. Soc. Path. exot., 1948, 41, 567-568.</p> <p>LAMOTTE (M.). — Initiation aux méthodes statistiques en biologie. Masson &amp; Cie Editeurs, Paris (p. 66), 1957.</p> | <p>NEITZ (W. O.). — A consolidation of our knowledge of the transmission of tick-borne diseases. Onderstep. J. vet. Res., 1956, 27, 115-163.</p> <p>PARISH (H. E.). — Recent studies on life history and habits of the ear tick. J. econ. Entomol., 1949, 42, 416-419.</p> <p>RICH (G. B.). — The ear tick, <i>Otobius megnini</i> (Dugès) (Acarina : Argasidae), and its record in British Columbia. Can. J. comp. Med. vet. Sci., 1957, 21, 415-418.</p> |
|--|--|

# Influence de quelques corps chimiques sur la survie *in vitro* de *Trypanosoma evansi*

## I — Acides aminés et quelques-uns de leurs dérivés

par J. BALIS

### RÉSUMÉ

L'auteur a étudié le comportement, *in vitro*, de *T. evansi* en présence de 23 acides aminés et de 13 de leurs dérivés. Le glutathion, la cystéine et les composés possédant un groupement S H dans leur molécule interviennent très activement dans les phénomènes d'oxydo-réduction. L'arginine, la sérine, la colamine, l'histidine et le tryptophane entraînent également, bien qu'à un moindre degré, une meilleure survie de *T. evansi*. L'arçaine possède par contre un très net pouvoir trypanocide.

Les trypanosomes, comme tous les organismes vivants, ont besoin de substances azotées pour leur croissance et leur multiplication.

Les espèces pathogènes atteignent parfois un très haut degré de parasitisme, caractérisé par une réduction manifeste de leur appareil enzymatique. C'est ainsi que *Trypanosoma evansi* est pratiquement dépourvu de diastases protéolytiques (10). Il lui est donc très difficile de dégrader les protéines et il est vraisemblable qu'il utilise surtout des composés azotés de bas poids moléculaire.

Certains auteurs ont insisté sur l'effet favorisant de mélanges d'acides aminés : hydrolysats de caséine (20) ou de lactalbumine (12) ; nous-mêmes (1), avons utilisé avec des résultats favorables, une autodigestion de poisson. JADIN et WERY (7) considèrent que le milieu 199 de PARKER améliore sensiblement le rendement des cultures et complète l'apport nutritif fourni par la gélose au sang.

D'autres mettent en valeur l'action d'un groupe d'acides aminés (8) (3) ou d'un oligopeptide tel

que le glutathion (17) ; ainsi THURSTON (16) et PESSAT (13) voient dans la glutamine, un facteur augmentant la consommation d'oxygène chez *Trypanosoma lewisi* et *Trypanosoma cruzi*. RYLEY (14) pense que l'asparagine et l'acide glutamique jouent également ce rôle ; ZELEDON (21), étudiant des cultures de *Leishmania enriettii* et de *Trypanosoma cruzi*, ajoute à la liste précédente l'acide aspartique et l'alanine. La créatine, la créatinine (5), la beta alanine et le glycolle (15), permettraient une croissance plus rapide de *Trypanosoma cruzi*.

Ce besoin en acides aminés est parfois inapparent, c'est ainsi que pour MARMUR et ses coll. (11), la lysine est fournie à *Strigomonas oncopelti* par un endosymbiote.

Les trypanosomes utilisés dans tous ces travaux, cultivent sur milieux artificiels, avec une relative facilité. Tel n'est pas le cas pour *Trypanosoma evansi*. On ne peut obtenir avec lui que des survies, en général assez courtes, et l'objet du présent travail est d'étudier, dans ces conditions, son comportement en présence de différents acides aminés et quelques-uns de leurs dérivés.



## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les expérimentations ont été effectuées en milieux diphasiques. La phase liquide est réalisée comme suit. :

Sang de cheval	10 ml
Liquoïde « Roche » en solution à 1 p.100	1 ml
Eau distillée	90 ml

Hémolyse à la température du laboratoire pendant une heure :

Phosphate bipotassique	1 gr
Glucose	2 gr
Chlorure de Magnésium traces (10 à 20 mg)	

Ajuster, si nécessaire, à pH 7,5 avec une solution de phosphate monopotassique à 10 p. 100.

Filtration plusieurs fois sur papier.

Filtration sur Seitz.

La phase solide est de la gélose physiologique à 2 p. 100 inclinée en tubes à essais, à laquelle on incorpore la substance à étudier (en général 100 mg pour 100 ml de gélose).

Chaque expérimentation porte sur quatre à cinq corps chimiques avec dix tubes pour chacun d'eux et une série témoin pour l'ensemble.

Le milieu liquide estensemencé avec du sang de rat fortement parasité puis après une numération des trypanosomes, on le répartit en prenant chaque fois un tube d'une série différente et en conservant le même ordre.

Une fois ces opérations terminées, l'ensemble est mis à la température de 25°C pendant 20 heures.

Au bout de ce temps, on récolte séparément la phase liquide de chaque série et on effectue une numération des trypanosomes à l'hématimètre. La comparaison avec le témoin, permet d'apprécier l'action de la substance étudiée.

Un dosage systématique de l'acide pyruvique complète et contrôle les résultats.

Cette méthode permet d'obtenir facilement une répartition homogène dans les tubes ; de plus, le corps à étudier n'est pas brutalement mis en contact avec le trypanosome et agit d'une façon plus nuancée. Enfin la phase solide permet une élimination d'une partie des déchets provenant du métabolisme glucidique.

Toute la verrerie doit être minutieusement lavée. Nous avons procédé comme suit :

- a) Lavage à l'eau additionnée de détersif,
- b) Lavage à l'acide chlorhydrique à 1 p. 100 pendant 12 h.
- c) Lavage à l'eau courante pendant 12 h.
- d) Rinçage à l'eau distillée.
- e) Séchage.

De plus tous les tubes sont bouchés à l'aide de petits capuchons de verre, à la place de coton cardé, afin d'éviter la formation accidentelle de goudrons au cours de la stérilisation en chaleur sèche.

La souche de *Trypanosoma evansi* que nous avons utilisée a été obtenue en 1960 à partir d'un âne de Fort-Lamy. Elle a été conservée depuis par passages sur rats et cobayes.

## RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Les 23 acides aminés suivants ont fait l'objet de plusieurs expérimentations pour chacun d'eux :

### A. — Série acyclique

- 1) Acides monoaminés monocarboxyliques.
  - Glycocolle
  - Alanine
  - Valine
  - Leucine
  - Isoleucine
- 2) Acides mono aminés dicarboxyliques.
  - Acide aspartique
  - Acide glutamique
- 3) Acides diaminés monocarboxyliques.
  - Asparagine
  - Créatine
  - Ornithine
  - Lysine
  - Glutamine
  - Arginine
- 4) Hydroxyacides aminés.
  - Sérine
  - Thréonine
- 5) Acides aminés renfermant du soufre.
  - Cysteine
  - Méthionine
  - Cystine



## B. — Série cyclique

### 1) Série aromatique.

- Tyrosine
- Phénylalanine

### 3) Série hétérocyclique.

- Proline
- Histidine
- Tryptophane

Seuls les corps suivants permettent une survie plus importante de *Trypanosoma evansi* : Arginine, sérine, cystéine, histidine, et tryptophane.

#### 1) Arginine

De multiples expériences nous ont amené à penser que l'arginine est favorable à *Trypanosoma evansi* quand ce dernier provient de rats maintenus dans un endroit frais. Par contre ce corps serait toxique si les animaux inoculés souffrent de la chaleur. Ces résultats assez curieux doivent cependant être contrôlés de très nombreuses fois avant d'être tenus pour définitifs.

Il semble que l'activité de l'arginine soit due au groupement guanidique. La vérification de cette hypothèse nous a amené aux résultats suivants :

Pour 30.000 flagellés au millimètre cube au temps 0, nous notions après 20 h à 25°C :

— Témoin .....	7500
— Guanidine .....	
1 mg/ml .....	1700
0,1 mg/ml .....	8300
— Méthylguanidine .....	
1 mg/ml .....	4800
0,1 mg/ml .....	6600
— Glycocyamine .....	
1 mg/ml .....	7500
— Agmatine .....	
1 mg/ml .....	10100
— Arcaïne .....	
1 mg/ml .....	70
0,1 mg/ml .....	500
0,01 mg/ml .....	6400
— Arginine .....	
1 mg/ml .....	13500

Il semblerait que la toxicité décroît en même temps que s'allonge la chaîne carbonée associée au groupement guanidique. L'arcaïne, cepen-

dant fait exception ; mais ce composé, qui est une diguanidine, possède comme la synthaline et quelques corps de structure analogue (6) un très net pouvoir trypanocide *in vivo*. En effet, des cobayes fortement parasités par *Trypanosoma evansi*, sont rendus temporairement négatifs en 24 h par une injection d'à peu près 50 mg (\*).

#### 2) Sérine.

La survie obtenue avec ce corps, à la concentration de 1 mg/ml, est à peu près double de celle observée chez le témoin. Ce résultat est amélioré par addition de sulfite de sodium.

La sérine ne diffère de l'alanine que par le remplacement d'un hydrogène par un oxhydryle. L'alanine est inactive et cependant d'après WILLIAMSON et DESOWITZ (18), la plupart des flagellés contiennent des quantités relativement élevées de ce corps à l'état libre. Y a-t-il des rapports étroits entre ces deux acides aminés ou bien l'alanine libre n'est-elle que le résultat d'une transamination entre l'acide glutamique et l'acide pyruvique ? Cette dernière hypothèse ne semble pas valable en ce qui concerne *Trypanosoma evansi* mais elle expliquerait peut-être l'activité de l'acide glutamique signalée par RYLEY (14) et ZELEDON (21) chez *Trypanosoma lewisi* et *Trypanosoma cruzi*. L'accroissement de la consommation d'oxygène serait alors en rapport avec une transformation de l'acide pyruvique en acide céto-glutarique moins toxique.

L'activité de la sérine semble tenir à son oxhydryle car la colamine qui en dérive par décarboxylation est favorable à une concentration de 0,1 mg/ml ; par contre, à 1 mg/ml elle manifeste une nette toxicité.

#### 3) Cystéine :

A la dose de 0,1 mg/ml, elle nous a toujours donné des résultats remarquables. Cette activité tient à la présence du groupement SH dans la molécule. En effet la cystine, résultant de la combinaison de deux molécules de cystéine

\* L'arcaïne est peu soluble dans l'eau ; une suspension à 1 p. 100 sédimente très rapidement dans la seringue et il est de ce fait difficile d'injecter une dose exactement connue.

reliées par un disulfure, est totalement inactive. Par contre les acides thioglycolique (0,1 mg/ml) thiomalique (0,5 mg/ml) et le glutathion réduit (0,25 mg/ml), ayant en commun le groupement SH, influencent favorablement la survie de *Trypanosoma evansi* comme le fait la cystéine.

Le glutathion présente un gros intérêt, du fait de son absence de toxicité, sa grande solubilité et sa présence constante dans les hématies, à l'état libre et sous forme oxydée ou réduite. Il déplace facilement l'oxygène en passant à l'état disulfure et revient à sa forme initiale sous l'influence d'un réducteur. Il est donc probable qu'il joue un rôle très actif dans les phénomènes d'oxydo-réduction chez *Trypanosoma evansi*. Nous avons d'ailleurs constaté, en utilisant une méthode calquée sur celle de la recherche des hydrolases (2) que le glutathion réduit accélère sensiblement la consommation d'oxygène. Von BRAND et ses coll. (4) ont de plus observé que la respiration des trypanosomes des groupes *evansi* et *brucei* est sensible aux inhibiteurs de la fonction SH.

Il est vraisemblable que l'ergothioneine, que l'on trouve à l'état réduit dans le sang, intervienne également dans les phénomènes respiratoires.

Il semble que le glutathion et l'arginine soient antagonistes ; en effet, dans l'expérience suivante, pour 20.000 flagellés au temps 0, nous avons obtenu après 20 h :

— Témoin .....	1880
— Arginine (0,5 mg/ml) .....	4800
— Glutathion (0,25 mg/ml) ....	6400
— Glutathion + arginine.....	5400

Enfin, signalons que les composés sulfhydrylés sont des activateurs des cathepsines, or *Trypanosoma evansi* en possède une (8) (9).

#### 4) Histidine :

Cet acide aminé résulte de la combinaison du noyau imidazol et de l'alanine.

De nombreux essais ont régulièrement montré que sa présence entraînait une meilleure survie de *Trypanosoma evansi*. Cette activité ne tient ni à l'aniline, ni au noyau imidazol mais à la molécule entière. En effet pour 15.000 trypanosomes au temps 0 nous avons noté après 20 h les résultats suivants :

— Témoin .....	5800
— Imidazol (1 mg/ml) .....	6200
— Histidine (1 mg/ml).....	8200

De plus l'histamine qui en dérive par décarboxylation est également inefficace.

L'ergothioneine et la thiolhistidine n'ont donné aucun résultat ; ceci tient probablement au fait que les échantillons utilisés étaient sous forme disulfure (aucune coloration avec le nitroprusiate de sodium). Signalons enfin que la parasitémie n'est pas modifiée chez le rat par une injection sous-cutanée de 40 mg d'histidine et qu'il semble exister *in vitro* un léger antagonisme entre cette substance et celles possédant un groupement SH dans leur molécule.

#### 5) Tryptophane :

Les résultats sont comparables à ceux obtenus avec l'histidine, cependant le noyau indole est très toxique « *in vitro* » pour *Trypanosoma evansi* aux doses de 0,1 et 0,01 mg/ml. Par contre « *in vivo* » une injection de 10 mg n'a pas modifié le cours de la maladie chez le cobaye.

## CONCLUSIONS

Les essais effectués dans ce travail ont porté sur 23 acides aminés et 13 de leurs dérivés.

Un certain nombre de corps chimiques influencent favorablement la survie de *Trypanosoma evansi*.

Par ordre d'importance nous avons trouvé : le glutathion, la cystéine et en général tous les composés possédant un groupement SH dans leur molécule. Ces substances interviennent très activement dans les phénomènes d'oxydo-réduction. Puis viennent l'arginine, la sérine, la colamine, l'histidine et le tryptophane pour lesquels il n'a pas été possible de déterminer avec certitude le groupement actif ni le mode d'action. Enfin l'arcanine qui est une diguanidine possède un très net pouvoir trypanocide.

Institut d'Élevage et de Médecine  
vétérinaire des Pays tropicaux  
Laboratoire de Farcha-Fort-Lamy

## SUMMARY

**Influence of certain chemical substances on the survival « *in vitro* » of *Trypanosoma evansi*****1) Amino-acids and some of their derivatives**

The author has studied the behaviour, *in vitro*, of *T. evansi* in the presence of 23 different amino acids and 13 of their derivatives. Glutathione, cysteine and the compounds containing an SH group in their molecule intervene very actively in the oxidation-reduction phenomena.

Arginine, serine, colamine, histidine and tryptophan also cause, although to a lesser degree, an improvement in the survival of *T. evansi*. On the other hand arcaine possesses a very definite trypanocidal capacity.

## RESUMEN

**Influencia de algunos cuerpos químicos en la sobrevivida « *in vitro* » de *Trypanosoma evansi*. I. Acidos aminados y algunos de sus derivados**

El autor estudió el comportamiento, *in vitro*, de *T. evansi* con 23 acidos aminados y 13 de sus derivados. El glutation, la cisteína y los compuestos teniendo un grupo SH en su molécula intervienen muy activamente en los fenómenos de oxido-reducción.

La arginina, la serina, la colamina, la istidina y el triptofano acarrear también, aunque en menor grado, una mejor sobrevivida de *T. evansi*. En cambio la arcaina tiene un neto poder tripanocido.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BALIS (J.). — Recherches sur les facteurs nécessaires à la culture *in vitro* de *Trypanosoma evansi*. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.* 1963, 16 (2) : 151.
2. BALIS (J.). — Utilisation de *Trypanosoma evansi* pour la recherche des hydrolases sanguines responsables de la formation de glucose à partir de différents diholosides et du glyco-gène. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.* 1964, 17 (2).
3. BENEDETTO (A.) et MELE (G.). — Comportamento del glutatione ematico e tessutale nella tripanosomiasi sperimentale della cavia da *Trypanosoma Brucei*. *Arch. ital. Sci. Méd. Trop.* 1960, 41 : 439-449.
4. BRAND (Von) (Th.), TOBIE (E. J.) et MEHLMAN (B.). — The influence of some sulphhydryl inhibitors and of fluoroacetate on the oxygen consumption of some trypanosomes. *J. cell. Comp. Physiol.* 1950, 35 : 273-300.
5. CITRI (N.) et GROSSOWICZ (N.). — A partially defined culture medium for *Trypanosoma cruzi* and some other haemoflagellates. *J. gen. microbiol.* 1955, 13 : 273-278.
6. HEWITT (R. I.), GUMBLE (A.), KUSHNER (S.), SAFIR (S. R.), BRANCONE (J. M.), et SUBBAROW (Y.). — I. — Effect of the p-phenylene diguanidine and related compounds against experimental infections with *Trypanosoma equiperdum*. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 1949, 96 : 305-314.
7. JADIN (J.) et WERY (M.). — La culture des trypanosomidés. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.* 1963 (5) : 831-842.
8. KRIJGSMAN (B. J.). — Vergleichend physiologische Untersuchungen über den Stoffwechsel von *Trypanosoma evansi* in Zusammenhang mit der Anpassung an Wirtstier. *Zeitschr. f. vergleich. Physiologie* 1936, 23 : 663.

9. LWOFF (M.). — Recherches sur le pouvoir de synthèse des flagellés trypanosomides 1940, Masson et Cie édit.
10. MANNOZZI-TORINI (M.). — Studio di un fermento proteolitico nel tripanosoma della Surra (*evansi*). *Boll. Ist. Sieroter.* Milan 1938, 17 : 824.
11. MARMUR (J.), CAHOON (M. E.), SHIMURA (Y.) et VOGEL (H. J.). — Desoxyribonucleic acid type attributable to a bacterial endosymbiote in the protozoon *Crithidia (Strigomonas) oncopelti*. *Nature* 1963, 197 : 1228-1229.
12. NICOLI (J.). — Etudes préliminaires sur les conditions de culture de *Trypanosoma gambiense*. *Bull. Soc. Path. exot.* 1961, 51 : 77-83.
13. PESSAT (O. A. N.). — Milieu diphasique pour la culture de *Trypanosoma cruzi*. *Bull. Soc. Path. exot.* 1961, 54 : 16-19.
14. RYLEY (J. F.). — Studies on the metabolism of the Protozoa I. Metabolism of the parasitic flagellate *Trypanosoma lewisi*. *Biochem. J.*, 1951, 49 : 557-585.
15. SAMPATH (A.) et LITTLE (P.). — Cultivation of *Trypanosoma cruzi* in liquid media. *J. Bact.* 1949, 57 : 265.
16. THURSTON (J. P.). — The oxygen uptake of *Trypanosoma lewisi* and *Trypanosoma equiperdum* with especial reference to oxygen consumption in the presence of amino-acids. *Parasitology* 1958, 48 : 149-164.
17. TRAGER (W.). — Development of « *Trypanosoma vivax* » to the infective stage in tse-tse fly tissue culture. *Nature* 1959, 184 : 30-31.
18. WILLIAMSON (J.) et DESOWITZ (R. S.). — The chemical composition of trypanosomes I. Protein, amino-acid and sugar analysis. *Exp. Parasit.*, 1961, 11 : 161-175.
19. WILLIAMSON (J.) et LOURIE (E. M.). — Interference with the trypanocidal action of gamma (p-arsenophenyl) butyric acid by p-aminobenzoïc acid. *Ann. trop. Med. Parasit.* 1946, 40 : 255-264.
20. WILLIAMSON (J.) et ROLLO (I. M.). — Stimulating effect of amino-acids on the survival at 37° c of *Trypanosoma rhodesiense* in a serum-free synthetic medium. *Nature* 1952, 170 : 376-377.
21. ZELEDON (R.). — Comparative physiological studies on four species of hemoflagellates in culture. II. Effect of carbohydrates and related substances and some amino compounds on the respiration. *The Journal of Parasitology*, 1960, 46 (5) : 541-551.

# Premières notes sur la composition en acides aminés des aliments destinés aux animaux domestiques à Madagascar

par le Pharmacien-Commandant R. GAULIER  
avec la collaboration technique de Mlle D. CAYRIER

## RÉSUMÉ

La composition en acides aminés de nombreux aliments produits à Madagascar et destinés localement à l'alimentation des animaux domestiques est encore mal connue.

Nous en avons entrepris l'étude d'une façon systématique par la méthode de MOORE, STEIN et SPACKMAN (chromatographie sur colonne)

Le Tryptophane et la Cystine qui ne figurent pas dans les présents résultats feront l'objet de travaux ultérieurs.

Nous donnons les résultats de nos premières analyses qui ont porté sur :

- les feuilles de Mûrier.
- les graines de *Typhonodorum madagascariensis*.
- les tourteaux d'arachides.
- la farine de sang locale.
- la farine de viande et os locale.

## INTRODUCTION

Le problème de l'alimentation protidique tient une place prépondérante dans la nutrition des animaux domestiques.

Il est bien évident que la nature de l'apport azoté sera fonction des ressources particulières à chaque pays, voire même à chaque région.

La composition en acides aminés de nombreux aliments, tels qu'ils sont utilisés en Europe, Amérique etc..., a été établie, et ces données permettent la préparation de rations équilibrées. Par contre, parmi les produits utilisés de façon courante dans l'alimentation des animaux domestiques à Madagascar, nombreux sont ceux pour lesquels il n'existe que des renseignements fragmentaires quant à leur composition.

C'est pourquoi le Laboratoire Central de l'Élevage de Tananarive a inscrit à son programme de recherches l'étude des acides aminés dans

les principaux aliments du bétail employés à Madagascar.

Ces aliments sont, d'une part, d'origine végétale : graines de *Vigna Sinensis*, de *Viha*, graines et feuilles de Soja, feuilles de Mûrier, pois du Cap, son et brisures de riz, maïs, drèches de brasserie, tourteaux d'arachides etc...

D'autres sont d'origine animale, tels que : la farine de sang, la farine de viande et os, la farine d'os verts etc..., préparés dans diverses usines de Madagascar, selon des Techniques parfois très différentes des procédés classiques.

## MATÉRIEL ET TECHNIQUE

Pour l'identification et le dosage des acides aminés nous utilisons la méthode Chromatographique sur colonne, décrite par MOORE, SPACKMAN et STEIN, dans plusieurs publications (1) et étudiée par BUSSON, CARBIENER et LANZA (2).

Cette technique a l'avantage sur les autres méthodes chimiques ou microbiologiques, de déterminer par un chromatogramme unique, l'identification et, avec une très bonne précision ( $\pm 5$  p. 100), le dosage des 18 principaux acides aminés.

Nous effectuons l'hydrolyse en milieu acide chlorhydrique 6 N, à 135° C pendant 24 h.

La chromatographie des Acides aminés acides et neutres s'effectue sur colonne de 150 cm (diamètre intérieur 9 mm) d'Amberlite (IR 120) (fraction D de la séparation hydraulique de Hamilton) avec des tampons de pH 3,25 puis 4,25. La température est maintenue à 50° C pendant toute la durée de la Chromatographie. L'effluent est recueilli par fractions de 1 ml, sur collecteur ERAL, dans des tubes à essais calibrés.

La Chromatographie des acides aminés basiques est conduite sur colonne de 15 cm (diamètre intérieur 9 mm) d'Amberlite IR 120 (Fraction C de la séparation hydraulique de Hamilton) avec tampon de pH 5,28. La température est également maintenue à + 50° C, pendant toute la durée de l'expérience. Les fractions d'effluent (1 ml) sont recueillies sur collecteur SHANDON. La coloration est faite au moyen du Réactif de MOORE et STEIN(3) à la ninhydrine. Les lectures sont faites au photocolorimètre Lumetron et exprimées en équivalents leucine, puis les valeurs trouvées sont transformées en poids des acides aminés respectifs.

Signalons enfin que le tryptophane, détruit au cours de l'hydrolyse acide, ne figure pas dans nos résultats. Il en est de même de la cystine dont la détermination nécessite un appareillage spécial dont nous n'avons pas disposé pour nos premières analyses. Des recherches ultérieures nous permettront de compléter ces résultats.

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Pour apprécier la valeur nutritive des protides alimentaires étudiés, nous avons comparé nos résultats avec des formules classiques d'aliments de même type, lorsque nous avons pu trouver ces données dans la littérature (ex : farine de sang, farine de viande et os, tourteaux d'arachides...).

Pour les autres produits (feuilles de mûrier et graines de viha dans le présent article), nous

avons comparé les teneurs des différents acides aminés avec celles de l'œuf pris comme étalon de référence, selon la méthode de MITCHELL et BLOCK. Aussi imparfaite que soit l'application de cette méthode dans le cadre de notre étude, puisque les aliments analysés sont destinés à des espèces animales très variées ne demandant pas le même équilibre d'Acides aminés, nous l'avons cependant utilisée en tant que méthode classique de référence.

Nous donnons ci-après le résultat de nos premières analyses.

## LE MURIER

On trouve le mûrier à Madagascar sous des formes très variées, arbres, arbustes ou buissons. Il n'y est habituellement pas cultivé, mais ses feuilles fournissent un fourrage très nutritif, riche en particulier en protides et en sels minéraux (calcium) et très recherché des animaux.

Nos analyses ont porté sur des feuilles de mûrier provenant d'un arbuste de 6 ans environ, taillé 3 ou 4 fois par an.

Nous avons étudié des feuilles jeunes, âgées de 2 mois, et des feuilles de 5 mois, c'est-à-dire arrivées en fin de croissance.

Leur teneur en Acides aminés figure au tableau II, et elle a été comparée avec celle des protides de l'œuf.

Si nous comparons maintenant la composition des protides des feuilles jeunes avec celle des feuilles adultes, nous constatons que les pourcentages de la plupart des Acides aminés ont varié d'une façon très sensible au cours de la croissance. Cette évolution nous a paru présenter un certain intérêt en nutrition animale, aussi avons nous estimé utile d'insister sur ce point :

— la teneur de certains Acides aminés exprimée pour 100 parties de protides a augmenté avec l'âge de la feuille. Ce sont l'acide aspartique (en augmentation de 48 p. 100 par rapport aux feuilles jeunes), la thréonine (+ 35 p. 100), la sérine et la proline (+ 16 p. 100), la méthionine (+ 10 p. 100) et l'histidine (+ 7 p. 100) ;

— par contre, elle est inférieure dans les feuilles en fin de croissance, pour la leucine (— 25 p. 100), l'alanine (— 20 p. 100), la tyrosine (— 17 p. 100), la glycine (— 16 p. 100),

l'acide glutamique et la lysine (— 13 p. 100), l'isoleucine (— 11 p. 100), la valine (— 9 p. 100) et la phénylalanine (— 8 p. 100).

### Graines de Viha

Le viha (*Typhonodorum madagascariensis*) est une monocotylédone de la famille des aracées. C'est une plante herbacée poussant dans les marécages, en particulier ceux de la côte Est de Madagascar.

Ses graines sont utilisées dans l'alimentation du bétail.

Nos analyses ont porté sur des graines non décortiquées. Leur composition biochimique figure au tableau I.

Nous avons donné dans le tableau II leur composition en acides aminés que nous avons comparée avec les protides de l'œuf.

### Tourteaux d'arachides

Sous-produit de l'industrie oléagineuse, les tourteaux d'arachides représentent dans l'alimentation animale à Madagascar, la principale source de protides d'origine végétale.

Ce sont des tourteaux de pression, aussi leur teneur en matières grasses est-elle relativement élevée (8 à 10 p. 100, avec des écarts parfois importants), ce qui n'est pas sans inconvénient pour leur conservation. Ils sont généralement obtenus par le procédé de pression continue (Expeller) et à chaud (90 à 110° C), ce qui leur confère une teinte brune plus ou moins accentuée (4).

Nous avons analysé 2 échantillons.

Le tourteau N° 1 provient du traitement de graines d'arachides spécialement cultivées pour l'huilerie.

Le tourteau N° 2 provient du traitement des graines constituant les déchets de triage pour arachides de bouche.

De la comparaison de la composition des protides de ces 2 tourteaux (cf Tableau III), on constate des différences sensibles dans les teneurs de certains acides aminés :

Le tourteau N° 1 est plus riche que l'échantillon N° 2, en histidine (+ 31 p. 100), proline (+ 30 p. 100), lysine (+ 17 p. 100), tyrosine (+ 14 p. 100), valine (+ 13 p. 100).

Il est moins riche en thréonine (— 13 p. 100) et en sérine (— 12 p. 100).

En comparant enfin les 2 produits locaux avec le tourteau classique, on constate que ceux-là ont une teneur supérieure en méthionine et en isoleucine, mais qu'ils sont moins riches en valine, leucine et phénylalanine que le produit classique.

### Farine de Sang

Ce produit est, dans une usine de Tananarive, préparé essentiellement à partir de sang de bœuf, accessoirement mélangé avec du sang de porc. Le sang est parfois privé au préalable d'une partie de son plasma, destiné à d'autres usages (conserverie).

Le sang, coagulé, est chauffé pendant 5 h à une température voisine de 80° C, avec brassage continu. Au cours de cette opération, le produit perd environ 30 p. 100 d'eau.

La masse obtenue est ensuite étalée sur une aire cimentée où elle subit un pré-séchage au soleil. Pendant cette opération, elle est brassée périodiquement, et réduite progressivement en une poudre granuleuse. La dessiccation est ensuite poursuivie sous hangar ventilé.

L'utilisateur doit généralement procéder à un broyage du produit avant de l'incorporer dans les rations alimentaires.

La composition de la farine de sang en Acides aminés figure au Tableau III. Elle diffère de la farine classique par une teneur plus élevée en Méthionine. Par contre, les taux de glycine, de lysine, et surtout d'isoleucine sont nettement inférieurs.

Les autres Acides aminés comparés sont sensiblement équivalents.

### Farine de viande et os

A notre connaissance une seule usine, installée dans la région de Diégo-Suarez, procède à la fabrication de ce produit à Madagascar.

Les matières premières utilisées comprennent : pour 50 p. 100 les os provenant de la carcasse entière de l'animal, pour 45 p. 100 des viscères, et pour 5 p. 100 des déchets et saisies.

La méthode de préparation donne lieu aux opérations suivantes :

— Broyage mécanique des os ;



TABLEAU N° 1

Composition chimique (1)  
(pour 100 de produit brut)

	Feuilles de Mûrier jeunes	Feuilles de Mûrier en fin de croissance	Graines de Viha	Tourteau d'Arachide N° 1	Tourteau d'Arachide N° 2	Farine de Sang	Farine de Viande et Os
Eau	70,20	65,61	65,06	8,12	10,74	17,77	3,75
Matières minérales	3,00	5,76	1,56	6,69	6,29	4,93	34,62
Matières grasses	1,15	1,62	0,41	8,11	7,72	0,66	11,18
Matières azotées (N X 6,25)	7,49	6,46	3,88	45,13	47,59	71,77	49,40
Cellulose brute	2,19	3,45	1,44	4,60	5,19	-	-
Extractif non azoté	15,97	17,10	27,65	27,35	22,47	4,87	1,05

(1) Les techniques utilisées sont celles décrites dans la "Mise à Jour au 1er Juin 1961 des méthodes officielles employées par les Laboratoires du Service de la Répression des Fraudes pour l'analyse des échantillons de produits de l'alimentation animale" Laboratoire d'Alimentation de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. Fascicule XXVI, BOSCH Frères, Editeur, Lyon, 1961.

TABLEAU N° II

Composition en acides aminés

	Feuilles de Mûrier jeunes			Feuilles de Mûrier en fin de croissance			Graines de vîna		
	Pour 100 de Produit Sec	Pour 100 de Protides	Différences avec les Protides totaux de l'oeuf (1)	Pour 100 de Produit Sec	Pour 100 de Protides	Différences avec les Protides totaux de l'oeuf (1)	Pour 100 de Produit Sec	Pour 100 de Protides	Différence avec les Protides totaux de l'oeuf (1)
Acide Aspartique	1,61	6,40	-22	1,77	9,44	+15	1,25	11,22	+37
Thréonine	0,71	2,82	-42	0,71	3,80	-22	0,55	4,98	+ 2
Sérine	0,69	2,76	-65	0,60	3,20	-59	0,71	6,40	-18
Acide Glutamique	2,20	8,74	-31	1,43	7,62	-40	1,00	8,98	-29
Proline	1,11	4,42	- 2	0,97	5,14	+14	0,48	4,34	- 4
Glycine	1,40	5,58	+132	0,88	4,58	+95	0,45	4,08	+70
Alanine	1,63	6,50		0,98	5,20		0,41	3,68	
Valine	1,43	5,70	-22	0,98	5,20	-29	0,60	5,42	-26
Méthionine	0,46	1,82	-56	0,38	2,00	-51	0,23	2,04	-50
Isoleucine	1,15	4,56	-43	0,76	4,06	-49	0,29	2,58	-68
Leucine	2,19	8,72	- 5	1,23	6,54	-29	0,71	6,42	-30
Tyrosine	1,02	4,04	-10	0,63	3,36	-25	0,40	3,58	-20
Phényl-alanine	1,39	5,52	-12	0,96	5,08	-19	0,45	4,02	-36
Lysine	1,06	4,20	-42	0,69	3,66	-49	0,48	4,28	-41
Histidine	0,53	2,10	0	0,42	2,24	+ 7	0,25	2,28	+ 9
Arginine	1,45	5,78	-10	1,07	5,70	-11	0,99	8,94	+40

(1) Exprimées en pour 100 pour chaque acide aminé, sur la base de 16 g. d'Azote.

TABLEAU N° III

Composition en acides aminés

	Tourteau d'Arachide local N° 1		Tourteau d'Arachide classique(1)	Tourteau d'Arachide Local N° 2		Farine de Sang locale		Farine de Sang classique(1)	Farine de Viande et Os locale		Farine de viande à 50p.100 classique (1)
	Pour 100 de Produit sec	Pour 100 de Protides	Pour 100 de Produit sec	Pour 100 de Produit sec	Pour 100 de Protides	Pour 100 de Produit sec	Pour 100 de Protides	Pour 100 de Produit sec	Pour 100 de Produit sec	Pour 100 de Protides	Pour 100 de Produit sec
Acide Aspartique	5,13	10,44		6,01	11,28	8,85	10,13		3,15	6,14	
Thréonine	1,21	2,46	1,20	1,48	2,78	4,17	4,77	4,09	1,38	2,68	2,10
Sérine	2,22	4,52		2,59	5,04	4,70	5,38		1,85	3,60	
Acide Glutamique	7,43	15,14		8,56	16,06	6,94	7,94		4,96	9,66	
Proline	2,65	5,40		2,03	3,80	3,18	3,64		3,73	7,26	
Glycine	2,52	5,14	2,70	2,70	5,06	3,45	3,95	5,00	6,89	13,42	2,00
Alanine	1,75	3,56		1,97	3,70	7,20	8,25		4,05	7,90	
Valine	2,20	4,48	2,74	2,07	3,88	8,13	9,31	7,79	1,84	3,58	2,70
Méthionine	0,72	1,46	0,50	0,81	1,52	1,87	2,14	1,12	0,80	1,56	0,70
Isoleucine	1,70	3,46	1,50	1,79	3,36	0,68	0,78	1,21	1,09	2,12	2,30
Leucine	3,13	6,38	3,50	3,32	6,22	10,67	12,22	11,50	2,45	4,78	4,70
Tyrosine	2,02	4,12	2,00	1,89	3,55	2,13	2,44	1,96	0,87	1,70	1,70
Phényl-alanine	2,45	4,98	2,70	2,51	4,70	5,89	6,75	6,01	1,53	2,98	2,40
Lysine	1,75	3,56	1,50	1,58	2,96	7,62	8,72	9,17	2,33	4,54	2,70
Histidine	1,17	2,38	0,93	0,87	1,64	4,87	5,57	5,03	0,70	1,36	1,40
Arginine	5,47	11,14	5,50	5,48	10,28	3,47	3,97	3,59	3,53	6,88	3,00

(1) Réf : Jacquot, Le Bars et Simonnet : Nutrition Animale (1958) Vol. I page 176-177

— Cuisson et dessiccation pendant 8 h à 130°C, de l'ensemble des matières premières. Les lipides sont partiellement éliminés par centrifugation ;

— Broyage de la matière sèche ;

— Mise en sacs en nylon à la sortie du broyeur, par poids standard de 50 kg (1).

Le produit terminé analysé a une teneur en protides totaux de 51,32 p. 100 de matière sèche, donc voisine de celle d'une farine de viande à 50 p. 100. Cependant, la composition en Acides aminés de la Farine de viande et os figurant au tableau III montre que ce produit diffère très nettement de la composition d'une farine de viande à 50 p. 100 classique.

(1) Les renseignements concernant cette fabrication nous ont été communiqués par la Délégation Provinciale à l'Élevage de Diégo-Suarez.

Le taux de glycine est considérablement plus élevé dans la farine locale. Ce fait est dû à l'utilisation d'un pourcentage très important de tissus osseux et viscéraux, riches en gélatine, dans la préparation du produit local.

Les teneurs en méthionine et arginine sont satisfaisantes. Par contre les taux de tous les autres Acides aminés comparés sont nettement inférieurs à ceux de la farine classique (47 p. 100 pour l'isoleucine, 50 p. 100 pour l'histidine, 51 p. 100 pour la tyrosine, 52 p. 100 pour la leucine, 64 p. 100 pour la phénylalanine, 66 p. 100 pour la thréonine).

*Institut d'Élevage et de Médecine Vétérinaire  
des Pays Tropicaux*

*Laboratoire Central de l'Élevage de Tananarive*

## SUMMARY

### **Preliminary notes on the amino acid composition of food materials destined for domestic animals in Madagascar**

The amino acid composition of numerous food materials produced in Madagascar and destined to feed the local domestic animals is still barely known.

We have undertaken their systematic study using the method according to MOORE, STEIN, SPACKMAN (column chromatography)

Tryptophan and Cystine that are not listed with the present results, will form the subject of further study later on.

The results are given of our first series of analyses which were carried out on :

- Mulberry leaves.
- The seeds of *Typhonodorum madagascariensis*.
- Ground — nut oil — cake.
- Local « blood » meal.
- Local meat and bone meal.

## RESUMEN

### **Primeras notas sobre la composición en ácidos aminados de los alimentos para los animales domésticos en Madagascar**

Se conoce todavía mal la composición de ácidos aminados de numerosos alimentos producidos en Madagascar y destinados localmente a la alimentación de los animales domésticos.

El estudio se hace de un modo sistemático mediante el método MOORE, STEIN y SPACKMAN (cromatografía en columna).

El triptófano y la cistina no figuran en los presentes resultados, fueron el objeto de trabajos ulteriores

Se dan los resultados de los primeros análisis que trataron de :

- las hojas de morera .
- los granos de *typhonodorum madagascariensis*.
- las tortas de cacahuete.
- la harina de sangre local.
- la harina de carne y hueso local.

## BIBLIOGRAPHIE

1. MOORE (S.) et STEIN (W. H.). — **Chromatography of Amino-acids on sulfonated polystyrene resins.** *The Journal of Biological Chemistry*, 1951, **192**, 663-681.  
MOORE (S.), SPACKMAN (D.) et STEIN (W. H.). — *Analytical Chemistry*, 1958, **30**, 1185 et sq.
2. BUSSON (F.), CARBIENER (R.) et LANZA (J.). — **Méthodes chromatographiques de dosage des Acides aminés.** *Les Cahiers Techniques du Centre de Coordination des Etudes et*
3. MOORE (S.) et STEIN (W. H.). — **A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino-acids and related compounds.** *The Journal of Biological Chemistry*, 1954, **211**, 907-913.
4. DAUMAS (R.). — **Technologie et composition des tourteaux de Madagascar.** *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 1963, **2**, 237-261.

## **EXTRAITS — ANALYSES**

### **Maladies à virus**

1. PLOWRIGHT (W.). — **Le Coryza gangréneux en Afrique orientale. I. Comportement du virus dans les troupeaux sauvages de gnous bleus (*Gorgon taurinus, taurinus, Burckell*)** (Malignant catarrhal fever in East Africa. I. Behaviour of the virus in free-living populations of blue Wildebeest) (*Gorgon taurinus taurinus, Burckell*). *Res. vet. Sci.*, 1965, 6 (1) : 56-58 (Résumé de l'auteur).

Le virus du coryza gangréneux a été recherché dans les tissus de gnous bleus (*Gorgon taurinus taurinus*) qui avaient été tués ou capturés dans deux zones écologiquement distinctes du Kenya et du Tanganyika. Deux méthodes d'isolement ont été employées, la première consistant à inoculer à du bétail d'importantes quantités de sang ou de tissu splénique, la seconde consistant à ensemercer des cultures de cellules thyroïdiennes de veau, en explant primaire, avec des extraits de globules blancs.

Par la première méthode, en 1959/60, 6 animaux se révélèrent positifs parmi 56 examinés. Il s'agissait de femelles en état de gestation avancée dans 3 cas et pour l'un d'eux le virus fut isolé dans la rate du fœtus, ce qui prouve que l'infection transplacentaire existe dans cette espèce. Par la seconde méthode, 3 autres souches furent isolées. Si bien qu'au total 9 animaux sur 56 se révélèrent infectés soit 16 p. 100. Cette proportion a été semblable dans les 2 régions. La quantité de virus présent a toujours été faible, mais il a « passé » d'emblée sur le bétail sans qu'il soit besoin d'une période d'adaptation préalable. Certaines disparités de résultats entre les inoculations au bétail et lesensemencements sur cellules n'ont pu être expliquées.

Au cours de la période 61/62 la technique d'ensemencement sur cellules a été appliquée à 282 échantillons de sang prélevés dans la zone nord du Tanganyika (région de Serengeti-

Ngorongoro). Parmi ceux-ci, 20, soit 7 p. 100, étaient virulents, tous les animaux infectés ayant moins de 13 mois. Le taux d'infection varie avec l'âge ; il est de 31 p. 100 pendant les 3 premiers mois et descend à 7 p. 100 entre le 4<sup>e</sup> et le 9<sup>e</sup> mois et à 2 p. 100 vers le 4<sup>e</sup> trimestre. Certains veaux ont été probablement infectés par voie congénitale, car ils étaient en virémie au cours de leur première semaine de vie. Il est probable que tous les veaux s'infectent vers la fin du 5<sup>e</sup> ou du 6<sup>e</sup> mois.

Chaque souche isolée a été inoculée à des bovins pour éprouver son pouvoir pathogène et les résultats ont montré la grande sûreté de la méthode.

La maladie produite sur le bétail par les souches isolées était en tous points identique à la maladie connue sous le nom de « Snotsiekte » ou coryza gangréneux (fièvre catarrhale maligne) et correspondait à la forme « tête et œil » de GÖTZE (1930).

Il ne semble pas que les gnous présentent des séquelles quelconques après l'infection par le virus du coryza gangréneux.

2. PLOWRIGHT (W.). — **Le Coryza gangréneux en Afrique orientale. II. Observations sur les jeunes gnous au laboratoire et sur la transmission par contact aux bovins** (Malignant catarrhal fever in East Africa. II. Observations on wildebeest calves at the laboratory and contact transmission of the infection to cattle). *Res. vet. Sci.*, 1965, 6 (1) : 69-83. (Résumé de l'auteur).

Un jeune gnou, élevé en captivité, a été infecté de coryza gangréneux par inoculation intra-veineuse de sang virulent de bovin. Il a fait du 8<sup>e</sup> jour à la 31<sup>e</sup> semaine après l'inoculation une virémie que l'ensemencement sur cellules thyroïdiennes permit de déceler ; par contre

de la 32<sup>e</sup> à la 85<sup>e</sup> semaine, le virus ne fut jamais décelé dans le sang. Le titre maximal atteint était de  $10^{2.0}$  DTC<sub>50</sub> par ml de sang et il n'y avait pas de virus libre dans le plasma. La virémie a été constante de la 2<sup>e</sup> à la 12<sup>e</sup> semaine de l'expérience et 3 veaux mis en cohabitation avec le jeune gnou firent la maladie apparemment par contamination et après des incubations respectives de 30, 38 et 45 jours. A partir de la 13<sup>e</sup> semaine la virémie devint intermittente et difficile à déceler et des veaux maintenus en cohabitation ne contractèrent pas la maladie.

Au cours d'une seconde expérience, un jeune gnou capturé à l'âge de 6 mois fut également inoculé avec du sang virulent de bovin, mais il ne fit qu'une virémie intermittente et de faible intensité au cours des 8 semaines suivantes. Après celle huitième semaine et jusqu'au 15<sup>e</sup> mois, 40 recherches de virus par ensemencement sur cellules se sont avérées négatives, des veaux laissés au contact de cet animal pendant

les huit premières semaines ne firent pas la maladie.

Au cours de l'année 1961, par suite de la sécheresse ayant sévi dans le Parc National, les jeunes gnous furent abandonnés en grand nombre par leurs mères. 22 essais d'isolement ne fournirent qu'une seule souche, chez un animal ayant moins de 1 semaine.

Le virus fut également recherché, régulièrement chaque semaine, sur 9 autres sujets élevés en captivité ; tous, sauf un, firent une virémie à la 15<sup>e</sup> semaine, vraisemblablement par contamination ; sur 3 d'entre eux, la durée de cette virémie fut, respectivement, de 3, 12 et 36 semaines. Deux veaux, mis au contact de ces gnous, au moment où débutait la virémie de ceux-ci, firent la maladie après 47 et 81 jours d'incubation.

Ces observations et celles de l'article précédent sont confrontées avec les notions connues sur l'épizootologie du coryza gangréneux chez les bovins de l'Est africain.

## Peste bovine

3. ZAHKAN (G.) et Col. — **Production, contrôle et utilisation du vaccin bovipestique lapinisé-avianisé en Egypte** (Production, evaluation and use of lapinized-avianized rinder pestivirus vaccine in Egypt). *Jap. J. vet. Sci.*, 1964, 26 (1) : 53-65.

Depuis 1947 la peste bovine est combattue en Egypte à l'aide de 3 vaccins à virus atténué, le caprinisé, le lapinisé et l'avianisé. Les sévères réactions observées avec le virus caprinisé, l'irrégularité du virus lapinisé ainsi que la perte d'activité du vaccin avianisé ont nécessité l'étude et la mise au point d'un type de vaccin nouveau donnant les meilleures garanties en matière d'immunisation du bétail local, des veaux à l'engrais notamment.

La solution a été trouvée dans l'utilisation du vaccin lapinisé-avianisé (LA) qui, depuis janvier 1963 est produit en importantes quantités. Ainsi 935.300 doses ont été produites et contrôlées, dont 713.000 effectivement utilisées.

Le vaccin qui titre de 1/500 à 1/2500 de ce virus confère une solide immunité. En laboratoire

les contrôles expérimentaux montrèrent qu'environ 90 p. 100 des animaux vaccinés ont des anti-corps. Par suite d'effets d'interférence, l'immunité est acquise dans les 3 jours qui suivent l'infection. 23 p. 100 seulement des veaux traités font une légère hyperthermie entre le 1<sup>er</sup> et 3<sup>e</sup> jour, et le plus souvent entre le 6<sup>e</sup> et 7<sup>e</sup> jour après la vaccination. Durant une récente campagne de vaccination portant sur 70.500 têtes âgées de moins de deux ans la mortalité post-vaccinale fut seulement de 0,13 p. 100 ; en effet, des animaux étaient en incubation au moment de la vaccination.

Les auteurs, pensant que la durée de l'immunité ainsi conférée peut n'être que relativement courte (1 an 1/2 à 3 ans), suggèrent que les veaux vaccinés au LA soient vaccinés à nouveau 2 ans après avec du virus caprinisé, sans dangers pour eux, de façon à porter la durée de l'immunité à 7-10 années.

4. GARG (S. P.), SHARMA (G. L.). — **Histopathologie comparée du lapin infecté par le virus bovipestique caprinisé, et lapinisé.** (Com-



parative histopathological studies on rabbits infected with lapinised and caprinised rinderpest virus). *Ind. vet. J.*, 1964, 41 (11) : 719-28.

Les auteurs ont étudié et comparé l'évolution des modifications histopathologiques obtenues chez le lapin après inoculation de virus bovipes-tique lapinisé, et caprinisé.

Après infection par du virus lapinisé, l'autopsie montre des traînées de taches grisâtres sur les intestins dans les zones de tissu lymphoïde, qui se manifestent dès le début de l'infection et tournent ensuite au blanc crayeux.

Ces lésions sont également rencontrées dans les ganglions mésentériques, mais non dans la rate.

Au début de l'évolution, on note essentiellement des altérations d'hyperplasie dans les follicules lymphoïdes de l'intestin. Plus tard apparaissent

dans les cellules phagocytaires des phénomènes dégénératifs et nécrotiques suivis de nécrose des éléments lymphoïdes. Lors de l'apparition de la nécrose, on note une infiltration par des hétérophiles et des macrophages. On peut observer également quelques cellules multinucléées dans les zones nécrotiques. Les altérations du tissu lymphoïde varient d'intensité selon les organes et elles peuvent être classées dans l'ordre suivant de sévérité croissante : rate, ganglions mésentériques, follicules lymphoïdes de l'intestin. Le foie ne montre que des lésions peu importantes de dégénérescence.

Les lapins inoculés avec le virus caprinisé ne firent aucune réaction clinique. Les altérations microscopiques siégeant dans le tissu lymphoïde de l'intestin, les ganglions mésentériques et la rate ne sont que des lésions discrètes prolifératives et de dégénérescence.

## Maladies microbiennes

5. FORBES (L. S.). — **Programme de l'éradication de la tuberculose bovine aux Etats-Unis et quelques applications possibles en Afrique** (The programme for the eradication of tuberculosis in the United States of America and some possible applications in Africa). *Bull. epizoot. Dis. Afr.*, 1964, 12 (4) : 429-35.

L'auteur après avoir exposé les lignes essentielles de l'action menée aux Etats-Unis en vue de l'éradication de la tuberculose bovine, basée sur la tuberculination, l'abattage des réagissants, la mise en quarantaine et la désinfection, signale que cette affection, qui n'occupe actuellement qu'une modeste place dans la pathologie du bétail africain, peut poser de sérieux problèmes lorsque les nécessités de ravitaillement des zones industrialisées d'Afrique imposeront des techni-

ques d'élevage intensif. L'application immédiate de méthodes américaines est suggérée, et l'importance de l'origine de l'infection ainsi que celle de l'identification du bétail est soulignée.

6. FAWI (M. T.) et OBEID (H. M.). — **Note sur la maladie de Johne du bétail au Soudan** (A note on Johne's disease among cattle in the Sudan). *Bull. epizoot. Dis. Afr.*, 1964, 12 (4) : 437-38.

Les auteurs décrivent les premiers cas de maladie de Johne observés au Soudan en signalant que l'affection est limitée à une région du pays où du bétail européen a été importé pour améliorer l'élevage local.

Une enquête est en cours pour préciser l'incidence de la maladie sur le bétail soudanais.

## Mycoplasmoses

7. PALMER (R. F.), GOURLAY (R. N.). — **Lyophilisation du vaccin de culture de *Mycoplasma mycoides*** (Lyophilisation of *Mycoplasma mycoides* culture vaccine). *Bull. epizoot. Dis. Afr.*, 1964, 12 (4) : 397-400. (Résumé des auteurs).

Mist. desiccans s'est montré le meilleur milieu de suspension, parmi ceux qui ont été essayés, pour la lyophilisation des souches KH<sub>3</sub> J et V<sub>5</sub> de *M. mycoides* ; l'eau distillée s'est montrée le meilleur liquide reconstituant. La diminution

de titre, en utilisant ces deux liquides, est de l'ordre de 0 à 0,5 log.

A la température de laboratoire (22° C), après la reconstitution, le titre descend de 1 log en 18 heures environ. On n'a constaté aucune baisse de titre de la souche lyophilisée V<sub>5</sub>, à la suite de son stockage à — 25° C pendant 1 an.

8. TURNER (A. W.). — **Signification des réactions positives de fixation du complément qui apparaissent après l'épreuve infectante chez les bovins immunisés contre la péri-pneumonie** (The significance of positive complement fixation reactions in immune cattle after exposure to pleuropneumonia). *Aust. vet. J.*, 1964, **40** (4) : 345.

20 bovins non vaccinés et 20 autres redevenus négatifs à la fixation du complément après avoir été vaccinés 5 mois auparavant à l'aide d'une culture vivante de *Mycoplasma mycoïdes* (souche V<sub>5</sub>, inoculation intra-caudale) furent soumis à un aérosol de la souche virulente Gladysdale tuée par la chaleur (56° C durant 60 minutes).

Les animaux furent traités dans des conditions identiques à celles communément employées dans les infections expérimentales et dans les épreuves d'immunité qui utilisent des aérosols de germes vivants.

Un certain nombre de bovins dans chaque groupe devint positif à la réaction de fixation du complément, mais les proportions de réagissants dans chaque groupe ne différaient pas significativement (moyenne = 27,5 p. 100).

Sur 10 animaux non vaccinés, soumis 45 jours plus tard à un second aérosol, seulement 2 devinrent réagissants.

Ces constatations ne concordent pas avec la haute proportion de réactions positives observée habituellement chez les animaux vaccinés immuns, sérologiquement négatifs et exposés à un aérosol de germes vivants ; elles suggèrent que, dans la plupart de ces cas, *Mycoplasma mycoïdes* a pu s'installer temporairement ou a même commencé à envahir les tissus, mais s'est trouvé rapidement éliminé avant que des lésions aient eu le temps de s'installer, lésions qui auraient été mises en évidence six semaines plus tard.

L'antigénicité des aérosols de culture tuée à la chaleur apparaît très faible en matière de

fixation du complément et, il est probable que quelques-unes des réactions positives observées après exposition à l'aérosol de germes tués pourraient avoir été en relation avec des infections simultanées ou antérieures dues à des organismes à réaction croisée, tel l'*Actino-bacillus lignieresii* ou des espèces de *Mycoplasma* n'appartenant pas à l'espèce *Mycoïdes*. Le contact de 10 animaux avec un aérosol tué, 28 jours avant leur mise en cohabitation avec des animaux en phase active de maladie, ne les a pas immunisés contre l'infection pulmonaire ; bien au contraire ces animaux se sont révélés très susceptibles, et de façon inhabituelle.

9. GOURLAY (R. N.). — **Pouvoir antigène de *Mycoplasma mycoïdes*. II. Nouvelles études sur les antigènes précipitants des liquides organiques d'animaux atteints de pleuropneumonie contagieuse bovine** (Antigenicity of *Mycoplasma mycoïdes*. II. Further studies on the precipitating antigens in the body fluids from cases of contagious bovine pleuropneumonia). *Res. vet. Sci.*, 1965, **6** (1) : 1-8. (Résumé de l'auteur).

L'absorption d'antisérum par des antigènes préparés à partir de différents liquides organiques a montré que 87,5 p. 100 de l'anticorps fixant le complément disparaît du sérum traité par extraits de sérum de lymphes et d'urine de malades.

L'absorption de l'anticorps agglutinant est quasi totale avec de la lymphe, de l'ordre de 99,4 p. 100 avec du sérum et de 95 p. 100 avec de l'urine.

Les antigènes précipitants majeurs sont apparemment résistants à l'ébullition et à l'action de la trypsine ce qui permet de penser qu'ils ne sont pas de nature protéique, mais vraisemblablement polysaccharidique. Les antigènes précipitants mineurs sont détruits par l'ébullition et tous sauf un par l'action de la trypsine, ce qui permet de leur attribuer une nature protéinique. Il existe au moins six de ces antigènes précipitants mineurs et apparemment ils sont associés directement aux germes. Les antigènes précipitants majeurs sont surtout extra-cellulaires, les micro-organismes n'en possédant qu'un faible taux. Ces antigènes précipitants majeurs sont également élaborés par les mycoplasmes

cultivés en milieu artificiel et ceux que produisent les germes virulents apparaissent identiques à ceux des germes avirulents.

10. BESE (M.), CAN (S.), FINCI (E.). — **Une étude sur la sensibilité des mycoplasmes d'origine caprine à quelques substances bactériostatiques sélectives** (A study on susceptibilities of pleuropneumonia-like organisms of caprine origin to some selective bacteriostatic substances). *Vet. Fak. Derg. Ankara Univ.*, 1964, 11 (1-2) : 28-44 (Résumé des auteurs).

Au cours de ce travail, la sensibilité de vingt souches de mycoplasmes à plusieurs agents bactériostatiques sélectifs a été recherchée à la fois en milieu liquide et sur milieu solide. Huit souches représentatives de germes gram-négatifs et gram-positifs ont été aussi éprouvées dans les mêmes conditions.

Le pouvoir bactériostatique des agents inhibiteurs employés s'est révélé différent quant à sa sensibilité selon que le milieu utilisé était solide ou liquide.

Le pouvoir bactériostatique de ces substances pour les mycoplasmes et les bactéries était beaucoup plus marqué, sur milieu solide que sur milieu liquide.

On a pu constater que l'effet bactériostatique des substances essayées était le même pour les vingt souches de mycoplasmes d'origine caprine.

Le cristal violet s'est révélé toxique pour les mycoplasmes et pour les germes gram-positifs ; il empêchait complètement la croissance des mycoplasmes sur milieu solide à des concentrations allant du 1/5.000 au 1/50.000. Le cristal violet au 1/5.000 était totalement inhibiteur pour la culture de mycoplasmes en milieu liquide.

Parmi tous les produits essayés, l'acétate de thallium, le tellurite de potassium et la fuchsine basique donnaient les meilleurs résultats pour empêcher la croissance des germes gram-positifs ou gram-négatifs alors qu'ils n'avaient aucune influence sur les mycoplasmes dans les mêmes conditions.

Les souches de mycoplasmes d'origine caprine semblaient un peu plus résistantes à la thionine et à l'azide de sodium que les germes gram-positifs.

11. GOURLAY (R. N.). — **Comparaison entre quelques méthodes de diagnostic pour la péripneumonie contagieuse bovine** (Comparison between some diagnostic tests for contagious bovine pleuropneumonia). *J. comp. Path.*, 1965, 75 (1) : 97-109.

Dans les stades aigus de la maladie, la réaction de déviation du complément et la recherche combinée de l'antigène et de l'anticorps spécifiques par précipitation en milieu gélifié détectent 100 p. 100 des cas de péripneumonie tandis que la sérum-agglutination sur lame n'en décèle que 72 p. 100 et la réaction d'allergie 68 p. 100.

Dans les cas chroniques de la maladie, aucune de ces méthodes n'est satisfaisante.

La réaction allergique et la déviation du complément restent les meilleurs moyens et détectent respectivement 74 et 72 p. 100 des cas, tandis que la sérum-agglutination sur lame n'en trouve que 35 p. 100 et la précipitation en gélose 21 p. 100.

12. GOURLAY (R. N.), PALMER (R. F.). — **Recherche ultérieure sur la réaction d'allergie dans la péripneumonie contagieuse bovine** (Further studies on the allergic reaction in contagious bovine pleuropneumonia). *J. comp. Path.*, 1965, 75 (1) : 89-95.

L'antigène préparé avec la souche virulente Gladysdale de *Mycoplasma mycoides* fournit des réactions plus importantes que l'antigène préparé avec la souche T<sub>3</sub>.

L'antigène préparé à pH alcalin était plus soluble et il n'était pas nécessaire comme auparavant de remettre en suspension le produit final dans une solution concentrée d'urée ; en outre cet antigène fournissait des réactions légèrement plus intenses.

L'emploi d'un antigène à double concentration ne s'est pas révélé justifié étant donné que les réactions qu'il provoquait chez les animaux d'expérience n'était pas significativement plus importantes que celles produites par l'antigène à simple concentration.

L'injection d'une dose d'allergène égale à trois fois la dose habituelle n'entraînait pas de réponse sérologique chez les animaux négatifs ; il a cependant produit une légère augmentation du titre sérique chez deux animaux sur quatre initialement positifs.

L'injection de cette même dose d'allergène n'a pas semblé entraîner l'élaboration d'une immunité quelconque envers l'épreuve par la voie sous-cutanée.

Dans les cas chroniques de péripneumonie contagieuse, les fausses réactions positives sont rares, mais les fausses réactions négatives ne le sont pas.

## Trypanosomoses

13. NICOLI (J.) et VATTIER (G.). — **Culture de *Trypanosoma rhodesiense* sur tissus de pupes de glossines.** Bull. Soc. Path. Exot., 1964, **57** (2) : 213-19. (Résumé des auteurs).

*Trypanosoma rhodesiense* cultivé sur tissus de pupes de glossines, présente les caractères morphologiques des premiers stades du flagellé chez l'insecte. Les formes terminales, infectieuses du cycle naturel n'ont pu être reproduites.

Au schéma morphologique classique, les faits expérimentaux déjà établis dans la littérature permettent de superposer un schéma cybernétique qui rend compte de l'insuffisance du modèle expérimental étudié.

14. JORDAN (A. M.). — **Taux d'infestation trypanosomienne chez *Glossina morsitans submorsitans* Newst, en Nigeria du Nord** (Trypanosome infection rates in *Glossina morsitans submorsitans* Newst. in Northern Nigeria). Bull. Ent., Res., 1964, **55** (2) : 219-30.

L'auteur a étudié le taux d'infestation trypanosomienne chez *Glossina morsitans submorsitans* dans trois régions de la Nigeria du Nord, et recherché la relation avec l'origine du repas sanguin.

Les trypanosomes identifiés appartiennent tous au groupe *vivax* ou au groupe *congolense*. Il n'y a pas de différence significative entre les taux d'infestation de saison sèche et ceux de saison des pluies. Le taux d'infestation pour les deux saisons, qui est de 12 p. 100 à Yankari (10° N-10° 40' E), est significativement plus élevé qu'à Mando (10° 43' N-7° E et Gamagira (10° 43' N-7° 50' E), ces taux atteignant respectivement 5 et 3 p. 100. Il n'y a pas de différence significative entre les deux dernières localités.

Cet écart entre les taux d'infestation est en relation avec l'origine des repas sanguins. Les taux d'infestation les plus bas se rencontrent

dans les régions où ce sont les *Suidae* qui fournissent la plus forte proportion des repas (51 p. 100 à Mando ; 67 p. 100 à Gamagira), alors que les *bovidae* n'entrent respectivement que pour 16 p. 100 et 9 p. 100 dans l'origine de ces repas. Par contre, à Yankari où le taux d'infestation est élevé, les *bovidae* fournissent 53 p. 100 des repas sanguins, les espèces les plus fréquentes étant le buffle et le guib harnaché, contre 33 p. 100 des repas en provenance des *Suidae*.

A Gamagira, on trouve *T. congolense* dans 81 p. 100 des cas, cette proportion étant significativement plus élevée qu'à Mando (45 p. 100) ou à Yankari (37 p. 100). Cette proportion élevée des infestations à *T. congolense* est probablement en relation avec l'origine du repas sanguin. C'est en effet à Gamagira que les *Suidae* fournissent la plus forte proportion des repas (67 p. 100).

En conclusion, outre l'influence primordiale de la température sur le taux d'infestation chez la glossine, l'espèce hôte fournissant la principale source de nourriture joue un rôle qui peut, dans quelques cas, être suffisant pour masquer l'effet général de la température sur les pourcentages d'infestation.

15. WILLETT (K. C.), Mc MAHON (J. P.), ASHCROFT (M. T.) et BAKER (J. R.). — **Trypanosomes isolés de *Glossina palpalis* et *G. pallidipes* au Sakwa, Kenya** (Trypanosomes isolated from *Glossina palpalis* and *G. pallidipes* in Sakwa, Kenya). Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg., 1964, **58** (5), 391-396.

Des glossines sauvages, capturées dans la région de Sakwa (Nyanza central), au Kenya, et comprenant les espèces *Glossina fuscipes* et *Glossina pallidipes*, sont nourries sur rat blanc dès le premier jour, ou le jour suivant si elles ne se sont pas nourries le jour de la capture.

Des souches de trypanosomes sont isolées à partir des rats qui présentent une infection, et les trypanosomes identifiés.

On a ainsi identifié *T. rhodesiense*, dont la présence est confirmée au Nyanza central ; cette souche a été transmise par *Glossina pallidipes*.

*Gl. fuscipes fuscipes* et *Gl. pallidipes* ont également transmis *T. brucei*.

Par contre *T. congolense* n'a été isolé qu'à partir de *Gl. pallidipes*. Il est possible que *T. congolense*, dans la région de Sakwa, ne puisse pas être transmis par *Gl. fuscipes fuscipes*, à moins que cette dernière espèce ne se nourrisse pas sur les animaux présentant une infestation à *T. congolense*. L'analyse des repas sanguins à partir de mouches sauvages n'a pu être faite, mais l'on sait que *Gl. fuscipes fuscipes* se nourrit de préférence sur les reptiles et l'homme, insensibles à *T. congolense*, alors que *Gl. pallidipes* se nourrit fréquemment sur le guib, chez qui *T. congolense* est relativement fréquent.

16. FROMENTIN (H.). — Mise en culture de *Trypanosoma theezieni* Brygoo 1963. Bull. Soc. Path. Exot., 1964, 57 (2) : 219-24 (Résumé de l'auteur).

Une nouvelle espèce de Trypanosomes, parasite de *Chameleo brevicornis* à Madagascar, décrite en 1963 par E. R. BRYGOO, a été obtenue en culture.

*Trypanosoma theezieni* est entretenu par repiquages hebdomadaires sur milieux diphasiques : de Tobie-von Brand, au sang humain, de Nöller, au sang de lapin ;

et sur milieux monophasiques : 199 supplémentés.

Les Trypanosomes de culture sont infectants pour *C. lateralis* mais non pathogènes. Ils conservaient ces mêmes caractères après 4 mois de passages successifs.

17. PETANA (W. B.). — Etude comparée sur la survivance et la vitalité *in vitro* de trypanosomes africains (Comparative studies on the survival and viability of African trypanosome *in vitro*). Ann. trop. med. and parasit. 1964, 58 (4), 467-72.

L'auteur a étudié la valeur comparée de solutions nutritives variées utilisées pour la conser-

vation et le développement *in vitro* de divers trypanosomes africains : *T. gambiense* (2 souches) ; *T. rhodesiense* ; *T. congolense* (2 souches) ; *T. vivax*, maintenus sur rats et souris par inoculation et, à l'exception de la souche Liverpool de *T. congolense*, suffisamment virulents pour tuer les animaux inoculés entre 3 et 6 jours.

L'auteur, utilisant des solutions, classiques ou modifiées notamment par addition de sérum de moutons, a obtenu les résultats suivants :

— *T. gambiense* et *T. rhodesiense* ont une survie plus longue que *T. congolense* et *T. vivax* dans les solutions physiologiques qu'elles soient ou non additionnées de sérum de mouton.

— L'addition de ce sérum aux mêmes solutions accroît la vitalité de *T. gambiense* et de *T. rhodesiense* davantage qu'elle n'accroît la vitalité de *T. congolense* et de *T. vivax*.

4 tableaux très objectifs concrétisent les essais et les résultats obtenus avec chacune des 11 solutions essayées.

18. KILLICK-KENDRICK (R.). — Perte apparente du Kinétoplaste chez *Trypanosoma evansi* après traitement au bérénil d'un cheval expérimentalement infesté (The apparent loss of the kinetoplast of *trypanosoma evansi* after treatment of an experimentally infected horse with berenil). Ann. Trop. Med. Parasit. 1964, 58 (4) : 481-90.

Un cheval à qui avait été inoculé, par voie sous cutanée, une souche de *T. evansi* isolée sur un âne de Nigeria, fut traité le 83<sup>e</sup> jour suivant l'injection au Bérénil (3,5 mg/kg), puis, le 105<sup>e</sup> jour à la suramine (7 mg/kg). L'animal mourut le 110<sup>e</sup> jour.

Les trypanosomes apparurent pour la première fois (examen de sang frais) le 4<sup>e</sup> jour après l'inoculation et furent ensuite décelés quotidiennement, jusqu'au traitement au Bérénil. Après ce traitement ils ne purent jamais être mis en évidence dans les examens de sang.

Ils purent par contre être mis quotidiennement en évidence, après le traitement au bérénil, par inoculation du sang de cheval au rat. C'est ainsi qu'ils furent décelés du 99<sup>e</sup> jour jusqu'au 105<sup>e</sup> jour (jour du traitement à la suramine).

Les trypanosomes isolés au cours de cette période étaient apparemment dépourvus de kinétoplaste.

L'auteur décrit l'infection chez les rats et les lapins inoculés avec le sang du cheval.

Pendant la durée de l'infection chez le cheval, la teneur en hémoglobine et le nombre des erythrocytes diminuèrent fortement, puis augmentèrent après le traitement au Bérénil. On nota également un accroissement du taux des protéines plasmatiques à mesure que l'infection progressait.

Quelques explications sur la perte du kinétoplaste sont avancées. On suggère que, dans cette expérience, le traitement au bérénil a sélectionné, parmi la population normale de trypanosomes, une variété naturellement dépourvue de kinétoplaste.

19. TOBIE (J. E.). — **Culture des trypanosomes des mammifères** (Cultivation of Mammalian Trypanosomes). J. Protozool., 1964, II (3) : 418-23.

L'auteur fait une révision des milieux artificiels utilisés pour la culture des trypanosomes : gélose au sang mono ou diphasique, dialysat,

milieu liquide non défini ou partiellement défini, embryon de poulet, culture de tissus. Ce sont les buts de l'expérimentation qui déterminent généralement le type de milieu utilisé pour la culture d'une espèce donnée. Les divers milieux sont étudiés en fonction des recherches à effectuer : diagnostic, sérologie et morphologie ou métabolisme, études biochimiques, etc.. Les facteurs de nutrition ou d'environnement nécessaires au développement *in vitro* sont également examinés. Plusieurs trypanosomes de mammifères, indifférents au milieu, se multiplient aux stades propres à l'hôte invertébré.

Ce n'est que dans un très petit nombre de cas que le développement des formes propres à l'hôte invertébré aboutit à une forme infectante ou à la forme adulte propre à l'hôte vertébré.

Des progrès considérables ont été effectués qui pourront permettre la réalisation de milieux définis, mais les facteurs de nutrition ne sont pas encore exactement déterminés.

Les recherches doivent s'orienter vers la mise au point de milieux chimiquement définis et de milieux permettant le développement des stades de trypanosomes qui jusqu'ici n'ont pu être cultivés *in vitro*.

## Mycoses

20. ROBERTS (D. S.). — **Propriété des zoospores de *Dermatophilus dermatonomus* en relation avec la transmission de la dermatite mycosique** (Properties of *Dermatophilus dermatonomus* zoospores in relation to the transmission of mycotic dermatitis). Aust. J. Agric. Res., 1963, 14 (3) : 373.

L'auteur étudie les propriétés des zoospores des cultures de *Dermatophilus dermatonomus*, propriétés qui sont des éléments du pouvoir infectieux de l'agent de la dermatite mycosique des moutons. Il étudie successivement les besoins nutritifs et respiratoires, nécessaires à la mobilité de ces zoospores et un certain nombre de facteurs qui entravent cette mobilité, comme des solutions salines à basse concentration, des valeurs de pH s'étageant entre 6 et 8, des pressions osmotiques situées au-dessus de 0,4 osmole ou la présence d'autres micro-organismes aérobies. De toutes

ces observations, il a pu conclure que la zoospore était bien mal équipée pour une survie prolongée dans le milieu extérieur.

La vitalité des zoospores est la plus grande dans les quelques heures qui suivent leur libération à partir du mycélium originel. Cet état est en liaison avec une membrane cellulaire très imperméable, une indépendance complète vis-à-vis des sources extérieures d'éléments nutritifs et une tendance à germer rapidement même dans des conditions très défavorables pour la croissance. Ces zoospores montrent un aérotropisme négatif qui semble faciliter probablement leur parcours vers la surface cutanée.

L'auteur suggère que la probabilité d'infection pour une zone de peau sensible devient très grande lorsque les moutons d'un troupeau infecté sont mouillés par la pluie et plus grande encore si quelque vecteur est disponible à ce moment pour assurer le transfert des zoospores de mou-



ton à mouton. Le degré d'infection dépendrait alors pour un mouton déterminé du nombre et de l'étendue des surfaces de peau sensible.

21. ROBERTS (D. S.). — **Chimiotactismes des zoospores infectieuses de *Dermatophilus dermatonomus*** (Chemotactic behaviour of the infective zoospores of *Dermatophilus dermatonomus*). Aust. J. Agric. Res., 1963, 14 (3) : 400.

Quand des gradients de concentration en  $\text{CO}_2$  sont établis expérimentalement dans des cultures de *Dermatophilus dermatonomus* ou dans des suspensions de zoospores, on peut voir que celles-ci répondent par un chimiotactisme qui les conduit à se déplacer vers une zone où règne un optimum de concentration en  $\text{CO}_2$ . L'aérotropisme négatif caractéristique des zoospores peut être considéré comme une réponse à un gradient de concentration en  $\text{CO}_2$  résultant d'une part de leur propre production de  $\text{CO}_2$  et d'autre part de la perte simultanée en  $\text{CO}_2$  à l'interface air-liquide. Les zoospores montrent un certain chimiotactisme négatif vis-à-vis de certains électrolytes toxiques, comme on peut le démontrer en exposant des suspensions à des vapeurs d'anhydride sulfureux, d'acide chlorhydrique et d'ammoniaque. L'oxygène, l'hydrogène, l'azote et le sang de mouton défibriné se montrent incapables de déclencher le moindre tactisme. L'auteur en déduit que le tactisme des zoospores vis-à-vis du gaz carbonique pourrait expliquer deux étapes importantes du cycle vital de *Dermatophilus dermatonomus*. La haute concentration de  $\text{CO}_2$ , probablement produite dans les lésions croûteuses humides par des populations denses de zoospores, accélérerait leur libération vers l'extérieur tandis que le gaz carbonique issu de la perspiration cutanée attirerait ces zoospores vers les zones sensibles de la peau.

22. ROBERTS (D. S.). — **Les défenses de la peau du mouton contre l'infection par *Dermatophilus dermatonomus*** (Barriers to *Dermatophilus dermatonomus* infection on the skin of sheep). Aust. J. Agric. Res., 1963, 14 (4) : 942.

Chez les moutons mérinos adultes, et non chez les moutons de race à toison grossière, on cons-

tate que la toison grasse et le film de suint, qui recouvre la peau sous-jacente, constituent des défenses efficaces contre l'infection à *Dermatophilus dermatonomus*.

Des infections sévères peuvent suivre l'application d'une culture en milieu liquide lorsqu'on a éliminé le suint au moyen d'une huile de pétrole. Dans certaines régions glabres, on peut montrer que la résistance à l'infection dépend de l'épaisseur et de l'intégrité du stratum corneum.

La formation et les propriétés de ce film sébacé sont étudiées ; on a pu montrer que sa vitesse d'élaboration n'était pas affectée par des variations de la température ambiante ou par la réduction modérée de sécrétion de sébum, qu'on observe chez les brebis gestantes et chez les moutons qui ont reçu de grosses doses d'œstrogène.

Des variations dans l'action bactériostatique et dans le point de fusion du sébum n'affectaient ni l'efficacité du film protecteur ni la faculté des moutons infectés naturellement à surmonter la maladie. L'éclosion des foyers commence fréquemment chez les mérinos peu après la naissance ou la tonte et entre les âges de 3 et 12 mois. On a pu observer qu'à ces moments la toison et le film de sébum de la peau ne fournissaient qu'une protection insuffisante.

Des différences importantes dans la sensibilité des moutons s'observaient au niveau de la face et des oreilles, qui sont des réservoirs importants d'infection, et ces différences étaient toujours associées avec des fluctuations naturelles dans l'intégrité du film protecteur en ce qui concerne la face et du stratum corneum en ce qui concerne les oreilles.

23. ROBERTS (D. S.). — **La libération et la survie des zoospores de *Dermatophilus dermatonomus*** (The release and survival of *Dermatophilus dermatonomus* zoospores). Aust. J. Agric. Res., 1963, 14 (3) : 386.

L'auteur relate ici ses observations sur la libération des spores de *Dermatophilus dermatonomus* à partir des croûtes de lésions de streptothricose et sur la durée de leur survie dans ces croûtes. Des échantillons de sol prélevés sur des propriétés où vivent des moutons infectés ont été étudiés quant à leur possibilité de transmettre la maladie et quant à leur capacité d'assurer la



survie et le développement de *Dermatophilus dermatonomus*.

Ces spores ne peuvent sortir des croûtes que lorsque celles-ci sont humides et il ne faut pas que le vieillissement ait fait disparaître leur mobilité. Après un délai initial, les zoospores sont libérées très rapidement durant plusieurs heures.

Pour que les zoospores persistent dans les lésions, l'infection doit rester active ou bien les croûtes doivent rester sèches. Ces observations viennent confirmer l'idée qu'un haut pourcentage d'infection est d'autant plus probable qu'il existe dans un troupeau un certain nombre de moutons en état d'infection active.

Comme la libération des spores dépend d'un certain taux d'humidité et comme l'effet de la chaleur est évident sur leur survie et sur la compétition bactérienne, la transmission de la maladie devrait être favorisée par un temps frais et humide.

Aucun des échantillons de sol prélevé ne s'est montré infectieux pour la peau de mouton sensible et aucun de ceux que l'on a essayés ne s'est montré capable, une fois stérilisé et humidifié, d'assurer une croissance, une survie ou une infectiosité continue. Cependant sur huit sols contaminés avec des croûtes streptothricosiques et conservés au sec, six se montraient encore infectieux après quatre mois (la plus longue période éprouvée). On peut en conclure que, bien que les sols contaminés puissent être responsables de certaines infections, la survie de *Dermatophilus dermatonomus* et l'éclosion de foyers de dermatite mycosique sont beaucoup plus probablement sous la dépendance d'infections en évolution active.

24. ROBERTS (D. S.). — **L'influence de l'anhydride carbonique sur la croissance et la sporulation de *Dermatophilus dermatonomus*** (The influence of carbon dioxide on the growth and sporulation of *Dermatophilus dermatonomus*). Aust. J. Agric. Res., 1963 **14** (3) : 412.

Dans les cultures de *Dermatophilus dermatonomus*, la présence d'anhydride carbonique (CO<sub>2</sub>) favorise la germination et l'éclosion des zoospores et par conséquent la croissance mycélienne consécutive, mais inhibe la division des hyphes et la production des zoospores. Des effets semblables, associés à une aération réduite dans des cultures en vase clos, sont considérés comme dus à une accumulation du CO<sub>2</sub> endogène et non pas à une limitation d'apport d'oxygène. Des cultures en voie de sporulation produisent environ 0,5 ml de CO<sub>2</sub> par ml de bouillon durant une agitation de 18 heures à 27° C. Quand on élimine rapidement le CO<sub>2</sub> endogène, on obtient une sporulation précoce et abondante, particulièrement lorsque le taux en oxygène dans l'atmosphère ambiante est réduit aux environs de 10 p. 100. Des observations faites sur la croissance mycélienne en culture font penser que les hyphes ne poussent pas et ne pénètrent pas à l'intérieur du milieu, sauf lorsque le CO<sub>2</sub> est présent.

L'anhydride carbonique au niveau de la surface de la peau semblerait donc, non seulement y stimuler la germination des zoospores de *Dermatophilus dermatonomus*, mais aussi favoriser leur pénétration à l'intérieur de celle-ci. La production de spores dans les hyphes est sans doute influencée par des variations dans la production de CO<sub>2</sub> au niveau des tissus infectés et dans la vitesse de diffusion ou dans le degré de diffusion de celui-ci, selon la profondeur des lésions.

## Parasitologie

25. HARLEY (K. L. S.) et WILKINSON. (P. R.) — **Comparaison entre les moyens de lutte contre les tiques par traitement acaricide « conventionnel », douches périodiques et rotation des pâturages** (A comparison of cattle tick control by «conventional» acaricidal treatment, planned dipping, and pasture spelling). Aust. J. Agric. Res., 1964, **15** (5): 841-53.

Dans une zone tropicale humide du Queensland Nord (Australie) on a fait une étude des méthodes de lutte contre *Boophilus microplus*, sur trois troupeaux comparables, mis au pâturage dans une région infestée par les tiques.

L'un des troupeaux ne recevait un traitement acaricide (Bercotox à 0,075 p. 100 poids/volume Delnav) sous forme de douche, que lorsque le

nombre de tiques « standards », c'est-à-dire ayant 0,5 cm ou plus de longueur, sur le côté droit, atteignait ou dépassait 20 par animal.

Le second troupeau était douché tous les 21 jours avec le même acaricide, jusqu'à ce que la population des larves, dans le pâturage, ait pratiquement disparu. Le traitement était repris lorsque le nombre de tiques « standards », sur le côté droit, atteignait ou dépassait 20 par animal.

Le troisième troupeau pâturait alternativement dans deux enclos adjacents, les rotations se faisant, suivant la saison, tous les 3, 4 ou 5 mois. Un traitement acaricide était appliqué au bétail lorsqu'il changeait de pâturage, ainsi que chaque fois que le nombre de tiques, sur le côté droit, dépassait 20 par animal.

L'expérimentation a duré deux ans. Elle a montré que les deux dernières méthodes sont nettement plus efficaces que la première. Le douchage tous les 21 jours jusqu'à disparition des larves (douchage planifié) ne réduit pas le nombre de traitements, par rapport au douchage « conventionnel », mais réduit de 79 p. 100 l'infestation par les tiques. La rotation des pâturages avec traitement à chaque déplacement diminue de 60 p. 100 le nombre de traitements à appliquer et réduit de 64 p. 100 l'infestation par les tiques.

26. RICK (R. F.). — Le cycle de *Babesia bigemina* (Smith et Kilborne, 1963) chez la tique vectrice *Boophilus microplus* (Canestrini) The life cycle of *Babesia bigemina* (Smith and Kilborne, 1893) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). Aust. J. Agric. Res., 1964, 15 (5) : 802-21.

*Babesia bigemina*, agent de la piroplasmose bovine, est transmis en Australie par *Boophilus microplus*.

Le cycle évolutif dans la lumière intestinale de la tique au cours des premières 24 heures suivant la réplétion, reste mal connu. On estime cependant que la plupart des parasites des hématies sont détruits, et que seules quelques formes parasitaires ovales ou sphériques survivent et se développent. Ces formes pourraient être des gamétocytes.

L'envahissement des cellules épithéliales de l'intestin se produit environ 24 heures après l'engorgement de la tique, et les parasites se

multiplient dans ces cellules par divisions multiples.

Au bout de 72 heures, les divisions successives aboutissent à la formation de corps allongés, généralement uninucléés, mesurant environ 11  $\mu$  sur 2,5  $\mu$ , qui sont des éléments mûrs et sont libérés dans l'hémolymphe.

Vers le 4<sup>e</sup> jour, quelques éléments mûrs envahissent les cellules des tubes de MALPIGHI et l'hémolymphe, se multiplient à nouveau par divisions multiples et aboutissent à la formation de corpuscules identiques à ceux produits dans les cellules épithéliales de l'intestin.

D'autres éléments mûrs envahissent les ovaires de la tique et, par la suite, se multiplieront de façon identique dans les cellules intestinales de la larve.

La phase finale se produit dans les glandes salivaires de la nymphe, les formes infestantes pour l'hôte vertébré apparaissant 8 à 10 jours après la fixation de la larve. Au cours de cette phase, la multiplication se produit également par divisions multiples, mais les formes qui en résultent sont très semblables aux corps piriformes observés dans les hématies des bovins. Ces formes mesurent 2,2 à 2,7  $\mu$  sur 1 à 1,5  $\mu$ .

Toutes les tiques ne s'infectent pas après la réplétion sur un animal réagissant. L'infection de l'hôte invertébré dépend, dans une certaine mesure, de la densité parasitaire dans le sang de l'hôte vertébré.

La température à laquelle est exposée la tique joue également un rôle. Les températures basses inhibent le développement des formes parasitaires chez la tique adulte, mais affectent peu la multiplication chez la larve.

27. DINNIK (J. A.). — Paramphistomose intestinale et *Paramphistomum microbothrium* Fischoeder en Afrique (Intestinal paramphistomiasis and *Paramphistomum microbothrium* Fischoeder in Africa). Bull. epizoot. Dis. Afr., 1964, 12 (4) : 439-54 (Résumé des auteurs).

Les données disponibles concernant la distribution des paramphistomes chez les ruminants d'Afrique montrent que, sur les 32 espèces reconnues, 10 seulement parasitent habituellement le bétail domestique.

Durant leur stade adulte la plupart de ces paramphistomes sont commensaux, vivent dans

le feuillet et se nourrissent de son contenu. Les paramphistomes immatures sont néanmoins de vrais parasites et sont pathogènes pour le bétail, et particulièrement pour le mouton s'ils sont présents en grand nombre dans l'intestin grêle.

On a montré que *P. microbothrium* Fiscoeder était l'agent causal de tous les cas de paramphistomiase intestinale diagnostiqués en Afrique. Une brève description de cette espèce et sa différenciation des autres paramphistomes d'Afrique sont données.

L'épizootologie d'un foyer de paramphistomiase aiguë est discutée. Il est démontré que seul un concours exceptionnel de conditions de milieu favorables au développement des mollusques hôtes et des stades larvaires de paramphistomes dans ceux-ci, conduisant à la formation d'un agrégat dense de métacercaires viables, peut causer une apparition de la maladie dans un troupeau de bétail ou de moutons pâturant dans cette zone.

28. SOLIMAN (K. N.), ZAKI (H.). — **Situation actuelle de la fasciolose en Egypte** (The present situation concerning liver fluke disease in Egypt). *Bull. epizoot. Dis. Afr.*, 1964, **12** (4) : 455-60.

Suivant les auteurs, le parasitisme du bétail cause, en Egypte, directement ou indirectement, des pertes beaucoup plus considérables que celles dues aux maladies microbiennes et virales.

Parmi les maladies parasitaires la fasciolose est à la fois le plus sérieux et le plus insidieux des maux du bétail.

Rare dans les régions sèches, elle est très répandue dans les zones humides, notamment dans le Delta, où parfois 100 p. 100 des animaux sont atteints.

Les auteurs étudient les incidences de la maladie sur les productions animales, la biologie du parasite, les formes cliniques de l'affection ; ainsi que les méthodes de diagnostic utilisées en mettant l'accent sur l'intradermoréaction par utilisation d'un antigène préparé à l'aide des parties antérieures et postérieures de *Fasciola hepatica* tout en précisant que la présence ou l'absence d'œufs dans les excréments reste quand même le meilleur critère.

Ils suggèrent l'application des mesures classiques en vue de limiter ce parasitisme en sou-

lignant que l'utilisation générale des molluscicides est indispensable en Egypte pour des raisons pratiques et financières.

Ils soulignent que rien de positif ne pourra être obtenu sans l'aide active de la population intéressée, en commençant par l'éducation des éleveurs, ne serait-ce que pour leur permettre de reconnaître les sites infestés, plus particulièrement autour des villages de façon à les exclure des parcours habituellement fréquentés par le bétail local.

29. KAMARA (J. A.). — **Importance de la spirocercose canine à Freetown, au Sierra Leone** (The incidence of canine spirocercosis in the Freetown area of Sierra Leone). *Bull. epizoot. Dis. Afr.*, 1964, **12** (4) : 465-69 (Résumé des auteurs).

Sur 413 chiens autopsiés à Freetown, Sierra Leone, durant les années 1963-64, on a trouvé un pourcentage d'infestation par *Spirocerca lupi*, de 57 p. 100. Il y a peu de différence entre les incidences dans les deux sexes. L'œsophage et l'aorte sont les lieux de prédilection du parasite et conditionnent surtout la symptomatologie clinique de la maladie. La dimension moyenne des lésions est de 3,8 cm × 2,8 cm. Le nombre moyen de vers est de 18 par chien et de 16 par nodule. Les maximums observés sont de 89 sur un chien et 32 dans un nodule. Cette haute incidence a des répercussions importantes sur la santé générale des chiens de Freetown. Une connaissance accrue de cette maladie en facilitera le diagnostic dans l'avenir.

30. BENEX (J.). — **Le diagnostic sérologique pratique de la distomatose. I. Une méthode d'agglutination sur lame à l'aide d'antigène adsorbé sur des particules de latex.** *Bull. Soc. Path. exot.*, 1964, **57** (3) : 495-502.

Pour le diagnostic de la distomatose, l'auteur décrit une méthode d'agglutination sur lame de particules de latex. Cette technique d'hémagglutination indirecte des particules de latex avait déjà été essayée pour le diagnostic de la trichinose et celui de l'hydatidose. L'antigène utilisé est un extrait antigénique délipidé ; les vers sont prélevés sur des foies de bovins et d'ovins infestés et sont immédiatement lavés ;

l'élimination des lipides est effectuée par broyage mécanique des vers frais en présence d'éthanol absolu à 20° C, puis par traitement à l'éther anhydre ; par centrifugation, on obtient un culot qui est ensuite desséché pour éliminer toute trace d'éther. La poudre sèche obtenue est ensuite extraite par un tampon au tri-éthanolamine et la centrifugation terminale permet de séparer un surnageant qui constitue l'antigène délipidé contenant à la fois les antigènes protéiques et hydrocarbonés des douves. La suspension de latex utilisée est le Bacto-latex Difco dont les particules ont en moyenne 0,81 micron de diamètre.

Avant son emploi, l'antigène doit être titré vis-à-vis d'un sérum positif connu, au moyen de dilutions en série, de façon à déterminer la dilution optimum d'utilisation. L'exécution de la réaction se fait de façon très classique sur une lame de verre : on mélange une goutte du sérum à examiner et 2 gouttes de la suspension de particules de latex sensibilisé, la lecture de la réaction s'effectuant 5 à 7 minutes après. Le test d'agglutination au latex paraît être un bon moyen de diagnostic, rapide, simple d'exécution et d'une sensibilité très suffisante pour un diagnostic qualitatif de dépistage.

Toutefois il est peut-être un peu moins sensible que la réaction de fixation du complément en ce qui concerne les dosages quantitatifs d'anticorps.

La majorité des fausses réactions positives et les réactions croisées sont supprimées du fait de l'emploi d'un antigène délipidé.

La stabilité du complexe antigène-latex est grande (jusqu'à 1 an) et la conservation à la glacière à + 4° C est simple et suffisante.

La facilité d'exécution de ce test le met à la portée des laboratoires et des techniciens non spécialisés.

31. MARTIN (H. M.), BARNETT (S. F.) et VIDLER (B. O.). — Développement cyclique et longévité de *Theileria parva* chez la tique *Rhipicephalus appendiculatus*. Cyclic development and Longevity of *Theileria parva* in

the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. *Exp. Parasit.*, 1964, 15 : 527-555.

Les auteurs, après avoir fait un long historique des connaissances progressivement acquises sur l'évolution du parasite chez son hôte, exposent les résultats d'études entreprises pour éclaircir certains aspects encore peu connus de cette question.

Opérant sur du bétail européen contenant un faible pourcentage de sang zébus, avec une souche de tique d'origine locale et avec deux souches de *T. parva*, dont une du Kenya et l'autre d'Afrique du Sud, ils ont utilisé des techniques éprouvées ou parfois originales parfaitement décrites dans l'exposé. Les formations de *T. parva* rencontrées dans l'intestin, dans les cellules épithéliales des parois intestinales et dans les cellules des glandes salivaires ont fait l'objet de minutieuses descriptions. D'après les constatations faites, seuls les parasites rencontrés dans les glandes et canaux salivaires peuvent être définitivement reconnus comme constituant une partie du cycle normal du parasite qui se multiplie localement par simple fission.

Aucun stade sexuel n'a été mis en évidence.

Des observations analogues ont été faites en ce qui concerne *T. lawrencei* sur des inclusions de glandes salivaires.

Les auteurs se sont efforcés de préciser les nombreuses sources d'erreurs qui ont pu tromper de précédents chercheurs en la matière, tant pour les éviter que pour expliquer la nature des observations alors ignorées.

Des études sur la longévité de *T. parva* chez la tique vectrice ont confirmé le fait que les parasites meurent avant elle.

Les tiques ne sont plus infestantes dans les 34 à 40 semaines, après la mue, mais peuvent encore se nourrir pendant 15 mois.

Il a été démontré que les tiques infestées avec *T. parva* peuvent transmettre le parasite au bétail 24 heures après avoir été placées sur leur hôte.

De nombreuses et parfaites reproductions de microphotographies et une abondante bibliographie complètent cet article.

## Entomologie

32. WILKINSON (P. R.). — **La rotation des pâtures dans la lutte contre les tiques dans le sud du Queensland** (Pasture spelling as a control measure for cattle ticks in Southern Queensland). *Aust. J. Agric. Res.*, 1964, 15 (5) : 822-40.

L'auteur étudie l'infestation par les tiques de deux troupeaux (A et B) de bovins dans le sud du Queensland (Australie). Dans la première partie de l'expérimentation, les deux troupeaux pâturent de façon continue toute la superficie de leur enclos. Les infestations par les tiques sont alors identiques.

Dans la deuxième partie de l'expérimentation, qui a duré 18 mois, l'enclos du troupeau B est divisé par une clôture en deux moitiés qui sont pâturées alternativement. L'infestation de ce troupeau est alors d'environ 1/40<sup>e</sup> de celle du troupeau A, lequel a pâture la totalité de son enclos. Le troupeau A, pendant cette période a été, à quatre reprises, traité au D. D. T. afin de réduire une infestation excessive. Le troupeau B n'a pas été désinsectisé.

La faible infestation du troupeau B est attribuée au fait que ce troupeau a changé de pâturage pour la première fois en mai (hiver australien et saison sèche) lorsque les tiques gorgées ne produisent que peu ou pas d'œufs. Les rotations suivantes, qui ont eu lieu tous les quatre mois, ont empêché la population de tiques d'atteindre un niveau gênant.

Pour la troisième partie de l'étude, pendant les

deux années suivantes les clôtures sont enlevées dans l'enclos du troupeau B, alors que celui du troupeau A est divisé en deux parties. Les conditions de l'expérience sont donc inversées. Le nombre des tiques du troupeau A diminue alors de façon discontinue, tandis que le nombre de tiques augmentait dans le troupeau B. Pendant ces deux années, le nombre des tiques du troupeau A fut d'un tiers de celui du troupeau B.

Le troupeau B, qui acquit un gain de poids supérieur à celui du troupeau A pendant la seconde partie de l'expérimentation, conserva ce gain pendant la troisième phase de l'étude.

A partir des mois de janvier et mai 1957, et janvier et mai 1958, dans les enclos libres de bétail, les larves furent récoltées dans des échantillons randomisés de pâturage.

Au cours des mois de janvier et février, qui correspondent à l'été australien et à la saison humide, le nombre de larves s'accroît rapidement aussitôt après le départ du bétail, puis décline jusqu'à un niveau négligeable au bout de 2 à 3 mois. En hiver (mois de mai et saison sèche) les larves persistent plus longtemps dans les pâturages et leur disparition est moins prévisible.

Des larves fraîchement écloses furent déposées sur des herbes, dans un enclos éloigné et vide de bétail. Elles survécurent jusqu'à 13 semaines et parvinrent à se fixer alors sur le bétail. La plupart d'entre elles aboutirent à l'adulte. Au-delà de 13 semaines, la mortalité, parmi les larves, est considérable.

## Pathologie générale

33. SIMPSON (R. M.). — **Etude sur l'immunité conférée au bétail par l'injection simultanée de divers vaccins** (A study of the immunity produced in cattle by simultaneous inoculation with a number of vaccines). *Bull. epizoot. Dis. Afr.*, 1964, 12 (4) : 405-28 (Résumé des auteurs).

L'auteur expose les méthodes utilisées pour déterminer l'efficacité des vaccins couramment

employés au Kenya. L'usage de vaccins simultanés et combinés chez les animaux est brièvement passé en revue.

Des expériences ont été conduites chez des cobayes et des bovins, au laboratoire et sur le terrain, pour étudier les effets de l'emploi d'associations de vaccins contre la peste bovine, le charbon bactérien, le charbon symptomatique, l'avortement épizootique (S. 19) et la fièvre de la Vallée du Rift, vaccins qui furent inoculés en des

lieux différents. Lorsque ce fut possible, l'immunité résultante fut vérifiée.

Ni les bovins, ni les cobayes n'eurent de réactions défavorables à la suite des inoculations simultanées de plus d'un vaccin vivant. L'immunité consécutive s'avéra satisfaisante dans le cas de la peste bovine, du charbon bactérien et de la fièvre de la Vallée du Rift. Cette immunité fut vérifiée par inoculation virulente directe.

34. MACADAM (I.). — **La réponse du zébu au vaccin antipestique de culture cellulaire en mélange avec : 1° du vaccin contre le charbon symptomatique ; 2° du vaccin contre le charbon bactérien** (The response of zebu cattle to tissue culture rinderpest vaccine mixed in (1) black-

quarter vaccine and (2) anthrax spore vaccine). *Bull. epizoot. Dis. Afr.*, 1964, 12 (4) : 401-03. (Résumé des auteurs).

Le vaccin de culture de tissu contre la peste bovine (T. C. R. V.) est détruit en 15 minutes si on le reconstitue dans le vaccin contre le charbon symptomatique (B. Q. V.) et en 25 minutes dans le vaccin contre le charbon bactérien (A. S. V.). Dans chaque cas 3 bovins sensibles inoculés avec le mélange ne furent pas immunisés contre la peste bovine. Pourvu que le vaccin anti-bovipestique de culture de tissu soit injecté en un point différent, ses propriétés ne sont pas affectées par une injection simultanée, effectuée en un autre endroit, d'un vaccin contre le charbon symptomatique ou bactérien.

## Chimiothérapie

35. KEITH (R. K.). — **Emploi, en injections sous-cutanées, d'un composé organo-phosphoré, comme anthelminthique chez le bétail** (Subcutaneous injection of an organic phosphorus compound as an anthelmintic procedure for cattle). *Aust. Vet. J.*, 1964, 40 (12), 402-5 (Résumé).

Les résultats des tests de laboratoire et des essais sur le terrain ont montré que l'injection, par voie sous-cutanée, de préparations d'un composé organo-phosphoré, le 0,0 — diméthyl 2, 2, 2, — trichloro 1'hydroxyethyl phosphonate (Neguvon, Bayer L 13/59) à la dose moyenne de 0,75 g de produit actif pour 100 livres (45,3 kg) de poids vif constitue, dans les conditions de la pratique, en Australie du Nord, un moyen de traitement simple et rapide chez les jeunes bovins infestés par des formes adultes d'*Hæmoncus placei* et d'*Æsophagostomum radiatum*.

Pour un traitement efficace des infestations à *Bunostomum phlebotomum*, il semble que les injections ne doivent pas être effectuées à une dose inférieure à 1,5 g pour 100 livres (45,3 kg) de poids vif.

Contre les infestations à *Ostertagia ostertagi*, les doses sont de 2 g pour 100 livres de poids vif. Contre les *Cooperia* (*C. punctata* et *C. pectinata*) les doses efficaces avoisinent 3 g pour 100 livres de poids.

A la dose de 2 g de produit actif pour 100 livres de poids vif dose qui est, en pratique, le maximum tolérable en injection sous-cutanée, le traitement des infestations à *Trichostrongylus axei* est inefficace ; à cette dose, il n'a été en outre observé aucun effet utile lors d'infestations à *Moniezia benedenti*.

36. SENECA (H.), PEER (P. M.) et REGAN (J. W.). — **Chimiothérapie d'une infection expérimentale à *Trypanosoma cruzi* chez la souris avec le L. Furaltadone**. Chemotherapy of Experimental *Trypanosoma cruzi*. Infection in Mice with L. Furaltadone. *Exp. Parasit.*, 1964, 15 (6) 479-84.

L'isomère lévogyre du furaltadone, administré par voie orale pendant 2 semaines, à la dose de 50 mg/kg, modifie favorablement le cours de l'infection expérimentale de la souris par *T. cruzi*. Lorsque la dose thérapeutique est suivie d'une dose d'entretien représentant 25 p. 100 de la première, les résultats sont encore améliorés.

Le mécanisme de l'action de ce corps n'est pas élucidé. Il semble que ce produit agit plutôt sur les formes sanguines (trypanosomes) que sur les formes leishmaniennes intracellulaires, puisque les trypanosomes réapparaissent dans le sang lorsque le traitement est brusquement interrompu.



## Techniques de laboratoire

37. GILL (B. S.). — **Nouvelle technique du test de l'hémagglutination indirecte pour l'étude expérimentale des infestations à *Trypanosoma evansi*** (A procedure for the indirect haemagglutination test for the study of experimental *Trypanosoma evansi* infections). *Ann. trop. med. parasit.*, 1964, **58** (4) : 473-80.

L'auteur décrit la modification qu'il a apportée à l'épreuve d'hémagglutination indirecte de Boyden qui permet de déceler les anticorps dus à *Trypanosoma evansi*, dans des solutions très diluées de sérum expérimenté.

Le test décrit est spécifique, sensible, pratique et donne des résultats constants.

L'extrait de *T. evansi*, soluble dans l'eau, constitue l'antigène, actif à très faible dose.

38. GRABER (P.), PISI (E.), COURCON (J.), LESPINATS (G.). — **Analyse immunochimique des constituants solubles de la rate de rat.** *Ann. Inst. Pasteur.*, 1964, **107** (6) : 749.

Cet article intéressera tous ceux qui suivent de très près l'analyse des constituants tissulaires aussi bien que les progrès réalisés récemment en immunochimie. De plus, on a là une véritable démonstration de ce que permet la méthode d'analyse immuno-électrophorétique maniée par celui qui en est le père. Il faut toutefois se souvenir des limites de la méthode. On ne peut en effet analyser que des produits essentiellement solubles dans l'eau et il faut éliminer la cause d'erreur par défaut d'anticorps dans l'immunsérum utilisé.

La préparation des animaux chez qui on prélève la rate revêt ici une grande importance. Il s'agit d'éliminer au maximum les constituants étrangers au tissu de la rate, ici il faut éliminer essentiellement tous les constituants sanguins. Notons comme toujours que pour obtenir des immunsérums de qualité il faut immuniser plusieurs lapins, ici huit, que l'immunisation dure deux mois et que l'échantillon injecté a été émulsionné dans des substances adjuvantes de FREUND. Enfin, on a seulement utilisé les meilleurs immunsérums après les avoir évidemment testés. Deux méthodes ont été utilisées pour étudier les

échantillons de tissu : splénique l'électrophorèse simple et l'immuno-électrophorèse.

L'électrophorèse simple permet de déterminer six zones parmi les constituants protéiques de l'extrait de rate. Leur mobilité est différente et on distingue trois constituants anodiques et trois constituants cathodiques. Les fractions les plus importantes sont les fractions anodiques, particulièrement la fraction III.

L'immuno-électrophorèse a permis aux auteurs de distinguer quinze constituants tissulaires dont cinq au moins paraissent être spécifiques de la rate. Ces conclusions peuvent être tirées car les immunsérums ont été épuisés de telle sorte que toutes les réactions croisées prévisibles soient éliminées. Les cinq constituants qui semblent spécifiques ne sont pas retrouvés dans les extraits de moelle osseuse, de foie ou de cellules d'un exsudat péritonéal. Du point de vue enzymatique les auteurs ont observé des activités estérasiques dans quatre zones ainsi que des activités protéasiques dans trois zones, activités protéasiques qui se manifestent à des pH différents.

39. BANGE-BARNOUD (R.), FREY (J.), PERES (G.). — **Fractionnement électrophorétique des protéines sériques de la tanche, *tinca tinca*** (L.) : Etude préliminaire. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1965, **47** (1) : 160.

Le bilan des protéines sériques des animaux continue à être dressé pour enrichir nos connaissances en ce qui concerne les constituants principaux des espèces animales.

Le principal intérêt qu'on peut trouver dans cette étude réside dans les comparaisons entre espèces qui sont ensuite possibles à la lumière des résultats ainsi obtenus.

Par électrophorèse libre, on peut mettre en évidence dans le sérum de la tanche quatre fractions constantes et de plus deux petites fractions à chaque extrémité de l'électrophorogramme dont la présence est variable. Les résultats sont identiques sur le plasma. L'électrophorèse sur colonne confirme les résultats précédemment obtenus puisqu'on révèle régulièrement cinq pics par le réactif de GORNALL, ces cinq pics correspondent donc à des protéines. Seules



les fractions I et III contiennent des lipoprotéines.

Ces premiers résultats sont constants en ce qui concerne le point de vue qualitatif. Par contre, on observe de grandes variations dans les pourcentages des diverses fractions.

Par électrophorèse en gélose, on isole six groupes protéiques analogues à ceux rencontrés dans l'électrophorèse libre. Par comparaison des mobilités avec celles des sérums humains, on peut dire que celles des fractions I bis, I, II, III, IV sont comparables respectivement à celles des préalbumines, albumines,  $\alpha_1$  globulines,  $\alpha_2$  globulines et  $\beta$  globulines.

Par contre, la fraction V a une mobilité plus grande que celle donnée généralement pour les  $\gamma$  globulines.

Si les mobilités sont analogues, l'analyse des fractions identifiées révèle des différences fondamentales entre les protéines des deux sérums.

Le rapport albumines sur globulines défini par précipitation au sulfate d'ammonium à demi-saturation est le plus souvent supérieur à 1. Des différences sont aussi rencontrées au point de vue tinctorial.

Une autre différence est la teneur élevée en lipoprotéines du sérum de tanche.

Enfin, dernier résultat obtenu : certaines globulines de la fraction V ne se trouvent pas chez tous les individus étudiés.

Ce premier bilan permet déjà d'effectuer certaines comparaisons et en particulier avec d'autres poissons tels que les anguilles.

40. BIGUET (J.), TRAN VAN KY (P.), ANDRIEU (S.), FRUIT (J.). — **Analyse immuno-électrophorétique d'extraits cellulaires et de milieux de culture d'*Aspergillus fumigatus* par des immunosérums expérimentaux et des sérums de malades atteints d'aspergillome bronchopulmonaire.** *Ann. Inst. Pasteur.*, 1964, 107 (1) : 72.

Les auteurs cherchent ici à analyser la mosaïque des antigènes solubles d'*Aspergillus Fumigatus* par l'utilisation de sérums expérimentaux et de sérums de malades.

Le matériel analysé provient de deux origines :

— l'antigène brut constitué par le champignon, lavé, broyé, passé à l'Ultra Turrax et lyophilisé d'où on peut extraire un antigène cellulaire,

— d'autre part, les antigènes de milieu de culture qui sont obtenus à partir de filtrats de culture lyophilisés.

L'étude des conditions dans lesquelles sont réalisées les cultures montre que seule la durée de celles-ci influe notablement sur la structure antigénique des extraits cellulaires et des milieux de culture. En particulier, on notera qu'après un mois de culture, ces deux sortes d'antigène se trouvent rigoureusement identiques.

La comparaison avec d'autres espèces d'*Aspergillus* montre qu'à l'exception d'*Aspergillus fischeri*, les fractions communes sont très rares. Il y en a trois exceptionnellement et une ou deux dans la pratique courante. On notera avec un intérêt particulier que la substance C mise en évidence par Pepys et Longbottom dans les extraits d'*Aspergillus Fumigatus* existe dans tous les extraits des *Aspergillus* étudiés sauf *Aspergillus Flavus* et *Aspergillus Flavus oryzae*. Ces résultats sont encore obtenus avec des techniques qui ont fait leur preuve, à savoir la micro-électrophorèse en gélose, les immuno-électrophorèses en gélose et la double diffusion en gélose également.

Cette étude, si elle n'intéresse pas directement les recherches concernant *Aspergillus Flavus*, constitue néanmoins un apport non négligeable pour tous ceux qui s'intéressent à la recherche de l'aflatoxine et par conséquent au métabolisme d'*Aspergillus Flavus*.

## INFORMATIONS GÉNÉRALES

### COMMUNIQUÉ

#### ASSOCIATION INTERNATIONALE POUR L'ÉTUDE DES FILARIOSES (International Filariasis Association)

L'Association Internationale pour l'Étude des Filarioses est issue des groupes de travail réunis en 1955 et en 1961 sous les auspices de l'O. M. S. pour étudier l'onchocercose. Elle a été créée pour encourager l'étude des filarioses et l'organisation de campagnes de lutte contre ces maladies.

La première Réunion Générale de l'Association a eu lieu à Rio de Janeiro le 8 septembre 1963, durant le Congrès International de Parasitologie. Les réunions ultérieures auront lieu en fonction des occasions offertes par les Congrès Internationaux.

Des mesures seront prises, chaque fois que ce sera possible, pour encourager l'étude de tous les types de filarioses en organisant des réunions régionales, et pour attirer officiellement l'attention des gouvernements et des organisations

internationales sur les problèmes posés par les filarioses. L'Association facilitera l'échange d'informations techniques entre les spécialistes des filarioses et espère bénéficier de leur coopération.

L'Association possède un Conseil exécutif de 15 membres représentant les différentes régions du monde. Le Président est le Professeur J. F. KESSEL (Etats-Unis). Les Vice-Présidents sont le Professeur P. C. C. GARNHAM (Royaume-Uni) et le Médecin Général Inspecteur P. RICHEL (France). Les Secrétaires sont le Dr M. GIACQUINTO (Italie) et le Dr F. HAWKING\* (Royaume-Uni) et fourniront sur demande toute information complémentaire concernant l'Association.

Cette Association Internationale serait heureuse de recevoir l'adhésion de tous ceux s'intéressant à l'étude et au contrôle des filarioses.

(\*) National Institute for Medical Research, Mill Hill, London N. W. 7, Angleterre.