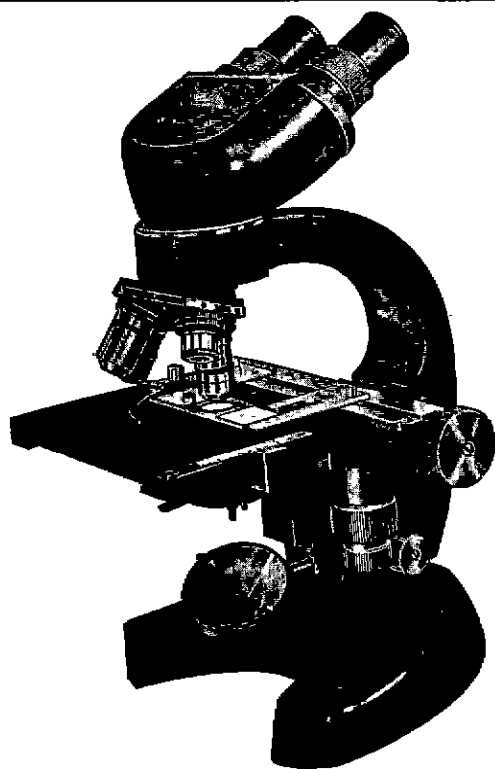


SOMMAIRE N° 4 — 1966

TRAVAUX ORIGINAUX

- Y. MAURICE et A. PROVOST. — Les réactions d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination avec le virus de la peste équine. Limites de leur interprétation. 439
- P. ROBIN et P. BOURDIN. — Note sur l'action du sulfate de sodium, du sulfate de magnésium et du chlorure de magnésium sur le virus de la peste bovine adapté aux cultures cellulaires 451
- P. PERREAU. — Le test d'allergie et le diagnostic de la péripneumonie bovine . I. — Commentaires sur l'extraction de l'antigène protéique et étude expérimentale sur animaux de laboratoire. 457
- M. DOUTRE, P. PERREAU et J. CHAMBRON. — Le test d'allergie et le diagnostic de la péripneumonie bovine. . II. Essais sur les bovins du Sénégal, malades naturels et infectés artificiels 471
- M. RIOCHE. — La rickettsiose générale bovine au Sénégal. 485
- M. P. DOUTRE et J. CHAMBRON. — Le botulisme des ruminants et des équidés au Sénégal .. Caractères de la souche isolée de *Clostridium botulinum* et de sa toxine 495

(Voir suite page III)



M - 686

**TOUTE
L'INSTRUMENTATION
VÉTÉRIINAIRE
DE QUALITÉ**

MICROSCOPES I.C.M.

Paris - Wetzlar

INSTRUMENTS DE CHIRURGIE MORIN

**15, Avenue Bosquet
PARIS VII^e**

Sommaire (Suite)

M. GRABER. — Etude du pouvoir anthelminthique du Tétramisole (16.535 R. P.) sur divers helminthes du zébu de la République du Tchad.	511
M. GRABER. — Etude dans certaines conditions africaines de l'action antiparasitaire du Thiabendazole sur divers helminthes des animaux domestiques. . II. Dromadaire.	527
H. CALVET, R. BOUDERGUES, E. DISCACCIATI et Mme M. CLICHE. — Note préliminaire sur les effets expérimentaux de l'aflatoxine chez les bovins tropicaux. Effets de l'aflatoxine sur la vache laitière et sur le jeune nourri à la mamelle.	545
R. BOUDERGUES, H. CALVET, E. DISCACCIATI et Mme CLICHE. — Note sur la présence d'aflatoxine dans les fanes d'arachides.	567
R. DUMAS et Ph. LHOSTE. — Variations du poids vif et du rendement en viande de bœufs zébus de l'Adamaoua au cours de la saison sèche.	573
Comptes-rendus de Congrès : Troisième session du groupe de travail F. A. O sur l'amélioration des herbages et de la production fourragère en Amérique tropicale	581
— Colloque sur les pâturages et la production fourragère en Côte-d'Ivoire. .	582

(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^e — Pigalle 39-20

Sommaire (*Suite et fin*)

EXTRAITS — ANALYSES

Maladies à virus (n° 118 à 122)	585
Peste bovine (n° 123 à 126).....	586
Maladies microbiennes (n° 127 à 128).....	587
Mycoplasmoses (n° 129 à 132).....	588
Trypanosomoses (n° 133 à 134).....	590
Alimentation — Carences — Intoxications (n° 135 à 138).....	591
Pâturages et plantes fourragères (n° 139 à 156).....	592
Techniques de laboratoire (n° 157 à 158).....	596
Chimie biologique (n° 159 à 161).....	597
Revue des Rapports Annuels (n° 162).....	598
Bibliographie (n° 163 à 168).....	601
Erratum (n° 3, tome XIX, 1966).....	603
Table des matières, année 1966.....	605
Table des auteurs, année 1966.....	615

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

FOURNITURES pour LABORATOIRES

VERRERIE GÉNÉRALE

Verrerie soufflée, graduée, Aréométrie, Densimétrie, Verre ordinaire, Bohème, Pyrex, Porcelaine, Thermométrie, Caoutchouc, Papier à filtrer, Appareillage.

CHOLIN & C^{ie}

Distributeur de la Société Le Pyrex et de Quartz et Sicile

39-41, rue des Cloys, PARIS (18^e) Tél. : Montmartre 61-81

ARTICLES ORIGINAUX

Les réactions d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination avec le virus de la peste équine.

Limites de leur interprétation.

par Y. MAURICE et A. PROVOST

RÉSUMÉ

Les auteurs ont montré l'influence des différents paramètres entrant en jeu dans les réactions d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination avec le virus de la peste équine : antigène, globules rouges, pH, protamine, tampon. Au terme de cette étude ils constatent qu'un certain nombre d'exigences doivent être respectées pour que ces deux réactions aient toute leur valeur.

En 1961, et 1963 PAVRI (3) puis PAVRI et ANDERSON (4) ont montré la propriété hémagglutinante du virus de la peste équine et la spécificité de la réaction d'inhibition de l'hémagglutination. En 1964, cette réaction a été utilisée au Laboratoire de Farcha pour une enquête sérologique. Il s'est alors avéré que cette technique d'investigation était délicate. En effet, pour que la réaction d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination rende des services en matière d'investigation sérologique dans la peste équine, elle doit être conduite avec rigueur en respectant certaines exigences techniques. Les limites bien précises de cette réaction ont été étudiées et l'accent a été mis sur l'importance revenant à chacun des paramètres de la réaction. Les résultats de ces observations forment l'objet de cette note.

En effet, la préparation des antigènes entrant dans la réaction d'hémagglutination due au virus de la peste équine est, pour certains types de virus, tributaire de protamine ; sa présence gêne considérablement la lecture de l'agglutination directe. C'est ainsi que l'agglutination optimale du virus de la peste équine

se fait à pH 6,4, mais à ce pH et surtout aux pH inférieurs à 6,4 la protamine possède une propriété agglutinante pour les globules rouges de cheval. Dans cette étude il a été recherché en particulier la part exacte revenant à la protamine dans ce phénomène ainsi que dans la réaction d'inhibition de l'hémagglutination.

MATÉRIEL

1^o Le virus : Les virus de type 9 (souche 89/61), 6 (souche 114), 1 (souche A 501), et 2 (souche OD) ont été utilisés.

2^o Les antigènes : Après inoculation des souches de virus par voie intracérébrale, les antigènes ont été préparés à partir de cerveaux de souris ou de souriceaux nouveau-nés et de cerveaux de cobayes, morts de peste équine ou prélevés au stade final de la paralysie.

3^o Les globules rouges : Des globules rouges de cheval, de bœuf, de moutons, de chèvre, de porc, de poule, de lapin, de rats, de cobayes, de souris et d'oie ont été utilisés.

4^o Les sérums : Pour effectuer les réactions

d'inhibition de l'hémagglutination les sérums à examiner sont traités systématiquement par une suspension à 25 p. 100 de kaolin lavé aux acides, suivant la technique de CLARKE et CASALS (1), pour épuiser les inhibiteurs non spécifiques. L'extraction au kaolin a été retenue parce qu'elle est réputée donner d'aussi bons résultats que l'extraction à l'acétone et qu'elle est beaucoup plus commode à réaliser.

LES TECHNIQUES

1° Les antigènes : Les antigènes suivants ont été essayés :

— antigène au fréon 113 obtenu en utilisant la technique que PORTEFIELD et ROWE (5) emploient pour la préparation des antigènes fixant le complément avec les arbovirus ;

— antigène de Delpy pour les virus Cox-sackie (2) ;

— antigènes acétone-éther, acétone-éther-protamine, alcalin 10 p. 100 et 20 p. 100, alcalin-protamine, sucrose-acétone, sucrose-acétone-protamine.

Ces six derniers antigènes ont été préparés suivant la technique de CLARKE et CASALS (1) mais le taux d'agglutination maximum avec l'antigène sucrose-acétone a été obtenu en utilisant une technique légèrement modifiée. Cette méthode est celle employée à l'Institut Pasteur de Dakar pour l'étude de certains arbovirus ; c'est également la technique utilisée à l'East African Virus Research Institute. Quant à l'antigène au fréon 113 et l'antigène de Delpy, ils ont été préparés en suivant les techniques décrites par ces auteurs.

Les dilutions d'antigènes ont été faites en tampon phosphate pH 9 ou en tampon pH 9 à 0,4 ou 0,2 p. 100 d'albumine.

2° Les globules rouges et le pH : On utilise des concentrations de 0,3 p. 100, 0,4 p. 100 ou 0,5 p. 100 de globules rouges en suspension dans un tampon phosphate tel qu'après addition d'un volume égal d'antigène la réaction ait lieu au pH 6, 6,2, 6,4, 6,6, 6,8, 7, 7,2.

3° La température d'incubation : L'expérimentation a été conduite à des températures de + 4 °C, 25 °C, 37 °C pendant des temps varia-

bles. La réaction est faite soit en tube sous le volume total de 0,8 ml, soit en plaque de plexi-glass sous le volume total de 0,4 ou 0,8 ml.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

I. — Réaction d'hémagglutination

1° Nature de l'antigène :

Seuls les antigènes sucrose-acétone-protamine et alcalin-protamine ont donné des résultats positifs et ceci uniquement avec les types 9 (89/61), 6 (114) et 1 (A501). Le maximum d'agglutination s'observe après une heure et demie d'incubation à 37 °C. L'antigène sucrose-acétone-protamine à 5 mg de protamine par ml d'antigène préparé à partir de cerveaux de souris morts de peste équine à type 1, permet d'obtenir des agglutinations aux dilutions 1/256 voire même 1/512. L'antigène souriceau est meilleur que l'antigène extrait de cerveaux de souris ou de cobayes.

2° Influence des globules rouges :

Seuls les globules rouges de cheval sont agglutinés par le virus de la peste équine (tableau I). La concentration optimale pour la lecture de la réaction est 0,4 p. 100 de globules rouges.

3° Influence du pH :

L'agglutination est toujours maximum, quel que soit le type de virus, au pH 6,4.

4° Influence de la température d'incubation :

La température de 37 °C représente la température optimale pour les réactions d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination.

5° Influence de la protamine.

La préparation de la plupart des antigènes de la peste équine pour la réaction d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination étant tributaire du traitement à la protamine, on a voulu connaître la part exacte revenant à la protamine et au virus lui-même dans ces deux réactions.

TABLEAU N°I
Influence de la nature des globules rouges

Ag. \ G.R.	Cheval	Boeuf	Oie	Mouton	Chèvre	Porc	Poule	Lapin	Rat	Cobaye	Souris
Ag Fluorocarbène	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ag Acétone éther	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ag Acétone éther protamine	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ag Sucrose acétone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ag Sucrose-acétone protamine	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ag alcalin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ag alcalin protamine	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

TABLEAU N°II

Influence de la dose de protamine et du pH sur l'action hémagglutinante de la protamine.

pH \ Ag	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	Témoin GR
pH 6	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±	-
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
pH 6,2	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-	-
	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
pH 6,4	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	±	+	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
pH 6,6	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
pH 6,8	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
pH 7	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

Notation : + hémagglutination totale; ± traces d'hémagglutination.
- Réaction effectuée avec un antigène témoin souris alcalin 20 p.100
Diluant albumine à 0,4 p.100
- 1ère ligne : 1,25 mg de protamine par ml d'antigène
- 2è " : 2,25 " " " " "
- 3è " : 3,75 " " " " "
- 4è " : 5 " " " " "
- 5è " : 6,25 " " " " "

TABLEAU N°III

Influence de la qualité de la protamine, du pH et de l'âge des souris servant à la préparation de l'antigène.

	Ag	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	Témoin G.R.
pH 5,75	protamine 1	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
	protamine 2	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
	protamine 3	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
	protamine 4	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
pH 6	protamine 1	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
	protamine 2	souris -	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		souriceau -	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	protamine 3	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
	protamine 4	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
pH 6,2	protamine 1	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
	protamine 2	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau -	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	protamine 3	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
	protamine 4	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
pH 6,4	protamine 1	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
	protamine 2	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau -	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	protamine 3	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
	protamine 4	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
pH 6,6	protamine 1	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
	protamine 2	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau -	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	protamine 3	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
	protamine 4	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
pH 6,8	protamine 1	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
	protamine 2	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau -	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	protamine 3	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
	protamine 4	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
pH 7	protamine 1	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
	protamine 2	souris -	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		souriceau -	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	protamine 3	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau -	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	protamine 4	souris +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-
		souriceau +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	-

Notation : + = agglutination totale ; - = absence d'agglutination.

a) Influence de la quantité de protamine utilisée dans la préparation de l'antigène sucrose-acétone-protamine et alcalin-protamine.

Des cerveaux de cobayes ou de souris non inoculés avec le virus de la peste équine subissent le traitement sucrose acétone ou le traitement alcalin. Les préparations ne montrent aucune propriété agglutinante pour les globules rouges de cheval après une heure et demie d'incubation à 4 °C, 25 °C et 37 °C, ceci aux pH 5,75, 6, 6,2, 6,4, 6,6, 6,8, 7 et 7,2, que l'antigène soit pur ou dilué ; dans ce cas le taux de dilution ou la nature du diluant (tampon phosphate à pH 9, tampon pH 9 albuminé à 0,4 ou 02 p. 100) n'ont aucune influence.

A partir de cerveaux de cobayes et de souris non inoculés avec le virus de la peste équine, ont été préparés également des antigènes témoins alcalin-protamine et sucrose-acétone-protamine en utilisant respectivement 1,25, 2,5, 3,75, 5 et 6,25 mg de protamine par ml d'antigène ; les dilutions d'antigènes ont été faites en tampon albumine. Les résultats sont rapportés dans le tableau II. Les résultats sont identiques que l'antigène provienne de cerveau de souris ou de cobaye, que cet antigène soit préparé suivant la technique sucrose-acétone-protamine ou alcalin-protamine.

Si l'on consulte le tableau de PAVRI et ANDERSON (4) une constatation s'impose. Le titrage des types de virus à faible titre hémagglutinant et exigeant de surcroît de la protamine lors de la préparation des antigènes (type 5 par exemple) est impossible à réaliser dans ces conditions à moins de supprimer par un artifice quelconque l'action hémagglutinante de la protamine.

b) Influence du pH : Il a été préparé plusieurs antigènes témoins cerveau de cobaye et cerveau de souris non inoculés de peste équine. Ces antigènes, préparés suivant la technique sucrose-acétone et alcalin 10 et 20 p. 100, ont été traités à la protamine. Quelles que soient les quantités de protamine utilisées dans les limites précédentes (1,25 à 6,25 mg par ml d'antigène), l'action hémagglutinante de cette substance est d'autant plus élevée que le pH est bas. Le tableau II donne déjà une idée du rôle du pH. Ainsi au pH 6,4, pH optimum de la réaction d'hémagglutination avec le virus de la peste équine, la protamine utilisée a une action hémagglutinante

certaine. Lorsque l'on utilise ce même lot de protamine l'action hémagglutinante se manifeste de façon constante et régulière dans tous les essais. Le tableau III met également en relief l'influence du pH.

c) Influence de la qualité de la protamine utilisée : Plusieurs lots de protamine ont été utilisés pour apprécier l'influence de l'origine du produit. L'antigène utilisé est un antigène alcalin 20 p. 100 à 5 mg de protamine par ml d'antigène. Des cerveaux de souris et de souris non inoculés ont été employés. La réaction a été effectuée sans tampon albumine, uniquement avec un tampon phosphates à pH 9. Les globules rouges sont des globules rouges de cheval en suspension à 0,5 p. 100. L'incubation a été d'une heure et demie à 37 °C. Les protamines utilisées dans ces expériences sont les suivantes :

- Protamine 1 : Sulfate de protamine « Hereng » (*).
- Protamine 2 : Sulfate de protamine U. S. P. (**).
- Protamine 3 : Sulfate de protamine B. D. H. (***)
- Protamine 4 : Sulfate de protamine B. D. H. mais lot différent du 3.

Comme on peut le constater à la lecture du tableau III, la protamine utilisée dans la préparation des antigènes hémagglutinants ne convient pas toujours. Le degré de pureté de cette substance intervient vraisemblablement dans ses propriétés agglutinantes. Ainsi les protamines 1 et 4 sont à éliminer dans la préparation d'un antigène hémagglutinant. Le lot de protamine 3 pourra être utilisé avec précaution, il devra être titré avec précision de façon à connaître la part exacte de celle-ci dans l'agglutination. Par contre, le lot de protamine 2 convient très bien pour une telle réaction puisqu'en effet on n'observe aucune agglutination avec un antigène de cerveau de souris lorsque la réaction a lieu aux pH supérieurs à 6, en particulier au pH 6,4.

(*) Serlabo, 26, rue Saint Gilles, Paris 3^e.

(**) Mann Research Laboratories.

(***) B. D. H. Ltd., Poole, Angleterre.

TABLEAU N°IV

Influence de la température d'incubation sur l'action hémagglutinante de la protamine

Antigène	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	Témoin GR
pH	37°C	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	++	-	-
	25° C	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	++	-	-	-
6,4	4° C	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	-	-	-	-

TABLEAU N°V

Influence de la nature du diluant sur l'action hémagglutinante de la protamine (antigène cerveau souris alcalin 20 p.100 protamine)

Antigène	1/1	1/2	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	Témoin GR
Diluant albumine 0,4p.100	+	+	+	±	-	-	-	-	-
6,4 Diluant tampon phosphate pH 9	+	+	+	+	+	+	-	-	-

TABLEAU N°VI

Influence de l'héparine sur l'action hémagglutinante de la protamine.

	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	Témoin G.R.
Cerveau souris sans protamine (Diluant tampon pH 9)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Globules rouges non formolés (Diluant albumine à 0,4p.100)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cerveau souris sans protamine (Diluant tampon pH 9)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Globules rouges formolés (Diluant albumine à 0,4p.100)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cerveau souris traité à la protamine 3mg/ml d'antigène (Diluant tampon pH 9)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Globules rouges non formolés (Diluant albumine à 0,4p.100)	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cerveau souris traité à la protamine 3mg/ml d'antigène (Diluant tampon pH 9)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Globules rouges formolés (Diluant albumine à 0,4p.100)	+	+	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-
Cerveau souris Témoin traité à la protamine 3mg/ml d'antigène (Diluant tampon pH 9)	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Globules rouges formolés + Héparine (à 0,4p.100) (Diluant albumine à 0,4p.100)	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-

d) Influence de l'âge des animaux servant à la préparation de l'antigène.

Les résultats comparatifs obtenus, en utilisant des souriceaux et des souris adultes sont rapportés également dans le tableau III. Les souriceaux utilisés dans cette expérience sont des souriceaux de 4 à 5 jours. Avec des souriceaux plus âgés (huit jours et plus) l'agglutination non spécifique est de plus en plus élevée et à partir de 15 à 20 jours elle correspond à celle de l'antigène préparé avec du cerveau de souris adultes.

On voit tout l'intérêt qu'il y a d'utiliser le souriceau nouveau-né ; d'une part, le titre en virus du cerveau est plus élevé, donc le titre hémagglutinant est supérieur, d'autre part l'agglutination non spécifique due à la protamine est moins marquée qu'avec le cerveau de souris adulte.

e) Influence de la température d'incubation :

On prépare un antigène alcalin 10 p. 100 protamine (5 mg par ml d'antigène) à partir d'un cerveau de souris non inoculée de peste équine. Les dilutions d'antigène sont faites en diluant albumine à 0,2 p. 100. La réaction est lue une heure et demie après l'addition de globules rouges de cheval à 0,5 p. 100, l'incubation étant faite à 4 °C, 25 °C et 37 °C. On constate qu'à 4 °C l'action hémagglutinante de la protamine est légèrement moins élevée qu'à la température ordinaire et qu'à 37 °C. Comme on le verra plus loin cette observation a une application pratique dans la réaction d'inhibition de l'hémagglutination. Ces résultats sont rapportés dans le tableau IV : ne sont mentionnés sur ce tableau que les résultats obtenus à pH 6,4. En effet, aux pH 5,75, 6, 6,2, 6,4, 6,6, 6,8, 7 et 7,2, les différences observées à 4 °C, 25 °C et 37 °C sont de même ordre.

f) Influence du temps de lecture :

L'agglutination non spécifique est stable. Une fois les tubes ou les plaques sortis de l'étuve, ou du réfrigérateur, la lecture donne les mêmes résultats après une, deux, trois ou plusieurs heures.

g) Influence du tampon de dilution de l'antigène :

Si les réactions d'agglutination sont effectuées avec le même lot d'antigène, de protamine et

de globules rouges de cheval, on constate que, pour un même temps et une même température d'incubation, le titre d'agglutination dû à la protamine est beaucoup plus élevé avec un diluant phosphate pH 9 qu'avec le même diluant à 0,4 p. 100 d'albumine. Le tableau V met en évidence cette constatation. Ne sont mentionnés sur ce tableau que les résultats obtenus à pH 6,4. En effet, aux pH 5,75, 6, 6,2, 6,4, 6,6, 6,8, 7 et 7,2, les différences observées avec les deux diluants sont du même ordre de grandeur.

Utilisant un même lot et une quantité égale de protamine ces résultats sont toujours vérifiés, que l'on utilise un antigène préparé à partir de cerveau de souris ou de cobaye, que la technique de la préparation de l'antigène soit celle de l'antigène sucrose-acétone-protamine ou alcalin-protamine. Les dilutions de l'antigène en tampon albumine réduisent donc considérablement cette hémagglutination de nature non virale.

L'influence de la quantité d'albumine a été également étudiée. Il était intéressant en effet de voir si en augmentant la quantité d'albumine dans le diluant l'agglutination non spécifique n'allait pas aller en diminuant. Malheureusement l'on constate qu'il y a un seuil d'action de l'albumine qu'on ne peut dépasser. Ainsi les résultats sont pratiquement les mêmes, que l'on utilise un diluant à 0,1, 0,2, 0,35, 0,45, 0,6, 0,8, 1,2 et 1,6 p. 100 d'albumine. C'est pourquoi dans la pratique on utilise 0,2 à 0,4 p. 100 d'albumine dans le diluant. Quels que soient le pH et la nature de l'antigène, la quantité d'albumine, au-dessus de 0,2 p. 100, ne semble pas influencer sur l'agglutination non spécifique due à la protamine.

h) Influence de la nature des globules rouges :

— Les propriétés hémagglutinantes du virus de la peste équine n'ont pu jusqu'à ce jour être mises en évidence qu'avec les globules rouges de chevaux. Le tableau I donne les résultats obtenus avec les différents antigènes et avec les globules rouges de différentes espèces animales.

— Quant à l'agglutination des globules rouges par la protamine, il faut rappeler que les tableaux II, III, IV et V concernent des expériences effectuées avec une suspension à 0,5 p. 100 d'hématies de chevaux. Il est donc inutile d'y revenir. Ne possédant que très peu de référé-

rences dans la littérature sur l'action hémagglutinante de cette substance sur les globules rouges des différentes espèces animales, il a paru intéressant d'étudier cette question. Ainsi un antigène alcalin 10 p. 100 préparé à partir de cerveaux de souris et de cobayes en utilisant 8 mg de protamine par ml d'antigène montre à pH 6,4 et jusqu'à la dilution 1/256 des propriétés agglutinantes pour les globules rouges de lapin, oie, souris, poule, rat, cheval en suspension à 0,5 p. 100. Par contre, l'agglutination observée dans les mêmes conditions d'expérimentation avec des globules rouges de dix moutons différents ne se manifeste qu'avec l'antigène pur. Les différents tableaux correspondant à cette expérimentation ne seront pas reproduits. Disons seulement qu'avec des antigènes cerveau de souris et cobaye alcalin 20 p. 100 aucune agglutination n'est observée vis-à-vis des hématies de mouton lorsque la protamine est utilisée à la dose de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 mg par ml d'antigène, alors qu'au même pH 6,4 l'agglutination des globules rouges des autres espèces mentionnées ci-dessus se manifeste jusqu'au 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, suivant la dose de protamine utilisée. A partir de 8 mg de protamine de ce même lot l'antigène pur est hémagglutinant pour les hématies de mouton. Avec 8, 10, 12 mg de cette même protamine par ml d'antigène l'action hémagglutinante de la protamine ne se manifeste sur les globules rouges de mouton qu'avec l'antigène pur et ceci avec l'antigène souris ou l'antigène cobaye. Avec des antigènes cobayes et souris alcalin 10 p. 100 au lieu de 20 p. 100, les résultats sont identiques pour les mêmes doses de la même protamine. Pour ces doses de 8, 10 et 12 mg de protamine, par ml d'antigène, les globules rouges des autres espèces sont agglutinés à pH 6,4 jusqu'au 1/128, 1/256 et même 1/512. La protamine a donc une action hémagglutinante très peu marquée sur les hématies de mouton. Il en est tout autrement pour les globules rouges des autres espèces animales étudiées.

— Il convient de signaler enfin que la propriété hémagglutinante de la protamine pour les globules rouges de chevaux est plus marquée lorsque les globules rouges de chevaux sont formolés (différence de deux à trois dilutions à chaque p_H). Le même antigène, préparé avec

le même matériel (cerveau souris, souris, cobaye) mais sans traitement à la protamine n'agglutine pas les globules rouges formolés et ceci à tous les p_H compris entre 5,75 et 7,2.

i) Influence de la lyophilisation :

Toujours dans le but d'éliminer l'agglutination non spécifique due à la protamine, on a étudié l'influence de la lyophilisation de l'antigène. Celle-ci ne supprime pas l'agglutination non spécifique observée avec des antigènes témoins traités à la protamine. Le titre agglutinant de ceux-ci n'est pas modifié.

j) Influence de la température de conservation et de la durée de conservation de l'antigène sur l'agglutination non spécifique.

On aurait pu penser qu'une maturation de l'antigène dans des conditions bien déterminées de température et de temps, compatibles avec le maintien de l'activité de l'hémagglutinine virale, serait susceptible de supprimer ou dans une certaine mesure de diminuer l'effet néfaste de la protamine. Malheureusement il n'en est rien et on a pu constater qu'après conservation à -10°C , $+4^{\circ}\text{C}$ et 27°C les antigènes témoins souris ou cobayes alcalin 10 p. 100 ou 20 p. 100 traités à la protamine, conservent du premier au quatorzième jour suivant la préparation de l'antigène la même activité hémagglutinante, avec ou sans lyophilisation. L'expérience n'a pas été poursuivie plus loin dans le temps.

k) Influence de la remise en suspension des globules rouges :

Opérant aux p_H 6 et 6,4, les antigènes témoins cerveau de cobaye et souris alcalin 10 et 20 p. 100 conservés un jour à -10°C , $+4^{\circ}\text{C}$, 27°C ne voient pas leur titre hémagglutinant baisser après remise en suspension des globules rouges de chevaux à la fin de la période d'observation d'une heure ; l'expérience est répétée toutes les heures pendant dix heures consécutives.

l) Suppression de l'action hémagglutinante de la protamine par l'héparine.

L'héparine diminue l'action hémagglutinante de la protamine pour les globules rouges de chevaux et les hématies formolées de la même espèce. Il a été effectué plusieurs essais avec des antigènes témoins cerveau souris alcalin 10 et 20 p. 100 et traités à la protamine à raison

de 2, 4 et 5 mg de protamine par ml d'antigène. Il est incontestable que l'héparine jouit d'une action favorable comme en rend compte le tableau VI. Mais l'héparine utilisée est à un pH compris entre 5 et 7. Le facteur de correction à ajouter lors de l'addition d'héparine aux réactifs en présence rend cette technique trop fastidieuse pour en faire une réaction de routine.

6° Conclusions sur la réaction d'hémagglutination avec le virus de la peste équine.

Le virus de la peste équine ne possède d'action hémagglutinante qu'avec les globules rouges de cheval. L'agglutination est maximum au pH 6,4, après incubation d'une heure à 37 °C. Les antigènes servant à la réaction de l'hémagglutination et de l'inhibition de l'hémagglutination étant pour la plupart tributaires d'un traitement à la protamine, on a cherché à éliminer l'action néfaste de cette substance dans la réaction. Certains facteurs n'influencent en rien sur l'action hémagglutinante de cette substance, d'autres la diminuent. En intervenant simultanément sur différents paramètres de la réaction, on supprime facilement et totalement l'agglutination non spécifique, et on opère ainsi avec tous les critères de sécurité voulus. Il faudra donc travailler à pH 6,4, avec un diluant albumine à 0,4 p. 100, utiliser des souriceaux nouveaux comme source d'antigène, et une protamine très purifiée. Le plus grand soin sera apporté au choix de celle-ci. Si elle n'est pas suffisamment pure, son activité hémagglutinante sera titrée et un facteur de correction apporté à la lecture du test d'agglutination. Dans la pratique courante du titrage d'un antigène de la peste équine traité à la protamine, il doit être exigé de faire la même réaction avec un antigène témoin préparé strictement dans les mêmes conditions. L'antigène témoin doit être négatif. C'est toujours le cas lorsque l'on respecte les conditions posées ci-dessus : pH 6,4, diluant albumine à 0,4 p. 100, souriceau nouveau-né, protamine de bonne qualité. On pourrait éventuellement accepter une différence de quatre ou cinq dilutions entre le titre hémagglutinant de l'antigène témoin et de l'antigène peste équine après traitement à la protamine, mais cette tolérance aura surtout toute sa valeur de sécurité dans la réaction d'inhibition de l'hémagglutination.

II. — Réaction d'inhibition de l'hémagglutination

1° Expérience fondamentale. Effet du sérum de cheval.

Il a été constaté que dans la réaction d'inhibition de l'hémagglutination le sérum de cheval diminue considérablement les propriétés hémagglutinantes de la protamine, vis-à-vis des globules rouges de cheval (tableau VII).

Ce phénomène est constant, il s'observe avec tous les sérums de chevaux. Ainsi s'efface avec la réaction d'inhibition de l'hémagglutination les dernières difficultés dues au pouvoir hémagglutinant de la protamine. Si une protamine peut dans certains cas gêner ou empêcher la réaction d'hémagglutination, la réaction d'inhibition de l'hémagglutination, elle, est possible avec une telle protamine. L'influence du sérum de cheval tient *proparte* à la présence d'albumines dans celui-ci mais vraisemblablement aussi à un autre facteur puisqu'il a été montré précédemment que la quantité d'albumine ne semble pas avoir d'influence sur l'activité hémagglutinante de la protamine.

2° Influence du tampon de dilution.

Les remarques qui ont été formulées à propos du rôle du tampon dans la réaction d'agglutination directe sont également valables ici comme le montre le tableau VIII. Dans la réaction directe comme dans la réaction d'inhibition, on utilisera donc le tampon albumine à 0,4 p. 100 de préférence au tampon phosphate pH 9. Le rôle favorable du diluant albumine est discret dans la réaction d'inhibition, masqué qu'il est par le rôle encore plus favorable du sérum, ce qui n'est pas le cas dans la réaction directe effectuée en l'absence de sérum.

3° Influence du kaolin.

Le kaolin est utilisé pour éliminer les inhibiteurs non spécifiques de l'hémagglutination. Il est utilisé à Farcha de préférence à l'acétone parce que le traitement au kaolin est plus rapide et moins onéreux et qu'il donne d'aussi bons résultats. Certains laboratoires traitent le sérum avec des suspensions de kaolin à 25 p. 100, d'autres avec des suspensions de kaolin à

TABLEAU N°VII

Effet favorable de sérum de cheval sur l'action hémagglutinante de la protamine

Antigène cerveau souris traité à la protamine (3mg/ml d'antigène)	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Agglutination directe	+	+	+	+	+	+	-
Inhibition de l'hémagglutination (avec sérum de cheval)	+	-	-	-	-	-	-

TABLEAU N°VIII

Influence de la nature du tampon de dilution de l'antigène sur la propriété hémagglutinante de la protamine dans la réaction d'inhibition de l'hémagglutination.

Antigène cerveau souris Alcalin 20 p.100 Traité à la protamine Diluant albumine à 0,4p.100	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	Témoin GR
4 mg protamine/ml d'antigène { a b	+ +	+ +	+ +	+ ±	- -	- -	- -	- -
6 mg protamine/ml d'antigène { a b	+ +	+ +	+ +	+ +	+ -	- -	- -	- -
10 mg protamine/ml d'antigène { a b	+ +	+ +	+ +	+ +	+ -	+ -	- -	- -
12 mg protamine/ml d'antigène { a b	+ +	+ +	+ +	+ +	+ ±	+ -	- -	- -

a = diluant tampon phosphate pH9 ; b = diluant albumine à 0,4p.100.

TABLEAU N°IX

Influence de l'incubation du système antigène-sérum sur l'hémagglutination due à la protamine dans la réaction d'inhibition de l'hémagglutination.

Antigène cerveau souris Alcalin 20 p.100 traité à la protamine (diluant : tampon pH 9)	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	Témoin G.R.	Témoin sérum
6mg protamine/ml d'antigène { a b	+ +	+ -	+ -	- -	- -	- -	- -	- -
8mg protamine/ml d'antigène { a b	+ +	+ ±	+ -	- -	- -	- -	- -	- -
10mg protamine/ml d'antigène { a b	+ +	+ +	+ +	+ ±	+ -	+ -	- -	- -
12mg protamine/ml d'antigène { a b	+ +	+ +	+ +	+ +	+ ±	+ -	- -	- -

(a = incubation d'une heure à température ambiante (27° C); (b = incubation de vingt heures au frigidaire, à + 4° C.

15 p. 100. Il a été réalisé pour cette étude des réactions d'inhibition de l'hémagglutination avec des antigènes protaminés et des sérums traités au kaolin à 15 p. 100, à 20 p. 100, à 25 p. 100. Aucune différence ne se manifestant dans les résultats nous avons adopté, de façon définitive, la suspension à 25 p. 100 de *kaolin lavé aux acides*.

4° Influence de l'incubation du système antigène sérum sur l'hémagglutination due à la protamine.

Nous avons vu à propos de l'hémagglutination directe qu'après une heure d'incubation à 4 °C l'agglutination due à la protamine était légèrement inférieure à celle observée avec les mêmes réactifs après incubation pendant le même temps à 37 °C ou à 27 °C. La remarque est également valable dans la réaction d'inhibition de l'hémagglutination. Après une incubation de 18-20 heures à 4 °C avant addition des globules rouges, l'inhibition de l'action hémagglutinante de la protamine est plus complète comme le montre le tableau IX où la réaction est effectuée en utilisant comme précédemment du sérum de cheval de France traité au kaolin.

5° Conclusions sur la réaction d'inhibition de l'hémagglutination :

La réaction d'inhibition de l'hémagglutination dans la peste équine se fera donc à pH 6,4 en diluant albumine à 0,4 p. 100, en utilisant un antigène préparé avec des encéphales de souriceaux nouveau-nés et une protamine de bonne qualité. Le sérum sera traité au kaolin et l'incubation du système sérum-antigène (4 à 8 unités) sera faite à 4 °C pendant dix à vingt heures.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

1° Les réactions d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination avec le virus de la

peste équine ne posent pas de difficultés lorsque la protamine utilisée pour la préparation des antigènes est de bonne qualité et sous réserve de travailler dans les conditions suivantes :

- pH 6,4,
- diluant albumine à 0,4 p. 100,
- encéphale de souriceau nouveau-né comme source d'antigène,
- incubation de 10 à 20 heures à 4 °C dans le test d'inhibition.

Dans ces conditions, l'hémagglutination non spécifique est supprimée.

2° La réaction d'hémagglutination directe avec le virus de la peste équine est délicate lorsque la protamine utilisée est de qualité moyenne et que le type de virus utilisé a un faible taux hémagglutinant (type 5 par exemple). Avec un tel type de virus et une protamine de mauvaise qualité, la lecture du test comparée à celle de l'antigène témoin ne présente pas une marge de sécurité suffisamment grande pour que ce test soit recommandé.

En tout état de cause, il paraît que l'on devrait s'abstenir d'utiliser le test d'hémagglutination pour définir le type sérologique d'un virus de la peste équine.

3° La réaction d'inhibition de l'hémagglutination par contre est toujours possible même avec une protamine de qualité médiocre.

4° Dans tous les cas, les réactions seront effectuées avec un antigène témoin préparé dans les mêmes conditions que l'antigène hémagglutinant.

*Institut d'élevage et de Médecine
Vétérinaire des Pays Tropicaux.
Laboratoire de Recherches Vétérinaires
de Farcha, Fort-Lamy, Tchad.*

SUMMARY

Hemagglutination and Hemagglutination inhibition tests with horse sickness virus. Limits of their interpretation

The role played by the various factors in the H. T. and H. I. T. with horse sickness virus i. e. antigen, red cells, pH, protamine, buffer has been studied. The authors came to the conclusion that some requirements have to be met in order to ascertain the full value of both tests.

RESUMEN

Las reacciones de hemaglutinación y de inhibición de la hemaglutinación con el virus de la peste equina. Límites de su interpretación

Se mostró la influencia de varios factores que desempeñan un papel en las reacciones de hemaglutinación y de inhibición de la hemaglutinación con el virus de la peste equina : antígeno, glóbulos rojos, pH, protamina, tampón. Al fin, los autores notaron que se necesita un cierto número de condiciones para asegurar la valor total de dichas reacciones.

BIBLIOGRAPHIE

1. CLARKE (D. H.) et CASALS (J.). — **Techniques pour l'hémagglutination et l'inhibition de l'hémagglutination avec les arbovirus.** *Amer. J. Trop. Med.*, 1958, 7 : 651.
2. DELPY (J.). — **Préparation d'un antigène purifié (protamine-éther) pour la sérologie des affections du groupe Coxsackie.** *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, 84 : 780-782.
3. PAVRI (K. M.). — **Hémagglutination et inhibition de l'hémagglutination avec le virus de la peste équine africaine.** *Nature*, 1961, 189 : 249.
4. PAVRI (K. M.) et ANDERSON (C. R.). — **Réaction d'inhibition de l'hémagglutination avec différents types de virus de la peste équine africaine.** *Ind. J. Vet. Sci.*, 1963, 33 : 113-117.
5. PORTEFIELD (J. S.) et ROWE (G. B.). — **Hémagglutination des arbovirus. Inhibition de l'hémagglutination par certains phospholipides.** *Virology*, 1960, 11 : 765-770.

Note sur l'action du sulfate de sodium, du sulfate de magnésium et du chlorure de magnésium sur le virus de la peste bovine adapté aux cultures cellulaires

par P. ROBIN et P. BOURDIN

RÉSUMÉ

Le virus de la peste bovine atténué par passages sur cultures cellulaires, mis en solution et chauffé à 50 °C, est inactivé très rapidement en présence de chlorure de magnésium à la concentration molaire, alors qu'il est thermo-stable en présence de sulfate de magnésium ou de sulfate de sodium à la concentration molaire. La thermo-stabilité diminue avec l'abaissement de la concentration de ces deux sulfates.

Les travaux de RAPP et WALLIS (1) sur la stabilisation thermique du virus de la rougeole par les ions sulfates et les recherches de WALLIS, MELNICK et RAPP (2) sur les effets du chlorure de magnésium et du sulfate de magnésium sur d'autres myxovirus (Influenza, Parainfluenza, Rubéole), ont fait penser que les ions sulfates devaient avoir un rôle protecteur vis-à-vis de l'inactivation thermique du virus de la peste bovine en solution, tandis que le chlorure de magnésium devait accélérer l'inactivation thermique de ce même virus.

MATÉRIEL ET TECHNIQUE

Cultures cellulaires.

La méthode utilisée est celle décrite par PLOWRIGHT et FERRIS (3). Les cellules proviennent de reins d'embryons de bovins de première explantation. La concentration est de 1 ml de culot cellulaire pour 400 ml de milieu nutritif. Ce milieu est composé d'une solution saline de HANKS enrichie de 0,5 p. 100 d'hydrolysate de lactalbumine et 0,1 p. 100 d'extrait de

levure, à laquelle on ajoute du sérum dans les proportions variables suivantes :

- 10 p. 100 de sérum de veau dans la suspension cellulaire de départ.
- 5 p. 100 de sérum de bœuf au premier changement de milieu qui coïncide dans les expériences avec l'ensemencement du virus.
- 2 p. 100 de sérum de bœuf aux changements suivants.

Par millilitre de milieu, on ajoute 500 UI de pénicilline, 100 gamma de streptomycine, 50 UI de mycostatine et 25 gamma de Kanamycine.

Pour éviter les changements de milieu trop fréquents à effectuer lorsque le virage de l'indicateur coloré indique un pH acide, on ajoute à partir du premier changement, 3,2 p. 100 d'une solution de bicarbonate de sodium à 25 p. 1.000.

Souche de virus bovipestique.

Toutes les expériences sont faites avec la souche « Kabete O » adaptée aux cultures cellulaires et atténuée par PLOWRIGHT et FERRIS en 1957.

D'un stock de départ constitué en juin 1965 et conservé à l'état lyophilisé, il a été fait deux lots de virus, mélangés à parties égales avec du Mist Dessicans additionné de lactose et d'hydrolysate de lactalbumine d'après JOHNSON (4) et lyophilisé. Le titre de chacun de ces lots a été déterminé et figure au chapitre « résultats ».

Sels minéraux.

Des solutions molaires de sulfate de magnésium, de chlorure de magnésium et de sulfate de sodium sont préparées par dissolution sur agitateur d'une molécule-gramme de chacun des sels dans un litre d'eau bidistillée.

Sont également préparées, à partir des solutions molaires de sulfate de magnésium et de sulfate de sodium, des solutions diluées de ces sels contenant 0,5 mole, 0,1 mole, 0,05 mole, 0,01 mole, 0,005 mole, 0,001 mole par litre.

Les diverses solutions sont ensuite ajustées à pH 7 par addition de soude normale, puis stérilisées par chauffage à l'autoclave à 120 °C.

Technique de chauffage des suspensions de virus.

Dans une première série d'expériences, l'influence des sels est appréciée par rapport à l'eau. L'abaissement du titre du virus est contrôlé à l'issue d'intervalles réguliers de temps de chauffage.

Le contenu lyophilisé de deux flacons de 1 ml du mélange à parties égales du virus et de Mist Dessicans est dissous dans 10 ml de la solution molaire saline dont on veut apprécier le pouvoir de conservation du virus à l'égard de la chaleur.

La même opération est réalisée avec deux autres flacons du même lot à l'aide d'eau bidistillée dont le pH a été ajusté à 7.

La suspension au 1/10^e du virus ainsi obtenue est répartie, à raison de 2 ml par tube, en cinq tubes de 12 mm ; le premier tube, placé en glace fondante, servira à déterminer le titre du virus au temps 0. Les 4 autres tubes, placés sur un portoir, sont plongés dans un bain-marie à 50 °C. Chacun d'eux est successivement retiré après une durée de chauffage de 30', 60', 90' et 120'. Un thermomètre est placé dans un sixième tube du portoir contenant 2 ml d'eau bidistillée, pour le contrôle de la température.

Dans une deuxième série d'expériences,

l'influence des sels, est appréciée en fonction de leur concentration, la durée de chauffage étant de 2 heures pour les diverses solutions.

Dilution et inoculation.

A l'issue des temps de chauffage à 50 °C, chaque tube contenant la suspension au 1/10^e du virus dans les solutions de sels ou d'eau, est retiré du bain-marie et placé dans la glace fondante pour être soumis au titrage.

Des dilutions en séries décimales sont effectuées en solution de HANKS refroidie.

Dans la première série d'expériences, les dilutions et ensemencements sur tubes de cultures cellulaires sont effectués immédiatement dans la demi-heure suivant le retrait du tube du bain-marie.

Dans la deuxième série d'expériences et à l'issue de la période de chauffage de deux heures, il est procédé tout d'abord à la dilution du contenu des tubes chauffés. Dans les deux séries d'expériences, les suspensions au 1/10^e du virus chauffé ainsi que leurs dilutions décimales en solution saline de HANKS sont ensemencées chacune sur 5 tubes de cultures cellulaires âgées de 3 à 5 jours, à raison de 0,2 ml par tube de chacune des dilutions.

Les tubes de cultures cellulaires sont ensuite placés sur un tambour roulant pendant 2 heures à 37 °C. A l'issue de ce délai, tous les tubes reçoivent 2 ml du milieu nutritif à 5 p. 100 de sérum de bœuf.

OBSERVATIONS

Les tubes de cultures cellulaires sont observés au microscope inversé chaque jour à partir du 5^e jour après l'ensemencement. Au 12^e jour, les tubes sur lesquels la présence de l'effet cytopathogène n'est pas constaté sont considérés comme négatifs. Le titre final est déterminé selon la méthode de Reed et Munch.

RÉSULTATS

1^o Première expérience.

Variations du titre du virus de la peste bovine, souche « Kabete O » atténuée par passages sur cultures cellulaires, en solution dans l'eau et dans les différents sels à concentration molaire

en fonction de la durée de chauffage à 50 °C. Les résultats sont résumés dans le graphique n° 1.

Les titres du virus non chauffé mis en suspension dans des solutions molaires de sulfate de magnésium, de sulfate de sodium ou dans l'eau distillée sont comparables entre eux : $10^{-5,9}$ DICT₅₀ à $10^{-6,3}$ DICT₅₀.

Sont également comparables, les titres du virus placé en solutions molaires de sulfate de magnésium et de sulfate de sodium et chauffé 120 minutes au bain-marie à 50 °C. La baisse du titre du virus placé en solution de chlorure de magnésium dans la même expérience, est très forte puisque 30 minutes de chauffage suffisent pour le détruire et le rendre non titrable.

2^o Deuxième expérience.

Variation du titre du virus de la peste bovine, souche « Kabete O » atténuée par passages sur cultures cellulaires, en fonction de la concentration du sulfate de magnésium et du sulfate de sodium, après un chauffage de 2 heures au bain-marie à 50 °C. Les résultats sont résumés dans le graphique n° 2.

Les titres du virus « Kabete O » chauffé pendant 2 heures à 50 °C au bain-marie, décroissent régulièrement avec l'abaissement de la concentration molaire du sulfate de magnésium et du sulfate de sodium. Les deux courbes sont sensiblement comparables.

DISCUSSION

Il apparaît comme cela a été observé par WALLIS, MELNICK et RAPP (2) et par RAPP, BUTEL et WALLIS (1) pour le virus de la rougeole, de l'influenza, du parainfluenza et de la rubéole que le virus de la peste bovine a un comportement identique aux autres myxovirus vis-à-vis du chlorure de magnésium, du sulfate de magnésium et du sulfate de sodium. Comme ces auteurs ont pu le démontrer pour les myxovirus étudiés au cours de leurs recherches, le virus de la peste bovine est inactivé très rapidement à 50 °C en présence de chlorure de magnésium à concentration molaire, tandis que le sulfate de magnésium et le sulfate de sodium à concentration molaire lui confèrent une thermo-stabilité appréciable. Cette thermo-stabilité diminue avec l'abaissement de la concentration molaire.

Il conviendrait, et cela sera le but de notre prochaine expérimentation, de vérifier si le vaccin vivant contre la peste bovine, stabilisé par le sulfate de magnésium ou le sulfate de sodium, donne sur les bovins des résultats comparables au vaccin vivant non stabilisé.

*Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire
des Pays Tropicaux.*

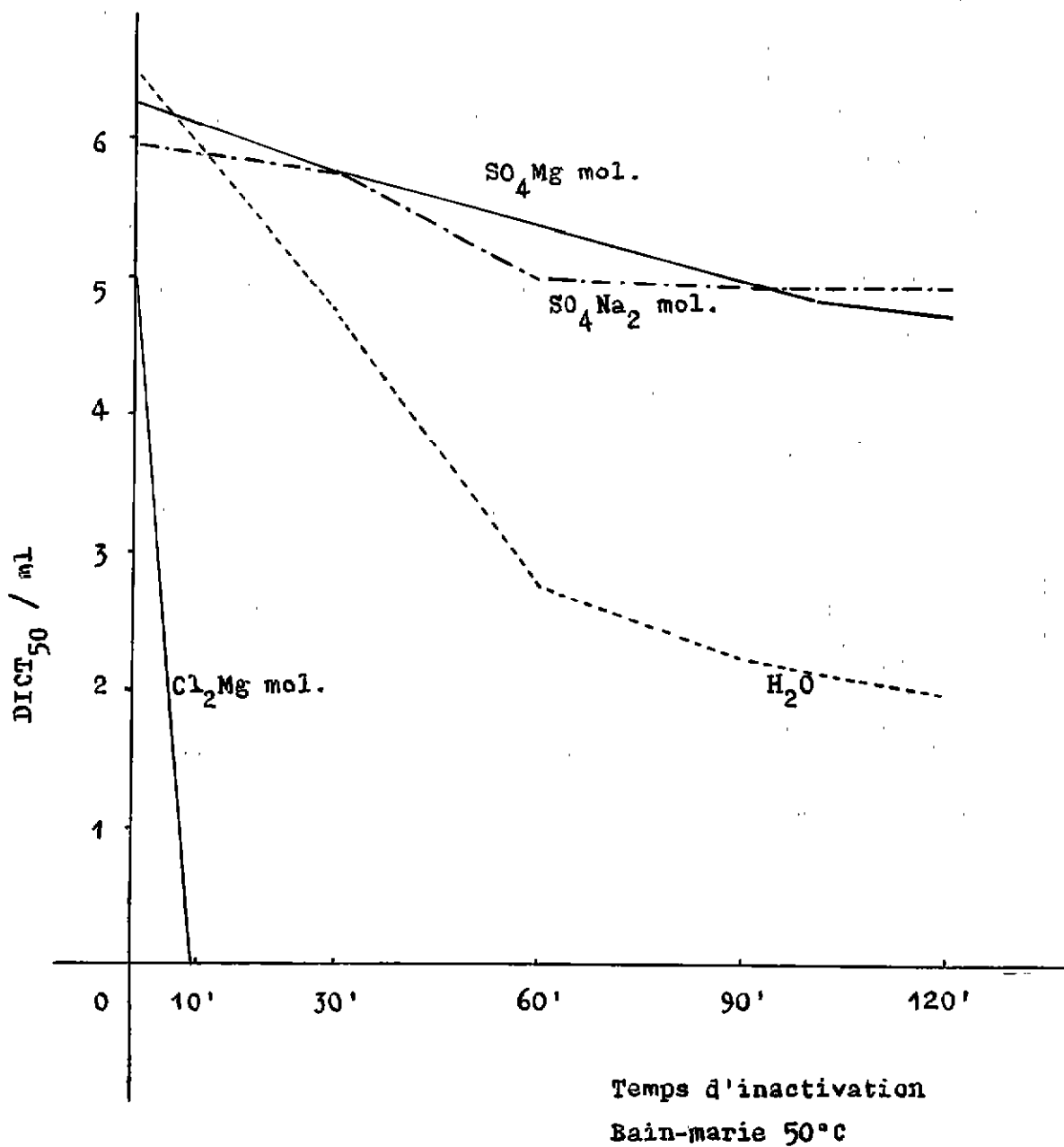
*Laboratoire National de l'Elevage
et de Recherches vétérinaires du Sénégal,
Dakar-Hann.*

SUMMARY

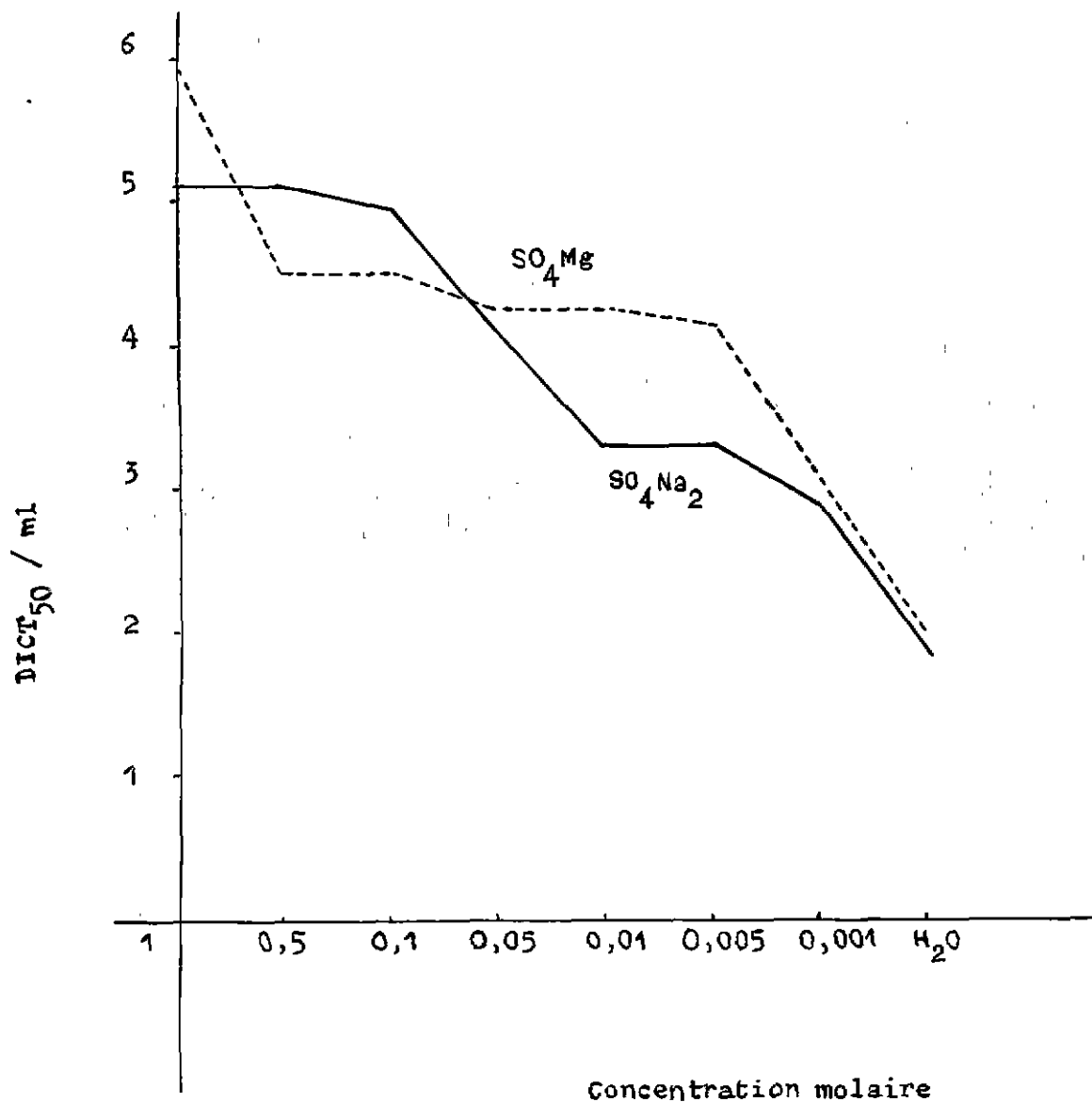
Note on the action of sodium sulphate, magnesium sulphate and magnesium chloride on Rinderpest virus adapted to cell culture

Rinderpest virus which had been attenuated by passages in cell cultures in solution and heating at 50 °C, was very quickly inactivated.

In the presence of magnesium chloride at molar concentration, but it is thermostable in the presence of magnesium sulphate and sodium sulphate at molar concentration. The thermostability was decreasing in relation to the concentration of both sulphates.



N°1- Courbe d'inactivation du virus "Kabete O" en solution de sels et dans l'eau en fonction de la durée de chauffage à 50°C



N°2- Stabilité du virus "Kabete 0" en fonction de la concentration du sulfate de magnésium et du sulfate de sodium.

RESUMEN

Nota sobre la acción del sulfato de sodio, del sulfato de magnesio y del cloruro de magnesio sobre el virus de la peste bovina adaptado con los cultivos celulares

El virus de la peste bovina atenuado por pasajes sobre cultivos celulares, en solución y calentado a 50 °C, se inactiva muy rápidamente con la presencia del cloruro de magnesio de concentración molar, mientras que es termoestable con la presencia del sulfato de magnesio o del sulfato de sodio de concentración molar. La termoestabilidad va disminuyendo con el descenso de la concentración de estos dos sulfatos.

BIBLIOGRAPHIE

1. RAPP (F.), BUTEL (J. S.) et WALLIS. — **Protection of measles virus by sulfate ions against thermal inactivation.** *J. Bacteriol.* 1965, **90**, 132-135.
2. WALLIS (C.), MELNICK (J. L.) and RAPP (E.). — **Different effects of $MgCl_2$ and $MgSO_4$ on the thermostability of viruses.** *Virology*, 1965, **26**, 694-699.
3. PLOWRIGHT et FERRIS. — **Studies with Rinderpest virus in tissue culture. A technic for detection and titration of virulent virus in cattle tissue.** *Res. Vet. Sci.*, 1962, **3**, 94.
4. JOHNSON (R. H.). — **Rinderpest in tissue culture. I. Methods for virus production.** *Brit. Vet. J.* 1962, **118**, 107.

Le test d'allergie et le diagnostic de la péripneumonie bovine

I. — Commentaires sur l'extraction de l'antigène protéique et étude expérimentale sur animaux de laboratoire.

par P. PERREAU

avec la collaboration technique de Melle P. GAYT
Institut d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux
(Laboratoire de Maisons-Alfort)

RÉSUMÉ

L'antigène protéique destiné aux tests d'allergie et préparé selon la méthode de R. N. GOURLAY (lyse par les ultra-sons et précipitation par le sulfate d'ammonium) est toujours plus ou moins contaminé par l'antigène lipopolyosidique de *Mycoplasma mycoides*.

Les lapins et les cobayes sensibilisés artificiellement par l'injection du mélange : Mycoplasmes-adjuvant de Freund répondent aux injections intradermiques de l'antigène protéique par un phénomène d'Arthus, qui semble provoqué aussi bien par la fraction protéique vraie que par la fraction lipopolyosidique.

La nature de cette hypersensibilité est confirmée par l'action de l'héparine sur les réactions cutanées et par la possibilité du transfert passif de cette allergie à un animal neuf.

La mise en évidence chez les animaux de laboratoire d'une hypersensibilité de type retardée reste difficile ; elle exige la préparation d'un antigène protéique pur.

Le document de travail présenté par R. N. GOURLAY (5) à la seconde réunion du Comité d'Experts à Muguga en 1964 avait vivement intéressé les assistants puisqu'il semblait que la réaction d'allergie spécifique allait pouvoir servir, seule ou en conjonction avec les méthodes sérologiques, au diagnostic de la péripneumonie.

Cette première publication n'abordait pas le problème de la nature de cette allergie ; mais, dans un autre rapport présenté à cette même conférence, A. PROVOST, J. M. VILLEMOT et C. BORREDON (10) montraient que les extraits antigéniques de *M. mycoides* injectés par la voie intradermique provoquaient un phénomène d'Arthus net chez les lapins préparés

par l'injection massive préalable d'un sérum de bovin malade.

Les travaux entrepris par R. N. GOURLAY se sont depuis poursuivis et ont donné lieu à une série de publications (4, 5, 6, 7, 8 et 11) qui laissent à penser, en tout état de cause, que le diagnostic allergique de la péripneumonie n'est ni une chose simple ni même sans doute une chose possible pour autant que l'on recherche une réaction d'allergie retardée de type tuberculinique, tout au moins dans nos conditions techniques actuelles.

Aussi croyons-nous utile d'apporter ici les résultats de nos observations puisque, suivant en cela les recommandations de la dernière

réunion du groupe d'experts, l'Institut d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux a poursuivi durant deux ans l'étude de la valeur de ce test.

Partant du principe qu'aucune méthode de ce genre ne peut passer dans l'application pratique avant que l'antigène de diagnostic ait été normalisé, nous avons donc essayé de préparer un antigène-type permettant à des opérateurs différents de pouvoir comparer leurs résultats ; la nature de l'allergie que cet antigène pouvait révéler fut aussi recherchée.

Puisqu'à l'origine c'était une fraction de nature protéique qui était mise en cause, nous avons conservé la méthode d'extraction de R. N. GOURLAY au moins dans ses deux temps essentiels, la lyse par les ultra-sons et la précipitation par le sulfate d'ammonium.

Les différents extraits (7 lots successifs d'antigène) ont été éprouvés dans un premier temps sur les animaux de laboratoire, ensuite sur des bovins malades naturels ou expérimentaux, au Sénégal et au Tchad (laboratoire de Dakar-Hann et de Fort-Lamy-Farcha).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Préparation de l'antigène (*)

1^o Souches de *M. mycoides* :

Ce sont la souche virulente B₁₇ originaire du Tchad et les deux souches vaccinales V₅ et T_{8/33}.

2^o Cultures :

Les récoltes microbiennes proviennent de cultures non agitées effectuées dans le milieu suivant :

Bacto-Tryptone Difco (ou Tryptone Oxoïd)	200 g
Extrait de levure Difco	60 g
Glucose	20 g
Chlorure de sodium	50 g
Phosphate disodique anhydre	25 g
Glycérine	10 g
Eau Q. S. pour	10 l

(*) Le tableau n° 1 schématise les différentes phases de l'extraction de l'antigène pour allergie ; ce procédé, à quelques modifications mineures près, est celui que nous avons suivi dans tous nos essais.

Elles sont utilisées soit dès leur obtention, soit après lyophilisation et conservation au congélateur à — 30 °C.

Dans tous les cas, les germes sont lavés au moins trois fois en solution physiologique (sérum isotonique normal ou P. B. S. de Dulbecco) afin de débarrasser l'antigène des éléments du milieu et notamment du sérum de cheval ou de mouton ; quelquefois, cinq centrifugations de lavage sont effectuées.

Les suspensions de mycoplasmes qui doivent être traitées par les ultra-sons ont une densité ajustée soit par la méthode optique (tubes n° 50, 80 ou 100 de Brown), soit par la méthode pondérale lorsqu'il s'agit de germes secs (10 ou 20 mg par ml).

Elles sont faites avec les solutions physiologiques déjà citées à propos des lavages ou avec de l'eau distillée.

3^o Centrifugations :

L'ensemble des centrifugations est effectué dans une centrifugeuse réfrigérée Servall RC-2, rotor SS-34 ; les mycoplasmes sont d'abord isolés du milieu de culture avec le système Szent-Gyorgyi, à débit continu.

a) Centrifugation de lavage des germes : à 12.000 tours durant 20 minutes, à une température inférieure à 10 °C.

b) Centrifugation séparative (après les ultra-sons) : à 18.000 tours durant 20 minutes, à 4 °C.

c) Centrifugation des précipités au SO₄(NH₄)₂ : à 6.000 tours durant 15 minutes à 4 °C.

4^o Traitement aux ultra-sons :

Nous avons employé un appareil MSE Mullard, à fréquence d'utilisation de 20 kilocycles/seconde et d'une puissance de 60 watts.

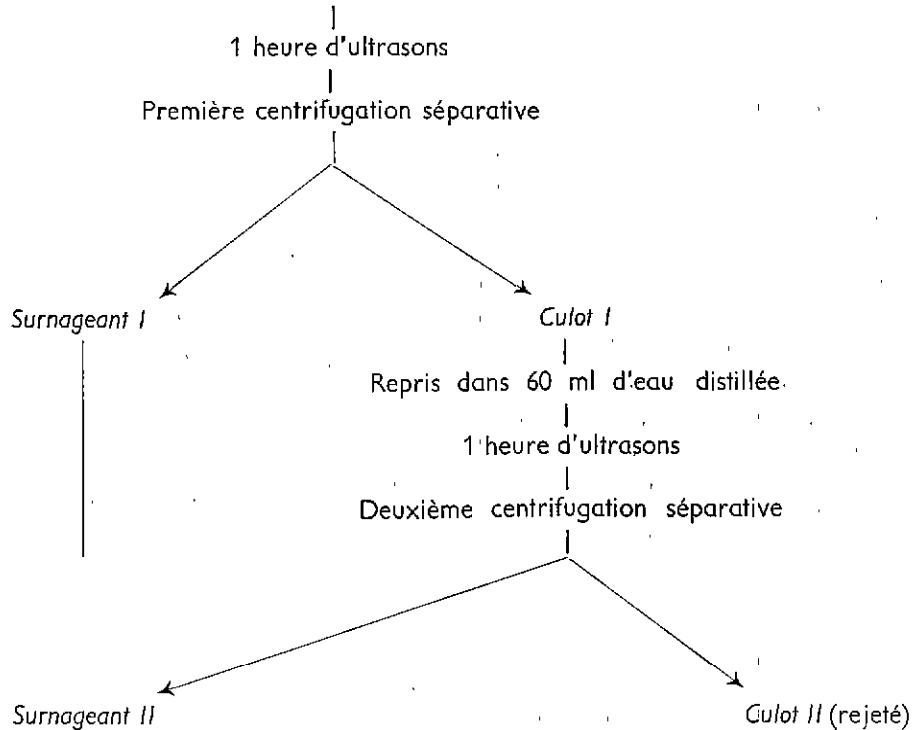
Les suspensions sont soumises à froid durant une heure aux ultra-sons ; une première centrifugation sépare un surnageant et un culot qui, repris dans un volume de diluant égal à la moitié du volume initial, est soumis à nouveau aux ultra-sons durant une heure. Une deuxième centrifugation sépare un second surnageant qui est ajouté au premier ; le culot final n'est pas utilisé pour l'extraction de l'antigène recherché. Nous n'employons donc pas le procédé de filtration pour séparer la phase « soluble » de la phase « insoluble ».

TABLEAU N° 1

Méthode d'extraction de la fraction protéique totale de *M. mycoïdes*

Exemple : préparation de notre lot d'antigène F₅ :

— Récolte de la souche B 17 (germes lavés 5 fois en P. B. S.), mise en suspension dans 160 ml d'eau distillée (l'opacité est celle du tube 100 de Brown).



Surnameant total (170 ml environ)

— 6 précipitations successives par le $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ à 50 p. 100,

— reprise du culot final dans 80 ml d'eau distillée et dialyse contre de l'eau physiologique à pH 7,

— concentration du dialysat à 80 ml par évaporation à froid,

— ajustement du pH à 7,2,

— addition de merthiolate à 1 p. 5.000,

— remise en solution « limpide » par un passage de quelques minutes aux ultra-sons,

— répartition en flacons et congélation.

N. B. Pour cet antigène, il n'a pas été utilisé d'urée et le pH n'a pas été maintenu en zone alcaline.

Nous avons, dans la moitié environ de nos essais, ajouté de l'urée (à concentration : 2,5 M) aux suspensions traitées, ainsi que le préconisait R. N. GOURLAY (5).

En ce qui concerne l'ajustement du pH, à une seule exception près, les diverses étapes de l'extraction ont été faites à des pH proches de la neutralité 7,2 pour le P. B. S. et 7,0 pour la solution de $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$.

5° Précipitations par le sulfate d'ammonium

Dans tous les cas, elles ont été faites à demi-saturation (50 p. 100) en mélangeant à parties égales les surnageants et la solution saturée de $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ correctement neutralisée par l'ammoniaque.

6 précipitations successives, avec remise en solution dans le diluant initial, sont suivies d'une dialyse contre du P. B. S.

Celle-ci terminée, l'antigène obtenu est concentré par évaporation à froid à un volume égal au 1/2 ou au 1/3 du volume de la suspension originelle de mycoplasmes.

Il est conservé congelé à -30°C après avoir reçu du merthiolate à 1/5.000.

B. Extraction de galactane

Elle est faite simplement par le phénol à chaud, selon le protocole de Westphal et Luderitz, comme nous l'avons déjà décrit (9).

C. Animaux de laboratoire

Cobayes et lapins ont servi à éprouver les fractions antigéniques obtenues, mais surtout les lapins de race Blanc du Bouscat, pesant 2 kg environ, nous ont donné d'excellents résultats.

Ces animaux étaient sensibilisés par une injection unique sous-cutanée de 1 ou 2 ml du mélange à parties égales : adjuvant complet de Freund et suspension dense (tube n° 20 de Brown) de mycoplasmes entiers.

Pour les cobayes, le volume inoculé était de 0,5 ml.

Les épreuves d'allergie ne commençaient pas avant qu'un délai de 4 semaines se fût écoulé après l'injection sensibilisante.

D. Tests d'allergie

Le jour de l'épreuve, les animaux recevaient par la voie intradermique, au niveau de la peau du flanc et après rasage, des volumes uniformes (0,05 ou 0,1 ml) de chacun des antigènes choisis.

Non seulement les fractions protéiques étaient injectées mais aussi, à titre de témoins de comparaison, des antigènes totaux de lyse par ultrasons, du lipopolyoside extrait par la méthode de Westphal, des dilutions du sérum animal employé pour la culture des germes et aussi des fractions protéiques traitées par la trypsine.

En outre pour une même série d'antigènes, les lapins sensibilisés étaient employés par lot de trois ; l'un traité par le Phénergan (*) avant les injections intradermiques (1 ml de la solution à 2,5 p. 100 par la voie intraveineuse, puis 1 ml une heure après par la voie intra-musculaire), le second traité par l'héparine (**) (200 unités internationales par la voie intraveineuse) et le troisième servait de témoin sensibilisé normalement.

La lecture des réactions commençait dès les premières 15 minutes et se poursuivait d'heure en heure au cours de la 1^{re} journée. Le lendemain les animaux étaient vus deux fois ; puis une seule fois par jour pendant une semaine.

E. Tests sérologiques

1. Immunodiffusion en gélose :

Cette méthode nous a beaucoup servi pour l'analyse immunologique des divers antigènes.

Elle était effectuée très simplement dans des boîtes de Pétri contenant le gel suivant, de pH 7 :

Gélose Noble Difco	12 g
Merthiolate de sodium	0,20 g
P. B. S. (Dulbecco) q. s.	1.000 ml

Les sérums précipitants étaient des sérums de référence préparés sur des lapins immunisés toujours par la méthode de Freund.

2. Hémagglutination passive:

Exécutée selon une méthode déjà décrite (9).

(*) Phénergan Specia (prométhazine), soluté à 2,5 p. 100.

(**) Héparine pure, F. Hoffman. La Roche et Cie.

3. Déviation du complément :

Elle a servi, comme la réaction précédente, au titrage des sérums des lapins sensibilisés ; la technique utilisée était du type Kolmer.

RÉSULTATS

1. Extraction de la fraction protéique de *M. mycoïdes* :

La lyse par les ultrasons est efficace et la suspension opaque de mycoplasmes s'éclaircit assez vite pour se transformer en un liquide translucide, de couleur jaune verdâtre plus ou moins foncé.

Les antigènes libérés (sinon solubilisés) représentent, au bout d'une demi-heure de traitement aux ultra-sons, 62,2 p. 100 du poids initial de mycoplasmes mis en suspension ; au bout d'une heure, 66,1 p. 100.

Si l'on prolonge ce traitement, cette proportion ne s'accroît plus dans de notables proportions.

Les culots obtenus par centrifugation sont constitués de particules pouvant être considérées comme des débris ou des fragments de mycoplasmes encore qu'il ne soit pas certain que la totalité des germes ait été vraiment détruite ; on peut cependant montrer qu'il n'existe plus de mycoplasmes viables.

Le milieu de suspension ne semble pas avoir une bien grande influence sur l'efficacité de cette lyse et l'eau distillée ne provoque pas une libération d'antigènes meilleure que l'eau physiologique ou le P. B. S.

Par contre, il est certainement préférable d'utiliser des germes frais plutôt que des germes lyophilisés ; ceux-ci semblent, dans la majorité des cas, fournir des surnageants moins riches en antigènes libérés, ce qui peut s'expliquer par les transformations physiques quelquefois irréversibles que la dessiccation provoque sur les antigènes lipopolyosidiques de surface et qui se manifestent essentiellement par une grande diminution de leur solubilité.

Comme GOURLAY (5) l'a décrit, une filtration sur filtre Millipore HA retient sur le disque un dépôt très important plus ou moins visqueux ; mais le filtrat obtenu passe encore difficilement sur des Millipore GS ou VM, où il abandonne toujours des dépôts visqueux, ce qui entraîne

une perte non négligeable d'antigène doué d'activité.

Aussi avons-nous, par souci de simplification, abandonné les filtrations pour nous en tenir à une simple centrifugation à vitesse élevée, permettant de séparer un surnageant apparemment débarrassé de tout élément particulaire.

Il est vrai aussi que l'addition d'urée à 2,5 M ou l'ajustement du pH à une valeur élevée (≥ 9) semblent favoriser la solubilisation des antigènes libérés ; les surnageants sont plus translucides et les culots souvent plus petits.

Il est cependant encore très vrai que, même avec ces procédés, les filtrats ou les surnageants ne contiennent pas que des antigènes réellement solubles. En dehors du fait qu'ils ne sont jamais vraiment limpides, il suffit de les placer une nuit au réfrigérateur (ou même de les abandonner à la température du laboratoire) pour qu'y apparaissent spontanément des précipités granulaires ou floconneux, que l'on peut éliminer par centrifugation. Le lysat retrouve alors une limpidité temporaire, car ce phénomène de précipitation se poursuit avec le temps.

Cette observation vaut également pour la solution finale d'antigène, obtenue après les précipitations au sulfate d'ammonium et la dialyse ; il est pratiquement impossible d'avoir une solution vraie, à moins d'élever le pH à une valeur ≥ 11 , ce qui nous paraît incompatible avec l'usage que l'on prévoit pour cet antigène.

Les particules qui « naissent » dans cet extrait protéique peuvent se disperser et apparemment disparaître, lorsque celui-ci est soumis durant quelques minutes aux ultra-sons ; c'est le procédé que nous avons choisi. Dès la fin de ce traitement, l'antigène est immédiatement congelé et le restera jusqu'à son emploi.

2. Caractères des réactions allergiques chez les animaux de laboratoire et nature de cette allergie.

Nous décrivons essentiellement nos observations sur le lapin ; les expériences faites sur les cobayes seront brièvement citées.

Les lapins, au moment où ils reçoivent les injections intradermiques d'antigènes, ont un titre d'anticorps spécifiques allant du 1/160 au 1/640 pour la déviation du complément et du 1/320 au 1/1.280 pour l'hémagglutination pas-

sive ; ils ont tous des précipitines spécifiques, ainsi que le montre la précipitation interfaciale en tube.

Si l'immunisation des animaux a été effectuée avec l'adjuvant de Freund, c'est bien parce que cette méthode est réputée la meilleure pour conférer l'hypersensibilité vis-à-vis d'un antigène donné, qu'elle soit retardée ou immédiate.

D'une façon générale, les lapins sensibilisés répondent à l'injection intradermique de l'antigène protéique de *M. mycoides* par une réaction rapide (sinon immédiate) caractérisée par une grosse papule érythémateuse, à centre congestif ou même hémorragique (cf. photo n° 1).

Cette réaction déjà visible au bout de 20 à 30 minutes, devient très nette en quelques heures et passe par un maximum entre 16 et 24 heures, au moins pour ce qui est du diamètre de la papule et de l'épaisseur du plateau œdémateux. Si la réaction est intense le centre congestif devient rapidement violet et évolue vers la nécrose, si bien qu'au 4^e jour subsiste seulement une escarre en dépression, circulaire et comme taillée à l'emporte-pièce (voir photo n° 7). L'œdème proprement dit disparaît ou régresse fortement dès le 2^e jour. Le même phénomène s'observe sur les cobayes sensibilisés.

Cette nécrose n'est pas obligatoire, elle signe seulement une réaction marquée ; elle dépend aussi, nous y reviendrons, de la nature des antigènes injectés.

Il est à souligner :

a) Que le traitement préalable de l'animal par le Phénergan (une heure avant les injections intradermiques) modifie l'aspect de la réaction, mais ne la supprime pas. En effet, chez les lapins qui n'ont pas reçu d'antihistaminique, la lésion cutanée locale est très vite congestive, noyée dans une atmosphère œdémateuse et les vaisseaux superficiels périphériques sont très nettement dilatés, de telle sorte qu'il arrive que la papule centrale ne se repère bien que par le point d'injection. Au contraire, chez les lapins traités au Phénergan, ces phénomènes congestifs locaux sont supprimés et la réaction cutanée apparaît sous la forme d'une papule plate à bord très net et à centre nécrotique bien individualisé (voir les photos n° 2 et n° 3).

b) Que le traitement préalable par l'héparine de l'animal sensibilisé tempère très nettement

l'intensité de la réaction cutanée ; l'œdème initial local est plus réduit, il disparaît souvent en quelques heures et les phénomènes de nécrose centrale n'existent plus. Bref, l'héparine possède une action « abortive » sans équivoque sur ce phénomène d'hypersensibilité.

c) Que ces antigènes déclenchent les mêmes réactions cutanées chez les animaux neufs qui ont reçu immédiatement avant une quantité suffisante d'un sérum précipitant, qu'il soit celui d'un bœuf malade (10) ou celui d'un animal immunisé artificiellement.

La méthode de transfert la plus commode est d'ailleurs le phénomène d'Arthus inversé : un lapin neuf reçoit dans le derme 0,1 ml du sérum à éprouver, puis sans délai reçoit par la voie intra-veineuse 2 ml de l'antigène pour test d'allergie.

Les résultats sont très nets et sans équivoque.

Ces constatations indiquent que la réaction cutanée du lapin sensibilisé expérimentalement relève avant tout d'un mécanisme de type Arthus peut-être associé au départ à un phénomène d'anaphylaxie immédiate locale qu'on supprime facilement par l'emploi d'un antihistaminique. L'efficacité de ce dernier ne peut toutefois constituer la preuve d'une sensibilité d'ordre anaphylactique, puisque le Phénergan est actif aussi pour des réactions inflammatoires qui n'ont pas l'allergie pour origine.

Il est tout aussi difficile de nier que d'affirmer l'existence d'une allergie de type retardée, mais l'observation des animaux d'expérience laisse à penser que ses manifestations ne doivent être que fort discrètes, masquées par l'évolution du phénomène d'Arthus qui reste l'élément majeur de la réaction. En tempérant celui-ci, le traitement par l'héparine devrait la révéler, mais nous ne l'avons jamais identifiée de façon certaine.

Chez le cobaye, les observations sont identiques.

Il existe dans ces expériences, une source d'erreur qu'il ne faut en aucun cas sous-estimer ; les lapins immunisés, surtout avec les adjuvants de Freund, par des mycoplasmes cultivés dans un milieu au sérum de cheval, ont habituellement des anticorps anti-cheval à des titres non négligeables, même s'ils ont reçu des germes lavés plusieurs fois et par conséquent du sérum à l'état de traces infimes.

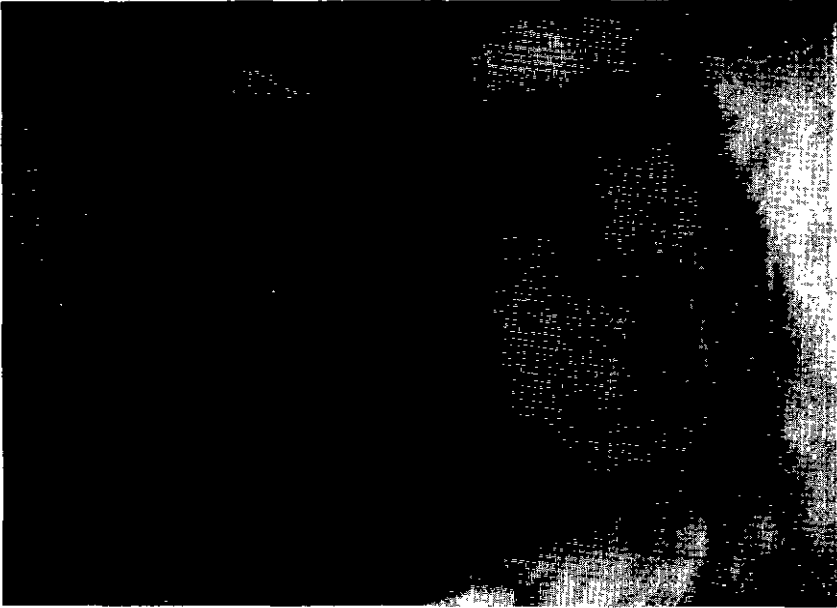


Photo n° 1. — Lapin 39/7 ; réactions de 8 heures
Réaction n° 1 : 0,05 ml de l'antigène originel de R. N. GOURLAY.
— 2 : 0,1 ml du lot d'antigène n° 4 (avec urée).
— 3 : 0,1 ml de l'antigène total de *M. mycoides* B 17.
— 4 : 0,1 ml de sérum de cheval au 1/100.

Ce lapin possédait une hypersensibilité vis-à-vis des protéines sériques de cheval, comme le montre l'inoculation de contrôle en 4 ; c'est la seule réaction qui n'ait pas un centre hémorragique et elle sera complètement disparue le lendemain, au contraire des 3 autres.

En 3, le phénomène d'Arthus est intense, avec l'antigène total (de lyse par ultra-sons) de la souche virulente B 17 cultivée sur milieu au sérum de mouton.



Photo n° 2. — Lapin n° 7 non traité par le Phénergan.

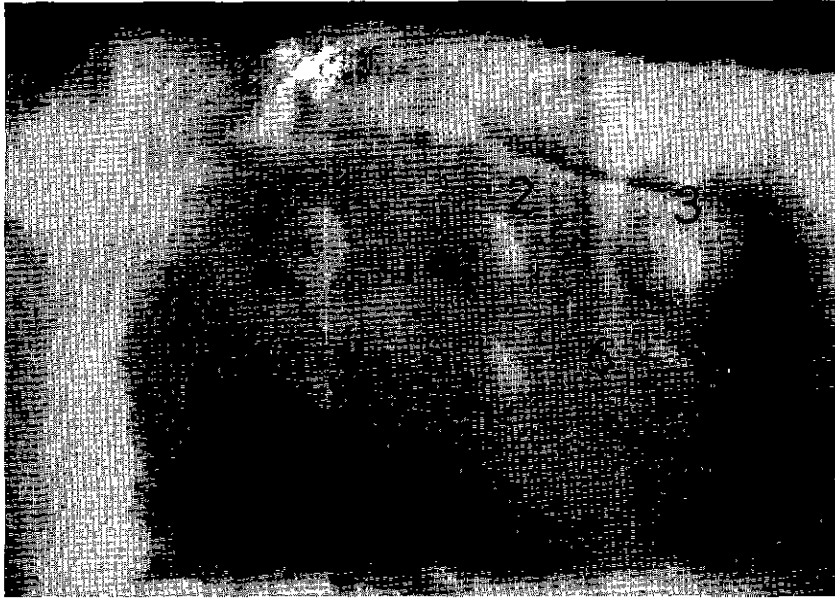


Photo n° 3. — Lapin n° 15 traité par le Phénergan. Les réactions sont photographiées au bout de 3 heures seulement ; elles doubleront encore de diamètre.

- 1 : 0,1 ml du lot F₅.
- 2 : 0,1 ml du lot F₅ dilué au 1/2.
- 3 : 0,1 ml du lot F₅ dilué au 1/5.
- 4 : 500 µg de galactane sous le volume de 0,1 ml.
- 5 : 250 µg — — —
- 6 : 125 µg — — —

L'influence du Phénergan est particulièrement nette et, sur le lapin 15, on voit que le galactane seul provoque une réaction qui est environ de moitié moindre que celle provoquée par l'antigène F₅.

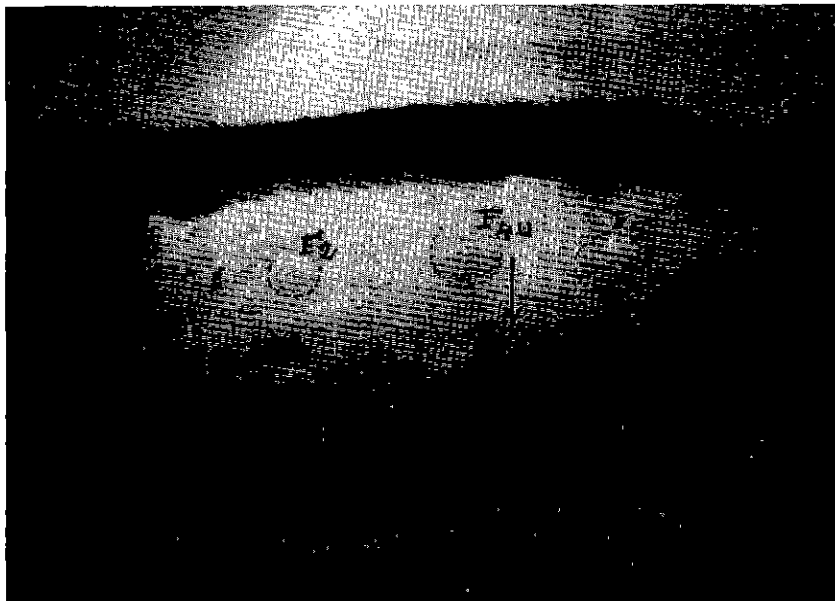


Photo n° 4. — Lapin n° 11 traité par le Phénergan.
En haut, 3 lots d'antigène protéique F₂, F_{4U} et F₅ (0,1 ml). En bas, le galactane et les antigènes F_{4U} et F₅ traités par la trypsine (0,1 ml)
Le lot F₂ semble peu actif, mais pour le reste les réactions sont sensiblement équivalentes.

L'expérience nous a montré qu'il fallait au minimum 6 lavages par centrifugation pour avoir des chances d'éliminer le sérum de la suspension antigénique.

Aussi avons-nous finalement choisi d'immuniser les animaux avec des mycoplasmes cultivés sur milieu au sérum de mouton, tandis que les antigènes d'allergie étaient extraits de cultures sur milieu au sérum de cheval (ou inversement).

3. Les antigènes « déchainants » sont-ils exclusivement protéiques ?

L'étude chimique et immunologique des différents lots d'antigène que nous avons préparés a montré qu'aucun d'entre eux n'était constitué exclusivement de protéines.

Le meilleur que nous ayons obtenu, le lot n° 5 contenait, par millilitre, 0,88 mg de matière sèche où la fraction protéique ne comptait que pour 65,9 p. 100 (0,58 mg) (*).

Un autre lot n° 4, très actif, ne contenait que 0,38 mg/ml de protéines pour un poids de matières sèches de 1,19 mg/ml (soit 31,9 p. 100).

Les épreuves immunologiques montrèrent alors qu'à côté de la fraction protéique existait constamment dans ces antigènes une fraction lipopolysidique (« galactane » ou éléments dérivés). En effet :

a) Tous nos extraits pouvaient servir à sensibiliser des hématies de mouton pour l'hémagglutination passive sans aucun traitement préalable de ceux-ci par l'acide tannique, propriété bien connue des lipopolysides ou polysides bactériens.

Il était d'ailleurs possible d'apprécier la richesse en galactane des antigènes en employant la méthode des dilutions ; c'est ainsi que le lot n° 5, considéré comme le plus pur en protéines, sensibilisait les hématies à l'état brut et à la dilution au 1/2 ; à la dilution du 1/5, cette propriété était perdue. En tenant compte de résultats précédemment acquis (9), on peut admettre que cet antigène contenait environ 50 µg de galactane par ml.

L'adsorption de l'antigène par les hématies constitue d'ailleurs un procédé de purification

puisque'elles fixent sélectivement le lipopolyside (voir la photo n° 6) ; en répétant suffisamment l'opération, on arrive à éliminer complètement celui-ci.

Les antigènes plus concentrés, n° 4 et n° 6, sensibilisaient les hématies jusqu'à la dilution du 1/10 et du 1/25.

b) L'immuno-diffusion en gélose montrait sans équivoque que le « galactane » de *M. mycoïdes* était présent selon des proportions variables dans tous les lots d'antigènes protéiques.

Les photos n° 5 et n° 6 illustrent parfaitement ces observations : cette constatation nous rappelle que :

a) Le « galactane » de *M. mycoïdes* injecté par la voie intradermique à un lapin sensibilisé provoque un phénomène d'Arthus qui ne peut guère se distinguer de celui que déclenche l'antigène protéique. A des doses allant de 100 µg à 500 µg (voire 1 mg), il entraîne la formation rapide d'une papule dont le centre est souvent plus nettement hémorragique qu'avec l'extrait protéique et l'escarre qui s'ensuit plus sérieuse (cf. photo n° 7).

b) Le surnageant global des suspensions de *M. mycoïdes* traitées aux ultra-sons constitue aussi un bon antigène de réaction cutanée, et pour cause (voir photo n° 1) puisqu'il contient l'ensemble des précipitogènes.

Par ailleurs, les antigènes protéiques extraits selon la méthode de R. N. GOURLAY ne perdent pas leur activité, dans nos conditions expérimentales, lorsqu'ils sont traités par la trypsine ; du moins ne constate-t-on qu'un simple diminution de degré dans la réaction cutanée, ce qui laisse à penser qu'il y subsiste un antigène non protéique (voir la photo n° 4). La réaction de type d'Arthus qu'ils provoquent pourrait donc être « déclenchée » tout autant par leur fraction protéique que par leur fraction lipopolysidique ; au cours de la lecture de la réaction cutanée, la dissociation de la part qui revient à chacune d'entre elles est impossible.

DISCUSSION

Cette « contamination » des fractions protéiques microbiennes par les polysides des mêmes germes est chose courante en immuno-chimie ;

(*) Ces dosages ont été effectués par notre confrère J. P. PETIT que nous remercions très vivement pour son aide en ce domaine.

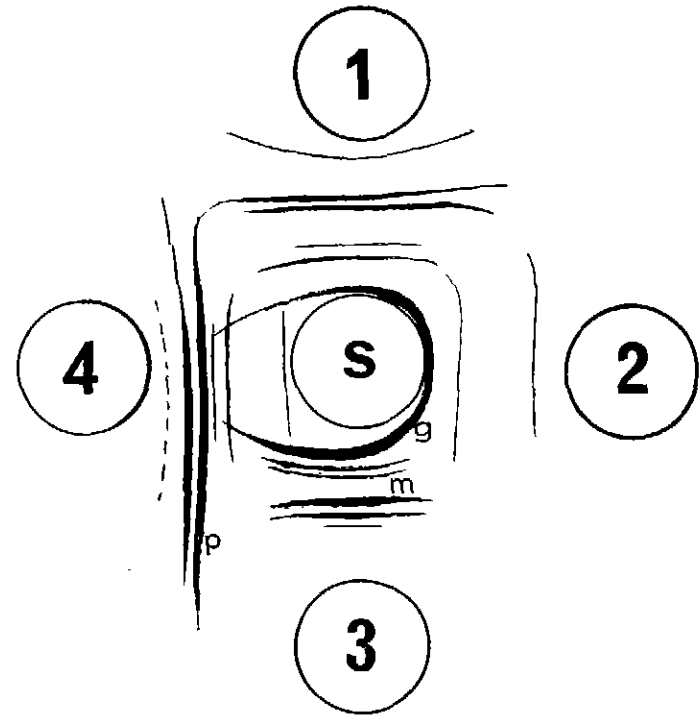
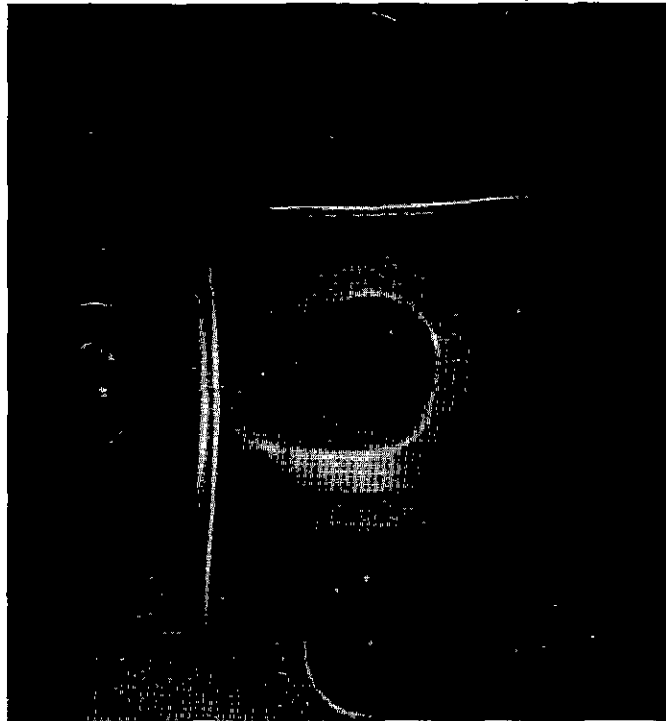


Photo n° 5 et Fig. n° 1. — Analyse antigénique de *Mycoplasma mycoides* et de l'antigène n° 5 par précipito-diffusion en gélose.

S : immunsérum précipitant de lapin (n° 68), en 1 : le produit total de lyse par les ultra-sons (surnageant pur) de *M. mycoides* (souche B 17), en 2 : le même antigène, mais les germes ont été traités dans la solution d'urée à 2,5 M, en 3 : le galactane de *M. mycoides*, en solution à 1 mg/ml, en 4 : l'antigène pour allergie n° 5.

On voit nettement : 1) que le galactane est un complexe antigénique se révélant par une ligne majeure (g) située au ras du réservoir de sérum et des lignes mineures plus éloignées (m) correspondant à des molécules à plus grande vitesse de diffusion.

2) que l'antigène total de lyse fournit au moins 6 lignes visibles de précipitation, dont la ligne majeure du galactane ; cet antigène est celui qui donne le phénomène d'Arthus très net de la photo n° 1,

3) que le même antigène issu d'une suspension de germes dans l'urée à 2,5 M se singularise par la perte d'au moins 2 lignes et la diminution de netteté des autres,

4) que l'antigène n° 5 ne se distingue essentiellement de l'antigène total que par son appauvrissement en lipopolyside, ce qui est conforme à ce que l'on attendait de la méthode d'extraction ; à cette réserve près qu'on espérait une élimination complète et non une diminution même très accentuée.

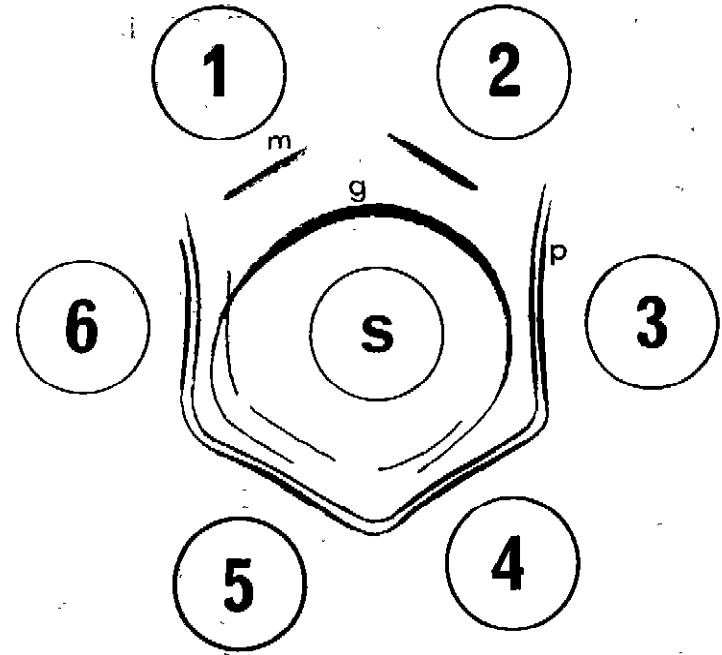
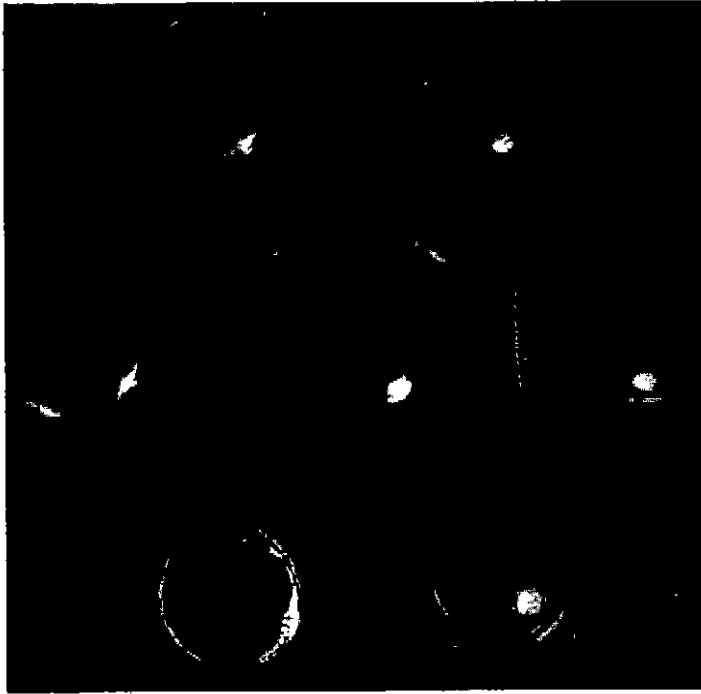


Photo n° 6 et Fig. n° 2. — Analyse antigénique de l'antigène n° 5 par précipito-diffusion en gélose

S : immunsérum précipitant de lapin N° 68, en 1 et 2 : solution de galactane à 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, en 3 antigène n° 5 pur, en 4 : antigène n° 5 dilué au 1/2 en 5 : antigène n° 5 absorbé 2 fois par des hématies de mouton, en 6 : antigène n° 5 absorbé 3 fois par des hématies de mouton.

L'antigène n° 5 est surtout caractérisé par ses 2 lignes majeures de précipitation (p) ; les 4 autres sont ici peu visibles. L'adsorption par les hématies de mouton n'entraîne pas leur suppression et elles correspondent vraisemblablement à des antigènes protéiques authentiques.

La ligne majeure du galactane s'estompe et s'éloigne du réservoir de sérum, en face de l'antigène n° 5 ; elle disparaît pratiquement lorsque celui-ci est dilué au 1/2 et plus encore lorsqu'il est absorbé par les globules rouges.

Cette image de précipitation est en parfaite concordance avec les résultats de l'hémagglutination passive.

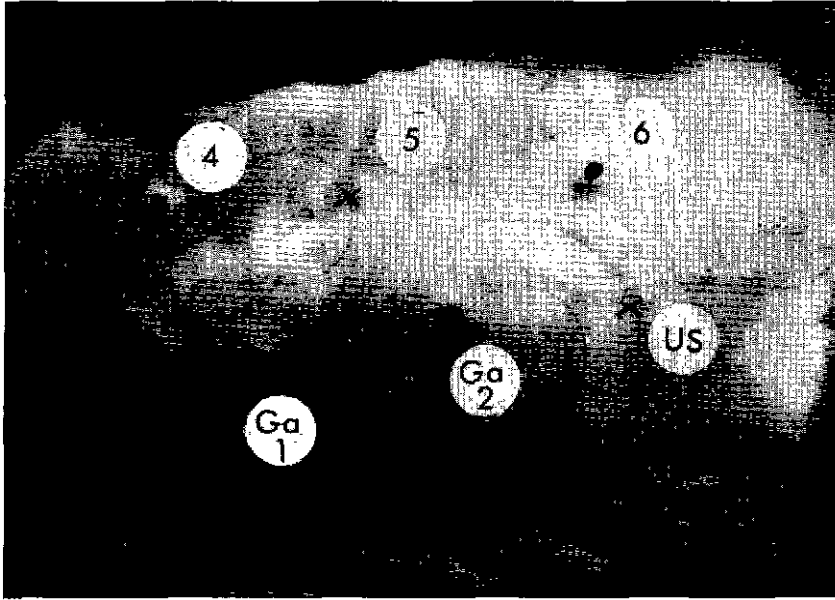


Photo n° 7. Lapin n° 13 : 4 jours après les épreuves intradermiques
Le phénomène nécrotique est particulièrement net avec la solution de galactane Ga 1 (0,05 ml) et Ga 2 (0,1 ml) et les antigènes n° 4 et n° 6 qui sont concentrés et contiennent donc un taux notable de lipopolyoside. Il n'y a pas d'escarre avec l'antigène n° 5 très pauvre en galactane et l'antigène total dilué (U. S.).

pour ne citer que les exemples les plus connus les tuberculines P. P. D. (de Seibert) et IP.48 (de Bretey et Lamensans) contiennent des polyosides et les filtrats de culture du B. C. G. contiennent une fraction protéique et une fraction polyosidique (1, 3), toutes deux douées d'activité tuberculinique et provoquant des réactions fortement positives chez les cobayes sensibilisés. Il en est de même avec les extraits de *Pasteurella pestis*, en particulier avec un complexe polyoside-polypeptide provoquant une réaction allergique spécifique chez les cobayes infectés ou immunisés (2).

Cette présence simultanée des deux composants dans les extraits protéiques de *M. mycoides* n'a donc rien d'exceptionnel et peut s'expliquer de deux façons : ou bien la floculation du complexe protéines-sulfate d'ammonium entraîne mécaniquement des molécules de polyosides et cela d'autant plus facilement que ces dernières sont constituées de longues chaînes et que ces polyosides sont de solubilité très précaire ; ou bien l'extraction isole un complexe plus ou moins solide protéine-lipopolyoside, tous les stades de la dissociation pouvant exister dans le produit final.

L'existence de molécules de polyosides, hap-
tènes de précipitation par excellence, nous

laisse à penser qu'un phénomène d'Arthus sera toujours associé à la réaction d'hypersensibilité retardée que pourrait déclencher éventuellement la fraction protéique vraie (en dehors de son propre rôle de précipitogène), lorsque les animaux éprouvés auront un taux suffisant de précipitines sériques.

Par ailleurs, le galactane seul injecté par la voie intradermique possède une action irritante propre comme de nombreux autres polyosides qui, pour cette propriété, sont justement employés comme adjuvants de l'immunité ; il s'ensuit qu'un épaissement de la peau sans aucune signification d'ordre allergique s'observe chez les lapins et les cobayes neufs dans les heures qui suivent l'injection. Il est vrai que cette « réaction » ne tient pas et qu'au bout de 24 heures elle a disparu, mais elle s'ajoute à la réaction d'hypersensibilité et il est nécessaire de la connaître.

La mise en évidence et l'utilisation d'une réaction d'hypersensibilité retardée exige donc la préparation préalable d'un antigène protéique pur, par une méthode qui reste à mettre au point.

CONCLUSIONS

L'extraction, par la lyse aux ultrasons et les précipitations au sulfate d'ammonium à demi-saturation, de la fraction protéique de *M. mycoides*, aboutit à l'obtention d'un antigène toujours contaminé, à un degré variable et quelquefois très important, par le lipopolysaccharide spécifique (galactane).

Chez les animaux de laboratoire sensibilisés artificiellement aux antigènes de *M. mycoides* à l'aide des adjuvants de Freund, l'hypersensibilité que l'on peut révéler par les tests cutanés, en employant cet antigène, est pour l'essentiel une

allergie de type Arthus, associée probablement à une allergie locale immédiate de type anaphylactique.

Ce phénomène d'Arthus est provoqué aussi bien par la fraction protéique que la fraction polysaccharidique ; il semble d'autant plus intense que la concentration d'antigène en galactane est plus élevée.

L'existence d'une réaction d'hypersensibilité retardée apparaît difficile à mettre en évidence étant donné que la réaction d'hypersensibilité rapide se prolonge dans le temps et peut donc masquer l'apparition de la première.

SUMMARY

The allergy test and the diagnosis of bovine pleuropneumonia.

I. Comments on the extraction of the antigen and experimental study on laboratory animals

The protein antigen, used in the allergic tests and prepared according the technique of R. N. GOURLAY (lysis by ultrasonic treatment and precipitation by ammonium sulphate) is all the time more and less contaminated by the specific lipopolysaccharide of *Mycoplasma mycoides*.

Rabbits and guinea-pigs artificially sensitized by injection of the mixture : Mycoplasma + Freund adjuvant showed an Arthus phenomenon after they had been inoculated intradermally with the protein antigen ; this response seemed to be caused by the genuine protein fraction as well as by the lipopolysaccharide fraction.

The nature of this hypersensitivity has been confirmed by the action of heparine on the cutaneous reactions and by the possibility of passive transfer of this allergy to an unsensitized animal.

The evidence of a delayed hypersensitivity in laboratory animals still remains difficult ; for that purpose the preparation of a pure protein antigen is needed.

RESUMEN

La prueba de alergia y el diagnóstico de la perineumonía bovina.

I. Comentarios sobre la extracción del antígeno y estudio experimental con animales de laboratorio

El antígeno proteico utilizado para las pruebas de alergia y preparado mediante el método de R. N. GOURLAY (lisis por los ultrason y precipitación por el sulfato de amonio) es siempre más o menos infectado por el antígeno lipopoliosídico de *Mycoplasma mycoides*.

En los conejos y los cobayos sensibilizados artificialmente por la inyección de la mezcla : micoplasmas-adyuvante de Freund se encuentra un fenómeno de Arthus. Luego de las inyecciones intradérmicas del antígeno proteico.

A lo que parece, la fracción proteica verdadera tan como la fracción lipopoliosídica es causa de este fenómeno.

La acción de la heparina sobre las reacciones cutáneas y la posibilidad de la transmisión pasiva de esta alergia a un animal indemne confirma la origen de esta hipersensibilidad. La demostración de una hipersensibilidad de tipo retardada en los animales de laboratorio queda difícil. Necesita la preparación de un antígeno proteico puro.

Le test d'allergie et le diagnostic de la péripneumonie bovine

II. — Essais sur les bovins du Sénégal, malades naturels et infectés artificiels

par M. DOUTRE, P. PERREAU et J. CHAMBRON

Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux
(Laboratoires de Dakar-Hann et de Maisons-Alfort)

RÉSUMÉ

Au cours de 5 expériences effectuées sur des bovins du Sénégal, sensibilisés artificiellement ou par la maladie naturelle, en employant les antigènes décrits dans l'article précédent, les auteurs essaient de déterminer si l'on retrouve chez ces bovins (zébus et métis zébu-taurin) les mêmes caractères de la réaction d'hypersensibilité que ceux observés sur les animaux de laboratoire et qui sont le propre de l'allergie de type Arthus.

Celle-ci se retrouve effectivement sur les bovins et l'existence d'une hypersensibilité de type retardée ne peut être prouvée formellement.

Les fortes réactions cutanées semblent n'apparaître qu'avec l'emploi d'antigènes concentrés, à forte teneur en lipopolyside.

Les possibilités de l'emploi d'un test d'allergie pour le diagnostic de la péripneumonie contagieuse bovine sont discutées.

Une des recommandations formulées par le groupe d'experts F. A. O./O. I. E./C. C. T. A. sur la péripneumonie bovine tenue à Muguga en février 1964 soulignait la nécessité de poursuivre les recherches sur la possibilité d'utiliser la réaction d'allergie dans le diagnostic de l'affection. Cette recommandation était la suite logique de l'exposé des travaux de R. N. GOURLAY (5).

Il n'est pas besoin en effet d'insister sur l'importance que pourrait avoir une méthode supplémentaire de diagnostic de la péripneumonie contagieuse des bovidés, puisque le dépistage des animaux infectés chroniques et porteurs de germes constitue la difficulté majeure des opérations de prophylaxie.

Aussi les antigènes, dont la préparation vient d'être décrite dans l'article précédent, ont-ils

été éprouvés sur des bovins africains, malades naturels et infectés artificiels.

Nos observations et nos conclusions sont rapportées dans cet article.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. **Animaux** : les animaux d'expérience du laboratoire de Hann étaient des métis zébu gobra-taurin N'Dama ; les malades naturels étaient des zébus gobra purs (race blanche du Djoloff).

2. **Antigènes** :

Les antigènes employés furent les lots n^{os} 3 (avec urée), 4 (avec urée), 5 (sans urée, pur

et à la dilution 1/2) et 6 ; à titre comparatif, furent aussi utilisés une solution de galactane à 1 mg/ml et un échantillon de l'antigène original de R. N. GOURLAY (*).

Les pH de ces différents antigènes étaient tous compris entre 6,9 et 7,2.

3. Techniques sérologiques.

Les sérums des animaux d'expérience furent éprouvés par les procédés suivants :

a) Déviation du complément : technique de Kolmer, avec un antigène préparé selon la méthode de Campbell et Turner.

b) Hémagglutination passive : avec des hématies de mouton lyophilisées et sensibilisées par le galactane de *M. mycoïdes*, selon une méthode déjà décrite (9).

c) Précipito-diffusion en gélose : effectuée en boîte de Pétri contenant de la gélose noble Difco à 1 p. 100 dans un tampon véronal à pH 7,3-7,4.

d) Précipitation interfaciale en milieu liquide : recherche d'un anneau de précipitation dans des tubes de 3 mm de diamètre où l'on superpose les sérums des bovins et chacun des 2 antigènes employés (galactane et antigène protéique).

4. Protocole des tests d'allergie.

Ils seront décrits pour chacune des expériences.

RÉSULTATS

Expérience n°1 : Animaux infectés artificiellement.

14 bovins furent infectés expérimentalement par intubation intrabronchique (30 ml d'une culture de la souche B. 17 de *M. mycoïdes*) ou par inoculation sous-cutanée (1 ml de cette même culture). Pour ces derniers animaux, l'extension de la réaction locale avait été arrêtée par un traitement au Novarsenobenzol.

9 autres bovins servirent de témoins : 3 étaient des animaux « récepteurs » d'une expérience de transmission de la maladie par contact et qui n'avaient pas contracté l'infection et 6 étaient des animaux neufs.

(*) Nous remercions très vivement de son obligeance notre confrère R. N. GOURLAY, qui a bien voulu nous fournir cet échantillon.

Protocole : ces animaux reçurent par voie intradermique, au 1/3 supérieur de la face de l'encolure et en 3 points différents, les antigènes n°s 3 U, 4 U et celui de GOURLAY, sous le volume unitaire de 0,1 ml.

Les poils furent coupés aux ciseaux aux lieux d'inoculation et l'épaisseur du pli cutané mesurée au pied à coulisse aux temps : 0, 24, 48 et 72 heures, le temps 0 étant celui des injections.

Les tableaux n°s 1 et 2 rendent compte des délais entre l'infection et l'épreuve d'allergie des sérologies au jour de l'épreuve et des mesures de l'épaississement cutané en fonction des antigènes :

Commentaires :

1) Les trois antigènes fournissent des épaisissements cutanés du même ordre chez un même animal ; à remarquer que l'antigène de GOURLAY semble donner pour quelques animaux, une réaction plus nette (tout au moins une augmentation plus importante de l'épaisseur de la peau). C'est le cas des bovins n°s 941 et 999 et dans une moindre mesure, des n° 313 et n° 3487.

2) Sans tenir compte de la nature de l'antigène l'ensemble des mesures montre que le maximum de la réaction est atteint 24 heures après l'injection intradermique dans 65 p. 100 des cas, 48 heures après dans 23 p. 100 des cas, les 12 p. 100 restants représentant les cas où l'épaisseur du pli n'a pas varié entre les deux mesures.

3) Aucun épaisissement n'a atteint le centimètre (8,5 mm pour l'animal n° 999, au bout de 48 heures, constituent le maximum observé).

4) Il n'y a aucune réaction vraiment nulle ; le traumatisme de l'injection et l'action irritante propre des antigènes font qu'on observe toujours un épaisissement pouvant atteindre plusieurs millimètres et l'on conçoit bien que GOURLAY s'en tienne à un seuil significatif de 4 mm ; c'est une norme qui se vérifie assez bien ici, puisque chez les témoins négatifs, seuls les bovins n°s 968 et 988 atteignent respectivement 4,5 et 4,25 mm en épaisissement maximum et pour un seul antigène (3 U).

5) Il n'apparaît aucune corrélation entre le titre des anticorps fixant la déviation du complément et l'importance de la réaction allergique.

TABLEAU N° I

Expérience n° 1: animaux infectés artificiellement

N° des animaux	Délai entre l'infection et le test aller- gique	Déviation du complément	Antigènes employés	Epaississement cutané (en mm)			
				après 24 heures	après 48 heures	après 72 heures	
Infection par la voie bronchique	1 mois	1/160 ++++	3 (urée)	2,0	2,0	2,0	
			4 (urée)	2,5	2,75	1,75	
			Gourley	4,5	3,5	2,25	
		négatif	3 "	2,5	2,25	2,0	
			4 "	3,5	2,0	1,25	
			G "	2,25	1,75	1,25	
	1/160 ++++	3 "	1,0	0,75	0,75		
		4 "	2,5	2,0	1,75		
		G "	2,75	1,5	1,0		
	4 mois	Déviation du C'	3489	3 "	2,75	2,5	1,25
				4 "	2,0	1,5	1,0
				G "	1,5	1,25	1,0
3456			3 "	2,75	2,25	2,0	
			4 "	2,0	1,5	1,0	
			G "	1	1,0	0,25	
3484	3 "	1,75	1,25	0,75			
	4 "	1,25	0,75	0,25			
	G "	1,0	0,5	0,5			
3487	3 "	2,5	3,5	2,5			
	4 "	5,0	5,25	3,75			
	G "	6,25	6,75	5,25			
	Infection par la voie sous-cutanée	1 mois	1/40 ++++	3 "	2,25	4,0	3,5
4 "				3,0	2,0	1,25	
G "				7	7,5	4,0	
1/40 ++++			3 "	3,5	3,0	2,5	
			4 "	4,0	2,25	1,5	
			G "	4,25	3,50	2,25	
1/20 ++++			3 "	5,25	5	3,25	
			4 "	7,0	5,5	4,0	
			G "	6,25	5,5	3,0	
1/320 ++++			3 "	1,75	1,25	1,0	
			4 "	2,0	1,25	1,0	
			G "	2,25	1,75	1,25	
1/1280 ++++	3 "	2,75	2,75	2,25			
	4 "	2,0	1,75	1,0			
	G "	3,0	2,25	1,0			
1/10 ++++	3 "	4,75	4,25	3,25			
	4 "	3,25	3,25	2,25			
	G "	8,0	8,50	6,25			
1000	1/5 ++++	3 "	2,0	2,5	1,25		
		4 "	0,25	1,75	0		
		G "	2,75	2,25	2,0		

TABLEAU N° II

Animaux témoins de l'expérience n° 1

N° des animaux	Antigènes	Épaississement cutané (en mm)		
		après 24 heures	après 48 heures	après 72 heures
319	3 (urée)	2,25	2,5	2,5
	4 (urée)	2,25	2	1,5
	Gourlay	1,0	0,5	0,75
206	3 "	3,0	2,25	1,75
	4 "	2,5	2,0	1,25
	G "	2,75	2,25	2,0
963	3 "	1,75	2	1,75
	4 "	1,5	1,25	0,75
	G "	0,75	0,25	0,25
968	3 "	4,5	2,5	1,5
	4 "	2,0	1,0	0,5
	G "	0,5	0,0	0
988	3 "	4,25	3,75	2,5
	4 "	2,75	2,75	1,5
	G "	0,75	1,0	0,5
966	3 "	1,25	1,75	
	4 "	1,75	1,75	
991	3 "	2,5	3,0	
	4 "	2,5	3,5	
992	3 "	0,75	2,5	
	4 "	1,75	1,5	
989	3 "	3,5	3,75	
	4 "	2,0	1,75	

Expérience n° 2 : Animaux infectés artificiellement.

Elle fut effectuée avec des bovins sensibilisés :

a) Par inoculation sous-cutanée de la souche Sankhaye, 39 jours plus tôt pour les bovins n° 968, 1999, 989 et 24 jours avant pour le n° 236.

b) Par inoculation intrabronchique de 30 ml d'une culture virulente de la même souche pour les bovins n° 991, 966, et 992. L'intubation avait été réalisée 39 jours avant la réaction allergique.

Protocole :

Pour éliminer un phénomène d'hypersensibilité immédiat de type anaphylactique analogue à celui observé chez les lapins sensibilisés, les n°s 968, 1999, 236 et 966 reçurent une première injection de 10 ml de Phénergan (*) par voie intraveineuse suivie 4 heures après d'une injection intramusculaire de 5 ml. Les n°s 989, 991 et 992 ne furent pas traités au Phénergan.

(*) Phénergan Specia (prométhazine), soluté à 2,5 p. 100

Les inoculations, intradermiques commencèrent une demi-heure plus tard. Ces dernières eurent lieu à la face interne du pli sous-caudal, en utilisant comme antigène une solution de galactane à 1 mg/ml (Ga) à droite et la fraction protéique n° 5 diluée au 1/2 (F 5/2) à gauche. L'épaisseur des deux plis fut appréciée au pied à coulisse 1, 2, 3, 4, 5, 8, 12, 24 et 34 heures après les inoculations intradermiques.

Si, à partir de cet essai, nous avons abandonné comme lieu d'élection la face latérale de l'encolure, c'est uniquement pour ne pas se contenter de la mesure au pied à coulisse ; la peau fine et glabre du pli sous-caudal permet d'observer les caractères et la cinétique de la réaction beaucoup mieux que la peau du cou.

Le tableau n° 3 rend compte de l'ensemble des mesures effectuées aux divers temps :

Commentaires :

1) Les réactions locales furent, pour l'ensemble des animaux, très légères et sans point de nécrose centrale. Pour le n° 989 avec la solution

TABLEAU N° III

Expérience n° 2: animaux infectés artificiellement

N° des animaux	Déviation du complément	Antigènes	Épaississement de la peau en mm, après les délais suivants (en heures)									
			1	2	3	4	5	8	12	24	34	
traités au Phénergan	968 1/80 ++++ 1/160 ++	Ga	0,5	0,5	1	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5	
		F _{5/2}	0	0	0,75	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25	
	1999 1/20 ++++	Ga	1	1,5	1,5	1,5	2,0	2,0	1,5	1,75	2,0	
		F _{5/2}	0,25	1,5	1,5	1,5	2,0	1,5	1,5	2,0	1,5	
	236 1/10 ++++ 1/20 ++	Ga	1,5	1,5	1,5	1,5	0,75	1,0	1,0	1,0	1,0	
		F _{5/2}	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,75	0,5	
	966 1/10 ++++	Ga	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1,0	0	0	0	
		F _{5/2}	0	0	0	0,25	1,0	1,0	0	0	0	
non traités au Phénergan	989 1/80 +++ 1/160 ++	Ga	0	0	0,25	0,25	0	0	0	0	0	
		F _{5/2}	0,5	0,5	0	0,5	0	0	0	0	0	
	991 1/10 ++++	Ga	0,25	0,25	0,25	1,0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
		F _{5/2}	0	0	0,25	0,25	0	0,25	0,25	0,5	0,5	
	992 1/10 ++++	Ga	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1	0	0	0	
		F _{5/2}	0	0	0	0,25	1	1	0	0	0	

de galactane comme antigène, on note l'apparition d'un petit œdème dès la 2^e heure qui disparaît en 5 heures ; pour le n° 236, avec le même antigène, on enregistre un léger œdème visible dès la 2^e heure et se maintenant 24 heures ; pour le n° 966 à la 5^e heure, un léger œdème est visible au lieu d'inoculation de F 5/2 et dure environ 12 heures.

Les réactions les plus sensibles, égales pour les 2 antigènes, furent observées chez le bovin 1999, elles furent maximales à la 5^e heure et discernables jusqu'à la 36^e heure.

Sur la base de la déviation du complément, les nos 968 et 989 auraient été déclarés infectés ; le test d'allergie, par contre, fait considérer tous les animaux comme négatifs.

2) On ne note aucune différence significative entre les animaux qui ont été traités au Phénergan et ceux qui n'ont pas été traités, les réactions

étant de faible intensité et fugaces ; ces conditions ne permettent pas la mise en évidence d'une action possible de l'antihistaminique.

3) On ne peut que constater, comme dans l'expérience précédente, la faible réponse sérologique aux infections artificielles. Les animaux infectés par la voie bronchique, s'ils n'avaient pas contracté de péripneumonie évolutive, avaient cependant tous, vers le 15^e jour après l'intubation, de l'hyperthermie et des signes respiratoires à l'auscultation.

Il semble bien qu'ici apparaisse nettement l'insuffisance de la culture en bouillon, lorsqu'on veut transmettre par la voie bronchique une péripneumonie évolutive.

4) Le peu d'ampleur des réactions cutanées ne permet pas de comparer avec fruit les rôles respectifs du galactane et de la fraction protéique n° 5.

Expérience n° 3 : Animaux infectés naturellement (2^e foyer de Sebikotane).

Les animaux appartenant à un troupeau où sévissait la maladie naturelle. Au moment du test, la sérologie de ces bovins était la suivante :

Protocole :

Les n°s 1949, 1989, 1946 et 1948 reçurent deux injections de Phénergan dans les mêmes conditions que lors de l'expérience n°2. Les n°s 1947, 1944, 1943 et 1940 ne reçurent pas de Phénergan.

N° des animaux	Déviation du complément	Hémagglutination passive	Précipitation interfaciale	
			galactane	F ₅
1940	1/640 +++++	1/2.560 +++++	+	+
1943	1/10 +	1/20 +++++	0	0
1944	1/320 +++++	1/1.280 +++++	+	+
1946	1/80 +++++	1/2.560 +++++	+	+
1947	1/320 +++++	1/1.280 +++++	+	+
1948	1/20 +++++	1/160 ++	+	+
1949	0	1/10 traces	0	0
1989	1/1.280 +++++	1/10.240 +++++	+	+

Les antigènes furent, comme précédemment, la solution de galactane (1 mg/ml) et la fraction protéique F 5/2.

Les inoculations intradermiques furent effectuées au pli sous-caudal à droite (Ga) et à gauche (F 5/2). Les augmentations d'épaisseur furent mesurées au pied à coulisse 1, 2, 3, 4, 5, 9, 13, 24, 36 et 48 heures après les injections.

L'ensemble des mesures est rapporté dans le tableau IV.

Commentaires :

1) Les réactions cutanées sont de peu d'intensité, mais l'observation de leurs caractères et de leur évolution est cependant éloquente ; les notes suivantes en témoignent :

N° 1946 : Galactane : à la 9^e heure, œdème net, dur, sans nécrose centrale, persiste à la 13^e heure, disparu à la 24^e heure.

F 5/2 : à la 9^e heure, œdème identique qui disparaît dans le même temps.

N° 1948 : Galactane : dès la 2^e heure, œdème dur, persiste jusqu'à la 24^e heure.

F 5/2 : dès la 3^e heure, léger œdème disparu à la 24^e heure.

N° 1949 : Galactane : à la 9^e heure, œdème en papule de 9 à 12 mm de diamètre, surélevé de 2

à 4 mm et légèrement congestionné sans point de nécrose, disparition dans les 24 h.

F 5/2 : à la 9^e heure, même œdème, avec un centre rose. A noter que la sérologie de cet animal est pratiquement négative.

N° 1989 : Galactane : à la 9^e heure, œdème avec commencement de nécrose.

F 5/2 : réaction peu visible.

N° 1940 : Pratiquement aucune réaction visible au point d'inoculation des deux antigènes ; Il y a discordance avec les tests sérologiques.

N° 1943 : Absolument aucune réaction locale. Cet animal n'était certainement pas atteint. Le test allergique est en parfait accord avec les tests sérologiques.

N° 1944 : Galactane : on note une papule dès la 4^e heure, avec un maximum à la 13^e heure, sans nécrose ; ensuite, régression rapide.

F 5/2 : rien de bien visible.

N° 1947 : Seul le galactane donne une très légère réaction œdémateuse dès la première heure, imperceptible au bout de 24 heures.

TABLEAU N° IV

Expérience n° 3: animaux naturellement infectés (2ème foyer de Sebikotane)

N° des animaux	Antigènes	Epaississement cutané en mm, après les délais suivants (en heures)											
		1	2	3	4	5	9	13	24	36	48		
Traités au Phénergan	1946	Ga	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1,0	1,0	1,0	0	0	
		F _{5/2}	0,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,25	1,25	0,5	0	0	
	1948	Ga	1	3,5	3,5	3,0	3,0	3,5	3,0	3,0	3,0	1,0	
		F _{5/2}	0	0	1,0	1,0	1,0	1,25	1,0	1,0	0,5	0,5	
	1949	Ga	2,5	3,5	4,0	3,5	3,5	3,0	3,0	2,0	2,0	1,5	
		F _{5/2}	1,5	2,0	1,5	2,0	2,0	1,5					
	1989	Ga	0	0	0	0	0	0,5					
		F _{5/2}	0	0	0,5	0,5	0,5	1	0,75	0,5	0,5	0,5	
	Non traités au Phénergan	1940	Ga	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			F _{5/2}	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5
1943		Ga	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		F _{5/2}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1944		Ga	0,5	0,5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5	
		F _{5/2}	0,5	0,75	0,75	0,75	0,75	1,5	0,75	2,5	2,0	1,0	
1947		Ga	1,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,0	2,0	2,0	2,0	0,5	
		F _{5/2}	1,0	1,5	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	1,5	0,5	

2) Ces réactions d'hypersensibilité, nettement identifiées par leur aspect de papule œdémateuse, apparaissent dans les heures qui suivent l'injection intradermique et entrent en régression le plus souvent avant la 24^e heure. Elles évoquent toutes le phénomène d'Arthus.

3) L'examen histologique de ces réactions contribue encore à renforcer cette opinion.

Sur les animaux nos 1949 et 1989, une biopsie fut effectuée à la 9^e heure, au lieu d'inoculation de l'antigène protéique (F_{5/2}) pour le premier et à celui du galactane pour le second.

Comme le montrent les photos nos 1, 2, 3, 4 et 5, le phénomène dominant est l'infiltration massive du derme par les leucocytes polynucléaires sortis des vaisseaux ; les lésions vasculaires sont moins nettes, mais l'altération

des parois des capillaires se reconnaît néanmoins à l'aspect œdématisé de certaines d'entre elles ; dans la lumière de quelques vaisseaux, on peut identifier clairement le phénomène de thrombose débutante.

Cette image histologique parfaitement établie à la 9^e heure correspond à l'aspect microscopique habituel du phénomène d'Arthus.

4) Ici encore, on ne peut attribuer au Phénergan une influence quelconque.

Expérience n° 4 : Animaux infectés naturellement (2^e foyer de Sebikotane).

Cet essai, que nous ne rapportons pas en détail, fut effectué sur 6 animaux à sérologie très positive qui étaient des malades ou infectés authentiques.

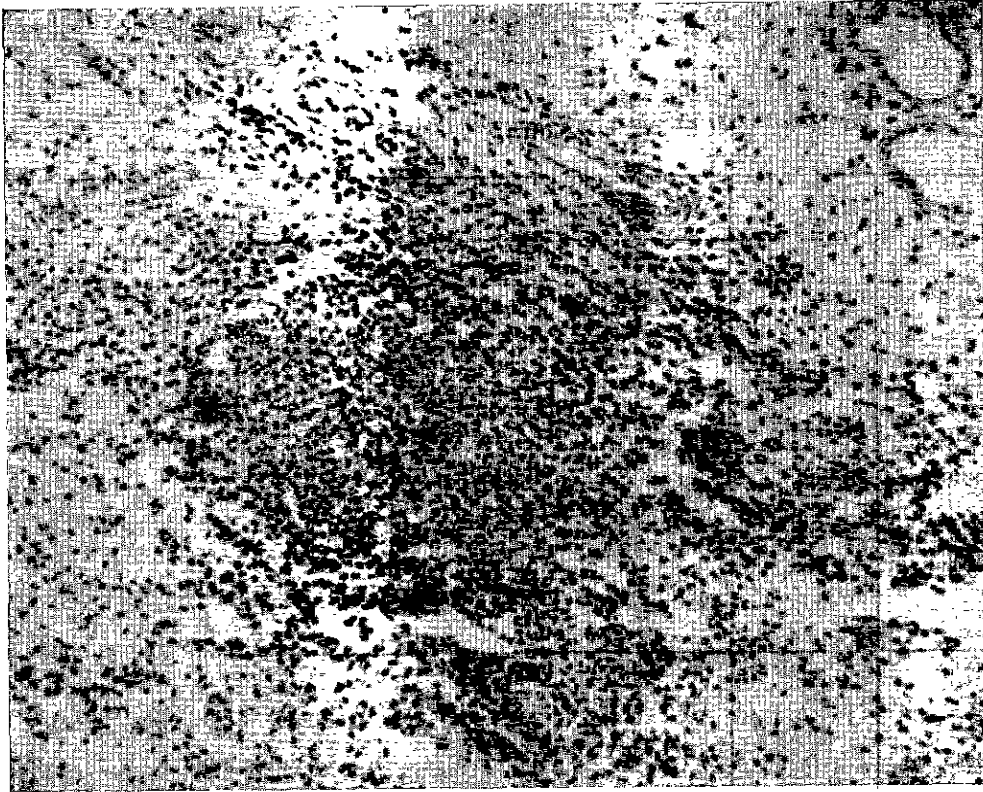


Photo n° 1. — Animal n° 1949 : Site de l'injection intradermique de l'antigène protéique n° 5, dilué au 1/2.
Biopsie effectuée au cours de la 9^e heure après l'injection : l'infiltration du derme par les leucocytes polynucléaires est intense.
Hémateine-Eosine, Zeiss 8 × 10.

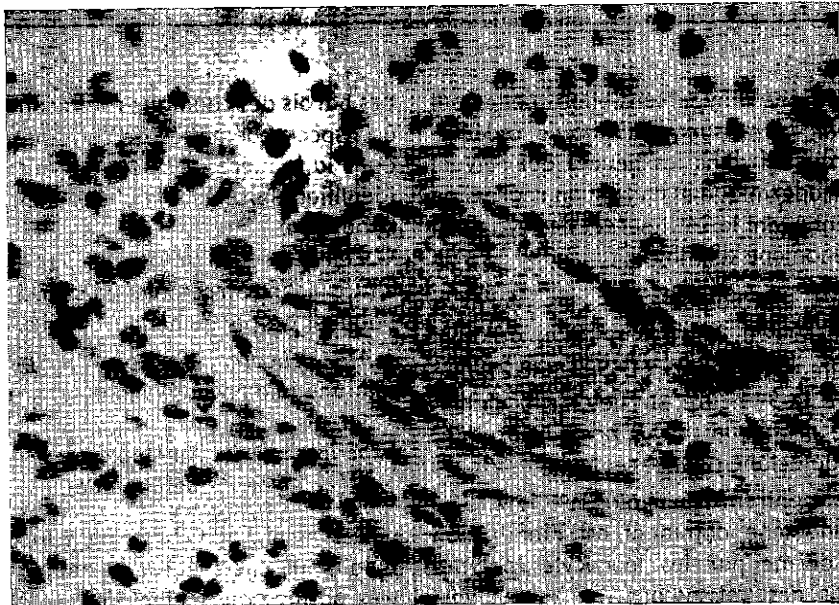


Photo n° 2. — Animal n° 1949 : même coupe que précédemment. L'accolement des polynucléaires à l'endothélium vasculaire est particulièrement net ; la diapédèse est très active. Zeiss 8 × 40.



Photo n° 3. — Animal n° 1965 : site de l'injection intradermique de l'antigène n° 5 pur, prélevé au cours de la 9^e heure.
Début des altérations vasculaires : fibrine coagulée dans la lumière des vaisseaux. Hématéine-Eosine, Zeiss 8 × 16.



Photo n° 4. — Animal n° 1965 : même coupe.
L'afflux leucocytaire est très net ; les polynucléaires s'accumulent dans les zones adventicielles. Zeiss 8 × 16.

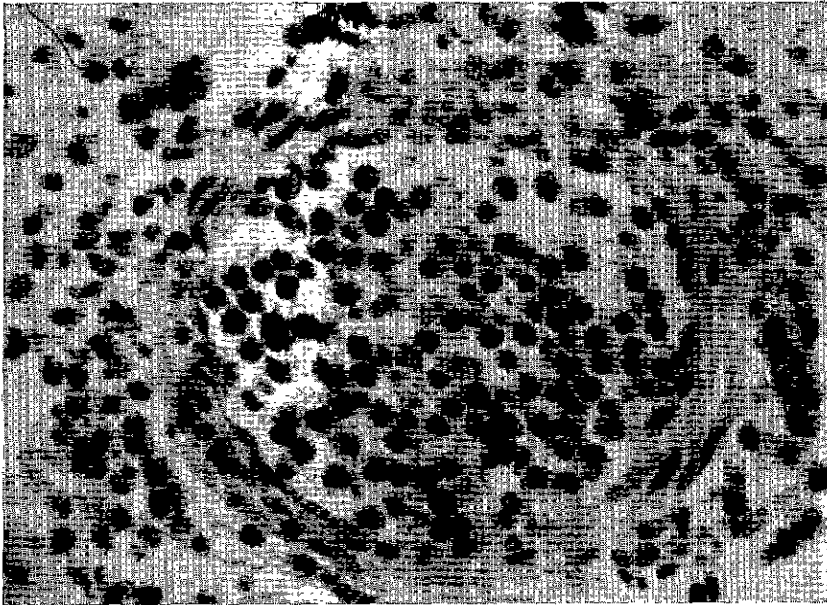


Photo n° 5. — Même coupe, à plus fort grossissement.
Dans la lumière de cette veinule, n'existent que des polynucléaires. Zeiss 8 × 40.

Deux bouillons à sérologie négative servirent de témoins.

Les animaux reçurent au pli sous-caudal droit 0,1 ml de l'antigène n° 5 pur et au pli sous-caudal gauche le même antigène dilué au 1/2 ; les mesures et les observations furent effectuées dans des conditions identiques à celle de l'expérience n° 3.

Les réactions cutanées furent de même nature : épaissement cutané très modéré, apparition rapide de papules œdémateuses évoluant rapidement, à centre hémorragique net, visible souvent dès la 2^e heure et qui constitue dans la majorité des cas le seul signe persistant à la 24^e heure.

L'image histologique d'une réaction de 8 heures (animal n° 1965) se montra identique à celles de l'expérience précédente.

Les 2 témoins n'ont eu que des réactions insignifiantes, sans le moindre point hémorragique ou même congestif.

Expérience n° 5 : Animaux sensibilisés artificiellement.

Les animaux utilisés dans cette dernière expérience étaient répartis en 3 groupes :

— Nos 643, 990, 1923 : sensibilisés par inoculation intra-trachéale de 40 ml d'une culture de 36 heures de la souche Sankhayeensemencée en bouillon tryptose-sérum de cheval.

Cette infection a été effectuée un mois avant l'inoculation intradermique.

— Nos 1915, 988, 1920 et 940 : ces bovins avaient été immunisés par une suspension dense de *M. mycoides* tué en adjuvant de type Freund et avaient reçu, un mois après, 1 ml d'une culture de 36 heures de la souche Sankhaye (un traitement au Novarsenobenzol avait arrêté l'extension des œdèmes locaux) ; cette dernière inoculation avait eu lieu deux mois auparavant.

— Nos 200 et 184 : ils furent les témoins.

Protocole :

L'antigène du lot n° 5 utilisé dans les trois essais précédents avait donné sur les bovins des réactions nettes, mais de faible ampleur ; aussi avons-nous pensé que sa concentration en éléments actifs pouvait être insuffisante.

Un nouvel antigène n° 6 (F 6) fut alors préparé, avec la même souche B 17 et un pH de 9,4 maintenu au cours des différents temps de l'extraction ; le dialysat final était nettement

plus opaque que celui du lot n° 5 et l'antigène apparaissait donc plus concentré, effet que l'on peut très vraisemblablement attribuer à l'alcalinité du pH. Celui-ci fut réajusté à la neutralité avant l'emploi.

L'hémagglutination passive et l'immunodiffusion en gélose montrèrent alors que cette concentration des antigènes solubilisés valait autant, sinon davantage, pour le galactane (10 fois au minimum le taux de l'antigène n° 5) que pour les éléments protéiques.

Il fut inoculé aux animaux par voie intradermique (0,1 ml non dilué) au pli sous-caudal droit.

Les mesures de l'épaisseur du pli ont été effectuées 5, 24, 29, 48 heures après l'inoculation intradermique.

Commentaires :

1) Le 2^e groupe d'animaux présente des réactions plus importantes que le 1^{er} groupe ; pour ce dernier, elles sont en effet à la limite du seuil positif.

L'explication réside sans aucun doute dans le fait que le 2^e groupe avait été sensibilisé en deux temps, d'abord une injection d'antigène tué en adjuvant de Freund, ensuite une infection par la voie bronchique (constituant en l'occurrence un rappel).

2) Les épaissements cutanés dans cet essai sont en valeur absolue de l'ordre de ceux que

rapporte R. N. GOURLAY au Kenya ; sur les 7 animaux positifs, les maximums sont atteints à la 24^e heure pour 6 d'entre eux, à la 29^e heure pour le n° 1923 et à la 48^e heure pour le n° 988.

3) Les animaux n°s 988 et 490 ont présenté des réactions locales très nettes avec un point de nécrose centrale, coïncidant avec les valeurs maximales d'épaississement cutané pour cette expérience.

4) Au moment du test d'allergie, la déviation du complément est pratiquement négative pour tous les animaux et, ici encore, aucune corrélation n'apparaît entre le titre des anticorps déviant le complément et l'intensité de la réaction d'hypersensibilité.

Mais tous ces animaux ont des précipitines à l'exception des deux témoins (n°s 184 et 200) ; elles n'existent qu'en quantité très faible pour le n° 988 et c'est vraiment le seul animal rencontré dans toute cette série d'essais qui, en montrant une réaction cutanée très nette en même temps qu'un titre sérique d'anticorps précipitants presque négatif, peut nous faire évoquer l'existence d'une hypersensibilité de type retardé.

5) Nous sommes obligés de constater que ces résultats ont été obtenus avec celui de nos antigènes (n° 6) qui était le plus riche en lipopolyside, tandis que l'antigène n° 5, très purifié, n'a jamais fourni des réactions d'une telle ampleur.

TABLEAU N° V

Expérience n° 5: animaux sensibilisés artificiellement

N° des animaux :	Délai entre l'infection et le test allergique	Sérologie DC ^a	Épaississement cutané en mm, après les délais suivants (en heures):			
			5	24	29	48
groupe I 643 990 1923	1 mois	-	2,0	4,5	4,4	4,0
		-	3,0	4,4	4,0	3,0
		-	2,7	3,9	4,7	4,2
groupe II 1915 988 1920 490	2 mois	-	1,2	4,5	5,0	5,0
		-	1,8	5,8	5,8	6,8
		1/20 ++	4,5	5,5	4,5	4,5
		-	5,0	8,5	8,5	8,5
témoins 200 184		-	1,5	1,5	2,0	2,0
		-	1,3	2,4	4,8	3,0

DISCUSSION

L'antigène protéique de *M. mycoïdes* provoque effectivement chez les animaux sensibilisés par l'infection péripneumonique une réaction d'hypersensibilité et cette dernière est de type rapide, sinon immédiat.

Dans cette série d'expériences, nous n'avons pas pu établir de façon directe et constante une corrélation entre les anticorps circulants et les réactions que nous avons observées, bien que nous sachions que le transfert passif d'une allergie de type Arthus est aisé à réaliser (10).

Cependant, les réactions les plus nettes ont été enregistrées soit chez des animaux malades naturels, à sérologie très positive, soit chez des animaux sensibilisés artificiellement à deux reprises (essai n° 5). Par contre, les bovins infectés par la voie bronchique, de façon le plus souvent infructueuse d'ailleurs, et qui n'avaient que des titres sérologiques peu élevés ou négatifs, n'ont pas réagi de façon positive.

Le délai d'apparition de la réaction cutanée, les caractères de son évolution et son image histologique font qu'il est impossible de ne pas conclure à une allergie de type Arthus.

La nature et la concentration de l'antigène sont importantes à considérer : alors qu'un antigène très pur (F5) fournit des réactions nettes quant à leur évolution et leur structure histologique, mais fugaces et de faible ampleur, un antigène plus concentré, à forte teneur en lipopolyoside, fournit des réactions plus importantes quant à l'épaississement cutané et durant davantage dans le temps après une apparition tout aussi précoce.

Il est difficile de ne pas évoquer ici, tout comme chez les petits animaux de laboratoire, l'action double du lipopolyoside : son rôle de précipitogène actif et son action irritante pour les tissus.

Nous n'avons pas pu mettre en évidence une hypersensibilité de type retardé ; il est possible que celle-ci soit recouverte par le phénomène d'Arthus, surtout lorsqu'on provoque ce dernier avec un antigène concentré qui « étale » l'épaississement cutané dans le temps. Toutefois, il est important de considérer que, dans toutes ces expériences, nous avons utilisé des antigènes issus de suspensions extrêmement denses de mycoplasmes et qui ont une teneur en azote

protéique dépassant largement celle des tuberculines purifiées (l'unité biologique-cobaye de celles-ci est de 0,02 µg).

Aussi vient-il à l'esprit que, s'il faut vraiment un antigène concentré pour obtenir une réaction de lecture facile chez les bovins, c'est qu'il ne s'agit sans doute pas seulement d'un phénomène d'allergie retardée de type tuberculinique, habituellement sensible.

L'intérêt du test d'allergie pour le diagnostic de la péripneumonie se trouve considérablement amoindri, si ce test ne révèle essentiellement que l'allergie de type Arthus, car son degré d'intensité ne dépend que du taux des anticorps circulants (précipitants et autres), taux que mesurent avec beaucoup plus de précision les méthodes sérologiques habituelles.

Le dépistage de l'hypersensibilité de type retardé, qui reste à identifier de façon formelle, n'aura toute sa valeur que si l'injection intradermique est faite à des animaux sérologiquement négatifs puisqu'à chaque fois qu'un seuil d'anticorps circulants sera atteint, il entraînera l'évolution d'une réaction cutanée rapide masquant la seconde de caractère retardé.

Il sera par ailleurs indispensable de disposer d'une fraction protéique pure de *M. mycoïdes*, débarrassée au maximum du lipopolyoside, d'autant plus que la spécificité sérologique de celui-ci paraît bien remise en cause (12, 13).

Pour conclure, il faut bien avouer que le test d'allergie, si tant est qu'il puisse un jour rendre service en matière de diagnostic, reste une méthode dont l'application pratique n'est pas encore proche ; et nous n'évoquons pas encore ici les difficultés de son exécution dans les zones sahéliennes d'élevage extensif où il faudra littéralement capturer deux fois les animaux, pour une injection intradermique bien difficile sur des animaux indociles et pour une mesure au pied à coulisse tout aussi malaisée.

CONCLUSIONS

Le test d'allergie effectué sur des bovins du Sénégal, sensibilisés par infection artificielle ou maladie naturelle, ne révèle surtout qu'une hypersensibilité de type rapide (phénomène d'Arthus) identifiée par les critères suivants : apparition précoce et évolution rapide de la

réaction cutanée, image histologique d'infiltration par les polynucléaires, possibilité du transfert passif de cette allergie.

Les fortes réactions cutanées, correspondant aux épaissements maximaux du derme, ne s'observent qu'avec un antigène concentré à forte teneur en lipopolyoside et elles durent plus longtemps que celles qu'entraîne un antigène protéique relativement pur, incapable de provoquer des réactions aussi importantes.

L'existence d'une réaction d'hypersensibilité retardée n'est pas exclue, mais en tout état de cause elle n'a pu être identifiée formellement ; l'association des deux types d'allergie chez les animaux sérologiquement positifs ne serait d'ailleurs que chose banale.

Il ne nous semble pas que ce test puisse, dans un proche avenir, être mis dans les mains des équipes de prophylaxie.

SUMMARY

The allergy test and the diagnosis of bovine pleuropneumonia.

II. Experiments on cattle from the Senegal, naturally and artificially infected with bovine pleuropneumonia

During five experiments carried out on cattle of Senegal, sensitized through natural or artificial infections, the authors try and determine whether the same characters of hypersensitivity can be found again in these cattle (zebu and zebu X taurine crossbreds) as those observed on laboratory animals and which are typical of the Arthus allergy.

This phenomenon actually appears in the cattle and the existence of a delayed hypersensitivity cannot be formally stated.

Strong cutaneous reactions seem to appear only when concentrated antigens are used with a high content of lipopolyoside.

The possibilities of using an allergy test for the diagnosis of bovine pleuropneumonia are discussed.

RESUMEN

La Prueba de alergia y el diagnóstico de la perineumonía bovina.

II. Ensayos en los bovinos del Senegal, naturalmente y artificialmente infectados

Se efectuaron cinco experimentaciones con bovinos del Senegal, sensibilizados artificialmente o por la enfermedad natural, utilizando los antígenos descritos en otro artículo.

Los autores intentan determinar si se encuentran en estos bovinos (cebus y mestizo cebú-taurino) los mismos caracteres de la reacción de hipersensibilidad que los observados en los animales de laboratorio ; estos caracteres son el propio de la alergia del tipo Arthus.

Efectivamente se encuentra esta alergia en los bovinos y formalmente no se puede probar la existencia de una hipersensibilidad de tipo retardada.

Las reacciones cutáneas importantes solo aparecerían con la utilización de antígenos concentrados, en dosis elevada de lipopoliosido.

Se discuten las posibilidades de la utilización de una prueba de alergia para el diagnóstico de la perineumonía contagiosa bovina.

BIBLIOGRAPHIE

1. BAER (H.) et CHAPARAS (S. D.). — **Tuberculin reactivity of a carbohydrate component of unheated BCG culture filtrate.** *Science*, 1964, **146** : 245-47.
2. BAHRAH (E. E.), EGOROVA (V. D.) et PAVLOVA (L. P.). — **Characteristics of the polysaccharide-containing « *Past. pestis* » fraction.** *J. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobil.* (en russe, résumé en anglais), 1962, **6** : 126-30.
3. CHAPARAS (S. D.) et BAER (H.). — **The immunology and chemistry of tuberculin. II. Chromatography with sephadex of the nondialyzable tuberculinactive constituents of BCG culture filtrate.** *Amer. Rev. respir. Dis.*, 1964, **89** : 41-48.
4. GOURLAY (R. N.). — **An intradermal reaction produced by an extract of *Mycoplasma mycoides*.** *Vet. Rec.*, 1962, **74** : 1321-22.
5. GOURLAY (R. N.). — **The allergic reaction in Contagious Bovine Pleuropneumonia.** *J. Comp. Path.*, 1964, **74** : 286-99.
6. GOURLAY (R. N.), PALMER (R. F.). — **Further studies on the allergic reaction in Contagious Bovine Pleuropneumonia.** *J. comp. Path.*, 1965, **75** : 89-95.
7. GOURLAY (R. N.). — **Comparison between some diagnostic tests for Contagious Bovine Pleuropneumonia.** *J. Comp. Path.*, 1965, **75** : 97-109.
8. GOURLAY (R. N.) et SHIFRINE (M.). — **Comparison between methods of antigen preparation and the use of adjuvant in the delayed allergic skin reaction in contagious bovine pleuropneumonia.** *J. Comp. Path.*, 1965, **75** : 375-80.
9. PERREAU (P.), PROVOST (A.), REGNOULT (R.) et ORUE (J.). — **Valeur de la réaction d'hémagglutination indirecte dans la péri-pneumonie bovine.** *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1964, **17** (1) : 1-14.
10. PROVOST (A.), VILLEMOT (J. M.) in memoriam et BORREDON (C.). — **Quelques faits nouveaux dans la pathogénie de la péri-pneumonie bovine.** Document de travail de la 2^e réunion du groupe d'experts FAO/OIE/CCTA sur la péri-pneumonie bovine. Muguga, Kenya, 1964.
11. SHIFRINE (M.) et GOURLAY (R. N.). — **The immediate type allergic skin reaction in contagious bovine pleuropneumonia.** *J. Comp. Path.*, 1965, **75** : 381-85.
12. SHIFRINE (M.) et GOURLAY (R. N.). — **Serological relationship between galactans from normal bovine lung and from *Mycoplasma mycoides*.** *Nature*, 1965, **208** (5009), 498-99.
13. SHIFRINE (M.) et GOURLAY (R. N.). — **Serological relationships between *Mycoplasma mycoides* and other bacteria.** Second conference on Biology of the Mycoplasmas New York, May 10-13, New York.

La rickettsiose générale bovine au Sénégal

par M. RIOCHE

RÉSUMÉ

L'existence de la rickettsiose générale bovine est signalée au Sénégal. Les travaux déjà effectués dans divers pays sur cette affection sont rappelés. Les symptômes et lésions sont décrits. La présence de *Rickettsia bovis* dans le sang et certaines anomalies leucocytaires « presque pathognomoniques » permettent le diagnostic de la maladie. Le seul traitement efficace consiste en injections d'auréomycine par la voie veineuse à la dose de 4 à 5 mg/kg/jour pendant 4 à 5 jours. Le rôle d'*Amblyoma variegatum* dans la transmission de la maladie est démontré.

Alors qu'elle était déjà connue dans plusieurs pays d'Afrique, la rickettsiose générale bovine à *Rickettsia bovis* (DONATIEN et LESTOQUARD, 1936) est d'observation récente au Sénégal.

Plusieurs cas de cette maladie ont été en effet identifiés dans la région du Cap Vert au cours de la saison des pluies 1965.

Rickettsia bovis a été décrite pour la première fois par DONATIEN et LESTOQUARD (1936) en Algérie. Par la suite, G. DE KOCK, VAN HEERDEN, R. DU TOIT et W. O. NEITZ la signalent en Afrique du Sud en 1937.

Puis, DONATIEN et LESTOQUARD reprennent leurs travaux et concluent que cette rickettsiose, fréquente en Algérie, détermine une maladie bénigne, jamais mortelle (1937, 1938 et 1940).

Si en Algérie les bovins sont peu sensibles à l'infection à *Rickettsia bovis*, il n'en n'est pas de même dans d'autres régions. En effet, MALBRANT, BAYROU et RAPIN en 1939, au Tchad et au Congo-Brazzaville, puis GIRARD et ROUSSELOT en 1945 au Soudan, décrivent une affection grave déterminée par ce protozoaire. FINELLE en 1958 signale une mortalité de 25 p. 100 en République Centrafricaine.

Dans le cas présent, c'est sous une forme identique, souvent mortelle, que nous l'avons observée au Sénégal, chez des bovins importés.

RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE

En raison de son observation récente, la répartition des foyers de rickettsiose générale bovine au Sénégal n'est pas encore connue. Jusqu'à présent, elle n'est signalée que dans la région du Cap Vert.

Le premier cas clinique est observé à Sangalkam le 17 août 1965. Il s'agit d'une vache zébu de race sahiwal. Cet animal fait partie d'un lot de 12 zébus de même race importés de Tunisie le 13 juillet 1965 en vue d'une amélioration par croisement des races locales.

Cette vache meurt le 15 août.

Puis les cas se succèdent durant les mois d'août et de septembre.

Sont ainsi identifiés :

- un cas mortel le 21 août,
- un cas le 22 août,
- un cas le 24 août,
- un cas le 31 août,
- trois cas dont un mortel le 13 septembre,
- deux cas le 16 septembre.

Donc, sur les douze animaux formant ce lot, dix contractent la maladie et chaque fois *Rickettsia bovis* est identifiée dans les prélèvements effectués.

Un cas mortel est ensuite observé le 20 septembre, dans un élevage de Sébikotane, sur une vache jersiaise n'ayant jamais eu de contact avec les zébus sahiwal.

Enfin, au mois d'octobre, à Sangalkam, un veau ndama, âgé de 3 mois et maintenu en stabulation depuis sa naissance, est envoyé au pâturage afin de savoir s'il serait atteint de rickettsiose naturelle, ceci dans le but de vérifier si les zébus pakistanais avaient été contaminés sur place. Après quelques temps, *Rickettsia bovis* est identifiée pendant plusieurs jours dans le sang de l'animal.

Espèces sensibles.

Nous n'avons observé la maladie naturelle que sur des bovins. DONATIEN et LESTO-QUARD (1936) ont démontré qu'on pouvait transmettre expérimentalement *R. bovis* au mouton qui ne présente qu'une hyperthermie passagère. Ceci a été confirmé par ROUSSELOT (1953).

Nous avons tenté de transmettre la maladie à la chèvre par inoculation intraveineuse de 15 ml de sang d'un bovin infecté. L'animal n'a présenté pendant les deux mois d'observation aucun symptôme et aucune rickettsie n'a pu être mise en évidence dans le sang circulant.

Par ailleurs, des inoculations de sang à la souris (par la voie intra-péritonéale) et au cobaye (par les voies intra-péritonéale et intra-cardiaque) ont été pareillement négatives.

ÉVOLUTION ET SYMPTÔMES

Les symptômes et l'évolution de la maladie n'ont pu être étudiés de façon complète que chez quelques animaux.

a) Evolution.

Dans la forme suraiguë, deux animaux meurent en 12 heures environ et la mort est précédée chez l'un par des symptômes nerveux spectaculaires (*). Chez trois animaux, la maladie évolue en 5 à 8 jours (forme aiguë). Un animal guérit en 5 jours après un traitement à l'auroéomycine, un autre meurt au bout de

8 jours avec des symptômes de paralysie (**), le dernier, atteint de graves troubles intestinaux, ne résiste que 5 jours (cas de Sébikotane).

b) Symptômes.

Bien que dans plusieurs cas le traitement ait provoqué une guérison rapide, la présence de certains symptômes est constante.

Au début de la maladie, l'animal est triste et abattu. Il se tient debout, immobile, la tête basse, ou couché, indifférent à ce qui l'entoure. Il ne mange pas et ne rumine plus. La température oscille entre 39° et 41 °C. La respiration est accélérée et dyspnéique (à l'auscultation, le murmure vésiculaire est perceptible) et la percussion révèle des zones de matité, en général bilatérales et localisées aux régions supérieures. La toux, quand elle existe, est sèche et quinteuse. Le rythme cardiaque est accéléré. Dans toutes les formes cliniques, les excréments sont diarrhéiques.

À côté de ces symptômes qui sont constants, existent assez souvent des signes nerveux. Ils peuvent être relativement bénins et disparaître après la guérison : paralysie du larynx (cornage) ou signes d'hyper-excitabilité.

Cependant, chez certains animaux, ces derniers peuvent être graves. Deux cas ont été observés :

Premier cas : taureau sahiwal (évolution suraiguë en 12 heures).

Phases d'excitation et de somnolence. Crises épileptiformes avec chute sur le sol, yeux révilésés, salivation et mouvements de galop. Après la crise, état d'hébétude puis relever pénible suivi d'une période de somnolence avec tête appuyée contre le mur et tremblements musculaires généralisés. La mort survient au cours d'une crise épileptiforme.

Deuxième cas : vache zébu sahiwal (évolution aiguë en 8 jours).

Dès le début de la maladie, lever et déplacements difficiles ; membres postérieurs raidis (sans doute par gêne articulaire) donnant à la démarche une allure titubante. L'animal bute fréquemment. Au bout de deux jours, decubitus sternal, station debout pénible. Le cinquième jour, decubitus latéral, station debout impossible.

(*) Premier cas clinique (décrit plus loin).

(**) Deuxième cas clinique (décrit plus loin).

Paralysie apparente avec de courts moments d'excitation (esquisse de mouvements de galop). Insensibilité cutanée des membres et de la croupe. Disparition du réflexe pupillaire. Opisthotonos permanent. Dès le quatrième jour, signe de l'oreille (GIRARD et ROUSSELOT, 1945). Température oscillant entre 38,5 et 39,5 °C. L'évolution se termine par la mort de l'animal.

LÉSIONS

Les muscles peauciers et le conjonctif sous-cutané sont le siège d'une congestion intense qui peut s'étendre à toutes les séreuses. Hydro-péricarde constant, sérofibrineux, parfois hémorragique. Epanchements citrins dans les cavités pleurales et péritonéale.

Lésions hémorragiques constantes dont les plus caractéristiques siègent sur le myocarde et les troncs artériels. Ce sont des pétéchies et suffusions sanguines (myocarde) et des placards hémorragiques, le plus souvent à la base de l'artère pulmonaire ou le long de l'aorte thoracique. Lésions hémorragiques fréquentes au niveau de la rate, du péricarde, des poumons et de la plèvre.

Congestion active et œdème aigu du poumon, avec parfois œdème périlobulaire important donnant un aspect en mosaïque différent cependant de celui observé dans la péripneumonie bovine.

Autres lésions :

- foie congestionné et friable,
- rate réactionnelle (granuleuse au toucher),
- ganglions lymphatiques toujours hypertrophiés et succulents, parfois congestionnés,
- congestion rénale.

Lésions nerveuses :

Congestion plus ou moins intense des méninges. Chez une vache sahiwal (2^e cas clinique décrit), congestion intense de la pie-mère qui est très épaissie et porte sur sa face externe de très nombreux nodules blanchâtres de la grosseur d'une tête d'épingle, disséminés sur toute la méninge, mais particulièrement abondants au niveau du bulbe, de la face inférieure du tronc cérébral et de la moelle épinière. Pétéchies et

placards hémorragiques très nombreux sur la pie-mère de la moelle lombosacrée et de la queue de cheval (photos 1, 2, 3 et 4).

AGENT CAUSAL

L'examen des frottis de sang périphérique et des frottis par apposition de rate, poumon, rein, foie, ganglions lymphatiques, colorés par la méthode de May-Grunwald-Giemsa, permet de mettre en évidence *Rickettsia bovis* soit dans les monocytes, soit dans les macrophages (Photos 5, 6 et 7).

1. Sang périphérique.

Toutes les inclusions observées présentent la morphologie déjà décrite par de nombreux auteurs (DONATIEN et LESTOQUARD, 1936, 1937, 1940), (GIRARD et ROUSSELOT, 1945), (ROUSSELOT, 1953).

a) Corps initial.

Taille comprise entre 2 et 8 μ . Sa coloration varie du lilas clair au violet foncé. Lorsqu'il est gros, le corps initial paraît souvent formé de plusieurs masses sombres noyées dans une gangue de couleur plus claire. Il refoule souvent le noyau en donnant l'impression d'être logé dans une encoche de celui-ci. Son contour est en général régulier et arrondi mais peut être irrégulier.

En principe, on ne trouve qu'une seule inclusion par cellule mais il n'est pas rare d'en observer plusieurs, de taille variable. Les corps initiaux sont souvent situés dans une vacuole et paraissent de ce fait entourés d'un halo clair.

b) Morula.

C'est un corps initial en voie de fragmentation qui se colore par le May-Grunwald-Giemsa en rose lilas ou en gris mauve. Elle est ronde et d'aspect granuleux. Comme le corps initial, elle est souvent située dans une vacuole du cytoplasme. Sa taille varie dans les mêmes proportions que celle du corps initial et comme lui, elle peut refouler la membrane nucléaire.

c) Corps élémentaire.

Ils sont de petite taille (0,2 à 0,8 μ) et en général de coloration lilas. Leur situation à la limite de la visibilité les rend difficiles à étudier

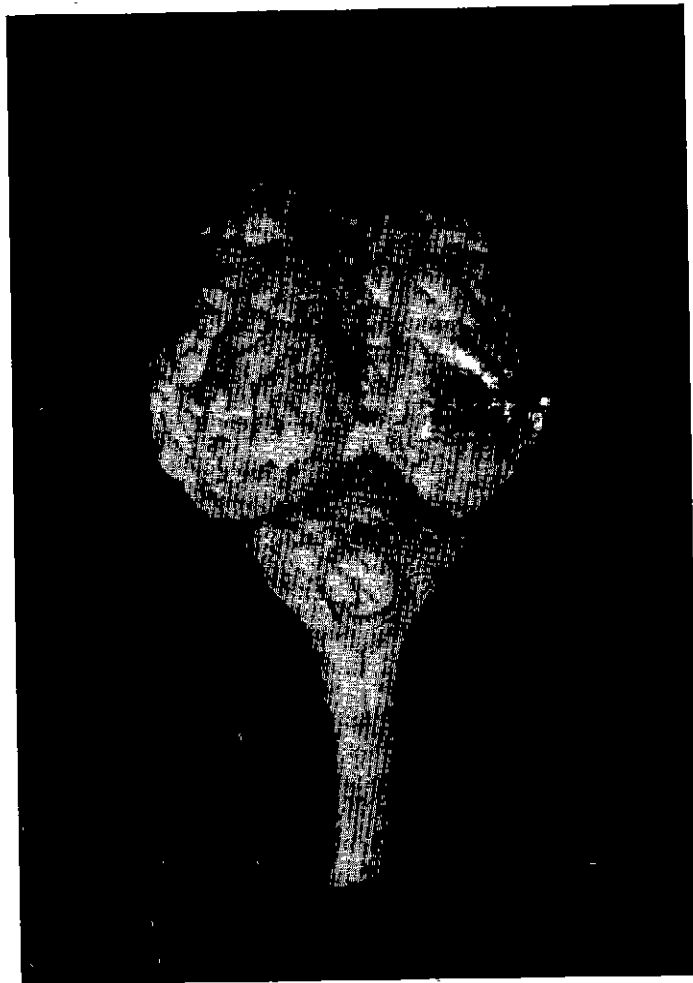


Photo n° 1. — Rickettsiose bovine à *Rickettsia bovis*. Cas clinique n° 2. Lésions nodulaires de la pie-mère

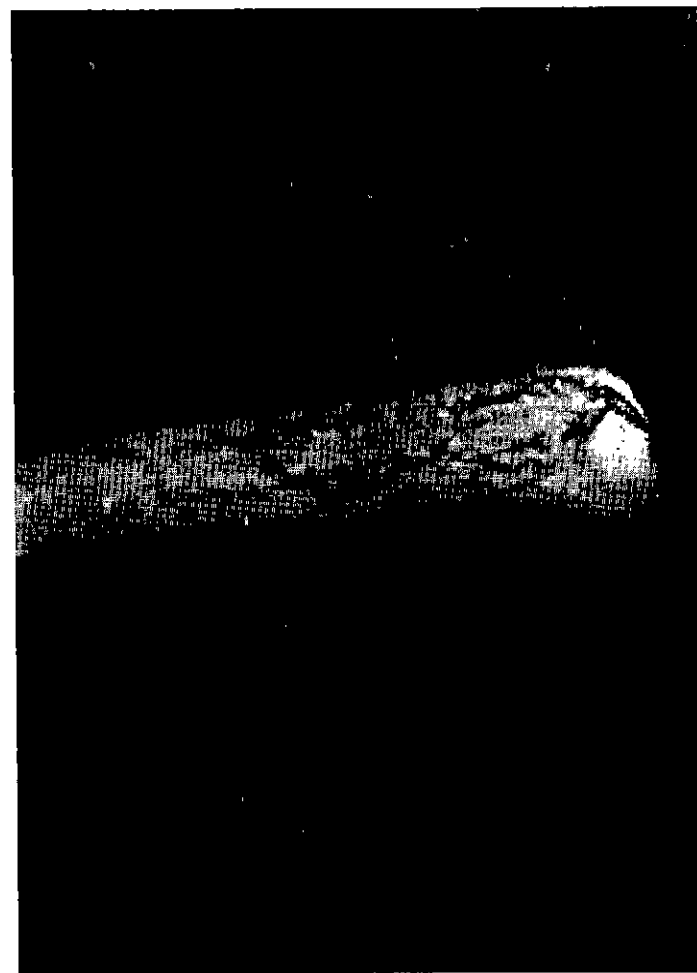


Photo n° 2. — Rickettsiose bovine à *Rickettsia bovis*. Lésions nodulaires et lésions hémorragiques de la pie-mère : moelle lombo-sacrée.

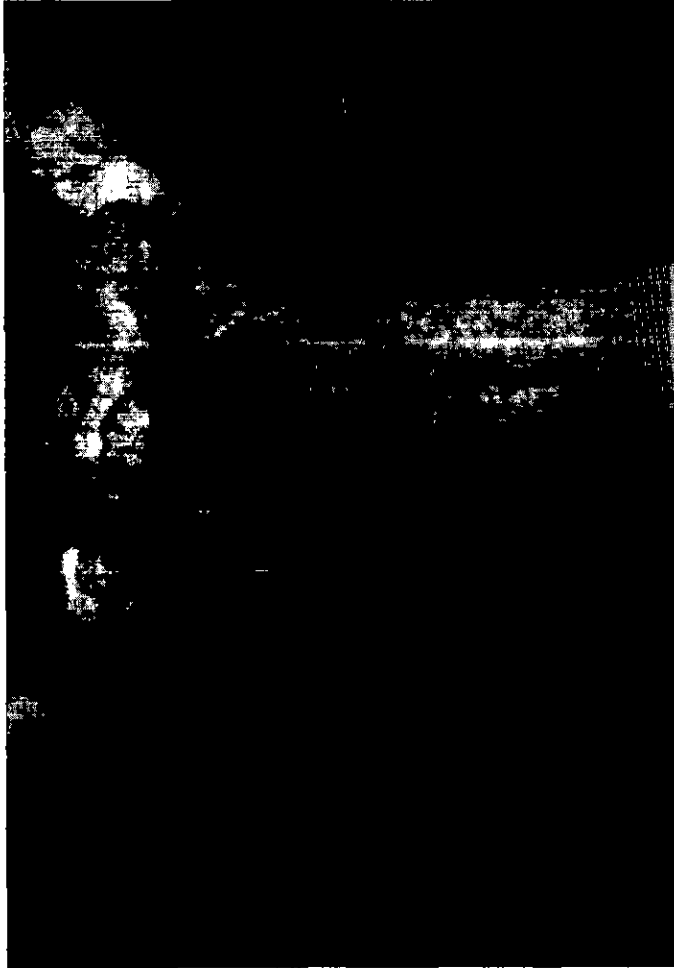


Photo n° 3. — Rickettsiose bovine à *Rickettsia bovis*.
Lésions nodulaires de la pie-mère : cervelet et bulbe.

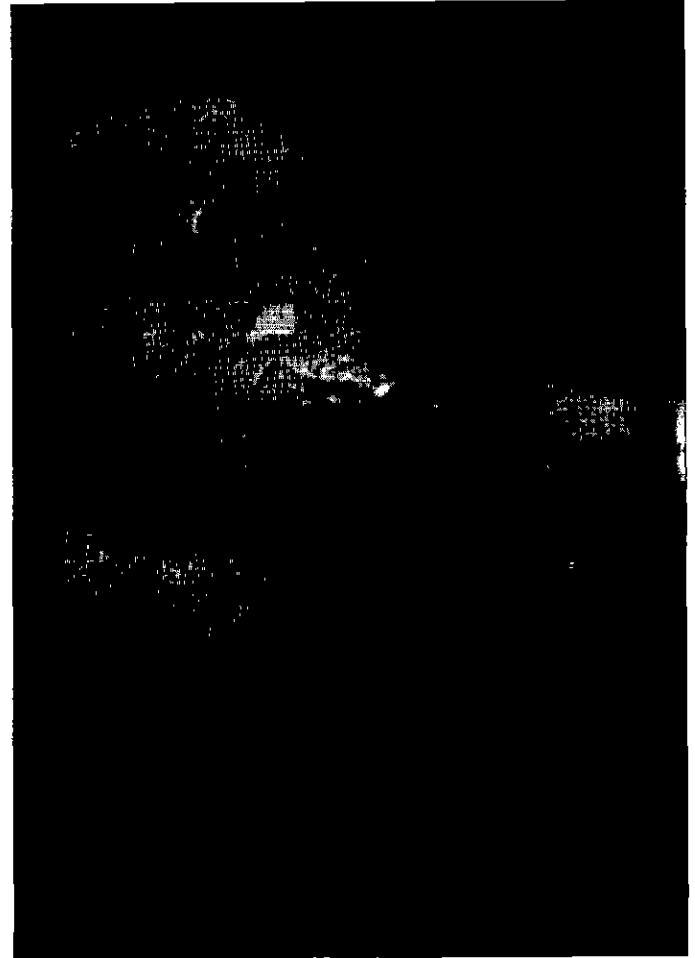


Photo n° 4. — Rickettsiose bovine à *Rickettsia bovis*. Lésions
nodulaires de la pie-mère : face inférieure du tronc cérébral.



Photo n° 5. — *Rickettsia bovis* : sang périphérique.
Au centre, monocyte contenant un amas de corps élémentaires.

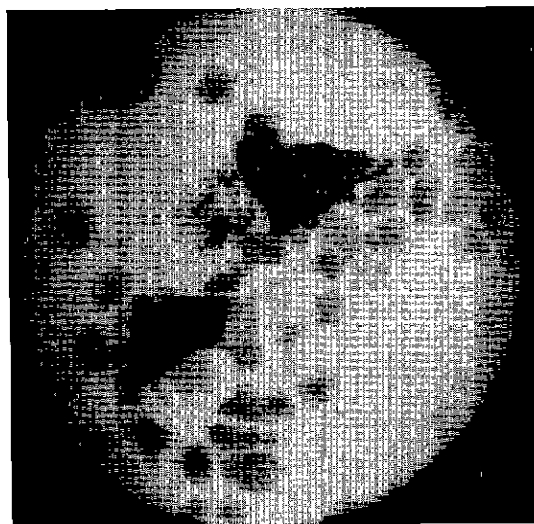
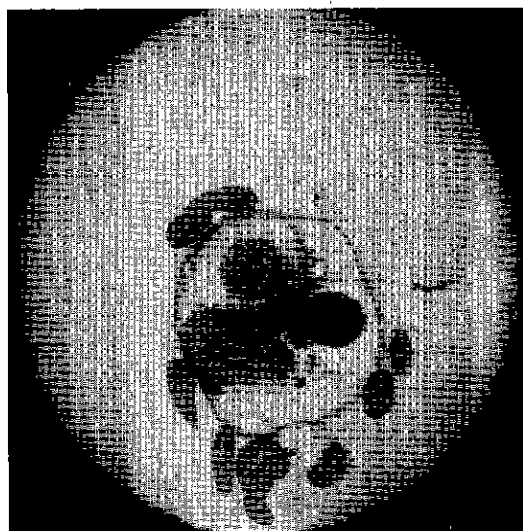


Photo n° 6. — *Rickettsia bovis* : sang périphérique.
Monocyte contenant des corps initiaux
et quelques corps élémentaires (en haut).



Clichés GRÉTILLAT (S.) et RIOCHE (M.)

Photo n° 7. — *Rickettsia bovis* : frottis de poumon.
Macrophage contenant quatre corps initiaux (à droite
du noyau) et une morula (au-dessus du noyau).

sauf lorsqu'ils sont groupés en amas ou situés isolément dans de petites vacuoles. Leur morphologie est coccoïde ou cocco-bacillaire.

La présence de *Rickettsia bovis* dans le sang s'accompagne de lésions sanguines.

Tous les auteurs qui ont étudié les rickettsioses des monocytes mentionnent l'existence d'une monocytose. La proportion des monocytes est augmentée et le taux de ces cellules peut dépasser 20 p. 100. ROUSSELOT (1953) insiste sur la valeur diagnostique de cette augmentation ; mais la monocytose seule ne suffit pas. En effet, la formule leucocytaire des bovins varie sensiblement d'un jour à l'autre et l'on peut parfois observer une monocytose moyenne en l'absence de rickettsiose.

Dans la rickettsiose générale bovine, la monocytose est accompagnée d'un ensemble d'autres modifications qui constituent avec elle un tableau presque pathognomonique.

En effet, outre qu'il y a augmentation de leur pourcentage, la plupart des monocytes ont un cytoplasme fortement vacuolaire (dans ces vacuoles on observe souvent des masses grisâtres à contours indistincts, déjà décrites par DONATIEN et LESTOQUARD, 1936, 1937 ; on peut aussi y voir des corps élémentaires). Souvent, le noyau, bien qu'il conserve sa structure habituelle, a des contours plus ou moins tourmentés ou un aspect « déchiqueté ».

On trouve aussi des cellules ou des formes cellulaires dont la présence dans le sang circulant est anormale : nombreuses cellules jeunes, macrophages, cellules en mitose.

Enfin, il y a raréfaction et même souvent disparition des éosinophiles, anomalie signalée par DONATIEN et LESTOQUARD (1936) dans la rickettsiose canine à *Rickettsia canis*. Il semble d'ailleurs qu'il s'agisse d'une éosinopénie réelle car les éosinophiles sont rares ou absents dans les frottis d'organes hématopoïétiques des animaux atteints.

Il est important d'insister sur ces modifications de l'image sanguine car ce sont elles qu'on remarque en premier lieu à l'examen d'un frottis de sang et que ces lésions sont toujours très visibles alors que, même dans les formes graves, les rickettsies peuvent être rares et réclamer un examen minutieux. L'observation de ces anomalies permettra souvent de poser un diagnostic précoce, même en l'absence de *Rickettsia*.

2. Organes divers.

Si les prélèvements sont faits dès la mort de l'animal, il est possible de faire des frottis de sang et d'y identifier le parasite. Dans le cas contraire, et de toute façon, on trouve les rickettsies dans les frottis des divers organes. Les plus riches sont les poumons, puis les reins, le foie et la rate. Les *Rickettsia* se trouvent soit dans les monocytes du sang de ces organes, soit dans les macrophages.

Il faut insister sur le fait qu'on ne trouve jamais *Rickettsia bovis* dans les cellules réticulo-endothéliales de la tunique interne des vaisseaux sanguins.

DIAGNOSTIC

Les symptômes décrits ne permettent pas de poser le diagnostic avec certitude mais seulement de suspecter la maladie. Seul l'examen des frottis de sang permet de le confirmer. Il en est de même pour le diagnostic nécropsique.

DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL

Il doit se faire avec la heart-water. En effet, les symptômes et lésions de la rickettsiose générale bovine sont assez voisins de ceux de la heart-water. Cependant, à l'autopsie, l'œdème périlobulaire observé ne semble pas avoir été décrit dans la heart-water. Il en est de même de la congestion du tissu conjonctif sous-cutané et des muscles peauciers car, selon CURASSON (1943), elle n'existerait pas dans la heart-water où, au contraire « ... on a souvent l'impression d'un animal saigné pour la boucherie ».

Toutefois, le diagnostic ne peut être posé avec certitude que par l'examen des prélèvements effectués et la mise en évidence de l'agent causal.

Dans la rickettsiose générale bovine, *Rickettsia bovis* est identifiée dans les monocytes du sang circulant ou des organes ; elle ne l'est jamais dans les cellules de l'endothélium vasculaire.

A l'inverse, *Cowdria (Rickettsia) ruminantium* s'observe dans les cellules réticulo-endothéliales de la tunique interne des vaisseaux et jamais dans le sang circulant.

Non seulement nous avons identifié *Rickettsia bovis* dans tous les cas, mais nous avons aussi recherché systématiquement à mettre en évidence

Cowdria ruminantium sur le cadavre. L'examen des frottis effectués (endothélium de la veine jugulaire, frottis de plexus choroïde et calques de cerveau fraîchement prélevés) ont été négatifs. Ceci a permis aussi d'infirmer l'existence possible d'une infection mixte à *Rickettsia bovis* et à *Cowdria ruminantium*.

PRONOSTIC

Le pronostic de l'affection est sérieux puisque sur 14 cas identifiés, 4 ont été mortels.

Par ailleurs, la morbidité est élevée, au moins chez le bétail importé, puisque sur 12 zébus importés, 10 contractent la maladie parmi lesquels 3 meurent (2 de forme suraiguë et 1 de forme aiguë) et 7 (dont 5 présentent une forme grave d'emblée) guérissent en 3 à 7 jours après un traitement par l'auroéomycine.

MODE DE CONTAMINATION

Pour expliquer l'apparition de cette maladie non encore signalée au Sénégal, on ne peut retenir l'hypothèse selon laquelle les zébus pakistanais, déjà prémunis avant leur importation, avaient fait un accès parasitaire déclenché par les agressions dues au voyage et à l'acclimatement.

En effet :

a) *Rickettsia bovis* n'a jamais été signalée en Tunisie, à notre connaissance.

b) Si la crise d'acclimatement avait provoqué un tel accès parasitaire, tous les animaux auraient été malades en même temps, à peu de jours d'intervalle et peu après leur arrivée au Sénégal. Or ici, non seulement le premier cas est apparu plus d'un mois après l'importation des zébus (et ceux-ci étaient alors acclimatés ainsi qu'en témoignait leur bon état général) mais encore la répartition dans le temps des cas de rickettsiose s'étale sur une période supérieure à un mois.

L'origine de cette affection ne peut donc être qu'autochtone. Les faits suivants le confirment.

Chez les zébus sahiwal normalement maintenus en stabulation libre (l'enclos dans lequel ils évoluent étant dépourvu d'Ixodes) nous

constatons que les deux premiers cas apparaissent après une sortie malencontreuse au pâturage d'où les animaux reviennent parasités par des tiques (surtout des *Amblyomma variegatum*). Par la suite, bien qu'ils ne soient plus sortis et qu'ils soient soumis régulièrement à un traitement ixodicide, les animaux hébergent quelques tiques vraisemblablement introduites dans l'étable avec le fourrage vert dont on les nourrit. Tous les animaux atteints sont parasités par ces arthropodes.

A la suite de ces observations, nous constatons la contamination naturelle au pâturage d'un veau ndamà à Sangalkam (cf. Répartition géographique). Une semaine après sa mise au pâturage, il présente une hyperthermie pendant 48 heures (39,9 °C le 1^{er} jour, 39,6 °C le second) sans autre symptôme morbide. Dès le premier jour d'hyperthermie, des examens quotidiens d'étalements de sang sont pratiqués et à partir du 9^e jour, *Rickettsia bovis* est identifiée dans ces prélèvements. Les rickettsies persistent pendant 6 jours puis disparaissent. Ce veau fait donc une forme inapparente de la maladie qui serait passée inaperçue s'il n'avait été soumis à une surveillance particulière. Ce fait prouve cependant la réalité de la contamination sur place.

D'autre part, un broyat de tiques est inoculé à deux bovins de race locale. Réalisé avec des *Amblyomma variegatum* récoltés sur des bovins de race locale, pâturant dans la région de Thiès, ce broyat est mis en suspension dans du milieu HBSS (Hank's balanced salted solution) pour culture de tissus et inoculé (sans antibiotique) sous la peau des deux animaux. Respectivement, 16 et 29 jours après l'inoculation, *Rickettsia bovis* est identifiée dans les frottis de sang de ces bovins, persiste quelques jours puis disparaît. La présence des rickettsies s'accompagne des modifications sanguines déjà décrites. Ces animaux font une forme inapparente de la maladie car en dehors d'une légère baisse d'état, ils ne présentent aucun symptôme morbide.

Cette expérimentation permet de démontrer la transmission de *Rickettsia bovis* par *Amblyomma variegatum* et d'établir que la région de Thiès est un foyer de rickettsiose générale bovine.

Il faut donc conclure à l'existence de la rickettsiose générale bovine au Sénégal et que cette

maladie se montre particulièrement grave chez les zébus pakistanais, animaux neufs et peut-être particulièrement sensibles à cette affection.

TRANSMISSION TRANSPLACENTAIRE

Une des vaches mortes de rickettsiose étant en gestation, nous avons fait l'autopsie du fœtus et examiné des frottis de sang et des calques d'organes. Le fœtus, âgé de trois mois, était indemne de lésions et la recherche des rickettsies est restée négative. Cependant, l'étude de ce cas unique ne permet pas de tirer de conclusion sur la transmission ou la non-transmission de cette rickettsie par la voie placentaire.

TRAITEMENT

Parmi les traitements essayés, l'utilisation de l'association pénicilline-streptomycine (3 millions U. I. — 3 g/jour) ou de la tétracycline en injection intramusculaire s'est toujours soldée par des échecs.

Seule l'aureomycine par la voie intraveineuse, à la dose journalière de 4 à 5 mg/kg et pendant 4 à 5 jours, a permis d'assurer une guérison rapide des animaux. Mais son efficacité semble illusoire dans les formes suraiguës.

A ce traitement spécifique est ajouté une thérapeutique symptomatique (tonicardiaque).

PROPHYLAXIE

La seule prophylaxie actuellement possible est la lutte contre les tiques. Il est nécessaire de traiter les animaux à l'aide d'un produit acaricide

au moins une fois par semaine et, en plus de ce traitement, de maintenir les bovins récemment importés en stabulation permanente.

CONCLUSION

C'est la première fois, à notre connaissance, que la rickettsiose générale bovine est signalée au Sénégal. Cette observation porte à deux, le nombre de rickettsioses des monocytes identifiées dans ce pays, puisque, en 1941, CURASSON y signale l'existence de la rickettsiose générale ovine à *Rickettsia ovina* (LESTOQUARD et DONATIEN, 1936).

Dans ce pays, comme dans toutes les régions tropicales, *Rickettsia bovis* est réellement pathogène alors que DONATIEN et LESTOQUARD, 1940, constatent qu'en Algérie, elle ne provoque que des maladies bénignes. CURASSON (1942) avait fait la même remarque au sujet du rôle pathogène de *Rickettsia ovina*. Aussi nous pensons que, suivant ROUSSELOT (1953), il faut «... accorder à ces affections décrites comme inapparentes en Algérie une pathogénicité spéciale lorsqu'elles interviennent en pays tropical».

Dans les quelques cas que nous avons observés, c'est surtout pour le bétail récemment importé que cette rickettsiose a été très grave. Nous ne disposons pas encore d'observations cliniques concernant la maladie naturelle sévissant sur le bétail de race locale pour pouvoir juger de sa gravité éventuelle pour le cheptel sénégalais.

Institut d'Elevage et de Médecine
vétérinaire des Pays Tropicaux
Maisons-Alfort
Laboratoire national de l'Elevage
et de Recherches vétérinaires
Dakar-Hann

SUMMARY

Bovine Rickettsiosis in Senegal

Bovine Rickettsiosis has been recorded in Senegal. The work which has been carried out on this disease in some various countries is reported. The clinical signs and lesions are described. Diagnose of the disease is made through the evidence of *R. bovis* in the blood of infected animals and the presence in it of some abnormal leucocytes which are nearly characteristic of the disease. The only effective treatment consists in Aureomycine. Intravenous injections at the dose of 4 to 5 mg/kg/ day during 4 or 5 days.

The part played by *Amblyomma variegatum* in the transmission of the disease has been established.

RESUMEN

La Rickettsiosis general bovina en Senegal

Se nota la existencia de la Rickettsiosis general bovina en Senegal. Se pasan en revista los trabajos ya efectuados en varios paises concerniendo a esta enfermedad. Las síntomas y las lesiones se describen. La presencia de *Rickettsia bovis* en la sangre y algunas anomalías leucocitarias « casi patognomónicas » permiten diagnosticar la enfermedad. Las inyecciones de aureomicina por via venosa en la dosis de 4 a 5 mg/kg/dia durante 4 o 5 dias son el solo tratamiento activo. Se demuestra el papel de *Amblyomma variegatum* en la transmisión de la enfermedad.

BIBLIOGRAPHIE

- CURASSON (G.). — La rickettsiose générale ovine au Sénégal. Première note : La maladie expérimentale. *Bull. Serv. Zootechn. et des Epiz.*, 1941, 4 (1), 34-36.
- CURASSON (G.). — La rickettsiose générale ovine au Sénégal. *Bull. Serv. Zootechn. et des Epiz.*, 1942, 5 (1) : 3-8.
- CURASSON (G.). — Protozoologie vétérinaire et comparée T. III, Vigot Frères, 1943, 493 p.
- DONATIEN (A.) et LESTOQUARD (F.). — Recherches sur *Rickettsia canis*. Comparaison avec *Rickettsia conori*. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1936, 39 (10) : 1052-56.
- DONATIEN (A.) et LESTOQUARD (F.). — *Rickettsia bovis* nouvelle espèce pathogène pour le bœuf. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1936, 39 (10), 1057-61.
- DONATIEN (A.) et LESTOQUARD (F.). — Etat actuel des connaissances sur les rickettsioses animales. *Arch. Inst. Pasteur Algérie*, 1937, 15 (2) : 142-87.
- DONATIEN (A.) et LESTOQUARD (F.). — Particularités des *Rickettsia* des monocytes. *Bull. Acad. vét.*, 1937, (10), 183-87.
- DONATIEN (A.) et LESTOQUARD (F.). — Les rickettsioses animales. *Rev. Méd. vét.*, 1938, 2, 121-39.
- DONATIEN (A.) et LESTOQUARD (F.). — Rickettsiose bovine algérienne à *Rickettsia bovis*. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1940 (3), 245-48.
- FINELLE (P.). — Note clinique Rickettsiose à *Rickettsia bovis* en Oubangui-Chari. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1958, 291-92.
- GIRARD (H.) et ROUSSELOT (R.). — La rickettsiose à *Rickettsia bovis*, protoziste pathogène au Soudan français. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1945 (3-4) : 64-77.
- GIRARD (H.) et ROUSSELOT (R.). — Les rickettsioses animales au Soudan. *Encycl. vét. périod.*, 1947 (11-12), 403-18.
- KOCK (G. de), VAN HEERDEN (C. J.), DU TOIT (R.) et NEITZ (W. O.). — Theileriose bovine en Afrique du Sud avec référence spéciale sur *Th. mutans* (Bovine theileriasis in South Africa with special reference to *Th. mutans*). *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1937, 8, (1-2), 9-128.
- LESTOQUARD (F.) et DONATIEN (A.). — Sur une nouvelle *Rickettsia* du mouton. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1936 (2), 105-8.
- MALBRANT (R.), BAYROU (M.) et RAPIN (P.). — Protozooses sanguines des animaux domestiques en A. E. F. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1939, 32 (10), 953-60.
- ROUSSELOT (R.). — Notes de parasitologie tropicale. Parasites du sang des animaux (tome 1), Vigot Frères, 1953, 152 p.

Le botulisme des ruminants et des équidés au Sénégal

Caractères de la souche isolée de *Clostridium botulinum* et de sa toxine

par

M. P. DOUTRE et J. CHAMBRON
(avec la collaboration technique de I. FAYE)

RÉSUMÉ

Clostridium botulinum type C a été isolé du foie d'un bovin sacrifié à la période agonique alors qu'il présentait tous les symptômes de l'intoxication botulique aiguë telle qu'on peut la rencontrer dans le Ferlo chez les animaux en état d'aphosphorose. Les différents lots de toxine préparés à partir de la souche isolée par les méthodes de culture classique ont présenté une toxicité allant de 10.000 à 150.000 DMM/souris par ml. La culture du germe par dialyse en sac de cellophane a fourni une toxine titrant $2,5 \times 10^8$ DMM/souris par ml.

Dans une publication précédente (*), la double étiologie de l'affection animale observée au Sénégal, dans la région du Ferlo, et connue localement sous le nom de « Gniedo », a été mise en évidence. Brièvement, elle peut être représentée par le schéma suivant :

Carence minérale (hypophosphorose) → Ostéophagie → Botulisme.

L'importance reconnue au botulisme se voyait alors confirmée sur le plan bactériologique par l'obtention de deux résultats suffisamment démonstratifs mais incomplets :

— la révélation d'une toxine dans un filtrat de culture mixte effectuée à partir d'un fragment d'anse intestinale, avec perte de la toxicité dans les subcultures,

— la réussite d'une séro-neutralisation qualitative de cette toxine chez la souris en présence d'un mélange des antisérums des types C et D.

Dans le travail qui suit, nous nous proposons de rapporter les données nouvelles recueillies concernant le germe en cause, *Clostridium botulinum* et sa toxine.

MATÉRIEL

Les prélèvements utilisés au laboratoire de Dakar ont été effectués au cours d'une tournée accomplie dans la région dite des « six forages » en mai 1965. Les zones de Lagbar, Tessekré, Yaré Lao et Dodji ont été visitées afin de récolter le matériel d'étude.

Ce dernier est constitué essentiellement par des fragments de foie, d'anse intestinale et de masse musculaire provenant : d'un mouton abattu sur notre demande, de sept bovins morts depuis moins de 48 heures ou sacrifiés à la période agonique et d'un âne déjà enterré et exhumé par les propriétaires. Ainsi, 14 prélèvements d'organes ont été rassemblés et mis immédiatement dans des flacons d'un litre. Un contai-

(*) Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1965, 3, 249-282.

ner isotherme, rempli de pains de glace, a permis d'assurer une conservation à basse température sur le terrain et lors du transport à Dakar.

MISE EN ÉVIDENCE DE LA TOXINE BOTULIQUE DANS LES PRÉLÈVEMENTS

Pour chaque prélèvement, 60 g de matières solides sont triturées au mortier dans 60 ml d'eau distillée en présence de sable fin stérile. Chaque broyat est ensuite centrifugé à 3.000 tours/mn pendant 10 mn puis filtré sur filtre Seitz EKS I. La stérilité des filtrats recueillis est vérifiée par ensemencement d'un bouillon VF glucosé mis à l'étuve pendant 48 heures à 37 °C.

Chaque filtrat sert à inoculer un lot de 5 souris par voie intra-péritonéale (0,20 ml).

Résultats.

Les souris inoculées avec 5 filtrats différents succombent en moins de deux jours après avoir présenté les symptômes typiques du botulisme chez cette espèce. Les souris inoculées avec les 9 autres ne manifestent aucune mortalité.

Le filtrat le plus toxique pour la souris s'avère provenir d'un foie de zébu sacrifié par les éleveurs sur notre instance (Yaré Lao).

Le tableau clinique qu'offrait cet animal avait tout particulièrement attiré notre attention (ptyalisme intense et paralysie de la langue). A la dilution limite du 1/80, le filtrat tue encore la souris.

Par la suite, au cours des travaux ultérieurs, nous avons uniquement utilisé comme matériel le prélèvement de foie à partir duquel avait été préparé ce filtrat.

OBTENTION D'UNE TOXINE DE CULTURE MIXTE

Technique.

Un morceau de foie est trituré comme précédemment en eau distillée. Pour réduire le nombre des germes de contamination particulièrement important, nous nous sommes finale-

ment contentés de faire appel à la thermorésistance de la spore de *Clostridium botulinum*. Le broyat, recueilli dans un tube à essai, est chauffé 5 minutes à la température de 100 °C. Puis une partie de ce produit sert à ensemencer un ballon de 100 ml de bouillon pour anaérobies (Cooked Meat Medium Difco, B 267).

Après 6 jours de conservation à l'étuve à 37 °C, la culture mixte est centrifugée puis filtrée sur filtre Seitz EKS I.

La stérilité du filtrat est contrôlée par ensemencement d'un tube de bouillon VF glucosé avant inoculation de 5 souris par voie intrapéritonéale (0,20 ml).

Résultats.

Les 5 souris meurent en moins de 24 heures.

D'autres espèces animales reçoivent alors différentes quantités du même filtrat par des voies diverses :

Cobaye (1 ml par voie intrapéritonéale). L'animal présente une paralysie flasque généralisée (photo n° 1) et succombe dans les 24 heures.

Lapin (1 ml par voie intrapéritonéale). Le lapin meurt dans les 48 heures après avoir montré les symptômes de l'intoxication botulique (photo n° 2).

Pigeon [(0,25] ml par voie intramusculaire). Moins de 24 heures après l'inoculation, l'oiseau se paralyse, la tête pend et les membres antérieurs s'étendent (photo n° 3). La mort survient avant la fin du 2^e jour.

Canard de Barbarie (1 ml par voie intramusculaire). Au bout de 3 jours, seuls les mouvements des ailes sont permis. Le canard demeure couché, les ailes à plat sur le sol (photo n° 4), mais ne succombe pas. Ce fait a déjà été rapporté par DADOT lors d'un foyer de botulisme apparu chez cette espèce dans le nord de la France (12).

Bovin (2 ml par voie sous-cutanée). Au bout de 5 jours, un ptyalisme intense se déclare et la langue paralysée sort de la bouche. (photo n° 5 et 6), 48 heures plus tard la mort survient. Cette inoculation a permis de reproduire pour la première fois le botulisme expérimental chez le zébu au Sénégal.



Photo 1. — Cobaye paralysé ayant reçu 1 ml du filtrat de culture mixte



Photo 2. — Lapin paralysé ayant reçu 1 ml du filtrat de culture mixte



Photo 3. — Pigeon paralysé ayant reçu 0,25 ml du filtrat de culture mixte



Photo 4. — Canard de Barbarie ayant reçu 1 ml du filtrat de culture mixte



Photos 5 et 6. — Bouvillon ayant reçu 1 ml du filtrat de culture mixte. Symptômes présentés 5 jours après l'inoculation : paralysie des membres et de la langue, ptyalisme.



ISOLEMENT DE *CLOSTRIDIUM BOTULINUM*

Technique.

Les milieux suivants ont été utilisés :

Milieu liquide : Cooked Meat Medium Difco, B 267, réparti sous 1 cm d'huile de vaseline en tubes de 18.

Milieu solide : Brain Heart Infusion Agar Difco, B 418, réparti en tubes de 8/180 mm, sur une hauteur de 10 cm.

Nous avons eu recours comme méthode d'isolement à la technique classique des passages successifs dans des tubes de gélose profonde, maintenue à 50 °C, d'une pipette Pasteur préalablement introduite dans une culture en bouillon. En cas d'échec, nous nous réservions d'employer le procédé d'isolement, préconisé par BEERENS, sur boîtes de Pétri placées en état d'anaérobiose (4).

Une subculture de la culture mixte précédente constitue le matériel initial. Après 48 heures de mise à l'étuve à 37 °C, cette subculture contient outre le germe recherché, *Clostridium botulinum*, différents autres microbes anaérobies dont la spore a pu résister au traitement thermique. A ce stade, plusieurs séries de tubes de gélose profonde sont ensemencés suivant le processus décrit ci-dessus et mis à l'étuve.

48 heures plus tard, dans les tubes où l'isolement s'avère possible, des colonies différentes sont prélevées stérilement à la pipette, par aspiration après rupture de la paroi de verre, et repiquées en bouillon anaérobie.

Après 24 heures d'étuve, la pureté de ces dernières cultures en bouillon est vérifiée par examen direct et coloration au Gram. Les cultures pures sont alors gardées 5 jours de plus à l'étuve à 37 °C, afin de permettre l'obtention d'un filtrat stérile immédiatement inoculé à un lot de 5 souris. La filtration est précédée d'un repiquage en milieu liquide qui permet la conservation de la souche isolée.

Résultat.

A la suite d'un travail relativement long, nous avons ainsi obtenu le premier filtrat contenant la toxine botulique de culture pure et la souche de *Clostridium botulinum* responsable de sa production.

CARACTÈRES DU *CLOSTRIDIUM BOTULINUM* ISOLÉ

A) Caractères morphologiques

La morphologie du germe est classique.

Dans les milieux nutritifs suffisants (Cooked Meat Medium Difco, B 267, bouillon VF glucosé

à 2 p. 1.000), il se présente sous la forme de bâtonnets de 4 à 6 μ de long sur 0,9 à 1,2 μ de large, à bouts arrondis. Les éléments sont soit isolés, soit assemblés par deux ou en courtes chaînettes (photo n° 7). Dans les vieilles cultures, apparaissent des formes filamenteuses.

Dans les milieux liquides défavorables (A C Medium Difco, B 316 répondant à la composition suivante : pour 1.000 : extrait de viande 3 g, extrait de levure 3 g, extrait de malt 3 g, peptone 20 g, glucose 5 g, gélose 1 g, acide ascorbique 0,2 g, et le milieu à la cystéine constitué par : pour 1.000 : peptone tryptique 10 g, extrait de viande 3 g, glucose 2 g, chlorure de sodium 2 g, chlorhydrate de cystéine 0,5 g), le germe est plus gracile avec des formes incurvées et filamenteuses beaucoup plus abondantes (photo n° 8) ; repiqué ensuite en bouillon VF glucosé à 2 p. 1.000, il reprend sa morphologie habituelle.

Il retient difficilement la coloration de Gram. Bien que cilié, il semble immobile.

Les spores sont du type déformant et subterminal (photo n° 9). Elles se manifestent avant la 24^e heure de culture dans un milieu de culture convenable. La sporulation est presque totale au bout de 6 jours dans le bouillon Cooked

Meat Medium Difco, B 267. Dans le bouillon VF glucosé à 2 p. 1.000, elle est loin d'être achevée au bout de ce temps. Enfin, elle est nulle en milieu A C Difco, B 316, et dans le bouillon à la cystéine décrit ci-dessus.

B) Toxinogénèse, typage

Afin de déterminer le type du *Clostridium botulinum* isolé et la toxicité de la toxine produite chez différentes espèces de laboratoire et chez les bovins, un lot de toxine a été préparé.

Une culture en bouillon VF glucosé à 10 p. 1.000 a été centrifugée (3.000 tours/mn pendant 20 minutes) après 6 jours de mise à l'étuve à 35 °C, puis filtrée sur filtre Seitz EKS I. La stérilité du filtrat a été contrôlée comme précédemment.

Les filtrats de culture du germe dans le milieu A C Difco, B 316, et dans le bouillon cystéiné se sont révélés totalement atoxiques pour la souris (0,20 ml par voie intrapéritonéale).

Le titre du lot de toxine ainsi obtenu en bouillon VF glucosé a été préalablement déterminé chez la souris (nombre de DMM/souris par ml, cf. chapitre : pouvoir toxique pour différentes espèces animales).

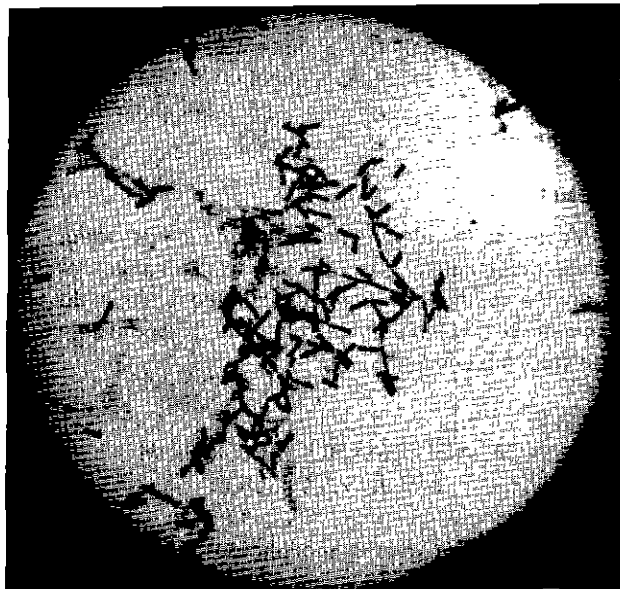


Photo 7. — Culture de *Cl. botulinum* C en bouillon VF glucosé au bout de 24 h

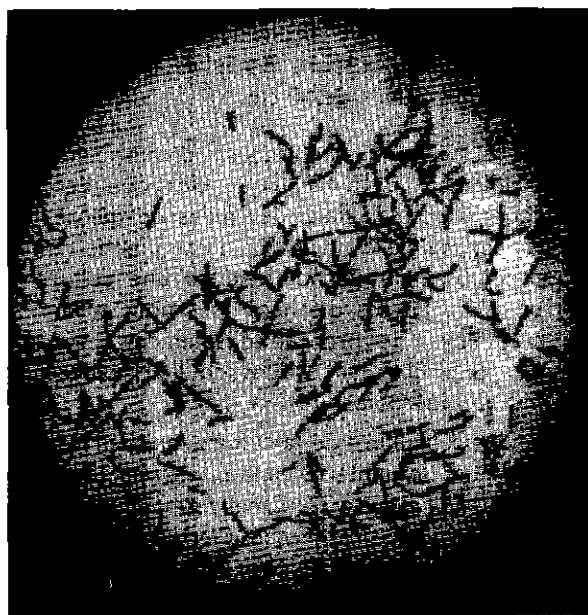


Photo 8. — Culture de *Cl. botulinum* C en milieu AC Difco B 316

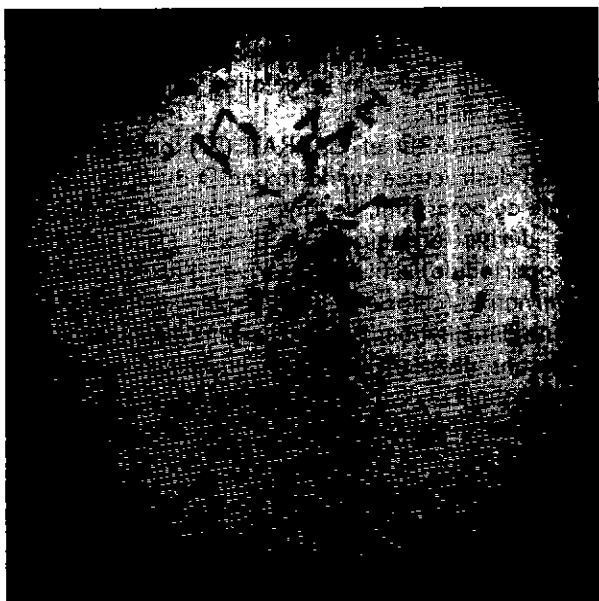


Photo 9. — Formes sporulées et spores de *Cl. botulinum* C en bouillon VF glucosé au bout de 4 jours de culture

Le typage a été effectué à l'aide des 5 antisérum A, B, C, D et E délivrés par l'Institut Pasteur de Paris.

5 lots de 5 souris ont reçu par voie intrapéritonéale 0,20 ml du mélange toxine-antitoxine de chacun des types préalablement portés 45 minutes à 37 °C. Pour chaque type, 1 unité antitoxique (U.A.) était mise en présence de 100 DMM/souris.

Résultats.

Seules les souris ayant reçu le mélange toxine-antitoxine C ont survécu. La totalité des souris appartenant aux 4 autres lots a succombé. Les souris inoculées avec le mélange toxine-antitoxine D sont mortes les dernières ; ce fait s'explique par la communauté antigénique partielle, bien connue, des types C et D.

Il est désormais possible d'affirmer que le type C de *Clostridium botulinum* est responsable des cas de botulisme observés dans le Ferlo. Toutefois, le type D peut très bien être isolé au cours de recherches ultérieures ; l'association des types C et D, constatée en Afrique du Sud, constitue une hypothèse qui justifie la poursuite des isolements (*).

(*) Cette souche a été identifiée comme appartenant au type C β , par le Professeur R. PRÉVOT, du service des anaérobies de l'Institut Pasteur de Paris, que nous remercions très vivement de cet examen.

C) Cultures

Les caractères culturels observés de la souche isolée ont été les suivants :

Gélose profonde (glucosée à 2 p. 1.000) : colonies lenticulaires devenant irrégulières, production de gaz. Ce dernier caractère est en désaccord avec les données classiques (16).

Gélose profonde au sang : colonies lenticulaires devenant irrégulières, non hémolytiques.

Gélose profonde cœur-cerveau glucosée, Difco, B 418 : colonies lenticulaires devenant irrégulières. Légère production de gaz.

Bouillon ordinaire : trouble homogène puis apparition de flocons.

Bouillon VF glucosé à 2 p. 1.000 : culture dense floconneuse qui sédimente. Production de gaz. Odeur putride.

Bouillon cystéiné : léger flocon dans le fond du tube, la masse du milieu demeurant limpide.

Milieu de Rosenow : bonne culture qui sédimente, non-production de gaz, pas de décoloration.

Gélatine de Kohn : liquéfiée. Pour le type C β , DOLMAN et MURAKAMI signalent au contraire que la gélatine n'est pas attaquée.

Lait : digéré.

Blanc d'œuf en bouillon VF : non attaqué.

Cerveau en bouillon VF : non attaqué.

Glucides : Nous avons étudié l'action de la souche isolée sur les glucides selon la méthode préconisée par H. BEERENS du service des anaérobies de l'Institut Pasteur de Lille.

Le milieu de base utilisé répond à la composition suivante :

Peptone tryptique	10	g
Chlorure de sodium	5	g
Extrait de viande	3	g
Extrait de levure	5	g
Chlorhydrate de cystéine	0,40	g
Agar en poudre	0,60	g
Eau du robinet	1.000	ml

A ce milieu de base est ajouté 1 p. 100 d'hydrate de carbone sous forme de solution stérilisée par filtration.

Après régénération, les différents sucres sont ensemencés à l'aide d'une culture de 24 heures en milieu de Rosenow. La quantité d'inoculum est importante, elle se situe entre 0,5 et 1 ml. Au bout de 48 heures, l'acidification est révélée

par adjonction dans chacun des tubes de quelques gouttes de l'indicateur universel de pH Prolabo.

Résultats : Dans ces conditions, le glucose, l'amidon, le glycérol, le lactose, le maltose, le mannitol, le saccharose et la salicine ne sont pas fermentés.

Ces observations recourent les données de DOLMAN et MURAKAMI. Pour ces auteurs, *Clostridium botulinum* C_β ne fermente aucun des sucres suivants : Maltose, saccharose, galactose, sorbitol, glycérol, dextrine, salicine, inositol, adonitol.

Le glucose et le fructose peuvent parfois être acidifiés avec une très légère production de gaz par certaines souches.

Le type C_α fermente au contraire certains sucres : le glucose, le fructose, le maltose, le glycérol, la dextrine, l'inositol et le galactose. Ne sont pas attaqués par ce type le sorbitol, le saccharose, la salicine et l'adonitol.

On peut remarquer que la souche de *Clostridium botulinum* C_β isolée offre la même action sur les sucres que *Clostridium histolyticum*. Toutefois le test à la gélatine décrit par H. BEERENS et J. GUILLAUME et le Colonel PONTE permet de différencier les deux germes. Le test consiste à ensemercer avec le germe étudié un tube de milieu de Rosenow régénéré auquel ont été ajoutés 3 ml de gélatine. Seul *Clostridium histolyticum* produit une importante quantité d'ammoniaque, par désamination, au cours de son développement.

D) Physiologie

Pouvoir réducteur faible, ne réduit ni le rouge neutre, ni la safranine.

E) Biochimie

Nitrates et sulfites non réduits.

CARACTÈRES DE LA TOXINE

A) Résistance

La toxine C est détruite par un chauffage de 10 à 15 minutes à 100 °C. Diverses protéines atténuent ou inactivent la toxine botulique C (43). Les antitoxines non spécifiques et les sérums

normaux en particulier ont un pouvoir neutralisant assez marqué. L'action de l'ovalbumine est très nette, celle de la gélatine et du sérum chauffé est nulle.

JUDE, GIRARD et CARRAT (27) ont étudié l'action destructrice sur la toxine D du permanganate de potassium, de l'hypochlorite de soude, d'un dérivé organique de l'iode (Triglycine hydroperiodide) et d'un dérivé d'ammonium quaternaire (chlorure de dodécyl-amidométhylène-diméthyl-benzyl-ammonium). Nous nous proposons de rechercher prochainement l'effet de certaines substances antiseptiques sur la toxine C produite par la souche isolée au Sénégal.

Un premier lot expérimental d'anatoxine a été produit par action du formol à 8 p. 1.000 à 40 °C sur un filtrat de culture de 6 jours en bouillon VF. Le temps nécessaire à l'inactivation a été de 20 jours.

B) Pouvoir toxique pour différentes espèces animales

La toxicité de la souche isolée a été étudiée pour plusieurs toxines de culture obtenues de façons diverses. Les résultats sont rapportés dans l'ordre de déroulement de l'expérimentation.

1^o Lot de toxine n° 1 : constitué par un filtrat de culture de 6 jours, en bouillon VF glucosé à 10 p. 1.000, en ballon de 250 ml.

Toxicité pour la souris : La DMM/souris se situe au voisinage de 0,000 1 ml, soit 10.000 DMM/ml pour des souris de 18-20 g inoculées par voie intrapéritonéale.

LAMANNA, JENSEN et BROSS (31) ont montré que le titre d'une solution de toxine botulique C ne varie pas en fonction du poids des souris inoculées. D'où il ressort que pour cette espèce, il est erroné d'exprimer la toxicité en ml de toxine par kg de poids vif.

Toxicité pour le cobaye (tableau I). La DMM/cobaye est voisine de 20 DMM/souris, soit 0,003 ml de toxine par kg de poids vif. Les cobayes utilisés ont été inoculés par voie intrapéritonéale.

Toxicité pour le lapin (tableau II). La DMM/lapin équivaut à environ 40 DMM/souris, ce qui correspond dans les essais effectués à 0,002 6 ml de toxine par kg de poids vif. Les différentes

TABLEAU N°1
Titrage de la toxine chez le cobaye (lot de toxine n°1)

Cobaye N°	Poids (kg)	Toxine pure (ml)	Quantité toxine par kg poids vif (ml/kg)	Nombre DMM/souris	Résultats
1363	0,368	0,6	1,6304	6.000	mort en moins de 24 h.
1365	0,364	0,4	1,0989	4.000	mort en moins de 24 h.
773	0,316	0,2	0,6329	2.000	mort en moins de 24 h.
1364	0,377	0,1	0,2652	1.000	mort en 24 h.
1367	0,353	0,09	0,2549	900	mort en 36 h.
771	0,372	0,07	0,1881	700	mort en 26 h.
1368	0,339	0,05	0,1474	500	mort en 29 h.
774	0,342	0,04	0,1169	400	mort en 28 h.
775	0,349	0,03	0,0859	300	mort en 29 h.
1370	0,361	0,02	0,0554	200	mort en 36 h.
1369	0,439	0,0175	0,0398	175	mort en 48 h.
1362	0,466	0,0150	0,0322	150	mort en 48 h.
1361	0,507	0,0125	0,0246	125	mort en 48 h.
1366	0,514	0,0100	0,0195	100	mort en 50 h.
778	0,386	0,0075	0,0194	75	mort en 3 jours
777	0,310	0,0050	0,0161	50	mort en 3 jours
776	0,346	0,0040	0,0116	40	mort en 3 jours
772	0,416	0,0030	0,0072	30	mort en 3 jours
766	0,650	0,0020	0,0031	20	paralysé au bout de 6 jours mort le 8ème jour.
769	0,789	0,0010	0,0013	10	a survécu.

dilutions de toxine ont été injectées par voie intrapéritonéale.

Toxicité pour le zébu (tableau III). La DMM/zébu est voisine de 1.500 DMM/souris, soit environ 0,001 ml de toxine par kg de poids vif, inoculée par voie sous-cutanée. En dehors de l'abattement, le ptialisme est le premier symptôme qui apparaît lors de l'inoculation d'une dose létale de toxine par voie sous-cutanée chez cette espèce animale (15). La plus grande sensibilité des bovins à la toxine botulique C est un fait bien connu (62).

2° Lot de toxine n° 2 : constitué par un filtrat de culture de 6 jours en bouillon VF glucosé à 10 p. 1.000, en erlenmeyer de 2 l.

Toxicité pour la souris : la DMM/souris est de 0,000 01 ml, soit 100.000 DMM/souris par ml, pour des souris inoculées dans les mêmes conditions que précédemment.

Toxicité pour le cobaye : 0,0003 ml/kg par voie intrapéritonéale.

Toxicité pour le lapin : 0,0002 ml/kg par voie intrapéritonéale.

Toxicité pour le zébu : 0,0001 ml/kg par voie sous-cutanée.

3° Lot de toxine n° 3 : constitué par un filtrat de culture de 6 jours en bouillon VF glucosé à 10 p. 1.000, auquel était ajouté du chlorhydrate de cystéine au taux de 0,5 g p. 1.000. La culture était effectuée en erlenmeyer de 100 ml.

TABLEAU N°II

Titrage de la toxine chez le lapin (lot de toxine n° 1)

Lapin N°	Poids (kg)	Toxine pure (ml)	Quantité toxine par kg poids vif (ml/kg)	Nombre DNM/souris	Résultats
767	2,090	1,0	0,478	10.000	mort en moins de 24 h.
761	2,35	0,8	0,340	8.000	mort en moins de 24 h.
770	2,075	0,6	0,289	6.000	mort en moins de 24 h.
762	1,790	0,4	0,223	4.000	mort en moins de 24 h.
768	2,150	0,2	0,093	2.000	mort en moins de 24 h.
765	1,840	0,1	0,054	1.000	mort en moins de 24 h.
758	1,930	0,09	0,0466	900	mort en 27 h.
757	2,080	0,07	0,0336	700	mort en 27 h.
760	2,140	0,05	0,0233	500	mort en 25 h.
747	1,800	0,04	0,0222	400	mort en 29 h.
746	2,080	0,03	0,0144	300	mort en 40 h.
748	1,360	0,02	0,0147	200	mort en 40 h.
792	1,520	0,015	0,0098	150	mort en 4 jours
791	1,890	0,010	0,0053	100	mort en 4 jours
790	1,890	0,005	0,0026	50	mort en 7 jours
763	1,320	0,004	0,0030	40	mort en 5 jours
782	1,475	0,003	0,0020	30	a survécu
781	1,940	0,002	0,0010	20	a survécu
785	2,500	0,001	0,0004	10	a survécu

TABLEAU N°III

Titrage de la toxine chez le zébu (lot de toxine n°1)

Zébu N°	Poids (kg)	Toxine pure (ml)	Quantité toxine par kg de poids (ml/kg)	Nombre DNM/souris	Résultats
759	131	2	0,0152	20.000	mort en 2 jours $\frac{1}{2}$
751	113	1,5	0,0132	15.000	mort en 3 jours $\frac{1}{2}$
752	141	1,0	0,0070	10.000	mort en 3 jours $\frac{1}{2}$
753	143	0,5	0,0034	5.000	mort en 6 jours
749	145	0,4	0,0027	4.000	mort en 7 jours
799	139	0,3	0,0021	3.000	ptyalisme 5 jours après mort en 21 jours
754	118	0,2	0,0016	2.000	mort au bout d'un mois
755	141	0,15	0,0010	1.500	mort au bout de 28 jours
756	126	0,10	0,0007	1.000	n'a présenté aucun symptôme

Toxicité pour la souris : La DMM/souris se situe au voisinage de 0,000 006 ml, soit environ 150.000 DMM/souris par ml, par voie intrapéritonéale.

Toxicité pour le cobaye : voisine de 0,000 1 ml/kg, par voie intrapéritonéale.

Toxicité pour le lapin : voisine de 0,000 09 ml/kg, par voie intrapéritonéale.

4^o Lot de toxine n^o 4 : Afin de réaliser la préparation prochaine d'une anatoxine destinée à vacciner les animaux du Ferlo, nous nous sommes efforcés d'obtenir une toxine de très haut titre en appliquant la technique des cultures en sac de cellophane mise au point par STERNE et WENTZEL (58) et reprise par différents auteurs (52, 65, 66).

Le milieu utilisé est du bouillon VF cystéiné (0,5 g p. 1.000) auquel est adjoint, après autoclavage, 10 p. 1.000 de glucose stérilisé par filtration. Le montage du dispositif de culture est réalisé dans un flacon de 5 litres (figure 1). Le tube de cellophane appartient à la marque Visking, SS de précision, n^o 100, largeur à plat 130,7 mm (Viscosa) (*).

L'autoclavage (30 mn à 120 °C) porte sur l'appareil rempli de milieu avec le sac de cellophane contenant du sérum physiologique jusqu'au 1/3 de sa hauteur.

La récolte de la toxine s'effectue 8 jours après l'ensemencement de l'intérieur du sac.

(* Etablissements SOPHYC, 4 rue du Dr Dumont, Levallois, Seine.

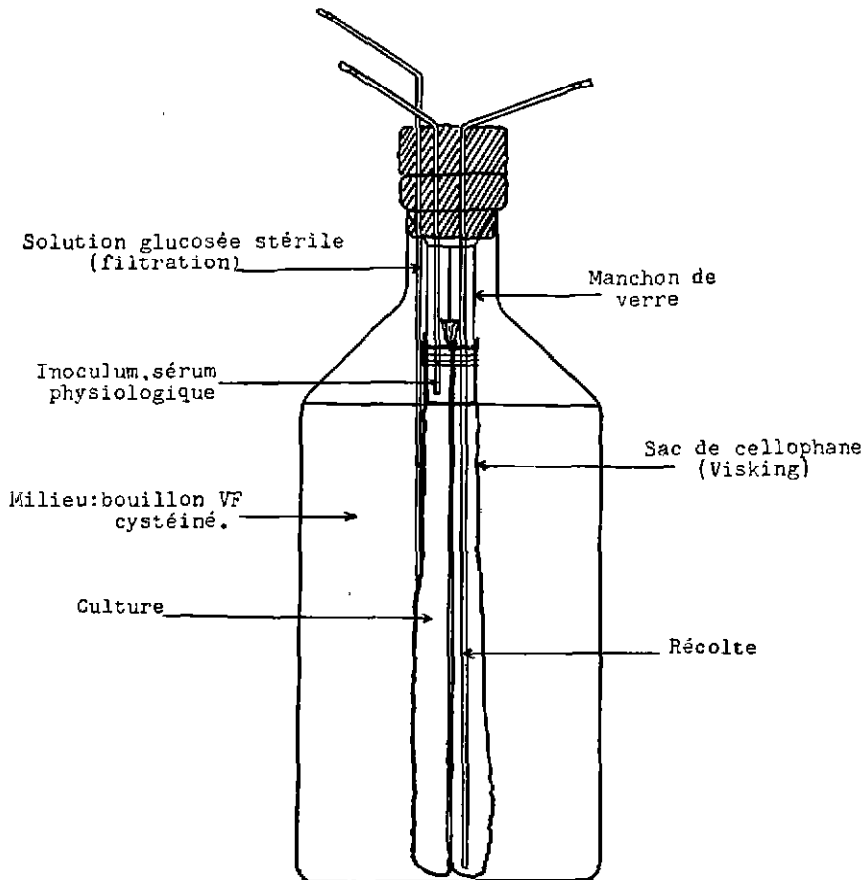


Figure I.- Culture de Clostridium botulinum type C en sac de cellophane.

Résultat.

Dans ces conditions de culture du germe par dialyse, la toxine obtenue titre $2,5 \times 10^6$ DMM/souris par ml.

CLOSTRIDIUM BOTULINUM TYPE C ET BOTULISME HUMAIN

Nous tenons à aborder brièvement cette question, car il est d'usage courant dans le Ferlo que les éleveurs abattent les animaux atteints de la « maladie des forages » avant qu'ils ne succombent, et que la viande soit consommée. Les coutumes alimentaires font que la viande de bœuf soit, le plus souvent bouillie ; celle du mouton est parfois grillée. Dans ces conditions, la toxine relativement thermolabile est détruite.

Néanmoins, nous pensons utile d'attirer l'attention sur ce problème en rappelant que le botulisme humain de type C a déjà fait l'objet d'au moins trois descriptions. En 1953, un cas a été rapporté par MEYER et Coll. (33), la recherche de l'aliment causal fut confuse et demeura sans résultat.

Le second exemple date de 1955 et nous le devons à PREVOT (43) et Coll., deux personnes présentèrent un botulisme typique à la suite de l'ingestion d'un pâté de campagne et *Clostridium botulinum* type C fut isolé de cette charcuterie. Un autre foyer humain de type C a été signalé par FLEMING en Rhodésie ; également un pâté de préparation familiale était à l'origine de l'intoxication (*).

(*) H. BEERENS nous a rapporté qu'au Congrès de bactériologie, tenu à Moscou en 1966, Mme MATTWEEV avait signalé deux nouveaux cas d'épidémie de botulisme à type C chez l'homme en U. R. S. S.

Dans le premier cas, la consommation d'un poisson était à l'origine de l'infection. La souche fut isolée de l'intestin d'une personne ayant succombé à la maladie. Dans le second cas, une conserve familiale de concombres fut rendue responsable du botulisme de type C observé.

Au Sénégal, le botulisme humain a récemment fait l'objet d'une publication. REY et Coll. (49) rapportent qu'en 1964 six cas cliniques, dont trois mortels, ont été observés chez des Serers contaminés dans leurs villages d'origine, en milieu coutumier rural. L'épidémiologie de l'affection ne fut pas précisée et il semble à première vue difficile d'effectuer un rapprochement avec le botulisme bovin du Ferlo.

CONCLUSION

Clostridium botulinum type C a été isolé du foie d'un bovin sacrifié à la période agonique alors qu'il présentait tous les symptômes de l'intoxication botulique aiguë telle qu'on peut la rencontrer dans le Ferlo chez les animaux en état d'aphosphorose. Les différents lots de toxine préparés à partir de la souche isolée par les méthodes de culture classiques ont présenté une toxicité allant de 10.000 à 150.000 DMM/souris par ml. La culture du germe par dialyse en sac de cellophane a fourni une toxine titrant $2,5 \times 10^6$ DMM/souris par ml.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier nos confrères CALVET (H.), REGNOULT (M.) et GRETILLAT (S.) pour le concours apporté dans la récolte des prélèvements sur le terrain et dans l'exécution des photographies que nous présentons.

Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire
des Pays tropicaux. Maisons-Alfort

Laboratoire national de l'Elevage
et de Recherches vétérinaires. Dakar-Hann

SUMMARY

The Botulism of Ruminants and Horses in Senegal

Characteristics of the Strain of *Clostridium botulinum* isolated and of its toxin

Clostridium botulinum type C has been isolated from the liver of a cattle which had been slaughtered at its last gasp when showing all the symptoms of an acute botulism intoxication such as it can be seen in the Ferlo in animals

suffering from a lack of phosphorus. The different batches of toxin prepared from the strain isolated by classical methods of culture, showed a toxicity ranging from 10.000 to 150.000 LD/mouse per ml. The culture of the germ by dialysis through cellophan membrane gave a toxin, the titer of which was 2.5×10^6 LD/mouse per ml.

RESUMEN

El botulismo de los rumiantes y de los caballos en Senegal Caracteres de la cepa aislada de *Clostridium botulinum* y de su toxina

Se aisló *Clostridium botulinum* tipo C del hígado de un bovino matado durante su agonía cuando tenía todas las síntomas de la intoxicación aguda causada por el botulismo tal como se puede encontrarla en el Ferlo en los animales atacados por una carencia en fósforo. Los varios lotes de toxina preparados a partir de la cepa aislada mediante los métodos clásicos de cultivo mostraron una toxicidad llegando de 10.000 a 150.000 DMM/ratón por ml. El cultivo del germen por diálisis en saco de celofan produjo una toxina cuyo título era $2,5 \times 10^6$ DMM/ratón por ml.

BIBLIOGRAPHIE

1. ANDERSEN (A. A.). — Une méthode rapide de numération des spores de « *Clostridium botulinum* » sur boîte de Pétri. (A rapid plate method of counting spores of *Clostridium botulinum*). *J. Bact.*, 1951, **62**, 425-432.
2. BEER (J.). — Une nouvelle substance chimique inhibant le développement des bactéries, le PNPG/I. (Ein neuer, das Schwärmen von Bakterien hemmender chemischer Stoff, PNPG/I). *Zbl. Bakt.*, 1958, **171**, 195-201.
3. BEERENS (H.). — Amélioration des techniques d'étude et d'identification des bactéries anaérobies. *Ann. Inst. Pasteur Lille*, 1953-1954, **6**, 36-48.
4. BEERENS (H.) et CASTEL (M. M.). — Procédé simplifié de culture en surface des bactéries anaérobies. Comparaison avec la technique utilisant la culture en profondeur. *Ann. Inst. Pasteur Lille*, 1958-1959, **10**, 183-192.
5. BENNETTS (H.W.) et HALL (H. T. B.). — Le botulisme ovin et bovin en Australie occidentale : sa cause et sa prévention par l'immunisation. (Botulism of sheep and cattle in western Australia : its cause and its prevention by immunization). *Aust. vet. J.*, 1938, **14** (3), 105-118.
6. CALVET (H.) et PICART (P.). — Etude sur la maladie des forages. *Lab. nat. Rech. vét. Dakar, Rap. fonction.*, 1964.
7. CALVET (H.) et PICART (P.). — Aphosphorose et botulisme au Sénégal. 4^e Journées médicales Dakar, 1965, à paraître.
8. CALVET (H.), PICART (P.), DOUTRE (M.) et CHAMBRON (J.). — Aphosphorose et botulisme au Sénégal. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1965, **3**, 249-282.
9. COBURN (N.). — Considérations sur les différentes fractions de la toxine botulique type C. (Concerning the nature of type C Botulinus toxin fractions). *Sci.*, 1942, **95**, 389.
10. COLLET (P.), BON (M.), RUBY et COURRIER. — Plusieurs cas de botulisme sur les grandes espèces animales. *Bull. Soc. Sci. vét. Lyon*, 1951, **53**, 139-146.
11. COLIN (F.) et BONIN (M.). — Un cas de botulisme bovin. *Bull. Soc. Sci. vét. Lyon*, 1958, **60**, 201-204.
12. DADOT (F.). — Botulisme du canard. *Rec. Méd. vét. Ecole Alfort*, 1945, **121**, 177-181.
13. DONETS (Y. I.). — Etude des propriétés infectieuses de l'agent causal du botulisme de type C. (The study of infectious properties

- of the C type causative agent of botulism). *J. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.*, 1961, **6**, 104-110.
14. DUBOVSKY (B. J.) et MEYER (K. F.). — Une étude expérimentale des méthodes disponibles pour l'enrichissement, la mise en évidence et l'isolement de *B. botulinus* dans des prélèvements de sols ou de produits en dérivant, dans des aliments suspects et dans du matériel clinique ou nécropsique. (An experimental study of the methods available for the enrichment, denonstration and isolation of *B. botulinus* in specimens of soil and its products, in suspected food, in clinical and in necropsy material). *J. infect. Dis.*, 1922, **31**, 501-540.
 15. EMMELIN (N.). — Hypersensibilité des glandes salivaires à la toxine botulique. (Supersensitivity of salivary gland caused by botulinum toxin). *J. Physiol.*, 1961, **156**, 121-127.
 16. FAGONDE (A. P.). — Le botulisme animal. (Botulismo animal). *Bull. Off. int. Epiz.*, 1963, **59**, 1361-77.
 17. FILMER (J. F.) et KULL (K. E.). — Le botulisme chez les animaux domestiques de l'Australie occidentale. (Botulism in domestic animals in Western Australia). *Aust. vet. J.*, 1937, **13**, 170-172.
 18. GALLUP (D. M.) et GERHARDT (P.). — Cultures concentrées de bactéries obtenues en tubes de dialyse et dans des fermentateurs. (Concentrated culture of bacteria in dialysis flask and fermentor systems). *Bacteriol. Proc.*, 1962, **52**.
 19. GRAHAM (R.) et SCHARZE (H.). — Le botulisme des bovins. (Botulism in cattle). *J. Bact.*, 1921, **4**, 1-21.
 20. GUILLAUMIE (M.) et KREGUER (A.). — Contribution à l'étude des hémolysines bactériennes. Propriétés des toxines botuliniques des types C et D. *C-R. Soc. Biol.*, 1951, **145**, 179-182.
 21. HELLER (H. H.). — Principes concernant l'isolement des germes anaérobies. (Principles concerning the isolation of anaerobes). *J. Bact.*, 1921, **6**, 445-470.
 22. HELSON (V. A.), STEVENSON (J. W.) et REED (G. B.). — Quantité de toxine botulique obtenue dans des milieux concentrés. (Yield of botulinum toxin in concentrated media). *Can. J. of Res.*, 1947, **25**, 25-31.
 23. HENNING (M. W.). — Les maladies animales en Afrique du Sud. (Animal diseases in South Africa). 2nd edit., Central news agency South Africa, 1949.
 24. HERNANZ (M.). — Le botulisme des équidés en Espagne. (El botulismo de los equidos en Espana). *Trab. Inst. Biol. anim.*, 1942, **7**, 326-344.
 25. HERNANZ (M.). — Le botulisme chez les animaux domestiques. (El botulismo en los animales domesticos). *Trab. Inst. Biol. anim.*, 1942, **7**, 511-539.
 26. JANSEN (B. C.). — L'importance des microbes anaérobies comme agents de maladies animales en Afrique du Sud. (The Importance of anaerobes in the causation of animal diseases in the Republic of South Africa). *Bull. Off. int. Epiz.*, 1963, **59**, 1333-50.
 27. JUDE (A.), GIRARD (P.) et CARRAT (P.). — Action destructrice *in vivo* de certains agents chimiques sur les toxines botulique et tétanique. *C-R. Soc. Biol.*, 1949, **143**, 318-319.
 28. KATITCH (R.), CVETKOVITCH (L.), DJOUKITCH (B.), VOUKITCHEVITCH (Z.) et TOMANOVITCH (B.). — Possibilité d'infection par *Cl. botulinum* C beta. Lésions provoquées par *Ascaris suum*. *Rec. Méd. vét.*, 1965, **141**, 433-439.
 29. KATITCH (R. V.). — Les maladies des animaux domestiques causées par les microbes anaérobies. *Vigot*, 1965.
 30. McKEE (M. T.), BELL (J. F.) et HOYER (B. H.). — Culture de *Clostridium botulinum* type C à pH contrôlé. (Culture of *Clostridium botulinum* type C with controlled pH). *J. Bact.*, 1958, **75**, 135-142.
 31. LAMANNA (C.), JENSEN (W. I.) et BROSS (I. D. J.). — Rôle du poids dans la réponse de la souris aux toxines botuliniques. (Body weight as a factor in the response of mice to botulinical toxins). *Amer. J. Hyg.*, 1955, **62**, 21-28.
 32. LEWIS (K. N.) et HILL (E. V.). — Milieu pratique et mesures de contrôle pour la production de cultures de haute toxicité de *Clostridium botulinum* type A. (Practical media and control measures for producing highly toxic cultures of *Clostridium botulinum* type A). *J. Bact.*, 1947, **53**, 213-230.

33. MEYER (K. F.), EDDIE (B.), YORK (G. K.), COLLIER (C. P.) et TOWNSEND (C. T.). — *Clostridium botulinum* type C et le botulisme humain. (*Clostridium botulinum* type C and human botulism). VI^e Congrès int. Micr., 1953, vol. 2, sez VIII-XVI, 276.
34. MOINE (G. G.). — Du danger des cadavres en putréfaction au sein des denrées alimentaires. *Rev. Path. comp.*, 1950, 50, 411-413.
35. MULLER (J.). — Botulisme du type C chez l'homme et les animaux. Incidence chez les bovins et les équidés. (Type C botulism in man and animals. Incidence in cattle and horses). *Medlemsbl. danske Drylaegeforen*, 1961, 44, 547-57.
36. MULLER (J.). — Botulisme équin et bovin au Danemark. (Equine and bovine botulism in Denmark). *Bull. Off. int. Epiz.*, 1963, 59, 1379-90.
37. PIGOURY (L.), MICHEL (C.) et CHABASSOL (C.). — Rôle de l'eau dans l'étiologie du botulisme animal. Méthode de recherche de la toxine botulique C dans l'eau. *Rev. Cps Santé Armées*, 1962, 3, 649.
38. POLSON (A.) et STERNE (M.). — Production de toxines botuliques de haut titre et d'anatoxines. (Production of potent botulinum toxins and formol toxoids). *Nature*, 1946, 158, 238-239.
39. PREVOT (A. R.). — Techniques pour le diagnostic des bactéries anaérobies. *Coll. « Techniques de base »*, 119 p., Edit. de la Tourelle, Saint-Mandé.
40. PREVOT (A. R.), HUET (M.) et TARDIEUX (P.). — Etude de vingt-cinq foyers récents de botulisme animal. *Bull. Acad. vét. France*, 1950, 23, 481-487.
41. PREVOT (A. R.), SILLIOC (R.) et QUENTIN (M.). — Existence en France du botulisme bovin de type C. *Bull. Acad. vét. France*, 1953, 26, 73-78.
42. PREVOT (A. R.), SILLIOC (R.) et GAY (H.). — Etude d'un foyer de botulisme équin de type C. *Rec. Méd. vét. Ecole Alfort*, 1954, 130, 353-355.
43. PREVOT (A. R.). — *Biologie des maladies dues aux anaérobies*. 572 p., Edit. médicales Flammarion, Paris, 1955.
44. PREVOT (A. R.), SILLIOC (R.) et PROUTE (J.). — Etude d'un foyer de botulisme bovin dû à *Cl. botulinum* C. *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, 88, 513-515.
45. PREVOT (A. R.), TERRASSE (J.), DAUMAIL (J.), CAVAROC (M.), RIOL (J.) et SILLIOC (R.). — Existence en France du botulisme humain de type C. *Bull. Acad. nat. Méd. Paris*, 1955, 139, 355-358.
46. PREVOT (A. R.). — Manuel de classification et de détermination des bactéries anaérobies. *Monographie Inst. Pasteur*, Masson, 1957.
47. PREVOT (A. R.). — A propos de la toxino-type botulique. *Bull. Ass. Dipl. Microbiol.*, Nancy, 1959, 74, 2-7.
48. RÉED (G. B.) et ORR (J. H.). — Identification rapide des germes anaérobies des gangrènes gazeuses (Rapid identification of gas gangrene anaerobes). *War Med.*, 1941, 1, 493-510.
49. REY (M.), DIOP MAR (I.), BAYLET (R.), ARMENGAUD (M.), MICHEL (R.), BONNARDOT (R.) et SOW (M.). — Du botulisme en pays Serer, à propos de six cas hospitalisés. *Bull. Soc. Méd. Afr. noire*, 1964, 9, 34-44.
50. SANCHEZ BOTIJA (C.). — Epizootologie du botulisme des équidés en Espagne. Enquête sur la contamination des aliments (Epizootologia del botulismo de los equidos en Espana. Investigaciones sobre la contaminación de los alimentos). *Trab. Inst. Biol. anim.*, 1942, 7, 223-288.
51. SARTORY (R.), MEYER (J.), MALGRAS (J.) et SUPPIGER (H.). — Recherche et dosage des principaux facteurs de croissance dans le milieu VF pour bactéries anaérobies. *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, 89, 358-368.
52. SCHNEIDER (M. D.), GRECZ (N.) et ANELLIS (A.). — Sporulation de *Clostridium botulinum* type A, B et E, de *Clostridium perfringens* et de l'anaérobie putréfiant 3679 en sacs de dialyse (Sporulation of *Clostridium botulinum* types A, B et E, *Clostridium perfringens* and putrefactive anaerobes 3679 in dialysis sacs). *J. Bact.*, 1963, 85, 126-133.
53. SCOTT MILLAR (J. W.). — Le botulisme en Afrique du Sud (Botulism in South Africa). *South Afr. Med. J.*, 1964, 38, 310-315.

54. SEDDON (H. R.). — Les maladies des animaux domestiques en Australie (Diseases of domestic animals in Australia). *Commonwealth of Australia, Depart. of Health*, 1953.
55. SEERGEEVA (T. I.). — Recherche des toxines botuliques et des germes de type B et C chez les malades et dans les cadavres (Detection of botulism toxins and microbes of the B and C types in the organism of sick man, animals and in corpses). *J. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.*, 1963, 7, 77-82.
56. SHOOP (G.). — Mise en évidence de *Clostridium botulinum* type C chez les bovins (Demonstration of *Clostridium botulinum* type C in cattle). *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 1961, 68, 71-72.
57. SIMMONS (G. C.) et TAMMEMAGI (L.). — *Clostridium botulinum* type D, agent responsable du botulisme bovin (*Clostridium botulinum* type D as a cause of bovine botulism in Queensland). *Austral. vét. J.*, 1964, 40, 123-127.
58. STERNE (M.) et WENTZEL (L. M.). — Une nouvelle méthode de production importante d'anatoxine botulique de titre élevé des types C et D (A new method for the large-scale production of high-titre botulinum formol-toxoid types C and D). *J. Immunol.*, 1950, 65, 175-183.
59. STERNE (M.) et THOMSON (A.). — Isolement et identification de « *Clostridia* » dans les maladies animales (The isolation and identification of « *Clostridia* » from pathological conditions of animals). *Bull. Off. int. Epiz.*, 1963, 59, 1487-98.
60. STEVENSON (J.W.), HELSON (V. A.) et REED (G. B.). — Un milieu à base de digestat de caséine pour la production de toxine par les germes du groupe des *Clostridium* (A casein digest medium for toxin production by *Clostridium*). *Can. J. of Res.*, 1947, 25, 9-13.
61. STEVENSON (J.W.), HELSON (V. A.) et REED (G. B.). — Préparation des toxines des *Clostridium paratubulinum* (Preparation of *Clostridium paratubulinum* toxins). *Can J. of Res.*, 1947, 25, 14-24.
62. THEILER (H.), VILJOEN (P. R.), GREEN (H. H.), DU TOIT (P. J.), MEIER (H.) et ROBINSON (E.M.). — Le Lamsiekte (paratubulisme) des bovins en Afrique du Sud (Lamsiekte (paratubulism) in cattle in South Africa). *12th Ann. Rep. Director vet. Res. South Afr.*, 1927, 12, 821-1961.
63. VERGE (J.) et GORET (P.). — Sur la pathogénie du botulisme. *Bull. Soc. Sci. vét. Lyon*, 1947, 49, 92-95.
64. VERGE (J.) et POGGIOLI (Ch.). — *Bull. Acad. vét. France*, 1951, 24, 509-517.
BRUYERE (A.) et DAVID (A.). — Paralysie labio-glosso-pharyngée et botulisme chez le cheval. *Rev. Méd. vét.*, 1951, 102, 155-160.
65. VINET (G.) et FREDETTE (V.). — Appareil pour la culture des bactéries en tubes de cellophane. (Apparatus for the culture of bacteria in cellophane tubes). *Science*, 1951, 114, 549-550.
66. VINET (G.) et RAYNAUD (M.). — Production et purification de la toxine botulique type C. *Rev. Can. Biol.*, 1963, 22 (1), 119-120.
67. VIRAT (B.), VALLEE (A.) et KREGUER (A.). — A propos du botulisme du mouton ; première souche ovine isolée en France. *Bull. Acad. vét. France*, 29, 425-426.
68. WENTZEL (L. M.) et STERNE (M.). — Une membrane dialysante simple à double surface (A simple double-surface dialysing membrane). *Science*, 1949, 110, 259.
69. WENTZEL (L. M.), STERNE (M.) et POLSON (A.). — La haute toxicité de la toxine botulique type D purifiée (High toxicity of pure botulinum type D toxin). *Nature*, 1950, 166, 739-740.

Etude du pouvoir anthelminthique du Tetramisole (16. 535 R. P.) sur divers helminthes du zébu de la République du Tchad *

par M. GRABER

Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux
Laboratoire Farcha-Fort-Lamy - République du Tchad
Rhône-Poulenc, 22 avenue Montaigne, Paris

RÉSUMÉ

L'auteur, après avoir effectué des essais thérapeutiques sur 107 zébus, jeunes et adultes, originaires des régions Ouest de la République du Tchad estime que la dose de 5 mg/kg de Tetramisole administrée sans diète par la voie buccale ou par la voie sous-cutanée suffit à détruire dans la proportion de 90-95 p. 100 les associations à base de *Bosicola radiatum*, *Bunostomum phlebotomum*, *Haemoncus contortus*, *Cooperia pectinata* et *Cooperia punctata* adultes mûrs ou immatures.

Les formes L₄ de *Bosicola radiatum* enkystées dans la muqueuse intestinale résistent à tout traitement. Quelques formes larvaires de *Cooperia* persistent également.

Le médicament est relativement peu toxique pour le zébu, puisque le coefficient chimiothérapeutique va de 8-10 (voie sous-cutanée) à 15 (voie buccale). A la dose thérapeutique, bien supportée, l'amélioration de l'état général est très rapide et, au bout de sept semaines, dans de très mauvaises conditions alimentaires, le gain de poids est de + 17,6 p. 100 (témoins : + 12,9 p. 100). Le 16.535 R. P. présente donc un intérêt économique indéniable.

INTRODUCTION

Depuis longtemps déjà, Chimistes et Biologistes, dans la lutte contre les Nématodes du gros bétail, ont cherché à mettre au point un médicament parfait. Un grand nombre d'anthelminthiques ont été successivement essayés avec des fortunes diverses.

Dans cet ordre d'idées, le Laboratoire de Farcha a expérimenté, au cours de ces dix dernières années, plusieurs dizaines de corps,

en ne perdant pas de vue que, dans des pays tropicaux secs à élevage nomade ou semi-nomade comme le Tchad, un bon traitement doit obéir aux impératifs suivants :

— L'existence au départ d'un troupeau fortement anémié le rend plus sensible au médicament qui devra alors être dépourvu de toute toxicité.

— La présence de Nématodes associés milite en faveur de l'emploi d'un anthelminthique polyvalent à très large spectre d'activité, tant sur les formes adultes que sur les formes immatures.

(*) Remis pour publication le 28-4-1966.

— La diète préalable est à proscrire : les troupeaux seront traités immédiatement là où ils se trouvent.

— L'administration du médicament devra être effectuée par un personnel non spécialisé, le plus souvent par le propriétaire du troupeau lui-même.

— Le coût de l'opération devra être faible et l'accroissement du rendement du troupeau après traitement démontré.

Le dernier anthelminthique en date, le Thiabendazole, s'il n'obéit pas entièrement à toutes ces règles, constitue un progrès très net par rapport à ce qu'il était possible de recommander auparavant (GRABER, 1965).

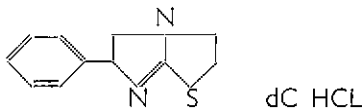
Tout récemment, THIENPONT et Coll. (1966) ont signalé que le di (tetrahydro-2, 3, 5, 6, Phenyl-6 imidazo (2-1) b thiazole, Chlorhydrate ou Tétramisole (nom générique) ou 16.535 R. P. pouvait être considéré comme un anthelminthique de très grande valeur, ce qui, chez le mouton, a déjà été confirmé par WALLEY (1966) et GRABER (1966).

Le but du présent travail (*) est de donner un aperçu général de la valeur antiparasitaire et économique du médicament à l'égard des Nématodes bovins les plus fréquents en Afrique centrale.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

A. — L'Anthelminthique

Le Tétramisole, $C_{11}H_{12}N_2S \cdot HCL$, a comme formule :



Il se présente sous l'aspect d'une poudre sans odeur, blanche, amorphe et de saveur aigre-douce. Le poids moléculaire est de 240,753 et le point de fusion est atteint à 260 °C. La poudre — jusqu'à plus ample informé — paraît stable dans des conditions tropicales sévères (+ 25 °C à + 37 °C pendant plus d'un an). Le Chlorhydrate titre 84,85 p. 100 de produit actif de base.

(*) Réalisé à la demande de la société Rhône-Poulenc.

Il est soluble dans l'eau (1 g dans 4 ml) et l'éthanol (1 g dans 70 ml). Mis au point par Janssen Pharmaceutica (*), le médicament est encore connu sous les noms de Ripercol (Belgique) et de Nilwerm (**), et de Memicine (***)

Il va être incessamment commercialisé en France.

B. — LES ANIMAUX D'EXPÉRIENCE

107 animaux originaux du Chari-Baguirmi et du Kanem (Ouest-Tchad) et pesant de 50 à 300 kilogrammes ont été utilisés de la façon suivante :

Essais thérapeutiques proprement dits : 57.

Essais de toxicité : 20.

Témoins : 20.

Essais sur le ferrain : 10.

Ils comprenaient :

28 vaches âgées.

79 bouvillons de 5 à 18 mois.

La plupart d'entre eux hébergeaient à l'état naturel un grand nombre d'Helminthes (95 p. 100) (voir tableau).

Ces Helminthes étaient associés, dans 85 p. 100 des cas, par 2, 3 ou même 5 espèces différentes. Aussi, l'état des animaux était-il des plus médiocres chez les bouvillons les plus jeunes et chez les vaches les plus âgées.

Les essais ont été menés en six étapes de janvier 1965 à avril 1966 (janvier, mai, juin, novembre-décembre 1965 ; mars-avril 1966), ce qui a permis de suivre le comportement des animaux aux époques favorables (d'août à février) et aux époques défavorables (de mars à juillet).

La saison des pluies 1965 ayant été, au Tchad, particulièrement déficitaire, la repousse des pâturages a été faible, d'où un certain manque de fourrage à partir de février 1966 avec comme conséquence amaigrissement général des effectifs. Les essais de toxicité effectués en avril 1966 sur des bouvillons profondément amaigris donnent des indications précises sur la résistance des animaux au Tétramisole administré à fortes doses.

(*) Beerse-Belgique.

(**) Imperial Chemical Industries limited.

(***) Spécia et Roger Bellon.

Espèces parasites	Animaux traités (64)	Animaux témoins (20)	Total (84 animaux)
<i>Dicrocoelium hospes</i>	—	1	1
<i>Fasciola gigantica</i>	19	4	23
<i>Paramphistomum microbothrium</i>	14	8	22
<i>Cotylophoron cotylophorum</i>	—	4	4
<i>Carayerius papillatus</i>	3	3	6
<i>Schistosoma bovis</i>	40	7	47
<i>Moniezia expansa</i>	—	1	1
<i>Moniezia benedeni</i>	1	2	3
<i>Thysaniezia ovilla</i>	2	1	3
<i>Cysticercus bovis</i>	8	1	9
<i>Echinococcus polymorphus</i>	1	—	1
<i>Strongyloides papillosus</i>	6	—	6
<i>Bosicola radiatum</i>	35	13	48
Nœdules d'Oesophagostomes	6	2	8
<i>Bunostomum phlebotomum</i>	16	12	28
<i>Cooperia punctata</i>	35	15	50
<i>Cooperia pectinata</i>			
<i>Haemoncus contortus</i>	15	8	23
<i>Parafilaria bovicola</i>	—	1	1
<i>Artionema labiato-papillosa</i>	25	8	33
<i>Onchocerca gutturosa</i>	29	5	34
<i>Onchocerca armillata</i>	27	3	30
<i>Buckleyuris globulosa</i>	5	4	9

C. — MÉTHODE

Elle est rigoureusement calquée sur celle qui a été décrite dans un précédent article (GRABER, 1966). Elle met l'accent sur l'importance qu'il y a, dans ce genre d'essais, à travailler sur autopsies avec un grand nombre de témoins, les examens coproscopiques et les cultures d'œufs ne servant qu'à orienter l'expérience.

1. Avant traitement.

Chaque animal est mis en observation durant 48 heures et divers examens (coproscopiques et hématologiques) sont pratiqués dans le but de situer l'importance exacte du parasitisme. Parallèlement, des cultures d'œufs permettent de savoir à quels Nématodes on a affaire.

En fonction des renseignements ainsi obtenus, les lots sont constitués : ils comprennent un tiers d'animaux très parasités, un tiers d'animaux moyennement parasités et un tiers d'animaux faiblement parasités.

2. Traitement.

La totalité des essais a été effectuée sans préparation, c'est-à-dire sans diète préalable. Les animaux ont été marqués et placés dans des stalles individuelles cimentées.

L'anthelminthique a été administré de deux manières :

- par la voie buccale « à la bouteille »,
- par la voie sous-cutanée. Le 16.535 R. P. est alors dissous dans de l'eau distillée stérile. Il existe divers types de solution (5 p. 100 ; 9 p. 100 ; 10 p. 100). C'est cette dernière qui a été employée. A 30 °C, il faut environ une demi-heure pour que les derniers cristaux disparaissent. La solution, sans dépôt, est alors injectée derrière l'épaule avec les précautions habituelles (asepsie) : dans ces conditions, il ne se produit, au point d'inoculation ni inflammation, ni nécrose au bout de 15-18 jours, alors que certains auteurs en font état (WALLEY, 1966).

Il est bien entendu que les doses administrées sont calculées en produit de base pur, ce qui nécessite une correction, puisque l'anthelminthique est sous forme de Chlorhydrate (1 g de produit pur représente 1,176 5 g de Chlorhydrate).

3. Après traitement.

Sur chaque animal, il a été procédé pendant 8 à 10 jours :

- a) au ramassage des crottes trois fois par jour. Elles ont été broyées dans un mince filet d'eau et soigneusement examinées, de manière à

faire apparaître les Helminthes — Cestodes et Nématodes — évacués. Ceux-ci ont été comptés, pesés et déterminés,

b) à des examens coproscopiques journaliers par la méthode de sédimentation de Brumpt, la plus simple à mettre en œuvre dans ce pays. La comparaison entre la moyenne du nombre d'œufs au gramme avant traitement, après traitement et le jour de l'autopsie permet d'avoir un premier aperçu de l'efficacité du médicament,

c) à des cultures d'œufs en boîtes de Pétri sur papier buvard. Arbitrairement, on évalue chaque jour le nombre de larves L_3 rencontrées dans une goutte de suspension aqueuse provenant des boîtes de Pétri. Pour chaque lot, la comparaison entre la moyenne du nombre de larves avant et après le traitement complète en général les éléments d'appréciation fournis par l'examen coproscopique. Pour certains Nématodes digérés dans l'intestin à la suite du traitement au Tétramisole, la méthode est absolument indispensable (*Strongyloides* et *Cooperia*).

4. Autopsie.

Passé le délai de 10 jours, les animaux sont sacrifiés. Les Helminthes demeurés en place sont récoltés ce qui ne pose pas de problème pour les grands Cestodes, *Bosicola radiatum*, *Bunostomum phlebotomum*, *Haemoncus contortus* et *Buckleyuris globulosa*.

Lorsqu'il s'agit de petits Nématodes (*Strongyloides* et *Cooperia*), il importe de gratter la muqueuse duodénale sur une longueur de 30 à 50 cm. L'examen au microscope du produit de raclage placé entre lame et lamelle confirme ou non la présence des Nématodes en cause.

Pour les formes larvaires L_4 intranodulaires de *Bosicola radiatum*, chaque nodule cœcal est ouvert et le contenu, écrasé entre lame et lamelle, est regardé au microscope.

RÉSULTATS

A. — LES TÉMOINS (Tableau I)

B. — ACTION SUR LES TRÉMATODES

Aux doses employées, que ce soit par la voie buccale ou par la voie sous-cutanée, le 16.535 R.P. est dépourvu de toute activité à l'égard de

Fasciola gigantica des canaux biliaires, de *Paramphistomum microbothrium* et de *Caromyerius papillatus* de la panse, de *Schistosoma bovis* des veines hépatiques et mésentériques (Tableau II).

C. — ACTION SUR LES CESTODES

(Tableau III)

Là encore, le Tétramisole est, à 5 mg/kg, totalement inactif sur les *Anoplocephalidae* de l'intestin (*Moniezia benedeni* et *Thysaniezia ovilla*) et sur *Cysticercus bovis* qui, après traitement, s'évagine parfaitement dans la bile portée à la température de l'étuve (+ 39 °C).

D. — ACTION SUR LES NÉMATODÉS

1° Sur les formes adultes mûres ou immatures.

Tableau N° IV : examens coproscopiques.

Tableau N° V : *Strongyloides papillosus*.

Tableau N° VI : *Bunostomum phlebotomum*.

Tableau N° VII : *Bosicola radiatum* adultes mûrs.

Tableau N° VIII : *Bosicola radiatum* adultes immatures.

Tableau N° IX : *Cooperia punctata* et *Cooperia pectinata*.

Tableau N° X : *Haemoncus contortus*.

Tableau N° XI : *Filariidae*.

2° Sur les formes intranodulaires L_4 de *Bosicola radiatum* (Tableau N° XII).

3° Sur les formes larvaires immatures de *Cooperia punctata* et de *Cooperia pectinata*.

La dose de 5 mg/kg par la voie buccale laisse subsister un petit nombre de formes larvaires de *Cooperia punctata* et de *Cooperia pectinata* (5 à 10 par animal). Il ne reste plus aucun parasite lorsque le médicament est administré par la voie sous-cutanée. Dans les deux cas, les animaux avaient été placés sur des parcours riches en larves de *Cooperia* et traités 25 jours plus tard.

4° Discussion.

a) Le Tétramisole est dépourvu de toute activité à l'égard d'*Artionema labiato-papilloso* du péritoine, d'*Onchocerca gutturosa* du ligament cervical et d'*Onchocerca armillata* de l'aorte.

TABLEAU N°I
Les témoins

Espèces en causes	Janvier 65 (3+)	Mai 65 (2)	Juin 65 (4)	Novembre Décembre 1965 (5)	Mars Avril 1966 (6)
Dicrocoelium hospes	-	-	-	-	2
Fasciola gigantica	-	-	23	8	9
P. microbothrium	-	-	1,1 ⁺⁺	14	1,6
Cotylophoron cotylophorum	-	-	-	-	1,5
Carryerius papillatus	-	-	-	1	1
Schistosoma bovis	-	7 ⁺⁺⁺	31	7	12
Moniezia expansa	1 ⁺⁺	-	-	-	-
Moniezia benedeni	0,5	-	-	-	43
Thysaniezia ovilla	-	-	-	160	-
Cysticercus bovis	-	-	5	-	-
Bosicola radiatum adultes mûrs	7 ⁺⁺⁺	3	19	11	7
Bosicola radiatum immatures	-	-	-	3	25
Oesophagostomes larvaires	1	-	-	2	-
Bunostomum phlebotomum	1	-	3	34	30
Cooperia punctata	39	2	-	9	118
Cooperia pectinata	166	30	3	19	50
Haemoncus contortus	40	10	104	24	15
Parafilaria bovicola	-	-	-	-	2
Artionema labiato-papillosa	1	1	2	2	22
Onchocerca gutturosa	-	+	+	+	-
Onchocerca armillata	+	+	-	-	+
Buckleyuris globulosa	1	-	-	-	3

+ Nombre d'animaux utilisés

++ Cestodes et Paramphistomes : poids moyen de parasites (en g.)

+++ Nématodes, Schistosomes, Fasciola et Dicrocoelium : moyenne du nombre de parasites.

TABLEAU N°II
Trématodes - Nombre d'animaux déparasités après traitement au Tétramisole

Doses mg/kg	F. gigantica	P. microbothrium	C. papillatus	S. bovis
Voie buccale				
5	0 sur 4	0 sur 9	0 sur 2	0 sur 16
10	-	-	0 sur 1	0 sur 2
20	0 sur 1	0 sur 1	-	0 sur 3
40	-	0 sur 1	-	0 sur 1
Voie sous-cutanée				
5	0 sur 10	0 sur 1	-	0 sur 14
8	0 sur 1	0 sur 1	-	0 sur 1
10	0 sur 3	0 sur 1	-	0 sur 3

TABLEAU N°III

Cestodes - Nombre d'animaux déparasités après traitement au Tétramisole.

Doses mg/kg	M. benedeni	T. ovilla	C. bovis	E. polymorphus
Voie buccale				
5	-	-	0 sur 6	0 sur 1
Voie sous-cutanée				
5	0 sur 1	0 sur 2	0 sur 2	-

TABLEAU N°IV

Moyenne du nombre d'oeufs au gramme de matière fécale.

Doses mg/kg	Avant traitement		Après traitement		dernier jour*	
	Strongles**	Strongyloides	Strongles	Strongyloides	Strongles	Strongyloides
Voie buccale						
5	41	-	0	-	0	-
10	26	-	0	-	0	-
20	28	-	0	-	0	-
Voie sous-cutanée						
5	38	-	1	-		-
8	315	-	52	-	0	-

* = 10 jours après la fin du traitement.

** = Haemoncus, Bunostomes, Oesophagostomes, Cooperia.

TABLEAU N°V

Action du Tétramisole sur Strongyloides papillosus adultes mûrs

Doses mg/kg	Nombre d'animaux parasités	Culture d'oeufs Nombre total de larves L3*		Autopsie	Epoque des traitements
		Avant traitement	Après traitement	Nombre d'animaux encore parasités	
Voie buccale.					
5	4	43	0	0	Novembre Décembre 1965
Voie sous-cutanée.					
5	2	10	0	0	Novembre Décembre 1965

* = dans une goutte de suspension aqueuse provenant des boîtes de Petri ayant servi aux coprocultures.

TABLEAU N°VI

Action du Tétramisole sur Bunostomum phlebotomum adultes mûrs et immatures

Doses mg/kg	Nombre d'animaux parasités	Nombre de Nématodes expulsés	Présence (+) ou absence (-) de parasites à l'autopsie	Nombre d'animaux totalement déparasités Efficacité	Epoque des traitements
Voie buccale.					
5	4	65	-	4 sur 4	Décembre 1965
10	3	11	-	3 sur 3	Janvier et Mai 1965
20	1	6	-	1 sur 1	Janvier 1965
40	1	2	-	1 sur 1	Janvier 1965
Voie sous-cutanée.					
5	3	3	-	3 sur 3	Novembre Décembre 1965
10	1	1	-	1 sur 1	Juin 1965

TABLEAU N°VII
Action du Tétramisole sur *Bosicala radiatum* adultes mûrs.

Doses mg/kg	Nombre d'animaux parasités	Nombre d'œsophagostomes expulsés	Présence (+) ou absence (-) de parasites à l'autopsie	Nombre d'animaux totalement déparasités	Efficacité	Epoque des traitements
Voie buccale.						
5	11	220	-	11 sur 11	100 p.100	Mai 1965 Novembre Décembre 1965 Mars 1966
10	2	31	-	2 sur 2		Mai 1965
20	1	28	-	1 sur 1		Janvier 1965
40	2	47	-	2 sur 2		Janvier 1965
Voie sous-cutanée.						
5	5	49	-	5 sur 5	100 "	Mai-Juin 1965 Décembre 1965
8	1	20	-	1 sur 1		Juin 1965
10	4	6	-	4 sur 4	100 "	Juin 1965

TABLEAU N° VIII
Action du Tétramisole sur les formes adultes immatures de *Bosicala radiatum*

Doses mg/kg	Nombre d'animaux parasités	Nombre d'œsophagostomes expulsés	Présence (+) ou absence (-) de parasites à l'autopsie	Nombre d'animaux totalement déparasités	Efficacité	Epoque des traitements
Voie buccale.						
10	2	27	-	2 sur 2		Janvier 1965
40	1	1	-	1 sur 1		Janvier 1965
Voie sous-cutanée.						
5	3	14	-	3 sur 3		Mai 1965

TABLEAU N°IX
Action du Tétramisole sur *Cooperia punctata* et sur *Cooperia pectinata* adultes mûrs.

Doses mg/kg	Nombre d'animaux parasités	Culture d'œufs Nombre total de larves L3*		Autopsie	Efficacité	Epoque des traitements
		Avant traitement	Après traitement	Nombre d'animaux encore parasités		
Voie buccale.						
5	11	21*	0	1 sur 11	90-95p.100	(Mai 1965 Novembre- Décembre 1965 (Février 1965
10	4	16	0	4 sur 4	100 "	Mai 1965
20	3	67	0	3 sur 3	100 "	Janvier 1965
40	3	98	0	3 sur 3	100 "	Janvier 1965
Voie sous-cutanée.						
5	10	37	0	10 sur 10	100 "	Novembre Décembre 1965
8	1	5	0	1 sur 1		Juin 1965
10	2	2	0	2 sur 2		Juin 1965

* = dans une goutte de suspension aqueuse provenant des boîtes de Pétri ayant servi aux coprocultures.

TABLEAU N°X
Action du Tétramisole sur *Haemoncus contortus* adultes mûrs et immatures.

Doses mg/kg	Culture d'oeufs Nombres de Larves L ₂ *		Nombre d' <i>Haemoncus</i> expulsés	Présence (+) ou absence (-) de parasites à l'autopsie	Nombre d'animaux totalement déparasités	Efficacité	Epoque des traitements
	Avant traitement	Après traitement					
Voie buccale.							
5	11	0	1	-	3 sur 3	100p.100	Mai-Juin 1965
10	2	0	1	-	1 sur 1	"	Décembre 1965
20	40	0	1	-	1 sur 1	"	Mai 1965
40	38	0	1	-	1 sur 1	"	Janvier 1965
Voie sous-cutanée.							
5	38	0	84	-	6 sur 6	100p.100	Novembre- Décembre 1965
8	5	0	-	-	1 sur 1	"	Mars 1966
10	-	-	50	-	1 sur 1	"	Juin 1965

* = dans une goutte de suspension aqueuse provenant des boîtes de Pétri ayant servi aux coprocultures.

TABLEAU N°XI

Action du Tétramisole sur divers filariidae du zébu. Nombre d'animaux déparasités après traitement.

Doses (mg/kg)	<i>A. Labiato-papillosa</i>	<i>O. gutturosa</i> *	<i>O. armillata</i> *
Voie buccale.			
5	0 sur 12	0 sur 8	0 sur 9
10	0 sur 1	-	0 sur 1
20	-	0 sur 1	0 sur 1
40	-	0 sur 1	0 sur 2
Voie sous-cutanée.			
5	0 sur 5	0 sur 14	0 sur 9
8	0 sur 1	0 sur 1	0 sur 1
10	0 sur 2	0 sur 4	0 sur 3

* = Les *Onchocerques* sont soigneusement retirés des tissus où ils se trouvent et mis dans du sérum physiologique tiède, de façon à savoir s'ils sont encore en vie ou non. Un examen ultérieur au microscope, après éclaircissement, donne des indications sur la dégénérescence éventuelle des parasites.

TABLEAU N°XII
Action du Tétramisole sur les formes L₄ intranodulaires.

Doses (mg/kg)	Nombre d'animaux parasités	Nombre total de nodules caecaux	Nombre de L ₄ encore vivantes à l'autopsie	Epoque des traitements
Voie buccale.				
5	2	8	3	Novembre-Décembre 1965 Mai 1965 Janvier 1965
10	1	1	1	
40	3	3	1	
Voie sous-cutanée.				
5	2	5	2	Décembre 1965

b) D'une façon générale, sur des lots d'animaux faiblement ou moyennement infestés, le médicament entraîne, 10 jours après le traitement, la disparition de la quasi-totalité des œufs de Nématodes intestinaux.

c) A 5 mg/kg, que ce soit par la voie buccale ou par la voie sous-cutanée, le 16.535 R. P. assure l'élimination à 100 p. 100 de *Bunostomum phlebotomum*, *Bosicola radiatum* et *Haemoncus contortus* adultes, mûrs et immatures. L'effet sur *Cooperia pectinata* et *Cooperia punctata* est moins complet (90-95 p. 100) environ.

d) Pour *Bluckleyuris globulosa*, les renseignements recueillis, trop fragmentaires, ne permettent pas de tirer des conclusions définitives. Comme chez le mouton, l'action serait plutôt irrégulière.

e) *Strongyloides papillosus*, contrairement à ce qui se passe chez le mouton (GRABER, 1966), serait déjà détruit vers 5 mg/kg. Les essais n'ont porté que sur des infestations très réduites : ils devront donc être confirmés.

f) Les formes intranodulaires L_4 de *Bosicola radiatum* ne sont que peu touchées par l'anthelminthique et la plupart d'entre elles demeurent vivantes dans les nodules cœcaux.

g) Quant aux formes larvaires immatures de *Cooperia pectinata* et de *Cooperia punctata*, un certain nombre d'entre elles persistent à 5 mg/kg par la voie buccale.

A titre de comparaison, le Tableau N° XIII donne, chez les jeunes zébus du Tchad et de R. C. A., les pourcentages de réduction obtenus après traitement au Thiabendazole (GRABER, 1965) et au Tétramisole :

Le Tétramisole semble supérieur au Thiabendazole lorsque l'on est en présence d'infestation par *Bosicola radiatum* et *Bunostomum phlebotomum* adultes mûrs ou immatures. Il est un peu moins actif sur *Cooperia pectinata* et sur *Cooperia punctata*. La valeur des deux médicaments est à peu de chose près équivalente quand il s'agit d'*Haemoncus contortus* ou de formes larvaires L_4 intranodulaires de *Bosicola radiatum*.

Dans la lutte contre les Nématodes sévissant en milieu tropical, la dose de 5 mg/kg, quelle que soit la voie d'introduction, paraît devoir être recommandée, car elle est capable à 90-95 p. 100

de chasser les principaux Nématodes entrant dans la composition des associations parasitaires, si nombreuses au Tchad et en R. C. A. Par contre, si l'on désire absolument supprimer tous les parasites, il faut alors utiliser la dose de 8-10 mg/kg.

ACTIVITÉS DU MÉDICAMENT

Comme chez le mouton (GRABER, 1966), l'évacuation des parasites débute aussitôt après la fin du traitement. Dans 93 p. 100 des cas, elle est terminée au bout de 24 heures.

Au-delà de 48 heures, les *Bosicola*, *Bunostomum* et *Haemoncus* adultes ont été tous rejetés à l'extérieur et les possibilités d'infestation d'un pâturage neuf par les larves L_3 de ces Nématodes sont pratiquement nulles.

CONSÉQUENCES DU TRAITEMENT SUR LA SANTÉ DE L'ANIMAL

A. — CONSÉQUENCE VISIBLE

A la dose de 5 mg/kg, le médicament est très bien supporté et ne cause pas de perturbations sensibles sur le comportement de l'animal. L'appétit croît rapidement et le foin tend à être consommé en plus grande quantité par les animaux traités que par les témoins.

B. — NUMÉRATIONS GLOBULAIRES FORMULES LEUCOCYTAIRES

Le traitement au Tétramisole ne détermine pas de modifications appréciables du nombre d'hématies qui, au bout de 5 jours, a tendance, soit à demeurer stable, soit à augmenter progressivement (2/3 des cas).

Les leucocytes varient dans d'étroites limites.

C. — PROTÉINES DU SANG

Les recherches (*) ont porté sur cinq animaux ayant reçu 5 mg/kg par la bouche en décem-

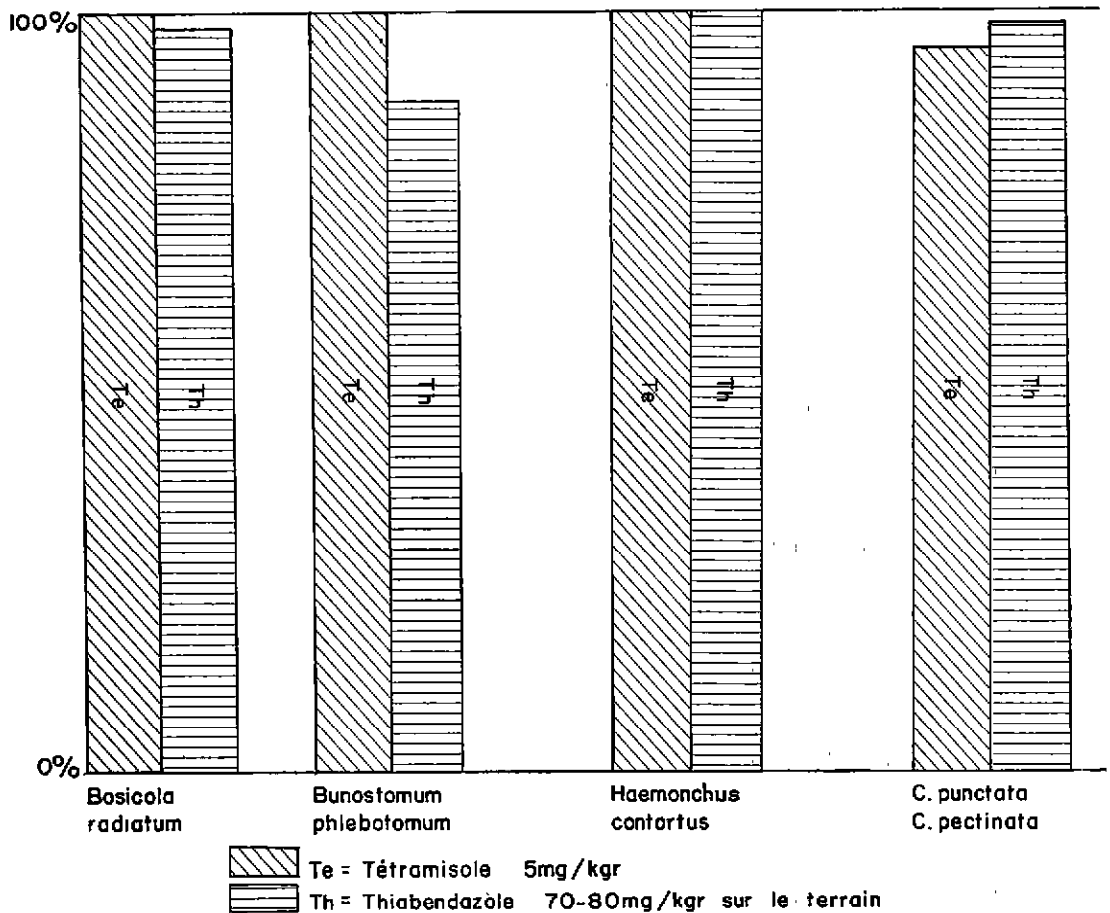
(*) En collaboration avec M. QUEVAL et Mme BRUNET.

TABLEAU N°XIII

Comparaison du pouvoir anthelminthique du Thiabendazole et du Tétramisole
(Nématodes adultes mâles et immatures)

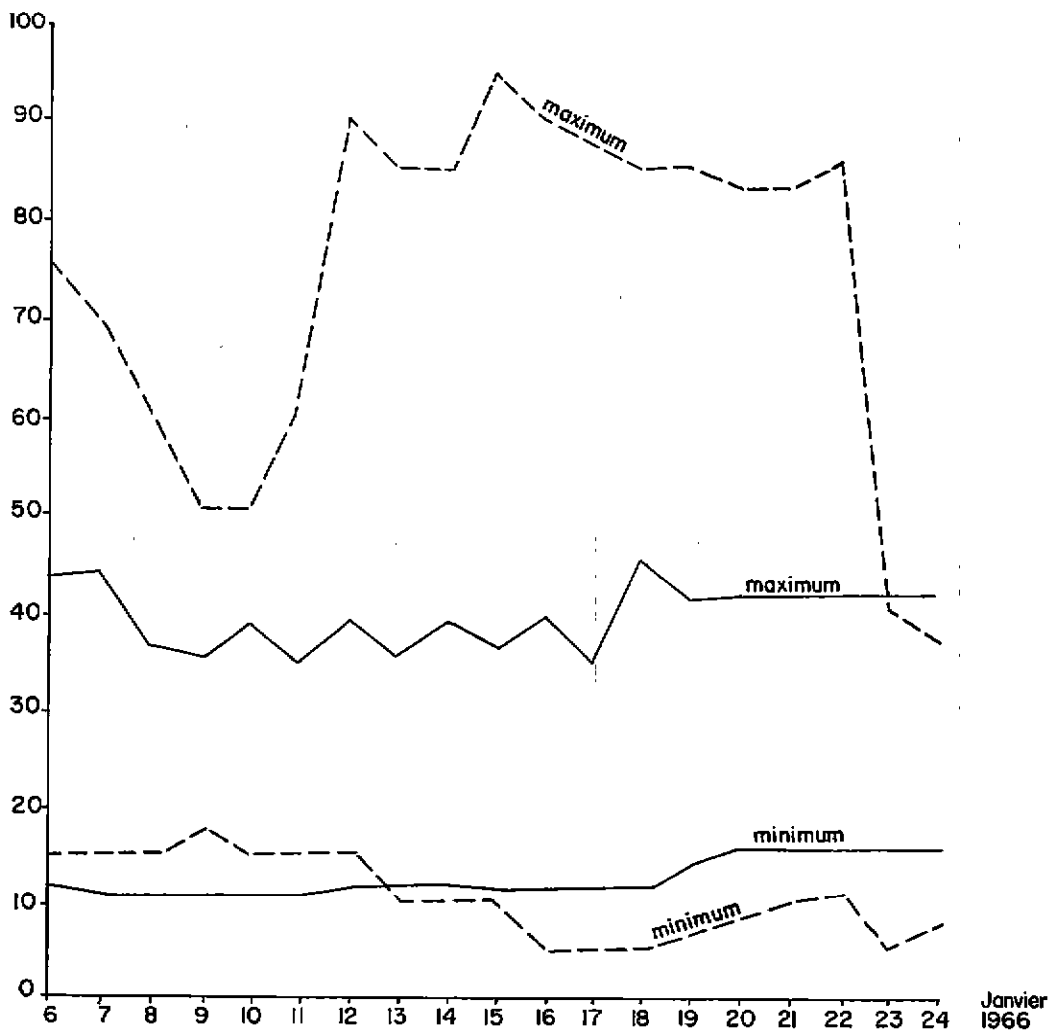
Espèces en cause	Thiabendazole 70-80 mg/kg	Tétramisole (5 mg/kg)
<i>Basicola radiatum</i>	84 à 97,3 p. 100	100 p. 100
<i>Bunostomum phlebotomum</i>	44 à 88 "	100 "
<i>Cooperia pectinata</i>	90 à 98,2 "	90 à 95 "
<i>Cooperia punctata</i>		
<i>Haemonchus contortus</i>	93,4 à 100 "	100 "
<i>Buckleyuris globulosa</i>	10 à 30 "	10 à 50 "(?)

GRAPHIQUE n°I : Comparaison entre le pourcentage d'efficacité du Tétramisole et du Thiabendazole sur divers Nématodes gastro-intestinaux du zébu



GRAPHIQUE n°II
RELEVES CLIMATIQUES

— températures en 0° C
- - - degré hygrométrique



bre 1965 (Tableau N° XIV). Les variations subies par les Protéines du sang, dans ce lot composé d'animaux très parasités et très anémiés, sont de faible ampleur et peu significatives. Les Protéines totales diminuent de moins de 1 p. 100 au profit des albumines et le rapport Albumine/Globuline passe alors de 0,40 à 0,42.

VALEUR ÉCONOMIQUE DU MÉDICAMENT

Elle se mesure aux gains de poids évalués à la bascule.

1° En étable sur une période de six jours.

L'essai a porté sur 22 animaux, jeunes et âgés, traités à 5 mg/kg. Ils ont été nourris de foin à base de *Brachiaria*, d'*Echinochloa* et de *Panicum* et entretenus dans des stalles cimentées.

Le gain de poids est comparable dans les deux cas.

2° Sur le terrain.

Cinq jeunes taurillons diversement parasités par *Cooperia*, *Bosicola*, *Bunostomum* et *Haemoncus* ont été remis, après traitement au Tétramisole par la voie buccale (5 mg/kg), sur un pâturage de saison sèche maigre, clairsemé et de mauvaise qualité (herbes grossières sans chaumes de mil). Cinq autres bouvillons ont servi de témoins.

TABLEAU N°XIV
Tétramisole 5 mg/kg - Protéines du sang.

Bouvillons n°	1	2	1747	976	2981	2997	Moyenne
Protéines totales							
Avant traitement	73,50	73,50	79,38	76,44	73,50	69,82	74,34
Après traitement*	73,50	69,82	73,50	79,38	76,44	69,82	73,74 - 0,9 p.100
Globulines							
Avant traitement	21,31	22,20	22,20	20,67	21,31	21,43	21,52
Après traitement	22,20	20,66	21,43	22,20	22,20	22,96	21,94 + 1,90 "
Albumines							
Avant traitement	52,19	51,30	57,18	55,77	52,19	48,39	52,83
Après traitement	51,30	49,16	52,07	57,18	54,24	46,86	51,80 - 2 "

* 8 jours après l'administration du Tétramisole.

TABLEAU N°XV
Augmentation de poids en étable

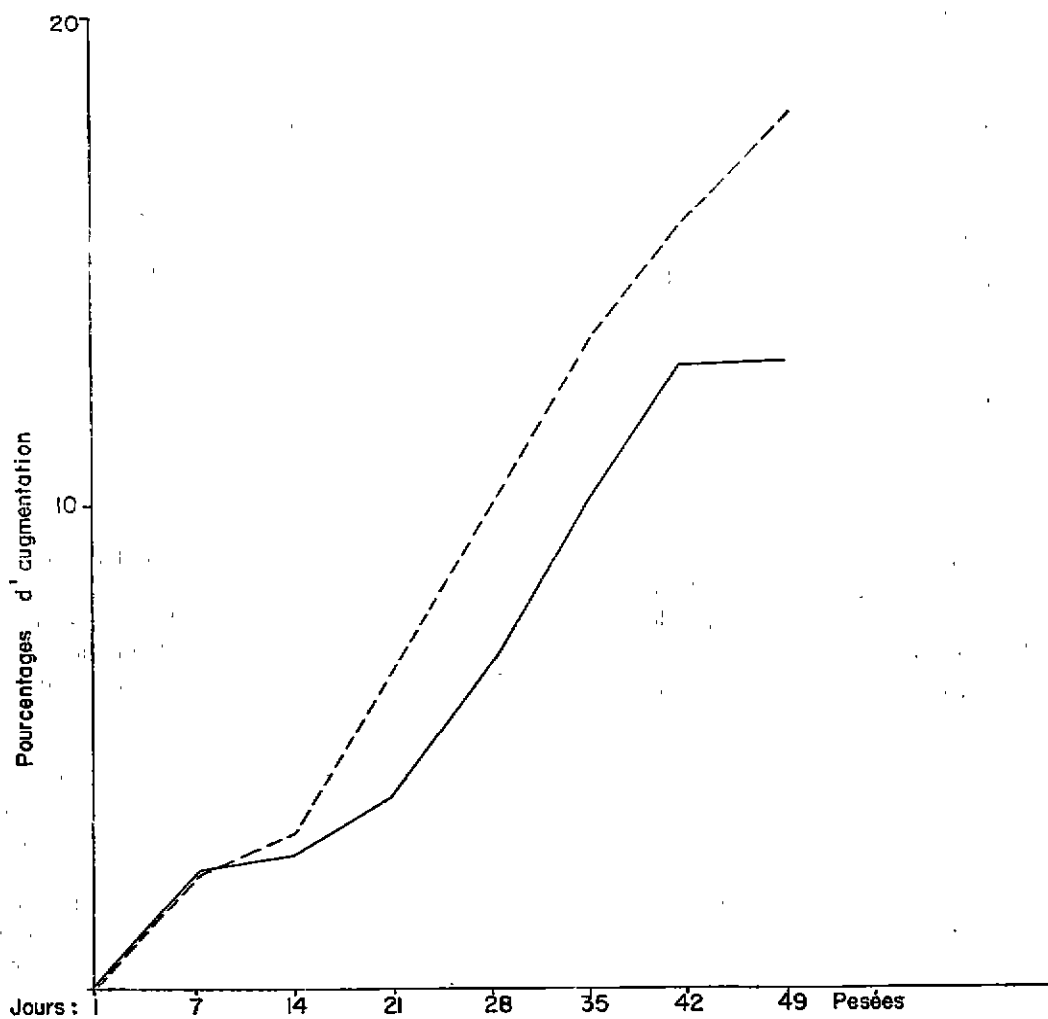
Doses mg/kg	Poids total en kilogrammes		Pourcentage d'augmentation
	Avant traitement	Après traitement	
Voie buccale. 5	2.781	2.830	+ 2,1 p.100
Voie sous-cutanée. 5	823,4	846,6	+ 2,7 "

TABLEAU N°XVI
Augmentation de poids sur le terrain

Pesées	Poids total en kilogrammes		Pourcentage d'augmentation	
	Témoins	Traités	Témoins	Traités
6-1-66	464,5	390,4	-	-
15-1-66	476,2	399,9	+ 2,5 p.100	+ 2,4 p.100
22-1-66	478	402,4	+ 2,9 "	+ 3 "
29-1-66	483,2	414,6	+ 4 "	+ 6,1 "
5-2-66	500,3	428,3	+ 6,8 "	+ 9,7 "
12-2-66	511,1	441,9	+10 "	+13,1 "
19-2-66	524,2	452,1	+12,8 "	+15,8 "
26-2-66	524,7	459,5	+12,9 "	+17,6 "

GRAPHIQUE n° III
TETRAMISOLE-Gains de Poids

—— témoins
- - - - traités



Ils ont été pesés régulièrement une fois par semaine du 6-1-1966 au 26-2-66 (Tableau N° XVI). L'expérience a été arrêtée fin février, les parcours valables étant alors trop éloignés du Laboratoire.

Les résultats sont assez bons. Chez les animaux traités, le gain de poids par rapport aux témoins est de + 4,5 p. 100 en sept semaines. L'état des animaux s'améliore considérablement. L'augmentation de poids est sensible chez tous les

animaux, alors que, chez les témoins, elle n'est le fait que de deux bouvillons, le poids des trois autres demeurant stable.

Le 16.535 R. P. présente donc, en matière d'élevage, un intérêt économique indéniable.

TOXICITÉ

Des doses progressivement croissantes ont été expérimentées :

Des doses progressivement croissantes ont été expérimentées.

Doses mg/kg	Nombre d'animaux utilisés	Mortalité	Epoque des essais thérapeutiques
Voie buccale.			
5	23	0	Mai-Novembre-Décembre 1965
10	5	0	Mars-Avril 1966
20	3	0	Mai 1965
40	3	0	Janvier 1965
70	3	1 sur 3	Janvier 1965
75	2	2 sur 2	Mai 1965
100	2	2 sur 2	Avril 1966
			Mai 1965
Voie sous-cutanée.			
5	17	0	Mai-Juin-Novembre-Décembre 1965
8	1	0	Juin 1965
10	3	0	Juin 1965
40	2	0	Avril 1966
50	2	2 sur 2	Avril 1966
60	2	2 sur 2	Avril 1966
65	2	2 sur 2	Avril 1966
70	2	2 sur 2	Avril 1966
80	3	3 sur 3	Juin 1965

— Par la voie buccale, le Tétramisole tue tous les taurillons vers 75 mg/kg. Le coefficient chimiothérapique, si l'on s'en tient à la dose de 5 mg/kg, est alors de 15.

— Par la voie sous-cutanée, le 16.535 R. P. est beaucoup plus toxique, puisque les premiers accidents mortels apparaissent entre 40 et 50 mg/kg. Le coefficient chimiothérapique oscille autour de 8-10.

La marge de sécurité, chez le zébu tchadien, est donc importante lorsque le médicament est administré par la voie buccale. Par la voie sous-cutanée, les résultats sont moins favorables.

Dans cette espèce, la toxicité du Tétramisole ne semble pas supérieure à celle du Thiabendazole : avec cet anthelminthique, des accidents

mortels (GRABER, 1965) se font déjà jour vers 750 mg/kg chez le bouvillon ($C/T = 7,5$) et chez le veau de lait (GRABER en préparation) vers 640 mg/kg ($C/T = 8$). L'intoxication au Tétramisole évolue de la même façon que chez le mouton (GRABER, 1966) et les signes sont comparables. Tout au plus doit-on noter une plus grande propension à l'excitabilité. Les animaux qui résistent (70 mg/kg, voie buccale) deviennent méchants, chargent constamment sans cause apparente et extériorisent des perversions de goût curieuses. A 40 mg/kg (voie sous-cutanée) les mêmes manifestations apparaissent, mais elles sont fugaces. Il est bon de remarquer que, parmi les vaches traitées, plusieurs d'entre elles portaient des embryons de quatre mois. Aucun avortement n'a été constaté.

CONCLUSIONS

Lors d'essais effectués en 1965-1966 sur 107 zébus, jeunes et adultes, originaires des régions Ouest du Tchad, il a été constaté.

1° Que le Tétramisole, quelle que soit la dose utilisée, est complètement inactif sur *Fasciola gigantica* des canaux biliaires, *Paramphistomum microbothrium* et *Carmyerius papillatus* de la panse, *Schistosoma bovis* des veines hépatiques et mésentériques, les grands Cestodes de l'intestin (*Moniezia benedeni* et *Thysaniezia ovilla*) et *Cysticercus bovis*.

2° Il en est de même pour les Filaires du péritoine (*Artionema labiato-papillosa*), de l'aorte (*Onchocerca armillata*) et du ligament cervical (*Onchocerca gutturosa*).

3° Sur les associations à base de *Bosicola radiatum*, *Bonostomum phlebotomum*, *Haemoncus contortus*, *Cooperia punctata* et *Cooperia pectinata* adultes mûrs ou immatures, la dose de 5 mg/kg administrée par la voie sous-cutanée ou par la voie buccale sans préparation spéciale (diète) assure l'expulsion d'environ 90-95 p. 100 des Nématodes gastro-intestinaux entrant dans la composition des associations parasitaires.

4° A la même dose, les larves L₄ de *Bosicola radiatum* profondément enkystées dans la muqueuse intestinale ne paraissent pas touchées par le Tétramisole. Quelques formes larvaires

immatures de *Cooperia pectinata* et de *Cooperia punctata* persistent également après traitement.

5° Le médicament, pour le zébu tchadien, semble assez peu toxique. Le coefficient chimiothérapique va de 8-10 (voie sous-cutanée) à 15 (voie buccale). Cependant, vers 40 mg/kg, certains signes d'intoxication (excitabilité) se manifestent. Fugaces, ils ne durent pas.

A 5 mg/kg, les numérations globulaires et le dosage des protéines du sang ne montrent pas de changements appréciables.

6° En milieu tropical sec, le Tétramisole en chassant les Nématodes les plus fréquents, entraîne une reprise de poids rapide qui peut être chiffrée — dans les plus mauvaises conditions imaginables, comme c'est le cas pour la saison 1965-1966 — à + 17,6 p. 100 (témoins 12, 9 p. 100). L'état général des animaux s'améliore considérablement.

Le Tétramisole — comme le Thiabendazole — constitue donc un anthelminthique d'une grande valeur économique.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier vivement la société Rhône-Poulenc pour sa contribution appréciable à la réalisation de ces essais, en particulier MM. QUENTIN et SIRY de la Direction scientifique.

SUMMARY

Study of the anthelmintic power of Tetramisole (16.535 R. P.) on various helminths of zebu cattle in Chad Republic

Trials have been made to test the therapeutic property of Tetramisole in 106 young and adult zebus from Western Region of Chad. Tetramisole, at the dose of 5 mg/kg given without diet, per os or by subcutaneous injection was active in 90-95 p. 100 of the cases against mature or immature stages of *Bosicola radiatum*, *Bonostomum phlebotomum*, *Haemoncus contortus*, *Cooperia pectinata* et *Cooperia punctata*. The L₄ stages of *Bosicola radiatum*, which are encysted in the intestinal mucous membrane, were resistant to this treatment. Some larval stages of *Cooperia* were also resistant.

This drug is relatively safe for the zebu, since its chemotherapeutic coefficient ranges between 8 and 10 (subcutaneous route) to 15 (per os).

At the therapeutic dose, which is well tolerated, the improvement of the condition is quick and, after seven weeks, under very poor nutritional conditions, the weight increased by 17,6 p. 100 (12,9 p. 100 in reference animals).

The economical interest of 16.535 R. P. is obvious.

RESUMEN

Estudio del poder antihelmíntico del Tetramisole (16.535 R. P.)
en varios helmintos del cebú de la República del Chad

Se efectuaron ensayos para demostrar la actividad terapéutica del Tetramisole en 106 cebúes, jóvenes y adultos, de las regiones del Oeste de la República del Chad. Una dosis de 5 mg/kg de este medicamento administrada sin dieta, per os o por inyección subcutánea, sería suficiente para destruir un término medio de 90-95 p. 100 de los grupos adultos maduros o inmaduros de *Bosicola radiatum*, *Bunostomum phlebotomum*, *Haemoncus contortus*, *Cooperia pectinata* y *Cooperia punctata*.

Las formas L₄ de *Bosicola radiatum* enquistadas en la mucosa intestinal resisten al tratamiento. Algunas formas larvianas de *Cooperia* persisten igualmente.

El medicamento es relativamente poco tóxico para el cebú, ya que el coeficiente quimioterapéutico varía de 8-10 (inyección subcutánea) a 15 (per os).

Se mejora el estado general muy rápidamente en la dosis terapéutica, bien tolerada; siete semanas más tarde, con muy malas condiciones alimenticias la ganancia de peso llega a + 17,6 (testigos: + 12,9). El 16.535 R. P. es de un interés económico cierto.

BIBLIOGRAPHIE

1. GRABER (M.). — Parasitoses internes. Rap. ann. Ministère agriculture et production animale Tchad, Fasc. VII, 1964, 89-127.
2. GRABER (M.). — Etude dans certaines conditions africaines de l'action antiparasitaire du Thiabendazole sur divers Helminthes des animaux domestiques. I. Helminthes du zébu. Rev. Elev. Med. Vét. Pays Trop., 1965, 18, 1, 39-58.
3. GRABER (M.). — Action d'un nouvel anthelmintique, le Tétramisole (16.575 R. P.) sur divers Helminthes du mouton de la République du Tchad. Rev. Elev. Med. Vét. Pays Trop., 1966, 19 (sous presse):
4. THIENPONT (D.), VANPARIJS (O. F. J.), RAEMAEEKERS (A. H. M.), VANDENBERK (J.), DEMOËN (J. A.), ALLEWIJN (F. T. N.), MARSBOOM (R. P. H.), NIEMEGERES (C. J. E.), SCHELLEKENS (K. H. L.) and JANSSEN (A. J.). — Tétramisole (R. 8299), a new, potent broad spectrum anthelmintic. Nature, 1966, 209, 1084-86.
5. WALLEY (J. K.). — Tétramisole (dl 2, 3, 5, 6-tetrahydro-6-phenyl-imidazo (2, 1-b) thiazole hydrochloride. Nilwern) in the treatment of gastro-intestinal worms and lungworms in domestic animals. I. Sheep and goats. Vet. Rec., 1966, 78, 12, 406-414.

Etude dans certaines conditions africaines de l'action antiparasitaire du Thiabendazole sur divers helminthes des animaux domestiques

II. — Dromadaire

par M. GRABER

Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des pays tropicaux
Laboratoire de Farcha-Fort-Lamy, République du Tchad

RÉSUMÉ

L'auteur, à partir d'essais effectués au Tchad sur 85 dromadaires originaires du Kanem et du Batha, conclut que le Thiabendazole est inactif sur un grand nombre d'*Anoplocephalidae* de l'intestin, sur *Schistosoma bovis*, sur les Hydatides d'*Echinococcus granulosus*, sur *Buckleyuris globulosa* et sur *Globidium cameli*.

Contre les Nématodes gastro-intestinaux les plus fréquents, deux dosages peuvent être préconisés :

— 100 à 150 mg/kg (produit pur). Cette dose est capable de détruire en totalité une association à base de *Strongyloides papillosus*, *Trichostrongylus vitrinus*, *Trichostrongylus probolurus* et *Impalalia nudicollis*, tous Nématodes particulièrement dangereux pour le chameau.

— 300 mg/kg qui représentent pour le parasitologue la dose la plus polyvalente, car elle est capable d'agir à la fois sur les Helminthes précédents sur *Haemoncus longistipes* de la caillette (à 85 p. 100) et sur *Cesophagostomum columbianum* du gros intestin. Cette dose, au Tchad, doit être retenue de préférence et utilisée de mai à novembre au moment où le parasitisme gastro-intestinal du dromadaire est le plus abondant.

Le Thiabendazole est assez peu toxique pour le chameau, sauf si les animaux sont atteints d'autres affections chroniques (Trypanosomiase ; abcès multiples ; pneumonies, etc...). Il faut alors réduire de moitié la dose à administrer, quitte à recommencer par la suite.

Après traitement, l'état général s'améliore rapidement, dans la mesure où l'animal est placé sur un pâturage convenable, de type plutôt arbustif. Le gain de poids va de + 6,8 p. 100 à 11 p. 100.

L'anthelminthique ne devra donc être employé chez le chameau qu'en prenant quelques précautions.

INTRODUCTION

Les Helminthiases du dromadaire constituent, avec la Gale et la Trypanosomiase, les trois affections les plus meurtrières de l'Elevage camelin du Tchad.

Le parasitisme — surtout gastro-intestinal — est principalement à base de Nématodes (GRABER et Coll., 1967) : *Strongyloides papillosus* (WEDL, 1856), *Trichostrongylus vitrinus* (LOOSS, 1905), *Trichostrongylus probolurus* (RAILLIET, 1896), *Nematodirus spathiger* (RAILLIET, 1896),

Impalala nudicollis (MÖNNIG, 1931), *Haemoncus longistipes* (RAILLIET et HENRY, 1909), *Oesophagostomum* (*Prateracrum*) *columbianum* (CURTICE, 1890) et *Buckleyuris* (= *Trichuris*) *globulosa* (VON LINSTOW, 1901).

Pour tenter de détruire ces Helminthes, divers auteurs ont employé la Phénothiazine à des doses variables : en Russie, de 20 à 60 g par tête (OZERSKAYA, 1953) et de 75 à 500 g par tête (IVASKHINA, 1953). Au Soudan, STEWARD (1950) administre 600 mg/kg sans incident et, au Niger FERRY (1961) 100 g par animal deux jours de suite.

Au Tchad, il avait été recommandé (GRABER, 1955) de distribuer deux fois à 24 heures d'intervalle deux doses de 110 g chacune pour les animaux les plus lourds et deux doses de 60 g pour les plus légers. Au bout d'une semaine, le nombre d'œufs au gramme de matière fécale diminue de moitié et l'état général s'améliore.

Malheureusement, d'autres observations effectuées en fin de saison sèche 1956 (Rap. Ann. Ouaddai) ont montré, sur des chameaux très bas d'état et très parasités, que la Phénothiazine, aux doses globales de 220 ou de 120 g, était capable de provoquer des accidents toxiques graves, voire mortels. Le dosage a été réduit à 160 g (2 fois 80 g), ce qui semble nettement insuffisant, 200 g constituant d'après FERRY (1961) la limite inférieure d'efficacité de la Phénothiazine à l'égard des parasites gastro-intestinaux du dromadaire.

Devant ces résultats décevants, il a paru intéressant de rechercher si le 2-(4'-Thiazolyl) benzimidazole ou Thiabendazole, dont l'action anthelminthique chez les bovins et les ovins est par ailleurs bien connue (GRABER, 1965), pouvait se substituer à la Phénothiazine et, dans l'affirmative, quelles seraient les conditions d'utilisation chez le dromadaire tchadien.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

A. — LES ANIMAUX D'EXPÉRIENCE

Au total, 85 dromadaires adultes pesant de 230 à 440 kg ont été utilisés. Ils se répartissent ainsi :

Essais thérapeutiques proprement dits : 30.
Essais de toxicité : 3.

Essais sur le terrain : 27.

Témoins : 25.

Les 58 animaux ayant servi aux opérations 1, 2 et 4 étaient originaires du Kanem (Ouest-Tchad) et du Batha (Centre-Tchad). Les témoins, venus des mêmes régions, ont été sacrifiés à la même époque que les animaux traités. Quant aux essais sur le terrain, ils ont été réalisés au Ouaddai (Est-Tchad) où les conditions, du point de vue parasitisme, se rapprochent de celles du Batha.

L'état d'entretien des animaux, dans l'ensemble était médiocre, plus de la moitié des chameaux présentant une anémie marquée, liée à la présence de nombreux Helminthes dans le tractus digestif.

La plupart des dromadaires hébergeaient un grand nombre de parasites (Tableau I) :

Dans 85 p. 100 des cas, ces parasites se trouvaient associés par 2 (23 p. 100), 3 (10, 4 p. 100), 4 (20,8 p. 100), 5 (12,5 p. 100), 6 (25 p. 100) et 7 (8,3 p. 100) espèces différentes. Ces associations — surtout en matière de Nématodes — ont permis d'étudier la polyvalence éventuelle du Thiabendazole.

Les expériences ont été menées en cinq étapes de février 1965 à janvier 1966 (février-mars 1965 ; juin-juillet 1965 ; octobre-novembre 1965 ; décembre 1965 et janvier 1966). Compte tenu de ce que l'on sait de la biologie du parasite le plus commun, *Haemoncus longistipes*, cet étalement couvre :

— une période favorable au développement de ce Nématode (de juin à octobre). Le nombre moyen d'*Haemoncus* rencontré à l'autopsie de chaque animal est alors d'environ 1.300 (de 300 à 3.500) et, dans bien des cas, ils sont sexuellement immatures, tout en ayant atteint leur taille adulte. Il s'agit d'une première infestation, les conditions hygrométriques contribuant à la pullulation des larves d'*Haemoncus*,

— une période moins favorable où les infestations, du fait de la sécheresse persistante, sont assez faibles et où le taux de parasitisme (de la mi-novembre à la mi-mai) est bien inférieur à ce qu'il est au début ou à la fin de la saison des pluies (150 *Haemoncus longistipes* en moyenne par tête). Beaucoup de parasites sont alors sexuellement mûrs.

TABLEAU N° I
Nombre d'animaux atteints (sur 56)

Espèces en cause	Kanem		Batha		Total
	Traités	Témoins	Traités	Témoins	
<i>Schistosoma bovis</i>	1	-	2	2	5
<i>Moniezia expansa</i>	3	-	9	1	13
<i>Moniezia benedeni</i>	2	-	1	-	3
<i>Thysaniezia ovilla</i>	3	1	-	-	4
<i>Avitellina centripunctata</i>	-	1	1	-	2
<i>Avitellina woodlandi*</i>	2	-	1	1	4
<i>Stilesia globipunctata</i>	4	-	5	2	11
<i>Echinococcus polymorphus</i>	3	-	8	11	22
<i>Strongyloides papillosus</i>	11	1	14	2	28
<i>Oesophagostomum columbianum</i>	7	-	18	2	27
<i>Trichostrongylus vitrinus</i>					
<i>Trichostrongylus probolurus</i>	2	-	8	2	12
<i>Impalaia nudicollis</i>					
<i>Haemoncus longistipes</i>	12	1	17	24	54
<i>Buckleyuris globulosa</i>	13	1	16	5	35
<i>Globidium cameli</i>	6	-	5	1	12

* Que Spasski (1951) considère comme une forme d'*Avitellina centripunctata*.

TABLEAU N°II
Témoins.

Février 1965 : 1 (Kanem) - Juin-Juillet 1965 : 22 (Batha) - Novembre 1965 : 2 (Batha)

Helminthes en cause	Nombre de chameaux			Poids ou nombre de parasites		
	Février	Juin	Novembre	Février	Juin	Novembre
<i>Schistosoma bovis</i>	-	-	2	-	-	5
<i>Moniezia expansa</i>	-	-	1	-	-	13,5
<i>Thysaniezia ovilla</i>	1	-	-	10	-	-
<i>Avitellina woodlandi</i>	-	-	1	-	-	6,5
<i>Stilesia globipunctata</i>	-	1	1	-	7	1
<i>Echinococcus polymorphus</i>	-	9	1	-	3	1
<i>Strongyloides papillosus</i>	1	-	2	7	-	10
<i>Oesophagostomum columbianum</i>	-	2	1	-	20	25
<i>Impalaia nudicollis</i>						
<i>Trichostrongylus vitrinus</i>	-	-	2	-	-	9
<i>Trichostrongylus probolurus</i>						
<i>Haemoncus longistipes</i>	1	22	1	78	925	197
<i>Buckleyuris globulosa</i>	1	3	2	32	13	7
<i>Globidium cameli</i>	-	-	1	-	-	-

Cestodes : poids moyen en grammes

Nematodes, Schistosomes et hydatides : moyenne du nombre de parasites.

B. — MÉTHODE

1. Avant traitement.

Chaque animal est mis en observation pendant 48 heures et des examens coproscopiques et hématologiques sont pratiqués dans le but de situer l'importance exacte du parasitisme.

Des cultures d'œufs permettent de préciser la nature des Helminthes en cause. En fonction des renseignements ainsi obtenus, les lots sont constitués. Ils comprennent un tiers d'animaux très parasités, un tiers d'animaux moyennement parasités et un tiers d'animaux faiblement parasités.

2. Traitement.

Les chameaux ont été marqués et placés dans des stalles individuelles cimentées. Le Thiabendazole a été donné sans diète préalable « à la bouteille ».

3. Après traitement.

Sur chaque animal, il a été procédé durant 8 à 10 jours :

a) Au prélèvement des fèces trois fois dans la journée. Elles ont été broyées dans un mince filet d'eau et soigneusement examinées, de manière à faire apparaître les Helminthes — Cestodes et Nématodes — évacués après l'administration du médicament. Ceux-ci ont été pesés, comptés et déterminés.

b) A des examens coproscopiques journaliers par la méthode de sédimentation. Dans un lot, la comparaison entre les moyennes du nombre d'œufs au gramme avant traitement, après traitement et le jour de l'autopsie permet déjà de se faire une idée, même approximative, de la valeur du médicament.

c) A des cultures d'œufs en boîte de Petri sur papier buvard humide. Arbitrairement, on dénombre chaque jour le nombre de larves L_3 rencontrées dans une goutte de suspension aqueuse provenant des boîtes de Petri. Les œufs d'*Haemoncus longistipes* mettent 4 à 7 jours, au laboratoire, pour atteindre le stade L_3 .

Pour chaque lot, la comparaison entre la moyenne du nombre de larves avant et après traitement complète, en général, les éléments d'appréciation fournis par l'examen coproscopique. Pour certains Nématodes digérés dans

l'intestin après l'administration du Thiabendazole (*Impalala*, *Trichostrongylus*, *Strongyloides*), la méthode est même absolument indispensable.

d) Autopsie.

Passé ce délai, les animaux sont sacrifiés. Les Helminthes demeurés en place sont récoltés : ce travail ne pose pas de problème pour les grands Cestodes, les Oesophagostomes adultes, les Trichures et les *Haemoncus* de la caillette. La comparaison entre le nombre (ou le poids) de parasites expulsés et le nombre (ou le poids) de parasites encore présents dans l'intestin donne le pourcentage d'efficacité.

Lorsqu'il s'agit de petits Nématodes ou de *Stilesia globipunctata*, il importe de gratter la muqueuse duodénale sur une longueur de 30 à 50 cm. L'examen au microscope du produit de raclage placé entre lame et lamelle confirme ou non la présence d'*Impalala*, de *Strongyloides* ou de scolex de *Stilesia globipunctata*. Pour ce dernier, la comparaison entre le nombre total de nodules et le nombre de scolex retrouvés donne le pouvoir anthelminthique du Thiabendazole à l'égard de ce Cestode.

Le protocole est donc très classique : il combine les méthodes habituellement employées dans les essais thérapeutiques intéressant les Cestodes et les Nématodes des ruminants domestiques.

ÉTUDE DU POUVOIR ANTHELMINTHIQUE DU THIABENDAZOLE : RÉSULTATS AU LABORATOIRE

A. — Témoins (Tableau N° II)

B. — Action sur les Trématodes

Quelle que soit la dose utilisée (de 100 à 400 mg/kg), le médicament est dénué de toute activité à l'égard de *Schistosoma bovis* des veines hématiques et mésentériques.

C. — Action sur les Cestodes (Tableau N° III)

Le Thiabendazole est totalement inefficace sur les grands Cestodes de l'intestin du dromadaire, sauf à fortes doses où un certain nombre d'*Avitellina* sont chassés. Les résultats sont néanmoins irréguliers.

A plus faibles doses, l'expulsion est le fait de Cestodes en cours d'élimination naturelle.

TABLEAU N° III

Cestodes

Nombre d'animaux déparasités après traitement au Thiabendazole.

Doses mg/kg	<i>Moniezia expansa</i>	<i>Moniezia Benedeni</i>	<i>Thysanotzia ovilla</i>	<i>Stilesia globipunctata</i>	<i>Avitellina centripunctata</i> <i>Avitellina woodlandi</i>	<i>Hydatides d'échinococcus granulosus</i>
40	-	-	0 sur 1	-	-	-
50	0 sur 1	0 sur 1	-	0 sur 3	-	-
70	-	-	0 sur 1	0 sur 1	-	0 sur 1
100	-	0 sur 3 (27,3p100)	0 sur 1	0 sur 3	0 sur 1	0 sur 5
150	0 sur 2	-	-	-	-	0 sur 3
300	0 sur 6 (8,80p100)*	-	-	-	1 sur 2 (45,5p100)	-
350	0 sur 2 (6p100)	0 sur 1	-	0 sur 1	-	0 sur 2
400	0 sur 4 (5p100)	-	-	0 sur 1	0 sur 1	-

* Quelques fragments de Cestodes sont expulsés après administration du médicament.

Avec *Moniezia expansa* et *Avitellina centripunctata*, le même phénomène a été observé chez le mouton traité au Thiabendazole.

D. — Action sur les Nématodes

1^o Tableau N° IV : examens coproscopiques.

La lecture du Tableau N° IX appelle les remarques suivantes :

— Le nombre d'œufs au gramme de matière fécale est élevé en juin-juillet (100 et 150 mg/kg), bien qu'à l'autopsie, un grand nombre d'*Haemoncus longistipes* soient encore immatures.

— A partir de 100 mg/kg, la baisse constatée le dernier jour n'est que faiblement imputable à la destruction d'*Haemoncus longistipes*. Plus vraisemblablement, elle est liée d'une part à une légère diminution du nombre d'œufs au gramme, comme chez les témoins, d'autre part à la destruction quasi totale des *Trichostrongylus* et des *Impalala*.

— Les Trichures semblent absents le dernier jour : il n'en est rien et, dans ce cas, la méthode des examens coprologiques conduit à des interprétations erronées.

2^o Tableau N° V : action du Thiabendazole sur *Strongyloides papillosus*.

3^o Tableau N° VI : action du Thiabendazole sur *Trichostrongylus vitrinus*, *Trichostrongylus probolurus* et *Impalala nudicollis*.

4^o Tableau N° VII : action du Thiabendazole sur *Haemoncus longistipes*.

5^o Tableau N° VIII : action du Thiabendazole sur *Oesophagostomum* adultes mûrs et immatures.

6^o Action du Thiabendazole sur *Buckleyuris globulosa*.

7^o Discussion.

a) Le Thiabendazole, quelle que soit la dose employée, est inactif sur *Buckleyuris globulosa*. Les Trichures — toujours nombreux — demeurent vivants dans la lumière caecale.

b) A partir de 70 mg/kg, les *Strongyloides papillosus* adultes disparaissent.

c) Vers 100 mg/kg, les *Heligmosomatidae* (*Impalala nudicollis*) et les *Trichostrongylidae* (*T. vitrinus* et *T. probolurus*) sont touchés et ne sont plus visibles lors du raclage de la muqueuse intestinale, ce que confirment d'ailleurs les examens coproscopiques.

d) Sur *Oesophagostomum columbianum*, les résultats sont irréguliers. Lorsqu'il s'agit de parasites adultes et mûrs, la dose de 100 mg/kg paraît suffisante ; elle ne l'est plus quand on a affaire à des adultes immatures. Il faut alors des doses beaucoup plus importantes.

e) Sur *Haemoncus longistipes*, les résultats sont relativement bons, à partir de 70 mg/kg, si les Helminthes sont peu nombreux et sexuellement mûrs.

Par contre, dès lors que le parasitisme est massif (de 150 à 3.000 unités et plus) et les *Haemoncus* encore immatures — comme ce fut le cas en juin-juillet 1965 — il importe de distribuer des doses très fortes de l'ordre de 300-350 mg/kg.

TABLEAU N°IV
Moyenne du nombre d'oeufs au gramme de matière fécale.

Doses mg/kg	Avant traitement			Après traitement			Dernier jour		
	Str.	Tr.	Strl.	Str.	Tr.	Strl.	Str.	Tr.	Strl.
40+	-	20	-	-	51	-	-	0	-
50+++	25	6	6	5	25	18	0	210	0
70+++	18	-	-	-	-	-	-	-	-
100+++++	455	12	0	345	28	-	240	105	-
150+++++	1.355	-	-	1.235	4	-	145	-	-
300++++	594	-	-	224	-	-	26	52	-
350+++	253	-	-	74	-	5	-	-	-
400++++	530	-	-	177	3	-	-	-	-
500++	295	-	-	76	0	0	-	-	-
1.000+	262	-	-	23	-	-	-	-	-
Témoins	211	-	-	165	-	-	157	-	-

Str. = *Haemoncus longistipes*, *Impalaia nudicollis*.

Tr. = *Trichostrongylus vitrinus*, *Trichostrongylus probalurus*, *Trichuris globulosa*.

Strl. = *Strongyloides papillosus*.

TABLEAU N°V
Action du Thiabendazole sur *strongyloides papillosus* adultes

Doses mg/kg	Nombre d'animaux parasités	Culture d'oeufs Nombre total de larves L ₃ *		Autopsie Nombre d'animaux encore parasités	Efficacité	Epoque des traitements
		Avant traitement	Après traitement			
50	3	422	368	2 sur 3	12,3p.100	Février 1965
70	3	31	0	3 sur 3	100 "	Février 1965
100	5	32	0	5 sur 5	100 "	Février et Juin 1965
150	2	18	0	2 sur 2	100 "	Juin 1965
300	3	7	0	3 sur 3	100 "	Novembre 1965
350	3	64	0	3 sur 3	100 "	"
400	4	492	0	4 sur 4	100 "	"
500	2	12	0	2 sur 2	100 "	Juin 1965

* Dans une goutte de suspension aqueuse provenant des boîtes de Pétri ayant servi aux coprocultures.

TABLEAU N°VI
Action du Thiabendazole sur *Trichostrongylus vitrinus*, *Trichostrongylus probalurus* et *Impalaia nudicollis*

Doses mg/kg	Nombre d'animaux parasités	Nombre d'animaux complètement déparasités	Présence ou absence(-) de Nématodes à l'autopsie (moyenne)	Epoque des traitements
50	2	0	2	Février 1965
70	2	0	6	"
100	2	2	-	Février et Juin 1965
150	3	3	-	Juin 1965
500	1	1	-	Juin 1965

TABLEAU N°VII
Action du Thiabendazole sur *Haemoncus longistipes*.

Doses mg/kg	40	50	70	100	150	300	350	400	500
Nombre de chameaux utilisés	1	2	2	7	5	4	2	4	2
Nombre de chameaux totalement déparasités	0	0	2	2	2	1	1	3	2
Nombre total de parasites expulsés	0	0	0	0	0	6	0	0	0
Nombre total de parasites restant à l'autopsie	78	160	0	5.045	4740	190	1	4	0
Nombre total de larves L ₃ en coproculture									
- avant traitement*	1	3	6	186	196	35	7	33	3
- après traitement	1	3	0	105	18	5	0	0	0
Efficacité									
- chameaux faiblement parasités	nulle	nulle	bovine	-	-	-	-	-	-
- chameaux fortement parasités	-	-	-	faible	faible	85p100	90p100	95p100	100p100
Epoque des traitements	Février 1965	Février 1965	Février 1965	Février Juin 65	Juin 1965	Novembre 1965	Novembre 1965	Novembre 1965	Juin 1965

*dans une goutte de suspension aqueuse provenant des boîtes de Pétri ayant servi aux coprocultures.

TABLEAU N°VIII
Action du Thiabendazole sur *Oesophagostomum columbianum* mûrs et immatures.

Doses mg/kg	Nombre d'animaux parasités	Nombre d'Oesophagostomes expulsés	Présence ou absence de parasites à l'autopsie	Nombre d'animaux totalement déparasités	Epoque des traitements
50	3	0	143	0 sur 3	Février 1965
100	5	23	1	5 sur 5	Février - Juin 1965
150	6	31	88	2 sur 6	Juin 1965
300	3	24	0	3 sur 3	Novembre 1965
350	2	4	0	2 sur 2	Novembre 1965
400	4	1	0	4 sur 4	Novembre 1965
500	1 ++	0	0	1 sur 1	Juin 1965
1000	1 ++	0	0	1 sur 1	Juin 1965

+ présence d'un grand nombre d'Oesophagostomes adultes et immatures sur coprocultures.

TABLEAU N°IX

Action du Thiabendazole sur *Buckleyuris globulosa*.

Doses mg/kg	Nombre d'animaux parasités	Nombre de buckleyuris expulsés	Présence ou absence de Nématodes à l'autopsie	Nombre d'animaux totalement déparasités	Epoques des traitements
40	1	0	32	0 sur 1	Février 1965
50	3	1	215	0 sur 3	Février 1965
70	3	1	24	0 sur 3	Février 1965
100	6	1	524	0 sur 6	Février-Juin 1965
150	5	0	101	0 sur 6	Juin 1965
300	4	2	103	0 sur 4	Novembre 1965
350	3	0	23	0 sur 3	Novembre 1965
400	4	0	228	0 sur 4	Novembre 1965

Le pourcentage d'efficacité oscille alors autour de 85-90 p. 100. Il existe donc une différence considérable entre le pouvoir anthelminthique du Thiabendazole sur *Haemoncus contortus* du mouton et du bœuf qui ne résiste pas à des doses de 60-80 mg/kg et l'action du même médicament sur *Haemoncus longistipes* du chameau qui requiert des doses élevées : le résultat est certes intéressant, mais il n'est jamais entièrement positif, en ce sens que l'élimination complète des Strongles de la caillette n'est pas assurée. L'origine exacte de cette différence reste inconnue et, pour l'instant, aucune explication satisfaisante ne peut être donnée.

f) En définitive, deux dosages sont susceptibles d'être préconisés :

— de 100 à 150 mg/kg (*). Cette dose est recommandée si l'on soupçonne l'existence de *Strongyloides papillosus*, *Trichostrongylus vitrinus*, *Trichostrongylus probolurus* et *Impalaia nudicollis*. L'association parasitaire est en partie désorganisée et un certain nombre d'espèces dangereuses supprimées. L'état sanitaire de l'animal s'améliore rapidement et son équilibre biologique se rétablit peu à peu, ainsi qu'il sera dit plus loin.

C'est ce qui a été constaté à la fin de 1965 dans la région d'Ati où des chameaux très anémiés et suspects de Trypanosomiase, ont été, faute d'un Trypanocide, traités systématiquement au Thiabendazole à faible dose avec de remarquables effets.

— 300 mg/kg (*) qui représente la véritable

(*) de Thiabendazole pur.

dose polyvalente capable d'agir à la fois sur les *Strongyloides*, les *Trichostrongylus*, les *Impalaia*, 85 p. 100 des *Haemoncus longistipes* et la quasi-totalité des *Oesophagostomum*. Au Tchad où les Nématodes de la caillette et de l'intestin sont presque constamment associés, elle doit être retenue de préférence à la précédente et sera utilisée de mai à novembre, mois où le parasitisme gastro-intestinal est le plus abondant et le plus nocif.

E. — Action sur *Globidium cameli* (Tableau N° X).

Il ne peut être fait usage du Thiabendazole dans le traitement de la globidiose cameline, le nombre d'oocystes ne diminuant pas sensiblement en fin de traitement.

TABLEAU N°X

Action du Thiabendazole sur *Globidium cameli*.
Moyenne du nombre d'oocystes
au gramme de matière fécale.

Doses mg/kg	Avant traitement	Pendant traitement	Dernier jour
50 +	160	245	105
100+++	153	103	387
150++	0	72	15
300+++	17	12	70
400+	26	0	20

+ = une croix représente un animal.

CONSÉQUENCES DU TRAITEMENT SUR LA SANTÉ DE L'ANIMAL

1. Conséquences visibles.

Dans les conditions du laboratoire, le médicament est assez bien supporté et ne provoque pas de perturbations notables dans le comportement de l'animal. L'appétit reprend ou croît rapidement. Le foin a tendance à être consommé en plus grande quantité par les animaux traités que par les témoins.

2. Numérations globulaires. Formules leucocytaires.

Les variations sont plus ou moins marquées selon la saison, la dose, l'origine des animaux et l'intensité du parasitisme.

— Sur des chameaux peu anémiés et traités à 70-100 mg/kg, on observe une légère diminution du nombre d'hématies et un accroissement des leucocytes. Les Eosinophiles baissent légèrement.

— Sur des chameaux affaiblis (Kanem, novembre 1965), fortement parasités et ayant reçu 300 mg/kg, les résultats sont bien meilleurs. Le taux d'hématies remonte nettement (+ 10 p. 100). Pour les éosinophiles, la diminution est supérieure à 50 p. 100.

3. Protéines du sang.

Elles ont fait l'objet d'une étude approfondie qui bientôt sera publiée (QUEVAL, GRABER et BRUNET). Le Tableau N° XI résume globalement les constatations faites.

Chez le chameau en bon état, les constantes protéiniques sont approximativement :

Protéines totales : 83,9.
Albumines : 34,8.
Globulines : 49,1.

A 150 et à 300 mg/kg, les Protéines totales augmentent d'un peu plus de 15 p. 100 au bénéfice des Albumines (+ 9,6 p. 100 et + 21,5 p. 100) et des globulines, ce qui correspond dans le premier cas à la disparition de tous les *Trichostrongylidae*, *Heligmosomatidae* et *Rhabditidae*, et, dans le second, de tous les Nématodes associés à l'exception d'un petit nombre d'*Haemoncus* et de *Buckleyuris globulosa*.

A 400 mg/kg, les conclusions sont moins nettes,

car il s'agissait au départ d'animaux moyennement parasités, avec un taux de Protéines totales proche de la normale. Le rapport Albumine/Globuline passe alors de 0,46 à 0,52.

4. Prises de poids.

Deux essais ont été réalisés :

- à 300 mg/kg,
- à 400 mg/kg,

le premier en novembre 1965 sur des dromadaires originaires du Kanem et, le second, en décembre sur des chameaux venus du Batha. Dans les deux cas, les animaux (quatre dans chaque série) étaient atteints d'un polyparasitisme à base de Nématodes et de Cestodes.

La durée de l'expérience a été de 18 jours.

Les animaux ont été nourris avec des foins composés de *Brachiaria*, d'*Echinochloa* et de *Panicum*. Les analyses (*) ont montré que les foins récoltés en octobre assuraient une ration d'entretien suffisante, ce qui n'était plus le cas en décembre avec des foins de même nature, mais ramassés plus tard dans la saison. C'est ce que démontrent les deux tableaux suivants : (Tableaux XII et XIII).

Chez les chameaux, les résultats sont les suivants : (Tableau XIV)

L'expérience prouve qu'après traitement au Thiabendazole administré à forte dose, si les conditions alimentaires sont satisfaisantes, la reprise de poids est rapide et importante. Dans le cas contraire, le traitement ne donne que de médiocres résultats.

Il importe donc, après le déparasitage, de placer les chameaux au repos sur des pâturages herbacés ou arbustifs abondants et fournis. Ce détail a une importance considérable.

A 300 mg/kg, le gain de poids est à mettre en parallèle avec :

- l'augmentation du nombre d'hématies (+ 10 p. 100) ;
- l'augmentation des protéines totales (+ 15 p. 100) ;
- la diminution du nombre d'*Haemoncus longistipes* (— 85 p. 100) et la disparition des *Rhabditidae*, des *Trichostrongylidae* et des *Heligmosomatidae* de l'intestin.

(*) Effectuées à l'I. E. M. V. T. à Paris.

TABLEAU N°XI

Protéines du sang avant et après traitement au Thiabendazole.

Doses mg/kg	Protéines totales			Albumines		Globulines		Origine des animaux	Epoque des traitements
	Avant traitement	Après traitem.	Pourcentage Augmentation	Avant traitem.	Après traitem.	Avant traitem.	Après traitem.		
70	67	67	=	20,2	21,5	46,6	45,5	Kanem	Février 1965
100	67,1	70,3	+ 4,7p100	22,2	19,1	45,9	51,1	Kanem	Février 1965
150	71,75	83,1	+15,8p100	24,6	29,9	47,1	53,2	Batha	Juin 1965
300	73,8	85,4	+15,7p100	26,1	28,6	47,7	56,8	Kanem	Octobre 1965
400	81,5	81,7	+ 0,2p100	25,9	28,1	55,6	53,6	Batha	Novembre 1965

TABLEAU N°XII

Analyses de fourrage - Pourcentage de la matière brute.

	Octobre 1965	Décembre 1965
Humidité	40,10	5,90
Matière sèche	59,90	94,10
Matières protéiques brutes	1,39	5,34
Cellulose	24,15	36,50
Matières grasses (extrait étheré)	0,47	0,82
Matières minérales totales	7,94	12,75
Extractif non azoté	25,95	38,69
Insoluble chlorhydrique	5,34	6,79
Calcium	0,182	0,325
Phosphore	0,053	0,351
Magnésium	-	-
Potassium	1,01	2,58
Sodium	-	-

TABLEAU N°XIII

Analyses de fourrage - Pourcentage de la matière sèche

	Octobre 1965	Décembre 1965
Humidité	-	-
Matière sèche	100,00	100,00
Matières protéiques brutes	2,32	5,67
Cellulose	40,35	38,80
Matières grasses (extrait étheré)	0,79	0,87
Matières minérales totales	13,26	13,55
Extractif non azoté	43,28	41,11
Insoluble chlorhydrique	8,92	7,22
Calcium	0,304	0,345
Phosphore	0,089	0,373
Magnésium	-	-
Potassium	1,68	2,74
Sodium	-	-

TABLEAU N°XIV

Prises de poids

Doses en mg/kg	300	400	Témoins
Poids total des animaux avant traitement (en kilogrammes)	1.209,8	1.340,7	668,3
Poids total des animaux après traitement (en kilogrammes)	1.346,6	1.368,2	662,9
Nombre d'animaux	4	4	2
Pourcentage d'augmentation	+ 11 p.100	+ 2 p.100	- 0,9 p.100

ACTIVITÉ DU MÉDICAMENT

L'évacuation des parasites, lorsqu'elle a lieu, débute 48 heures après l'administration de l'anthelminthique. Elle dure assez longtemps et ne paraît terminée qu'au bout de cinq jours. Seuls, les Oesophagostomes sont éliminés intacts. Peu d'*Haemoncus* sont visibles dans les crottes : ils sont pour la plupart en partie digérés.

A 300 mg/kg, au bout d'une quinzaine de jours, les œufs, lorsque survivent des parasites mûrs (*Haemoncus*), peuvent donner naissance à des larves L₃ bien vivantes, mais en très petit nombre.

TOXICITÉ

Des doses progressivement croissantes ont été expérimentées (Tableau XV).

Le Thiabendazole est, dans l'ensemble, assez bien toléré, même à des doses de 1.000 mg/kg. Cependant, vers 350-400 mg/kg, des accidents mortels sont susceptibles de se produire. Ils sont le fait d'animaux très maigres, très anémiés, souvent atteints de Trypanosomiase, d'Echinococcose et d'abcès multiples.

Il importe donc dans un troupeau, avant le traitement, de rechercher systématiquement tous les porteurs de Trypanosomes ou les animaux trop malades (abcès ; broncho-pneumonies) qui seront séparés et soignés. Ils ne seront dépara-

sités qu'un peu plus tard au moyen d'une dose de Thiabendazole réduite de moitié (150 mg/kg). La dose normale (300 mg/kg) ne sera distribuée que quand l'animal sera capable de la supporter.

Les signes de l'intoxication par le Thiabendazole sont peu manifestes. Les conséquences à long terme se traduisent essentiellement par une baisse de poids régulière qui pour le chameau N° 6 (350 mg/kg) se présentait ainsi :

30-11-1965 (traitement) : 316,5 kg.

4-12-1965 : 301,5 kg.

11-12-1965 (mort) : 281,8 kg.

Le même phénomène a été observé chez des équidés en mauvais état ayant reçu de fortes doses de Thiabendazole.

ESSAIS SUR LE TERRAIN

1. Choix d'une méthode barymétrique permettant d'apprécier le poids d'un dromadaire quand il n'existe pas d'instrument de pesée dans une région donnée.

Avant d'étudier l'action du Thiabendazole sur le terrain, il importait de choisir une méthode barymétrique permettant, en l'absence de tout instrument, de calculer le poids des animaux devant être traités.

C'est une variante de la méthode de BOUÉ (1949) qui a été adoptée. Elle consiste, pour

TABLEAU N° XV

Toxicité du Thiabendazole pour le dromadaire

Doses mg/kg	Nombre de chameaux utilisés	Mortalité	Epoque des traitements	Etat général des animaux
40	1	0 sur 1	Février	Moyen
50	3	0 sur 3	"	"
70	3	0 sur 3	"	"
100	7	0 sur 7	Février-Juin	Mauvais
150	5	0 sur 5	Juin	"
300	4	0 sur 4	Octobre	Moyen
350	3	1 sur 3	Novembre	Mauvais
400	4	0 sur 4	Novembre	Moyen
500	2	0 sur 2	Juin	Mauvais
1.000	1	0 sur 1	"	"

TABLEAU N°XVI
Evaluation de la relation moyenne

Chameau N°	T	A	H	Poids à la bascule	P/TAH
Kanem					
1	1,78	2,02	1,70	315 kg	51,5
2	1,98	2,23	1,83	418,7 "	51,8
3	1,66	1,89	1,54	267,6 "	55,2
4	1,81	2,04	1,74	342,3 "	53,3
Batha					
5	1,86	2,05	1,78	367,4 "	54,2
11	1,85	2,01	1,83	362,7 "	54
6	1,87	1,90	1,82	301,5 "	46,6
7	1,89	2,15	1,85	377,8 "	51,6
9	1,81	2,05	1,80	348,4 "	51,2
10	1,91	2,06	1,93	359,2 "	49,1
13	1,69	1,79	1,66	264 "	52,5
8	1,85	2,11	1,73	362,7 "	53,8
12	1,78	1,98	1,79	313,8 "	49,6
Moyenne	1,82	2,02	1,76	338,5 "	52-52,3

Le chiffre 52 a finalement été retenu pour la relation moyenne P/TAH

TABLEAU N°XVII
Poids de l'animal et approximation moyenne

Chameau N°	TAH	TAH × 52 (kilogrammes)	Poids à la bascule (kilogrammes)	Approximation (kilogrammes)
12	6,308	328	313,8	+ 14,2
13	5,021	261	264	- 3
8	6,730	350	362	- 12
10	7,2	374,4	359,2	+ 15,2
9	6,287	326,9	348,8	- 21,9
7	6,872	357,3	377,8	- 20
11	6,804	353,8	362,7	- 8,9
5	6,787	353	367	- 14
11	6,112	317,8	315	+ 2,8
2	8,080	420,1	418,7	+ 1,4
3	4,862	252,8	267,6	- 14,8
4	6,424	334	342,3	- 8,3

obtenir le poids net d'un chameau du Sud Algérien, à utiliser la formule suivante :

Poids net = Périmètre thoracique (T*) × Périmètre abdominal (A*) × Hauteur (H*) × 53.

— Le périmètre thoracique (T) est pris sur l'animal debout, derrière la callosité sternale au moyen d'un ruban étalonné que l'on passe autour du corps.

— Le périmètre abdominal (A) à l'endroit le plus haut de la bosse, en son milieu et en fin d'expiration.

— La hauteur est mesurée au moyen d'une toise placée à l'aplomb normal du membre antérieur, à la hauteur de la pointe du coude au milieu de l'avant-bras.

La formule ainsi définie, appliquée aux dromadaires du Tchad à leur arrivée au Laboratoire, révèle, par comparaison avec le poids réel à la bascule, des différences considérables, de l'ordre de 10 à 20 p. 100.

Il a donc fallu évaluer aussi exactement que possible le coefficient applicable aux dromadaires des zones sahéliennes du Tchad, le chiffre 53 n'étant valable apparemment que pour les Méharis du Sud-Algérien.

Pour ce faire, 13 chameaux originaires du Kanem et du Batha ont été utilisés et deux opérations effectuées :

— Evaluation de la relation moyenne (P/TAH) valable pour les chameaux de ces régions.

— En fonction du chiffre ainsi obtenu, appréciation du poids et recherche de l'approximation moyenne.

Les animaux ont été maintenus dans des conditions semblables durant toute l'expérience. Ils ont été placés dans des étables, nourris avec de fortes rations de foin et abondamment abreuvés. Les mesures ont été faites le matin à 8 heures.

A. — Evaluation de la relation moyenne (P/TAH) (Tableau XVI)

Le chiffre 52 a finalement été retenu pour la relation moyenne P/TAH.

(*) = en mètre.

B. — Poids de l'animal et approximation moyenne (Tableau XVII)

La relation moyenne $P = 52 \text{ TAH}$ est bonne, car l'approximation ne dépasse pas 25 kg en plus ou en moins.

2. Résultats sur le terrain

Ils ont eu lieu en décembre 1965 à Abougoudam sur le peloton nomade du Ouaddaï composé de chameaux de selle fatigués et, dans l'ensemble, en assez mauvais état. Plus de la moitié d'entre eux hébergeaient en grand nombre *Haemoncus longistipes*, des *Trichostrongylus*, des *impalaia*, des *Buckleyuris*, ainsi que des filaires et des Trypanosomes.

Par ailleurs, vu les faibles précipitations tombées au Ouaddaï durant l'hivernage 1965, le pâturage était, en décembre, réduit et de qualité médiocre. Le poids des chameaux a été apprécié selon la formule précédente $P = 52 \text{ TAH}$ et chacun a reçu 500 mg/kg environ de Thiabendazole commercial à 75 p. 100. Sur 27 chameaux traités, 11 d'entre eux ont manifesté une violente diarrhée (*) dans les jours qui ont suivi le traitement. La diarrhée rétrocede par la suite.

Cependant, deux animaux sont morts une douzaine de jours après l'administration du Thiabendazole. Il s'agissait de chameaux âgés, très maigres, usés, fortement parasités et porteurs de Trypanosomes.

Il a été alors décidé de scinder le troupeau en deux : les animaux les plus malades sont restés à la station (8), les autres ont été conduits plus au sud sur des pâturages arbustifs neufs et abondants. (Tableaux XVIII, XIX et XX).

L'observation a duré un mois et demi.

Il apparaît donc que, dans un effectif camelin médiocre après traitement au Thiabendazole à 500 mg/kg :

— Les animaux atteints d'autres affections (Trypanosomiase ; abcès multiples ; broncho-pneumonies, etc...) tolèrent assez mal le médicament. Dans ce cas — comme il a été dit plus

(*) Les chameliers ne craignent pas les conséquences néfastes de la diarrhée, car, d'après eux, elle signe un médicament de grande valeur.

a) — 1^{er} lot : Chameaux malades laissés à Abaugoudan. *

TABLEAU N°XVIII

Chameau N°	10-12-1965	22-12-1965	24-1-1966	Observations
1	525	535	546	Filaires
2	438	443	419	
4	561		538	
6	502	500	492	Trypanosomes
7	412	406	380	"
13	349	343	337	"
14	555	528	511	
22	360	339	341	Trypanosomes
Poids moyen	463	442 (-4,8p.100)	445 (-4p100)	

b) — 2^e lot : Chameaux remis sur un pâturage neuf.

TABLEAU N°XIX

Chameau N°	10-12-1965	27-12-1965	24-1-1966
5	415	438	438
8	332	362	367
10	440	455	442
11	568	560	621
12	465	437	467
15	452	445	487
16	417	415	442
17	484	462	430
19	491	472	493
20	402	422	432
23	518	539	577
25	444	424	445
26	331	322	343
27	372	348	353
28	324	346	346
Poids moyen	430	432,4	459,7
Gain	-	+ 0,005p100	+ 6,9p100

c) — Témoins : Chameaux remis sur un pâturage neuf et riche.

TABLEAU N°XX

Chameau N°	10-12-1965	27-12-1965	24-1-1966
29	335	350	351
30	449	433	437
Poids moyen	392	391,5	394
Augmentation	-	- 0,2p100	+ 0,005p100

* Les poids sont donnés en kilogrammes.

haut — on a intérêt à éliminer la Trypanosomiase notamment et à ne distribuer qu'une dose minimum de Thiabendazole (150 mg/kg par exemple) qui améliore l'état général du malade en supprimant les petits Nématodes du tube digestif. La dose complète destinée à tuer les *Haemoncus* ne sera administrée que lorsque le chameau sera capable de la supporter.

— Après traitement, les animaux doivent être placés au repos complet sur des pâturages convenables herbacés et surtout arbustifs. Dans le cas de cette expérience, l'augmentation de poids a été de 6,9 p. 100, celui des témoins placés dans les mêmes conditions ne variant pratiquement pas. Il est probable que, sur des dromadaires d'élevage, les résultats eussent été meilleurs encore, les éleveurs sachant choisir les parcours les plus riches. Il est bon de noter que les gardiens du troupeau méhariste, outre l'accroissement de poids, ont constaté une régression importante et quasi générale de la gale qui touchait un assez grand nombre de chameaux. Il faut voir là surtout une amélioration de l'état général.

CONCLUSIONS

Lors d'essais effectués sur 85 dromadaires adultes originaires du Kanem et du Batha (République du Tchad), il a été constaté que :

1° Le Thiabendazole, quelle que soit la dose utilisée, est complètement inactif sur *Schistosoma bovis* des veines mésentériques, *Thysaniezia ovilla* et *Stilesia globipunctata* de l'intestin, *Echinococcus polymorphus* du poumon et du foie, *Globidium cameli* de l'intestin, et *Buckleyuris globulosa* du cæcum. L'action est faible et inconsistante sur *Moniezia expansa*, *Moniezia benedeni*, *Avitellina centripunctata* et *Avitellina woodlandi* de l'intestin. La plupart des scolex subsistent, même à fortes doses.

2° Les petits Nématodes intestinaux appartenant aux familles des *Rhabditidae* (*Strongyloides papillosus*), des *Trichostrongylidae* (*Richostrongylus vitrinus* et *Trichostrongylus probolurus* et des *Heligmosomatidae* (*Impalaia nudicollis*) sont tous détruits à partir de 100 mg/kg.

3° Sur *Oesophagostomum columbianum*, les résultats sont irréguliers. Lorsqu'il s'agit de para-

sites adultes et mûrs, la dose de 100 mg/kg paraît suffisante ; elle ne l'est plus quand on a affaire à des adultes immatures. Il faut alors des doses beaucoup plus importantes.

4° Sur *Haemoncus longistipes* de la caillette, les résultats sont relativement bons à partir de 70 mg/kg, si les Helminthes sont peu nombreux et sexuellement mûrs.

Par contre, dès que le parasitisme est massif (de 150 à 3.000 unités et plus) et les *Haemoncus* encore immatures, il importe de distribuer des doses fortes de l'ordre d'au moins 300 mg/kg. Le pourcentage d'efficacité oscille alors autour de 85 p. 100.

5° En définitive, deux dosages sont susceptibles d'être préconisés :

— de 100 à 150 mg/kg (produit pur). Cette dose est recommandée si l'on soupçonne l'existence de *Strongyloides papillosus*, *T. vitrinus*, *T. probolurus* et *I. nudicollis*. L'association parasitaire est en partie désorganisée et un certain nombre d'espèces dangereuses supprimées. L'état sanitaire de l'animal s'améliore rapidement et son équilibre biologique se rétablit peu à peu ;

— 300 mg/kg qui représente, pour le parasitologue, la véritable dose polyvalente capable d'agir à la fois sur les *Strongyloides*, les *Trichostrongylus*, les *Impalaia*, 85 p. 100 des *Haemoncus longistipes* et la quasi-totalité des *Oesophagostomum*: Au Tchad où les Nématodes de la caillette et de l'intestin sont presque constamment associés, elle doit être retenue de préférence et sera utilisée de mai à novembre, mois où le parasitisme gastro-intestinal du dromadaire est le plus abondant et le plus nocif.

6° Le Thiabendazole semble assez peu toxique, sauf pour les animaux très bas d'état, très anémiés, très parasités ou atteints d'autres affections (Trypanosomiase ; abcès multiples ; pneumonies...). Il faut alors traiter l'affection principale et ne traiter qu'avec une dose d'anthelminthique réduite de moitié, quitte à recommencer par la suite à la dose normale.

7° Le Thiabendazole, après destruction de la plus grande partie des Nématodes du tractus digestif du chameau, n'a d'heureuses répercussions sur l'état de santé de l'animal que dans

la mesure où celui-ci est placé au repos sur un pâturage convenable. Les augmentations de poids sont alors importantes (de 6,8 à 11 p. 100 selon le cas). Elles s'accompagnent d'une remontée parallèle des Protéines du sang dont le taux tend alors vers la normale.

Le Thiabendazole est donc un anthelminthique parfaitement utilisable en Elevage camelin, à condition d'observer certaines règles et de prendre quelques précautions.

REMERCIEMENTS

L'auteur tient à remercier vivement M. le Dr vétérinaire CAST qui a supervisé une partie des essais sur le terrain, M. le Dr vétérinaire RIVIÈRE qui a bien voulu procéder à l'analyse des fourrages expédiés de Fort-Lamy, Mme BRUNET et M. QUEVAL qui se sont particulièrement attachés à l'étude des formules sanguines et des Protéines du sang.

SUMMARY

Study of the parasiticide action of Thiabendazol on some helminths of domestic animals under some African conditions. II. Dromedary

From experimentation made in Chad in 85 Dromedaries from Kanem and Batha the author came to the conclusion that Thiabendazol is inactive on many *Anoplocephalidae* of the intestine, on *Shistosoma bovis*, on the Hydatid of *Echinococcus granulosus*, on *Buckleyuris globulosa* and on *Globidium cameli*.

Two dosages can be recommended against the most common *Nematodeae* of the stomach and the intestine :

— 100 to 150 mg/kg (of pure drug) : this dose is able to kill as a whole an association of *Strongyloides papillosus*, *Trichostrongylus vitrinus*, *Trichostrongylus probolurus* and *Impalala nudicollis* *Nematodeae*, which are all particularly dangerous for the camel.

— 300 mg/kg ; this dose is for the parasitologist the most polyvalent, since it is active both on the above Helminths, on *Haemoncus longistipes* of the rennet (up to 85 p. 100) and on *Oesophagostomum columbianum* of the large intestine. In Chad this dose has to be preferred and used from may to november, when the parasitists of the stomach and the intestine of the dromedary are most numerous.

The Thiabendazole is not very toxicous for the camel, except if this animal is chronically infected by some other conditions (Trypanosomiasis, multiple abscesses, pneumonia, etc...). In that case the dose to be given must be reduced by half, but may be given again later.

After the treatment, the general state of health improves quickly, if the animal is fed on a suitable grazing, of a rather shrubby type. The gain of weight ranges from 6,8 p. 100 to 11 p. 100.

This anhelminthic drug should be used in camel only if some precautions have been taken.

RESUMEN

Estudio de la acción antiparasitaria del Thiabendazole en varios helmintos de los animales domésticos en ciertas condiciones africanas. II. Dromedario

A partir de ensayos efectuados en Chad en 85 dromedarios de Kanem y de Batha, el autor concluye que el Thiabendazole es inactivo en muchos *Anoplocephalidae* del intestino, en *Shistosoma bovis*, en los hidátides de *Echinococcus granulatus*, en *Buckleyuris globulosa* y en *Globidium cameli*.

Pueden preconizar dos dosis contra los nemátodos gastro-intestinales más frecuentes :

— 100 a 150 mg/kg (producto puro). Esta dosis puede destruir totalmente una asociación de *Strongyloides papillosus*, *Trichostrongylus vitrinus*, *Trichostrongylus probalurus* e *Impalata nudicollis*, nemátodos particularmente peligrosos para el camello.

— 300 mg/kg. Esta dosis es la más polivalente para el parasitólogo porque puede actuar en los dichos helmintos como en *Haemoncus longistipes* del cuajar (a 85 por 100) y en *Oesofagostomum columbianum* del intestino grueso.

En Chad, más vale utilizar esta dosis, administrada de mayo a noviembre cuando el parasitismo gastro-intestinal del dromedario es el más importante. El thiabendazole es bastante poco tóxico para el camello, excepto cuando los animales están atacados por otras enfermedades crónicas (Tripanosomiasis; abscesos varios, neumonías etc...). Entonces hay que reducir de mitad la dosis, pero en seguida volver a administrarla.

Después del tratamiento, el estado general rápidamente se mejora si el animal está sobre un buen pasto, más bien de tipo arbustivo. La ganancia de peso llega de 6,8 por 100 a 11 por 100.

Tendrá que tomar algunas precauciones al utilizar el antihelmíntico en el camello.

BIBLIOGRAPHIE

- BOUE (R.). — Essai de Barymétrie chez le dromadaire Nord-Africain. *Rev. Elev. Med. Vét. Pays Trop.*, 1949, 3, 1, 13-16.
- FERRY (R.). — Parasitisme gastro-intestinal du dromadaire au Niger. *Thèse vétérinaire, Paris*, 1961, 46 pp.
- GRABER (M.). — Rap. Tournée Nord-Ouaddaï, *Elev. Tchad*, 1955, 127 pp.
- GRABER (M.). — Etude dans certaines conditions africaines de l'action antiparasitaire du Thiabendazole sur divers Helminthes des animaux domestiques. I. Helminthes du zébu. *Rev. Elev. Med. Vét. Pays Trop.*, 1965, 18, 1, 39-58.
- GRABER (M.), TABO (R.) et SERVICE (J.). — Enquête sur les Helminthes du dromadaire tchadien. Etude des strongyloses gastro-intestinales et de l'Haemoncose à *Haemoncus longistipes*. *Rev. Elev. Med. Vét. Pays Trop.* (à paraître en 1967).
- GRABER (M.). — Renseignements concernant la biologie d'*Haemoncus longistipes* du dromadaire étudiée dans des conditions expérimentales. *Rev. Elev. Med. Vét. Pays trop.*, (à paraître en 1967).
- IVASHKINA (E., E.). — Phenothiazine tested against Parabronemiasis of camels (*Camelus bactrianus*). *Pap. Helm. Pres. Acad. Skjabin. Moscow Akad. Nauk*, 1953, 254-257.
- OZERSKAYA (V., N.). — Experimental application of Phénothiazine in Nematodiasis of the digestive tract of camels. *Trud. Vseso. Inst. Gelmint. Imen. Akad. Skrjabin*, 1953, 5, 165-166.
- SPASSKI (A., A.). — Anoplocephalata Cestodes of domestic and wild animals. *Principles of Cestodology. Moscou*, 1951, 1, 735.
- STEWART (J. S.). — Trichostrongylosis and Haemonchosis in the camel : their recognition and response to Phenothiazine. *Vet. Rec.*, 1950, 62, 52, 837-39.
- Rapport annuel secteur vétérinaire Ouaddaï Tchad, 1956, p. 24-25.

Note préliminaire sur les effets expérimentaux de l'aflatoxine chez les bovins tropicaux.

Effets de l'aflatoxine sur la vache laitière et sur le jeune nourri à la mamelle

par

H. CALVET, R. BOUDERGUES, E. DISCACCIATI et Mme M. CLICHE

RÉSUMÉ

Cette première expérimentation se situe dans le cadre d'un programme à long terme sur les effets de l'aflatoxine chez les bovins tropicaux.

Elle a pour but de rechercher chez la vache en lactation, recevant une dose expérimentale volontairement forte de 1,5 mg d'aflatoxine par jour, les désordres susceptibles d'être produits, chez la mère et chez le jeune.

Alors que les adultes semblent résister à l'intoxication, les répercussions sont plus sensibles chez le jeune qui accuse un retard de croissance significatif. Les troubles observés chez les veaux à la mamelle paraissent liés à la présence d'aflatoxine dans le lait.

Depuis la mise en évidence par les chercheurs anglais ALLCROFT, SARGEANT et CARNAGHAN en 1960 (1) (2) (3) (4) (5) (6) de la présence d'aflatoxine, métabolite de l'*Aspergillus flavus* Link, dans des tourteaux d'arachides ayant provoqué des mortalités parfois très lourdes dans divers élevages européens, avec pour caractère commun une atteinte spécifique du foie, la contamination des arachides par ce champignon, et, par voie de conséquence la présence de sa mycotoxine dans les tourteaux, revêt une grande importance pour les pays producteurs.

Les tourteaux d'arachides entrant pour une part de plus en plus grande dans l'alimentation du bétail, il devenait indispensable d'entreprendre une expérimentation visant à déterminer les limites exactes de la toxicité de l'aflatoxine sur différentes espèces animales.

Dans le cadre d'un programme à long terme, cette note a pour objet de présenter les résultats obtenus au cours d'une première série de recherches sur la toxicité de l'aflatoxine effectuées sur

l'organisme de la vache en lactation et sur le jeune nourri à la mamelle. Le toxique est administré journallement, dès la mise bas, à la vache en lactation.

EXPÉRIMENTATION

Matériel et méthodes.

L'expérimentation a porté sur 12 génisses gestantes, de race ndama, âgées de 4 à 5 ans. Ces animaux ont été répartis au hasard en deux lots : un lot témoin et un lot d'animaux traités recevant chaque jour 1,5 mg d'aflatoxine contenu dans le tourteau toxique obtenu au laboratoire, administré directement par voie orale, dès le lendemain de la mise bas.

Les deux lots sont soumis à la même alimentation comprenant du foin de prairie naturelle de France, donné à volonté, auquel on ajoute un supplément de 300 g de tourteau d'arachide commercial, titrant moins de 0,2 mg/kg d'aflatoxine.

L'expérimentation est poursuivie en étable durant 4 mois. Cependant, certaines vaches ont été retirées des lots prématurément, soit à la suite de la mort du jeune, soit en raison d'un tarissement précoce.

Les adultes sont pesés une fois par semaine, les veaux, avant et après chacune des deux tétées journalières, ce qui permet de déterminer la quantité de lait produite.

Chaque semaine, tous les animaux sont soumis à une prise de sang en vue des analyses et tests de contrôle suivants : numération globulaire hématocrite, protéines totales du sérum, lipides totaux du sérum, transaminases sériques, test de Mac Lagan. Sur les urines, l'albumine, les sels et les pigments biliaires, l'urée font également l'objet d'un dosage hebdomadaire.

Méthodes utilisées.

Ces méthodes intéressent d'une part la production de l'aflatoxine, d'autre part, les techniques utilisées pour les tests hépatiques de contrôle. Elles portent également sur la recherche de l'aflatoxine dans le lait, les viscères et les muscles des animaux traités.

1. Production d'aflatoxine.

Les quantités d'aflatoxine extraites des tourteaux et arachides naturellement contaminés sont trop faibles pour couvrir les besoins relativement importants de l'expérimentation. Aussi l'obtention du facteur toxique par culture d'*Aspergillus flavus* a été recherchée et plusieurs milieux ont été successivement utilisés.

Les milieux synthétiques liquides (milieu Czapek, milieu Brian) permettent un bon développement du champignon mais fournissent, après extraction, des taux d'aflatoxine nuls (Czapek) ou faibles (Brian : moins de 90 p. p. m.).

Le rendement de la culture sur tourteau d'arachides est encore plus faible (10 p. p. m.).

Finalement, le meilleur résultat (taux d'aflatoxine 300 p. p. m. environ) est obtenu sur arachides broyées. La technique a déjà été exposée (*). Il n'en sera rappelé que les points essentiels.

Les arachides broyées, étalées en couches minces dans les grandes boîtes de Pétri, sont stérilisées en autoclave à 110 °C. Après réhumidification à 20 p. 100 d'eau en poids, l'ensemencement est effectué et les boîtes sont disposées en étuve à 30 °C + 1 °C pendant 10 jours.

Une nouvelle stérilisation au four Pasteur à 140 °C est nécessaire pour détruire le champignon et supprimer tout danger de contamination.

Le contenu des boîtes de Pétri est alors mis en cartouches de Soxhlet pour être dégraissé pendant 6 heures à l'éther de pétrole.

Le produit obtenu est un tourteau riche en aflatoxine sur lequel un dosage physico-chimique et un contrôle de toxicité par une méthode biologique sont effectués.

Dosage physico-chimique.

La technique adoptée est celle qui a été mise au point par « The Tropical Products Institute » (9). Dix grammes de tourteau sont traités en Soxhlet par l'alcool méthylique pendant 4 heures. L'aflatoxine est extraite du milieu par du chloroforme. Cette phase chloroformique est évaporée et chromatographiée sur Kieselgel et on recherche les spots fluorescents caractéristiques de l'aflatoxine. Des dilutions successives jusqu'à extinction des spots permettent de déterminer les taux d'aflatoxine par comparaison avec une solution témoin d'aflatoxine B₁ à 0,1 mg/l.

Dosage biologique.

La fluorescence n'étant pas toujours en relation directe avec la toxicité, ce dernier facteur a dû être contrôlé, sur chaque lot de tourteau produit, par des tests biologiques.

Test sur caneton.

Le réactif biologique est constitué par des canetons reçus de France par avion. La technique d'administration utilisée est celle qui a été décrite par THEODOSSIADES (8) sur caneton de 1 jour. A Dakar, sur canetons de 3 à 8 jours, la dose léthale 50, déduite de plusieurs essais, se situe aux alentours de 80 µg/jour. Cette posologie entraîne la mort de 50 p. 100 du lot dans un délai de 8 jours et les foies présentent des lésions d'hépatite nécrosante caractéristique de l'intoxication par l'aflatoxine.

(*) Rapport annuel du Laboratoire national de l'Élevage de Hann 1964, p. 146-47.

Test sur œuf embryonné.

Moins onéreuse que la précédente, la technique utilisée est celle de J. VERRET et Coll. (10). La DL₅₀ pour l'embryon de poulet est de 0,025 µg d'aflatoxine B₁ injectée dans la poche à air.

2. Tests biochimiques.

Ils sont utilisés pour contrôler l'état de santé des animaux et son évolution en cours d'expérience. L'aflatoxine étant connue comme un facteur toxique agissant essentiellement au niveau des fonctions hépatiques et rénales, les analyses permettant de diagnostiquer une atteinte de ces fonctions ont été principalement retenues.

a) *Transaminases sériques.*

Les transaminases glutamo-oxalacétique (T. G. O.) et glutamo-pyruvique (T. G. P.) ont été dosées chaque semaine sur les animaux traités et tous les 15 jours sur les témoins. La méthode de REITMAN-FRANKEL a été retenue. Plusieurs essais ont permis de déterminer les normes moyennes qui sont de :

	T.G.O.	T.G.P.
vaches	40 u/ml	20 u/ml
veaux	30 u/ml	20 u/ml

En médecine humaine, on note des élévations du taux de ces transaminases dans les nécroses hépatiques et dans les atteintes aiguës de la cellule hépatique.

b) *Test de Mac Lagan.*

Ce test, non spécifique, d'altération des synthèses protéiques du foie, a été emprunté à la médecine humaine.

Sur les animaux témoins, les valeurs normales semblent être les suivantes :

vaches	densité optique	0,40
veaux	—	— 0,40

c) *Lipides totaux du sérum.*

L'augmentation des lipides sériques indique généralement une lésion hépatique. Les lipides totaux du sérum ont été dosés par la méthode de Delsal. Beaucoup moins constante que la glycémie, la lipémie chez l'animal normal, à jeun, dans des conditions identiques de prélèvement, a varié entre 2,5 et 4 g/l chez la vache et 2,5 et 4,5 g/l chez le veau.

d) *Protéines totales du sérum.*

L'abaissement de leur taux est un signe de disfonctionnement hépatique. Leur dosage, fait par réfractométrie, a permis d'obtenir les valeurs normales de 70 à 85 g/l.

e) Les numérations globulaires et les hématocrites ont été établis suivant les méthodes classiques. Il en a été de même pour la recherche de l'albumine, des sels et pigments biliaires dans l'urine. L'uréomètre de Bourriez a servi au dosage de l'urée urinaire.

3. Recherche de l'aflatoxine dans le lait.

L'aflatoxine ingérée par la vache laitière passe dans la mamelle et se retrouve dans la fraction caséine du lait. Ces résultats corroborent les conclusions des auteurs anglais (1) (3).

Le procédé suivant a permis le dosage du toxique dans la production laitière des animaux traités.

On dépose sur une plaque de Kieselgel G des spots de 2,5 à 10 microlitres de lait dégraissé. Une première chromatographie, dans l'éther sulfurique, est suivie d'une deuxième dans le solvant chloroforme-alcool méthylique (95-5). Les spots fluorescents sont visibles en lumière U. V. à des Rf variant de 0,2 à 0,30 correspondant à la « Milk Aflatoxin » décrite par de LONG et Coll. (7). Le dosage est fait par appréciation de l'extinction par rapport à une solution étalon d'aflatoxine B₁. Cependant, la toxicité de l'aflatoxine présente dans le lait à un taux très bas (0,08 à 0,3 mg/l) n'a pu être confirmée par un test biologique. L'obtention de lésions sur le caneton de 1 jour aurait nécessité des ingestions trop importantes de lait. Les protéines du lait injectées dans la poche à air des œufs provoquent la mort immédiate de l'embryon.

4. Dosage de l'aflatoxine dans la viande et les viscères des animaux.

200 grammes de produits à analyser (muscles ou viscères) sont broyés puis triturés avec du sulfate d'ammonium jusqu'à consistance pulvérulente. Le produit obtenu est mis à macérer pendant 40 heures avec 250 ml de méthanol et agité en permanence. Le résidu est exprimé au travers d'une gaze et le liquide d'expression filtré sur papier filtre.

L'extrait méthanolique est repris par du chloroforme selon la technique classique et la phase chloroformique obtenue, concentrée à 20 ml, est chromatographiée sur couche mince de Kieselgel G. Il est à noter ici aussi que les spots apparaissent à des Rf de 0,3 à 0,4.

RÉSULTATS

Les résultats obtenus porteront sur :

- les variations pondérales enregistrées chez les adultes et les jeunes ;
- la production du lait : quantité, qualité et présence d'aflatoxine ;
- les modifications biochimiques survenues dans le lot traité ;
- l'aspect général des animaux d'expérience ;
- les lésions notées à l'autopsie et la présence de l'aflatoxine dans la carcasse et les viscères des animaux morts ou sacrifiés.

a) Variations pondérales.

Chez les adultes, le tableau 1 et le graphique 1 bis font apparaître une perte de poids dans les deux lots, particulièrement nette jusqu'à la onzième semaine. Cette variation est cependant plus sensible dans le lot traité que dans le lot témoin. Cependant, l'analyse de variance ne permet pas de conclure, compte tenu du faible nombre d'animaux en expérience, à une différence significative (Tableau I).

Observations : Le graphique 1 a été établi en portant en abscisse les moyennes par lots de pourcentages de variations du poids. Ces moyennes ont été calculées en éliminant :

- dans le lot témoin, la 223 abattue à la suite d'une fracture ;
- dans le lot aflatoxine, la 221 morte à la 4^e semaine à la suite d'une infection utérine.

Chez les veaux, au contraire, les graphiques (II et III) montrent un net retard de croissance chez les animaux appartenant au lot traité par rapport au lot témoin (Tableau II).

L'analyse des variances fait apparaître une différence significative au seuil de 5 p. 100.

Le calcul a été réalisé par établissement des droites de régression des poids de chaque veau et analyse de la variance des pentes des droites obtenues.

Il semble donc que l'administration d'aflatoxine à la vache laitière et la dose de 1,5 mg/jour, si elle ne se traduit pas par un effet notable sur le poids de la femelle adulte qui l'ingère, entraîne en revanche, un retard de croissance sur le jeune nourri à la mamelle.

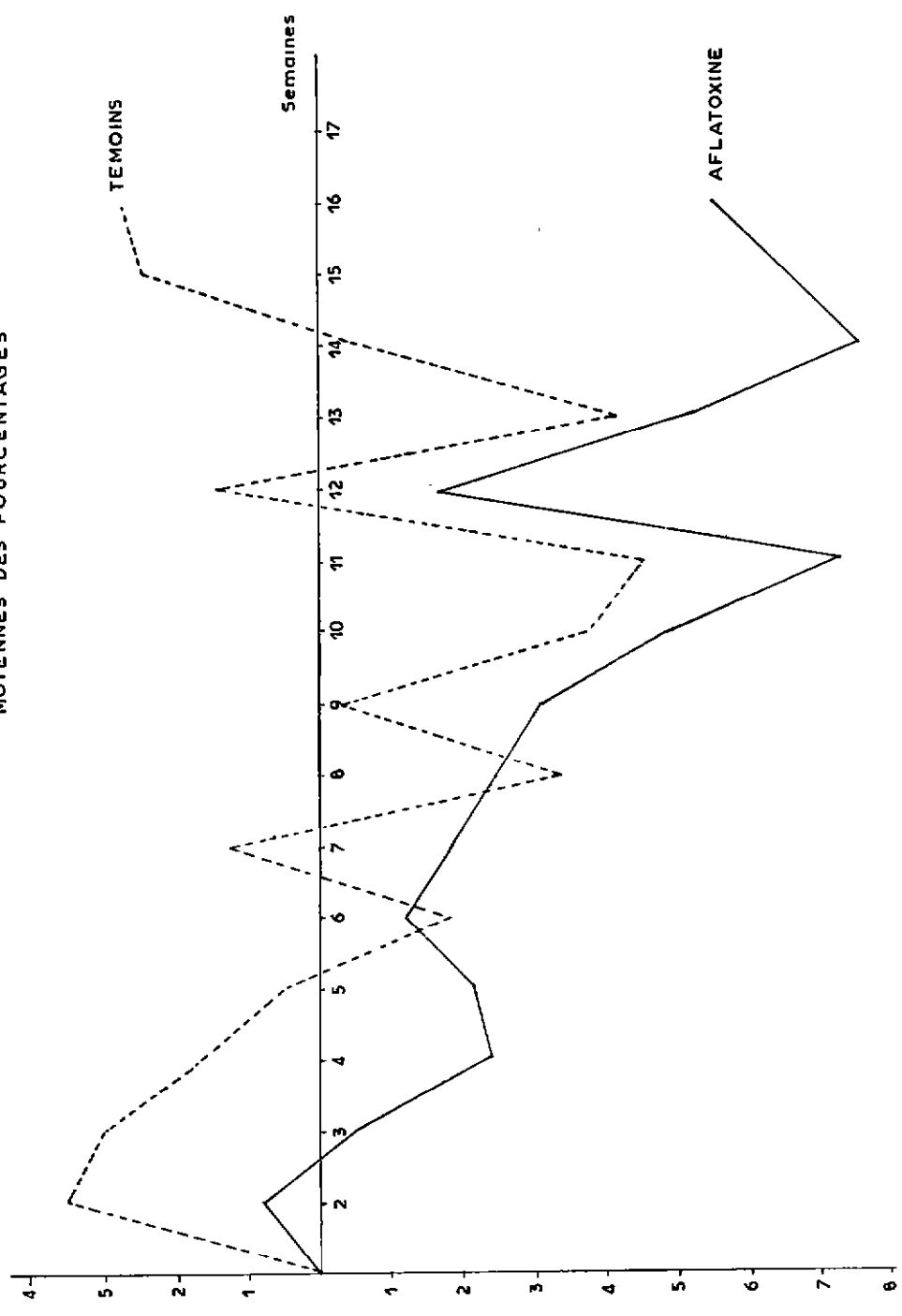
Il faut constater en outre qu'au cours de l'expérimentation, 3 veaux appartenant au lot traité sont morts, après avoir présenté des troubles digestifs et dans un délai compris entre 4 et 8 semaines.

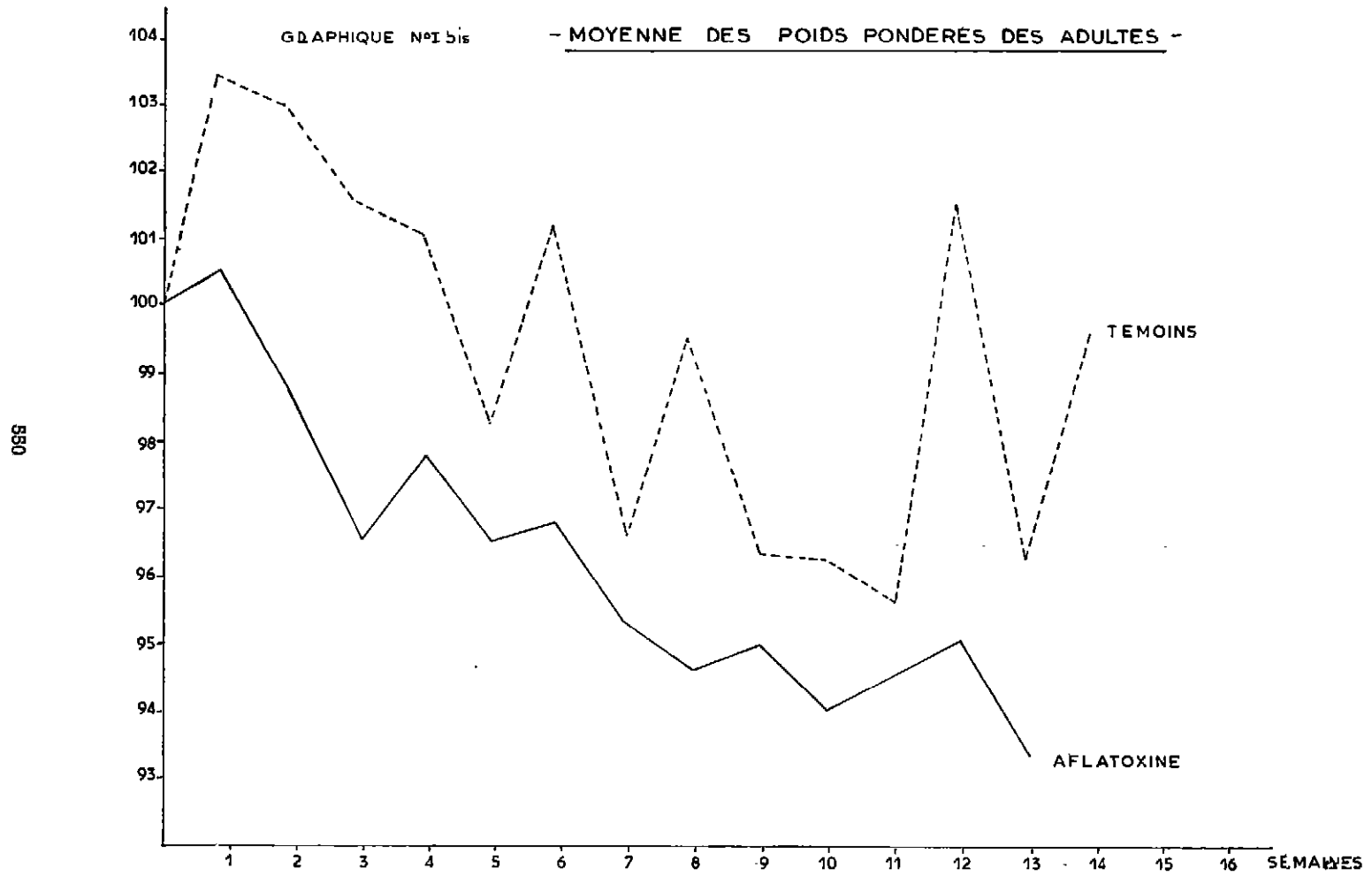
La perte de 3 veaux sur les 5 du lot en expérience, comparativement à l'absence de mortalité dans le lot témoin, ne constitue cependant

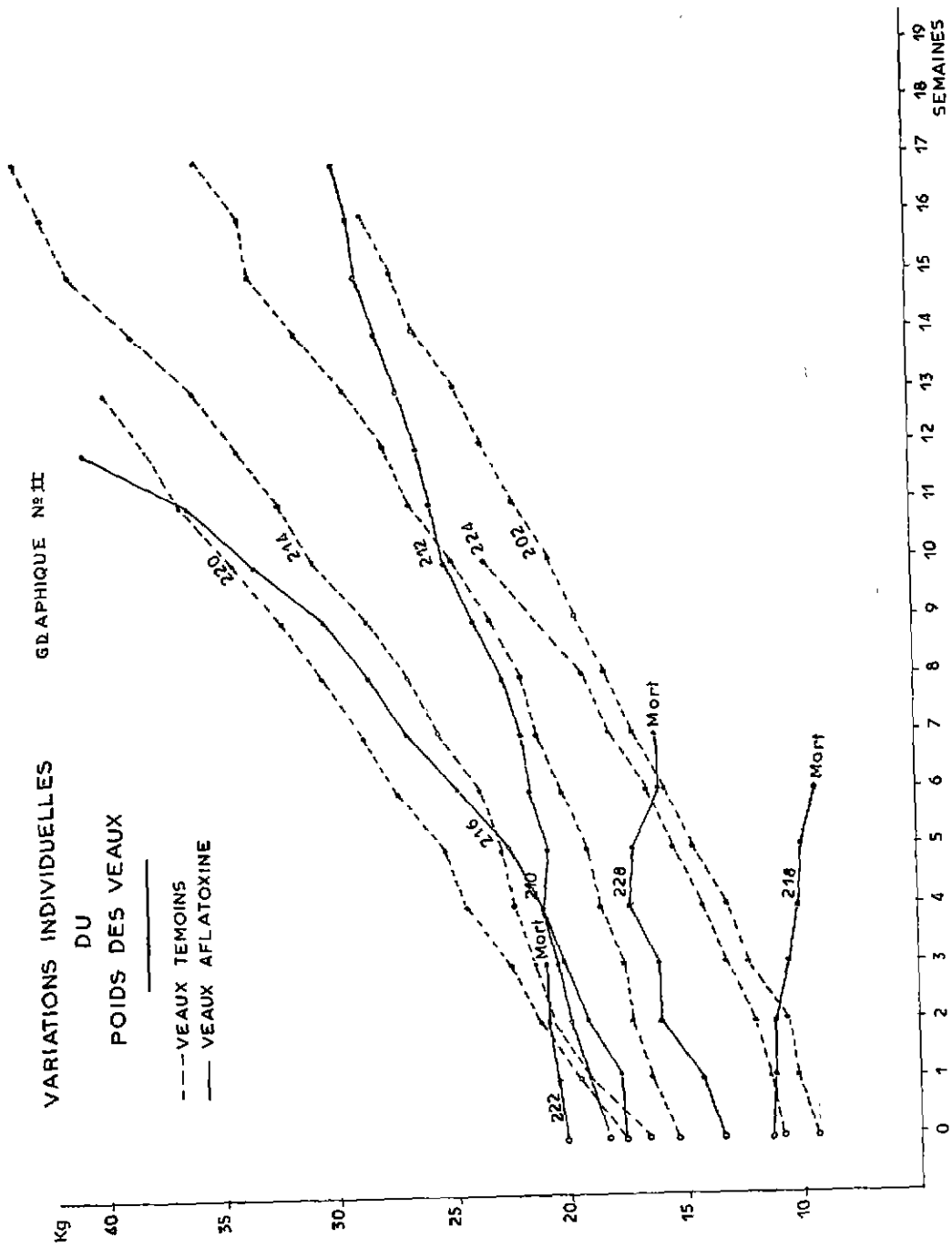
TABLEAU N°I

N° des animaux semaines	Lot témoin					Lot aflatoxine					
	207	211	213	219	223	209	215	217	221	227	205
1	235	175	211	217	169	170	196	155	233	215	214
2	250	190	214	212	157	175	202	155	217	212	211
3	249	180	219	216		177	197	148	212	214	201
4	240	180	220	211	150	172	197	134		205	200
5	241	175	215	212	171	166	201				200
6	237	175	208	205	160	170	211	134		206	197
7	240	176	213		160	172	209	140		194	203
8	238	163	213	197	morte	170	212	133		192	198
9	237	175	215	208		163	210	135			188
10	235	170	206	196		160	215	146		176	
11	233	166	199	203		169	220	151		173	183
12	243	178	209			156	228				186
13	235	165	207	200		151	226				173
14	239	171	216	208		155	215			185	178
15	247	179	216	217		159					
16	247	178	217	220		169					192

GRAPHIQUE N° 1
- VARIATIONS DES POIDS DES ADULTES -
MOYENNES DES POURCENTAGES



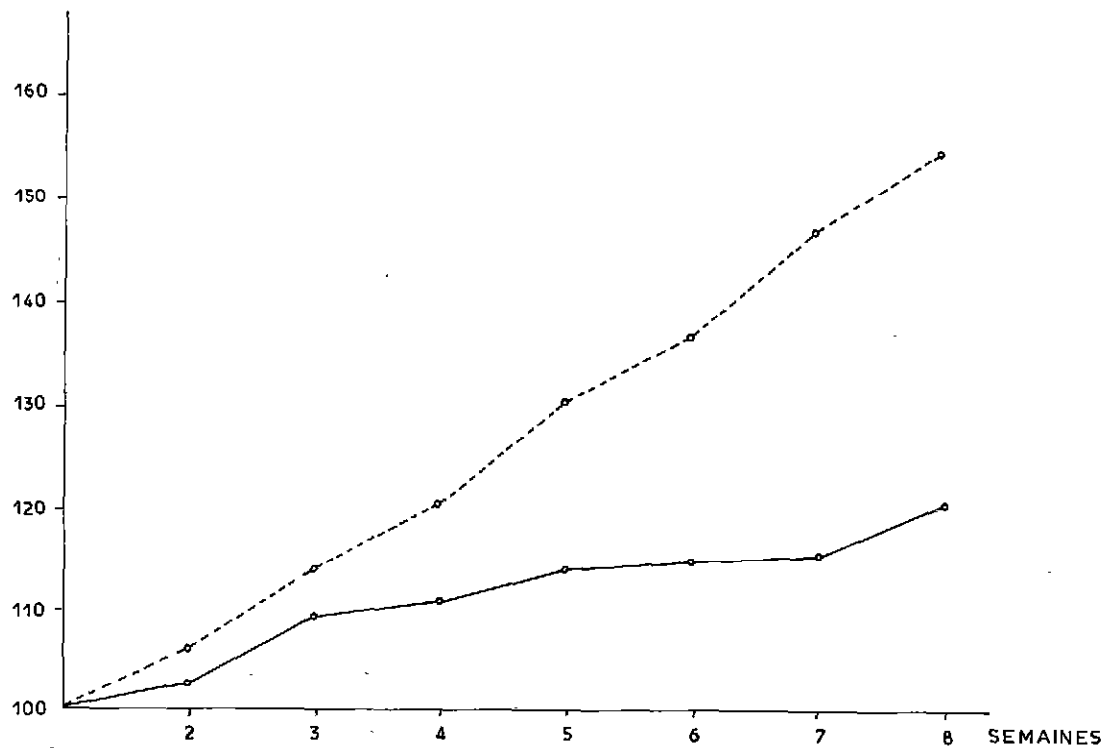




GRAPHIQUE N°III

- POIDS DES VEAUX -
VARIATIONS DES MOYENNES PONDEEES

----- VEAUX TEMOINS
—— VEAUX AFLATOXINE



562

TABLEAU N°II
Poids des jeunes

N° des animaux semaines	Lot témoin					Lot aflatoxine				
	202	212	214	220	224	210	216	218	222	228
1		15,2	16,8	17,7	11,0	18,6	17,5	11,1	20,3	13,6
2	9,7	16,6	19,3	19,6	11,1	19,3	17,8	11,1	20,8	14,4
3	10,2	17,4	20,8	21,2	12,0	20,2	19,6	11,1	21,1	16,3
4	10,8	17,7	21,5	22,6	13,4	20,6	20,4	10,7	21,0	16,3
5	12,4	18,9	22,4	24,5	14,3	21,3	21,0	10,1	mort	17,5
6	13,2	19,3	22,9	25,3	15,5	21,0	22,9	10,0		17,2
7	14,8	20,3	23,8	27,4	16,7	21,8	24,7	9,5		15,9
8	15,9	21,4	25,5	28,9	18,2	22,0	26,8	mort		16,5
9	17,2	22,0	26,9	30,6	19,3	22,8	28,3			16,5
10	18,1	23,3	28,6	32,1		24,0	30,2			mort
11	19,8	25	30,8	34,2	23,5	25,1	31,6			
12	20,7	26,7	32,2	36,6		25,8	33,1			
13	22,1	27,6	34,0	38,0		26,2	36,0			
14	23,5	29,3	35,9	39,6		27,0	37,5			
15	24,8	31,4	38,5			28,0	40,8			
16	26,6	33,0	41			28,8	43,6			
17	27,2	33,8	42,1			29,0				
18	28,9	35,2	43,3			29,7				

pas une donnée ayant une signification statistiquement valable.

Cet effet nocif de l'aflatoxine sur la croissance des veaux a été signalé par d'autres auteurs. Ruth ALLCROFT et Gwyneth LEVIS en particulier, observent un net retard de croissance accompagné de mortalité au bout de 10 à 12 semaines chez des veaux recevant un supplément à base de farines d'arachide très toxiques (5).

Discussions concernant ce résultat.

Quelles peuvent être les causes du retard de croissance observé chez les veaux dont les mères absorbent de fortes doses d'aflatoxine ?

On peut invoquer successivement :

- une baisse de la production laitière chez la vache traitée,
- une modification qualitative du lait,
- la présence du facteur toxique dans le lait absorbé par le jeune.

a-a) Production de lait (Tableau III).

La lactation a fait l'objet d'un contrôle portant sur 17 semaines pour 4 vaches du lot témoin et 2 du lot traité. Dans ce dernier lot, en effet, la mort du jeune a entraîné un tarissement rapide de la sécrétion lactée de 3 vaches.

Durant ce laps de temps et sur le petit nombre d'animaux restés en expérience, l'analyse de la variance des moyennes de poids de lait ne permet pas de conclure à une différence significative entre les deux lots.

Il convient de souligner que ces résultats ont été obtenus sur des vaches dont les capacités laitières sont normalement très faibles, le maximum de production journalière restant inférieur à 2 litres. Chez des femelles Ayrshire (5), par contre, des essais comparables effectués par Ruth ALLCROFT et Gwyneth LEWIS ont souligné une augmentation significative de la vitesse de chute de la production laitière chez des animaux recevant dans leur alimentation des farines d'arachide toxiques.

Quoi qu'il en soit, dans les conditions de l'expérience, il ne semble pas que le retard de croissance observé chez les veaux soit dû à une diminution de la production de lait chez les mères.

a-b) Qualité du lait.

Des analyses de lait ont été régulièrement effectuées, mais la grande variabilité des résultats obtenus, en particulier en ce qui concerne les matières grasses, n'a permis aucune interprétation. L'important problème de la vitamine A n'a pu davantage être abordé. ROPPER et CHAFFNER rapportent que lors de la maladie chronique du foie, la vitamine A peut complètement disparaître de cet organe. Ruth ALLCROFT et Gwyneth LEWIS (5) montrent que d'autre part, une des modifications les plus importantes survenant chez les jeunes veaux intoxiqués par des farines d'arachide toxiques est la diminution sensible de la teneur de leur foie en vitamine A.

TABLEAU N°III
Production laitière moyenne (en kg/jour)

semaines	Lot témoin					Lot aflatoxine					
	207	211	213	219	223	209	215	217	221	227	205
1	1,5	1,97	2,35	2,40	1,15	1,18	1,95	0,80	0,97	2,18	2,55
2	1,75	1,70	2,09	2,17	0,95	0,83	1,70	0,70	1,47	1,82	2,43
3	1,66	1,53	1,97	2,12	1,82	0,90	1,65	0,53	0,72	1,84	1,08
4	1,28	1,28	1,80	2,24	1,75	0,84	1,62	0,40		1,43	1,96
5	1,16	1,38	1,83	1,73	1,73	1,0	1,86	0,78		1,87	2,13
6	1,56	1,12	1,63	2,08	1,55	1,12	1,83	0,55		1,63	2,14
7	1,48	1,26	1,76	1,68	1,97	1,55	2,08			1,72	1,90
8	1,28	1,18	1,65	1,76	1,73	1,10	1,67				2,74
9	1,20	1,12	1,85	1,70	1,53	1,23	1,76				2,33
10	1,35	1,10	1,76	1,92	abattu	0,86	1,68				2,02
11	1,22	0,96	1,66	2,18		0,78	1,58				1,44
12	1,25	1,05	1,85	1,77		0,78	1,72				
13	1,21	1,53	2,0	1,68		0,83	1,98				
14	1,30	1,71	2,02	1,78		0,83	1,86				
15	1,25	1,27	1,93	2,18		0,88	2,08				
16	1,02	1,52	1,77	2,02		0,90	1,94				
17	1,55	1,52	1,50	1,88		0,66					
18	1,38			1,95		0,66					
Total	24,40	23,20	31,42	35,24	14,18	16,93	28,96	3,76		12,49	22,72
moyenne	1,38	1,36	1,85	1,96	1,58	0,94	1,81	0,63		1,78	2,15

Malgré le manque de preuves dans ce domaine, il est cependant possible d'envisager l'hypothèse d'une modification qualitative du lait en particulier, dans sa teneur en vitamine A, après ingestion d'aflatoxine. Les modifications au niveau de la peau et des phanères survenues chez les veaux traités pourraient suggérer l'intervention d'une carence de ce facteur.

a-c) Aflatoxine dans le lait.

Le dosage de l'aflatoxine dans le lait a donné les résultats suivants (Tableau IV) :

TABLEAU N°IV

Vache	J + 15	+30	+45	+60	+75	+90
209	0,20mg/l	0,20	0,30	0,30	0,20	0,30
215	0	0,08	0	0	0,08	0,08
217mort	0,20mg/l	0,30	0,30			
221mort	0,30mg/l	0,3				
227mort	0,20mg/l	0,20	0,26	0,20	0,24	
205	0,15	0,12	0	0,12	0,15	

Il convient de souligner :

— les différences individuelles importantes du taux d'aflatoxine dans le lait alors que les vaches absorbent la même dose de toxique ;

— la mortalité en cours d'expérience des 3 veaux nourris par les mères dont le lait contenait le taux d'aflatoxine le plus élevé (entre 0,20 et 0,30 mg/l) ;

— le cas de la vache 215 dont le lait, au cours des dosages, ne révélait que des traces d'aflatoxine. Or, il se trouve que son veau (n° 216) est celui qui, dans le lot des animaux traités, a présenté la meilleure croissance.

Il semble donc qu'on puisse établir une corrélation nette entre la teneur du lait en aflatoxine et la vitesse de croissance des animaux qui l'absorbent. Le facteur toxique contenu dans le lait paraît responsable en grande partie du retard de croissance des animaux traités par rapport aux témoins.

b) Tests biochimiques.

Les résultats des hémocrites, des numérations globulaires, des taux de protéines totales, du test de Mac Lagan ne font pas apparaître de différence significative entre les deux lots.

Les graphiques montrant les variations des transaminases T. G. O. et des lipides totaux offrent un plus grand intérêt.

TABLEAU N° V A

Adultes

Lot témoin										Lot aflatoxine											
207		211		213		219		223		209		215		217		221		227		205	
TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP
35	20	35	20	40	20	18	20	35	20	40	20	40	20	30	20	40	20	40	20	40	20
														Aflatoxine							
														50	20						
										140	20	150	20	80	20	150	20	135	20	120	29
										40	20	81,5	25	68	20	215	20	50	20	80	20
										30	20	36	20	135	20			25	20	37	20
										142	20	81	20	75	20			129	20	135	27
										81,5	20	95	20	36	20			68,5	20	62	20
										36	20	120	20	68	20			45	20	62	20
										68	20	115	20					68	20	68	20

TABLEAU N° V B

Jeunes

Lot témoin										Lot aflatoxine											
202		212		214		220		224		210		216		218		222		228		206	
TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP
30	20	4	20	18	20	11	20	7	20	22	20	16	20	33	20	33	20	11	20	40	20
										22	20	45	20	-	-	mort		-	-	15	20
										95	20	180	40	190	20			88	20	95	20
										22	20	215	55	mort				mort		62	20
										45	20	215	60							68,5	20
										50	20	95	30							68	20
										41	20	108	32							68	20
										62	20	100	22								
												95	20								

b-a) *Transaminases* (Tableaux V A et V B, graphiques IV, V, VI et VII).

Deux augmentations très sensibles apparaissent dans le taux des transaminases sériques T. G. O. Elles sont parallèles chez les adultes et chez les jeunes. Les pics se situent, l'un dans la première quinzaine, l'autre vers le 2^e mois. En fin d'expérience, le taux des transaminases reste plus élevé chez les animaux traités que chez les témoins.

Ces deux augmentations des T. G. O. laissent supposer une atteinte précoce de la cellule hépatique. Dans un premier temps, les désordres pourraient être d'ordre fonctionnel et seraient suivis, par exemple, lors de l'élévation progressive, de troubles définitifs.

b-b) *Lipides totaux* (Tableaux VI A et VI B, graphiques VIII et IX).

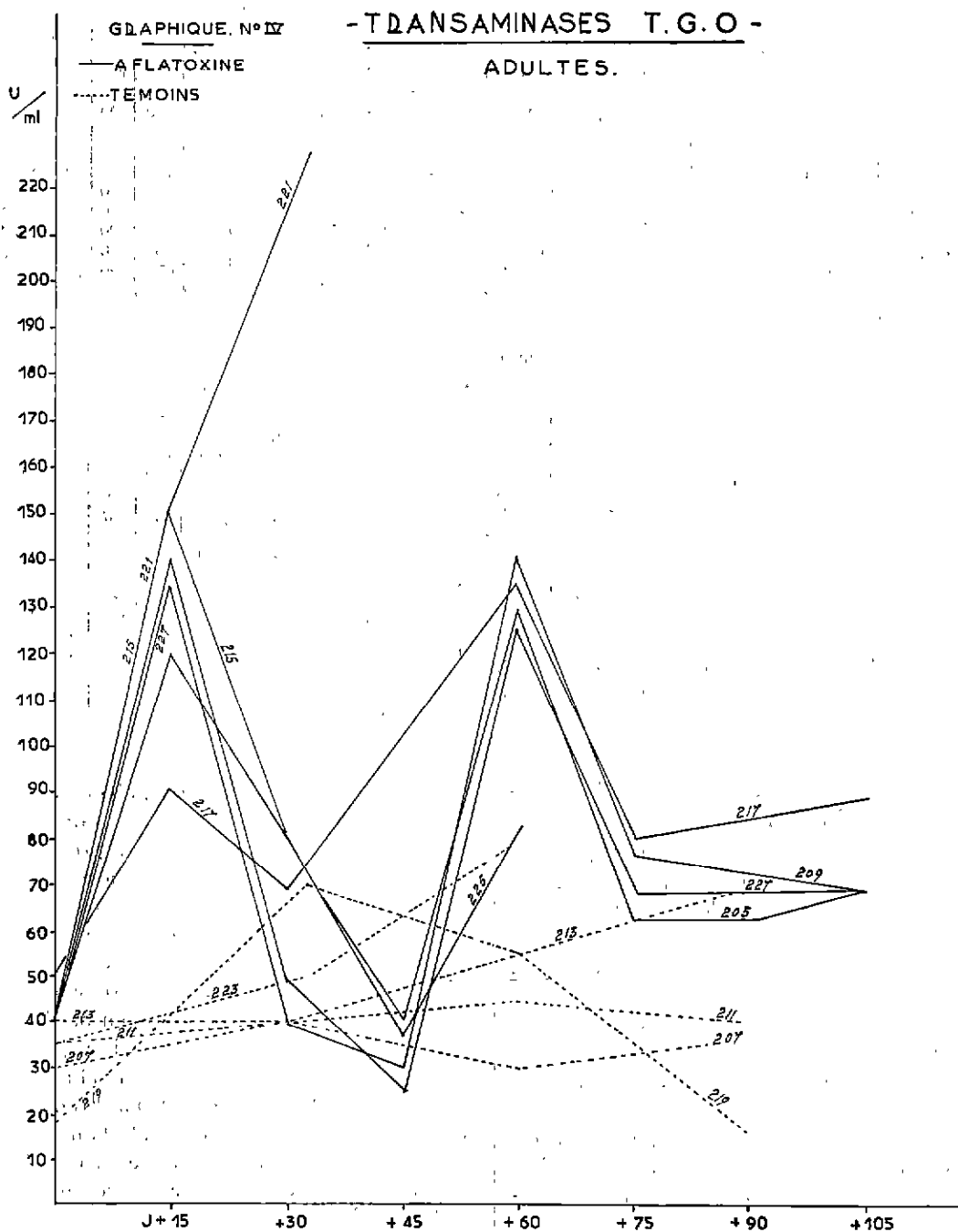
L'administration d'aflatoxine produit chez les

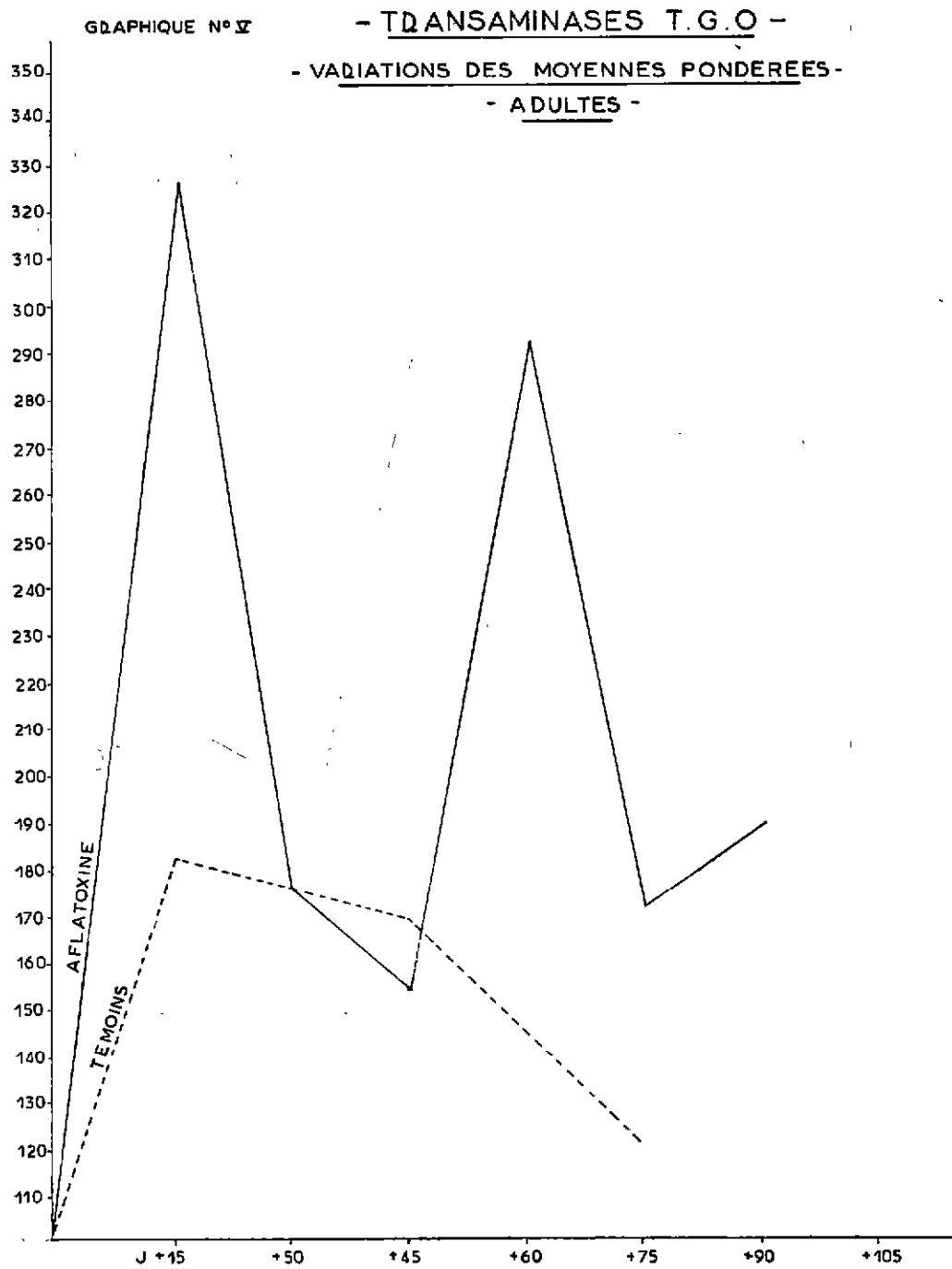
vaches adultes une diminution précoce du taux des lipides sanguins, compensée rapidement par la suite, par une augmentation progressive. Les animaux traités présentent alors un taux sensiblement plus élevé que les témoins.

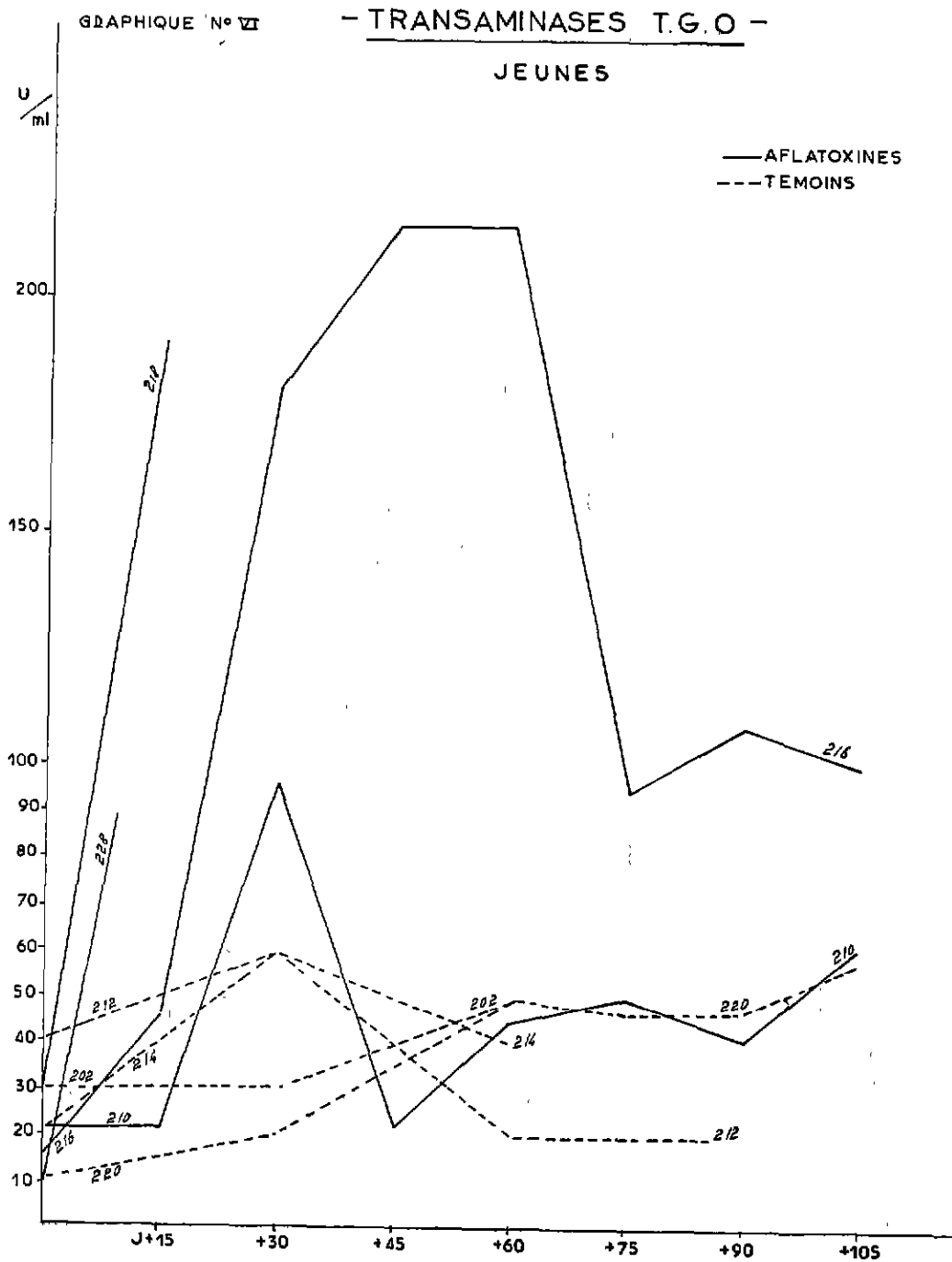
Chez les veaux, témoins et traités; on note une augmentation importante du taux des lipides sanguins au cours du premier mois.

Ces variations de la lipémie et en particulier, la chute observée dans les premiers jours de l'expérience, sont d'interprétation difficile. On sait que l'hyperlipémie se rencontre, en médecine humaine, dans certaines affections hépatiques (ictères par rétention ou néoplasique) et dans certaines intoxications par le phosphore ou le benzène.

Il est donc logique de rapporter l'augmentation du taux des lipides observée dans la seconde partie de l'expérience à une atteinte hépatique chez les vaches traitées.







- TRANSAMINASES T.G.O -

GRAPHIQUE N° VII

VARIATIONS DES MOYENNES PONDEREES
JEUNES

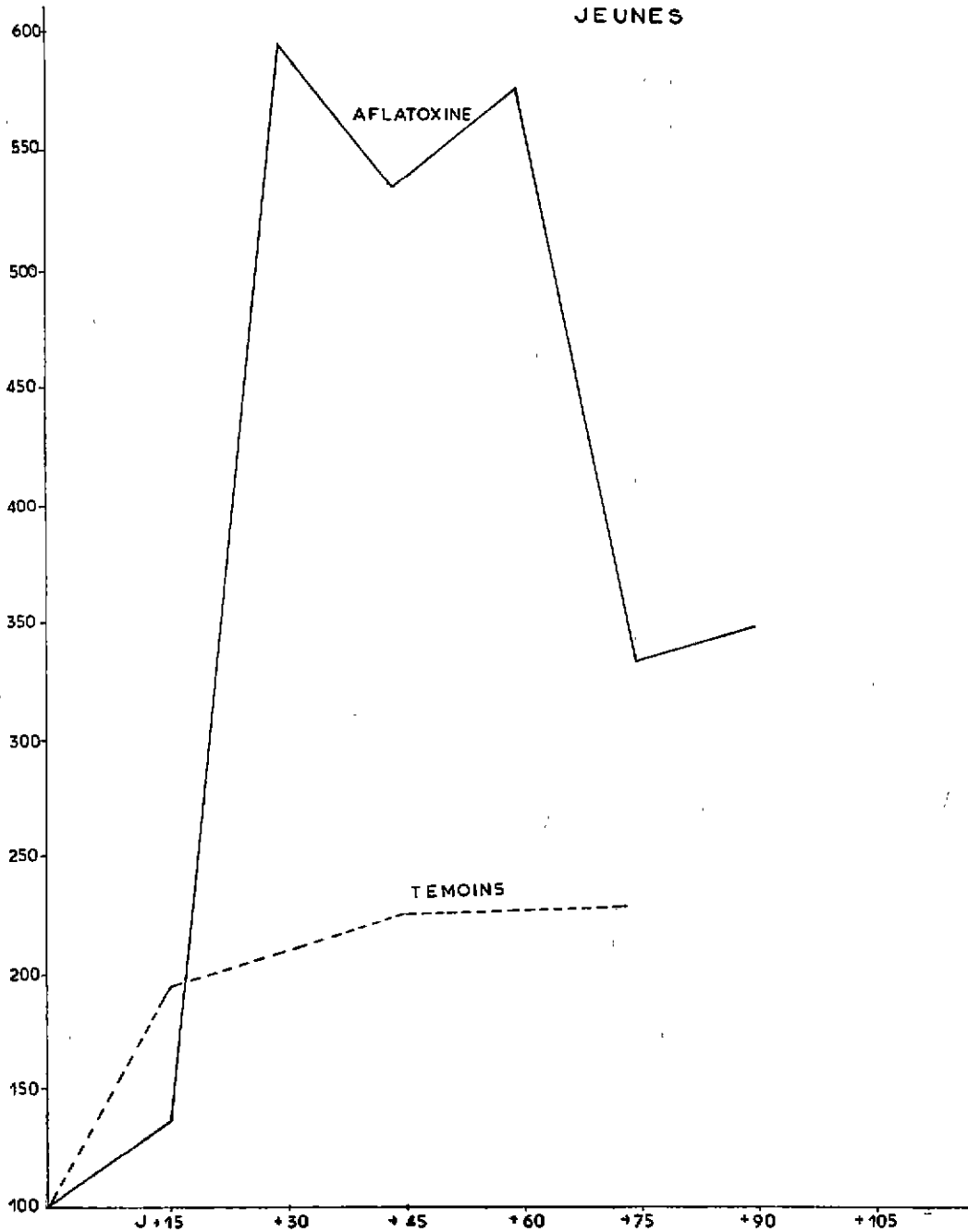


TABLEAU N°VI A

Adultes

Lot témoin					Lot aflatoxine					
207	211	213	219	223	209	215	217	221	227	205
4,5	3,4	2,1	3,0	2,7	3,5	2,05 2,20	3,35 3,30	5,8	2,4	4,5
3,9	3,5	2,7	2,9 3,0	2,9	1,3 2,2	2,90 5,10	1,95 2,90	1,0 0,65	1,2 1,8	2,5 2,4
3,6	4,0	3,1	3,5	3,0	3,7	5,5	5,20		2,8	4,3
4,5	4,6	4,0	5,4		4,7	6,75	5,50		3,9	5,6
	4,2		4,7		4,8	7,0	5,0			6,1
	4,2				5,0	6,75	4,20		5,1	5,8
					4,1	6,50			4,8	4,2
					3,9	6,70			4,2	3,6
					4,3	6,7				3,7
					4,2	7,6				4,4

TABLEAU N°VI B

Jeunes

Lot témoin					Lot aflatoxine					
202	212	214	220	224	210	216	218	222	228	206
3,3	4,35	6,6	2,75	5,05	5,10	3,75	5,15	3,15	4,15	4,65
7,0	7,45	8,65	5,25	5,0	6,35	7,45	5,60	mort	mort	5,2
					7,3	8,3	mort			8,2
					7,0	8,3				5,0
	7,25		6,80		8,6	7,5				6,0
	6,75		6,85		8,3	5,2				6,1
	7,75		7,20		6,25	5,2				4,0
	6,95		7,50		6,0	6,7				3,95
					6,65	7,6				3,50
					5,65					

b-c) Résultats des analyses d'urine.

Albumine.

Les recherches d'albumine sur les urines des animaux témoins ou traités sont restées négatives tout au long de l'expérience. Exception faite pour la vache 205 qui a présenté de l'albumine trois semaines après le début du drogage. Le taux est allé en augmentant jusqu'à la fin de l'expérimentation.

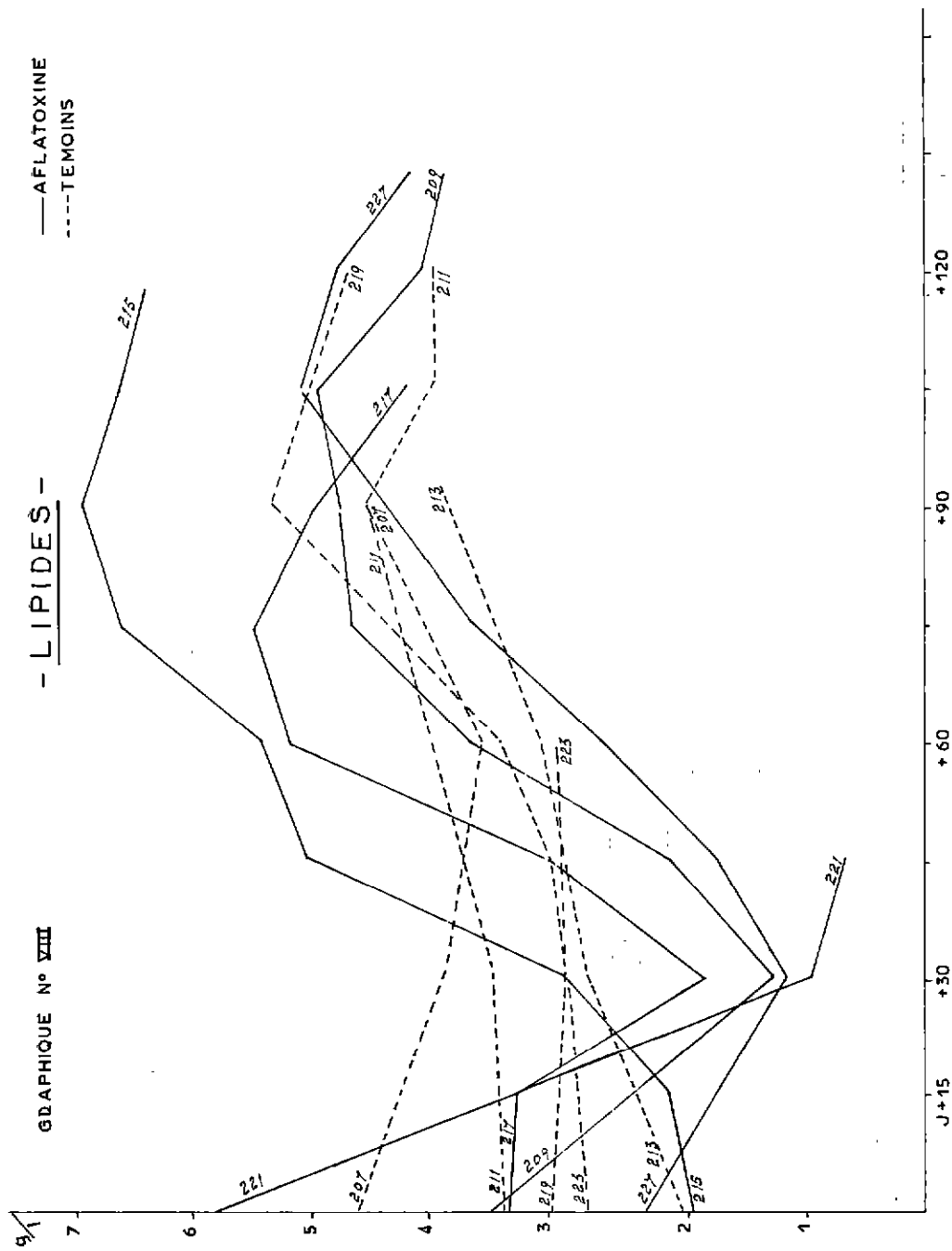
Urée urinaire (Tableau VII).

Il apparaît nettement que le taux d'urée urinaire diminue sensiblement chez les animaux traités.

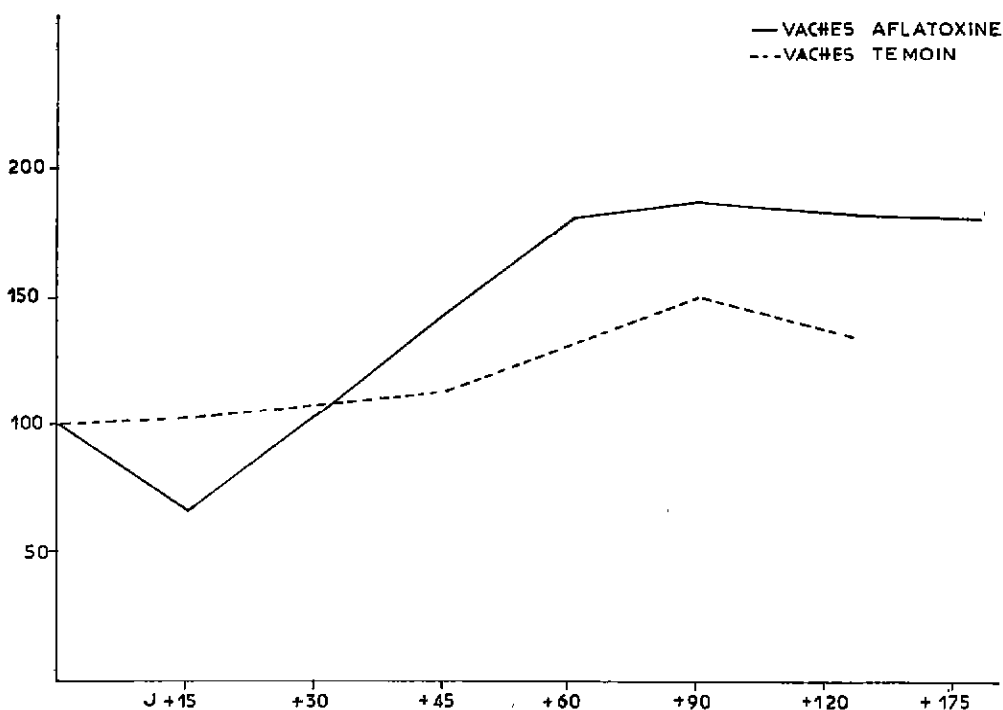
Ce phénomène peut être rapporté soit à une déficience de la fonction urogénétique du foie, soit à une élimination moindre de l'urée sanguine au niveau des reins.

TABLEAU N°VII

Lot témoin					Lot aflatoxine					
207	211	213	219	223	205	209	215	217	221	227
27	27	26,5	29	21,5	25	30	28	30	20,5	26
26	25	25,5	27	22	22	25	29	27	20	24
					12	10		15	22	20
14	22	22	13	18	10	9	17	10	mort	12
					7	7	9	7,5		7
					6	7	10	8		13
					7	8	2	8		10
						3				



GRAPHIQUE N° IX

- LIPIDES -- VARIATIONS DES MOYENNES PONDEREES -c) *Remarques sur l'état général des animaux.*

Les différences, portant sur l'aspect général des animaux traités et des témoins, ont été peu sensibles pendant les premières semaines de l'expérience. Mais en fin d'expérience, les vaches ayant absorbé de l'aflatoxine se signalent par un mauvais aspect général et par un manque de lustre de la robe dont le poil est hérissé et piqué sur le dessus.

Les anomalies dans l'aspect de la peau et des phanères sont particulièrement nettes chez les jeunes. Les deux survivants dans le lot traité présentent en outre une papillomatose cutanée étendue qui n'est pas observée chez les témoins.

d) *Anatomie pathologique.*

Les lésions anatomo-pathologiques rencontrées chez les vaches adultes sacrifiées et autopsiées en fin d'expérience sont très discrètes.

Seule la vache 205 qui a émis pendant longtemps des urines albumineuses révèle des lésions rénales et viscérales. Les reins présentent un aspect dégénéré, couleur feuille morte, avec des suffusions sanguines en surface. On note, en outre, de petites formations kystiques en saillie sous la capsule.

La vessie présente tous les signes d'une cystite aiguë avec épaissement de la paroi.

Les analyses histologiques effectuées sur les foies de ces animaux ne révèlent rien de particulier.

Sur un des veaux autopsiés, des lésions hépatiques caractéristiques sont apparues. L'analyse histologique a révélé une dégénérescence des cellules hépatiques de certaines parties de l'organe ainsi qu'une dégénérescence de la partie corticale du rein. L'analyse histologique a montré une néphrite épithéliale aiguë. Dans un autre cas, de légères ulcérations ont été rencontrées au niveau de la caillette.

e) Recherche de l'aflatoxine dans la viande et les viscères des animaux.

Les recherches ont porté sur la carcasse et les viscères de 2 vaches et 2 veaux provenant du lot traité.

200 grammes de viande ou de viscères (foie et rein) sont broyés puis triturés avec du sulfate d'ammonium jusqu'à consistance pulvérulente.

Le produit obtenu est mis à macérer 48 h avec 250 cm³ de méthanol en agitant fréquemment. Le résidu est exprimé au travers d'une gaze et le liquide d'expression filtré sur papier filtre.

L'extrait méthanol est repris par du chloroforme selon la technique classique et la phase chloroformique obtenue concentrée à 20 cm³ est chromatographiée sur couche mince Kieselgel G.

La toxicité des extraits de viscères et de viande a également été contrôlée par le test sur œuf embryonné.

Les extraits chloroformiques utilisés pour le dosage physico-chimique sont évaporés et repris par du propylène-glycol de façon à avoir des solutions titrant :

- 0,050 γ d'aflatoxine par 0,04 ml de solution pour l'extrait viscère,
- 0,025 γ d'aflatoxine par 0,04 ml de solution pour l'extrait viande.

On compare avec des extraits identiques d'animaux n'ayant pas reçu d'aflatoxine.

Pour les adultes, dans un cas, les recherches d'aflatoxine effectuées sur les viscères et la viande ont été positives au taux suivant :

$$\begin{aligned} \text{viscères} &= 30 \mu\text{g/kg} \\ \text{viande} &= 8 \mu\text{g/kg}. \end{aligned}$$

Dans l'autre cas, seuls les viscères contenaient le facteur toxique. Dans le foie, la teneur était de 20 μg/kg, dans le rein de 7 μg/kg.

Chez les veaux, les recherches dans les viscères et la viande sont demeurées négatives.

CONCLUSION

Pour éviter toute tendance aux généralisations hâtives, une remarque préalable s'impose. Il convient, en effet, de souligner que les résultats obtenus sont valables seulement dans le cadre

du protocole exécuté. Or, cette expérimentation se caractérise :

1^o Par l'administration d'une dose volontairement forte d'aflatoxine, 1,5 mg par jour et par animal, dose qui équivaut à l'administration dans des conditions normales d'élevage de 500 g de tourteaux à 3 p. p. m. (taux très élevé pour des tourteaux commerciaux). De plus au Sénégal le taux de contamination des tourteaux toxiques le plus couramment rencontré étant de 0,2 à 0,3 p. p. m., cela équivaudrait à donner 5 kg de tourteaux par jour et par animal, ce qui s'écarte donc des conditions usuelles de l'élevage.

2^o Par l'administration de l'aflatoxine sous forme d'un concentré toxique pris en une seule fois, non mélangé au reste de l'alimentation, ce qui aurait pu en atténuer l'effet.

Compte tenu de cette remarque, on peut dire que, d'une façon générale, les adultes ont assez bien résisté à cette intoxication. Les seules réactions produites ont été mises à jour par certains tests biochimiques ; en particulier, les dosages portant sur les transaminases T. G. O. et le taux des lipides semblent mettre en évidence une atteinte suivie très rapidement d'une période d'adaptation.

A ce stade, apparaît déjà l'importance des réactions individuelles vis-à-vis du toxique. Certains animaux paraissent dotés d'une certaine capacité à détoxifier l'aflatoxine. La vache 215 semble une illustration de cette hypothèse. Elle a en effet, maintenu son poids tout au long de l'expérience. L'aflatoxine a été retrouvée dans son lait irrégulièrement ou à l'état de trace. Le veau qu'elle a nourri a eu une courbe de croissance normale.

Au contraire, chez le jeune, les répercussions paraissent plus sensibles. Un retard de croissance significatif a été observé chez les veaux dont les mères absorbaient la forte dose de 1,5 mg de toxique. Cette déficience et les mortalités observées paraissent dues essentiellement à la présence de l'aflatoxine dans le lait qui était leur seule nourriture.

Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux — Maisons-Alfort

Laboratoire national de l'Elevage et de Recherches vétérinaires — Dakar-Hann

SUMMARY

Foreword on the experimental effects of aflatoxin in tropical cattle. Effects of the aflatoxin on the dairy cow and the sucking calf

This first experimentation has been carried out in the framework of a long term project on the effects of aflatoxin in cattle from tropical countries. Its object is to research the disorders which can arise in the milk cow and its calf, when the cow is given an experimental willingly strong dose of 1,5 mg/day aflatoxin.

When the adults seemed to be more resistant to the intoxication, the calves were more susceptible and showed a significantly lower growth rate.

The disorders which occurred in the sucking calves seemed to be related to the presence of aflatoxin in the blood.

RESUMEN

Nota preliminar sobre los efectos experimentales de la aflatoxina en los bovinos de las regiones tropicales. Acción de la aflatoxina en la vaca lechera y en el ternero de pecho

Esta primera experimentación hace parte de un programa de mucho empeño y trabajo sobre la acción de la aflatoxina en los bovinos de las regiones tropicales.

Tiene por objeto demostrar los desordenes que podrían ocurrir en la vaca en lactación y en su ternero al recibir una dosis experimental voluntariamente elevada de 1,5 mg de aflatoxina por día.

Los adultos parecen resistir a la intoxicación pero el joven es más sensible y su crecimiento significativamente es más tarde. Los desordenes observados en los terneros de pecho parecen ligados con la presencia de aflatoxina en la leche.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALLCROFT (R.) et CARNAGHAN (R. B. A.). — Toxicité des arachides. Recherche de la toxine dans les productions animales utilisées dans l'alimentation humaine et provenant d'animaux nourris avec des farines toxiques (Groundnut toxicity. An examination for toxin in human food products from animals fed toxic groundnuts meal). *Vet. Rec.*, 1963, **75** (19) : 259-265.
2. ALLCROFT (R.) et CARNAGHAN (R. B. A.). — Produits toxiques dans les arachides. Effets biologiques (Toxic products in groundnuts. Biological effects). *Chemistry and Industry*, 1963, **2** : 50-53.
3. ALLCROFT (R.) et CARNAGHAN (R. B. A.). — Toxicité de l'arachide. Toxine de l'*Aspergillus flavus* (aflatoxine) dans les produits animaux. Communication préliminaire. (Groundnut toxicity. *Aspergillus flavus* toxin (aflatoxin) in animal products : preliminary communication). *Vet. Rec.*, 1962, **74** (31) : 863-864.
4. ALLCROFT (R.), CARNAGHAN (R. B. A.), SARGEANT (K.) et O'KELLY (J.). — Un facteur toxique dans les farines d'arachides en provenance du Brésil (A toxic factor in Brazilian groundnut meal). *Vet. Rec.*, 1961, **73** (17) : 428-429.
5. ALLCROFT (R.) et LEWIS (G.). — Toxicité de l'arachide sur le bétail. Empoisonnement expérimental des veaux et rapport sur les effets cliniques des bovins adultes (Groundnut toxicity in cattle : Experimental poisoning of calves and a report on clinical effects in older cattle). *Vet. Rec.*, 1963, **75** (19) : 487-493.

6. ALLCROFT (R.) et LEWIS (G.). — Intoxications par l'aflatoxine chez l'animal dues à la présence d'une mycotoxine dans certains lots d'arachides (Aflatoxinosis in animals caused by a mycotoxin present in some batches peanuts *Arachis hypogea*). *Bioch. J.*, 1963, 88 (3) : 58 p.
7. IONGH (H. de), VLES (R. O.) et VAN PELT (J. G.). — Lait de mammifères nourris avec des rations contenant de l'aflatoxine (Milk of mammals fed an aflatoxin containing diet). *Nature*, 1964, 202 : 466-467.
8. THEODOSSIADES (G.). — Utilisation des canetons pour tester la toxicité des tourteaux d'arachide (Use of ducklings for the detection of toxicity of groundnut cake). *Rev. Elev. Méd. vét. Pays Trop.*, 1963, 16 (2) : 229-236.
9. TROPICAL PRODUCTS INSTITUTE. — Une méthode de détection de l'aflatoxine dans les arachides et les dérivés d'arachides (A method for the detection of aflatoxin in groundnuts and groundnuts products). T. P. I., report n° 30-62.
10. VERRETT (M. J.), MARLAC (J. P.) et LAUGHLIN (Mc J. Jr.). — Emploi d'embryon de poulet pour tester la toxicité de l'aflatoxine (Use of the chicken embryo in the assay of a aflatoxin toxicity). *J. Ass. off. agric. Chem., Wash.*, 1964, 47 (6) : 1003-1006.

Note sur la présence d'aflatoxine dans les fanes d'arachides

par R. BOUDERGUES, H. CALVET, E. DISCACCIATI et Mme M. CLICHE

RÉSUMÉ

Les fanes d'arachide constituent en pays arachidien et spécialement au Sénégal un aliment apprécié par les diverses espèces animales. Des recherches effectuées sur ce fourrage au Laboratoire National de l'Élevage et de Recherches Vétérinaires de Dakar, ont révélé la présence d'aflatoxine de toxicité comparable à celle trouvée dans la graine et les tourteaux d'arachide.

Les bovins d'expérience entretenus au Laboratoire national de l'Élevage et de Recherches vétérinaires de Dakar reçoivent traditionnellement comme nourriture de base, un fourrage constitué de fanes d'arachide. Ce même aliment entre dans le rationnement des animaux de laboratoire, lapins, cobayes élevés à la ferme annexe de Sangalkam.

Durant les années 1964-1965, la mortalité survenue sur des zébus et des taurins ndama, à la suite de troubles mal définis, suscite l'intérêt des diverses sections du Laboratoire. Les recherches de bactériologie, virologie, parasitologie, entreprises ne peuvent en élucider la cause.

Durant la même période, l'élevage de cobayes de Sangalkam est décimé par plusieurs enzooties meurtrières dont l'origine demeure également indéterminée.

La répétition de ces accidents et les lésions anatomo-pathologiques rencontrées font alors envisager l'existence possible d'un facteur toxique dans l'aliment distribué. Étant donné la nature de cet aliment, la fane d'arachide, l'étude s'oriente vers la recherche de l'aflatoxine.

Il convient de signaler que STARON et Collab. I. N. R. A., Path. vég. Versailles (5) ont isolé *Aspergillus ochraceus* à partir d'un foin stocké dans de mauvaises conditions et ayant provoqué la mort de trois génisses.

Les résultats de ces travaux préliminaires font l'objet de cette note et intéressent les points suivants :

— Extraction et dosage de l'aflatoxine sur :

- un échantillon moyen de paille,
- des échantillons de feuilles,
- des échantillons de tiges,
- des échantillons de coques.

— Contrôle de toxicité des extraits sur :

- caneton,
- œuf embryonné.

— Essais de culture de l'*Aspergillus* isolé de la paille.

I. — EXTRACTION ET DOSAGE PHYSICO-CHIMIQUE

Le dosage de l'aflatoxine est effectué selon la méthode préconisée par The Tropical Product Institute (2).

Les fanes d'arachide utilisées sont prélevées sur une livraison arrivant au Laboratoire pour être entreposée dans les greniers. Les feuilles, tiges, racines et coques de la plante *Arachis hypogea* sont broyées séparément au broyeur Gondard, ainsi qu'un échantillon moyen de paille totale.

50 g de broyat sont délipidés pendant 6 h en soxhlet par de l'éther de pétrole.

Le résidu desséché est traité durant 4 h par du méthanol, également en soxhlet.

L'extrait méthanolique, concentré à 50 ml, est agité avec 25 ml d'eau et 25 ml de chloro-

forme. La phase chloroformique est décantée et on extrait trois fois la phase méthanol par 25 ml de chloroforme.

Les phases chloroformiques sont réunies et amenées à un volume de 100 ml.

Chromatographie.

Les extraits sont chromatographiés sur Kieselgel G en même temps que des solutions témoins.

Solution témoin n° 1 (T₁).

Aflatoxine B en solution chloroformique,
1 microlitre = 0,000 1 γ d'aflatoxine.

Solution témoin n° 2 (T₂).

5 microlitres de T₂ contiennent 0,0003 γ
d'aflatoxine B et 0,0003 γ d'aflatoxine G.

La solution T₂ est la dilution au 1/200^e de la solution obtenue en dissolvant dans 200 ml de chloroforme, 5,6 mg d'un mélange d'aflatoxine B et G (dosé par spectrophotométrie au T. P. I. Londres et contenant 44 p. 100 de B et 44 p. 100 de G).

Résultats qualitatifs.

On trouve en lumière U. V. deux taches fluorescentes :

- une bleu de Rf = 0,56,
- une vert jaune de Rf = 0,40.

Les pigments végétaux (chlorophylle, etc...) donnent des traînées et des spots rouges en U. V. et jaunes verdâtres en visible. En effectuant une première chromatographie avec du chloroforme, ces traînées peuvent être pratiquement éliminées et amenées à migrer avec le front du solvant.

Résultats quantitatifs.

	Aflatoxines	
	B	G
Echantillon moyen de paille	3 p. p. m.	6 p. p. m.
— — feuille	3	18
— — tige	0,6	0,9
— — coque	3	3

Notons la forte proportion d'aflatoxine G dans la paille et principalement dans les feuilles.

II. — CONTRÔLE DE TOXICITÉ DES EXTRAITS DE L'ÉCHANTILLON MOYEN

A. — Sur caneton

Préparation de l'extrait glucosé.

L'extrait chloroformique de la paille est mélangé à du glucose et évaporé à 60 °C en agitant jusqu'à obtention d'un produit pulvérulent. Ce granulé sec est mis en suspension dans la quantité nécessaire d'eau distillée pour obtenir par dose :

— Glucose	2 g
— Aflatoxine	80 γ
— Eau	5 ml

L'extrait chloroformique (P) contient :

- 6 γ d'aflatoxine B par ml,
- 12 γ d'aflatoxine G par ml.

La toxicité de l'aflatoxine G étant 3 fois moindre que celle de B, 8 ml de l'extrait P ont été utilisés par dose caneton.

La D. L. 50 sur les canetons de 3 jours utilisés au Laboratoire National de l'Élevage à Dakar, se situe en effet aux environs de 80 μ g/jour (résultat de plusieurs essais de toxicité effectués).

Résultats.

	Mort
1 lot témoin de 8 canetons recevant du glucose	1 (gavage)
1 lot traité de 8 canetons recevant du glucose + aflatoxine	6

B. — Sur œuf embryonné

Préparation de l'extrait injecté.

L'extrait chloroformique P est passé sur colonne d'alumine basique (*).

Une première élution par du chloroforme élimine la chlorophylle. Une deuxième élution par du méthanol-chloroforme puis du méthanol donne un extrait incolore P₁ contenant les aflatoxines B et G. Des dosages chromatographiques sur plaque Kieselgel G montrent que les afla-

(*) Prolabo.

toxines B et G se retrouvent dans l'extrait P₁ qui est dépourvu de chlorophylle.

Les extraits P₁ sont évaporés et repris par du propylène glycol de façon à obtenir des solutions contenant :

- 0,025 γ d'aflatoxine dans 0,04 ml,
- 0,050 γ d'aflatoxine dans 0,04 ml.

Une partie des extraits P subit le même traitement afin de contrôler si la chlorophylle est toxique ou a une action sur la toxicité des aflatoxines.

La technique de VERRET et Coll. (4) a été adoptée. On injecte les extraits à tester dans la poche à air des œufs.

Résultats.

		Clairs	Morts	Morts/ Eclos
Lot 1	12 œufs témoins	3	1	1/9
Lot 2	12 œufs témoins percés	5	1	1/7
Lot 3	12 œufs témoins propylène glycol	6	0	0/6
Lot 4	12 œufs témoins chlorophylle	6	1	1/6
Lot 5	12 œufs témoins 0,025 γ d'a- flatoxine B ₁	6	3	3/6
Lot 6	12 œufs témoins 0,050 γ d'a- flatoxine B ₁	5	7	7/7
Lot 7	12 œufs extrait paille P ₁ à 0,025 γ	5	4	4/7
Lot 8	12 œufs extrait paille P ₁ à 0,050 γ	3	8	8/9
Lot 9	12 œufs extrait total P à 0,050 γ	6	5	5/6

Les extraits paille P et P₁ ont une toxicité pour l'œuf embryonné identique aux solutions témoins d'aflatoxine B₁. La chlorophylle n'a aucune action.

III. — ESSAIS DE CULTURE-ISOLEMENT DE LA SOUCHE

Des échantillons de paille sont mis en boîte de Pétri, stérilisés à 110 °C pendant vingt minutes, humidifiés à 20 p. 100 en poids et étuvés à 30 °C ± 1 °C en atmosphère saturée d'eau pendant 10 jours. Il se développe un mycélium, blanchâtre les premiers jours, virant au vert dès le troisième jour ; quelques spores sont repiquées sur gélose inclinée de Brian et mises à l'étuve.

À partir de ces souches sur gélose, des arachides broyées sont ensemencées selon la technique décrite dans le rapport annuel du Laboratoire national de l'Élevage de Dakar, année 1964.

Le dosage physico-chimique des tourteaux d'arachide obtenus, a donné un taux d'aflatoxine B₁ de 150 p. p. m. et d'aflatoxine G₁ de 130 p. p. m.

Un deuxième passage sur arachides broyées est effectué à partir de la culture précédente. Le taux d'aflatoxine B₁ est alors de 250 p. p. m., celui d'aflatoxine G₁ de 20 p. p. m.

La souche « paille » différente à l'origine s'adapte donc au nouveau milieu de culture constitué par des arachides broyées et les aflatoxines sont retrouvées dans les proportions habituellement obtenues sur ce milieu.

Les essais sur œuf embryonné de ces extraits d'arachide confirment la toxicité de l'aflatoxine provenant de la souche isolée de la paille d'arachide.

CONTAMINATION DES GRENIERS A FOURRAGE

Les greniers à fourrage ayant contenu d'importantes quantités de cette paille d'arachide pendant une saison correspondant aux conditions climatiques d'humidité et de température favorables au développement de l'*Aspergillus*, des essais sont tentés pour mettre en évidence la contamination éventuelle de ces locaux.

Après évacuation de toute la paille d'arachide et un nettoyage sommaire du sol, des échantillons de paille de riz, de foin de prairie de France et d'arachide sont entreposés durant deux mois. Les arachides sont broyées, mises en boîte de Pétri, stérilisées et réhumidifiées ; deux boîtes sont posées sur le sol, deux boîtes témoins mises à l'étuve.

Il faut souligner que les conditions climatiques d'humidité et de température étaient alors moins propices que pendant le stockage de la paille d'arachide.

Ces échantillons repris, stérilisés, humidifiés et mis en étuve à 30 °C ± 1 °C en atmosphère saturée d'eau, amènent le développement d'un mycélium vert à partir de l'arachide broyée. Aucune moisissure ne se développe sur les échantillons de paille ainsi que sur les arachides témoins mises à l'étuve.

La contamination des greniers à fourrage paraît donc probable mais le développement de l'*Aspergillus* demande un milieu et des conditions de température et d'humidité particulières.

CONCLUSION

L'aflatoxine, métabolite de *Aspergillus flavus*, est donc susceptible de se trouver dans les fanes d'arachide, aliment traditionnel du bétail au Sénégal.

Le champignon peut contaminer les locaux de stockage de ces fanes.

Dans le lot examiné, entreposé certainement dans des conditions exceptionnellement mauvaises, le taux du toxique s'avère très élevé. Un bovin consommant couramment de 4 à 5 kg de ce fourrage absorbe donc 12 à 15 mg d'aflatoxine B₁. Les tests effectués sur canetons et sur œufs embryonnés montrent que la toxicité de « l'aflatoxine paille » est comparable à celle obtenue sur arachides ensemencées par l'*Aspergillus flavus*.

Les susceptibilités individuelles mises en évidence dans l'expérimentation sur la vache laitière (1) peuvent expliquer que les accidents survenus sur les bovins, au Laboratoire, aient conservé un caractère sporadique. Mais cette expérimentation semble avoir mis en lumière un autre fait important.

En effet, les taux d'aflatoxine et la nature même de cette aflatoxine sont très différents suivant les diverses parties de la plante. Ce phénomène est difficilement explicable par une contamination

survenue pendant le séchage des fanes, après leur arrachage. On est donc amené à envisager la possibilité d'une invasion de l'arachide par le champignon, durant son cycle végétatif. La concentration du métabolite de l'*Aspergillus flavus* se faisant dans certaines parties de la plante, dans les feuilles par exemple, comme le montrent les analyses.

Cette hypothèse peut trouver une confirmation dans les résultats analytiques obtenus à la faveur de l'expérimentation agricole sur l'aflatoxine 1964-65 (EXAGRAF I).

En effet, au cours de cette campagne, exécutée sous l'égide de l'UNICEF en vue d'obtenir pour l'alimentation humaine des farines d'arachide exemptes d'aflatoxine, des analyses physico-chimiques ont porté sur un certain nombre d'échantillons d'arachide.

Ces échantillons de graine provenaient d'arachides séchées suivant plusieurs procédés. L'innovation essentielle portait sur l'utilisation d'un engin servant à déshydrater l'arachide en totalité, dès arrachage.

Or, sur 46 échantillons provenant de ce dernier mode de séchage, 6 résultats furent positifs à un taux supérieur à 0,05 p. p. m., ce qui démontre la contamination possible de l'arachide avant l'arrachage.

*Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire
des Pays tropicaux
Maisons-Alfort
Laboratoire national de l'Elevage et de
Recherches vétérinaires
Dakar-Hann*

SUMMARY

Note on the presence of aflatoxin in groundnut's haulms

In countries where groundnut is grown and specially in Senegal, groundnut's haulm is a good food for various domestic animals.

Researchs made on this fodder at the Laboratoire National de l'Elevage et de Recherches vétérinaires in Dakar have shown the presence of aflatoxin whose toxicity is comparable to the toxicity evidenced in the groundnut's seed and cake.

RESUMEN

Nota sobre la presencia de aflatoxina en las hojarascas de los cacahuetes

En los países dónde crece el cacahuete, particularmente en Senegal, las hojarascas del cacahuete son un alimento gustado por varias especies animales. Durante las investigaciones efectuadas en el Laboratorio Nacional de la Ganadería y de las Investigaciones veterinarias de Dakar, se demostró en este pienso la presencia de aflatoxina cuya toxicidad se compara con la encontrada en el grano y en las tortas del cacahuete.

BIBLIOGRAPHIE

1. CALVET (H.), BOUDERGUES (R.), DISCACIATI (E.) et Mme CLICHE (M.). — **Effets de l'aflatoxine sur les bovins tropicaux.** A paraître dans *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*
2. TROPICAL PRODUCTS INSTITUTE. — **Une méthode de détection de l'aflatoxine dans les arachides et dans les dérivés des arachides (A method for the detection of aflatoxin in groundnuts and groundnuts products).** Report n° 30/62, 1962, Central Veterinary Laboratory Weybridge, London.
3. SARGEANT (K.), O'KELLY (J.), CARNAGHAN (R. B. A.) and ALLCROFT (R.). — **Essai du principe toxique de certaines farines d'arachides (The essay of a toxic principle in certain groundnut meals).** *Vet. Rec.*, 1961, 73 (46) : 1219-22.
4. VERRET (J.), MARLIAC (J. P.) and LAUGHIN (J.). — **Emploi d'embryon de poulets pour tester la toxicité de l'aflatoxine (Use of the chickens embryo in the assay of a aflatoxin toxicity).** *J. A. O. A. C.*, 1964, 47 (6) : 1003.
5. STARON (T.), ALLARD (C.), XUONG (N. D.), CHAMBRE (M. M.), GRABONSKI (H.) and KOLLMANN (A.). — **Isolement de trois substances à partir de jus de culture et du mycélium d'*Aspergillus ochraceus* (Isolation of three toxic substances from culture fluids and from the mycellium of *Aspergillus ochraceus*).** *Phytia. Phytopharm.*, 1956, 14 (2) : 73-79.

Variations du poids vif et du rendement en viande de bœufs zébus de l'Adamaoua au cours de la saison sèche

par R. DUMAS et Ph. LHOSTE

RÉSUMÉ

Les auteurs à partir de 2 lots de 35 zébus de l'Adamaoua (Cameroun) achetés sur les marchés locaux ont essayé de chiffrer le préjudice de la saison sèche pour la production de viande bovine.

Ils ont observé une diminution de poids vif de l'ordre de 18 p. 100 et noté une corrélation positive hautement significative entre le périmètre thoracique et le poids vif.

Le rendement en viande (51,5 p. 100) demeure pratiquement constant au cours de la saison.

I. — PRÉSENTATION

L'Adamaoua est une région de hauts plateaux consacrés à l'Élevage ; le cheptel bovin constitue en effet la principale richesse de ce pays. Le bétail est un zébu de taille moyenne connu sous le nom de « Zébu Peul de l'Adamaoua ». En fait, il n'existe pas de race bien définie, mais plutôt une mosaïque de variétés de zébus présentant des caractères distinctifs plus ou moins importants. Les Éleveurs sont de race Peule : « Les Foulbes ».

Les Plateaux de l'Adamaoua sont constitués de roches granitiques ou basaltiques. Leur altitude varie de 1.000 à 1.700 mètres. Les précipitations annuelles sont de 1.600 à 1.800 mm. Le climat est de type tropical humide à deux saisons bien marquées ; 96 p. 100 des précipitations tombent de mars à octobre ; les quatre autres mois sont pratiquement secs. La végétation est du type savane arborée et arbustive à *Daniellia* et *Lophira*. Les pâturages sont des savanes à *Hyparrhenia* spp. avec les graminées suivantes :

Hyparrhenia rufa.

— *diplandra*.

Hyparrhenia chrysargyrea.

— *filipendula*.

Panicum phragmitoides.

Setaria sphacelata.

Loudetia arundinacea.

Andropogon gayanus.

Pennisetum hordeoides.

Sporobolus pyramidalis.

La saison sèche constitue un grave préjudice pour l'Élevage ; elle handicape considérablement la croissance des jeunes ; elle occasionne des pertes de poids importantes chez les adultes en affectant particulièrement les vaches en lactation dont l'affaiblissement en fin de saison sèche peut aller jusqu'à la mort.

Nous donnerons d'abord quelques indications sur le type de bétail utilisé par une étude de conformation. L'expérience décrite a pour but de chiffrer les conséquences de la saison défavorable sur la production de viande. Nous contrôlerons d'une part le poids vif des animaux, d'autre part le poids net des carcasses, et par suite le rendement boucher.

Les références bibliographiques sont sommaires dans ce domaine. Le phénomène étudié

est d'ailleurs variable d'une région à une autre ; il est lié à plusieurs facteurs :

- La rigueur de la saison sèche.
- La résistance et l'adaptation de la race locale aux conditions défavorables.
- Les caractéristiques propres aux pâturages naturels.
- La charge imposée à ces pâturages...

Pour les zébus d'Afrique, DOUTRESOULLE cite quelques chiffres que nous reproduisons ci-dessous au Tableau I.

A propos du zébu de l'Adamaoua, MANDON fait état d'un rendement de 51 p. 100 chez de bons sujets de boucherie pesant environ 520 kg à 4 ans (Publication F. A. O. « Les Bovins d'Afrique », page 50).

TABLEAU N°I

(Dans G. DOUTRESOULLE-L'ÉLEVAGE EN A.O.F.—PARIS 1947)

Type de zébu	Poids moyen	Rendement
Zébu Peuhl Sénégalais	350 kg	47,5p.100
Zébu Peuhl Soudanais	315 kg	46 "
Zébu Peuhl Nigérien	320 kg	48 "
Zébu Maure	340 kg	45 "

II. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'expérience a été pratiquée sur des bœufs zébus de race « Foulbe » (ou locale, « Peule-Adamaoua »). Il s'agit de bœufs adultes de cinq à six ans, mais n'ayant pas atteint leur poids maximum.

Ces bœufs ont été achetés sur les marchés à bétail locaux pendant leur jeune âge. Ils ont été ensuite élevés dans un élevage de type extensif, sur le pâturage naturel sans complémentation alimentaire. Ces animaux représentent donc un échantillon de la population locale ; nous remarquons cependant que le format moyen de ce groupe de bœufs est sensiblement supérieur à la moyenne régionale, car les bœufs ont été l'objet d'une certaine sélection lors de l'achat sur les marchés.

Les bœufs, au nombre de 70, ont été répartis en deux lots équivalents de 35 têtes au début de la saison sèche. Nous donnons au Tableau II, les caractéristiques pondérales de ces deux lots (poids vifs, extrêmes, moyennes, erreur-standard, écart-type).

Au Tableau III, nous présentons les résultats des mensurations pratiquées sur ce bétail :

TABLEAU N°II

Poids vif des animaux au début de la saison sèche

Nombre de boeufs	Poids extrêmes		Poids vif kg		
	Minimum	Maximum	Moyenne	Erreur Standard	Ecart-Type
Lot 1 = 35	422	534	482,2	5,5	s= 32,2
Lot 2 = 35	443	553	487,5	5,2	s= 30,7

TABLEAU N°III

Caractéristiques de conformation (35 animaux)

	Poids	Hauteur du Garrot	Hauteur de la Croupe	Longueur Scap. isch.	Périmètre Thoracique	Largeur du Bassin	Longueur du Bassin	Largeur de la Tête	Longueur de la Tête
Extrêmes									
Maximum	553kg	143cm	153cm	165cm	206cm	55cm	57cm	25cm	62cm
Minimum	443 "	129 "	138 "	137 "	177 "	42 "	47 "	22 "	50 "
Moyenne	487,5	136,2	144,6	158	190	50	52,7	24	56,8
Erreur-Standard	5,2	0,6	0,7	1,1	1,5	0,4	0,5	0,1	0,4
Ecart-Type	30,7	3,8	4,1	6,2	8,9	2,7	2,8	0,78	2,5

Les deux lots ainsi constitués sont statistiquement homogènes, car la différence observée n'est pas significative.

Les bœufs du lot 1 ont été abattus au début de la saison sèche, alors que leur état d'engraissement était voisin de l'optimum, compte tenu des conditions de milieu. L'abattage a eu lieu le 7 décembre 1964 dans la matinée ; les carcasses ont été pesées par quartier immédiatement après l'abattage.

Les bœufs du lot 2 ont été entretenus pendant la saison sèche dans les conditions de l'Élevage extensif traditionnel ; les animaux sont maintenus sur les pâturages naturels sans complément alimentaire. Dès les premières pluies, avant que les animaux ne reprennent du poids, ils ont été pesés puis abattus. L'abattage a eu lieu le 27 mars 1965 dans les mêmes conditions que pour le premier lot.

III. — RÉSULTATS ET DISCUSSION

Le Tableau IV présente l'ensemble des résultats individuels. Pour chaque animal, nous trouvons :

Lot N° 1 = Début de saison sèche :

- Poids vif.
- Poids net : carcasse.
- Rendement.

Lot N° 2 = Début de saison sèche :

- Poids vif.

Fin de saison sèche :

- Poids vif.
- Poids net.
- Rendement.

Nous trouvons également dans ce même tableau, les caractéristiques statistiques des distributions observées :

- Moyenne et erreurs-standard.
- Ecart-type.
- Coefficient de variation.

Corrélations entre le Périmètre Thoracique et le Poids Vif :

L'étude des relations entre le périmètre thoracique et le poids vif met en évidence une corrélation positive entre ces deux données.

Nous avons étudié ces relations pour le lot n° 2 de bœufs, d'une part en début de saison sèche,

d'autre part en fin de saison sèche. Ces deux groupes de données correspondent à deux groupes de bœufs : les uns en état (début de saison sèche), les autres maigres (fin de saison sèche). Au graphique n° 1, nous présentons le diagramme de dispersion du poids en fonction du périmètre thoracique pour ces animaux. Nous remarquons que les données se dispersent dans deux zones différentes du graphique, et qu'une régression linéaire unique serait alors insuffisante ; on peut néanmoins rechercher en première approximation, une droite de régression linéaire pour chaque groupe.

Les coefficients de corrélation observés entre le périmètre thoracique (X Cm) et le poids vif (Y kg) sont hautement significatifs ($P < 0,01$) pour les deux groupes. Les valeurs de ce coefficient sont :

— « Bétail en état ». Coefficient de corrélation $R_{X \times Y} = +0,69$.

— « Bétail maigre ». Coefficient de corrélation $R_{X \times Y} = +0,7$.

Les coefficients de régression linéaire ont été calculés pour chaque groupe et les droites de régression sont présentées sur le graphique 1. Les coefficients de régression ont les valeurs suivantes :

$$\text{Bétail en état} \begin{cases} BY/X = 1,86 \\ BX/Y = 0,24 \end{cases}$$

$$\text{Bétail maigre} \begin{cases} BY/X = 3,30 \\ BX/Y = 0,15 \end{cases}$$

Analyse de la Perte de Poids :

Dans le lot 2, nous observons que les bœufs ont perdu en moyenne 86,5 kg sur pied au cours des trois mois et demi de contrôle. Ceci représente 18 p. 100 de leur poids initial. La perte de poids vif par jour est en moyenne de 790 g et elle atteint 1 kg pour certains animaux. Ce chiffre fictif nous donne un ordre de grandeur du phénomène, mais il ne représente pas nécessairement la réalité au jour le jour.

Si nous calculons maintenant la perte journalière par kg de poids vif, nous obtenons un chiffre relatif qui ne dépend plus de la taille de l'animal. On obtient des résultats assez homogènes d'un animal à l'autre ; la moyenne est 1,6 g/kg de poids vif/jour. Les extrêmes sont 1,33 et 2,02 g/kg de poids vif/jour.

TABLEAU N°IV

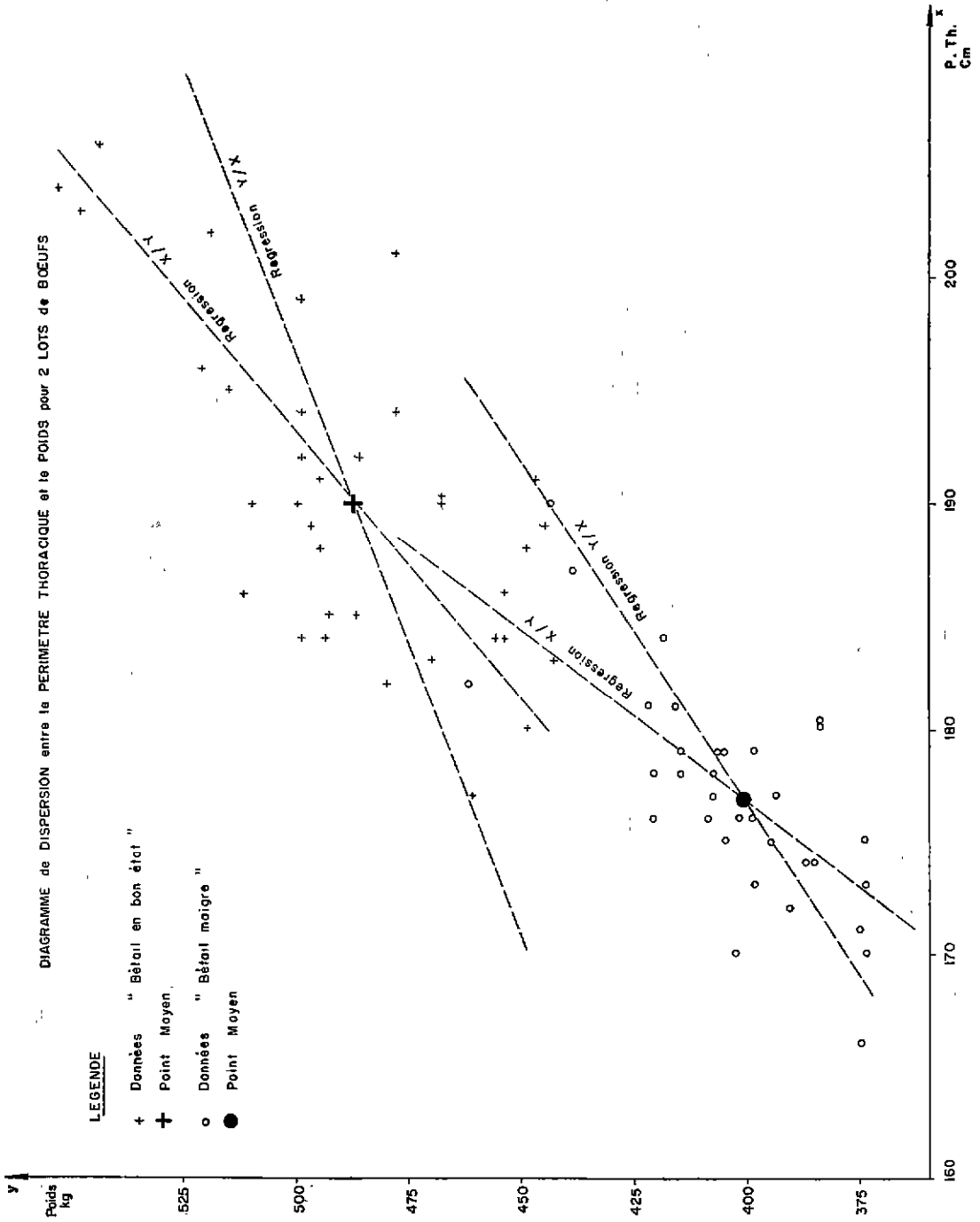
Résultats Généraux : Poids vif, Poids net et Rendement

Lot N° 1 :				Lot N° 2 :			
	Poids vif Début saison sèche	Carcasse Début saison sèche	Rendement Début saison sèche	Poids vif		Carcasse Fin saison sèche	Rendement Fin saison sèche
				Début saison sèche	Fin saison sèche		
1	506	263	52,0	487	408	205	50,2
2	499	254	50,9	478	406	208	51,2
3	502	262	52,2	495	385	201	52,2
4	446	234	52,5	480	403	211	52,4
5	471	260	55,2	512	421	211	50,1
6	510	250	49,0	499	416	209	50,2
7	491	250	50,9	443	374	193	51,6
8	467	236	50,5	499	407	214	52,6
9	495	231	46,7	521	419	219	52,3
10	530	270	50,9	454	395	205	51,9
11	459	240	52,3	499	399	210	52,6
12	514	263	51,2	500	415	217	52,3
13	442	222	50,2	548	462	245	53,0
14	505	259	51,3	494	405	212	52,3
15	502	251	50,0	486	394	194	49,2
16	493	250	50,7	553	444	234	52,7
17	517	277	53,6	468	384	195	50,8
18	467	245	52,5	454	375	193	51,5
19	475	241	50,7	461	375	189	50,4
20	456	242	53,1	449	349	186	53,3
21	437	224	51,3	470	391	193	49,4
22	422	237	56,2	493	399	207	51,9
23	510	273	53,5	478	408	204	50,0
24	477	223	46,8	499	399	200	50,1
25	434	219	50,5	445	374	190	50,8
26	534	282	52,8	495	402	204	50,7
27	520	267	51,3	468	387	206	53,2
28	500	259	51,8	497	409	206	50,4
29	508	271	53,3	544	439	231	52,6
30	443	255	57,6	456	375	204	54,4
31	523	270	51,6	519	421	215	51,1
32	442	232	52,5	510	422	217	51,4
33	455	244	53,6	449	374	197	52,7
34	499	253	50,7	515	415	207	49,9
35	427	209	48,9	447	384	193	50,3
Total	16878	8718	1808,8	17065	14035	7225	1801,7
Moyenne	482,2	249,1	51,65	487,5	401	206,4	51,47
Erreur Standard	5,5	3,0	0,4	5,2	3,8	2,2	0,25
Ecart Type	32,2	18,0	2,8	30,7	22,7	13,3	1,5
γ p.100	6,8p.100	7,1 p.100	5,5 p.100	6,3 p.100	5,7 p.100	6,5 p.100	2,4 p.100

TABLEAU N°V

Poids vif-Poids net-Rendement (Moyenne-Erreur-Standard-Ecart-Type)

	Poids vif kg			Poids net kg			Rendement-Pourcentage		
	Moyenne	Erreur Standard	Ecart Type	Moyenne	Erreur Standard	Ecart Type	Moyenne	Erreur Standard	Ecart Type
Lot 1 : Début Saison sèche	482,2	5,5	32,2	249,1	3,0	18	51,65	0,4	2,8
Lot 2 : Fin Saison sèche	401	3,8	22,7	206,4	2,2	13,3	51,47	0,25	1,5



Nous constatons évidemment que les animaux les plus lourds sont ceux qui perdent le plus en valeur absolue ; certains bœufs de grand format perdent ainsi plus de 100 kg (maximum 110 kg).

Si nous nous intéressons maintenant à la perte de poids relative, en pourcentage du poids initial qui élimine ainsi l'influence du format de l'animal, nous obtenons des amaigrissements qui s'étalent de 13 p. 100 à 22,3 p. 100 (moyenne 18 p. 100). Cet amaigrissement relatif présente lui aussi une tendance à augmenter avec le poids de l'animal. Nous observons en effet une corrélation positive significative (+ 0,36) entre le poids vif (en kg), et l'amaigrissement relatif (en p. 100). Ce qui revient à dire que les animaux d'un format supérieur à la moyenne sont ceux qui pâtissent le plus des conditions défavorables (en valeur absolue et aussi en valeur relative).

Etude du Rendement en viande :

Les rendements sont calculés au début de la saison sèche pour les bœufs du lot n° 1, et en fin de saison sèche pour les bœufs du lot n° 2. Les résultats complets se trouvent au Tableau IV. Nous présentons ci-dessous au Tableau V, les résultats moyens :

Les rendements se répartissent donc au voisinage de 51,5 p. 100, quelle que soit la saison d'abattage ; on n'observe aucune différence significative entre les résultats présentés.

La perte de poids des animaux au cours de la saison sèche ne modifie donc pas leur rendement boucher. Ceci s'explique de la façon suivante : Les carences alimentaires de la saison défavorable se traduisent d'une part par l'amaigrissement et la fonte musculaire des animaux, et d'autre part par une réduction du contenu du tractus digestif. Ces deux effets se cumulent pour constituer la perte de poids vif ; mais ils s'équilibrent pour maintenir le rendement à une valeur constante.

Nous terminerons la discussion par deux remarques qui viennent nuancer les résultats ci-dessus.

Remarque 1 :

L'expérience a été interrompue le 27 mars 1965 à la suite des premières pluies, à cette époque, on pouvait en effet penser que la pousse de l'herbe allait rapidement intervenir. En fait,

les conditions météorologiques furent telles que la saison défavorable se poursuivit encore pendant plusieurs semaines. En conséquence, les pertes de poids vif enregistrées ne représentent pas du tout le maximum possible, car la saison défavorable a été fortuitement écourtée.

Remarque 2 :

Les animaux ont été pesés à chaque opération, le matin après abreuvement. En saison sèche, les bœufs peuvent absorber de 15 à 25 litres d'eau au cours de ce premier abreuvement matinal. Nous présentons donc pour le poids vif des animaux des chiffres systématiquement surestimés de 10 kg environ. De plus, cette augmentation du poids vif se répercute sur le rendement pour le déprécier de 2 points. Sans cet abreuvement matinal, les chiffres de rendement auraient pu s'établir aux environs de 53 p. 100. Nous pouvons donc considérer que le rendement moyen de 51,5 p. 100 proposé constitue une limite inférieure pour le type de bétail étudié.

IV. — CONCLUSIONS

Nous avons essayé de chiffrer le préjudice de la saison sèche pour la production de viande bovine ; l'expérience a été menée en Adamaoua, sur des bœufs de race Foulbe locale. Nous avons observé les faits suivants :

1. — Sur pied, les animaux subissent au cours de la saison sèche, une diminution de poids vif de l'ordre de 18 p. 100 de leur poids initial. Cet amaigrissement moyen peut être aggravé pour certains individus ou certaines saisons particulièrement défavorables. Les animaux les plus lourds ont tendance à perdre relativement plus que les autres animaux.

2. — Nous avons observé une corrélation positive hautement significative entre le périmètre thoracique et le poids vif, et ceci pour le bétail en bon état et aussi pour le bétail maigre.

3. — Au cours de trois mois et demi d'expérience, la perte journalière moyenne fut de 790 g par jour, par animal. Pour les animaux les plus lourds, elle fut de l'ordre du kg par jour.

4. — Le rendement en viande des animaux s'établit vers 51,5 p. 100 et il demeure pratiquement constant au cours de la saison.

Ces résultats éloquentes prouvent que la saison sèche entraîne en zone inter-tropicale, un très important manque-à-gagner sur la commercialisation des carcasses ; lorsqu'il est nécessaire d'abattre en cette saison, la perte nette est en moyenne de 44 kg par carcasse, et elle peut dépasser 50 kg pour certains animaux en Adamaoua. On entrevoit immédiatement le gain considérable dont on bénéficierait si l'on pouvait abattre plus de bétail avant la saison sèche, et éventuellement stocker la viande. Cette mesure aurait le double avantage d'exploiter le bétail au moment optimum, et de soulager les pâturages pendant la période de pénurie alimentaire. Dans l'obligation d'abattre à cette époque de l'année, il est clair que tout complément alimentaire permettant aux animaux destinés à la boucherie de conserver leur

poids de début de saison sèche se révélerait payant.

REMERCIEMENTS

Nous remercions très vivement, la Direction et les Agents locaux de la Compagnie Pastorale Africaine qui nous ont permis de mener cette expérience sur leur bétail. Leur collaboration nous fut du plus grand intérêt.

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

*Centre de Recherches Zootechniques de Wakwa
(Cameroun)*

Mars 1966.

SUMMARY

Variation of the life-weight and the meat output in Adamawa's Zebus during the dry season

In 2 batches of 35 Zebus from the local markets of Adamawa (Cameroon) the authors tried to work out in figures the losses in meat output during the dry season. A drop of about 18 per cent in the life-weight and a highly significant positive correlation between the thoracic perimeter and the life-weight have been recorded.

The meat output (51,5 p. 100) stayed actually at the same level during the dry season.

RESUMEN

Variaciones del peso vivo y de la producción de carne de los cebues de Adamawa durante la estación seca

A partir de 2 lotes de 35 cebues de Adamawa (Camerun) comprados en los mercados locales, los autores intentaron calcular la disminución de la producción de carne bovina durante la estación seca.

Se notaron una pérdida de peso vivo de unos 18 por 100 y una correlación positiva muy significativa entre el perímetro torácico y el peso vivo.

La producción de carne 51,5 por 100 es casi constante durante la estación.

COMPTES RENDUS DE CONGRÈS

TROISIÈME SESSION DU GROUPE DE TRAVAIL FAO SUR L'AMÉLIORATION DES HERBAGES ET DE LA PRODUCTION FOURRAGÈRE EN AMÉRIQUE TROPICALE.

Port of Spain (Trinidad et Tobago) 14-22 avril 1966.

La troisième session du groupe de travail a réuni plus de 50 participants représentant 16 pays. La délégation française se composait de 2 membres (1).

L'ordre du jour portait sur la recherche, l'application des résultats, le personnel scientifique spécialisé pour l'étude des pâturages, l'étude du tapis graminéen, l'évaluation des espèces fourragères ainsi que sur l'étude du comportement des animaux au pâturage, le brûlis, le rabougrissement de l'herbe de Pangola.

Il a été précisé que les informations techniques ne seraient pas lues pendant les réunions du groupe de travail et que l'on discuterait seulement des principales idées provenant de celles-ci.

Des excursions ont été organisées à l'île de Tobago et à Trinidad, pendant la durée de la session, dans le but de donner un aperçu sur les réalisations en matière de pâturages artificiels.

1^o Ile de Tobago :

a) Visite de la ferme « Bon accord estate » où l'on associe le Cocotier et l'élevage ; 56 ha de pâturages dont 16 ha de pâturages artificiels en Pangola grass (*Digitaria decumbens*) traités annuellement par 450 kg/ha de Sulfate d'Ammoniaque. Le troupeau compte 50 bovins et 200 ovins.

b) Visite de la ferme de Golden grove estate,

ferme où l'on associe le Cocotier et l'élevage ; 60 ha sur 120 sont plantés en Pangola grass. La fertilisation est assurée par 450 kg/an/ha de Sulfate d'Ammoniaque. Les 300 têtes composant le troupeau sont en majorité des Jamaica Reds.

c) Visite de la ferme de Diamond Estate, à Cocotier associé à l'élevage ; 20 ha sur 60 sont en Pangola grass, fertilisés par 900 kg/ha/an de Sulfate d'Ammoniaque appliqués en deux fois. Le troupeau est constitué par des Jamaica Reds, Sahiwal et Charolais. Des croisements ont été réalisés entre Brahma et Charolais.

d) Visite de la ferme du Gouvernement, destinée à la production du bétail ; 90 ha sont plantés en Pangola grass et 20 ha en Herbe à Elefant (*Pennisetum purpureum*), fertilisés avec 450 kg/an/ha de Sulfate d'Ammoniaque. L'herbe à éléphant est coupée à la main. Les pâturages sont irrigués par aspersion grâce à une source qui se trouve dans le périmètre de la ferme. Le troupeau est constitué d'Holstein et de Jamaica Reds.

2^o Ile de Trinidad.

a) Fermes laitières pilotes. Cette expérience consiste à fournir aux fermiers, une exploitation de 6,8 à 8 ha, plantés en Pangola grass, avec ferme et 7 vaches laitières.

b) Visite de Las Hermanas, ferme privée, destinée à la production de viande avec cependant un petit troupeau laitier. Les 56 ha sont plantés en Pangola grass, dont 24 irrigués par aspersion grâce à l'eau d'une mare artificielle. L'exploitation est très intensive. La charge est de 2,5 animaux/ha.

c) Visite de l'Université des Indes Occidentales, dont le jardin botanique conserve une collection de plantes fourragères. Elle effectue des essais de fertilisation du Pangola grass.

(1) L. DEGRAS, I. N. R. A., Guadeloupe.
A. GASTON, I. E. M. V. T.

d) Visite de la Station Centrale d'Expérimentation du Ministère de l'Agriculture, qui possède également une collection de plantes fourragères.

COLLOQUE SUR LES PÂTURAGES ET LA PRODUCTION FOURRAGÈRE EN CÔTE-D'IVOIRE.

Cette confrontation due à l'initiative du Ministère de l'Agriculture de Côte-d'Ivoire, a réuni les représentants de tous les organismes de recherches s'intéressant au problème fourrager en Côte-d'Ivoire, en vue de dresser le bilan des travaux effectués ou en cours de réalisation, et de définir les recherches à poursuivre par chacun des organismes en matière de production fourragère.

M. PAGOT, Directeur général de l'I. E. M. V. T. présidait le colloque ; M. COULOMB, Directeur du C. R. Z. de Minankro, M. BOUDET chef du Service Agrostologique de l'I. E. M. V. T. et M. CADOT chef de la section agronomique du C. R. Z. de Minankro représentaient l'I. E. M. V. T. à ces débats.

Le colloque s'est tenu à Abidjan les 11 et 12 février 1966. Il fut précédé du 7 au 10 février par des visites dans différents Centres s'occupant de plantes fourragères.

Lundi 7 février. Visite du Centre d'Élevage de Korhogo et de la Station agricole de Ferkessedougou dans le Nord du pays.

Mardi 8. Visite dans la région de Bouaké du C. R. Z. de Minankro, du Centre d'élevage de Bouaké, de la Station centrale d'expérimentation agricole de Bouaké et de la Ferme du service civique.

Mercredi 9. Visite du ranch de Toumodi et de la Station du C. N. R. S. de Pakobo dans le centre du pays.

Jeudi 10. Visite dans la région d'Abidjan de la Station de l'I. R. H. O. de Lamé, du Centre de l'O. R. S. T. O. M. à Adiopodoumé et du Centre d'élevage de Bingerville.

L'ordre du jour des débats proposé par M. TOURÉ fut le suivant :

Pâturages naturels :

Inventaire,
Utilisation,
Amélioration,

Cultures fourragères :

Résultats obtenus,
Vulgarisation,
Amélioration génétique,
Obtention des semences,
Exploitation des pâturages,

Pâturage et animal ;

Synthèse des travaux ;

Problèmes à résoudre ;
Répartition des tâches.

Possibilités d'élevage en Côte-d'Ivoire.

La Côte d'Ivoire possède de grandes surfaces de savanes susceptibles d'être utilisées comme pâturages naturels en tenant compte des travaux de phytosociologie effectués par M. ADJANO-HOUM, et des travaux des agrostologues et des stations de recherches : inventaire, cartographie et exploitation des pâturages.

Le climat de la basse Côte-d'Ivoire permet la culture des plantes fourragères. Des essais sont entrepris pour connaître les meilleures espèces, et les prix de revient de ces cultures. L'I. R. H. O. oriente ses travaux sur le problème de l'élevage sous palmiers à huile. Son intérêt est d'abaisser les frais d'entretien tout en valorisant le travail. Cependant les conditions sanitaires peuvent faire échouer un tel élevage. De nombreux essais sont encore à effectuer compte tenu des moyens d'exploitation dont disposent les paysans. Les cultures fourragères et l'élevage ne sont pas toujours rentables. Les espèces intéressantes à cultiver sont :

Panicum maximum, *Pennisetum purpureum*,
Digitaria umfolozi, *Setaria sphacelata*, *Stylisanthes gracilis*, *Pueraria phaseolides*.

Dans les régions du Centre et du Nord de la Côte-d'Ivoire on essaye de trouver des méthodes d'exploitation rationnelle des différents types de savane. Le Ranch de Toumodi déjà en exploitation et celui de Sipilou en cours d'étude montrent la possibilité de mise en valeur des savanes

et le maintien en bon état, tout au long de l'année, des troupeaux.

Le problème du feu dans l'exploitation des pâturages fut abordé. Sa nécessité, pour le maintien de l'équilibre de la savane, dans le cas d'exploitation extensive, a été reconnue. Mais des études sont encore à faire sur l'influence des époques de mise à feu, sur l'évolution de la savane. La culture des plantes fourragères est conditionnée par la présence d'une saison sèche plus ou moins prononcée. Les espèces fourragères intéressantes sont réparties suivant leur utilisation :

- Plantes de pâturages : *Panicum maximum*, *Andropogon gayanus*, *Stylosanthes gracilis*...
- Plantes à couper : *Pennisetum purpureum*...
- Production de foin : *Stylosanthes gracilis*...
- Association légumineuses-graminées : *Stylosanthes gracilis*, *Melinis minutiflora*.
- Plantes à écologie spéciale : *Brachiaria mutica* dans les bas-fonds.

Des méthodes d'amélioration des pâturages naturels ont été proposées : semis de *Stylosanthes gracilis*... En saison sèche, il n'y a aucun fourrage vert dans le Nord de la Côte-d'Ivoire. Les animaux sont alimentés en paille de riz ou en foin de *Stylosanthes gracilis*. Les chercheurs de Minankro se préoccupent de l'obtention de semences surtout de *Stylosanthes gracilis*. Mais il faudrait qu'un organisme centralisateur s'occupe de la production grainière au niveau des producteurs mais aussi, au niveau de la sélection de variétés.

Les participants ont dressé une liste des travaux à entreprendre ou à poursuivre accompagnée des noms des organismes pouvant entreprendre ces travaux.

Liste des Communications présentées

Adiopodoumé (O. R. S. T. O. M.) :

- TALINEAU (J. C.). — Cultures fourragères et possibilités d'élevage intensif en basse Côte-d'Ivoire. 17 p. ronéo.
- TALINEAU (J. C.), COMBES-BRUN. — Recherches sur les plantes fourragères. Activités du Centre d'Adiopodoumé. 17 p. ronéo.

Bingerville (Station d'Elevage) :

Les pâturages du Centre d'Elevage de Bingerville. 5 p. ronéo.

Maisons-Alfort (I. E. M. V. T.) :

- BOUDET (G.). — Etude des pâturages naturels en Côte-d'Ivoire 1966. 13 p. ronéo.
- BOUDET (G.). — Etude agrostologique du ranch de Sipilou, pré-rapport. 1966. 12 p. ronéo.
- BOUDET (G.). — Pâturages et plantes fourragères en République de Côte-d'Ivoire. 1963. 102 p. ronéo.
- BOUDET (G.), BAYENS (F.). — Méthode d'Etude et de Cartographie des pâturages tropicaux. Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1963, 16 (2) : 191-219.

Minankro (Station I. E. M. V. T.) :

- CADOT (R.). — Comportement des bovins N'Dama au pâturage. 10 p. ronéo.
- CADOT (R.). — *Stylosanthes gracilis*. Note technique, n° 1. 14 p. ronéo.
- CADOT (R.), BUTTET (A.). — Etablissement de quelques prix de revient en culture mécanisée. 1965. 20 p. ronéotées.
- COULOMB (J.). — Alimentation des bovins. 6 p. ronéo.

C. R. Z. :

- Liste des introductions des espèces fourragères au C. R. Z. de Bouaké Minankro. 20 p. ronéo.
- Parcellement de la station au 1^{er} janvier 1966. 3 p. ronéo.
- Programme de recherches, section agronomique.
- Vulgarisation en matière d'amélioration fourragère. 7 p. ronéo.

Ministère de l'Agriculture. Abidjan :

- TOURE (I.). — Rapport de la mission de réorganisation du Service d'Agrostologie et de production fourragère. 68 p. ronéo.
- TOURE (I.). — Amélioration des savanes et création des pâturages artificiels. Avant-projet. 22 p. ronéo.

EXTRAITS-ANALYSES

Maladies à virus

118. OZAWA (Y.). — **Interférence en culture cellulaire entre les types de virus de la peste équine** (Interference between African horse sickness viruses in tissue culture). *Am. J. Vet. Res.*, 1966, 27 (116) : 106-109.

Sur cellules rénales de singe en lignée continue, le type 9 de virus de la peste équine inhibe la multiplication des types 5 et 7. L'interférence est complète si le type 9 a été ensemencé 32 heures avant le type 5 ou 39 heures avant le type 7. Elle est partielle si le délai entre les deux infections est plus court.

119. HOPKINS (I. G.), HAZRATI (A.) et OZAWA (Y.). — **Amélioration de la technique des plages pour le titrage et la séroneutralisation du virus de la peste équine** (Development of plaque techniques for titration and neutralisation tests with African Horse sickness virus). *Am. J. Vet. Res.*, 1966, 27 (116) : 96-105.

Les auteurs exposent les différents facteurs affectant la formation des plages par le virus de la peste équine, sur des cellules rénales de singe en lignée continue et en préconisent les conditions optimales.

La nappe cellulaire utilisée au troisième jour de culture, sans rinçage préalable, est infectée avec 0,1 ml de virus dont les dilutions ont été effectuées avec du milieu d'entretien à base d'hydrolysate de lactalbumine à 0,5 p. 100 en solution d'Earle, à pH 7, additionné de 2 p. 100 de sérum de veau inactivé. Après trois heures d'incubation à 36 °C, les cellules sont recouvertes d'une couche de milieu gélosé. Celui-ci est constitué par la solution saline de Earle à double concentration et sans rouge de phénol, contenant 1 p. 100 d'hydrolysate de lactalbumine et 0,01 p. 100 d'extrait de levure ; à 43 °C, elle est additionnée d'un égal volume d'une solution aqueuse

préalablement lavé trois fois dans l'eau bidistillée. On incorpore aussi à ce milieu du sérum de veau inactivé à 10 p. 100, du rouge neutre à 1,6 p. 100 d'agar (Special noble agar, Difco) 1/74.500 et environ 0,11 p. 100 de bicarbonate de sodium.

La taille des plages augmente de 4 à 6 fois par l'addition au milieu gélosé de sulfate de protamine à la dose de 0,5 mg/ml. Elle est plus uniforme lorsqu'on remplace l'agar par une solution aqueuse à 4 p. 100 de méthyl cellulose (Methocel, 4.000 centipores). La grandeur des plages varie aussi selon la lignée cellulaire.

Cette technique de plages, qui ne permet pas la différenciation des types de virus de la peste équine, est utilisable pour leur titrage, leur clonage et les séroneutralisations. Sa sensibilité, comparée avec celle des titrages sur souris ou sur simples tubes de cellules, est moins grande lorsqu'il s'agit de souches de virus ayant subi peu de passages sur cultures cellulaires. Mais à partir du 50^e passage, le virus se titre mieux par la technique des plages, alors que son pouvoir pathogène sur souris s'abaisse de plus en plus.

120. OWEN (N. C.). — **Recherches sur la résistance du virus de la blue-tongue aux variations de pH et sur sa survie dans les viandes de mouton et de bœuf** (Investigations into the pH stability of bluetongue virus and its survival in mutton and beef). *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1964, 31 (2) : 109-118 (Résumé des auteurs).

Les expériences décrites concernent aussi bien la résistance du virus *in vitro* aux variations de pH que sa survie dans les carcasses de mouton et de bœuf.

1) Dans les conditions du laboratoire, on observe une perte nette du pouvoir infectant

du virus entre les pH 6,1 et 6,3, lorsque celui-ci est soumis à ces concentrations d'ion hydrogène normalement rencontrées dans les carcasses.

2) La survie du virus dans les viandes apparaît dépendre des variations *post-mortem* du pH. Il survit 30 jours dans une carcasse de mouton maintenue à 4°C, où le pH ne descend pas au-dessous de 6,3. Par contre, la viande dont le pH se situe vers 5,4 ne contient plus de virus infectant.

3) Une carcasse de bovin s'est révélée contenir du virus infectant 10 jours après une infection expérimentale, bien qu'aucun signe clinique de la maladie n'ait été observé.

4) Il semble que le virus de la bluetongue ait tendance à se localiser davantage dans les muscles fessiers que dans le muscle long dorsal.

121. HOWARTH (J. A.) et TERPSTRA (C.). — **Multiplication du virus de la maladie de Nairobi du mouton en culture de tissu** (The propagation of Nairobi disease virus in tissue culture). *J. Comp. Path.*, 1965, **75** (4) : 437-41.

Le virus de la maladie de Nairobi se multiplie sur les cultures de cellules testiculaires et rénales de chèvre et de cellules rénales de hamster. L'effet cytopathique, invisible sur le premier type de cellules, irrégulier sur le second, apparaît constamment au 3^e-4^e jour après l'infection, sur les cellules de hamster qui deviennent granuleuses et rétractées avant de se détacher du verre. Le titre maximum de virus est de 10^8 DL₅₀ souris, dans 0,03 ml d'une culture sur le premier type de cellules et de $10^{8,5}$ DL₅₀ souris, avec les deux suivants.

Deux moutons inoculés avec le virus au 10^e passage sur cellules rénales de chèvre, montrent les symptômes caractéristiques de la maladie : hyperthermie, décharge nasale, diarrhée profuse et leucopénie. Leur sérum prélevé en période correspondant au pic thermique est fatal aux souris par la voie intracérébrale. Ces moutons résistent parfaitement trois semaines plus tard à une nouvelle inoculation de $10^{8,5}$ DL₅₀ souris.

122. CARTWRIGHT (S. F.) et collab. — **Un virus cytopathique, cause d'une gastro-entérite contagieuse du porc. I. Isolement et propriétés** (A cytopathic virus causing a transmissible gastroenteritis in swine. I. Isolation and properties). *J. Comp. Path.*, 1965, **75** (4) : 387-96.

Les auteurs ont isolé de porcs atteints de gastroentérite infectieuse, quatre souches de virus qui montrent un effet cytopathique au bout de 4 à 5 passages sur des cultures de cellules rénales porcines. Les cellules infectées deviennent réfringentes, puis granuleuses, et se détachent de la nappe cellulaire qui peut reprendre un aspect normal si la dose infectante n'est pas assez forte. Après coloration, on constate la formation de quelques petits syncytia et une condensation, suivie de margination, de la chromatine nucléaire. Les propriétés physico-chimiques de l'une des souches ont été étudiées : taille du virus de 80 à 90 m μ , photosensible, thermolabile, acido-résistant, sensible à l'éther, au désoxycholate de sodium et au dodecylsulfate de sodium. Il semble de nature désoxyribonucléique et appartiendrait au groupe de l'herpes.

Peste bovine

123. BROWN (R. D.) et RASHID (A.). — **Durée de l'immunité antibovipestique chez les bovins vaccinés avec le virus caprinisé** (Duration of rinderpest immunity in cattle following vaccination with caprinised rinderpest virus). *Bull. epiz. Dis. Afr.*, 1965, **13** : 311-15.

Parmi les bovins de l'île de Pemba qui ont été vaccinés une seule fois, il y a une douzaine

d'années, avec le virus-vaccin caprinisé et qui sont encore vivants, vingt sont éprouvés avec la même souche (KAG). Dix-sept d'entre eux ne montrent aucune réaction clinique (fièvre-diarrhée). Les trois autres, qui tombent malades, n'ont aucun anticorps neutralisant avant l'épreuve, mais en ont 21 jours plus tard. Il est probable qu'ils ont été soustraits à la première campagne de vaccination.

Du point de vue pratique, on peut donc considérer que l'immunité consécutive à la vaccination par le virus capripéste dure toute la vie.

124. BROWN (R. D.), GLOSSOP (W. E.). **Immunsation antibovipéste au moyen d'un vaccin en comprimés** (Rinderpest immunization by means of vaccine implants in tablet form). *Bull. epiz. Dis. Afr.*, 1965, **13** : 305-309.

Le virus-vaccin caprinisé conditionné sous forme de comprimés, avec de la gomme arabique et du lactose ou du glucose, a été essayé par implantation sous-cutanée, à des bovins qui y répondent par une réaction fébrile et une résistance à l'épreuve 15 à 26 jours plus tard.

Le virus survit près de six ans dans ce vaccin conservé à -25°C . Les auteurs discutent les moyens d'améliorer la préparation de cette forme de vaccin et son application éventuelle dans la vaccination des animaux sauvages.

125. ROWE (L.W.). — **Recherche des anticorps neutralisants anti- peste bovine chez les bovins de la Nigeria du Nord** (A screening survey for Rinderpest neutralising antibodies in cattle of Northern Nigeria). *Bull. epiz. Dis. Afr.*, 1966, **14** : 49-52.

Dix mille sérums de bovins ont été examinés par la méthode de séroneutralisation en culture

cellulaire. La proportion d'animaux ayant un titre significatif d'anticorps est de 68,5 à 79,4 p. 100 après une vaccination annuelle et de 80,7 à 93,7 p. 100 après deux ou trois vaccinations annuelles. Un nombre appréciable de sujets vaccinés, notamment parmi les jeunes, n'a aucun anticorps neutralisant.

126. SMITH (V. W.). — **Immunsation active des veaux avec le vaccin anti-péste de culture cellulaire**. Active immunisation of calves with tissue-cultured rinderpest vaccine). *J. Comp. Path.*, 1966, **76** (2) : 217-24.

L'auteur essaie de déterminer la courbe de disparition des anticorps transmis passivement aux veaux par le colostrum des vaches, en matière d'immunité anti-bovipeste.

Ces anticorps empêchent effectivement la multiplication des virus-vaccins vivants ; il s'ensuit que la vaccination reste infructueuse.

En employant une méthode quantitative de séroneutralisation en culture cellulaire, l'auteur peut montrer que les veaux ne deviennent sensibles au virus-vaccin de culture cellulaire qu'au-dessous d'une certaine valeur de l'index de séroneutralisation.

L'âge moyen des veaux auquel les anticorps passifs, en diminution progressive, atteignent ce titre est de 9 mois ; mais les variations individuelles sont considérables.

Maladies microbiennes

127. NANGIA (S. S.) et collab. — **Vaccin en adjuvant huileux contre la septicémie hémorragique. Test du pouvoir immunigène sur lapin. Durée de l'immunité et facilité de conservation** (Haemorrhagic septicaemia oil adjuvant vaccine. Study of potency test in rabbits. Duration of immunity and keeping quality. *Ind. Vet. J.*, 1966, **43** (4) : 279-87 (Résumé des auteurs).

Quelques lots de vaccin en adjuvant huileux contre la septicémie hémorragique, préparé, avec une suspension bactérienne récoltée sur gélose à l'extrait de levure, sans créatinine contenant du simple extrait de viande au lieu

de Lablemco (Oxoid), ont conféré une bonne immunité à des taurillons de la race des collines et à des bufflons.

D'autres lots de vaccin, préparés de façon identique se sont révélés immunigènes pour le bétail même après un séjour de 814 jours à 45°F ($7,2^{\circ}\text{C}$) ou des séjours de 20 jours à 37°C et 42°C .

La durée maximum d'immunité conférée par une seule injection de ce vaccin est de 850 jours (la plus longue période d'expérience connue jusqu'à ce jour).

Cette étude montre que les lapins peuvent convenir, en remplacement des taurillons ou

des bufflons, pour l'épreuve du pouvoir immunigène du vaccin ; ils sont aisés à manipuler et sont plus faciles à obtenir que les grands animaux comme les bovins.

Par l'emploi du milieu sans créatinine et celui des lapins à la place des taurillons ou des bufflons pour le test d'immunité, le prix de revient du vaccin se trouve considérablement réduit.

128. RICHARD (J. L.) et PIER (A. C.). — **Transmission de *Dermatophilus congolensis* par *Stomoxys calcitrans* et *Musca domestica*** (Transmission of *Dermatophilus congolensis* by *Stomoxys calcitrans* and *Musca domestica*). *Am. J. Vet. Res.*, 1966, **27** (117) : 419-23 (Résumé des auteurs).

Dermatophilus congolensis est transmis de lapins infectés à des lapins sains par la mouche des étables, *Stomoxys calcitrans* et la mouche des maisons, *Musca domestica*.

Cette transmission ne nécessite pas qu'une solution de continuité soit mécaniquement créée dans la peau de l'hôte par la mouche qui se nourrit.

L'humidité des lésions sur le lapin donneur et du site de la piqûre sur le lapin récepteur est un facteur favorisant la transmission.

Stomoxys calcitrans peut transmettre l'infection jusqu'à 24 heures après s'être gorgée sur un lapin infecté.

D. congolensis a été mis en évidence sur les pattes de *Stomoxys* et a été isolé de la mouche domestique.

Mycoplasmoses

129. LINDLEY (E. P.). — **Essais d'un vaccin atténué de culture contre la péripneumonie bovine.** (Experiments with an attenuated culture vaccine against contagious bovine pleuropneumonia). *Brit. vet. J.*, 1965, **121** (10) : 471-78.

L'auteur décrit des essais effectués au Nigeria du Nord pour vacciner les zébus contre la péripneumonie avec la souche avirulente KH₃J de *Mycoplasma mycoides*.

La souche virulente M/2 était originaire de la province de Bornou et le matériel destiné aux inoculations d'épreuve était reconstitué à partir d'exsudat lyophilisé de tissu infecté. La dose de ces inoculations d'épreuve (1/2 ampoule reconstituée dans 2 ml d'eau) avait été établie empiriquement à la suite d'une série d'inoculations sous-cutanées. Les souches étaient conservées sous forme de cultures lyophilisées à — 15 °C ; les subcultures étaient faites en bouillon Bennett additionné de pénicilline et d'acétate de thallium.

Les animaux d'expérience étaient tous des zébus Fulani blancs âgés en moyenne de 2 ans 1/2 et provenant d'une zone indemne de péripneumonie depuis plusieurs années. Avant l'expérience, chaque animal était contrôlé par une déviation du complément et par un test d'agglutination

rapide sur lame, afin de s'assurer qu'il était sérologiquement négatif.

Ces animaux étaient ensuite inoculés avec les deux vaccins : vaccin de culture frais et vaccin de culture lyophilisé.

Une première série d'observations consistait à noter la résistance des animaux aux inoculations virulentes d'épreuve. De bons résultats ont été obtenus avec le vaccin de culture en bouillon. La même souche, sous forme de vaccin de culture lyophilisé, fut également satisfaisante, à condition qu'il y ait un nombre suffisant de germes viables par dose. Des animaux ayant subi une inoculation d'épreuve un an après la vaccination avec le vaccin lyophilisé étaient encore immuns.

On a recherché également la valeur de la gélose comme adjuvant, valeur peu significative dans l'expérience décrite.

130. NASRI (M. EL.). — **La virulence et le pouvoir immunigène des cultures issues de colonies isolées de *Mycoplasma mycoides* et de *Mycoplasma capri*** (The virulence and protective properties of cultures from single colonies of *Mycoplasma mycoides* and *Mycoplasma capri*). *Vet. Rec.*, 1966, **78** (7) : 232-36 (Résumé de l'auteur).

Des cultures issues de colonies isolées (c'est-à-dire des clones) d'une souche virulente et d'une souche atténuée de *Mycoplasma mycoides* ont été éprouvées quant à leur pouvoir pathogène et leur propriété immunogène.

On a trouvé que la culture totale de la souche virulente n° 121 fournissait à la fois des colonies virulentes et d'autres non virulentes ; il fut aussi possible d'isoler un clone de la souche vaccinale atténuée FK, qui se révéla pathogène en provoquant un œdème caractéristique chez un taureau et cela même à son 91^e passage.

Des résultats semblables ont été obtenus avec la souche virulente OSB de *Mycoplasma capri*.

131. HUGHES (K. L.) et collab. — **Polyarthrite des veaux provoquée par *Mycoplasma* sp.** (Polyarthrititis in calves caused by *Mycoplasma* sp.). *Vet. Rec.*, 1966, **78** (8) : 276-80. Résumé des auteurs.

Deux foyers d'arthrite des veaux, due à un microorganisme pathogène spécifique du genre *Mycoplasma* sont décrits. Cette arthrite a été reproduite chez des veaux d'expérience, par l'inoculation des cultures de ce mycoplasme, en employant les voies intraveineuse et intra-articulaire ; les voies sous-cutanée et conjonctivale furent infructueuses.

Les articulations les plus habituellement infectées étaient l'épaule, le coude, le carpe, le boulet, la hanche, le grasset, le jarret et l'articulation atloïdo-occipitale ; le germe pouvait fréquemment y être isolé ; c'est le grasset qui, constamment, était le plus sévèrement atteint.

Les mycoplasmes pouvaient aussi être cultivés à partir du foie et des ganglions lymphatiques.

Il s'agissait d'arthrite fibrino-purulente dans les cas aigus et de la forme fibrineuse dans les cas chroniques.

Ces deux foyers sont apparus en même temps qu'une invasion de mouches.

Le traitement de deux veaux avec 2,5 et 5 mg/kg de tartrate de tylosine par la voie

intraveineuse, de façon quotidienne durant 6 jours, resta sans succès.

132. AFSHAR (A.), STUART (P.) et HUCK (R. A.). — **Vulvovaginite granuleuse du bétail (maladie vénérienne nodulaire) associée à *Mycoplasma bovigenitalium*** (Granular vulvovaginitis (Nodular Venereal Disease) of cattle associated with *Mycoplasma bovigenitalium*). *Vet. Rec.*, 1966, **78** (15) : 512-19 (Résumé des auteurs).

La vulvovaginite granuleuse fut transmise en série chez des génisses par simple application sur l'épithélium vulvo-vaginal légèrement gratté d'un écouvillon enduit de mucus vaginal prélevé sur des bovins malades.

Mycoplasma bovigenitalium fut isolé cinq fois du mucus vaginal de deux génisses grâce à des cultures cellulaires de rein de veau et une fois d'une troisième génisse atteinte de maladie naturelle, sur un milieu pour mycoplasmes.

Les germes furent retrouvés régulièrement sur les génisses après l'infection expérimentale.

La vulvovaginite granuleuse est apparue sur les animaux après l'application de cultures de mycoplasmes, obtenues en cellules de rein de veau ou en bouillon, sur l'épithélium vulvo-vaginal gratté, mais non si celui-ci était intact.

La maladie fut également reproduite par une application semblable d'une souche de mycoplasme isolée de mammites.

Aucun anticorps fixant le complément avec ces mycoplasmes ne fut décelé dans le sérum des génisses naturellement ou artificiellement infectées.

L'infusion dans la mamelle de la souche de *M. bovigenitalium* d'origine vaginale provoqua la mammite et des anticorps sériques fixant le complément et inhibant la croissance purent être décelés.

La vulvovaginite ne fut pas transmise par des applications répétées, sur l'épithélium vulvo-vaginal gratté, d'écouvillons imprégnés de *Streptococcus viridans*.

Trypanosomoses

133. AMREIN (Y. U.), GEIGY (R.), KAUFFMANN (M.). — **De la restauration de la virulence chez les trypanosomes du groupe *Brucei*** (On the reacquisition of virulence in trypanosomes of the *Brucei*-group). *Acta trop.*, 1965, **22** (3) : 193-203 (Résumé des auteurs).

On a tenté, au cours de nombreuses séries expérimentales, de restituer leur virulence aux trypanosomes de culture du groupe *Brucei*. Pour ce faire, on a ajouté aux cultures de trypanosomes soit des fragments vivants d'organes de mouches tsé-tsé, soit des extraits de leurs glandes salivaires, soit diverses substances chimiques. La grande majorité de ces essais n'ont donné aucun résultat positif sauf cependant en présence de l'inositol, où certaines séries de trypanosomes traités ont alors présenté une restitution de leur virulence pour la souris blanche. Mais comme l'évolution spontanée d'une parasitémie fut également observée dans certaines des séries témoins de souris blanches, il devenait nécessaire de procéder à une étude systématique et comparative de séries traitées et de séries témoins. Les contrôles des cultures, effectués entre les 2^e et 27^e jour, ont donné un résultat surprenant : les séries témoins développent, mieux encore que les traitées, une virulence croissante pour la souris blanche ; la parasitémie débute le 8^e jour et atteint son sommet caractéristique dans des cultures âgées de 18 jours.

Un cycle autonome de virulence se déroule donc chez des trypanosomes de culture du groupe *brucei*. Des recherches ultérieures ont en outre démontré que ce cycle dépend, d'une part du donneur de sang humain utilisé dans nos cultures Weinman, d'autre part du laps de temps durant lequel on laisse reposer le milieu avant qu'il ne soit inoculé de trypanosomes.

On peut présumer que le cycle évolutif des trypanosomes dans la tsé-tsé — perte de virulence dans les glandes salivaires — dépend également, dans une certaine mesure, des 3 facteurs dénoncés par nos expériences : âge de la culture, donneur de sang et temps de conservation du médium. Ceci expliquerait peut-être pourquoi la mouche tsé-tsé présente

dans la nature, de manière caractéristique, un indice étonnamment bas.

134. FOLKERS (C.), MOHAMMED (A. N.). — **L'importance des mouches piqueuses autres que les glossines dans l'épidémiologie des trypanosomiases du bétail à Shika. Nigeria du Nord** (The importance of biting flies other than *Glossina* in the epidemiology of trypanosomiasis in cattle in Shika-Northern Nigeria). *Bull. epizoot. Dis. Afr.*, 1965, **13** : 331-339 (Résumé des auteurs).

A la ferme d'élevage de Shika dans la zone nord de type guinéen en Nigeria du Nord, 8 bovins infectés avec des trypanosomes furent gardés à proximité étroite d'un troupeau de 22 bovins, durant une période de 3 mois.

Le bétail infecté présente une nette parasitémie (*T. vivax* et *congolense*).

On ne trouve pas de tsé-tsé dans cette région. La population de mouches piqueuses consiste essentiellement en espèces *Stomoxys* et *Tabanus*. Malgré des conditions favorables à une transmission mécanique, celle-ci ne se produit pas. Discussion.

Le fait que la transmission mécanique n'ait pas eu lieu suggère que les mouches piqueuses ne jouent pas un rôle important dans l'expansion de l'infection à Shika comme on le supposait. La parasitémie chez le bétail infecté était plus élevée que celle trouvée, par KIRKBY, qui a pu découvrir les parasites seulement après des examens poursuivis de lames de sang (KIRKBY, 1964, communication personnelle). On peut alors conclure qu'il faut être prudent en incriminant la transmission mécanique dans l'étiologie de la trypanosomiase animale. Il est bien connu que même des densités très basses de glossines qui ne sont pas mises en évidence par les procédés courants, peuvent entraîner des dommages considérables. De telles densités faibles des mouches sont en particulier facilement négligées là où il existe pour les mouches un appoint de nourriture facilement atteint comme c'était le cas à Shika. Ceci peut correspondre à beaucoup de cas soi-disant de transmission mécanique, mais dans cette expérience

l'absence des tsé-tsé ne faisait aucun doute. Aucun des animaux ne s'est infecté à la ferme.

Les résultats obtenus ne sont pas seulement d'intérêt scientifique mais aussi d'une valeur pratique élevée, parce qu'il existe encore la possibilité qu'une mouche égarée solitaire puisse s'introduire dans la ferme à la faveur de la circulation sur la grand route. A la lumière de cette expérience il peut paraître invraisemblable qu'un foyer d'infection ainsi provoqué puisse se répandre chez les autres bestiaux par l'intermédiaire des mouches piqueuses. Il est cependant dangereux de tirer des conclusions générales de cette expérience jusqu'à ce que l'on soit plus informé des facteurs qui régissent l'existence de la transmission mécanique. Les expériences de Soltys (1954 Congrès de Pré-

toria) et celles de Lucas (1955) suggèrent d'une façon précise l'éventualité d'une transmission mécanique dans des régions de l'Afrique Orientale. BUXTON (1955) souligne également la transmission de *T. congolense* en l'absence de mouches tsé-tsé dans certaines régions du Soudan. Dernièrement FORD (1964) a fait valoir l'hypothèse que *T. vivax* particulièrement est transmis par des mouches piqueuses, hypothèse basée sur des observations montrant que le long des limites des zones à mouches en Rhodésie la fréquence des infections à *T. vivax* chez le bétail est manifestement plus élevée qu'à l'intérieur des zones à mouches. Il faudra accomplir beaucoup plus de travaux en différentes conditions pour élucider le rôle des mouches piqueuses dans l'expansion des trypanosomiasis.

Alimentation — Carences — Intoxications

135. HALL. (W. T. K.). — **Plantes toxiques en Australie tropicale** (Plant toxicoses of Tropical Australia). *Aust. vet. J.*, 1964, **40** (4) : 176-82.

Plantes dont la toxicité est douteuse :

Gomphrena celosioides Mart., *Lantana camara*, *Cryptostegia grandiflora* (Roxb.) R. Br. ex Lindley ainsi que certaines espèces de *Cycas*, *Pteridium crotalaria*...

Plantes toxiques dont le principe actif a été identifié : *Brachyachne convergens* et certaines espèces de *Trianthema* et *Portulaca*.

136. SHONE (D. K.), DRUMMOND (R. B.). — **Plantes toxiques de Rhodésie** (Poisonous plants of Rhodesia). *Rhodesia agric. J.*, 1965, **62** (4) : 1-64.

Cet article donne pour les 31 espèces retenues de brèves descriptions botaniques accompagnées de nombreuses planches en couleurs et expose les principaux symptômes d'empoisonnement provoqué chez le bétail.

137. KERHARO (J.), ADAM (J. G.). — **Plantes médicinales et toxiques des Peuls et des Toucouleurs du Sénégal** *J. agric. trop. Bot.*

appl., 1964, 11 (10-11) : 384-444 ; (12) : 543-599.

Dans une introduction, les auteurs exposent des idées générales sur les races Peul et Toucouleur, ainsi que sur leurs langues. Vient ensuite l'étude des plantes médicinales avec leur nom scientifique, vulgaire et vernaculaire. L'étude comporte une description botanique des espèces, une description des propriétés que possèdent les plantes avec leur utilisation dans la pharmacopée locale.

Certaines plantes ont été signalées pour leurs propriétés toxiques vis-à-vis du bétail :

Abrus precatorius L.
Cienfuegosia digitata Cav.
Cissus quadrangularis L.
Euphorbia balsamifera Ait.
Tephrosia purpurea Pers.
Tinospora bakis (A. Rich.) Miers.
Sesamum radiatum Schum. et Thonn.

138. GABLIKS (J.) et coll. — **Effets de l'aflatoxine B₁ sur les cultures cellulaires** (Effect of aflatoxin B₁ on cell cultures). *J. Bact.*, 1965, **90** (3) : 720-23.

L'aflatoxine B₁, un métabolite de la moisissure *Aspergillus flavus*, est toxique pour les cultures cellulaires. L'effet toxique est mis en évidence

par une inhibition de la croissance suivie par l'apparition progressive de granulations, l'arrondissement et finalement le détachement des cellules des parois en verre.

L'étude des œufs embryonnés, montre que les embryons de canard sont de 4 à 5 fois plus sensibles que ceux de poules. Sur cultures de cellules hépatiques Chang, il y a diminution du nombre de cellules, des protéines, de l'A. R. N. et de l'A. D. N. par lot de culture, en augmentant la concentration en aflatoxine B₁.

Tandis que le nombre de cellules diminue et que son contenu protéique en A. R. N. et en A. D. N. augmente avec des concentrations croissantes d'aflatoxine, des cellules hypertrophiées sont induites.

Ces faits semblent confirmés par des expériences *in vivo* d'autres chercheurs qui ont trouvé des cellules hypertrophiées avec noyau agrandi dans des études histologiques de tissu de rats et de canetons nourris d'arachides toxiques.

Pâturages et plantes fourragères

139. VILLAX (E. J.). — **La culture des plantes fourragères dans la région méditerranéenne occidentale (Maroc, Portugal, Espagne, Tunisie, Algérie, France).** *Cah. Rech. agron.*, I. N. R. A. Rabat. 1963, 17, 656 p.

L'ouvrage est scindé en 2.

Dans la première partie concernant les généralités, l'auteur expose les principaux problèmes de la production fourragère et de l'élevage dans cette zone. Il traite des différentes techniques culturales des espèces fourragères, ainsi que de leurs caractéristiques écologiques. Dans la deuxième partie, il étudie plus de 700 espèces fourragères au point de vue systématique, description botanique, écologie, valeur fourragère, techniques culturales. De nombreuses espèces décrites sont utilisées dans les régions tropicales.

140. DELHAYE (R. E.) et GRANIER (P.). — **Amélioration de l'alimentation du bétail à Madagascar. Répartition écologique des espèces fourragères.** *Agron. trop.*, 1966, 21 (2) : 162-170.

Cet article très concis est le fruit de la collaboration de l'I. E. M. V. T. et de I. R. A. M.

Un tableau indique les différentes espèces utilisables pour 7 régions climatiques de l'Ile couvrant 6 types de sol.

Les espèces spontanées, base de l'alimentation du bétail, ne sont pas étudiées ici.

Le tableau est complété par : des commentaires sur les espèces étudiées.

Un glossaire des noms communs.

Les familles des différentes espèces.

Leur mode de végétation : annuel, pérenne.

Leur mode d'exploitation : fauche, pâture.

Leur mode de multiplication.

La conduite en exploitation intensive.

Les associations possibles graminées-légumineuses.

L'utilisation en culture de contre-saison.

La résistance des espèces aux gelées.

Les espèces dont on peut se procurer les semences à Madagascar.

141. NOURRISSAT (P.). — **Influence de l'époque de fauche et de la hauteur de coupe sur la production d'une prairie naturelle au Sénégal.** *Agron. trop.*, 1966, 21 (2) : 153-61.

Les essais effectués à Bambey de 1962 à 1964 ont eu pour but de préciser les hauteurs de coupes et les régimes de fauche permettant d'obtenir les meilleurs rendements en matière sèche sur une prairie naturelle (jachère de 10 ans à base de *Pennisetum pedicellatum*).

— Les coupes étaient faites aux hauteurs de 3-6-12 cm.

— 5 régimes de coupes :

1) fauche en début de croissance de l'espèce dominante et fauche en fin de saison des pluies,

2) fauche en pleine croissance et fauche en fin de saison des pluies,

3) fauche au début de l'épiaison et en fin de saison des pluies,

4) fauche au moment de la floraison et en fin de saison des pluies,

5) 1 fauche en fin de saison des pluies.

— Mise en évidence de l'influence de la pluviométrie sur la production.

— Les meilleurs rendements sont obtenus par une fauche unique (5) et par la coupe la plus rase (3 cm). Dans la pratique il vaut mieux une fauche à 6 cm du sol, la production étant à ce moment-là de 3 t de matière sèche à l'ha.

142. POCTHIER (G.). — **Observations effectuées sur des plantes fourragères en Grande Terre (Guadeloupe) juin 1963-septembre 1964.** *Agron. trop.*, 1966, 21 (2) : 171-90.

L'auteur a effectué des essais d'implantations de culture fourragère sur sol basique (calcaire madréporaire).

Il passe en revue le comportement des graminées et légumineuses cultivées en notant les caractéristiques de chaque variété, le rendement, le système d'exploitation, l'influence du système racinaire sur la structure du sol.

Il donne quelques conseils relatifs à la mise en place d'essais de ce genre et indique les espèces les plus intéressantes.

— Fauche : *Tripsacum laxum*, *Pennisetum purpureum* var. Merker.

— Fauche ou pâture : *Panicum maximum* var. Trichoglume, *Cynodon dactylon*, *Glycine javanica*, *Phaseolus atropurpureus*, *Strylosanthes gracilis*, *Centrosema pubescens*, *Medicago sativa* (Du Puits).

— Pâture uniquement : *Cenchrus ciliaris*.

— Légumineuses à graines : *Dolichos lablab*.

Digitaria decumbens, jusqu'alors l'espèce la plus répandue à la Guadeloupe, est attaquée par une virose, et par des pucerons.

143. CREEK (M. J.) et NESTEL (B. L.). — **Effets de deux cycles de temps de pâture sur le poids vif des animaux et sur la composition chimique de l'Herbe de Pangola (*Digitaria decumbens*) à la Jamaïque.** Congrès São Paulo 1965.

Les auteurs ont étudié les effets du temps de pâture de 32 et 40 jours sur la production de poids vif et sur la composition chimique de l'herbe de Pangola. L'essai a porté sur 416 jours de 2 années civiles en utilisant de jeunes bœufs

de 2 ans pâturant sur 27 ha. Les 2 temps de pâtures ont été réalisés sur pâturages identiques.

Pour des temps de pâture de 32 jours le gain de poids vif est supérieur à celui obtenu pour des animaux pâturant pendant 40 jours sur la même parcelle. Les taux de matière sèche et de protéines brutes des parcelles sont les meilleurs pour le plus court temps de pâture.

144. ROSE INNES (R.). — **Concept de « pâturages aériens » dans les savanes arborées de basse altitude** (The concept of the « woody pasture » in low-altitude tropical tree savanna environments). Congrès de São Paulo 1965. Faculty of Agriculture, University of Ghana.

L'auteur étudie les possibilités des pâturages aériens dans la savane arborée du Ghana, pendant la saison sèche.

Il compare les espèces arbustives et les graminées du point de vue appétibilité, coefficient de digestibilité et de la composition chimique.

Coefficient de digestibilité (p. cent) pour les arbres et les graminées des savanes de la Côte du Ghana

	M.S.	Protéines brutes	Cellulose brute	E.N.A.	M.G.	Cendres	M.O.
Griffonia rosaceae	68,7	81,4	59,0	75,0	63,0	55,1	69,8
Baphia papilionaceae	53,8	72,3	32,4	57,5	19,2	36,3	54,4
Grewia tiliaceae	69,5	77,8	53,6	80,8	13,0	52,4	70,3
Antiaris moraceae	64,0	77,5	38,6	73,7	36,2	36,2	67,1
Graminées	53,8	40,4	65,7	55,9			58,7

145. BORGET (M.). — **Les cultures fourragères.** *Agron. trop.*, 1965, 20 (10) : 996-99.

L'auteur fait le bilan des recherches de l'I. R. A. T. en matière de cultures fourragères.

3 étapes dans la recherche sont nécessaires.

1) *Stade d'introduction et des essais de comportement.* On établit des collections où sont testées les espèces choisies.

2) *Stade des essais culturaux.* On cherche à résoudre les problèmes d'implantation des prairies, d'entretien et d'exploitation et du

choix de la place de la culture fourragère dans l'assolement.

3) *Stade des essais avec du bétail.* Les essais de ce genre débutent au Sénégal et à Madagascar.

Premiers résultats 1964 d'essais de charge à Madagascar

	Gain de poids vif/ha/an		Charges moyennes/ha	
	Terres hautes kg	Terres basses kg	Terres hautes kg	Terres basses kg
Prairie semée mixte..	353	448	349	443
Parcours amélioré ..	100	202	180	360
Parcours naturel témoin	47*	104	143*	157

* Charge trop forte puisque le troupeau a perdu du poids.

Espèces fourragères retenues par I. R. A. T.

— Zone soudano-sahélienne :

<i>Cenchrus ciliaris</i>	<i>Clitoria ternatea</i>
— <i>setigerus</i>	<i>Phaseolus atropurpureus</i>
<i>Panicum coloratum</i>	
<i>Andropogon gayanus</i>	

— Zone soudanienne :

<i>Andropogon gayanus</i>	<i>Clitoria ternatea</i>
<i>Melinis minutiflora</i>	<i>Phaseolus atropurpureus</i>
<i>Digitaria valida</i>	<i>Stylosanthes gracilis</i>
— <i>pentzii</i>	
— <i>umfolozi</i>	
<i>Chloris gayana</i>	
<i>Pennisetum purpureum</i>	

— Zone soudano-guinéenne :

Les mêmes espèces plus :	<i>Desmodium intortum</i>
<i>Brachiaria ruziziensis</i>	<i>Glycine javanica</i>
<i>Setaria sphacelata</i>	<i>Stylosanthes gracilis</i>
<i>Tripsacum laxum</i>	<i>Centrosema pubescens</i>
<i>Desmodium decumbens</i>	<i>Pueraria phaseolides</i>

146. STOBBS (T. H.). — **Production animale sur des pâturages enrichis en *Stylosanthes gracilis* et *Centrosema pubescens* en Uganda** (Beef production from Uganda pastures containing *Stylosanthes gracilis* and *Centrosema pubescens*). Congrès São Paulo 1965. Serere Res. Stn Dep. Agric. Uganda.

Les auteurs comparent le gain de poids vif d'animaux sur parcelles de graminées seules et sur parcelles graminées légumineuses. Des essais de fumures sont aussi suivis.

Les 2 légumineuses augmentent la production

animale surtout pendant la saison sèche. Le gain de poids vif par kg/ha/an est : 2.100 kg pour un pâturage de graminées seules, 5.260 kg pour un pâturage de graminées légumineuses et fertilisantes.

147. BORGET (M.). — **Rendements et caractéristiques de 5 graminées fourragères sur sable côtier à Cayenne (Guyane française).** *Agron. trop.*, 1966, 21 (2) : 250-59.

Cette étude a été effectuée avec *Digitaria decumbens*, *Panicum maximum*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria ruziziensis*, *Eleusine indica* sur des sols pauvres à la Station Suzini. L'essai a eu lieu en 1963. Il a fallu faire des apports de fumure de fond 80 u. P et 80 u. K. Après chaque coupe il fut apporté 30 u. N.

Des tableaux indiquent les rendements en matière sèche, en azote, en cellulose, en éléments minéraux ainsi que le coût des apports d'engrais en fonction des U. F. et M. A. D. de ces 5 espèces.

L'essai a mis en évidence la supériorité des rendements en matière sèche/ha et en N/ha de *Brachiaria ruziziensis* sur *Digitaria decumbens*, espèce la plus cultivée dans le pays. *Panicum maximum* a fourni le maximum de coupes. On a constaté la faible teneur de ces espèces en P., Ca et en M. A. D.

148. HILLS (T. L.). — **Les limites savanes-forêts tropicales.** Colloque du Venezuela mai 1964. *Nature et ressources*, 1965, 1 (4) : 5-10.

Cette conférence réunissait de nombreux spécialistes en botanique, écologie, géographie, pédologie, climatologie, palynologie, sciences forestières, agriculture, anthropologie et archéologie dont le principal objet d'étude fut le rôle exact joué par l'homme dans le maintien de l'équilibre de la limite forêt-savane.

La définition du mot savane comme « type de végétation caractérisé par une couche herbeuse parsemée de plantes ligneuses en proportion variable » est simple mais peut comporter des erreurs.

L'origine des savanes est discutée : l'action de l'homme est prépondérante par le défrichement, le feu et le surpâturage, mais elle reste secondaire, les savanes existant déjà avant l'appari-

tion de l'homme (travaux de M. T. Van der HAMMEN sur la Palynologie).

Le climat *prédispose* à la formation de savanes ; la géomorphologie, le réseau de drainage en sont la *cause* ; la formation des latérites en *résulte* et le feu les *maintient*.

De nombreuses propositions de recherches ont été émises en vue d'une meilleure collaboration entre les chercheurs permettant une utilisation efficace des ressources des zones de limite forêt-savane.

149. BRITTO (D. P. P. de S.), ARONOVICH (S.), RIBEIRO (H.). — **Comparaison de 2 variétés de *Pennisetum purpureum* sur 6 intervalles de coupe** (Comparison between 2 varieties of elephant grass (*Pennisetum purpureum*) cut at 6 different intervals). Congrès de São Paulo Jan. 1965 : 4. Inst. Pesq. Exp. Agropec. do Centro-Sul, Brésil.

Les 2 variétés de *Pennisetum purpureum* décrites ont été fauchées après 4, 6, 8, 10, 12 et 14 semaines de temps de repos. La variété B (2,90 m de haut) produit plus de matière sèche que la variété A (3,65 m de haut) sauf pour la coupe après 14 semaines de temps de repos. La différence des rendements est d'autant plus grande que les coupes sont fréquentes. Pour des coupes moins fréquentes, la production fourragère augmente, mais la teneur en protéine des feuilles et des tiges décroît. Les coupes à 4 semaines donnent les meilleurs rendements en protéine/ha.

150. PONS (J. H.). — **Pâturages et bétail au Swaziland** (Pastures and livestock in Swaziland). *World crops*, 1965, 17 (2) : 62-5.

Sur le haut veld (1.050-1.400 m d'altitude), les pâturages naturels résistent bien à la surcharge, mais en dépit d'un brûlage en automne pour encourager la repousse, les pâturages sont en mauvais état après l'hiver. *Eragrostis* et *Lotononis bainesii* sont prometteurs. Les espèces tempérées et le trèfle laineux peuvent être utilisés en pâturage de printemps et d'automne si il y a un supplément d'humidité. Sur le moyen veld (600 m d'alt.), les pâturages répondent aux engrais N. P. Ca. Mo. *Desmodium uncinatum* et *Stylosanthes gracilis* ont été utilisés avec succès pour améliorer les pâturages et on sème avec

Eragrostis curvula, *Paspalum dilatatum* et *Cynodon dactylon*.

Aux basses altitudes (100-300 m), l'élevage dépend de la conservation des pâturages naturels.

151. HENSON (J. B.) et coll. — **Myodégénérescence chez les bovins pâturant des *Cassia* spp** (Myodegeneration in cattle grazing *Cassia* spp.). *J. am. Vet. Med. Ass.*, 1965, 147 : 142-45.

On a constaté des malaises chez les bovins ayant pâturé *Cassia occidentalis* et *C. obtusifolia*.

152. BAUMER (M.). — **Quelques noms vernaculaires et leur utilisation en écologie en Arabie Séoudite**. *J. Agric. Trop. Bot. Appl.*, 1965, 12 (1-3) : 5-22.

Une liste de noms de plantes en latin avec leur équivalent en arabe est donnée pour les différents types de végétation et de sols.

153. SPECK (N. H.) et coll. — **Rapport général sur les terres du Tipperary Area, dans le Territoire du Nord de l'Australie** (General report on lands of the Tipperary Area, Northern Territory (Australie)), 1961. *Ld. Res. Ser. 13 C.S. I.R.O.* 1965 (1907) : 112, bibl., ill., cartes.

Cette région couvre 19.417,5 km² dont 4.660,2 km² de sols cultivables. Les pluies, facteur climatique le plus important, surviennent surtout de décembre à mars pendant l'été et s'échelonnent de 762 à 916 mm. Les pâturages les plus importants (environ 7.760 km²) sont des savanes arborées à grandes graminées : *Sorghum plumosum*, *Themeda australis*, *chrysopogon* spp. et *Setaria nervosum*. On peut y pratiquer un élevage bovin intensif en y associant de petites zones de pâturages améliorés à couper.

Les principales espèces qui peuvent croître sont les sorghos fourragers, le *pennisetum* à massette, le sorgho menu et *Vigna unguiculata* (cowpea) ; les pâturages améliorés avec de la luzerne « Townsville », *Cenchrus ciliaris* (buffel grass) *Cenchrus setigerus* (Birdwood grass) ont donné entière satisfaction. Des recommandations sont fournies pour un élevage sur pâturages améliorés de saison des pluies.

154. WEST (O.). — **Le feu et son utilisation dans l'exploitation des pâturages, en particulier en Afrique tropicale et subtropicale** (Fire in vegetation and its use in pasture management with special reference to tropical and subtropical Africa). Mimeo. Publ. 1/1965 Commonw. Bur. Past. Fld Crops. Farnham Royal : Commonw. Agric. Bur., 1965, 24 × 18 cm., 53 p., 10 s.

Ce livre expose les nombreuses opinions contradictoires au sujet de la pratique des feux, ainsi que les expériences personnelles de l'auteur sur des pâturages naturels de la Station de Recherche de Kawanda (Uganda) et au Nigeria. 199 références bibliographiques accompagnent l'ouvrage. L'auteur analyse les effets du brûlage sur la végétation naturelle, sur la faune sauvage et sur les populations d'insectes.

La technique du brûlage pour le contrôle de la brousse a reçu peu d'échos en Afrique et la recherche dans ce domaine pourrait être très rémunératrice.

155. BONNEMAISON (P.). — **Rapport au Gouvernement du Brésil sur les pâturages et le développement des ressources alimentaires dans le Nord-Est Brésilien**. Rome, F. A. O., 1965, 51 p. Rapport F. A. O./E. P. T. A. : 2000.

Les principaux types de végétation sont passés en revue accompagnés de listes de plantes.

L'étude est approfondie pour les zones d'élevage où sont décrits les pâturages du Sertão.

Les cactées fourragères sont également étudiées.

L'auteur préconise un certain nombre de mesures pour le développement de ces régions.

156. POUSSET (A.). — **La prairie temporaire dans le cadre de l'exploitation agricole**. *Agriculture*, 1966 (288) : 151-57.

La prairie temporaire est une culture d'autant plus difficile que sa production propre n'est pas un but mais un moyen de tirer un plus grand rendement de produit animal à l'hectare, et à un meilleur prix de revient, donc un revenu net plus substantiel, seul objectif final.

Est-ce parce que cet objectif n'a pas été atteint, ou parce que la culture est difficile ou mal adaptée, ou pour toute autre raison, que l'on constate souvent une certaine réticence de la part de l'éleveur devant la prairie temporaire qui finalement n'est pas exploitée selon les techniques qui conduiraient aux meilleurs résultats.

A la suite de ces observations dans l'Ouest de la France l'auteur conclut que la prairie temporaire, moyen d'amélioration de la production animale, doit être mise à la portée pratique de l'éleveur dans le cadre de son exploitation agricole, à condition de procéder par étapes successives : 1) Implantation de prairies temporaires sur de petites surfaces permettant à l'agriculteur de se familiariser avec les techniques culturales tout en conservant le même cheptel qui reçoit ainsi une meilleure alimentation. 2) Sélection du bétail le mieux adapté. 3) Augmentation des surfaces en herbe, au fur et à mesure des possibilités financières et techniques, et accroissement de l'importance du cheptel.

Techniques de Laboratoire

157. WIEME (R. J.). — **Electrophorèse en gel de gélose** (Agar gel electrophoresis). Elsevier 1965, 425 p., 813 réf. bibl.

Cet ouvrage entièrement consacré à l'utilisation du gel de gélose en électrophorèse comprend outre une bibliographie générale importante, une partie de techniques pratiques décrites en détail. Le plan général est le suivant : Chap. 1 :

Quelques aspects physiques de l'électrophorèse. Chap. 2 : Revue des techniques d'électrophorèse utilisant un gel de gélose. Chap. 3 : Description détaillée de trois techniques typiques utilisant le gel de gélose comme milieu électrophorétique. Chap. 4 : Problèmes particuliers. Chap. 5 : Réactions de caractérisation appliquées aux gels de gélose. Chap. 6 : Applications. Cet ouvrage très spécialisé sera apprécié des chi-

mistes et biochimistes et des chercheurs de disciplines variées puisque l'électrophorèse est maintenant pratiquée dans de très nombreux domaines de la biologie.

158. BELCHER (R.). — Progrès récents en Chimie analytique. *Chim. Analyt.*, 1966, **48** (7): 375-78.

Sans faire un exposé complet de toutes les nouvelles méthodes, l'auteur a limité l'exposé aux méthodes non instrumentales.

Il s'agit d'une revue des principales améliorations apportées récemment en analyse organique et minérale où sont successivement examinés la

chromatographie à phase gazeuse, des chélates métalliques, les titrages complexométriques avec de nouveaux complexants comme le TTHA (acide triéthylènetétraminehexacétique), les réactifs spectrophotométriques nouveaux pour les ions pour lesquels on ne disposait pas encore de réactifs satisfaisants, les agents de précipitation tels que le N-benzoylphénylhydroxylamine (BPHA), les nouvelles performances des appareils d'analyse automatique pour le carbone, l'hydrogène et l'azote, les grands progrès dans le dosage direct de l'oxygène enfin l'analyse submicroscopique sur des échantillons de 30 à 50 μg permettant d'identifier les groupes fonctionnels courants et quelques autres.

Chimie biologique

159. TRAN VAN KY (P.), URIEL (J.) et ROSE (F.). — Caractérisation de types d'activités enzymatiques dans des extraits antigéniques d'*Aspergillus fumigatus* après électrophorèse et immunoélectrophorèse en agarose. *Ann. Inst. Pasteur*, 1966, **111** (2) : 161-70.

De nombreux types d'activité enzymatique, oxydo-réductases, estérases, glycosidases et peptidohydrolases en particulier, ont été mis en évidence dans des extraits d'*Aspergillus fumigatus* après leur séparation électrophorétique, combinée avec des réactions spécifiques de caractérisation d'enzymes.

Parmi les antigènes d'*Aspergillus fumigatus* révélés par les immunosérums de lapin, 10 complexes enzyme-anticorps ont été identifiés. Une caractérisation précise des constituants antigéniques des champignons pathogènes semble avoir un intérêt considérable, aussi bien comme moyen diagnostique en mycologie que pour l'étude des processus immunologiques que comportent ces parasitoses. L'étude des relations immunologiques entre différentes espèces mycosiques peut être aussi envisagée par ces méthodes.

L'article est illustré de trois planches de photographies en couleur, intéressantes car elles permettent éventuellement de comparer les résultats obtenus dans divers laboratoires.

L'intérêt de l'étude des antigènes et des cons-

tituants enzymatiques d'un *aspergillus* n'échappera à aucun de ceux qui se penchent sur ce groupe de microorganismes.

160. LEONIS (J.) et coll. — Les composants de l'hémoglobine de poule. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1965, **47** (12) : 2317.

La chromatographie de l'hémoglobine de poule permet d'en isoler deux composants majeurs, P₁ et P₂. Une étude comparative a été entreprise dans le but de préciser leur degré de parenté au niveau structurel et, éventuellement, génétique.

Concernant l'organisation structurale globale, l'hémoglobine de poule se révèle plus résistante aux agents dénaturants (pH, urée, température) que les hémoglobines de Mammifères : P₂ l'est plus encore que P₁. L'étude cinétique a permis d'interpréter ces différences à l'échelle moléculaire, en précisant certains aspects du mécanisme réactionnel. Les deux composants diffèrent également dans leur équilibre de dissociation en milieu acide, observé par ultracentrifugation ; le domaine de pH ainsi que la vitesse et l'étendue du phénomène sont fort dissemblables. Les spectres de dispersion rotatoire indiquant, pour chaque composant, jusqu'à quel degré la configuration moléculaire est sous le contrôle des conditions de milieu.

Sur le plan de la structure covalente, les compositions en amino-acides sont significativement distinctes ; c'est particulièrement le cas pour les résidus de méthionine, isoleucine et histidine. De plus, on décèle quatre valines N-terminales dans P_1 , mais deux seulement dans P_2 , où l'hydrazinolyse révèle en outre deux résidus terminaux N-acétylés. Enfin, la technique du fingerprinting suggère que P_1 et P_2 diffèrent appréciablement par le nombre et la composition de leurs peptides constitutifs ; l'étude approfondie des peptides les plus différenciés sera donc entreprise. Les auteurs proposent de poursuivre les travaux sous l'aspect de la biosynthèse, en comparant notamment l'incorporation de précurseurs dans les deux composants.

161. LABIE (D.), DREYFUS (J. C.) et SCHAPIRA (G.). — **Sur une nouvelle fraction mineure de l'hémoglobine normale individualisée par ses caractères chromatographiques et métaboliques (Hémoglobine A_3)**. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1965, 47 (11) : 1963-77, 7 fig., 4 tabl., 25 réf.

Les auteurs ont pu individualiser chez le lapin et chez l'homme une nouvelle hémoglobine normale caractérisée par son comportement chromatographique et biologique. Après chromatographie sur échangeur de cations Amberlite IRC 50 à 4-6°, l'élution sépare successivement :

1. Une fraction mineure correspondant à l'hémoglobine A_3 .
2. Un pic principal d'hémoglobine A_1 .
3. Après réchauffement de la colonne, la fraction mineure nouvelle, pure chez le lapin, mélangée à l'hémoglobine A_2 chez l'homme. La nature hémoglobinique de cette fraction a été démontrée. Aucune différence de structure primaire avec celle de l'hémoglobine A_1 n'a pu être mise en évidence. Après incorporation de ^{59}Fe ou de glycine ^{14}C , l'activité spécifique de cette fraction mineure varie en fonction du temps : au début plus élevée que A_1 , ultérieurement plus basse. La signification métabolique de ces observations est discutée.

Le terme d'Hémoglobine A_4 est proposé pour cette fraction nouvelle.

Revue des Rapports Annuels

162. **Institut Nigérien de recherches sur les trypanosomiasés. Rapport annuel 1964** (Nigerian Institute for trypanosomiasis research, annual report 1964), anciennement West African Institute for trypanosomiasis research.

Aperçu général des différents travaux de recherche.

Protozoologie.

Quand les trypanosomes transmis par la tsé-tsé sont cultivés sur des milieux artificiels ils reviennent à la forme *crithidia* existant chez la mouche ; des quantités substantielles de formes existant dans le courant sanguin des mammifères n'ont jamais poussé au laboratoire. Il faut espérer que le travail sur les changements physiologiques et structuraux qui surviennent au cours du développement cyclique puisse conduire à une meilleure compréhension des facteurs inclus dans ce processus et finalement

à la culture réussie *in vitro* des formes sanguines chez les mammifères. Beaucoup de points de vue de la recherche sur les trypanosomiasés seraient bénéfiques si l'on pouvait obtenir dans les milieux artificiels une forte reproduction des formes sanguines.

L'on a apporté la preuve récemment au moyen de cultures sanguines que *Trypanosoma theileri* se présente fréquemment chez le bétail de Nigeria, bien qu'en nombre trop restreint pour être mis en évidence par les examens microscopiques courants. Puisque ce parasite pousse plus facilement sur les milieux artificiels que les espèces transmises par les tsé-tsé, il peut être d'une certaine valeur en nous fournissant de plus amples informations sur la culture des trypanosomes au laboratoire.

Alors que l'on reconnaît que le kinétoplaste est un dépositaire important du matériel génétique, les souches akinetoplastiques peuvent se

multiplier et se maintenir même en compétition avec les souches normales. Pour obtenir une meilleure compréhension des phénomènes de reproduction chez le trypanosome cela nécessitera des études ultérieures portant sur le mécanisme de leur division et sur le rôle du kinétoplaste. Trois enquêtes récentes sur la disparition du kinétoplaste chez *T. brucei* par traitement médicamenteux, aux stades de mitose de cette espèce et sur le maintien d'une souche isolée akinétoplastique de *T. evansi* sont toutes reliées à ce problème particulier.

L'importance des études sur le métabolisme des trypanosomes a été soulignée dans le rapport annuel 1963, qui relate le début d'un programme de recherches sur les lipides des différentes espèces, en employant la chromatographie en couche mince. Différentes difficultés techniques ont ralenti ce travail à ses débuts, mais ont été peu à peu surmontées et l'enquête fait maintenant des progrès rapides.

C'est un lieu commun de dire que l'identité des hôtes sur lesquels s'alimentent les tsé-tsé influe sur les espèces de trypanosomes qui les infectent, mais une analyse récente des observations de l'Institut a établi une corrélation directe entre le pourcentage des repas sur bovins et la fréquence des infections trypanosomiennes chez la mouche. L'enquête sur les trypanosomes infectant *Glossina tachinoïdes* en différentes régions de Nigeria s'est poursuivie et un autre travail dans cet ordre d'idée a compris des observations sur l'effet des repas sanguins en provenance de différents hôtes sur les infections à *T. vivax* chez *G. palpalis* et une étude au développement de *T. vivax* chez cette espèce de mouche.

Enquêtes sur le terrain.

Une enquête sur la trypanosomiase au Bornou a montré une différence marquée entre le bétail nomade contraint de chercher des pâturages dans un pays infesté de tsé-tsé pendant la saison sèche et le bétail appartenant aux villageois dont aucun animal ne s'est infecté.

Des enquêtes sur le bétail nain sans bosse (N'Dama et Moutourou) de deux fermes gouvernementales a mis en évidence un faible pourcentage de trypanosomiase, dû sans aucun doute à l'éclaircissement fortuit de l'habitat de

la tsé-tsé fait au fur et à mesure du développement des fermes. Un des buts principaux de ces fermes était d'obtenir pour les éleveurs un bétail résistant dans des régions infestées par les tsé-tsé. Puisque ces animaux doivent s'infecter dans leur jeune âge pour pouvoir acquérir leur entière résistance potentielle à la trypanosomiase, il ne s'ensuit pas d'avantage découlant de la qualité particulière de ces variétés de bétail. Dans le cas du troupeau N'Dama, cette difficulté a été surmontée en administrant au bétail une injection unique d'un produit prophylactique avant leur sortie. Cependant si le traitement médicamenteux doit être adopté, c'est pour savoir si d'autres variétés de bétail, probablement plus productif, ne pourraient pas être introduites dans cette région d'une façon profitable.

Une autre enquête à Ilorin a confirmé la fréquence élevée de la Trypanosomiase chez le bétail marchand quand il atteint cet endroit.

Pathologie clinique.

Cette année nous a apporté les conclusions des expériences sur des infections transmises par les tsé-tsé chez le chimpanzé par *T. gambiense* et *T. rhodesiense* organismes responsables de la maladie du sommeil chez l'homme et par *T. brucei* qui n'infecte pas l'homme. Les souches utilisées de *T. brucei* et de *T. rhodesiense* ont l'une et l'autre provoqué un syndrome aigu et sévère, tandis que celle de *T. gambiense* a donné naissance à une infection bénigne.

Les chercheurs d'Afrique Occidentale francophone ont ces dernières années apporté beaucoup d'attention à l'importance du diagnostic de la maladie du sommeil reposant sur un accroissement de la fraction IgM des protéines du plasma. Bien qu'il soit prouvé que cette modification n'est pas pathognomonique de la maladie du sommeil elle est néanmoins d'une aide importante au point de vue diagnostic et à l'Institut l'on a apporté une attention particulière au développement des techniques nécessaires dans cette étude. En même temps le travail se poursuit relativement à d'autres modifications de la composition chimique du sang au cours de la trypanosomiase humaine, avec le projet de perfectionner les méthodes de diagnostic et éventuellement de fournir de nouvelles indications à la chimiothérapie.

L'on a terminé des observations sur deux animaux infectés expérimentalement par *T. brucei* pour étudier la pathogénicité de ce trypanosome chez le bœuf. L'on avait mentionné dans le dernier rapport annuel qu'une infection s'était terminée par une guérison spontanée. Le deuxième animal est mort par la suite après avoir présenté des symptômes nerveux, suggérant l'invasion du système nerveux central par les trypanosomes et l'on doit faire quelques réserves au sujet de la nature habituellement bénigne des infections du bétail par *T. brucei*. Des recherches concernant un trypanosome du groupe *congolense* isolé d'un mouton après chimiothérapie et que l'on diagnostiquait à l'origine *T. simiae*, y compris son inoculation à divers hôtes, ont permis de conclure que c'était un *T. dimorphon* quelque peu aberrant, type *congolense*.

Le métabolisme des parasites du sang comme les trypanosomes est inévitablement étroitement lié à la composition chimique du sang de leurs hôtes. On a tiré avantage de la récente et heureuse application de la chromatographie en couche mince pour l'analyse de la teneur en lipides des trypanosomes, pour appliquer cette technique aux taux en lipide du sang chez le bétail. Ces deux enquêtes sont étroitement reliées, de telle sorte que l'on peut tenter d'observer toute corrélation entre les changements qui surviennent dans les lipides du sang du bétail au cours de l'infection et ceux notés chez les trypanosomes infectants.

Ces dernières années l'on a fait beaucoup de travail de laboratoire à l'Institut sur l'immunologie des infections à *T. brucei* et au cours des douze derniers mois on a commencé à mettre en application sur le terrain les connaissances ainsi acquises. Un but de ces études est d'examiner la possibilité d'établir une classification sur une base immunologique de souches isolées de *T. brucei*.

L'examen des caractéristiques antigéniques de souches isolées de *T. brucei* en provenance de plusieurs localités de Nigeria a montré qu'elles étaient largement différentes. Cependant la comparaison des souches recueillies dans un certain troupeau à celles obtenues du même troupeau deux ans auparavant a eu pour résultat l'identification d'un organisme apparemment identique dans les deux groupes.

Un premier essai a été également fait en relation avec l'enquête sur le bétail marchand à Ilorin (mentionné à l'enquête sur le terrain), pour relier l'état des anticorps des animaux à leur taux d'infection. La recherche à ce sujet est obligatoirement par nature à long terme mais est d'importance fondamentale si la connaissance de l'immunologie doit être mise en pratique dans la lutte contre les trypanosomiasés.

Il a paru possible que l'abondante fréquence de *T. theileri* chez le bétail puisse être liée aux résultats des tests immunologiques concernant les trypanosomes transmis par les tsé-tsé. Cependant une expérience poursuivie à Vom chez du bétail infecté n'a pu mettre en évidence une telle réaction croisée.

Chimiothérapie.

Le succès apparent d'une série unique de trois injections quotidiennes de Mel W pour le traitement des cas précoces de maladie du sommeil, mentionné dans le précédent Rapport annuel, s'est confirmé à la suite d'un examen de contrôle deux ans après le traitement. Cependant quand l'affection était complètement avancée, ce régime était inefficace et un traitement différent était nécessaire.

Une expérience a été entièrement réalisée chez le mouton traité par l'antricyde (prophylactique) pour déterminer si les infections survenant après le traitement par médicaments prophylactiques sont attribuables à des trypanosomes capables de s'établir chez l'hôte aussitôt après le traitement et par la suite de se multiplier quand baisse la concentration du médicament ou s'il existe une période suivant le traitement où l'infection ne peut survenir et c'est seulement quand la concentration du produit tombe au-dessous d'un niveau critique que les parasites peuvent établir une infection. Les résultats indiquent jusqu'ici que c'est la deuxième hypothèse qui est correcte.

La présence de trypanosomes chimio-résistants a été observée dans des régions où se pratique le traitement collectif du bétail et comme un degré de résistance croisée à d'autres médicaments se développe souvent en même temps, il existe une sérieuse menace pour la réussite de la lutte contre la trypanosomiasé au moyen de la chimiothérapie. Il faut souhaiter que les résultats d'une expérience qui vient de

débuter récemment dans le but d'obtenir de plus amples informations à ce sujet et également sur la transmission de souches chimio-résistantes par les tsé-tsé apportent une utile contribution aux connaissances nécessaires pour combattre ce danger.

Entomologie.

L'importance des études écologiques pour une compréhension des besoins nécessaires à la survie de la mouche et de là à l'élaboration des méthodes de lutte nécessite que ces études occupent une place de premier choix dans le programme de recherche de l'Institut. Une série d'observations relatives à *G. morsitans submorsitans* dans la zone de végétation de savane guinéenne vient d'être récemment terminée et l'on se propose actuellement de commencer une enquête plus étendue basée principalement sur les résultats déjà obtenus. Le travail se poursuit relativement à la distribution et à l'éthologie de *G. tachinoïdes* dans une grande variété d'habitats et un rapport d'ensemble vient d'être rédigé sur l'étude à long terme des fluctuations naturelles d'une population non modifiée de *G. palpalis*.

Les chercheurs ont à l'Institut apporté une contribution notable à la connaissance de la grande forêt ou du groupe *fusca* des tsé-tsé. Un rapport récent concerne la distribution en Afrique Occidentale des variétés de l'espèce type *G. fusca*. Les études continuent également relativement à la taxonomie de *G. tachinoïdes* et

l'on a trouvé des différences structurales marquées entre des populations isolées de cette mouche. L'on a fait un essai préliminaire pour étudier les chromosomes des glossines et quand nous disposerons d'un personnel supplémentaire nous avons l'intention de résumer ce travail, qui pourrait présenter des informations valables pour des études taxonomiques.

L'application des insecticides est actuellement la principale méthode de lutte contre les glossines. Des recherches sur l'efficacité de nouveaux produits pour leur emploi sur le terrain, le choix de formules satisfaisantes et des études sur les méthodes d'emploi relèvent entièrement de la lutte par les insecticides et constituent une partie importante de l'effort de recherche de l'Institut. Des travaux sont en cours pour tester la persistance d'insecticides variés sur différentes surfaces en utilisant des techniques à la fois chimiques et biologiques. Il n'est pas possible d'obtenir en nombre suffisant des mouches tsé-tsé pour tous les tests biologiques nécessaires et l'on étudie la possibilité d'employer d'autres espèces de mouches qui s'élèvent mieux au laboratoire. Certaines études ont été faites concernant les effets de quantités subléthales d'insecticides sur les glossines. La possibilité de souches résistantes de tsé-tsé se créant par contact avec de tels dépôts requiert des recherches supplémentaires puisqu'elles peuvent compromettre la réussite des mesures de lutte et l'on se propose de mettre à exécution un plus grand programme de travail à ce sujet.

Bibliographie

163. LANG (L.). — **Spectre d'absorption dans l'ultraviolet et le visible** (Absorption spectra in the ultraviolet and visible region), 1965-1966, 6, 442 p., fig. et tabl., Maison d'édition de l'Académie des Sciences de Hongrie, Budapest.

Ce volume est le 6^e de la collection. Comme les cinq qui l'ont précédé il est présenté sous forme d'un robuste classeur comportant des feuillets mobiles, dont le recto représente la courbe d'absorption du composé étudié, avec sa formule développée, et le verso indique ses

principales caractéristiques (formule brute, point d'ébullition ou point de fusion), les conditions expérimentales (nature du solvant, concentration, appareil utilisé, épaisseur de la cuve) et un tableau donnant $\log I_0/I$ selon la concentration en fonction de la longueur d'onde.

Le nombre des chimistes qui s'intéressent aux méthodes d'identification et d'analyse par absorption s'accroît sans cesse et ces tables, en simplifiant leurs recherches, leur rendront les plus grands services. Parallèlement, le nombre de collaborateurs qui, avec le Professeur LANG, participent à l'élaboration des spectres destinés

à être publiés dans cette collection, s'est également accru ; ainsi 31 collaborateurs, appartenant à différents pays, ont contribué à cette publication étudiant 197 composés.

164. AGRICULTURE, FISHERIES and FOOD (MINISTRY). — **Animal health. A centenary, 1865-1965. A centenary of endeavour to control diseases of animals.** London, Her majesty's stationery Office, 1965, XVIII-396 p.

Dans ce livre, le Service de la Santé Animale du Ministère Britannique de l'Agriculture, des Pêches et de l'Alimentation commémore le centenaire de la création du Service Vétérinaire du Conseil privé, son prédécesseur et fait le bilan d'un siècle de réalisations substantielles dans le domaine de la lutte contre les fléaux de l'élevage.

La première partie de l'ouvrage est une rétrospective divisée en deux périodes précédant et suivant la première guerre mondiale. On y décrit les divers stades par lesquels la Grande-Bretagne a évolué, à partir d'une époque où la connaissance des maladies relevait de la superstition médiévale et où l'organisation sanitaire était absente, pour arriver au point actuel où elle a une réputation bien établie d'efficacité et où la recherche menée au Laboratoire Central de Weybridge est de réputation mondiale.

La seconde partie décrit les efforts accomplis par le Service dans la lutte contre les principales épizooties, tant dans le domaine de l'organisation sanitaire que dans celui de la recherche.

Elle se subdivise en une étude détaillée des maladies contagieuses d'importance économique puis en un exposé des règlements sanitaires, en une description des actions entreprises dans le domaine de l'hygiène des aliments d'origine animale et de l'amélioration du cheptel, enfin, sujet cher aux britanniques, en une étude des mesures prises pour la protection des animaux familiers domestiques et même sauvages.

Un chapitre particulier est consacré aux laboratoires vétérinaires nationaux (Weybridge-Lasswade) et au Service de Recherches Vétérinaires dont les centres principaux sont à Aberystwyth, Bangor, Bristol, Cambridge, Leeds, Newcastle, Reading et Wye, service chargé surtout de la vulgarisation. Dans ce chapitre

sont exposés les différents domaines de la recherche vétérinaire en Grande-Bretagne : bactériologie, virologie, parasitologie, biochimie, diagnostic, aviculture et pathologie aviaire, pathologie de la reproduction, normalisation des produits biologiques. Pour chacun de ces domaines l'orientation des recherches et les options principales sont discutées.

La troisième partie replace l'organisation sanitaire vétérinaire britannique dans son contexte international et décrit ses rapports avec l'Association Mondiale des Vétérinaires, l'Office International des Epizooties, l'O. A. A. et l'O. M. S.

Enfin, le dernier chapitre est consacré aux principes d'organisation de la médecine vétérinaire préventive : recherche des structures et du personnel les plus efficaces, orientation à donner à la recherche pour améliorer les méthodes de lutte, recherche de méthodes de vulgarisation, critères de classement des problèmes sanitaires par ordre de priorité.

165. SOJKA (W. J.). — ***Escherichia coli* in domestic animals and poultry** (*Escherichia coli* chez les animaux domestiques et la volaille). Review series n° 7 of the Commonwealth Bureau of Animal Health, 1965. Commonwealth Agricultural Bureaux Farnham Royal, England.

Voici un traité qui rendra les plus grands services à tous les vétérinaires, microbiologistes et pathologistes, qui désireront aborder l'étude des colibacilloses animales ou simplement poursuivre leurs recherches en gagnant du temps, puisque ce livre constitue la revue la plus complète publiée à ce jour sur le sujet.

L'ouvrage comprend trois parties distinctes :

1. L'étude du germe causal, avec la définition du groupe des *Escherichia*, les caractères biochimiques et sérologiques d'*E. coli* ainsi qu'un certain nombre de propriétés ou de phénomènes observés avec ce germe (colicines, hémolysines, transduction, transformation, recombinaison, etc.).

2. La pathologie des colibacilloses dans la série animale, espèce par espèce (les affections provoquées par *E. coli* chez l'homme sont brièvement rappelées).

3. Enfin une revue des techniques de laboratoire recommandées pour l'étude de ce germe,

très utile surtout pour l'analyse antigénique et la sérotypie des souches.

Une bibliographie importante, divisée en parties jointes à chacun des chapitres, complète ce livre qui présente, à nos yeux, l'avantage important de rassembler tout ce qui intéresse aussi bien le vétérinaire praticien que le bactériologiste ou le technicien de laboratoire.

L'aide apportée est considérable pour ces deux derniers surtout en matière de sérologie car la complexité de la composition antigénique d'*E. coli* impose à qui veut s'y retrouver, l'emploi de méthodes bien définies qui, jusqu'alors, n'avaient jamais été publiées sous forme d'une telle synthèse.

Ce livre deviendra, et est déjà devenu, un classique.

166. DEEG (E.) et RICHTER (H.). — **Glas im Laboratorium** (Le verre au laboratoire), 160 p., 74 fig. et 54 tabl. Editio Cantor KG. Aulendorf l. Wurtt.

C'est par une citation extraite d'un ouvrage du XVI^e siècle que l'auteur définit le mieux l'objet de ce livre consacré au verre dans les laboratoires : « les qualités du verre ne résident pas seulement dans les matières premières qui le constituent, mais aussi dans l'art de la fusion ».

Après une introduction faisant l'historique du verre, l'auteur traite, au premier chapitre, des diverses propriétés du verre en tant que matériau; les appareils et instruments en verre pour laboratoire, l'élaboration, le soufflage du verre, ainsi que la construction des appareillages en verre font l'objet des chapitres deux, trois, quatre et cinq tandis que la fusion verre-métal et un certain nombre d'indications pour l'utilisation, la transformation du verre et l'entretien des instruments de laboratoire font l'objet des deux derniers chapitres.

167. « **Immunechemie** » (Immunochimie) 15. — Colloquium der Gessellschaft für Physiologische Chemie am 22/25 April 1964 in Mosbach/Baden. Springer Verlag édit. Berlin, Heidelberg, New York, 1965, 1 vol., 381 p.

Ce livre est la publication des communications faites à Mosbach au 15^e colloque sur l'Immunochimie; il représente une mise à jour bien documentée et l'on retrouve parmi les signataires presque tous les spécialistes mondiaux.

Les problèmes de diffusion sur gel (O. OUCHTERLONY) d'Immunoélectrophorèse (P. GRABAR) (W. RAPP) et d'Immunoprécipitation (H. G. SCHWICK) sont traités dans la première partie. Un ensemble d'articles sur le thème de la spécificité antigénique présente les substances de groupe, divers antigènes bactériens et les protéines enzymatiques. L'antigénicité est étudiée à l'aide de polypeptides synthétiques. La structure et la formation des anticorps font l'objet de quatre communications dans lesquelles sont abordées, entre autre problème, celui du plissement et du déplissement des globulines gamma. Trois articles sur le complément fournissent les dernières acquisitions sur ce chapitre de l'Immunochimie. L'ouvrage se termine par une étude des problèmes de la vie sans germe (G. F. SPRINGER et R. E. HORTON).

Les articles sont pour la plupart rédigés en allemand. Les nombreuses illustrations sont remarquablement exécutées, ce qui, joint à une impression très soignée, rend agréable la lecture de ce livre.

168. FREEMAN (S. K.). — **Interpretive spectroscopy**. — New York, Reinhold Publ. Co., 1965-1966, 6, 295 p. nombr. fig. et tabl.

L'emploi des techniques spectrales est aujourd'hui devenu courant pour compléter telle ou telle analyse chimique dans l'étude des structures en chimie biologique ou organique. Mais l'interprétation de ces spectres est souvent bien obscure et leurs limites souvent ignorées. Il est, en outre, utile de disposer de plusieurs spectres différents, IR, spectre de masse, etc., pour compléter les investigations et obtenir des renseignements plus précis. Différents spécialistes exposent dans ce livre les principes et les applications des spectroscopies IR et UV, de la spectrométrie de masse, de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire, dont ils illustrent les avantages et les possibilités à l'aide d'exemples.

ERRATUM

Dans le n° 3, tome XIX, 1966, page 384, légende de la figure III b

au lieu de : Virus intercellulaires
lire : Virus intracellulaire.

TABLE DES MATIÈRES

Année 1966

ALIMENTATION. CARENCES. INTOXICATIONS

31. CLAUSEN (H.). — Les besoins protéiniques des porcs à viande en croissance.....	1	108
32. COLOVOS (N. F.), KEENER (H. A.), DAVIS (H. A.). — L'urée favorise-t-elle l'utilisation de la cellulose de la ration du bétail laitier ?.....	1	109
33. HILL (F. W.). — L'utilisation, par les poussins, de l'énergie pour la croissance.....	1	110
34. KLEIBER (M.). — Choix de l'unité pour la mesure de l'énergie des aliments.....	1	110
35. WITT (M.). — Essais d'engraissement de veaux à l'Institut Max Planck de Zootechnie.....	1	111
36. WEGNER (R. M.). — Méthodes utilisées pour l'appréciation des aliments pour volailles	1	111
BOUDERGUES (R.), CALVET (H.), DISCACCIATI (E.), CLICHE (Mme M.). — Note sur la présence d'aflatoxine dans les fanes d'arachides	4	567
CALVET (H.), BOUDERGUES (R.), DISCACCIATI (E.), CLICHE (Mme M.). — Note préliminaire sur les effets expérimentaux de l'aflatoxine chez les bovins tropicaux. Effets de l'aflatoxine sur la vache laitière et sur le jeune nourri à la mamelle	4	545
135. HALL (W. T. K.). — Plantes toxiques en Australie tropicale.....	4	591
136. SHONE (D. K.), DRUMMOND (R. B.). — Plantes toxiques de Rhodésie.....	4	591
137. KERHARO (J.), ADAM (J. G.). — Plantes médicinales et toxiques des Peuls et des Toucouleurs du Sénégal.....	4	591
138. GABLIKS (J.), SCHAEFFER (W.), FRIEDMAN (L.) et WOGAN (G.). — Effets de l'aflatoxine B ₁ sur les cultures cellulaires.....	4	591
151. HENSON (J. B.) et Coll. — Myodégénérescence chez les bovins pâturant des <i>Cassia</i> spp	4	595

BIBLIOGRAPHIE

39. Les applications du froid en pays tropical.....	1	114
40. Les techniques frigorifiques dans les pays chauds en voie de développement.....	1	115
79. Rapport final de la première Conférence technique de l'organisation de coordination et de coopération pour la lutte contre les grandes endémies en Afrique centrale (O. C. C. G. E. A. C.).....	2	260
80. LISSOT (G.). — Tu seras Aviculteur.....	2	262
81. PICCIONI (M.). — Dictionnaire des aliments pour les animaux.....	2	262
114. RENOUX (G.) et GAUMONT (R.). — Pathologie de la production du lait. II. Méthodes de diagnostic biologique des brucelloses animales.....	3	435
115. LEPINE (P.), CADILLON (J.) et CHAUMONT (L.). — Manuel des inoculations et prélèvements chez les animaux de laboratoire.....	3	435
116. PINCUS (G.). — The control of Fertility.....	3	435
117. REICHENBACH-KLINE (H.) et ELKAN (E.). — The principal diseases of lower vertebrates.....	3	436

163. LANG (L.). — Absorption spectra in the ultraviolet and visible region.....	4	601
164. Agriculture, Fisheries and Food (Ministry). — Animal health. A centenary 1865-1965. A centenary of endeavour to control diseases of animals.....	4	602
165. SOJKA (W. J.). — <i>Escherichia coli</i> in domestic animals and poultry.....	4	602
166. DEEG (E.) et RICHTER (H.). — Glas im Laboratorium.....	4	603
167. Immunechemie 15. — Colloquium der Gessellschaft für Physiologische Chemie am 22/25 April 1964 in Mosbach/Baden.....	4	603
168. FREEMAN (S. K.). — Interpretive spectroscopy.....	4	603

CHIMIE BIOLOGIQUE

77. EFREMOV (G.) et BRAEND (M.). — Différences entre les globines bovines.....	2	260
78. GILLON (Y.) et GILLON (D.). — Recherche d'une méthode quantitative d'analyse du peuplement d'un milieu herbacé.....	2	260
112. SCHNEK (A. G.), PAUL (C.), HENRY (N.) et LEONIS (J.). — Comparaison des hémoglobines chez les oiseaux.....	3	434
113. KOCH (H. J.), BERGSTROM (E.) et EVANS (J. C.). — Les hémoglobines du Saumon atlantique : <i>Salmo salar</i> L.	3	434
159. TRAN VAN KY (P.), URIEL (J.) et ROSE (F.). — Caractérisation de types d'activités enzymatiques dans des extraits antigéniques d' <i>Aspergillus fumigatus</i> après électrophorèse et immunoélectrophorèse en agarose.....	4	597
160. LEONIS (J.), HENRY (N.), PAUL (C.) et SCHNEK (A. G.). — Les composants de l'hémoglobine de poule.....	4	597
161. LABIE (D.), DREYFUS (J. C.) et SCHAPIRA (G.). — Sur une nouvelle fraction mineure de l'hémoglobine normale individualisée par ses caractères chromatographiques, et métaboliques (Hémoglobine A ₄).....	4	598

CHIMIOTHÉRAPIE. THÉRAPEUTIQUE

GRABER (M.) et GRAS (G.). — Etude de l'activité anthelminthique et de la toxicité de quelques composés organiques de l'étain.....	1	7
GRAS (G.). — Activité anthelminthique du diacétate de plomb dibutyle.....	1	15
8. FITZGERAD (P. R.). — Résultats des injections parentérales d'ookystes sporulés et non sporulés d' <i>Eimeria bovis</i> chez les bovins.....	1	99
21. BOISVENUE (R. S.) et HENDRIX (J. C.). — Activité prophylactique du Yomesan dans les infestations expérimentales à <i>Raillietina cesticillus</i> chez le poulet.....	1	104
28. BARNETT (S. F.). — La chimiothérapie de l'infection à <i>B. bigemina</i> chez les bovins....	1	106
42. BROWN (R. D.). — L'effet du chlorhydrate d'oxytétracycline (Terramycine) sur l'évolution de la peste bovine.....	2	243
48. BROWN (R. D.). — L'effet du chlorhydrate d'oxytétracycline (Terramycine) sur l'évolution du coryza gangréneux des bovidés.....	2	245
57. GRABER (M.). — Action d'un nouvel anthelminthique, le 14.015 R. P., sur divers cestodes des animaux domestiques de la République du Tchad. 1) <i>Anoplocephalidae</i> du mouton.....	2	250
GRABER (M.). — Action d'un nouvel anthelminthique, le Tétramisole (16.535 R. P.) sur divers helminthes du mouton de la République du Tchad.....	3	283
97. HILL (J.). — Recherches sur l'Isoméтамidium : les effets de l'Isoméтамidium, l'Homidium et le Pyrithidium sur le pouvoir infectant des Trypanosomes chez la souris.....	3	429

101. AKLILU (L.). — Rapport préliminaire sur les propriétés molluscicides de l'endod (<i>Phytolacca dodecandra</i>).....	3	430
102. BALL (S. J.). — Résistance à la glycarbylamide et à la 2 chloro 4 nitro-benzamide d' <i>Eimeria tenella</i> chez le poulet.....	3	431
GRABER (M.). — Etude du pouvoir anthelminthique du Tétramisole (16.535 R. P.) sur divers helminthes du zébu de la République du Tchad.....	4	511
GRABER (M.). — Etude dans certaines conditions africaines de l'action antiparasitaire du thiabendazole sur divers helminthes des animaux domestiques. II. Dromadaire.....	4	527

ENTOMOLOGIE

GRUVEL (J.) et BALIS (J.). — Essai d'élevage de <i>Glossina tachinoïdes</i> W. au laboratoire.....	1	21
ITARD (J.) et MAILLOT (L.). — Notes sur un élevage de Glossines (<i>Diptera-muscidae</i>) entrepris à partir de pupes expédiées d'Afrique, à Maisons-Alfort.....	1	29
22. MOREL (P. C.). — Description des <i>Ixodes brumpti</i> n. sp. (Acariens, <i>Ixodoidea</i>) des Damans du Harrar (Ethiopie).....	1	104
23. MOREL (P. C.) et MOUCHET (J.). — Les tiques du Cameroun (<i>Ixodidae</i> et <i>Argasidae</i>) (2 ^e note).....	1	104
24. JORDAN (A. M.). — Observations sur l'écologie de <i>Glossina morsitans submorsitans</i> Newst. dans la savane guinéenne septentrionale de la Nigeria du Nord.....	1	104
25. NASH (T. A. M.) KERNAGHAN (R. J.). — Forte proportion de morts précoces parmi les femelles non fécondées de <i>Glossina austeni</i>	1	105
26. NASH (T. A. M.) et KERNAGHAN (R. J.). — Danger des pulvérisations de résine à la mélamine sur des cages en bois pour insectes.....	1	105
27. HARLEY (J. M. B.). — Cycles d'activité de <i>Glossina pallidipes</i> Aust., <i>G. palpalis fuscipes</i> Newst. et <i>G. brevipalpis</i> Newst.....	1	105
GRUVEL (J.). — Les Glossines vectrices des Trypanosomiasés au Tchad.....	2	169
59. RAJAGOPAL (P. K.) et BURSELL (E.). — L'effet de la température sur la consommation en oxygène des pupes de tsé-tsé.....	2	250
60. ROBINSON (G. G.). — Note sur les gîtes de repos nocturnes de <i>Glossina morsitans</i> Westw. en République de Zambie.....	2	251
61. VATTIER (G.). — Etude de caractères morphologiques et anatomiques en relation avec l'âge physiologique des femelles de glossines.....	2	251
62. NASH (T. A. M.) et KERNAGHAN (R. J.). — Le poids et la viabilité des pupes de <i>Glossina austeni</i> en relation avec les conditions fournies pour le développement nymphal.....	2	251
63-1. KIMBER (C. D.) et HARLEY (J. M. B.). — Une membrane en fibrine pour l'alimentation des glossines.....	2	252
63-2. HARLEY (J. M. B.). — Périodes interlarvaires et périodes nymphales chez <i>G. pallidipes</i> , <i>G. palpalis fuscipes</i> et <i>G. brevipalpis</i>	2	252
63-3. SAUNDERS (D. S.). — La composition des échantillons de diptères hématophages en fonction du lieu et de la méthode de capture.....	2	252
63-4. HARLEY (J. M. B.). — Etude de l'âge et du taux d'infestation des glossines.....	2	253
63-5. HARLEY (J. M. B.). — Cycles d'activité des glossines à Lugala.....	2	254
63-6. HARLEY (J. M. B.). — Etudes sur le cycle de la faim chez <i>G. pallidipes</i> à Lugala.....	2	254
ITARD (J.). — Cycle de l'oogenèse chez les femelles de <i>Glossina tachinoïdes</i> West. et détermination de l'âge physiologique.....	3	331
MAILLOT (L.). — Glossine et végétation. Indications de l'éclaircissement sélectif et de l'utilisation des insecticides.....	3	415

- MOREL (P. C.). — Etude sur les tiques du bétail en Guadeloupe et Martinique. I. Les tiques et leur distribution (Acariens, *Ixodoidea*)..... 3 307
100. WALKER (J. B.). — *Rhipicephalus carnivoralis* n. sp. (*Ixodoidea*, *Ixodidae*). Une nouvelle espèce de tique de l'Est africain..... 3 430
105. HARLEY (J. M. B.). — Fréquence saisonnière et variations diurnes de l'activité chez quelques *Stomoxys* et *Tabanidae* de l'Uganda..... 3 432

INDUSTRIES ANIMALES

- RIVIERE (R.) et CLEMENSAT (J.). — Les laits tropicaux. Etude de la composition chimique et des variations de composition des laits de vaches au Mali..... 2 213

MALADIES MICROBIENNES

1. PRASAD (L. B. M.) et AHMAD (M. M.). — Salmonellose post-vaccinale chez les bufflons 1 97
2. PRINCEWILL (T. J. T.). — Effet du chlorure de calcium sur la germination et le pouvoir pathogène de « *Clostridium chauvei* »..... 1 97
3. BIBERSTEIN (E. L.) et THOMPSON (D. A.). — Immunité spécifique de type dans l'infection de la souris à *Pasteurella hemolytica*..... 1 97
4. WADDINGTON (F. G.). — Observations sur la sensibilité à la tuberculine du bétail du Kenya..... 1 98
5. CHODNIK (K. S.). — B. C. G. lyophilisé pour la vaccination du bétail..... 1 98
89. BIBERSTEIN (E. L.). — Réactions croisées entre les types de *Pasteurella hemolytica*..... 3 426
90. WOOD (R. L.). — Milieu liquide sélectif utilisant les antibiotiques pour l'isolement de *Erysipelothrix insidiosus*..... 3 426
91. CRAVEN (C. P.). — Prophylaxie d'une maladie ressemblant au botulisme dans le Nord Queensland..... 3 426
92. SIMMONS (G. C.) et TAMMEMAGI (L.). — « *Clostridium botulinum* » de type D, cause de botulisme bovin au Queensland..... 3 427
- DOUTRE (M. P.), CHAMBRON (J.). — Le botulisme des ruminants et des équidés au Sénégal. Caractères de la souche isolée de *Clostridium botulinum* et de sa toxine.. 4 495
127. NANGIA (S. S.) et Collab. — Vaccin en adjuvant huileux contre la septicémie hémorragique. Test du pouvoir immunigène sur lapin — Durée de l'immunité et facilité de conservation..... 4 587
128. RICHARD (J. L.) et PIER (A. C.). — Transmission de *Dermatophilus congolensis* par *Stomoxys calcitrans* et *Musca domestica*..... 4 588

MALADIES A PROTOZOAIRES

- HUCHZERMEYER (F. W.). — *Leucocytozoon schoutedeni* Rodhain, Pons, Vandendranden et Bequaert, 1913, chez la poule domestique, *Gallus domesticus* en Rhodésie..... 3 323

MALADIES A VIRUS

- BOURDIN (P.), SERRES (H.), RASOLOFOMANANA (P.). — Encéphalomyélite porcine à Madagascar : Essais de vaccination par aéroso!..... 2 119

49. CHIPPAUX (A.) et CHIPPAUX-HYPPOLITE (Cl.). — Une souche d'arbovirus isolée à Bangui à partir de glandes salivaires de chauves-souris.	2	245
50. PAPAGEORGIOU (C.). — Pouvoir immunisant du virus de Newcastle B 1 par voie intramusculaire chez les poussins.	2	246
82. DELAY (P. D.), STONE (S. S.), KARZON (D. T.), KATZ (S.) et ENDERS (J.). — Réponse clinique et immunologique des hôtes non naturels à l'inoculation par les virus de la rougeole, de la peste bovine et de la maladie de Carré.	3	423
83. MALMQUIST (W. A.), FERNELIUS (A. L.) et GUTEKUNST (D. E.). — Interférence entre le virus de la diarrhée bovine et le virus de la peste porcine classique en culture de cellules de rein de porc.	3	424
84. JOCHIM (M. M.), LUEDKE (A. J.) et BOWNE (J. G.). — Réponse clinique et immunologique du mouton aux administrations orales et intradermiques du virus de la « blue-tongue »	3	424
85. HOWARTH (J. A.) et TERPSTRA (C.). — La culture du virus de la maladie de Nairobi du mouton, en culture de tissu.	3	424
86. HAMDY (A. H.). — Variants du virus parainfluenza 3 isolés chez des veaux cliniquement atteints de maladies des transports.	3	425
87. WHITMAN (J. E.) et HETRICK (F. M.). — Un test d'hémagglutination indirecte pour la détection des anticorps spécifiques de la rhinotrachéite infectieuse bovine.	3	425
88. BERRY (D. M.). — Vaccin inactivé contre la bronchite infectieuse.	3	425
MAURICE (Y.) et PROVOST (A.). — Les réactions d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination avec le virus de la peste équine. Limites de leur interprétation.	4	439
118. OZAWA (Y.). — Interférence en culture cellulaire entre les types de virus de la peste équine.	4	585
120. OWEN (N. C.). — Recherches sur la résistance du virus de la blue-tongue aux variations de pH et sur sa survie dans les viandes de mouton et de bœuf.	4	585
121. HOWARTH (J. A.) et TERPSTRA (C.). — Propagation du virus de la maladie de Nairobi du mouton, en culture de tissu.	4	586
122. CARTWRIGHT (S. F.) et Collab. — Un virus cytopathique, cause d'une gastroentérite contagieuse du porc. I. Isolement et propriétés.	4	586

MYCOPLASMOSES

6. GRIFFIN (R. M.). — Test de précipito-diffusion en gélose pour la péripneumonie bovine.	1	99
51. COTTEW (G. S.) et LLOYD (L. C.). — Un foyer de pleurésie et de pneumonie chez des chèvres, attribué à un germe du genre <i>Mycoplasma</i> en Australie.	2	246
52. GOURLAY (R. N.) et SHIFRINE (M.). — Comparaison entre des méthodes de préparation d'antigènes et l'emploi de divers adjuvants pour la réaction allergique cutanée différée en matière de péripneumonie bovine.	2	247
53. SHIFRINE (M.) et GOURLAY (R. N.). — La réaction cutanée allergique de type immédiat en matière de péripneumonie contagieuse bovine.	2	247
PERREAU (P.). — Le Test d'allergie et le diagnostic de la péripneumonie contagieuse bovine. I. Commentaires sur l'extraction de l'antigène et étude expérimentale sur animaux de laboratoire	4	457
DOUTRE (M. P.), PERREAU (P.), CHAMBRON (J.). — Le test d'allergie et le diagnostic de la péripneumonie contagieuse bovine. II. Essais sur les bovins du Sénégal malades naturels et infectés artificiels.	4	471
129. LINDLEY (E. P.). — Essais d'un vaccin atténué de culture contre la péripneumonie bovine.	4	588

130. NASRI (M. EL). — La virulence et le pouvoir immunigène des cultures issues de colonies isolées de <i>Mycoplasma mycoides</i> et de <i>Mycoplasma capri</i>	4	588
131. HUGHES (K. L.), et Collab. — Polyarthrite des veaux provoquée par <i>Mycoplasma</i> sp . . .	4	589
132. AFSHAR (A.), STUART (P.) et HUCK (R. A.). — Vulvovaginite granuleuse du bétail (maladie vénérienne nodulaire) associée à <i>Mycoplasma bovigenitalium</i>	4	589

MYCOSES

TRAORE (S.) et GIDEL (R.). — Observation d'une enzootie d'Aspergillose chez des oisons en Haute-Volta	2	131
PERREAU (P.) et CHAMBRON (J.). — Immunologie de la Streptothricose cutanée des bovins. Essai de vaccination	3	263
93. EGERTON (J. R.). — Dermite mycosique (Streptothricose) des bovins	3	427

PARASITOLOGIE

9. HAMMOND (D. M.), ERNST (J. V.) et GOLDMAN (M.). — Etudes cytologiques des mérozoïtes d' <i>Eimeria bovis</i>	1	100
10. STEPHENS (J. F.). — Effets physiologiques de la coccidiose à <i>Eimeria necatrix</i> chez le poulet	1	100
11. Mc MILLAN (B.). — Leishmaniose dans la République du Soudan - 22 - <i>Leishmania hoogstraali</i> n. sp. chez le gecko	1	100
12. CALLOW (L. L.). — <i>Babesia bigemina</i> chez les tiques nourries sur des herbivores autres que les bovins et sa transmission à ces hôtes	1	101
16. GHERMAN (I.), DEBAU (M.), SCHIAU (S.), DEBAU (M.). — Observations sur trois cas de Cysticercose musculaire généralisée	1	102
17. FAIN (A.). — Quelques aspects de l'Endoparasitisme par les Acariens	1	102
18. URGUHART (G. M.) et BROCKLESBY (D. W.). — Longévité de <i>Cysticercus bovis</i>	1	103
19. BASCH (P. F.). — Réalisation complète du cycle d' <i>Eurytrema pancreaticum</i> (Trematoda ; <i>Dicrocoeliidae</i>)	1	103
20. ARFAA (F.), SABAGHIAN (H.) et ALEDAWOOD (H.). — Studies on <i>Ornithobilharzia turkestanicum</i> (Skrjabin, 1913), Price, 1929 in Iran	1	103
GRABER (M.), FERNAGUT (R.) et OUMATIE (O.). — Helminthes des zébus adultes de la région de Maroua (Nord-Cameroun)	2	149
58. NYBERG (P. A.) et HAMMOND (D. M.). — Description des ookystes sporulés et des sporozoïtes de quatre espèces de coccidies parasites des bovins	2	250
DAYNES (P.). — Note préliminaire sur la présence de <i>Fasciola gigantica</i> à Madagascar .	3	275
DAYNES (P.). — Note sur le cycle biologique de <i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i> (Pallas 1781) à Madagascar	3	277
98. BARRETO (J. L. M.). — Verminoses des animaux domestiques et leur importance économique	3	430
99. ARFAA (F.), SABAGHIAN (H.) et BIJAN (H.). — Recherches sur <i>Schistosoma bovis</i> en Iran	3	430
103. HULLIGER (L.). — Culture de trois espèces de <i>Theileria</i> dans les cellules lymphoïdes <i>in vitro</i>	3	431
104. BROCKLESBY (D. W.), BAILEY (K. P.) et VIDLER (B. O.). — La transmission de <i>Theileria parva</i> (Theiler, 1904) par <i>Rhipicephalus carnivoralis</i> Walker, 1965	3	431

PATURAGES

PIOT (J.). — Etudes pastorales en Adamaoua Camerounais	1	45
37. SPEDDING (C. R. W.). — Conduite du pâturage des moutons.....	1	112
GRANIER (P.) et LAHORE (J.). — Amélioration des pâturages. Le <i>Brachiaria brizantha</i>	2	233
64. GROF (B.). — Implantation de Légumineuses dans la zone tropicale humide du Nord-Est de l'Australie.....	2	255
65. NOURRISSAT (P.). — Problèmes posés par l'implantation des prairies temporaires au Sénégal. 1 ^{ers} résultats.....	2	255
66. HORRELL (C. R.). — Effet de 2 légumineuses sur la production de pâturages non fertilisés à Serere.....	2	255
67. LO (S. S.). — Les intervalles de plantation de <i>Setaria sphacelata</i>	2	256
68. HORRELL (C. R.), COURT (M. N.). — Effet du <i>Stylosanthes gracilis</i> sur la production des pâturages de Serere en Ouganda.....	2	256
69. WEINMANN (H.). — La fertilisation des pâturages en Rhodésie du Sud.....	2	256
70. HORRELL (C. R.), NEWHOUSE (P. W.). — Influence des Légumineuses et des engrais sur la production de pâturages semés en Ouganda.....	2	256
71. MATA (P. J.). — Nouveaux pâturages de haute altitude et leur fumure.....	2	257
72. BIRIE HABAS. — La production fourragère à Porto-Rico.....	2	257
73. WHYTE (R. O.). — Intensification de l'agriculture fondée sur le développement de la production laitière.....	2	258
107. DAVIDSON (R. L.). — Régénération naturelle des pâturages sur jachères avec ou sans fertilisants en Afrique du Sud.....	3	433
108. AWAN (A. B.). — Fertilisation de vieilles prairies à Jaragua en Honduras.....	3	433
109. NEME (N. A.), NERY (J. P.). — Influence des engrais minéraux et du chaulage sur la production et la composition chimique des Légumineuses fourragères vivaces.....	3	433
110. SHENG (C. Y.). — Etude des valeurs optimales et des sources des éléments fertilisants sur le Napier.....	3	433
111. THOMAS (A. S.). — Importance des prairies aquatiques en Afrique.....	3	433
139. VILLAX (E. J.). — La culture des plantes fourragères dans la région méditerranéenne occidentale (Maroc, Portugal, Espagne, Tunisie, Algérie, France).....	4	592
140. DELHAYE (R. E.) et GRANIER (P.). — Amélioration de l'alimentation du bétail à Madagascar. Répartition écologique des espèces fourragères.....	4	592
141. NOURRISSAT (P.). — Influence de l'époque de fauche et de la hauteur de coupe sur la production d'une prairie naturelle au Sénégal.....	4	592
142. POCTHIER (G.). — Observations effectuées sur des plantes fourragères en Grande-Terre (Guadeloupe) juin 1963-septembre 1964.....	4	593
143. CREEK (M. J.) et NESTEL (B. L.). — Effets de deux cycles de temps de pâture sur le poids vif des animaux et sur la composition chimique de l'Herbe de Pangola (<i>Digitaria decumbens</i>) à la Jamaïque.....	4	593
144. ROSE INNES (R.). — Concept de « pâturages aériens » dans les savanes arborées de basse altitude.....	4	593
145. BORGET (M.). — Les cultures fourragères.....	4	593
146. STOBBS (T. H.). — Production animale sur des pâturages enrichis en <i>Stylosanthes gracilis</i> et <i>Centrosema pubescens</i> en Ouganda.....	4	594
147. BORGET (M.). — Rendements et caractéristiques de 5 graminées fourragères sur sable côtier à Cayenne (Guyane française).....	4	594
148. HILLS (T. L.). — Les limites savanes-forêts tropicales. Colloque du Venezuela mai 1964.....	4	594
149. BRITTO (D. P. P. de S.), ARONOVICH (S.), RIBEIRO (H.). — Comparaison de 2 variétés de <i>Pennisetum purpureum</i> sur 6 intervalles de coupe.....	4	595

150. PONS (J. H.). — Pâturages et bétail au Swaziland.....	4	595
152. BAUMER (M.). — Quelques noms vernaculaires et leur utilisation en écologie en Arabie Séoudite.....	4	595
153. SPECK (N. H.) et Collab. — Rapport général sur les terres du Tipperary Area, dans le Territoire du Nord de l'Australie	4	595
154. WEST (O.). — Le feu et son utilisation dans l'exploitation des pâturages, en particulier en Afrique tropicale et subtropicale.....	4	596
155. BONNEMAISON (P.). — Rapport au Gouvernement du Brésil sur les pâturages et le développement des ressources alimentaires dans le Nord Est brésilien.....	4	596
156. POUSSET (A.). — La prairie temporaire dans le cadre de l'exploitation agricole.....	4	596

PESTE BOVINE

41. BARBER (T. L.) et DE BOER (C. J.). — Réponse immunitaire des veaux, des moutons et des porcs à une souche de virus bovipestique atténuée en cultures cellulaires....	2	243
Connaissances acquises récemment sur la peste bovine et son virus.....	3	365
ROBIN (P.), BOURDIN (P.). — Note sur l'action du sulfate de sodium, du sulfate de magnésium et du chlorure de magnésium sur le virus de la peste bovine adapté aux cultures cellulaires.....	4	451
123. BROWN (R. D.) et RASHID (A.). — Durée de l'immunité antibovipestique chez les bovins vaccinés avec le virus caprinisé.....	4	586
124. BROWN (R. D.), GLOSSOP (W. E.). — Immunisation antibovipestique au moyen d'un vaccin en comprimés.....	4	587
125. ROWE (L. W.). — Recherche des anticorps neutralisants anti-peste bovine chez les bovins de la Nigeria du Nord.....	4	587
125. SMITH (V. W.). — Immunisation active des veaux avec le vaccin antipestique de culture cellulaire.....	4	587

PESTE PORCINE AFRICAINE

43. LARENAUDIE (B.), HAAG (J.) et CARNERO (R.). — La purification du virus de la Peste porcine africaine par le fluorocarbure.....	2	243
44. HAAG (J.), LARENAUDIE (B.) et GONZALVO (F. R.). — Peste porcine africaine. Action de la 5-iodo-2' désoxyuridine sur la culture du virus <i>in vitro</i>	2	244
45. HEUSCHELE (W. P.) et COGGINS (L.). — Isolement du virus de la peste porcine africaine chez un hylochère.....	2	244
46. SCOTT (G. R.). — Peste porcine africaine : prévention, lutte contre la maladie, éradication	2	244
47. SCOTT (G. R.). — Le virus de la peste porcine africaine et sa transmission.....	2	244

REPRODUCTION

29. ALIM (K. A.). — La reproduction dans un troupeau de bétail provenant de la région du Nord au Soudan.....	1	107
30. SAINSBURY (D. W. B.). — Installations de mise bas et logements pour les porcs.....	1	107
106. BIENFET (V.) et Collab. — Nutrition et infécondité chez les bovins	3	432

RICKETTSIOSE

7. KARRAR (G.) et EL HAG ALI (B.). — Traitement de la heart-water par voie orale au moyen de l'oxytétracycline (Terramycine en poudre soluble). 1 99
54. STAMATIN (N.). — Position des Rickettsies dans la systématique des microorganismes 2 247
- RIOCHE (M.). — La rickettsiose générale bovine au Sénégal. 4 485

TECHNIQUES DE LABORATOIRE

- PETIT (J. P.). — Procédé chromatographique rapide pour l'étude de la fluorescence des aflatoxines 1 87
74. HENRY (J.) et CHATELAIN (S.). — Dosage du phosphore minéral sérique par la réaction de Misson. 2 258
75. BOULANGER (P.), MALLEIN (R.) et LELUC (R.). — Dosage de l'urée sanguine par la microméthode de Conway adaptée sur papier chromatographique. 2 259
76. CARLES (J.) et ALQUIER-BOUFFARD (A.). — De quelques perfectionnements pour la chromatographie sur colonne des acides organiques. 2 259
119. HOPKINS (I. G.), HAZRATI (A.) et OZAWA (Y.). — Amélioration de la technique des plages pour le titrage et la séroneutralisation du virus de la peste équine. 4 585
157. WIEME (R. J.). — Electrophorèse en gel de gélose. 4 596
158. BELCHER (R.). — Progrès récents en Chimie Analytique. 4 597

TRYPANOSOMIASES

- BERSON (J. P.). — Culture de *Trypanosoma congolense* Broden 1904 en milieu diphasique en vue de la préparation d'un antigène 1 1
13. SEED (J. R.) et BAQUERO (M. A.). — Caractéristiques de l'hexokinase de *Trypanosoma rhodesiense* et *Trypanosoma gambiense*. 1 101
14. ITARD (J.). — Toxicologie des injections médicamenteuses utilisées pour le traitement et la prophylaxie des trypanosomiasés africaines humaines et animales. 1 101
15. STYLES (T. J.). — Effets des endotoxines bactériennes sur les infections à *Trypanosoma lewisi* chez le rat. 1 102
- BALIS (J.). — Influence de quelques corps chimiques sur la survie « in vitro » de *Trypanosoma evansi*. II. Déchets des métabolismes protidique et glucidique. Substances de détoxification. 2 163
55. FORD (J.). — Répartitions des glossines et des modalités épidémiologiques des trypanosomiasés africaines. 2 248
56. WILLETT (K. C.), LAMBRECHT (F. L.) et WILSON (S. G.). — La trypanosomiasé et la mouche tsé-tsé dans la région du Nyanza (Kenya). 2 249
63. Rapport de l'Organisation de recherches sur les Trypanosomiasés de l'Est africain (E. A. T. R. O.). 2 252
- BALIS (J.). — Influence de quelques corps chimiques sur la survie « in vitro » de *Trypanosoma evansi*. III. Acides gras. 3 351
94. WILLETT (K. C.). — Quelques observations sur l'épidémiologie récente de la maladie du sommeil dans la région du Nyanza, et ses relations avec l'épidémiologie générale de la maladie du sommeil gambienne et rhodésienne en Afrique. 3 428
95. JORDAN (A. M.). — Les hôtes des glossines envisagés comme le facteur principal des taux d'infection par trypanosomes des mouches tsé-tsé en Nigeria. 3 428

96. BAKER (J. R.). — Etudes sur *Trypanosoma avium*. IV. L'évolution des formes métacycliques infectantes dans les cultures *in vitro*. 3 429
133. AMREIN (Y. U.), GEIGY (R.), KAUFFMANN (M.). — De la restauration de la virulence chez les trypanosomes du groupe *Brucei*. 4 590
134. FOLKERS (C.), MOHAMMED (A. N.). — L'importance des mouches piqueuses autres que les glossines dans l'épidémiologie des trypanosomiasés du bétail à Shika. Nigeria du Nord. 4 590
162. Institut Nigérien de recherches sur les trypanosomiasés. Rapport annuel 1964. 4 598

ZOOLOGIE

- GRABER (M.). — Note d'herpétologie tchadienne. Etude préliminaire de quelques serpents récoltés dans la région de Fort-Lamy de 1954 à 1965. 2 137

ZOOTECHE

- HARDOUIN (J.). — Résultats d'un demi-siècle de sélection en croisement bovin-zébu à Thibar (Tunisie). 1 63
38. MINKEMA (D.), KROESKE (D.), BEKEDAM (M.), STEGENDA (Th.). — Essai de sélection porcine : Comparaison de l'effet de la sélection individuelle avec l'effet de la sélection basée sur les performances des frères et sœurs. 1 113
- DUMAS (R.) et LHOSTE (Ph.). — Les signes de l'âge chez le zébu. Etude des incisives de remplacement. 3 357
- DUMAS (R.), LHOSTE (Ph.). — Variations du poids vif et du rendement en viande de bœufs zébus de l'Adamaoua au cours de la saison sèche. 4 573

TABLE DES AUTEURS

Année 1966

A

137. ADAM (J. G.). — Cf. KERHARO (J.), ADAM (J. G.).....	4	591
132. AFSHAR (A.), STUART (P.) et HUCK (R. A.). — Vulvovaginite granuleuse du bétail (maladie vénérienne nodulaire) associée à <i>Mycoplasma bovigenitalium</i>	4	589
164. Agriculture, Fisheries and Food (Ministry). — Animal health. A centenary. 1865-1965. A centenary of endeavour to control diseases of animals.....	4	602
1. AHMAD (M. M.). — Cf. PRASAD (L. B. M.) et AHMAD (M. M.).....	1	97
101. AKLILU (L.). — Rapport préliminaire sur les propriétés molluscicides de l'endod (<i>Phytolacca dodecandra</i>).....	3	430
20. ALEDAWOOD (H.). — Cf. ARFAA (F.), SABAGHIAN (H.) et ALEDAWOOD (H.).....	1	103
29. ALIM (K. A.). — La reproduction dans un troupeau de bétail provenant de la région du Nord au Soudan.....	1	107
76. ALQUIER-BOUFFARD (A.). — Cf. CARLES (J.) et ALQUIER-BOUFFARD (A.).....	2	259
133. AMREIN (Y. U.), GEIGY (R.) et KAUFFMANN (M.). — De la restauration de la virulence chez les trypanosomes du groupe <i>Brucei</i>	4	590
39. Les applications du froid en pays tropical.....	1	114
20. ARFAA (F.), SABAGHIAN (H.) et ALEDAWOOD (H.). — Studies on <i>Ornithobilharzia turkistanicum</i> (Skrjabin, 1913), Price, 1929 in Iran.....	1	103
99. ARFAA (F.), SABBAGHIAN (H.) et BIJAN (H.). — Recherches sur <i>Schistosoma bovis</i> en Iran.....	3	430
149. ARONOVICH (S.). — Cf. BRITTO (D. P. P. de S.), ARONOVICH (S.), RIBEIRO (H.)... ..	4	595
108. AWAN (A. B.). — Fertilisation de vieilles prairies à Jaragua en Honduras.....	3	433

B

104. BAILEY (K. P.). — Cf. BROCKLESBY (D. W.), BAILEY (K. P.) et VIDLER (B. O.)... ..	3	431
96. BAKER (J. R.). — Etudes sur <i>Trypanosoma avium</i> . IV. L'évolution des formes métacycliques infectantes dans les cultures <i>in vitro</i>	3	429
BALIS (J.). — Cf. GRUVEL (J.) et BALIS (J.).....	1	21
BALIS (J.). — Influence de quelques corps chimiques sur la survie « <i>in vitro</i> » de <i>Trypanosoma evansi</i> . II. Déchets des métabolismes protéidique et glucidique. Substances de détoxication.....	2	163
BALIS (J.). — Influence de quelques corps chimiques sur la survie « <i>in vitro</i> » de <i>Trypanosoma evansi</i> . III. Acides gras.....	3	351
102. BALL (S. J.). — Résistance à la glycarbylamide et à la 2 chloro 4 nitrobenzamide d' <i>Eimeria tenella</i> chez le poulet.....	3	431
13. BAQUERO (M. A.). — Cf. SEED (J. R.) et BAQUERO (M. A.).....	1	101
41. BARBER (T. L.) et DE BOER (C. J.). — Réponse immunitaire des veaux, des moutons et des porcs à une souche de virus bovipestique atténuée en cultures cellulaires.....	2	243
28. BARNETT (S. F.). — La chimiothérapie de l'infection à <i>B. bigemina</i> chez les bovins.....	1	106

98. BARRETO (J. L. M.). — Verminoses des animaux domestiques et leur importance économique	3	430
19. BASCH (P. F.). — Réalisation complète du cycle d' <i>Eurytrema pancreaticum</i> (Trematoda : <i>Dicrocoeliidae</i>)	1	103
152. BAUMER (M.). — Quelques noms vernaculaires et leur utilisation en écologie en Arabie Séoudite	4	595
38. BEKEDAM (M.). — Cf. MINKEMA (D.), KROESKE (D.), BÈKEDAM (M.), STEGENDA (Th.)	1	113
158. BELCHER (R.). — Progrès récents en Chimie Analytique	4	597
113. BERGSTROM (E.). — Cf. KOCH (H. J.), BERGSTROM (E.) et EVANS (J. C.)	3	434
88. BERRY (D. M.). — Vaccin inactivé contre la bronchite infectieuse	3	425
BERSON (J. P.). — Culture de <i>Trypanosoma congolense</i> Broden 1904 en milieu diphasique en vue de la préparation d'un antigène	1	1
3. BIBERSTEIN (E. L.) et THOMPSON (D. A.). — Immunité spécifique de type dans l'infection de la souris à <i>Pasteurella hemolytica</i>	1	97
89. BIBERSTEIN (E. L.). — Réactions croisées entre les types de <i>Pasteurella hemolytica</i>	3	426
106. BIENFET (V.) et Collab. — Nutrition et infécondité chez les bovins	3	432
99. BIJAN (H.). — Cf. ARFAA (F.), SABBAGHIAN (H.) et BIJAN (H.)	3	430
72. BIRIE HABAS. — La production fourragère à Porto-Rico	2	257
21. BOISVENUE (R. S.) et HENDRIX (J. C.). — Activité prophylactique du Yomesan dans les infestations expérimentales à <i>Raillietina cesticillus</i> chez le poulet	1	104
155. BONNEMAISON (P.). — Rapport au Gouvernement du Brésil sur les pâturages et le développement des ressources alimentaires dans le Nord-Est Brésilien	4	596
145. BORGET (M.). — Les cultures fourragères	4	593
147. BORGET (M.). — Rendements et caractéristiques de 5 graminées fourragères sur sable côtier à Cayenne (Guyane française)	4	594
BOUDERGUES (R.), CALVET (H.), DISCACCIATI (E.), CLICHE (M ^{me} M.). — Note sur la présence d'aflatoxine dans les fanes d'arachides	4	557
BOUDERGUES (R.). — Cf. CALVET (H.), BOUDERGUES (R.), DISCACCIATI (E.), CLICHE (M ^{me} M.)	4	545
75. BOULANGER (P.), MALLEIN (R.) et LELUC (R.). — Dosage de l'urée sanguine par la microméthode de Conway adaptée sur papier chromatographique	2	259
BOURDIN (P.), SERRES (H.), RASOLOFOMANANA (P.). — Encéphalomyélite porcine à Madagascar : Essais de vaccination par aérosol	2	119
BOURDIN (P.). — Cf. ROBIN (P.), BOURDIN (P.)	4	451
84. BOWNE (J. G.). — Cf. JOCHIM (M. M.), LUEDKE (A. J.) et BOWNE (J. G.)	3	424
77. BRAEND (M.). — Cf. EFREMOV (G.) et BRAEND (M.)	2	260
149. BRITTO (D. P. P. de S.), ARONOVICH (S.), RIBEIRO (H.). — Comparaison de 2 variétés de <i>Pennisetum purpureum</i> sur 6 intervalles de coupe	4	595
18. BROCKLESBY (D. W.). — Cf. URGUHART (G. M.) et BROCKLESBY (D. W.)	1	103
104. BROCKLESBY (D. W.), BAILEY (K. P.) et VIDLER (B. O.). — La transmission de <i>Theileria parva</i> (Theiler, 1904) par <i>Rhipicephalus carnivorales</i> Walker, 1965	3	431
42. BROWN (R. D.). — L'effet du chlorhydrate d'oxytétracycline (Terramycine) sur l'évolution de la peste bovine	2	243
48. BROWN (R. D.). — L'effet du chlorhydrate d'oxytétracycline (Terramycine) sur l'évolution du coryza gangréneux des bovidés	2	245
124. BROWN (R. D.), GLOSSOP (W. E.). — Immunisation antibovipestique au moyen d'un vaccin en comprimés	4	587
123. BROWN (R. D.) et RASHID (A.). — Durée de l'immunité antibovipestique chez les bovins vaccinés avec le virus caprinisé	4	586
59. BURSELL (E.). — Cf. RAJAGOPAL (P. K.) et BURSELL (E.)	2	250

C

115. CADILLON (J.). — Cf. LEPINE (P.), CADILLON (J.) et CHAUMONT (L.).....	3	435
12. CALLOW (L. L.). — <i>Babesia bigemina</i> chez les tiques nourries sur des herbivores autres que les bovins et sa transmission à ces hôtes.....	1	101
CALVET (H.), BOUDERGUES (R.), DISCACCIATI (E.), CLICHE (Mme M.). — Note préliminaire sur les effets expérimentaux de l'aflatoxine chez les bovins tropicaux. Effets de l'aflatoxine sur la vache laitière et sur le jeune nourri à la mamelle....	4	545
CALVET (H.). — Cf. BOUDERGUES (R.), CALVET (H.), DISCACCIATI (E.), CLICHE (Mme M.).....	4	545
76. CARLES (J.) et ALQUIER-BOUFFARD (A.). — De quelques perfectionnements pour la chromatographie sur colonne des acides organiques.....	2	259
43. CARNERO (R.). — Cf. LARENAUDIE (B.), HAAG (J.) et CARNERO (R.).....	2	243
122. CARTWRIGHT (S. F.) et Collab. — Un virus cytopathique, cause d'une gastroentérite contagieuse du porc. I. Isolement et propriétés.....	4	586
CHAMBRON (J.). — Cf. PERREAU (P.) et CHAMBRON (J.).....	3	263
CHAMBRON (J.). — Cf. DOUTRE (M. P.), CHAMBRON (J.).....	4	495
CHAMBRON (J.). — Cf. DOUTRE (M. P.), PERREAU (P.), CHAMBRON (J.).....	4	471
74. CHATELAIN (S.). — Cf. HENRY (J.) et CHATELAIN (S.).....	2	258
115. CHAUMONT (L.). — Cf. LEPINE (P.), CADILLON (J.) et CHAUMONT (L.).....	3	435
49. CHIPPAUX (A.) et CHIPPAUX-HYPPOLITE (C. I.). — Une souche d'arbovirus isolée à Bangui à partir de glandes salivaires de chauves-souris.....	2	245
49. CHIPPAUX-HYPPOLITE (C. I.). — Cf. CHIPPAUX (A.) et CHIPPAUX-HYPPOLITE (C. I.).....	2	245
5. CHODNIK (K. S.). — B. C. G. lyophilisé pour la vaccination du bétail.....	1	98
31. CLAUSEN (Hj.). — Les besoins protéïniques des porcs à viande en croissance.....	1	108
CLEMENSAT (J.). — Cf. RIVIERE (R.) et CLEMENSAT (J.).....	2	213
CLICHE (Mme M.). — Cf. BOUDERGUES (R.), CALVET (H.), DISCACCIATI (E.), CLICHE (Mme M.).....	4	567
CLICHE (Mme M.). — Cf. CALVET (H.), BOUDERGUES (R.), DISCACCIATI (E.), CLICHE (Mme M.).....	4	545
45. COGGINS (L.). — Cf. HEUSCHELE (W. P.) et COGGINS (L.).....	2	244
32. COLOVOS (N. F.), KEENER (H. A.), DAVIS (H. A.). — L'urée favorise-t-elle l'utilisation de la cellulose de la ration du bétail laitier?.....	1	109
Connaissances acquises récemment sur la peste bovine et son virus.....	3	365
51. COTTEW (G. S.) et LLOYD (L. C.). — Un foyer de pleurésie et de pneumonie chez des chèvres, attribué à un germe du genre <i>Mycoplasma</i> en Australie.....	2	246
68. COURT (M. N.). — Cf. HORRELL (C. R.), COURT (M. N.).....	2	256
91. CRAVEN (C. P.). — Prophylaxie d'une maladie ressemblant au botulisme dans le Nord-Queensland.....	3	426
143. CREEK (M. J.) et NESTEL (B. I.). — Effets de deux cycles de temps de pâture sur le poids vif des animaux et sur la composition chimique de l'Herbe de Pangola (<i>Digitaria decumbens</i>) à la Jamaïque.....	4	593

D

107. DAVIDSON (R. L.). — Régénération naturelle des pâturages sur jachères avec ou sans fertilisants en Afrique du Sud.....	3	433
32. DAVIS (H. A.). — Cf. COLOVOS (N. F.), KEENER (H. A.), DAVIS (H. A.).....	1	109
DAYNES (P.). — Note préliminaire sur la présence de <i>Fasciola gigantica</i> à Madagascar	3	275
DAYNES (P.). — Note sur le cycle biologique de <i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i> (Pallas 1781) à Madagascar.....	3	277

16. DEBAU (M.). — Cf. GHERMAN (I.), DEBAU (M.), SCHIAU (S.), DEBAU (M.).....	1	102
41. DE BOER (C. J.). — Cf. BARBER (T. L.) et DE BOER (C. J.).....	2	243
166. DEEG (E.) et RICHTER (H.). — Glas im Laboratorium.....	4	603
82. DELAY (P. D.), STONE (S. S.), KARZON (D. T.), KATZ (S.) et ENDERS (J.). — Réponse clinique et immunologique des hôtes non naturels à l'inoculation par les virus de la rougeole, de la peste bovine et de la maladie de Carré.....	3	423
140. DELHAYE (R. E.) et GRANIER (P.). — Amélioration de l'alimentation du bétail à Madagascar. Répartition écologique des espèces fourragères.....	4	592
DISCACCIATI (E.). — Cf. CALVET (H.), BOUDERGUES (R.), DISCACCIATI (E.), CLICHE (Mme M.).....	4	545
DISCACCIATI (E.). — Cf. BOUDERGUES (R.), CALVET (H.), DISCACCIATI (E.), CLICHE (Mme M.).....	4	567
DOUTRE (M. P.), CHAMBRON (J.). — Le botulisme des ruminants et des équidés au Sénégal. Caractères de la souche isolée de <i>Clostridium botulinum</i> et de sa toxine..	4	495
DOUTRE (M. P.), PERREAU (P.), CHAMBRON (J.). — Le test d'allergie et le diagnostic de la péripneumonie contagieuse bovine. II. Essais sur les bovins du Sénégal malades naturels et infectés artificiels	4	471
161. DREYFUS (J. C.). — Cf. LABIE (D.), DREYFUS (J. C.) et SCHAPIRA (G.).....	4	598
136. DRUMMOND (R. B.). — Cf. SHONE (D. K.), DRUMMOND (R. B.).....	4	591
DUMAS (R.) et LHOSTE (Ph.). — Les signes de l'âge chez le zébu. Etude des incisives de remplacement	3	357
DUMAS (R.), LHOSTE (P.). — Variations du poids vif et du rendement en viande de bœufs zébus de l'Adamaoua au cours de la saison sèche	4	573

E

77. EFREMOV (G.) et BRAEND (M.). — Différences entre les globines bovines.....	2	260
93. EGERTON (J. R.). — Dermite mycosique (Streptothricose) des bovins.....	3	427
7. EL HAG ALI (B.). — Cf. KARRAR (G.) et EL HAG ALI (B.).....	1	99
117. ELKAN (E.). — Cf. REICHENBACH-KLINE (H.) et ELKAN (E.).....	3	436
82. ENDERS (J.). — Cf. DELAY (P. D.), STONE (S. S.), KARZON (D. T.), KATZ (S.) et ENDERS (J.).....	3	423
9. ERNST (J. V.). — Cf. HAMMOND (D. M.), ERNST (J. V.) et GOLDMAN (M.).....	1	100
113. EVANS (J. C.). — Cf. KOCH (H. J.), BERGSTROM (E.) et EVANS (J. C.).....	3	434

F

17. FAIN (A.). — Quelques aspects de l'Endoparasitisme par les Acariens.....	1	102
FERNAGUT (R.). — Cf. GRABER (M.), FERNAGUT (R.) et OUMATIE (O.).....	2	149
83. FERNELIUS (A. L.). — Cf. MALMQUIST (W. A.), FERNELIUS (A. L.) et GUTEKUNST (D. E.).....	3	424
8. FITZGERAD (P. R.). — Résultats des injections parentérales d'ookystes sporulés et non sporulés d' <i>Eimeria bovis</i> chez les bovins.....	1	99
134. FOLKERS (C.) et MOHAMMED (A. N.). — L'importance des mouches piqueuses autres que les glossines dans l'épidémiologie des trypanosomiasés du bétail à Shika. Nigeria du Nord.....	4	590
55. FORD (J.). — Répartitions des glossines et des modalités épidémiologiques des trypanosomiasés Africaines	2	248
168. FREEMAN (S. K.). — Interpretive spectroscopy.....	4	603
138. FRIEDMAN (L.). — Cf. GABLIKS (J.), SCHAEFFER (W.), FRIEDMAN (L.) et WOGAN (G.).....	4	591

G

138. GABLIKS (J.), SCHAEFFER (W.), FRIEDMAN (L.) et WOGAN (G.). — Effets de l'aflatoxine B₁ sur les cultures cellulaires..... 4 591
114. GAUMONT (R.). — Cf. RENOUX (G.) et GAUMONT (R.)..... 3 435
133. GEIGY (R.). — Cf. AMREIN (Y. U.), GEIGY (R.) et KAUFFMANN (M.)..... 4 590
16. GHERMAN (I.), DEBAU (M.), SCHIAU (S.), DEBAU (M.). — Observations sur trois cas de Cysticercose musculaire généralisée..... 1 102
- GIDEL (R.). — Cf. TRAORE (S.) et GIDEL (R.)..... 2 131
78. GILLON (Y.) et GILLON (D.). — Recherche d'une méthode quantitative d'analyse du peuplement d'un milieu herbacé..... 2 260
78. GILLON (D.). — Cf. GILLON (Y.) et GILLON (D.)..... 2 260
124. GLOSSOP (W. E.). — Cf. BROWN (R. D.), GLOSSOP (W. E.)..... 4 587
9. GOLDMAN (M.). — Cf. HAMMOND (D. M.), ERNST (J. V.) et GOLDMAN (M.)..... 1 100
44. GONZALVO (F. R.). — Cf. HAAG (J.), LARENAUDIE (B.) et GONZALVO (F. R.)..... 2 244
52. GOURLAY (R. N.) et SHIFRINE (M.). — Comparaison entre des méthodes de préparation d'antigènes et l'emploi de divers adjuvants pour la réaction allergique cutanée différée en matière de péripneumonie bovine..... 2 247
53. GOURLAY (R. N.). — Cf. SHIFRINE (M.) et GOURLAY (R. N.)..... 2 247
57. GRABER (M.). — Action d'un nouvel anthelminthique, le 14.015 R. P., sur divers cestodes des animaux domestiques de la République du Tchad. 1) *Anoplocephalidae* du mouton 2 250
- GRABER (M.). — Action d'un nouvel anthelminthique, le tétramisole, (16.535 R. P.) sur divers helminthes du mouton de la République du Tchad 3 283
- GRABER (M.). — Etude dans certaines conditions africaines de l'action antiparasitaire du thiabendazole sur divers helminthes des animaux domestiques. II. *Dromadaire*..... 4 527
- GRABER (M.). — Etude du pouvoir anthelminthique du Tétramisole (16.535 R. P.) sur divers helminthes du zébu de la République du Tchad 4 511
- GRABER (M.). — Note d'herpétologie tchadienne. Etude préliminaire de quelques serpents récoltés dans la région de Fort-Lamy de 1954 à 1965..... 2 137
- GRABER (M.), FERNAGUT (R.) et OUMATIE (O.). — Helminthes des zébus adultes de la région de Maroua (Nord-Cameroun)..... 2 149
- GRABER (M.) et GRAS (G.). — Etude de l'activité anthelminthique et de la toxicité de quelques composés organiques de l'étain..... 1 7
- GRANIER (P.) et LAHORE (J.). — Amélioration des pâturages. Le *Brachiaria brizantha* 2 233
140. GRANIER (P.). — Cf. DELHAYE (R. E.) et GRANIER (P.)..... 4 592
- GRAS (G.). — Cf. GRABER (M.) et GRAS (G.)..... 1 7
- GRAS (G.). — Activité anthelminthique du diacétate de plomb dibutyle 1 15
6. GRIFFIN (R. M.). — Test de précipito-diffusion en gélose pour la péripneumonie bovine 1 99
64. GROF (B.). — Implantation de Légumineuses dans la zone tropicale humide du Nord-Est de l'Australie..... 2 255
- GRUVEL (J.). — Les Glossines vectrices des Trypanosomiasés au Tchad..... 2 169
- GRUVEL (J.) et BALIS (J.). — Essai d'élevage de *Glossina tachinoïdes* W. au laboratoire. 1 21
83. GUTEKUNST (D. E.). — Cf. MALMQUIST (W. A.), FERNELIUS (A. L.) et GUTEKUNST (D. E.)..... 3 424

H

43. HAAG (J.). — Cf. LARENAUDIE (B.), HAAG (J.) et CARNERO (R.)	2	243
44. HAAG (J.), LARENAUDIE (B.) et GONZALVO (F. R.). — Peste porcine africaine. Action de la 5-iodo-2' désoxuridine sur la culture du virus <i>in vitro</i>	2	244
135. HALL (W. T. K.). — Plantes toxiques en Australie tropicale	4	591
86. HAMDY (A. H.). — Variants du virus parainfluenza 3 isolés chez des veaux cliniquement atteints de maladies des transports	3	425
9. HAMMOND (D. M.), ERNST (J. V.) et GOLDMAN (M.). — Etudes cytologiques des mérozoïtes d' <i>Eimeria bovis</i>	1	100
58. HAMMOND (D. M.). — Cf. NYBERG (P. A.) et HAMMOND (D. M.)	2	250
HARDOUIN (J.). — Résultats d'un demi-siècle de sélection en croisement bovin-zébu à Thibar (Tunisie)	1	63
27. HARLEY (J. M. B.). — Cycles d'activité de <i>Glossina pallidipes</i> Aust., <i>G. palpalis fuscipes</i> Newst et <i>G. brevipalpis</i> Newst	1	106
63-1. HARLEY (J. M. B.). — Cf. KIMBER (C. D.) et HARLEY (J. M. B.)	2	252
63-2. HARLEY (J. M. B.). — Périodes interlarvaires et périodes nymphales chez <i>G. pallidipes</i> , <i>G. palpalis fuscipes</i> et <i>G. brevipalpis</i>	2	252
63-4. HARLEY (J. M. B.). — Etude de l'âge et du taux d'infestation des glossines	2	253
63-5. HARLEY (J. M. B.). — Cycles d'activité des glossines à Lugala	2	254
63-6. HARLEY (J. M. B.). — Etudes sur le cycle de la faim chez <i>G. pallidipes</i> à Lugala	2	254
105. HARLEY (J. M. B.). — Fréquence saisonnière et variations diurnes de l'activité chez quelques <i>Stomoxys</i> et <i>Tabanidae</i> de l'Ouganda	3	432
119. HAZRATI (A.). — Cf. HOPKINS (I. G.), HAZRATI (A.) et OZAWA (Y.)	4	585
21. HENDRIX (J. C.). — Cf. BOISVENUE (R. S.) et HENDRIX (J. C.)	1	104
74. HENRY (J.) et CHATELAIN (S.). — Dosage du phosphore minéral sérique par la réaction de Misson	2	258
112. HENRY (N.). — Cf. SCHNEK (A. G.), PAUL (C.), HENRY (N.) et LEONIS (J.)	3	434
160. HENRY (N.). — Cf. LEONIS (J.), HENRY (N.), PAUL (C.) et SCHNEK (A. G.)	4	597
151. HENSON (J. B.) et Collab. — Myodégénérescence chez les bovins pâturant des <i>Cassia</i> spp.	4	595
87. HETRICK (F. M.). — Cf. WHITMAN (J. E.) et HETRICK (F. M.)	3	425
45. HEUSCHELE (W. P.) et COGGINS (L.). — Isolement du virus de la peste porcine africaine chez un hylochère	2	244
33. HILL (F. W.). — L'utilisation, par les poussins, de l'énergie pour la croissance	1	110
97. HILL (J.). — Recherches sur l'Isoméamidium : les effets de l'Isoméamidium, l'Homididum et le Pyrididum sur le pouvoir infectant des Trypanosomes chez la souris	3	429
148. HILLS (T. L.). — Les limites savanes-forêts tropicales. Colloque du Venezuela mai 1964	4	594
119. HOPKINS (I. G.), HAZRATI (A.) et OZAWA (Y.). — Amélioration de la technique des plages pour le titrage et la séroneutralisation du virus de la peste équine	4	585
66. HORRELL (C. R.). — Effet de 2 légumineuses sur la production de pâturages non fertilisés à Serere	2	255
68. HORRELL (C. R.), COURT (M. N.). — Effet du <i>Stylosanthes gracilis</i> sur la production des pâturages de Serere en Ouganda	2	256
70. HORRELL (C. R.), NEWHOUSE (P. W.). — Influence des Légumineuses et des engrais sur la production de pâturages semés en Ouganda	2	256
85. HOWARTH (J. A.) et TERPSTRA (C.). — La culture du virus de la maladie de Nairobi du mouton, en culture de tissu	3	424
121. HOWARTH (J. A.) et TERPSTRA (C.). — Propagation du virus de la maladie de Nairobi du mouton, en culture de tissu	4	586

- HUCHZEMEYER (F. W.). — *Leucocytozoon schoutedeni* Rodhain, Pons, Vandendran-
den et Bequaert, 1913, chez la poule domestique, *Gallus domesticus* en Rhodésie. 3 323
132. HUCK (R. A.). — Cf. AFSHAR (A.), STUART (P.) et HUCK (R. A.)..... 4 589
131. HUGHES (K. L.) et Collab. — Polyarthrite des veaux provoquée par *Mycoplasma* sp. . . 4 589
103. HULLIGER (L.). — Culture de trois espèces de *Theileria* dans les cellules lymphoïdes *in vitro* 3 431

I

167. Immunechemie 15. — Colloquium der Gessellschaft für Physiologische Chemie am
22/25 April 1964 in Mosbach/Baden. 4 603
162. Institut Nigérien de recherches sur les trypanosomiasés. Rapport annuel 1964. 4 598
- ITARD (J.). — Cycle de l'oogenèse chez les femelles de *Glossina tachinoides* West. et
détermination de l'âge physiologique 3 331
14. ITARD (J.). — Toxicologie des injections médicamenteuses utilisées pour le traitement
et la prophylaxie des trypanosomiasés africaines humaines et animales. 1 101
- ITARD (J.) et MAILLOT (L.). — Notes sur un élevage de Glossines (*Diptera muscidae*)
entrepris à partir de pupes expédiées d'Afrique, à Maisons-Alfort 1 29

J

84. JOCHIM (M. M.), LUEDKE (A. J.) et BOWNE (J. G.). — Réponse clinique et immunolo-
gique du mouton aux administrations orales et intradermiques du virus de la
« bluetongue ». 3 424
24. JORDAN (A. M.). — Observations sur l'écologie de *Glossina morsitans submorsitans*
Newst. dans la savane guinéenne septentrionale de la Nigeria du Nord. 1 104
95. JORDAN (A. M.). — Les hôtes des glossines envisagés comme le facteur principal des
taux d'infection par trypanosomes des mouches tsé-tsé en Nigeria. 3 428

K

7. KARRAR (G.) et EL HAG ALI (B.). — Traitement de la heart-water par voie orale au
moyen de l'oxytetracycline (Terramycine en poudre soluble)..... 1 99
82. KARZON (D. T.). — Cf. DELAY (P. D.), STONE (S. S.), KARZON (D. T.), KATZ (S.)
et ENDERS (J.)..... 3 423
82. KATZ (S.). — Cf. DELAY (P. D.), STONE (S. S.), KARZON (D. T.), KATZ (S.) et
ENDERS (J.)..... 3 423
133. KAUFFMANN (M.). — Cf. AMREIN (Y. U.), GEIGY (R.) et KAUFFMANN (M.)..... 4 590
32. KEENER (H. A.). — Cf. COLOVOS (N. F.), KEENER (H. A.), DAVIS (H. A.)..... 1 109
137. KERHARO (J.), ADAM (J. G.). — Plantes médicinales et toxiques des Peuls et des Tou-
couleurs du Sénégal..... 4 591
25. KERNAGHAN (R. J.). — Cf. NASH (T. A. M.) et KERNAGHAN (R. J.) 1 105
26. KERNAGHAN (R. J.). — Cf. NASH (T. A. M.) et KERNAGHAN (R. J.)..... 1 105
62. KERNAGHAN (R. J.). — Cf. NASH (T. A. M.) et KERNAGHAN (R. J.)..... 2 251
- 63-1. KIMBER (C. D.) et HARLEY (J. M. B.). — Une membrane en fibrine pour l'alimenta-
tion des glossines. 2 252
34. KLEIBER (M.). — Choix de l'unité pour la mesure de l'énergie des aliments. 1 110
113. KOCH (H. J.), BERGSTROM (E.) et EVANS (J. C.). — Les hémoglobines du Saumon
atlantique : *Salmo salar* L. 3 434
38. KROESKE (D.). — Cf. MINKEMA (D.), KROESKE (D.), BEKEDAM (M.), STE-
GENDA (Th.) 1 113

L

161. LABIE (D.), DREYFUS (J. C.) et SCHAPIRA (G.). — Sur une nouvelle fraction mineure de l'hémoglobine normale individualisée par ses caractères chromatographiques et métaboliques (Hémoglobine A₄)..... 4 598
 LAHORE (J.). — Cf. GRANIER (P.) et LAHORE (J.)..... 2 233
 56. LAMBRECHT (F. L.). — Cf. WILLETT (K. C.), LAMBRECHT (F. L.) et WILSON (S. G.) 2 249
 163. LANG (L.). — Absorption spectra in the ultraviolet and visible region..... 4 601
 43. LARENAUDIE (B.), HAAG (J.) et CARNERO (R.). — La purification du virus de la Peste porcine africaine par le fluorocarbone..... 2 243
 44. LARENAUDIE (B.). — Cf. HAAG (J.), LARENAUDIE (B.) et GONZALVO (F. R.)..... 2 244
 75. LELUC (R.). — Cf. BOULANGER (P.), MALLEIN (R.) et LELUC (R.)..... 2 259
 112. LEONIS (J.). — Cf. SCHNEK (A. G.), PAUL (C.), HENRY (N.) et LEONIS (J.)..... 3 434
 160. LEONIS (J.), HENRY (N.), PAUL (C.), et SCHNEK (A. G.). — Les composants de l'hémoglobine de poule..... 4 597
 115. LEPINÉ (P.), CADILLON (J.) et CHAUMONT (L.). — Manuel des inoculations et prélèvements chez les animaux de laboratoire..... 3 435
 LHOSTE (Ph.). — Cf. DUMAS (R.) et LHOSTE (Ph.)..... 3 357
 LHOSTE (P.). — Cf. DUMAS (R.) LHOSTE (P.)..... 4 573
 129. LINDLEY (E. P.). — Essais d'un vaccin atténué de culture contre la péripneumonie bovine..... 4 588
 80. LISSOT (G.). — Tu seras Aviculteur..... 2 262
 51. LLOYD (L. C.). — Cf. COTTEW (G. S.) et LLOYD (L. C.)..... 2 246
 67. LO (S. S.). — Les intervalles de plantation de *Setaria sphacelata*..... 2 25
 84. LUEDKE (A. J.). — Cf. JOCHIM (M. M.), LUEDKE (A. J.) et BOWNE (J. G.)..... 3 424

M

11. Mc MILLAN (B.). — Leishmaniose dans la République du Soudan - 22 - *Leishmania hoogstraali* n. sp. chez le gecko..... 1 100
 MAILLOT (L.). — Cf. ITARD (J.) et MAILLOT (L.)..... 1 29
 MAILLOT (L.). — **Glossine et végétation. Indications de l'éclaircissement sélectif et de l'utilisation des insecticides.**..... 3 415
 75. MALLEIN (R.). — Cf. BOULANGER (P.), MALLEIN (R.) et LELUC (R.)..... 2 259
 83. MALMQUIST (W. A.), FERNELIUS (A. L.) et GUTEKUNST (D. E.). — Interférence entre le virus de la diarrhée bovine et le virus de la peste porcine classique en culture de cellules de rein de porc..... 3 424
 71. MATA (P. J.). — Nouveaux pâturages de haute altitude et leur fumure..... 2 257
 MAURICE (Y.) et PROVOST (A.). — **Les réactions d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination avec le virus de la peste équine. Limites de leur interprétation** 4 439
 38. MINKEMA (D.), KROESKE (D.), BEKEDAM (M.), STEGENDA (Th.). — Essai de sélection porcine : Comparaison de l'effet de la sélection individuelle avec l'effet de la sélection basée sur les performances des frères et sœurs..... 1 113
 134. MOHAMMED (A. N.). — Cf. FOLKERS (C.) et MOHAMMED (A. N.).....
 22. MOREL (P. C.). — Description des *Ixodes brumpti* n. sp. (Acariens, *Ixodoidea*) des Damans du Harrar (Ethiopie)..... 1 104
 MOREL (P. C.). — **Etude sur les tiques du bétail en Guadeloupe et Martinique. I. Les tiques et leur distribution (Acariens, *Ixodoidea*).**..... 3 307
 23. MOREL (P. C.) et MOUCHET (J.). — Les tiques du Cameroun (*Ixodidae* et *Argasidae*) (2^e note)..... 1 104
 23. MOUCHET (J.). — Cf. MOREL (P. C.) et MOUCHET (J.)..... 1 104

N

127. NANGIA (S. S.) et Collab. — Vaccin en adjuvant huileux contre la septicémie hémorragique. Test du pouvoir immunigène sur lapin. Durée de l'immunité et facilité de conservation.....	4	587
25. NASH (T. A. M.) et KERNAGHAN (R. J.). — Forte proportion de morts précoces parmi les femelles non fécondées de <i>Glossina austeni</i>	1	105
26. NASH (T. A. M.) et KERNAGHAN (R. J.). — Danger des pulvérisations de résine à la mélamine sur des cages en bois pour insectes.....	1	105
62. NASH (T. A. M.) et KERNAGHAN (R. J.). — Le poids et la viabilité des pupes de <i>Glossina austeni</i> en relation avec les conditions fournies pour le développement nymphal.....	2	251
130. NASRI (M. EL). — La virulence et le pouvoir immunigène des cultures issues de colonies isolées de <i>Mycoplasma mycoides</i> et de <i>Mycoplasma capri</i>	4	588
109. NEME (N. A.), NERY (J. P.). — Influence des engrais minéraux et du chaulage sur la production et la composition chimique des Légumineuses fourragères vivaces.....	3	433
109. NERY (J. P.). — Cf. NEME (N. A.), NERY (J. P.).....	3	433
143. NESTEL (B. L.). — Cf. CREEK (M. J.) et NESTEL (B. L.).....	4	593
70. NEWHOUSE (P. W.). — Cf. HORRELL (C. R.), NEWHOUSE (P. W.).....	2	256
65. NOURRISSAT (P.). — Problèmes posés par l'implantation des prairies temporaires au Sénégal. 1 ^{ers} résultats.....	2	255
141. NOURRISSAT (P.). — Influence de l'époque de fauche et de la hauteur de coupe sur la production d'une prairie naturelle au Sénégal.....	4	592
58. NYBERG (P. A.) et HAMMOND (D. M.). — Description des ookystes sporulés et des sporozoïtes de quatre espèces de coccidies parasites des bovins.....	2	250

O

OUMATIE (O.). — Cf. GRABER (M.), FERNAGUT (R.) et OUMATIE (O.).....	2	149
120. OWEN (N. C.). — Recherches sur la résistance du virus de la blue-tongue aux variations de pH et sur sa survie dans les viandes de mouton et de bœuf.....	4	585
118. OZAWA (Y.). — Interférence en culture cellulaire entre les types de virus de la peste équine.....	4	585
119. OZAWA (Y.). — Cf. HOPKINS (I. G.), HAZRATI (A.) et OZAWA (Y.).....	4	585

P

50. PAPAGEORGIU (C.). — Pouvoir immunisant du virus de Newcastle B I par voie intramusculaire chez les poussins.....	2	246
112. PAUL (C.). — Cf. SCHNEK (A. G.), PAUL (C.), HENRY (N.) et LEONIS (J.).....	3	434
160. PAUL (C.). — Cf. LEONIS (J.), HENRY (N.), PAUL (C.), et SCHNEK (A. G.).....	4	597
PERREAU (P.). — Le Test d'allergie et le diagnostic de la péripneumonie contagieuse bovine. I. Commentaires sur l'extraction de l'antigène et étude expérimentale sur animaux de laboratoire.....	4	457
PERREAU (P.) et CHAMBRON (J.). — Immunologie de la Streptothricose cutanée des bovins. Essai de vaccination.....	3	263
PERREAU (P.). — Cf. DOUTRE (M. P.), PERREAU (P.), CHAMBRON (J.).....	4	471
PETIT (J. P.). — Procédé chromatographique rapide pour l'étude de la fluorescence des aflatoxines.....	1	87
81. PICCIONI (M.). — Dictionnaire des aliments pour les animaux.....	2	262
128. PIER (A. C.). — Cf. RICHARD (J. L.) et PIER (A. C.).....	4	588
116. PINCUS (G.). — The control of Fertility.....	3	435
PIOT (J.). — Etudes pastorales en Adamaoua Camerounais.....	1	45

142. POCTHIER (G.). — Observations effectuées sur des plantes fourragères en Grande-Terre (Guadeloupe) juin 1963-septembre 1964.	4	593
150. PONS (J. H.). — Pâturages et bétail au Swaziland.	4	595
156. POUSSET (A.). — La prairie temporaire dans le cadre de l'exploitation agricole.	4	596
1. PRASAD (L. B. M.) et AHMAD (M. M.). — Salmonellose post-vaccinale chez les bufflons	1	97
2. PRINCEWILL (T. J. T.). — Effet du chlorure de calcium sur la germination et le pouvoir pathogène de « <i>Clostridium chauvei</i> »	1	97
PROVOST (A.). — Cf. MAURICE (Y.) et PROVOST (A.)	4	439

R

59. RAJAGOPAL (P. K.) et BURSELL (E.). — L'effet de la température sur la consommation en oxygène des pupes de tsé-tsé.	2	250
63. Rapport de l'Organisation de recherches sur les Trypanosomiasés de l'Est africain (E. A. T. R. O.)	2	252
79. Rapport final de la première Conférence technique de l'organisation de coordination et de coopération pour la lutte contre les grandes endémies en Afrique centrale (O. C. C. G. E. A. C.)	2	260
123. RASHID (A.). — Cf. BROWN (R. D.) et RASHID (A.)	4	586
RASOLOFOMANANA (P.). — Cf. BOURDIN (P.), SERRES (H.), RASOLOFOMANANA (P.)	2	119
117. REICHENBACH-KLINE (H.) et ELKAN (E.). — The principal diseases of lower vertebrates	3	436
114. RENOUX (G.) et GAUMONT (R.). — Pathologie de la production du lait. II. Méthodes de diagnostic biologique des brucelloses animales.	3	435
149. RIBEIRO (H.). — Cf. BRITTO (D. P. P. de S.), ARONOVICH (S.), RIBEIRO (H.)	4	595
128. RICHARD (J. L.) et PIER (A. C.). — Transmission de <i>Dermatophilus congolensis</i> par <i>Stomoxys calcitrans</i> et <i>Musca domestica</i>	4	588
166. RICHTER (H.). — Cf. DEEG (E.) et RICHTER (H.)	4	603
RIOCHE (M.). — La rickettsiose générale bovine au Sénégal	4	485
RIVIERE (R.) et CLEMENSAT (J.). — Les laits tropicaux. Etude de la composition chimique et des variations de composition des laits de vaches au Mali	2	213
ROBIN (P.), BOURDIN (P.). — Note sur l'action du sulfate de sodium, du sulfate de magnésium et du chlorure de magnésium sur le virus de la peste bovine adapté aux cultures cellulaires.	4	451
60. ROBINSON (G. G.). — Note sur les gîtes de repos nocturnes de <i>Glossina morsitans</i> Westw. en République de Zambie.	2	251
159. ROSE (F.). — Cf. TRAN VAN KY (P.), URIEL (J.) et ROSE (F.)	4	597
144. ROSE INNES (R.). — Concept de « pâturages aériens » dans les savanes arborées de basse altitude	4	593
125. ROWE (L. W.). — Recherche des anticorps neutralisants anti-peste bovine chez les bovins de la Nigeria du Nord.	4	587

S

20. SABAGHIAN (H.). — Cf. ARFAA (F.), SABAGHIAN (H.) et ALEDAWOOD (H.)	1	103
99. SABAGHIAN (H.). — Cf. ARFAA (F.), SABAGHIAN (H.) et BIJAN (H.)	3	430
30. SAINSBURY (D. W. B.). — Installations de mise bas et logements pour les porcs.	1	107
63-3. SAUNDERS (D. S.). — La composition des échantillons de diptères hématophages en fonction du lieu et de la méthode de capture.	2	252

138. SCHAEFFER (W.). — Cf. GABLIKS (J.), SCHAEFFER (W.), FRIEDMAN (L.) et WOGAN (G.)	4	591
161. SCHAPIRA (G.). — Cf. LABIE (D.), DREYFUS (J. C.) et SCHAPIRA (G.)	4	598
16. SCHIAU (S.). — Cf. GHERMAN (I.), DEBAU (M.), SCHIAU (S.), DEBAU (M.)	1	102
112. SCHNEK (A. G.), PAUL (C.), HENRY (N.) et LEONIS (J.). — Comparaison des hémoglobines chez les oiseaux	3	434
160. SCHNEK (A. G.). — Cf. LEONIS (J.), HENRY (N.), PAUL (C.) et SCHNEK (A. G.)	4	597
46. SCOTT (G. R.). — Peste porcine africaine : prévention, lutte contre la maladie, éradication	2	244
47. SCOTT (G. R.). — Le virus de la peste porcine africaine et sa transmission	2	244
13. SEED (J. R.) et BAQUERO (M. A.). — Caractéristiques de l'hexokinase de <i>Trypanosoma rhodesiense</i> et <i>Trypanosoma gambiense</i>	1	101
SERRES (H.). — Cf. BOURDIN (P.), SERRES (H.), RASOLOFOMANANA (P.)	2	119
110. SHENG (C. Y.). — Etude des valeurs optimales et des sources des éléments fertilisants sur le Napier	3	433
52. SHIFRINE (M.). — Cf. GOURLAY (R. N.) et SHIFRINE (M.)	2	247
53. SHIFRINE (M.) et GOURLAY (R. N.). — La réaction cutanée allergique de type immédiat en matière de péripneumonie contagieuse bovine	2	247
136. SHONE (D. K.), DRUMMOND (R. B.). — Plantes toxiques de Rhodésie	4	591
92. SIMMONS (G. C.) et TAMMEMAGI (L.). — « Clostridium botulinum » de type D, cause de botulisme bovin au Queensland	3	427
126. SMITH (V. W.). — Immunisation active des veaux avec le vaccin antipestique de culture cellulaire	4	587
165. SOJKA (W. J.). — <i>Escherichia coli</i> in domestic animals and poultry	4	602
153. SPECK (N. H.) et Collab. — Rapport général sur les terres du Tipperary Area, dans le Territoire du Nord de l'Australie	4	595
37. SPEDDING (C. R. W.). — Conduite du pâturage des moutons	1	112
54. STAMATIN (N.). — Position des Rickettsies dans la systématique des microorganismes	2	247
38. STEGENDA (Th.). — Cf. MINKEMA (D.), KROESKE (D.), BEKEDAM (M.), STEGENDA (Th.)	1	113
10. STEPHENS (J. F.). — Effets physiologiques de la coccidiose à <i>Eimeria necatrix</i> chez le poulet	1	100
146. STOBBS (T. H.). — Production animale sur des pâturages enrichis en <i>Stylosanthes gracilis</i> et <i>Centrosema pubescens</i> en Ouganda	4	594
82. STONE (S. S.). — Cf. DELAY (P. D.), STONE (S. S.), KARZON (D. T.), KATZ (S.) et ENDERS (J.)	3	423
132. STUART (P.). — Cf. AFSHAR (A.), STUART (P.) et HUCK (R. A.)	4	589
15. STYLES (T. J.). — Effets des endotoxines bactériennes sur les infections à <i>Trypanosoma lewisi</i> chez le rat	1	102

T

92. TAMMEMAGI (L.). — Cf. SIMMONS (G. C.) et TAMMEMAGI (L.)	3	427
40. Les techniques frigorifiques dans les pays chauds en voie de développement	1	115
85. TERPSTRA (C.). — Cf. HOWARTH (J. A.) et TERPSTRA (C.)	3	424
121. TERPSTRA (C.). — Cf. HOWARTH (J. A.) et TERPSTRA (C.)	4	586
111. THOMAS (A. S.). — Importance des prairies aquatiques en Afrique	3	433
3. THOMPSON (D. A.). — Cf. BIBERSTEIN (E. L.) et THOMPSON (D. A.)	1	97
159. TRAN VAN KY (P.), URIEL (J.) et ROSE (F.). — Caractérisation de types d'activités enzymatiques dans des extraits antigéniques d' <i>Aspergillus fumigatus</i> après électrophorèse et immunoélectrophorèse en agarose	4	597

TRAORE (S.) et GIDEL (R.). — Observation d'une enzootie d'Aspergillose chez des oisons en Haute-Volta	2	131
---	---	-----

U

18. URGUHART (G. M.) et BROCKLESBY (D. W.). — Longévité de <i>Cysticercus bovis</i>	1	103
139. URIEL (J.). — Cf. TRAN VAN KY (P.), URIEL (J.) et ROSE (F.)	4	597

V

61. VATTIER (G.). — Etude de caractères morphologiques et anatomiques en relation avec l'âge physiologique des femelles de glossines.	2	251
104. VIDLER (B. O.). — Cf. BROCKLESBY (D. W.), BAILEY (K. P.) et VIDLER (B. O.)	3	431
139. VILLAX (E. J.). — La culture des plantes fourragères dans la région méditerranéenne occidentale (Maroc, Portugal, Espagne, Tunisie, Algérie, France)	4	592

W

4. WADDINGTON (F. G.). — Observations sur la sensibilité à la tuberculine du bétail du Kenya	1	98
100. WALKER (J. B.). — <i>Rhipicephalus carnivoralis</i> n. sp. (<i>Ixodoidea</i> , <i>Ixodidae</i>). Une nouvelle espèce de tique de l'Est africain.	3	430
36. WEGNER (R. M.). — Méthodes utilisées pour l'appréciation des aliments pour volailles	1	111
69. WEINMANN (H.). — La fertilisation des pâturages en Rhodésie du Sud	2	256
154. WEST (O.). — Le feu et son utilisation dans l'exploitation des pâturages, en particulier en Afrique tropicale et subtropicale	4	596
87. WHITMAN (J. E.) et HETRICK (F. M.). — Un test d'hémagglutination indirecte pour la détection des anticorps spécifiques de la rhinotrachéite infectieuse bovine	3	425
73. WHYTE (R. O.). — Intensification de l'agriculture fondée sur le développement de la production laitière	2	258
157. WIEME (R. J.). — Electrophorèse en gel de gélose	4	596
94. WILLETT (K. C.). — Quelques observations sur l'épidémiologie récente de la maladie du sommeil dans la région du Nyanza, et ses relations avec l'épidémiologie générale de la maladie du sommeil gambienne et rhodésienne en Afrique	3	428
56. WILLETT (K. C.), LAMBRECHT (F. L.) et WILSON (S. G.). — La trypanosomiase et la mouche tsé-tsé dans la région du Nyanza (Kenya)	2	249
56. WILSON (S. G.). — Cf. WILLETT (K. C.), LAMBRECHT (F. L.) et WILSON (S. G.)	2	249
35. WITT (M.). — Essais d'engraissement de veaux à l'Institut Max Planck de Zootechnie	1	111
138. WOGAN (G.). — Cf. GABLIKS (J.), SCHAEFFER (W.), FRIEDMAN (L.) et WOGAN (G.)	4	591
90. WOOD (R. L.). — Milieu liquide sélectif utilisant les antibiotiques pour l'isolement de <i>Erysipelothrix insidiosa</i>	3	426