

S O M M A I R E

TRAVAUX ORIGINAUX

- 211** LE JAN (C.), THIEMOKO (C.), SOW ABDOUL (D.), FRANÇOIS (J. L.), DIOUARA (A.). Observations sur la clavelée en Mauritanie
- 215** SALUZZO (J. F.), CHARTIER (C.), BADA (R.), MARTINEZ (D.), DIGOUTTE (J. P.). La fièvre de la vallée du Rift en Afrique de l'Ouest
- 225** GUILLEMIN (F.), MOSIENYANE (M.), RICHARD (T.), MANNATHOKO (M.). Etude des vaccinations simultanées contre la fièvre aphteuse et la peste bovine (en anglais)
- 231** ABBAS (B.), EL ZUBEIR (A. E. A.), YASSIN (T. T. M.). Enquête sur certaines zoonoses des dromadaires au Soudan (en anglais)
- 235** MERLIN (P.). Prévention de la kératoconjunctivite infectieuse bovine dans le Nord-Ouest du Cameroun
- 239** NWOSUH (E. N.), ADESIYUN (A. A.). Incidence de l'infection à *Yersinia enterocolitica* sur les poulets nigériens. Etudes sérologique et en culture (en anglais)
- 243** EL SANOUSI (S. M.), ABDELRAHMAN (S. B.), OSMAN (A.). Infection concomitante de *Clostridium novyi* (A, B) et *Clostridium sordellii* chez la souris (en anglais)
- 247** EL SANOUSI (S. M.), ABDELRAHMAN (S. B.), OSMAN (A.). Etude des propriétés de *Clostridium sordellii* et *Clostridium novyi* (A, B) concernant principalement leurs acides gras (en anglais)
- 253** PALO (P. E.). La coccidiose du poulet de chair au Burkina. I. Pathogénicité de l'infection expérimentale à *Eimeria tenella*
- 259** SHKAP (P. E.), PIPANO (E.), UNGAR-WARON (H.). *Besnoitia besnoiti* : essais chimiothérapeutiques *in vivo* et *in vitro* (en anglais)
- 265** DIAW (O. T.), VASSILIADES (G.). Epidémiologie des schistosomoses du bétail au Sénégal
- 275** OGUNRINADE (A. F.), ABATAN, (M. O.). Détection et quantification de l'immunité humorale à *Paramphistomum microbothrium* dans la muqueuse intestinale des bovins
- 279** VOUTOULOU (N.). Oviposition et longévité de la tique *Amblyomma variegatum* Fabricius, 1794 (*Ixodoidea* : *Ixodidae*) en République Populaire du Congo
- 283** KONTE (M.). Microflore bactérienne normale vaginale et préputiale chez les bovins au Sénégal
- 287** OSUAGWUH (A. I. A.), INWANG (U. D.). La chèvre naine Djallonké : relations entre la taille du corps, la circonférence de la mamelle et du trayon et la mortalité des chevreaux (en anglais)
- 293** NASTIS (A. S.). Qualité fourragère du chiendent à crête (*Agropyrum cristatum* Bess.) en relation avec la pluviométrie et le degré de pâturage (en anglais)

C O N T E N T S

ORIGINAL PAPERS

- 211** LE JAN (C.), THIEMOKO (C.), SOW ABDOUL (D.), FRANÇOIS (J. L.), DIOUARA (A.). Observations on sheep-pox in Mauritania
- 215** SALUZZO (J. F.), CHARTIER (C.), BADA (R.), MARTINEZ (D.), DIGOUTTE (J. P.). Rift Valley fever in West Africa
- 225** GUILLEMIN (F.), MOSIENYANE (M.), RICHARD (T.), MANNATHOKO (M.). Immune response and challenge of cattle vaccinated simultaneously against rinderpest and foot-and-mouth disease
- 231** ABBAS (B.), EL ZUBEIR (A. E. A.), YASSIN (T. T. M.). Survey for certain zoonotic diseases in camels in Sudan
- 235** MERLIN (P.). Prevention of infectious bovine keratoconjunctivitis (IBK) in North-West Cameroon
- 239** NWOSUH (E. N.), ADESIYUN (A. A.). Prevalence of *Yersinia enterocolitica* infection in Nigerian chickens : cultural and serologic studies
- 243** EL SANOUSI (S. M.), ABDELRAHMAN (S. B.), OSMAN (A.). Concomitant infection of *Clostridium novyi* (A, B) and *Clostridium sordellii* in mice
- 247** EL SANOUSI (S. M.), ABDELRAHMAN (S. B.), OSMAN (A.). Studies on the properties of *Clostridium sordellii* and *Clostridium novyi* (A, B) with special reference to their fatty acids
- 253** PALO (P. E.). Chickens coccidiosis in Burkina. I. The pathogenicity of experimental infection with *Eimeria tenella* in broiler chickens
- 259** SHKAP (V.), PIPANO (E.), UNGAR-WARON (H.). *Besnoitia besnoiti* : chemotherapeutic trials *in vivo* and *in vitro*
- 265** DIAW (O. T.), VASSILIADES (G.). Epidemiology of schistosomiasis of cattle in Senegal
- 275** OGUNRINADE (A. F.), ABATAN (M. O.). Detection and quantitation of humoral immunity to *Paramphistomum microbothrium* in gut mucosa of cattle
- 279** VOUTOULOU (N.). Oviposition and longevity of tick *Amblyomma variegatum* Fabricius, 1794 (*Ixodoidea* : *Ixodidae*) in Popular Republic of Congo
- 283** KONTE (M.). Normal vaginal and preputial bacterial microflora in cattle in Senegal
- 287** OSUAGWUH (A. I. A.), INWANG (U. D.). The West African dwarf goat : body size, udder and teat circumference in relation to kid mortality
- 293** NASTIS (A. S.). Forage quality of crested wheatgrass (*Agropyrum Cristatum* Bess.) in relation to rainfall and level of forage utilization

S U M A R I O

TRABAJOS ORIGINALES

- 211** LE JAN (C.), THIEMOKO (C.), SOW ABDOUL (D.), FRANÇOIS (J. L.), DIOUARA (A.). Observaciones sobre la viruela ovina en Mauritania
- 215** SALUZZO (J. F.), CHARTIER (C.), BADA (R.), MARTINEZ (D.), DIGOUTTE (J. P.). La fiebre del valle del Rift en Africa del Oeste
- 225** GUILLEMIN (F.), MOSIENYANE (M.), RICHARD (T.), MANNATHOKO (M.). Estudio de vacunaciones simultáneas contra la fiebre aftosa y la peste bovina
- 231** ABBAS (B.), EL ZUBEIR (A. E. A.), YASSIN (T. T. M.). Encuesta sobre algunas zoonosis de los dromedarios en el Sudán
- 235** MERLIN (P.). Prevención de la queratoconjuntivitis infecciosa bovina en el Noroeste del Camerún
- 239** NWOSUH (E. N.), ADESIYUN (A. A.). Incidencia de la infección a *Yersinia enterocolitica* en los pollos de Nigeria
- 243** EL SANOUSI (S. M.), ABDELRAHMAN (S. B.), OSMAN (A.). Infección concomitante de *Clostridium novyi* (A, B) y *Clostridium sordellii* en el ratón
- 247** EL SANOUSI (S. M.), ABDELRAHMAN (S. B.), OSMAN (A.). Estudios de las características de *Clostridium sordellii* y *Clostridium novyi* (A, B) concerniendo principalmente a los ácidos grasos
- 253** PALO (P. E.). La coccidiosis del pollo en Burkina. I. Patogenicidad de la infección experimental con *Eimeria tenella*
- 259** SHKAP (V.), PIPANO (E.), UNGAR-WARON (H.). *Besnoitia besnoiti*: ensayos quimioterapéuticos *in vivo* e *in vitro*
- 265** DIAW (O. T.), VASSILIADES (G.). Epidemiología de las esquistosomosis del ganado en el Senegal
- 275** OGUNRINADE (A. F.). Detección y cuantificación de la inmunidad humoral para con *Paramphistomum microbothrium* en la mucosa intestinal de bovinos
- 279** VOUTOULOU (N.). Oviposición y longevidad de la garrapata *Amblyomma variagnetum* Fabricius, 1794 (*Ixodoidea*: *Ixodidae*) en el Congo
- 283** KONTE (M.). Microflora bacteriana normal vaginal y prepucial en los bovinos en Senegal
- 287** OSUAGWUH (A. I. A.), INWANG (U. D.). La cabra nana Djalonke: relaciones entre el tamaño del cuerpo, la circunferencia de la ubre y del pezón y la mortalidad de los cabritos
- 293** NASTIS (A. S.). Calidad forrajera de *Agropyrum cristatum* Bess. en relación con la pluviometría y el nivel de pastoreo

C. Le Jan¹

C. Thiemoko¹

D. Sow Abdoul¹

J. L. François²

A. Diouara³

Observations sur la clavelée en Mauritanie

LE JAN (C.), THIEMOKO (C.), SOW ABDOUL (D.), FRANÇOIS (J. L.), DIOUARA (A.). Observations sur la clavelée en Mauritanie. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 211-214.

La clavelée évolue en Mauritanie exclusivement sous forme nodulaire ; les lésions pulmonaires sont constantes et en relation directe avec les conséquences cliniques et économiques de l'affection. Les lésions dermiques s'extériorisent surtout chez les animaux jeunes. Deux souches virales ont été isolées de foyers, et la maladie reproduite expérimentalement. La clavelée est une virose respiratoire majeure du mouton en Mauritanie, par le pouvoir pathogène direct du virus et son affinité pour le poumon, et par son incidence sur le complexe de pneumopathies enzootiques de saison fraîche. *Mots clés* : Ovin - Clavelée - Lésion pulmonaire - Pneumopathie - Mauritanie.

INTRODUCTION

La clavelée (variole ovine) est une poxvirose répandue en Afrique, à l'incidence économique grave (3). De nombreux foyers ont évolué en Mauritanie entre 1975 et 1980, décrits par CHAMOISEAU (2), qui constate le caractère strictement nodulaire de l'affection. Une nouvelle recrudescence de foyers dans la région du fleuve, à partir de novembre 1984, a permis, en collaboration avec le Projet d'Encadrement des Eleveurs du Gorgol (P.E.E.G.), d'approfondir certaines particularités de l'affection telle qu'elle évolue en Mauritanie, et de définir plus précisément les points qui restent à clarifier : la nature exacte du virus causal, qui pourrait occuper une place à part dans la classification des poxvirus ; les conséquences du tropisme respiratoire du virus sur l'expression de la maladie ; les relations entre la clavelée et le complexe pneumopathies du mouton en Mauritanie. (4, 5, 6).

MATERIEL ET METHODES

1. C.N.E.R.V. Service de Virologie, B.P. 167, Nouakchott, Mauritanie.
2. Projet d'Encadrement des Eleveurs du Gorgol, Kaédi.
3. Antenne du C.N.E.R.V., Kaédi.

Isolements de virus et caractérisation

Les essais d'isolement sont conduits sur cultures de cellules de rein d'embryon de mouton deuxième passage, à partir des nodules pulmonaires et dermiques et des ganglions trachéobronchiques de malades. Les souches virales sont identifiées par leur effet cytopathogène (coloration au May Grünwald Giemsa après culture sur lamelles en tubes de Leighton) et par séroneutralisation (sérum de référence : sérum d'agneau fourni par le Dr. PRECAUSTA, IFFA-Mérieux).

Reproduction expérimentale de la maladie

Des moutons de 1 an, dépourvus d'anticorps sériques spécifiques du virus claveleux, sont infectés par instillation intranasale, avec des broyats d'organes de malades ou avec le virus adapté aux cultures cellulaires (souche Gorgol 1, 5ème passage).

Sérologie virale

Les anticorps spécifiques du virus claveleux sont recherchés par séroneutralisation (souche Gorgol 1, sérum fixe, virus variable) en microcultures de rein d'embryon de mouton deuxième passage (plaques Titertek 96 cupules, 37 °C, CO₂^{3,5} p. 100).

RESULTATS

Sérologie virale

Sur 515 sérums prélevés dans la région du Gorgol (troupeaux tout-venant) en saison sèche 1985, 18,4 p. 100 (intervalle de confiance : 3,5 p. 100) sont porteurs d'anticorps spécifiques de la clavelée (79 ovins positifs, 16 caprins). Sur 253 sérums prélevés en saison fraîche, 10 p. 100 sont positifs.

C. Le Jan, C. Thiemoko, D. Sow Abdoul, J. L. François, A. Diouara

Observations de terrain

L'évolution est saisonnière (foyers d'octobre à mars), et cyclique (nombreux foyers de 1975 à 1980, puis reprise en 1984 après une période d'éclipse relative) (6). Sur 5 foyers suivis dans la région du fleuve (départements de Kaédi et de Monguel), la morbidité est de 10 à 15 p.100 ; la mortalité, inférieure à 5 p.100, concerne uniquement des jeunes agneaux sous la mère et des moutons hors d'âge. La maladie évolue sous forme exclusivement nodulaire : nodules intradermiques, dans la caillette, le foie, les reins chez les jeunes, rares chez les animaux âgés ; nodules pulmonaires (« claveaux ») chez tous les animaux atteints. Les signes respiratoires sont constants, mais relativement discrets en regard de l'étendue des lésions pulmonaires. La mort, fréquente chez le jeune, peut survenir chez les animaux âgés par abcédation des nodules pulmonaires.

Isolement du virus et reproduction expérimentale de la maladie

Deux souches (souches Gorgol 1 et Gorgol 2) ont été isolées à partir de broyats de lésions pulmonaires de deux agneaux présentant une forme aiguë de clavelée (confirmée par examen histologique des lésions - Pr PARODI, Ecole Nationale Vétérinaire, Maisons-Alfort) dans deux foyers différents de la maladie. La maladie a été reproduite expérimentalement, par instillation intranasale de broyats de nodules d'animaux malades ou d'une suspension de virus adapté à la culture cellulaire (souche Gorgol 1 au 5ème passage). Les animaux, sacrifiés entre le 15ème et le 25ème jour suivant l'inoculation après avoir présenté un épisode de troubles respiratoires, présentent de nombreux nodules translucides sur le poumon, de taille variable (2-3 mm à 5 cm de diamètre), certains au centre d'une zone d'hépatisation rouge ; on note l'absence de nodules intradermiques. Le virus a été réisolé à partir des lésions pulmonaires des animaux infectés expérimentalement.

DISCUSSION

Evolution de la clavelée en Mauritanie et caractères cliniques

Fréquence

Les foyers de clavelée en Mauritanie sont bien délimi-

tés ; les analyses sérologiques montrent une infection de troupeaux (les animaux positifs appartiennent à quelques troupeaux), ce qui confirme les observations de terrain. Les foyers, dans une même région, sont bien circonscrits. Compte tenu des variations de fréquence dans le temps, il ne paraît donc pas justifié de préconiser une vaccination systématique du cheptel mauritanien.

Evolution clinique

La clavelée évolue exclusivement sous forme nodulaire en Mauritanie ; quelques particularités sont à souligner :

— La constance des lésions pulmonaires : il n'a jamais été observé de nodules dermiques sans lésions nodulaires du poumon à l'autopsie. Par contre, dans un troupeau infecté, parallèlement aux formes cliniques classiques (lésions dermiques et lésions pulmonaires) on peut observer des animaux avec lésions pulmonaires, mais sans lésions dermiques.

— Les nodules intradermiques sont une constante chez l'agneau jeune (sous la mère) ; ils sont alors très nombreux, et la mort survient à court terme par complications pulmonaires. On peut aussi les observer sur de vieilles brebis.

Sur l'adulte, les lésions dermiques nodulaires ne sont jamais une constante, et lorsqu'elles existent, elles restent discrètes, limitées aux parties à peau fine, et peuvent passer inaperçues car sans tendance à l'ulcération ou à la surinfection. On peut observer à l'abattoir des poumons avec des claveaux caractéristiques, sans nodules intradermiques.

— La mort peut survenir chez l'adulte par abcédation des lésions pulmonaires, mais il s'agit généralement d'animaux âgés et débilités (une brebis hors d'âge et cachectique a été présentée comme guérie de clavelée : elle présentait à l'autopsie une volumineuse abcédation d'un nodule pulmonaire). La mort n'est pas l'évolution habituelle chez l'adulte.

La maladie est atypique dans son évolution, et présente quelques particularités qui en font une entité nosologique à part : la clavelée est décrite sous forme nodulaire en Afrique au sud du Sahara, sous forme classique en Afrique du Nord, les deux types coexistant en Inde et au Proche-Orient (3) ; ANGBA et PIERRE (1) décrivent deux vagues épidémiologiques en Côte-d'Ivoire, l'une bénigne avec les classiques éruptions cutanées, l'autre grave avec lésions nodulaires dermiques et pulmonaires et mortalités. Au Sénégal, la forme nodulaire n'est pas observée. En Ethiopie, la clavelée atteint aussi les caprins (M. VIGIER, communication personnelle). En Mauritanie, seule existe une forme nodulaire, mais sans ulcération ni surinfection des lésions dermiques, ni atteinte des caprins ; la

variole caprine n'est d'autre part pas signalée. Il est certain que ce que l'on appelle clavelée peut recouvrir des poxviroses différentes, dues à des virus voisins, à parenté antigénique étroite, mais qui varient dans leur expression clinique et leur spécificité d'espèce.

Virus claveleux ou autre poxvirus ?

Ces données rendent nécessaire une étude complémentaire des souches virales isolées en Mauritanie. L'hypothèse a été émise par CHAMOISEAU d'une souche de virus Neethling adapté au mouton (2). L'existence de la maladie nodulaire des bovins devrait cependant être confirmée en Mauritanie : sur un foyer de lésions cutanées observé par SCHAAD à Sélibaby en 1982 (7), la recherche d'anticorps spécifiques sur 4 sérums de convalescents par BAVHI (IEMVT) avait montré que seul un sérum neutralisait le virus de Neethling, et à un titre faible (1/4). Une étude de biochimie virale permettra de faire le point sur l'étiologie exacte de cette variole du mouton en Mauritanie.

Clavelée et pathologie pulmonaire

Dans son expression clinique, la clavelée est en Mauritanie avant tout une affection pulmonaire. Le nodule pulmonaire est une lésion pathognomonique. Les nodules cutanés accompagnent la clavelée chez le jeune, chez qui elle évolue sous forme aiguë ou suraiguë, mais ne sont pas la cause de la mort (pneumonie). On ne peut pas en tirer de conclusions sur le tropisme de la souche : les infections expérimentales par voie intranasale ont été massives (inoculation de $5 \cdot 10^4$ à $5 \cdot 10^5$ D.C.P.50), et si aucune généralisation dermique n'a été observée, le sacrifice des animaux 14 à 25 jours après l'inoculation ne permet cependant pas de les exclure. Il serait d'autre part intéressant de suivre l'évolution après l'inoculation intradermique du virus. Mais deux conclusions pratiques peuvent être tirées :

— diagnostic : la clavelée est déclarée dans un troupeau sur la base de la constatation de lésions dermiques, essentiellement sur les animaux jeunes. Un adulte avec lésions pulmonaires ne sera pas considéré comme atteint de clavelée. Si cela n'a pas grande importance lorsqu'évolue une enzootie dans un troupeau neuf (quelques jeunes marquant l'infection), la clavelée peut ne pas être diagnostiquée lorsqu'elle

s'entretient dans un troupeau avec un certain taux d'animaux séropositifs ; d'autre part, le nombre de malades est toujours sous-évalué, et des mortalités ou morbidités incluses dans les pneumopathies ressortent en fait de la clavelée.

— clavelée et pneumopathies : le rôle possible du virus claveleux dans le complexe « pneumopathies enzootiques des petits ruminants », qui présentent en Mauritanie un pic principal en saison fraîche et un second pic en hivernage(*), ne doit pas être sous-estimé. Les lésions nodulaires du poumon, bien circonscrites, n'ont pas tendance à l'extension dans les formes subaiguës, et peuvent être le siège de surinfections. D'autre part, les conséquences de la réduction des capacités fonctionnelles du poumon sur les capacités zootechniques de l'animal, si elles ne sont pas quantifiées, s'inscrivent très vraisemblablement dans le bilan économique de cette pathologie respiratoire.

CONCLUSION

La clavelée est, à côté de la peste des petits ruminants, une des viroses majeures du mouton en Mauritanie. Son caractère atypique (évolution nodulaire, constance et prédominance des lésions pulmonaires), va bien dans le sens de l'éventualité de l'intervention d'un poxvirus différent du virus claveleux classique, et une étude biochimique complémentaire pourrait résoudre ce problème de classification. Sur le terrain, il est important d'avoir à l'esprit le fait que les lésions nodulaires du poumon chez l'adulte peuvent exister sans lésions dermiques, pour évaluer la fréquence réelle de la maladie et mettre en oeuvre les mesures nécessaires. Les voies de recherche explorées actuellement sont l'étude du tropisme des souches isolées, en comparant l'évolution clinique selon la voie d'infection (nasale ou intradermique) et le suivi du devenir des nodules pulmonaires : combien de temps persistent-ils ? évoluent-ils vers une cicatrisation spontanée ? sont-ils fréquemment le siège de surinfections ?

Il est essentiel, indépendamment de la clavelée-maladie, diagnostiquée en tant que telle, d'évaluer l'incidence de l'infection par ce virus sur le complexe de pneumopathies du mouton en Mauritanie.

(*) En Afrique de l'Ouest, ce terme est couramment utilisé pour saison des pluies.

C. Le Jan, C. Thiemoko, D. Sow Abdoul, J. L. François, A. Diouara

LE JAN (C.), THIEMOKO (C.), SOW ABDOUL (D.), FRANÇOIS (J. L.), DIOUARA (A.). Observations on sheep-pox in Mauritania. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 211-214.

In Mauritania, sheep-pox is found only under nodular form ; pulmonary lesions are constant and in direct connection with clinical and economical affection consequences. Dermic lesions are especially seen on young animals. Two virus strains have been isolated from foci, and the disease has been experimentally reproduced. Sheep-pox is a major respiratory virus disease in Mauritania, because of the direct pathogenic power of the virus and its affinity for the lung and because of its incidence upon dry season enzootic pneumopathies complex. *Key words* : Sheep - Sheep-pox - Pulmonary lesion - Pneumopathy - Mauritania.

LE JAN (C.), THIEMOKO (C.), SOW ABDOUL (D.), FRANÇOIS (J. L.), DIOUARA (A.). Observaciones sobre la viruela ovina en Mauritania. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 211-214.

En Mauritania, se ocurre la viruela ovina en exclusiva con una forma nodular ; las lesiones pulmonares son constantes y en relación directa con las consecuencias clínicas y económicas de la enfermedad. Las lesiones dérmicas se exteriorizan sobre todo en los animales jóvenes. Se aislaron dos cepas virales y se reprodujo experimentalmente la enfermedad. La viruela ovina es una virosis respiratoria que predomina en la oveja en Mauritania a causa del poder patógeno directo del virus y su afinidad para el pulmón y a causa de su incidencia sobre el complejo de neumopatía de estación fresca. *Palabras claves* : Ovino - Viruela ovina - Lesión pulmonar - Neumopatía - Mauritania.

BIBLIOGRAPHIE

1. ANGBA (A.), PIERRE (F.). La clavelée en Côte-d'Ivoire : épidémiologie, diagnostic et prophylaxie. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1983, **36** (4) : 333-336.
2. CHAMOISEAU (G.). Poxvirose chez le mouton mauritanien : clavelée ou maladie nodulaire atypiques ? *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1985, **38** (2) : 119-121.
3. LEFEVRE (P. C.). La variole ovine (clavelée) et la variole caprine. Maisons-Alfort, IEMVT, 1983. (Etudes et synthèses de l'IEMVT n° 7).
4. LE JAN (C.), SOW ABDOUL (D.), THIEMOKO (C.). Rapport du Service de Virologie. In : Rapport final Convention CEE/IEMVT/CNERV « Pathologie respiratoire des petits ruminants ». Nouakchott, CNERV, Novembre 1986.
5. LE JAN (C.), SOW ABDOUL (D.), THIEMOKO (C.), FRANÇOIS (J. L.), DIOUARA (A.). Pneumopathies enzootiques des petits ruminants en Mauritanie : situation d'ensemble et approche expérimentale. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (2).
6. Rapports annuels. Nouakchott, Direction de l'Elevage, 1982 à 1985.
7. SCHAAD (D.). Rapport final du projet D.R.I.G. Nouakchott, Direction de l'Elevage, 1983.

J. F. Saluzzo¹

C. Chartier²

R. Bada³

D. Martinez²

J. P. Digoutte¹

La fièvre de la vallée du Rift en Afrique de l'Ouest

Cette étude séro-épidémiologique effectuée en Afrique de l'Ouest entre 1981 et 1986 met en évidence l'importante circulation du virus RVF par le Sud de la Mauritanie et attire l'attention sur le risque potentiel de manifestations épizootiques en relation avec l'aménagement du fleuve Sénégal.

C'est effectivement ce qui s'est produit en octobre-décembre 1987 où une importante poussée épidémiologique et épizootique s'est produite dans la région de Rosso, nouvellement irriguée par la mise en fonction du barrage de Diama.

Note de l'éditeur

Manuscrit reçu le 1er avril 1987.

SALUZZO (J. F.), CHARTIER (C.), BADA (R.), MARTINEZ (D.), DIGOUTTE (J. P.). La fièvre de la vallée du Rift en Afrique de l'Ouest. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 215-223.

Des enquêtes sérologiques ont été réalisées entre 1981 et 1986 dans différents pays d'Afrique de l'Ouest (Sénégal, Gambie, Guinée, Mauritanie, Burkina et Niger) afin d'apprécier l'importance de la circulation du virus RVF (Rift Valley Fever), et son incidence en pathologie animale et humaine. Au total, 5 315 sérums prélevés chez des chèvres, des moutons, des boeufs, des dromadaires et dans les populations humaines ont été testés par IFI. Les sérums trouvés positifs ont été contrôlés par le test de neutralisation par réduction des plages. Un important foyer de circulation du virus RVF a été découvert dans le Sud de la Mauritanie : 17,8 p. 100 (83 sérums positifs/466 testés) du bétail présentaient des anticorps pour le virus RVF. En outre, dans cette région, 13,3 p. 100 (32/240) des éleveurs se sont également avérés positifs. Dans les autres régions d'Afrique de l'Ouest, la prévalence en anticorps est très faible (0,4 à 6,3 p. 100). Aucune souche de virus RVF n'a pu être isolée des 1 478 rongeurs, capturés au Sénégal et en Mauritanie. La prévalence en anticorps s'avère faible chez les rongeurs (2 sérums positifs/287 testés), et nulle chez les singes (0/88 testés). Une étude portant sur 461 avortements

dans le bétail de Mauritanie a permis de montrer l'absence de corrélation entre les sérologies positives pour le virus RVF et les avortements. Les données préliminaires recueillies au cours de cette étude permettent d'opposer la situation épidémiologique de la fièvre de la vallée du Rift en Afrique de l'Ouest à celle de l'Afrique de l'Est et du Sud et de suggérer soit une résistance particulière du bétail de cette région, soit un pouvoir pathogène atténué des souches de virus RVF circulant en Afrique de l'Ouest. *Mots clés* : Animal domestique - Rongeur - Dromadaire - Homme - Fièvre de la vallée du Rift - Zoonose - Epidémiologie - Pouvoir pathogène - Afrique occidentale.

INTRODUCTION

La fièvre de la vallée du Rift (FVR ou RFV) est une maladie infectieuse, virale, transmise par les arthropodes, atteignant l'homme et les animaux. Elle est connue depuis de nombreuses années pour être responsable d'importantes poussées épizootiques en Afrique de l'Est et du Sud (1) affectant principalement les ovins. Au cours de ces manifestations, l'homme peut se contaminer en particulier par contact étroit, avec les bêtes malades ou mortes. Ces dernières années, la FVR a suscité un intérêt particulier en raison de l'importante poussée épizootique observée en 1977 et 1978 en Egypte (16). Cette diffusion du virus à partir de la région afro-tropicale à laquelle l'affection s'était jusqu'alors limitée, attira l'attention sur l'importance de la maladie en tant que source d'un germe pathogène pour l'homme et l'animal en dehors de l'Afrique (21).

En 1983, MEEGAN *et al.* (17) ont démontré que le virus Zinga, arbovirus non groupé, isolé en République Centrafricaine (7), était identique au virus RVF. Ce qui permet d'étendre la distribution de ce virus au Sénégal, à la Guinée, au Burkina, à la RCA et à Madagascar, établissant ainsi une très large diffusion du virus RVF sur le continent africain.

Cette observation a amené à étudier la fièvre de la vallée du Rift en Afrique de l'Ouest.

Sont donc présentés ici les résultats d'enquêtes sérologiques effectuées chez les animaux domestiques, la faune sauvage et les humains. Ces données sont discutées en fonction des récents isolements du virus dans cette région.

1. Institut Pasteur de Dakar, BP 220, Dakar, Sénégal.

Adresse actuelle : U.S. Army Medical Research Institute of infectious diseases, Fort Detrick, Frederick, MD 21701-5011, USA.

2. Centre National d'Elevage et de Recherches Vétérinaires, Projet IEMVT, BP 127, Nouakchott, Mauritanie.

3. Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires, BP 5077, Dakar, Sénégal.

MATERIEL ET METHODES

Origine des prélèvements

Les prélèvements sur homme, animaux domestiques (chèvres, moutons, boeufs, dromadaires) et animaux sauvages ont été réalisés au cours d'enquêtes ponctuelles effectuées entre 1981 et 1986. Les localités où les enquêtes ont été réalisées sont rapportées sur la figure 1, et dans les tableaux I, II et III. Les sérums ont été conservés sur le terrain à + 4 °C puis au laboratoire à - 20 °C.

Techniques sérologiques

Tous les sérums ont été testés par la méthode d'immunofluorescence indirecte (IFI), au moyen de cellules Véro infectées avec le virus RVF (souche ArB 1976). En outre, les sérums de petits ruminants provenant du Niger ont été testés par IFI vis-à-vis de quatre phlébovirus africains : Gordil (GOR), Saint-Floris (SAF), Arumowot (AMT) et Gabek Forest (GF). Les conjugués fluorescents sont ceux du commerce : anti-immunoglobulines d'homme (Pasteur Diagnostic), anti-immunoglobulines de chèvre, de mouton, de boeuf et de rongeur (Biosys). Les sérums de dromadaires ont été testés avec un conjugué fluorescent anti-immunoglobulines de chèvre.

Une partie des sérums a également été étudiée par les trois méthodes sérologiques suivantes : les réactions d'inhibition de l'hémagglutination (I.H.A.) et de fixation du complément (FC) effectuées à l'aide d'un antigène saccharose-acétone et le test de neutralisation par réduction des plages (TNRP) réalisé sur cellules Véro, au moyen de 100 unités formant plages (UFP) de la souche ArB 1976, mise en présence des sérums à tester pendant 1 h à 37 °C.

Ces différentes techniques sérologiques ont été décrites en détail par SWANEPOEL *et al.* (25).

Enquête sur les avortements des petits ruminants en Mauritanie

Une enquête séro-épidémiologique sur les avortements infectieux des petits ruminants en Mauritanie a été réalisée entre octobre 1984 et mars 1985 (2). Cette étude pluridisciplinaire a notamment porté sur le virus de la fièvre de la vallée du Rift. Les animaux prélevés ont été testés par IFI et par TNRP afin d'apprécier l'importance du virus RVF dans la pathologie abortive.

Tentatives d'isolement du virus RVF

Dans les principales régions du Sénégal, 1 397 ron-

geurs ont été capturés pour étude virologique. En outre, 81 rongeurs ont été prélevés dans la région de Selibaby en Mauritanie. Les captures de rongeurs ont été réalisées dans les villages, au voisinage des habitations et dans les zones de cultures. Dans ces conditions, 3 espèces ont été le plus fréquemment rencontrées : *Mastomys sp.*, *Arvicanthis niloticus* et *Rattus rattus*.

Les tentatives d'isolement ont été réalisées à partir de broyats de pools d'organes (foie, rein, rate, poumon, cerveau) inoculés à des souris nouveaux-nés.

RESULTATS

Choix de la méthode sérologique

Au total, 81 sérums de dromadaire ont été testés simultanément par les quatre méthodes sérologiques. Parmi ceux-ci, 25 sont positifs par le test de neutralisation par réduction des plages, 22 sont positifs en IHA, 20 en IFI et seulement 4 en FC.

Le TNRP a été employé pour le contrôle des sérums trouvés positifs en IFI. Tous les prélèvements ont été testés en IFI, cette technique a été retenue de préférence à la réaction d'IHA en raison des difficultés d'obtention d'un antigène hémagglutinant possédant un titre élevé.

Enquêtes sérologiques sur les petits ruminants et les bovins

Les résultats des enquêtes sérologiques par la méthode d'IFI appliquée aux sérums de ruminants (chèvre, mouton, boeuf) sont rapportés dans les tableaux I, II et III. Les sérums provenant du Sénégal, de Gambie, de Guinée et du Burkina ont été testés uniquement en IFI. Ceux de Mauritanie trouvés positifs en IFI ont été contrôlés par le test de neutralisation par réduction des plages. La quasi-totalité des sérums a présenté des anticorps neutralisants à un titre $\geq 1 : 80$ (Tabl. II). Le test de neutralisation n'a pu être appliqué aux sérums prélevés au Niger, qui pour la plupart se sont avérés contaminés. Les sérums de cette région positifs en IFI ont été testés par cette technique vis-à-vis des autres phlébovirus africains. Sur les 33 sérums positifs pour le virus RVF (Tabl. III), 13 le sont également pour l'antigène Arumowot. Tous sont négatifs pour les antigènes Gordil, Saint-Floris et Gabek Forest.

Les sérums doublement positifs pour les antigènes RVF et AMT proviennent principalement des régions

de Niamey et d'Agadez. Afin de rechercher une éventuelle circulation du virus Arumowot dans ces régions, 95 sérums de petits ruminants trouvés négatifs pour l'antigène RVF ont été testés vis-à-vis des autres phlébovirus. Tous les sérums sont négatifs pour les antigènes GOR, SAF, GF. Dans la région de Niamey, 5 sérums/57 sérums testés (8,8 p. 100) sont positifs pour l'antigène AMT ; à Agadez, il n'a pas été trouvé de sérums positifs sur les 38 testés.

Enquêtes sérologiques sur les dromadaires

Les prélèvements ont été effectués dans la région de Nouakchott, d'une part dans les troupeaux sédentarisés et d'autre part dans des troupeaux transhumants, en provenance du Sud de la Mauritanie (région de Kaédi et Selibaby). Aucun des 32 dromadaires sédentarisés ne présentait des anticorps pour le virus RVF.

TABLEAU I Résultats des enquêtes sérologiques par IFI pour l'antigène RVF. Petits ruminants et bovins du Sénégal, de Gambie, de Guinée et du Burkina.

Pays	Région	Localités (*)	Nombre positifs/Nombre testés			Total de positifs (en pourcentage)
			Chèvre	Mouton	Bœuf	
Sénégal	Fleuve	St-Louis (1) Dagana (2) Podor (3) Bakel (4)	3/79	3/177	3/75	9/331 (2,7 p. 100)
	Sénégal oriental	Kédougou (5) Tambacounda (6)	0/75	3/85	1/88	4/248 (1,6 p. 100)
	Casamance	Kolda (7) Ziguinchor (8)	—	2/52	2/11	4/63 (6,3 p. 100)
Gambie		Banjul (9)	—	—	1/20	1/20 (5,0 p. 100)
Guinée	Fouta Djallon	Dira (10)	—	—	2/40	2/40 (5,0 p. 100)
Burkina		Bobo Dioulasso (19)	2/36	0/26	1/34	3/96 (3,1 p. 100)

(*) Les numéros indiqués entre parenthèses se réfèrent à la figure 1.

TABLEAU II Résultats des enquêtes sérologiques par IFI pour l'antigène RVF. Petits ruminants et bovins de Mauritanie.

Région	Localités	Nombre positifs/Nombre testés						Total de positifs IFI (en pourcentage)
		Chèvre		Mouton		Bœuf		
		IFI	Contrôle TNRP (*)	IFI	Contrôle TNRP	IFI	Contrôle TNRP	
Trarza	Nouakchott (11) Mederdra (12) Rosso (13)	2/273	2/2	1/72	1/1	1/20	1/1	4/365 (1,1 p. 100)
Tagant	Tidjikja (14)	14/162	13/14	3/33	3/3	—	—	17/195 (8,7 p. 100)
Gorgol	Kaédi (15)	3/77	3/3	3/19	3/3	—	—	6/96 (6,25 p. 100)
Assaba	Kiffa (16)	16/95	14/16	—	—	2/10	2/2	18/105 (17,1 p. 100)
Guidimakha	Selibaby (17)	10/63	10/10	8/62	8/8	2/25	2/2	20/150 (13,3 p. 100)
Hodh occidentale	Aïoun (18)	16/104	15/16	4/22	4/4	6/27	6/6	26/153 (17,0 p. 100)

(*) Contrôle des sérums trouvés positifs en IFI, par le test de neutralisation par réduction des plages.

TABLEAU III Résultats des enquêtes sérologiques par IFI pour l'antigène RVF. Petits ruminants du Niger.

Région (Département)	Localités	Nombre positifs/Nombre testés		Total de positifs (en pourcentage)
		Chèvre	Mouton	
Niamey	Niamey (21)	2/143	3/120	5/263 (1,9 p. 100)
Dosso	Dosso (22)	1/90	1/55	2/145 (1,4 p. 100)
Maradi	Maradi (23)	2/111	5/130	7/241 (2,9 p. 100)
Zinder	Zinder (24)	1/38	8/107	9/145 (6,2 p. 100)
Diffa	Diffa (25)	2/111	—	2/111 (1,8 p. 100)
Agadez	Agadez (26)	2/150	6/145	8/295 (2,7 p. 100)

Par contre, 12/41 (29 p. 100) des animaux provenant du Sud se sont avérés positifs en IFI. Enfin, dans la région de Tidjikja, 7/17 dromadaires ont été trouvés positifs pour le virus RVF. Tous ces animaux avaient séjourné lors de l'hivernage dans les régions du Sud (Selibaby ou Kiffa).

Enquêtes sérologiques sur la faune sauvage

Au total, 268 *Mastomys erythroleucus* et 19 *Rattus rattus* prélevés en Casamance et au Sénégal oriental ont été testés en IFI. Seulement deux *Mastomys erythroleucus* se sont avérés positifs.

Enfin, aucun des 88 singes appartenant aux espèces *Erythrocebus patas*, *Cercopithecus aethiops* et *Papio papio* capturés au Sénégal oriental ne possédait des anticorps pour le virus RVF.

Enquêtes sérologiques dans les populations humaines

Les résultats des enquêtes sérologiques dans les populations humaines sont rapportés dans le tableau IV. Les sérums prélevés dans la région de Kédougou l'ont été dans le cadre d'une surveillance de la circulation des arbovirus chez les enfants de moins de 11 ans. Les autres prélèvements ont été effectués au cours d'enquêtes ponctuelles.

Tentatives d'isolement du virus RVF à partir de rongeurs

Aucune souche de virus RVF n'a pu être obtenue à partir de 1 478 rongeurs provenant du Sénégal et de Mauritanie. Deux souches de virus Gabek Forest ont été isolées à partir de pools d'organes d'*Arvicanthis*

TABLEAU IV Résultats des enquêtes sérologiques par IFI pour l'antigène RVF. Populations humaines du Sénégal, de Mauritanie et du Burkina.

Pays	Région et/ou localités (*)	Année	Nombre positifs/Nombre testés (en pourcentage)
Sénégal	Sénégal oriental	1982	0/163
	Kédougou (5)		
	—	1983	0/146
	—	1984	0/203
	—	1985	1/229 (0,4 p. 100)
	Tambacounda (6)	1984	5/341 (1,5 p. 100)
Mauritanie	Casamance (8)	1984	4/481 (0,8 p. 100)
	Gorgol	1984	23/181 (12,7 p. 100)
	Kaédi (15)		
Guidimakha	1984	9/59 (15,25 p. 100)	
Selibaby (17)			
Burkina	Fada NGourma (20)	1983	3/360 (0,8 p. 100)

(*) Les numéros indiqués entre parenthèses se réfèrent à la figure 1.

niloticus capturés respectivement dans le Siné-Saloum (Sénégal) et dans la région de Selibaby (Mauritanie).

Enquête séro-épidémiologique sur les avortements des petits ruminants

Cette étude a été réalisée par le Centre National d'Elevage et de Recherches Vétérinaires de Mauritanie. Les résultats détaillés ont été précédemment rapportés (2).

En ce qui concerne le virus RVF, les résultats sont mentionnés dans le tableau V. Ils ne révèlent aucune corrélation entre une infection du virus RVF (sérologie positive) et un antécédent abortif de la femelle quel que soit le critère retenu.

TABLEAU V Résultats des enquêtes sérologiques par IFI pour l'antigène RVF chez les caprins et ovins de Mauritanie, en fonction des commémoratifs de reproduction.

Circonstances du prélèvement	Nombre positifs/ Nombre testés (en pourcentage)
Avortement datant de moins de 2 mois	9/166 (5,4)
Mise bas normale datant de moins de 2 mois	10/112 (8,9)
Femelles ayant avorté	26/295 (8,8)
Femelles n'ayant pas avorté	25/247 (10,1)

DISCUSSION

Le virus de la fièvre de la vallée du Rift a été isolé pour la première fois par DAUBNEY *et al.* (4) en 1931 près du lac Naivasha dans la région de la vallée du Rift au Kenya, au cours d'une poussée épizootique atteignant les petits ruminants. La FVR a par la suite été décrite à plusieurs reprises en Afrique australe et en Afrique de l'Est (1). Plus récemment, des poussées épizootiques ont été observées au Soudan en 1973 et en 1976 (8). En 1977-1978, une importante épizootie a eu lieu en Egypte. Outre les importantes pertes en bétail, l'atteinte humaine a été très sévère (16).

Les données concernant la fièvre de la vallée du Rift en Afrique de l'Ouest sont très limitées. En 1931, STEFANOPOULO (23) évoque la possibilité d'une relation entre une infection connue sous le nom de « dioundé » dans les régions de Ségou et de Macina (Mali) et la fièvre de la vallée du Rift. CURASSON en

1934 (3) exprime aussi l'avis que « l'hépatite nécrosante infectieuse » qu'il a observée chez le bétail de cette même région semble être due au virus RVF. En 1936, FINDLAY *et collab.* (13), au cours d'enquêtes sérologiques confirment ces données en démontrant la présence d'anticorps neutralisant le virus RVF parmi les habitants du village de Sokolo (district de Ségou) où des cas de fièvre d'origine indéterminée avaient suggéré l'idée de l'existence d'infections humaines dues au virus RVF (23). Au cours de cette enquête, ces auteurs ne trouvent aucune trace de circulation du virus dans les pays côtiers (Sénégal, Gambie, Libéria, Côte-d'Ivoire et Nigeria). Au Nigeria, la maladie a été décrite pour la première fois par FERGUSON en 1959 (12). Le virus a été isolé par LEE (14) à partir d'arthropodes. Les enquêtes sérologiques montrent une faible circulation du virus RVF dans ce pays (9, 11). Au Sénégal, le virus RVF, initialement décrit sous le nom de Zinga, a été isolé pour la première fois en 1974 à partir de lots d'*Aedes dalzieli* capturés dans la région de Kédougou (Sénégal oriental) puis retrouvé chez ce même vecteur dans cette région en 1983. Un cas humain a été rapporté en 1975 chez un technicien entomologiste après qu'il eut séjourné dans la région de Kédougou. Le virus RVF a été isolé en 1983 à partir de lots d'*Aedes cummingsi* et d'*Aedes fuscifer* capturés dans la région de Fada N'Gourma dans l'Est du Burkina (20). Enfin, le virus RVF a été obtenu à 6 reprises à partir de pools d'organes de chiroptères capturés entre 1981 et 1985 dans la région de Kindia en Guinée (BOIRO, communication personnelle).

La présente étude repose essentiellement sur des données sérologiques, ce qui pose le problème de la spécificité et de la sensibilité des techniques retenues. La démonstration par SHOPE *et al.* (22) de l'appartenance du virus RVF au genre phlébovirus (famille *Bunyaviridae*) a amené SWANEPOEL *et al.* (25) à étudier les relations sérologiques du virus RVF avec les différents phlébovirus africains. Ces auteurs ont montré qu'après inoculation au mouton des virus Gordil, Saint Floris, Gabek Forest et Arumowot, la réponse sérologique à ces différents virus n'interférait pas avec le virus RVF. En outre, ces virus ne produisent aucune infection comparable à la maladie induite par le virus RVF. Enfin, SWANEPOEL *et al.* (24) en testant différentes méthodes (TNRP, IHA, IF et FC) ont montré qu'à l'exception de la réaction de FC, elles s'avèrent de sensibilités voisines.

Ces différentes techniques appliquées aux sérums de dromadaires de Mauritanie, utilisant la souche de RVF ArB 1976, confirment les résultats rapportés par ces auteurs. En outre, on constate une bonne corrélation entre les tests IFI et TNRP (Tabl. II). Par conséquent, les données sérologiques de cette enquête peuvent prétendre refléter l'activité du virus RVF dans différentes régions de l'Afrique de l'Ouest. Elles démontrent

J. F. Saluzzo, C. Chartier, R. Bada, D. Martinez, J. P. Digoutte

l'existence d'un important foyer de circulation du virus RVF dans le Sud de la Mauritanie et la faible prévalence en anticorps dans les autres régions prospectées. Toutefois, s'agissant généralement d'enquêtes ponctuelles, il est difficile de tirer des conclusions sur la dynamique de circulation du virus RVF en Afrique de l'Ouest. On remarque cependant que dans la région de Kédougou où le virus a été isolé à 3 reprises (1974, 1975, 1983), une étude de sa circulation de réalisée chez les enfants prélevés tous les ans de 1982 à 1985, révèle une très faible prévalence en anticorps. De même, dans la région de Fada N'Gourma au Burkina où le virus a été isolé à 2 reprises en 1983, seulement 0,8 p. 100 (3/360) de sujets prélevés au cours de cette période, présentent des anticorps pour le virus RVF.

Les résultats des enquêtes sérologiques effectuées dans le Sud de la Mauritanie tendent à démontrer une intense circulation du virus RVF dans la région de Selibaby avec extension du foyer vers le nord (Tidjikja et Kaédi). En effet, des sérums prélevés en mars 1982 dans la région de Selibaby montrent que 14,4 p. 100 (18 sérums positifs/125 testés) sont positifs pour le virus RVF, alors qu'aucun sérum testé dans la région de Kaédi à la même époque ne s'avère positif. La circulation du virus RVF, dans le Sud de la Mauritanie, semble s'être réalisée avant les importantes migrations de troupeaux des régions du Nord amenés à fuir la grande sécheresse de 1983.

L'ensemble des données recueillies dans la présente note joint à celles rapportées par STEFANOPOULO (23), CURASSON (3) et FINDLAY (13) suggère l'existence d'un important foyer naturel de circulation du virus RVF dans le Sud de la Mauritanie et le Sud-Ouest du Mali (Fig. 1). Les modalités de circulation du virus dans cette région restent à préciser. On note dès à présent que l'intense activité du virus entre 1982 et 1985 prend place au cours d'une période de sécheresse extrême. Ces données s'opposent totalement aux conceptions de la circulation du virus RVF en Afrique de l'Est et du Sud qui établissent une corrélation entre l'importance des précipitations et les poussées épidémiologiques (5, 15).

La présence du virus dans la région désertique de Tidjikja pourrait être attribuée à son introduction lors des migrations des troupeaux du sud vers le nord, à la fin de la saison des pluies. Il faut souligner dans cette région l'important pourcentage de dromadaires transhumants trouvés positifs en IFI, et l'existence d'une prévalence relativement élevée dans le bétail sédentarisé (8,7 p. 100, Tabl. II). A l'opposé, dans la région de Nouakchott, on observe également un pourcentage élevé de dromadaires positifs provenant du sud, et l'absence de circulation du virus RVF dans les troupeaux locaux.

L'analyse des résultats recueillis au cours de ces enquêtes préliminaires ne permet pas de présenter un

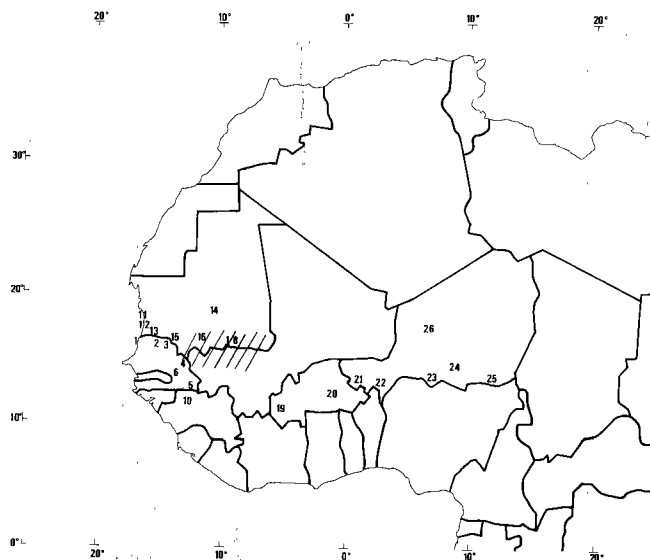


Fig. 1 : Localités où les prélèvements ont été effectués (Tabl. I, II, III). La zone hachurée correspond à un foyer présumé de la fièvre de la vallée du Rift en Afrique de l'Ouest.

schéma cohérent du mécanisme d'entretien et de circulation du virus RVF en Afrique de l'Ouest. Elle suggère toutefois des modalités particulières de l'écologie de la fièvre de la vallée du Rift, qui la différencie de celle classiquement admise en Afrique de l'Est et du Sud.

Au cours des enquêtes sérologiques ponctuelles réalisées au Sénégal, il n'a pas été établi de relation entre la circulation du virus RVF et le fleuve Sénégal. Les prévalences observées dans cette région, dans le bétail, sont parmi les plus faibles de cette étude (Tabl. I). L'aménagement du fleuve Sénégal, et en particulier la création de barrages s'accompagneront de modifications écologiques qui pourront influencer les modalités de circulation du virus RVF. En effet, la réalisation d'un barrage à Mannentali dans le Sud-Ouest du Mali devrait être à l'origine d'importantes migrations de troupeaux lors de la saison sèche depuis les régions arides du Nord de la Mauritanie, amenés à traverser le foyer de RVF de la région de Selibaby-Kiffa. L'introduction du virus dans ces zones nouvellement irriguées à forte concentration en bétail pourrait être à l'origine de flambées épidémiologiques.

L'enquête sérologique effectuée chez les 3 principales espèces de singes capturés dans la région de Kédougou montre l'absence d'anticorps pour le virus RVF. Ces données sont identiques à celles rapportées au Kenya par DAVIES et ONYANGO (6). L'absence d'isolement du virus RVF à partir de 1 478 rongeurs, dont certains capturés dans le foyer de la Mauritanie, et la très faible prévalence en anticorps, sont en faveur

d'un rôle probablement minime des rongeurs dans l'écologie du virus RVF. L'isolement de deux souches de virus Gabek Forest d'*Arvicanthis niloticus* confirme une très large distribution de ce virus en Afrique (19) et le rôle des rongeurs comme réservoirs des phlébovirus. Rappelons en effet, que les trois autres phlébovirus, Arumowot, Gordil et Saint-Floris ont été isolés à partir de différentes espèces de Muridés (19). La circulation du virus AMT a pu être établie parmi les troupeaux de la région de Niamey au Niger.

L'enquête sur le rôle du virus RVF dans la pathologie abortive des caprins et des ovins en Mauritanie, démontre l'absence de corrélation entre une probable infection par le virus RVF et un antécédent abortif de la femelle (Tabl. V). Par ailleurs, les renseignements obtenus auprès des éleveurs n'ont pas permis de relever des informations épizootiologiques conduisant à suspecter la FVR épidémique sous sa forme aiguë en Mauritanie pour les régions prospectées. Ces données suggèrent soit une résistance particulière à l'infection du bétail de cette région, soit l'existence de souches de virus RVF faiblement pathogène.

Les observations faites lors des épizooties font penser que la FVR peut exister sous forme suraiguë, aiguë, bénigne et parfois inapparente. Ces formes suraiguës et aiguës s'observent chez les agneaux nouveau-nés ou très jeunes, tandis que les formes bénignes se rencontrent chez les moutons et les chèvres adultes. On estime que lors d'une épizootie, la mortalité des moutons adultes ne dépasse pas 20-30 p. 100.

L'étude expérimentale du pouvoir pathogène de différentes souches de virus RVF a permis d'établir des variations en fonction de l'espèce de mouton étudiée.

SALUZZO (J. F.), CHARTIER (C.), BADA (R.), MARTINEZ (D.), DIGOUTTE (J. P.). Rift Valley fever in West Africa. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 215-223.

A serological survey was undertaken from 1981 to 1986 in West Africa (Senegal, Gambia, Guinea, Mauritania, Burkina and Niger) to assess the current status and significance of RVF infection in domestic animals and man. A total of 5,315 sera from goats, sheep, cattle, camels and humans was tested by indirect immunofluorescence assay. Positive sera were confirmed by plaque reduction neutralization test. An important focus of RVF circulation was discovered in Southern Mauritania : 17.8 p. 100 (83 positive/466 tested) of cattle were found positive for RVF virus infection. A serological survey performed among shepherds living in the area also showed that 13.3 p. 100 (32/240) had antibodies against RVF virus. In contrast, relatively low prevalence of antibodies (0.4-6.3 p. 100) was detected in all 5 other countries studied. No RVF virus was isolated from 1,478 rodents caught in Senegal and in Mauritania. A low prevalence of antibodies was detected in rodents (2/287) and no virus activity was found in monkeys (0/88). A study of 461 abortions in sheep and goats from Mauritania showed no correlation with the prevalence of RVF antibodies. These preliminary data demonstrate certain differences in RVF ecology in West Africa as compared with Southern and Eastern

En particulier, FAGBAMI *et al.* (10) démontrent la résistance des moutons nains d'Afrique de l'Ouest à une infection par une souche RVF isolée au Nigeria. Ces résultats ont été confirmés par TOMORI (26) pour 3 souches de virus RVF.

Le rôle des facteurs génétiques dans l'aspect clinique de l'infection due au virus RVF a pu être établi par PETERS *et al.* (18) chez différentes lignées de rats.

La symptomatologie de la maladie varie donc en fonction de l'espèce animale et du groupe d'âge des animaux. Cependant, les manifestations cliniques les plus évidentes sont un ictere grave et l'avortement chez les femelles gravides. Les données recueillies dans la présente enquête apparaissent donc incompatibles avec les connaissances actuelles de la pathogénie du virus RVF.

Les souches isolées à Kédougou (Sénégal oriental) et au Burkina présentent des propriétés pantropes chez la souris identiques à celles de la souche ZH 501 provenant de l'épidémie d'Egypte. A l'opposé, les souches isolées de chiroptères sont proches de la souche Lunyo isolée en Ouganda (27) et s'avèrent faiblement pathogènes pour la souris inoculée par voie périphérique. L'expression clinique du pouvoir pathogène de ces souches apparaît dépendre de facteurs génétiques propres à l'hôte (SALUZZO, en préparation).

Seule, une surveillance régulière des troupeaux, accompagnée de l'isolement des souches virales circulant dans le Sud de la Mauritanie, permettra d'expliquer les observations préliminaires rapportées au cours de cette étude.

SALUZZO (J. F.), CHARTIER (C.), BADA (R.), MARTINEZ (D.), DIGOUTTE (J. P.). La fiebre del valle del Rift en Africa del Oeste. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 215-223.

Se efectuaron encuestas serológicas en diferentes países de Africa del Oeste (Senegal, Gambia, Guinea, Mauritania, Burkina y Niger) entre 1981 y 1986 para determinar la importancia de la distribución y de la incidencia del virus RVF (Rift Valley Fever) en la patología animal y humana. Se sometieron a la prueba por inmunofluorescencia indirecta un total de 5 315 sueros de cabras, ovejas, bueyes, dromedarios y de poblaciones humanas. Se comprobaron los sueros encontrados positivos por la prueba de neutralización por reducción de superficie. Se encontró un importante foco de infección en el sur de la Mauritania : 17,8 p. 100 (83 sueros positivos de 466 comprobados) del ganado tenían anticuerpos contra el virus RVF. Además, en dicha región, 13,3 p. 100 (32 de 240) de los ganaderos se revelaron positivos. En otras regiones de Africa del Oeste, la prevalencia de anticuerpos es debil (0,4 a 6,3 p. 100). No se pudo aislar ninguna cepa de virus RVF de 1 478 roedores capturados en Senegal y en Mauritania. La prevalencia de anticuerpos es reducida en los roedores (2 sueros positivos de los 287 sometidos a prueba) y nula en los monos (0 de los 88 sometidos a prueba). Un estudio sobre 461 abortos en el ganado de Mauritania permitió mostrar la ausencia de correlación entre las

Africa. In particular, one suggests that local livestock may be resistant to RVF infection and/or that the local RVF strains may be less pathogenic. *Key words*: Domestic animal - Rodent - Camel - Man - Rift Valley fever - Epidemiology - Zoonosis - Viral pathogenesis - West Africa.

serologias positivas concernientes al virus RVF y los abortos. A partir de los datos preliminares recogidos, la situación epidemiológica de la fiebre del valle del Rift en Africa del Oeste puede compararse a la de Africa del Este y del Sur y sugerir ya una resistencia particular del ganado de dicha región, sea un poder patógeno atenuado de las cepas del virus RVF distribuidas en Africa del Oeste. *Palabras claves*: Animal doméstico - Roedor - Dromedario - Hombre - Fiebre del valle del Rift - Zoonosis - Epidemiología - Poder patógeno - Africa occidental.

BIBLIOGRAPHIE

1. BRES (P.). Prevention of the spread of Rift Valley fever from the African continent. *Contr. Epidem. Biostatist.*, 1981, **3** : 178-190.
2. CHARTIER (C.), CHARTIER (F.). Enquête séro-épidémiologique sur les avortements infectieux des petits ruminants en Mauritanie. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (4).
3. CURASSON (G.). La « fièvre de la vallée du Rift » existe-t-elle au Soudan français? *Bull. Soc. Path. exot.*, 1934, **27** : 599-602.
4. DAUBNEY (R.), HUDSON (J. R.), GARNHAM (P. C.). Enzootic hepatitis of Rift Valley fever. An undescribed virus disease of sheep, cattle and man from East Africa. *J. Path. Bact.*, 1931, **34** : 545-579.
5. DAVIES (F. G.), LINTHICUM (K. J.), JAMES (A. D.). Rainfall and epizootic Rift Valley fever. *Bull. Wld Hlth Org.*, 1985, **63** : 941-943.
6. DAVIES (F. G.), ONYANGO (E.). Rift Valley fever: the role of the vervet monkey as a reservoir or maintenance host for this virus. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1978, **72** : 213-214.
7. DIGOUTTE (J. P.), CORDELLIER (R.), ROBIN (Y.), PAJOT (F. X.), GEOFFROY (B.). Le virus Zinga (ArB 1976) nouveau prototype d'arbovirus isolé en République Centrafricaine. *Annls Inst. Pasteur.*, 1974, **125B** : 107-118.
8. EISA (M.), KHEIR EL SID (E. D.), SHOMEIN (A. M.), MEEGAN (J. M.). An outbreak of Rift Valley fever in the Sudan-1976. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1980, **74** : 417-419.
9. EZEIFEKA (G. O.), UMOH (J. U.), BELINO (E. D.), EZEOKOLI (C. D.). A serological survey for Rift Valley fever antibody in food animals in Kaduna and Sokoto states of Nigeria. *Int. J. Zoon.*, 1982, **9** : 147-151.
10. FAGBAMI (A. H.), TOMORI (O.), FABIYI (A.), ISOUN (T. T.). Experimental Rift Valley fever in the West African dwarf sheep. *Res. vet. Sci.*, 1975, **18** : 334-335.
11. FAGBAMI (A. H.), TOMORI (O.), KEMP (G. E.). A survey of Nigerian domestic and wild animals for serum neutralizing antibody to indigenous Rift Valley fever. *Niger. Vet. J.*, 1973, **2** : 45-48.
12. FERGUSSON (W.). Identification of Rift Valley fever in Nigeria. *Bull. epizoot. Dis. Afr.*, 1959, **7** : 317-318.
13. FINDLAY (G. M.), STEFANOPOULO (G. J.), MAC CALLUM (F. O.). Présence d'anticorps contre la fièvre de la vallée du Rift dans le sang des Africains. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1936, **29** : 986-996.
14. LEE (V. H.). Isolation of viruses from field populations of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in Nigeria. *J. med. Entomol.*, 1979, **16** : 76-79.
15. McINTOSH (B. M.), JUPP (P. G.). Epidemiological aspects of Rift Valley fever in South Africa with reference to vectors. *Contr. Epidem. Biostatist.*, 1981, **3** : 92-99.
16. MEEGAN (J. M.). Rift Valley fever in Egypt: An overview of the epizootics in 1977 and 1978. *Contr. Epidem. Biostatist.*, 1981, **3** : 110-113.
17. MEEGAN (J. M.), DIGOUTTE (J. P.), PETERS (C. J.), SHOPE (R.). Monoclonal antibodies to identify Zinga virus as Rift Valley fever virus. *Lancet*, 1983, **i** : 641.
18. PETERS (C. J.), SLONE (T. W.). Inbred rat strains mimic the disparate human response to Rift Valley fever virus infection. *J. med. Virol.*, 1982, **10** : 45-54.
19. SALUZZO (J. F.), ADAM (F.), HEME (G.), DIGOUTTE (J. P.). Isolement de virus à partir de rongeurs au Sénégal (1983-1985). Description d'un nouveau Poxvirus. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1986, **79** : 323-333.

20. SALUZZO (J. F.), DIGOUTTE (J. P.), CORNET (M.), BAUDON (M.), ROUX (J.), ROBERT (V.). Isolation of Crimean-Congo haemorrhagic fever and Rift Valley fever viruses in Upper Volta. *Lancet*, 1984, i : 1179.
21. SHOPE (R. E.), PETERS (C. J.), DAVIES (F. G.). The spread of Rift Valley fever and approaches to its control. *Bull. Wld Hlth Org.*, 1982, **60** : 299-304.
22. SHOPE (R. E.), PETERS (C. J.), WALKER (J. S.). Serological relation between Rift Valley fever virus and viruses of Phlebotomus fever serogroup. *Lancet*, 1980, i : 886-887
23. STEFANOPOULO (G. J.). Sur le « dioundé » à propos d'une enquête épidémiologique sur la fièvre jaune dans les Pays de Ségou et de Macina. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1933, **26** : 560-562.
24. SWANEPOEL (R.), STRUTHERS (J. K.), ERASMUS (M. J.), SHEPHERS (J. P.), Mc GILLIVRAY (G. M.). Comparison of techniques for demonstrating antibodies to Rift Valley fever virus. *J. Hyg.*, 1986, **97** : 317-329.
25. SWANEPOEL (R.), STRUTHERS (J. K.), ERASMUS (M. J.), SHEPHERD (S. P.), Mc GILLIVRAY (G. M.), SHEPHERD (A. J.), HUMMITZSCH (D. E.). Comparative pathogenicity and antigenic cross-reactivity of Rift Valley fever and other African phleboviruses in sheep. *J. Hyg.*, 1986, **97** : 331-346.
26. TOMORI (O.). Clinical virological and serological response of the West African dwarf sheep to experimental infection with different strains of Rift Valley fever virus. *Res. vet. Sci.*, 1979, **26** : 152-159.
27. WEINBREN (M. P.), WILLIAMS (M. C.), HADDOW (A. J.). A variant of Rift Valley fever virus. *S. Afr. med. J.*, 1957, **31** : 951-957.

F. Guillemin¹
M. Mosienyane²
T. Richard¹
M. Mannathoko²

Immune response and challenge of cattle vaccinated simultaneously against rinderpest and foot-and-mouth disease

GUILLEMIN (F.), MOSIENYANE (M.), RICHARD (T.), MANNATHOKO (M.). Etude des vaccinations simultanées contre la fièvre aphteuse et la peste bovine. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 225-229.

Deux groupes d'animaux ont été vaccinés le même jour, en deux points avec un vaccin contre la fièvre aphteuse et un vaccin contre la peste bovine produit sur culture de cellules. Un groupe a été éprouvé avec du virus aphteux, l'autre avec la souche bovine caprinisée. Les deux groupes d'animaux vaccinés ont résisté à l'épreuve alors que les animaux témoins (non vaccinés) n'ont pas été protégés. *Mots clés* : Bovin - Fièvre aphteuse - Peste bovine - Vaccination - Immunisation - Botswana.

INTRODUCTION

Two of the main epizootic diseases of Africa, the near east and middle east are foot-and-mouth disease (FMD) and rinderpest. Several countries are vaccinating against these two major diseases.

Two trials of simultaneous vaccination against FMD and rinderpest were carried out in India by KATHURIA, UPPAL and KUMAR (5) and in the Sultanate of Oman by HEDGER, TAYLOR, BARNETT, RIEK and HARPHAM (3). The results were contradictory. Therefore the Botswana Vaccine Institute (BVI), manufacturer of FMD vaccines (mostly SAT types) and cell culture rinderpest vaccine (CCRV) decided to carry out an experiment to confirm or refute and to complete the results obtained previously, and to study the specific interference between a SAT type FMD vaccination and CCRV vaccination in southern African environment.

MATERIAL AND METHODS

Material

1. Botswana Vaccine Institute, Private Bag 0031, Gaborone, Botswana
2. Ministry of Agriculture, Private Bag 0032, Gaborone, Botswana
Adresse actuelle : 254 Avenue Marcel Mérieux, 69007 Lyon.

Vaccines

FMD vaccine : the vaccine used in this experiment was a commercial monovalent vaccine (batch No. 6407) produced by the FRENKEL method (7) and inactivated with Ethylene-Imine. The vaccine was produced from the virus SAT 1 (subtype SAT 105 Rho12/78).

Rinderpest vaccine : the Kabete « O » strain of rinderpest virus attenuated by PLOWRIGHT and FERRIS (9), was multiplied on bovine kidney cells. The vaccine was tested *in vitro* and on laboratory animals according to the Office International Epizootics (OIE) recommendations (8). The virus yields of the two commercial batches used in the experiment (batch No. 6PTV309 and batch. No. 6PTV310) were respectively $10^{5.9}$ TCID₅₀ and $10^{5.7}$ TCID₅₀ per vial of 100 doses. The magnesium sulfate (1.0 M) was used to resuspend and dilute the CCRV.

Challenge strains

FMD : the challenge strain was a live FMD virus homologous with the one used to prepare the vaccine (*i.e.* SAT 1 type, subtype SAT 105 Rho12/78), it was titrated on cattle according to the method described by HENDERSON (4).

Rinderpest : as Botswana is free from rinderpest, a mild challenge strain was used : the caprinised rinderpest virus (CRV) (2).

Cattle

The animals used in the experiment were 17 adult cattle (Brahman crossed breed or Botswana local breed) free from rinderpest and FMD antibodies.

Locality

The animals were kept at the BVI ranch after vaccination and the challenges were performed in the BVI high security unit where facilities (crush, crusher, incinerator) are available to sterilize the carcasses of the challenged animals.

F. Guillemin, M. Mosienyane, T. Richard, M. Mannathoko

Methods

The cattle were divided at random in two groups : groups A and B of seven and ten heads respectively.

Group A

On day 0, five cattle were vaccinated with one full dose of commercial CCRV. One lyophilized vial of 100 doses was resuspended in a 100 ml bottle of diluent. One ml was injected subcutaneously into the left side of the neck. Simultaneously a quarter of a dose of the commercial FMD vaccine (diluted 1 to 4 in phosphate saline buffer pH 7.5) was injected subcutaneously into the right side of the neck. Three weeks after vaccination, the five vaccinated animals were bled, then challenged against FMD together with 2 controls (unvaccinated against FMD), according to the European Pharmacopoeia (1). One week after challenge, all the animals were slaughtered and the feet were examined for secondary lesions. The stables and the slaughterhouse of the high security unit were then decontaminated.

Group B

Ten days after vaccination of the group A, eight animals of the group B were vaccinated with one full dose of the FMD monovalent vaccine injected subcutaneously into the right side of the neck. The CCRV was also injected subcutaneously into the left side of the neck of six of these animals : three cattle were vaccinated with batch. No. 6PTV309 (one with one full

dose, one with 1/10 of a dose, and one with 1/100 of a dose), while three others were vaccinated with batch No. 6PTV310 (one with one full dose, one with 1/10 of a dose, and one with 1/100 of a dose). Concomitantly two animals not vaccinated against FMD received 100 doses of CCRV in order to check the vaccine safety. The rectal temperatures of all the animals having been injected with CCRV were monitored for 13 days.

Three weeks after vaccination, all the animals were bled and the cattle vaccinated with 1/10 and 1/100 of a dose of CCRV as well as the two control (unvaccinated) animals were challenged with the CRV as previously described (2). The rectal temperatures are monitored for two weeks after challenge ; subsequently the animals were bled.

Serumneutralization tests (SNT)

Micromethods of SNT on cells culture were used to determine the antibody titres. SNT was performed on a pig cell line closely related to the IB-RS² for FMD and on bovine kidney cells for rinderpest.

RESULTS

Group A

The effect of the vaccination against rinderpest on the immune response against FMD can be seen in Table I.

TABLE I Group A — Cattle vaccinated with 1 dose of CCRV and 1/4 of a dose of FMD vaccine, challenged against FMD.

Animal number	Vaccination against rinderpest CCRV batch No. 6PTV309				Vaccination against FMD batch No. 6407							
	Number of dose	Number of TCID ₅₀	S N T		Number of vaccine dose	Potency test				S N T		
			Vaccination day	Day of challenge against FMD		Challenge						
	Feet lesion					Results	Vaccination day	Day of challenge + 3 weeks				
FL	FR	HL	HR									
6359	1	10 ^{3.9}	≤ 0.3	2.8	1/4	-	-	-	-	Protected	≤ 0.5	2.1
6360	1	10 ^{3.9}	≤ 0.3	2.8	1/4	-	-	-	-	Protected	≤ 0.5	2.2
6367	1	10 ^{3.9}	≤ 0.3	2.8	1/4	-	-	-	-	Protected	≤ 0.4	1.6
6383	1	10 ^{3.9}	≤ 0.3	2.3	1/4	-	-	-	-	Protected	≤ 0.4	1.6
6488	1	10 ^{3.9}	≤ 0.3	2.0	1/4	-	-	-	-	Protected	≤ 0.4	1.7
6496	Non vaccinated		≤ 0.3	0.4	Control non vaccinated	+	-	+	+	Secondary feet lesions = unprotected	≤ 0.4	0.9
6410	Non vaccinated		≤ 0.4	0.4	Control non vaccinated	-	-	+	+		≤ 0.4	≤ 0.6

FL = fore left.
FR = fore right.

HL = hind left.
HR = hind right.

The two control (unvaccinated) animals showed secondary FMD lesions on the feet while none of the animals vaccinated with 1/4 of a dose of FMD vaccine

showed feet lesions. Three weeks after vaccination the geometric means of the antibody titres against FMD and rinderpest were respectively 1.84 [standard deviation (s) = 0.29] and 2.54 (s = 0.37).

TABLE II Group B — Cattle vaccinated with 1 dose of FMD vaccine and decreasing dilution of CCRV, challenged against rinderpest.

Animal number	Vaccination against FMD 1 dose of batch No. 6407		Vaccination against rinderpest								
	S N T		CCRV			Safety test		Results of challenge	Potency test		
	Vaccination day	Challenge + 3 weeks	Batch No.	Vaccine dilution	TCID ₅₀	Local	General		Vaccination day	Day of challenge	Challenge + 2 weeks
								S N T			
6439	non vaccinated		6PTV309	100 d.	10 ^{5.9}	S	S	not challenged	≤ 0.3	2.2	—
6441	non vaccinated		6PTV310	100 d.	10 ^{5.7}	S	S	not challenged	≤ 0.4	2.0	—
6095	0.9	2.3	6PTV309	1 dose	10 ^{3.9}	S	S	not challenged	≤ 0.3	2.0	—
6237	≤ 0.3	1.5	6PTV310	1 dose	10 ^{3.7}	S	S	not challenged	≤ 0.3	2.6	—
6375	≤ 0.3	1.8	6PTV309	1/10 d.	10 ^{2.9}	S	S	protected	≤ 0.3	2.3	2.7
6438	≤ 0.5	1.9	6PTV310	1/10 d.	10 ^{2.7}	S	S	protected	≤ 0.3	1.9	2.0
6482	≤ 0.8	≤ 0.6	6PTV309	1/100 d.	10 ^{1.9}	S	S	protected	≤ 0.3	2.8	2.5
6487	≤ 0.6	1.7	6PTV310	1/100 d.	10 ^{1.7}	S	S	protected	≤ 0.3	2.9	2.7
6297	≤ 0.3	2.4	control	(non vaccinated)		—	—	non protected hyperthermia	≤ 0.3	≤ 0.3	2.8
6464	≤ 0.7	1.7	control	(non vaccinated)		—	—	non protected hyperthermia	≤ 0.3	≤ 0.3	2.7

S = satisfactory.

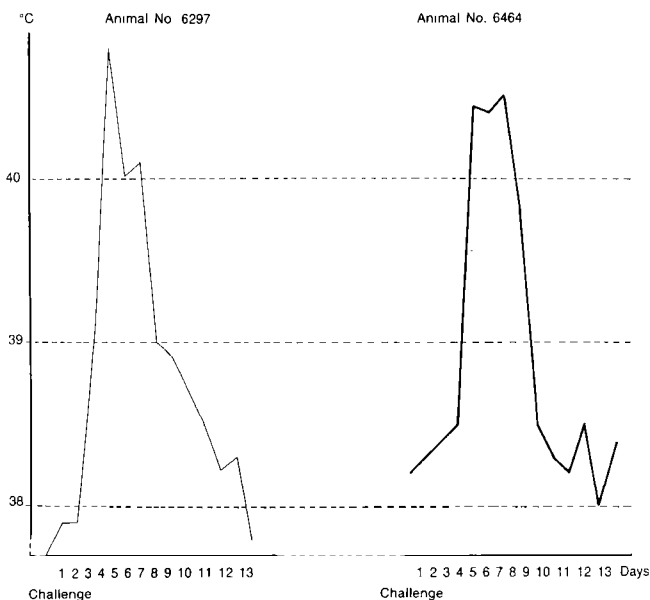


Fig. 1 : Temperatures recorded on the two control animals after challenge with CRV (group B).

Group B

The effects of the vaccination against FMD on the immune response against rinderpest can be seen in Table II. The two control (unvaccinated) animals showed an obvious peak of hyperthermia at 40.8 °C and 40.4 °C as can be seen in Fig. 1. The febrile reaction started four days after the challenge and lasted four days. Concomitantly the challenge induced a very striking seroconversion.

The vaccinated animals showed high antibody titres three weeks after vaccination. After the challenge, none of the vaccinated animals showed either hyperthermia or increase of the antibody titres. Three weeks after vaccination the geometric mean of the antibody titres of the animals vaccinated with one full dose (2.3), with 1/10 of a dose (2.1) and with 1/100 of a dose (2.85) of CCRV were similar. The geometric mean of the antibody titres of the animals vaccinated with one dose of FMD vaccine and with CCRV was 1.68.

F. Guillemin, M. Mosienyane, T. Richard, M. Mannathoko

DISCUSSION

The results obtained in the group A indicate that the FMD challenge has been successful, as FMD secondary lesions appeared on the two controls and as all the animals vaccinated with only 1/4 of a dose of FMD vaccine were protected although they received simultaneously one full dose of CCRV. Supposing that all the animals vaccinated with one full dose had been protected, and all those vaccinated with 1/16 of a dose had not been protected, this would mean that the vaccine would have a bovine potency of 8 (10) *i.e.* higher than the requirements of the European Pharmacopoeia (Bovine Potency ≥ 3).

These results are comparable to those obtained in the past at the BVI on animals vaccinated with 1/4 of a dose and challenged ($\log_{10} \text{SN}_{50} = 1.46 - 80. \text{p. } 100$ of protection).

The vaccination against rinderpest with a CCRV did not interfere with immune response induced by the vaccination with a FMD vaccine.

This result is contrary to that obtained in India (5) where KATHURIA *et al.* reported that the FMD neutralizing antibodies of cattle vaccinated simultaneously with a formalin inactivated type O FMD vaccine and a CCRV were much lower than those of animals vaccinated with FMD vaccine alone; furthermore, two out of three cattle challenged with FMD virus showed a breakdown of immunity.

The results obtained in the group B showed that the challenge with the CRV was successful as the two controls presented a striking febrile reaction and a seroconversion as it has been observed in previous experiments using the CRV (2).

According to the OIE recommendations, the CRV is satisfactory for potency testing a CCRV. All the animals challenged, even those injected with 1/100 of a dose (*i.e.* $10^{1.7} - 10^{1.9} \text{TCID}_{50}$), resisted the challenge.

GUILLEMIN (F.), MOSIENYANE (M.), RICHARD (T.), MANNATHOKO (M.). Immune response and challenge of cattle vaccinated simultaneously against rinderpest and foot-and-mouth disease. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 225-229.

Two groups of cattle were vaccinated simultaneously at separate points on opposite sides of the neck with a foot-and-mouth disease vaccine

The results of the challenge and the antibody titres three weeks after vaccination are similar to the results obtained in previous experiments performed in Kenya (9), France and Saudi Arabia (6) in animals having been injected with CCRV only. BVI results are comparable to those obtained in 1986 in the Sultanate of Oman (3); nevertheless, in that experiment the FMD vaccination course consisted in two trivalent types O-A-Asia FMD vaccine injections 21 days apart, and no challenge was performed. This experiment showed that the type SAT FMD vaccine does not reduce the immune response induced by vaccination with a CCRV.

BVI results confirm the results obtained in 1962 by PLOWRIGHT and FERRIS (9): above a minimum number of TCID_{50} of vaccine injected, there was no relationship between the amount of vaccine injected and the antibody levels. These results do not allow the conclusion of this work to be extended into vaccinating cattle against rinderpest and FMD in one single injection, as mixing the two vaccines together would damage the CCRV instantaneously.

CONCLUSION

Vaccination campaigns against foot-and-mouth disease and rinderpest could be done in countries where the two diseases occur or in countries already vaccinating against FMD and infected or threatened by rinderpest. A simultaneous vaccination against FMD and rinderpest could greatly simplify vaccination campaigns in countries which have cattle industry thinly spread over wide areas.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are indebted to all the BVI technical staff and Dr. H. Robertson who suggested the idea of this trial and helped with the final preparation of this paper.

GUILLEMIN (F.), MOSIENYANE (M.), RICHARD (T.), MANNATHOKO (M.). Estudio de vacunaciones simultáneas contra la fiebre aftosa y la peste bovina. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 225-229.

Se vacunaron dos grupos de animales el mismo día en dos puntos con una vacuna contra la fiebre aftosa y una vacuna contra la peste bovina

and with a cell culture rinderpest vaccine. One group was challenged with foot-and-mouth disease live virus, the other with the caprinised strain of rinderpest. The two groups resisted the challenge while the control animals (unvaccinated) were unprotected. *Key words* : Cattle - Foot-and-mouth disease - Rinderpest - Vaccination - Immune response - Botswana.

producida en cultivo de células. Un grupo fué probado con virus aftoso, demás con la cepa bovipéptica caprinizada. Ambos grupos de animales vacunados resistieron mientras que los animales testigos (no vacunados) no fueron protegidos. *Palabras claves* : Bovino - Fiebre aftosa - Peste bovina - Vacunación - Inmunización - Botswana.

REFERENCES

1. EUROPEAN PHARMACOPOEIA. *Vaccinum aphtarum epizooticarum inactivatum pro ruminantibus*. 2nd edition, 1985.
2. GUILLEMIN (F.), JOUVENET (P.), MOSIENYANE (M.), MANNATHOKO (M.). Use the caprinised strain of rinderpest virus for potency testing an attenuated cell culture rinderpest vaccine. *Trop. anim. Hlth Prod.*, 1987.
3. HEDGER (R. S.), TAYLOR (W. P.), BARNETT (I. T. R.), RIEK (R.), HARPAM (D.). Simultaneous vaccination of cattle against foot-and-mouth disease and rinderpest. *Trop. anim. Hlth Prod.*, 1986, 18 : 21-25.
4. HENDERSON (W. M.). The quantitative study of foot-and-mouth disease virus. *London agric. Res. Coun.*, 1949, (8) : 49.
5. KATHURIA (B. K.), UPPAL (P. K.), KUMAR (S.). Studies on simultaneous vaccination of cattle against rinderpest and foot-and-mouth disease. *Indian vet. J.*, 1976, 53 : 571-576.
6. LANGUET (B.), PRECAUSTA (P.), MACKOWIAK (M.), DUBOURGET (P.), REYNAUD (G.), DURET (C.). Freeze-dried vaccine against rinderpest, stability and activity study. *Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis.*, 1985, 8 : 285-295.
7. LEFEVRE (P. C.), PLOWRIGHT (W.), TAYLOR (W. P.). Requirements for rinderpest cell culture vaccine (live). Paris, OIE, 1986.
8. MACKOWIAK (C.), DUBOUCARD (C.), FAVRE (H.), ROUMIANTZEFF (M.), FONTAINE (J.), TERRE (J.), BORNAREL (P.). Etude de la culture du virus de la fièvre aphteuse sur épithélium lingual de bovin en survic. *Bull. Off. int. Epizoot.*, 1969, 71 : 3-45.
9. PLOWRIGHT (W.), FERRIS (R. D.). Studies with rinderpest virus in tissue culture. *Res. vet. Sci.*, 1962, 3 (2) : 172-182.
10. TERRE (J.), STELLMANN (C.), BRUN (A.), FAVRE (H.), FONTAINE (J.). Contrôle d'activité du vaccin antiaphteux sur bovins : méthodes quantitatives d'extinction antigénique. International Symposium on foot-and-mouth disease, Lyon 1976. *Dev. Biol. Stand.*, 1977, 35 : 357-367.

B. Abbas¹A. E. A. El Zubeir¹T. T. M. Yassin¹

Survey for certain zoonotic diseases in camels in Sudan

ABBAS (B.), EL ZUBEIR (A. E. A.), YASSIN (T. T. M.). Enquête sur certaines zoonoses des dromadaires au Soudan. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 231-233.

Une recherche des anticorps de *Coxiella burnetii*, *Toxoplasma gondii* et *Brucella abortus* a été effectuée sur les sérums de dromadaires abattus pour la consommation de viande dans un marché urbain du Soudan central. Les anticorps de la fièvre-Q ont été détectés chez 14,5 p. 100 des animaux, ceux de la toxoplasmose chez 12 p. 100 et de la brucellose chez 3 p. 100 des animaux. *Mots clés* : Dromadaire - Brucellose - Fièvre-Q - Toxoplasmose - Zoonose - Anticorps - Soudan.

INTRODUCTION

Camels in Sudan are raised by nomadic or transhumant societies who depend on milk and meat from these animals. Camel milk as well as camel liver are consumed raw, without any heat treatment. In addition, there is close contact between a herdman and camels on several occasions : during watering, riding, grooming and milking. Senile, debilitated or sick animals are often well nursed and hand-fed sometimes for long periods. These factors increase the contact between animal and man and may contribute to the transmission of some zoonotic diseases. In this paper, the results of a survey for three zoonotic diseases in camels, namely brucellosis, Q-fever and toxoplasmosis are presented.

MATERIAL AND METHODS

Sera

Blood was collected from 198 camels slaughtered at Tamboul, a camel-market town in central Sudan, as well as from 40 camels in Butana plains to the northeast of Khartoum. Serum was separated after clotting and was stored at -20 °C until used.

Serologic tests

Sera were tested for antibodies against *Brucella abortus* by the slide agglutination test and positive sera were titrated by the tube method (16). The capillary agglutination test for *Coxiella burnetii* antibodies was performed as described by LUOTO (5). Sera were screened for antibodies against *Toxoplasma gondii* by the indirect micro-haemagglutination test (10, 14) using a commercially available test-kit (*). In this test sera which gave positive agglutination (2+) at a dilution of 1:64 or higher were considered positive.

RESULTS

Antibodies against *Brucella abortus* were detected in 8 animals constituting a 3 p. 100 prevalence (Table I). Antibodies against *C. burnetii* were detected in 16 animals (14.5 p. 100); nine of seropositive animals were males and 7 were females. Eleven animals (12 p. 100) were positive for toxoplasmosis. Of these, 4 were males and 7 females. High serum antibody titres were recorded for the three diseases. Three toxoplasmosis positive animals had titres as high as 1:1,024, while in the rest of animals the range was 1:64 to 1:512. Brucellosis positive camels had titres ranging 1:256 and 1:512 while titres of antibodies to Q-fever

TABLE I Prevalence of antibodies against *Coxiella burnetii*, *Toxoplasma gondii* and *Brucella abortus* in camel sera.

	Number tested			Number positive (*)		Sample prevalence (*)
	Male	Female	Total	Male	Female	
<i>C. burnetii</i>	60	50	110	9(15)	7(14)	14.5
<i>T. gondii</i>	55	40	95	4 (7)	7(18)	12
<i>B. abortus</i>	120	118	238	4 (3)	4 (3)	3

(*) per cent.

(*) Canalco Diagnostics, Rockville, Maryland, U.S.A.

1. Faculty of Veterinary Science, University of Khartoum, P.O. Box 32, Khartoum North, Sudan.

B. Abbas, A. E. A. El Zubeir, T. T. M. Yassin

had a wide range ; the highest titre recorded in this study was 1:512 in one seropositive animal.

DISCUSSION

ABU-DAMIR *et al.* (1) reported brucellosis antibodies in 4.9 p. 100 of camels from different regions in the Sudan and observed an equal distribution of reactor animals between the two sexes. MUSTAFA and KARIM (9) reported a 3.5 p. 100 prevalence of brucellosis in camels in northern Sudan. The present investigation confirms that camels in the Sudan have a low prevalence of brucellosis. This could be due to the fact that camels are raised on extensive range without problems of overcrowding. Also during calving dromedary cows separate themselves from the herd and do not allow approach by other camels (11). This may lessen the chances of brucellosis transmission as parturition is the time when most of *Brucella abortus* contamination occurs. However, since camel milk is consumed without heat treatment, brucellosis should be considered as a public health hazard in camel rearing areas despite the low prevalence in camels. Toxoplasmosis in camels has been reported by several authors. Surveys in Egypt indicated a low prevalence rate (7), but a higher prevalence was found in camels from the north west desert area (6). However, SHARMA and

GAUTAM (13) reported infection rates of 11 to 19 p. 100 in camels in India. RIEMANN *et al.* (12) found evidence of *T. gondii* infection in twelve species of wild mammals in Africa and implicated wild cats as the most important disseminator of the infective stage of this parasite. In the arid regions of the Sudan, rodents, jackals and hyenas abound and the role of these animals in contaminating camel pastures with *T. gondii* and other parasites should be studied (8, 15). The high antibody titres detected in these camels could indicate active chronic infections. A high frequency of isolations of *T. gondii* has been made from animals with titres of 1:128 (15).

CONCLUSION

Q-fever in camels in the Sudan has been reported by HARBI and KARIM (4) in contrast to EL NASRI (3) who reported sero-evidence of the infection in cattle and goats only. ADDO (2) reported Q-fever in 12 p. 100 of Nigerian camels. Q-fever can be transmitted to man from freshly slaughtered animals or through the consumption of raw milk and butter. The relatively high prevalence of Q-fever in camels, particularly in those slaughtered for meat, emphasises the need to investigate its prevalence among herdmen as well as butchers in camel-market towns.

ABBAS (B.), EL ZUBEIR (A. E. A.), YASSIN (T. T. M.). Survey for certain zoonotic diseases in camels in Sudan. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3): 231-233.

A survey for *Coxiella burnetii*, *Toxoplasma gondii* and *Brucella abortus* antibodies was conducted on the sera of camels slaughtered for meat in a market town in central Sudan. Q-fever antibodies were detected in 14.5 p. 100 of the animals while toxoplasmosis antibodies were found in 12 p. 100 and brucellosis in 3 p. 100 of the animals. *Key words*: Camel - Brucellosis - Q-fever - Toxoplasmosis - Antibody - Zoonotic disease - Sudan.

ABBAS (B.), EL ZUBEIR (A. E. A.), YASSIN (T. T. M.). Encuesta sobre algunas zoonosis de los dromedarios en el Sudán. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3): 231-233.

Se efectuó una búsqueda de los anticuerpos de *Coxiella burnetii*, *Toxoplasma gondii* y *Brucella abortus* en los sueros de dromedarios matados para el consumo de carne en un mercado urbano del Sudán central. Se evidenciaron los anticuerpos de la fiebre Q en 14,5 p. 100 de los animales, los de la toxoplasmosis en 12 p. 100 y los de la brucelosis en 3 p. 100 de los animales. *Palabras claves*: Dromedario - Brucelosis - Fiebre Q - Toxoplasmosis - Zoonosis - Anticuerpo - Sudán.

REFERENCES

1. ABU-DAMIR (H.), KENYON (S. J.), KHALAFALLA (A. E.), IDRIS (O. F.). *Brucella* antibodies in Sudanese camels. *Trop. anim. Hlth Prod.*, 1983, **16**: 209-212.
2. ADDO (P. B.). A serological survey of Q-fever in camels in Nigeria. *Br. vet. J.*, 1980, **136**: 519-521.
3. EL NASRI (M.). Survey for Q-fever antibodies in domestic animals in the Sudan. *Bull. epizoot. Dis. Afr.*, 1962, **10**: 55-58.

4. HARBI (M. S.), KARIM (A. M. H.). Serological investigation into Q-fever in Sudanese camels. *Bull. epizoot. Dis. Afr.*, 1972, **20** : 15-17.
5. LUOTO (L.). An agglutination test for bovine Q-fever performed on milk samples. *J. Immunol.*, 1955, **74** : 222-227.
6. MARONPOT (R. R.), BOTROS (B. A. M.). A note on toxoplasmosis in Egyptian camels. *J. Egypt. publ. Hlth Ass.*, 1972, **47** : 58-60.
7. MICHAEL (R. R.), REFAII (A. H.), MORSY (T. A.). A survey for toxoplasmosis in camels in Egypt. *J. Egypt. Soc. Parasit.*, 1977, **7** : 129-133.
8. MILLER (N. L.), FRENKEL (J. K.), BUBEY (J. P.). Oral infections with toxoplasma cysts and oocysts in felines, other mammals and in birds. *J. Parasit.*, 1972, **58** : 928-937.
9. MUSTAFA (A. A.), KARIM (A. M. H.). A serological survey for brucellosis in camels in the Sudan. *Sudan J. vet. Sci. anim. Husb.*, 1971, **12** : 5-8.
10. PARK (H. K.). Toxoplasma haemagglutination test. *Archs Ophthal.*, 1961, **65** : 184-191.
11. RICHARD (D.). The diseases of the dromedary in Ethiopia. *Ethiop. vet. Bull.*, 1976, **2** : 46-67.
12. RIEMANN (H. P.), BURRIDGE (M. J.), BEHYMER (D. E.), FRANTI (C. E.). *Toxoplasma gondii* antibodies in free-living African mammals. *J. Wildl. Dis.*, 1975, **11** : 529-533.
13. SHARMA (S. P.), GAUTAM (P. O.). Toxoplasmosis : serological incidence in camels. *Indian J. anim. Sci.*, 1974, **44** : 214-216.
14. VANDERWAGEN (L. C.), BEHYMER (D. E.), RIEMANN (H. P.), FRANTI (C. E.). A survey for toxoplasma antibodies in northern California livestock and dogs. *J. Am. vet. Med. Ass.*, 1974, **164** : 1034-1037.
15. WALLACE (G. D.). Intermediate and transport hosts in the natural history to *Toxoplasma gondii*. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 1973, **22** : 456-464.
16. WHO. Laboratory techniques in brucellosis. Geneva, FAO/WHO, 1975. (World Health Organization monograph series n° 55).

Prévention de la kératoconjonctivite infectieuse bovine dans le Nord-Ouest du Cameroun

P. Merlin¹

MERLIN (P.). Prévention de la kératoconjonctivite infectieuse bovine dans le Nord-Ouest du Cameroun. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 235-238.

Un premier essai de prévention de la kératoconjonctivite infectieuse bovine (KIB) chez des veaux sevrés de races laitières (Holstein, Jersiais, purs ou croisés avec des zébus locaux) a testé deux procédures. Les veaux ont été répartis en trois lots. Un lot de 23 veaux a été vacciné à l'aide du Kerabov ; 3 ont été malades. Les 19 veaux du deuxième lot, protégés par une bague auriculaire insecticide, Flectron, sont restés indemnes. Un veau sur les 20 témoins a été atteint. Une étude épidémiologique rétrospective de la KIB a montré que les bagues auriculaires avaient protégé non seulement les veaux qui les portaient, mais aussi, partiellement, ceux qui vivaient à leur contact. Dans un deuxième essai, les bagues se sont avérées totalement efficaces pendant au moins sept mois. *Mots clés* : Bovin - Kératoconjonctivite - Vaccination - Insecticide - Cyperméthrine - Cameroun.

et al. (4) ont pu reproduire régulièrement la maladie sur des veaux recevant une culture de *Moraxella bovis* par voie conjonctivale et PUNCH et SLATTER (5) considèrent qu'il s'agit bien de l'agent spécifique de la KIB. GLASS et GERHARDT (3) récoltent ce germe dans le jabot de mouches nourries sur les yeux de bovins infectés qu'ils présentent des symptômes ou non. ARENDS *et al.* (1) ont montré que ces insectes étaient d'importants vecteurs de la maladie.

Dans ces essais, une prévention de la KIB a été tentée, soit en limitant la transmission par action sur les mouches vectrices, soit en immunisant les animaux contre l'agent responsable de l'affection par une vaccination.

INTRODUCTION ET PROTOCOLE

La kératoconjonctivite infectieuse bovine sévit à l'état endémique dans les troupeaux du Nord-Ouest du Cameroun. A l'instar de FRISH (2), on constate que pour les zébus cette maladie ne constitue pas un problème majeur mais que son incidence est beaucoup plus grande sur les taurins. Des bovins de races Holstein et Jersiais ont été introduits dans la station IRZ de Bambui et distribués dans des fermes de la région. Ces deux races sont connues pour être particulièrement sensibles à la KIB bien que la deuxième ait des paupières fortement pigmentées (5). Comme dans la littérature (5) on note que les veaux sont les plus atteints : en 1982-1983, sur 70 veaux sevrés dans la section de production laitière de la station, 29 ont été victimes de cette infection. Il s'agit de Holstein, Jersiais ou de leur croisement avec les zébus locaux.

Compte tenu des retards de croissance occasionnés par cette affection et de la difficulté du traitement, une opération prophylactique a été engagée.

Il y a quelques années, la cause de cette maladie était considérée comme non totalement connue (6). PUGH

MATERIEL ET METHODES

Cette étude comprend trois volets :

- deux essais de prévention
- une enquête épidémiologique

Premier essai de prévention

L'essai s'est déroulé d'octobre 1983 à mai 1985. Il a porté sur 62 veaux du troupeau laitier (non compris 10 morts d'autres affections durant cette période), mis à l'herbe après leur sevrage à 16 semaines. Les sevrages sont étalés tout au long de l'année, les veaux se succèdent donc dans le troupeau.

A leur entrée dans le troupeau, les veaux sont répartis dans trois groupes désignés par les lettres K, F et T.

Le groupe K est vacciné à l'aide du vaccin Kerabov (Rhône-Mérieux) à raison de deux injections sous-cutanées à quatre semaines d'intervalle. Il s'agit d'un vaccin inactivé adjuvé, composé de *Moraxella bovis*, de *Corynebacterium pyogenes* et son anatoxine, et des anatoxines staphylococciques alpha et bêta. Ce groupe compte 23 veaux.

On a apposé sur les 19 animaux du groupe F une bague auriculaire insecticide, imprégnée d'un pyrè-

1. LNERV, BP 2057, Dakar, Sénégal.

P. Merlin

thrénoïde de synthèse; la cypermétrine. Ces bagues, dénommées Flectron Fly Tag, sont fournies par Shell-Chimie.

Les 20 veaux du groupe T ne font l'objet d'aucune mesure de prévention. La répartition des animaux de chaque race est indiquée dans le tableau I.

TABLEAU I Répartition des animaux de l'essai I.

Race	K	F	T	Total
Holstein	4	1	3	8
Jersiais	1	2	4	7
J. x White Fulani	12	11	11	34
H. x Red Fulani	2	2	1	5
H. x Gudali	4	3	1	8
Total	23	19	20	62

Les animaux sont contrôlés journalièrement, ceux qui sont atteints sont traités par une injection sous-conjonctivale de Chloramphénicol. L'observation a duré pendant la période de l'essai proprement dit, puis le suivi des animaux a été effectué pendant les treize mois suivants jusqu'en juin 1986. Il n'a pas été signalé de *Thelazia* sur la station.

Enquête épidémiologique

A l'issue de cet essai, il est apparu que l'incidence de la KIB avait été particulièrement basse sur les animaux témoins.

La cause en a été recherchée, par une étude rétrospective de la maladie sur la station en distinguant trois périodes : avant l'essai (mars 82-septembre 83), pendant l'essai (octobre 83-mai 85) et après (juin 85-juin 86).

Deuxième essai des bagues insecticides

A la fin de juin 1986, une bague a été fixée sur 31 veaux sevrés du troupeau laitier. Seize bagues Flectron et 15 bagues Deosan (Diversey) à base de perméthrine ont été utilisées. Il ne s'agissait pas de comparer l'efficacité des deux types de bague qui contiennent des substances extrêmement voisines sous la même présentation.

Dix-huit veaux sont restés dans ce troupeau avec 21 veaux non-bagués. Les 13 autres ont été envoyés, avec 20 veaux laitiers non-bagués, dans le troupeau

des veaux sevrés du « Programme Viande » qui comptait une trentaine de veaux zébus locaux.

RESULTATS

Premier essai

Pendant la période d'essai, d'octobre 1983 à mai 1985, 4 cas de KIB ont été relevés, 3 dans le groupe K, 1 dans le groupe T et aucun dans le F.

En considérant la période d'essai et les treize mois d'observation suivants, soit d'octobre 83 à juin 86, le total est de 14 cas : 6 dans le K et le T, et 2 dans le F.

L'incidence de la KIB dans les différents groupes n'est pas statistiquement différente. Ni l'effet préventif de la bague Flectron, ni celui du vaccin Kerabov n'ont été mis en évidence.

Mais la faiblesse du nombre d'animaux atteints dans cet essai a posé le problème de savoir si les bagues Flectron, dont l'insecticide diffuse, n'ont pas eu d'effet général sur le troupeau. Pour y répondre, une étude épidémiologique de la maladie sur la station a été entreprise.

Etude épidémiologique

L'incidence mensuelle de la KIB sur le troupeau des veaux sevrés laitiers est présentée dans le tableau II. Pendant la durée de l'essai d'octobre 83 à mai 85, 72 veaux ont été sevrés, parmi ceux-ci 4 ont été malades. Pour la période allant de mars 82 à septembre 83, 102 veaux ont été sevrés, 33 ont été atteints de KIB. Puis de juin 85 à juin 86, 74 ont été sevrés et 16 ont été malades.

Le taux d'infection pendant la période d'essai est très significativement inférieur à ceux des périodes antérieure ($P = 0,001$) et postérieure ($P = 0,01$). Il convient de déterminer si cela est dû à une variation de l'incidence de la maladie sur la station ou aux conditions de l'essai.

Le tableau III indique le nombre de cas observés mensuellement sur les autres animaux de la station. Compte tenu d'un effectif à peu près stable, estimé à 500 têtes, les incidences annuelles de la KIB pendant les trois périodes considérées sont 2,4, 2,3 et 1,8 p. 100, non statistiquement différentes. L'incidence de la KIB apparaît donc comme stable. C'est bien l'essai lui-même qui a fait baisser très significativement l'incidence de la maladie chez les veaux sevrés.

TABLEAU II Incidence mensuelle de la KIB chez les veaux sevrés du troupeau laitier.

Mois	1981/82	1982/83	1983/84	1984/85	1985/86
Octobre				2	
Novembre		3		1	
Décembre		11		1	1
Janvier		1			
Février					
Mars		1			2
Avril					
Mai					
Juin	4	8		1	
Juillet		1		1	
Août		2			
Septembre		2		11	
Total	4	29	0	17	3

TABLEAU III Incidence mensuelle de la KIB dans la station de Bambui (veaux du troupeau laitier exclus).

Mois	1981/82	1982/83	1983/84	1984/85	1985/86
Octobre			2	2	
Novembre		1	3		
Décembre			1	1	2
Janvier		1			
Février		4		2	
Mars	2	3		1	1
Avril		1		1	3
Mai		1		2	
Juin	1		1	3	1
Juillet					
Août	2	1			
Septembre	1	1	1		
Total	6	13	8	12	7

C'est cet effet indirect des bagues Flectron, dont l'insecticide a protégé non seulement les porteurs mais aussi les veaux à leur contact, qui a empêché de faire apparaître de manière statistiquement significative leur efficacité sur les animaux du groupe F.

Deuxième essai des bagues auriculaires insecticides

Sur les 31 animaux sur lesquels une bague insecticide a été posée en juin 1986, aucun n'a présenté de signe de KIB jusqu'en janvier 1987. La protection a donc été effective durant sept mois.

Dans le troupeau des sevrés du « Programme Lait », où 18 veaux étaient bagués, sur les 21 veaux non-bagués un seul a été malade.

Dans le troupeau des sevrés du « Programme Viande », il y a eu un malade sur la trentaine de veaux de race locale, et six malades sur les 20 veaux de races laitières non-bagués, soit une incidence de 30 p. 100.

DISCUSSION

Efficacité de la vaccination

La vaccination s'est avérée sans effet préventif. En dehors de cet essai, le vaccin Kerabov a été utilisé à titre curatif, en répétant les injections tous les deux jours. La rémission des symptômes n'est apparue souvent qu'après plus de dix injections. Ceci confirme l'opinion de WILLOUGHBY (6) pour lequel les vaccins contenant *M. bovis* donnent des résultats peu encourageants que ce soit préventivement ou curativement. La voie d'injection la meilleure est la voie sous-cutanée, celle qui a été ici utilisée. Mais il faut qu'il s'agisse de souches homologues ; l'efficacité des souches hétérologues est imprévisible (5). Dans cet essai, il apparaît que le vaccin Kerabov ne protège pas contre la (ou les) souche(s) qui sévissent sur la station.

Il se peut aussi que *M. bovis* ne soit pas l'agent essentiel de la KIB dans cette région. L'intervention du virus de la rhino-trachéite infectieuse bovine, seul ou associé, doit être envisagée. Cette hypothèse pourrait être étudiée par des examens sérologiques sur les animaux atteints (A. PROVOST, communication personnelle, 1985).

P. Merlin

Efficacité des bagues auriculaires insecticides

L'importance de la population de mouches dans la dissémination de la KIB est assez variable selon les régions (5). Dans le cas présent, c'est un facteur déterminant. La bague auriculaire insecticide protège totalement les animaux qui la portent pendant au moins sept mois.

Le problème est alors de savoir si durant cette période le veau a le temps de s'immuniser contre la KIB en subissant une infection limitée ou si au contraire, sa contamination étant trop faible, il ne peut pas s'immuniser. Dans ce dernier cas, les bagues ne feraient que retarder la maladie, qui se manifesterait après leur épuisement.

Les deux veaux du lot F qui ont été malades après l'essai, l'ont été 19 et 21 mois après l'apposition de leurs bagues. Le taux d'infection de ce lot après l'essai a été de 10 p. 100, intermédiaire entre celui des veaux sevrés, 22 p. 100, et celui du reste de la station, 2 p. 100. Il n'y a pas de phénomènes de rattrapage.

Le transfert de l'insecticide, des animaux bagués à

ceux qui ne le sont pas, permet une protection partielle de ces derniers. Cet effet indirect est net quand au moins un tiers des veaux est bagué. Mais la protection de tous nécessite l'apposition d'une bague sur chacun.

Les tableaux II et III montrent qu'il n'y a pas de saison particulière pour l'apparition de la KIB. Les bagues seront donc apposées dès la mise à l'herbe, quelle que soit la saison.

CONCLUSION

La vaccination contre la kératoconjunctivite infectieuse bovine à l'aide du vaccin Kerabov s'est avérée inefficace. L'apposition de bagues auriculaires insecticides Flectron a permis d'empêcher l'apparition de la maladie sur les animaux qui la portaient et diminué l'incidence de la maladie sur ceux vivant à leur contact. Il s'agit donc d'un excellent moyen de prévention de la KIB.

MERLIN (P.). Prevention of infectious bovine keratoconjunctivitis (IBK) in North-West Cameroon. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 235-238.

A first trial to prevent IBK in Holstein, Jerseys and their zebu crosses weaners, tested two different techniques. The animals were divided into three groups. In the first group, 23 calves were vaccinated with Kerabov ; 3 of them got the disease. The 19 calves of the second group, protected with insecticide impregnated ear tags, Flectron, remained free of IBK. One amongst the 20 control calves was sick. An epidemiological retrospective study of IBK suggests that the ear tags proved to be protective not only on the calves carrying them but also the nearby animals. In a second trial, the lasting of the efficiency of the ear tags was estimated at seven months at least. *Key words* : Cattle - Keratoconjunctivitis - Vaccination - Insecticide - Cypermethrin - Cameroon.

MERLIN (P.). Prevención de la queratoconjunctivitis infecciosa bovina en el Noroeste del Camerún. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 235-238.

Un primer ensayo de prevención de la queratoconjunctivitis infecciosa bovina (QIB) en terneros destetados de razas lecheras (Holstein, Jersey y sus mestizos con cebues locales) sometió a prueba dos técnicas. Se utilizaron 3 grupos de terneros. En el primer grupo, 3 terneros de los 23 vacunados con Kerabov fueron enfermos ; 19 terneros del segundo grupo, protegidos por una anilla auricularia insecticida, Flectron, permanecieron indemnes ; un animal de los 20 del grupo testigo fueron enfermos. Según un estudio epidemiológico retrospectivo de la QIB, las anillas auricularias protegieron no sólo los terneros que las llevaban sino que parcialmente los que vivían con ellos. Cuando un segundo ensayo, se observó una eficacia entera de las anillas durante a lo menos siete meses. *Palabras claves* : Bovino - Queratoconjunctivitis - Vacunación - Insecticida - Cipermetrina - Camerún.

BIBLIOGRAPHIE

- AREND (J. J.), WRIGHT (R. E.), BARTO (P. B.), LUSBY (K. S.). Transmission of *Moraxella bovis* from blood agar cultures to Hereford cattle by face flies (*Diptera* : *Muscidae*). *J. econ. Ent.*, 1984, 77 : 394-398.
- FRISH (J. E.). The relative incidence and effect of bovine infectious keratoconjunctivitis in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *Anim. Prod.*, 1975, 21 : 265-274.
- GLASS (H. W.), GERHARDT (R. R.). Recovery of *Moraxella bovis* (Hauduroy) from the crops of face flies (*Diptera Muscidae*) fed on the eyes of cattle with infectious bovine keratoconjunctivitis. *J. econ. Ent.*, 1983, 76 (3) : 532-534.
- PUGH (G. W.), HUGHES (D. E.), SCHULZ (V. D.). Infectious bovine keratoconjunctivitis : experimental induction of infection in calves with mycoplasmas and *Moraxella bovis*. *Am. J. vet. Res.*, 1976, 37 (5) : 493-495.
- PUNCH (P. I.), SLATTER (D. H.). A review of infectious bovine keratoconjunctivitis. *Vet. Bull.*, 1984, 54 (4) : 193-207.
- WILLOUGHBY (R. A.). La kératoconjunctivite infectieuse bovine. In : Médecine et chirurgie des bovins. Paris, Vigot, 1974. Pp. 690-695.

E. N. Nwosuh¹
A. A. Adesiyun¹

Prevalence of *Yersinia enterocolitica* infection in Nigerian chickens : cultural and serologic studies

NWOSUH (E. N.), ADESIYUN (A. A.). Incidence de l'infection à *Yersinia enterocolitica* sur les poulets nigériens. Etudes sérologique et en culture. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 239-241.

L'auteur a recherché la fréquence d'isolement de *Yersinia enterocolitica* à partir de prélèvements par écouvillonnage du cloaque de 800 poulets élevés selon trois systèmes différents (intensif, basse-cour, en liberté). L'incidence des anticorps correspondant à 5 sérotypes a également été déterminée. Cinq poulets sur 800 (0,63 p. 100) ont été trouvés positifs à *Y. enterocolitica* en culture, tous les isolats venant de volailles élevées en liberté. Les cinq souches correspondaient au sérotype 0:12,25, biotype 3 et phage type Xz. Quinze des 800 animaux (1,9 p. 100) possédaient des agglutinines à *Y. enterocolitica*, 4 (soit 0,5 p. 100) pour le sérotype 0:3 et 11 (1,4 p. 100) pour le sérotype 0:9. Parmi les poulets séropositifs 7 avaient un titre de 1/40, 5 de 1/80 et 3 de 1/160. Bien qu'il s'agisse là de la première communication au sujet de l'infection du poulet à *Y. enterocolitica* dans les pays tropicaux, l'incidence de la maladie semble être faible et le risque de transmission à l'homme doit être minime dans l'environnement considéré. *Mots clés* : Poulet - *Yersinia enterocolitica* - Isolement - Sérologie - Nigeria.

INTRODUCTION

Reports of *Yersinia enterocolitica* infection in a variety of animal species have come predominantly from temperate countries (5, 7, 14). This led to an earlier belief that *Yersinia enterocolitica* infection was limited to cold environments because of the affinity of the organism for low temperatures (13). However of late, reports exist on the isolation of the organism from tropical and subtropical countries. *Yersinia enterocolitica* was isolated from human acute gastroenteritis in Nigeria (4) and Bangladesh (12). In Nigeria, the organism has been documented in pigs (2, 10), cattle (9) and camels (8). To date, information is not available on the status of *Y. enterocolitica* infection in chickens in any tropical environment. Few reports also exist on the serological evidence of *Y. enterocolitica* in animal species. KROGSTAD (6) reported antibody titres to serotype 0:2 infection in a natural outbreak of yersiniosis in Norwegian goats while ADESIYUN *et al.* (1)

1. Department of Veterinary Public Health and Preventive Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria.

Correspondence to : Dr. A. A. Adesiyun, Faculty of Veterinary Medicine, Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria.

determined the antibody prevalence to three serotypes of *Y. enterocolitica* in 11 species of animals in Nigeria.

The present study was conducted to determine the prevalence of *Y. enterocolitica*, culturally and serologically, in chickens kept under different management systems in Nigeria.

MATERIAL AND METHODS

Source of samples

Chickens kept under three types of management systems were used. The extensive (free-range) system contains chickens not under any form of confinement. The semi-intensive (backyard) system comprises chickens in confinement either in cages or deep litter usually with up to 3,000 birds. The intensive system contains chickens confined in cages or deep litter usually numbering over 5,000.

Sample collection

For cultural study, cloacal swabs were collected from a total of 800 chickens randomly selected from the flocks comprising 400 from free-rangers, 200 each from the semi-intensive and extensive management systems.

All swabs were put in 6 ml of 0.067 M phosphate buffered saline (PBS), pH 7.6 and taken to the laboratory cooled.

For serology, blood was collected at slaughter from 400 free-rangers and 400 chickens from intensively-managed flocks. Harvested sera were stored at -20 °C until needed.

Isolation and identification of *Yersinia* spp.

The procedure described by AGBONLAHOR *et al.* (3) was used.

E. N. Nwosuh, A. A. Adesiyun

Serotyping, biotyping and phage-typing of *Yersinia* isolates

The serotype, biotype and phage-type of all isolates were kindly determined by Prof. H. H. MOLLARET of Pasteur Institut, Paris.

Detection of *Y. enterocolitica* agglutinins

Yersinia enterocolitica antigens were prepared from growth cultures of serotypes 0:3, 0:5,27, 0:8 and 0:9 kindly provided by Dr. DEVENISH of Ontario, Canada and 0:12,26 isolated from cattle in Nigeria (3) as earlier described by ADESIYUN *et al.* (1). The tube agglutination test (1) was used to detect *Y. enterocolitica* agglutinins in all serum samples.

RESULTS

Five (1.3 p. 100) of 400 free-ranging local chickens were positive for *Y. enterocolitica* while none of the 400 chickens from either the semi-intensive or intensive management systems was positive. Overall, the frequency of isolation was 0.63 p. 100.

All five strains of *Y. enterocolitica* isolated were of serotype 0:12,25, biotype 3 and phage-type Xz. Biochemically, most reactions given by isolates were typical.

Fifteen (1.9 p. 100) chickens had agglutinins to *Y. enterocolitica* amongst the 800 tested. The antibody prevalence was 1.5 p. 100 amongst extensively managed chickens and 2.3 p. 100 for those intensively managed. Eleven (1.4 p. 100) of 800 chickens were seropositive for agglutinins for serotype 0:9 but only 4 (0.5 p. 100) for 0:3. All chickens were negative for agglutinins against serotypes 0:5,27, 0:8 and 0:12,26.

For serotype 0:3 agglutinins, 3 had titres of 1/40 while only 1 was 1/80. Four chickens each had titres of 1/40 and 1/80 while 3 had 1/160 against serotype 0:9.

DISCUSSION

This is the first report of isolation of *Y. enterocolitica* from chickens in any tropical environment. The frequency of isolation (0.63 p. 100) though low, is in agreement with studies in other animals in the environment (3, 8). The low prevalence of *Y. enterocolitica* infection in chickens in Nigeria is hardly a surprise since temperature has been documented to have some effect on the survival of the organism (11). The relatively high environmental temperature experienced throughout the year in most tropical environments coupled with the fact that chickens have a high body temperature (37 °C) are factors to consider.

The role of management system on the prevalence of infection was demonstrated by the absence of isolation from chickens kept under confinement while all five strains of *Y. enterocolitica* came from free-ranging chickens. Such free-rangers are exposed to other livestock in the environment.

That all five strains of *Y. enterocolitica* are of serotypes 0:12,25 is of significance because this serotype had hitherto, never been isolated from animal species in Nigeria. In earlier studies (3) on cattle and pigs in the same environment the predominant serotype was 0:12,26.

The overall prevalence of *Y. enterocolitica* antibodies (1.9 p. 100) is again low but a reflection of the equally low frequency of isolation of the organism from chickens. A limited serological survey of chickens by ADESIYUN *et al.* (1) had reported the detection of *Y. enterocolitica* agglutinins to serotypes 0:3, 0:8 and 0:12,26 in 2 (8.7 p. 100) of 23 free-rangers in Zaria area and in 3 (7.5 p. 100) of 40 chickens kept under the semi-intensive management system.

CONCLUSION

Based on the very low prevalence of *Y. enterocolitica* infection in chickens in Nigeria, it is concluded that they may not be important in the epidemiology of yersiniosis in human beings in this environment.

The frequency of isolation of *Yersinia enterocolitica* from cloacal swabs of 800 chickens kept under three management systems was determined. The prevalence of antibodies to 5 serotypes of *Y. enterocolitica* in sera of chickens was also determined. Five (0.63 p. 100) of 800 animals were positive for *Y. enterocolitica* culturally with all isolates coming from free-ranging chickens. All 5 strains were serotype 0:12,25, biotype 3 and phage type Xz. Fifteen (1.9 p. 100) of 800 chickens had agglutinins to *Y. enterocolitica*, 4 (0.5 p. 100) against serotype 0:3 and 11 (1.4 p. 100) against serotype 0:9. Amongst seropositive chickens, 7 had a titre of 1/40, 5 had 1/80 while 3 were with titres of 1/160. Although this is the first documentation of *Y. enterocolitica* infection in chickens in any tropical country, the prevalence of infection appears low and the risk to human beings in this environment may be minimal. *Key words*: Chicken - *Yersinia enterocolitica* - Isolation - Serology - Nigeria.

El autor buscó la frecuencia de aislamiento de *Yersinia enterocolitica* a partir de muestras por limpieza de la cloaca de 800 pollos criados según tres sistemas diferentes (intensivo, corral, en libertad). Determinó también la incidencia de los anticuerpos correspondiendo a 5 serotipos. Cinco pollos de 800 (0,63 p. 100) fueron positivos para con *Y. enterocolitica* en cultivo, proviniendo todas las muestras de aves criadas en libertad. Las cinco cepas representaban el serotipo 0:12,25, biotipo 3 y fago Xz. Quince de las 800 aves (1,9 p. 100) tenían aglutininas a *Y. enterocolitica*, 4 (sea 0,5 p. 100) para el serotipo 0:3 y 11 (1,14 p. 100) para el serotipo 0:9. Entre los pollos seropositivos, 7 tenían un título de 1/40, 5 de 1/80 y 3 de 1/160. Aunque se trate de la primera nota a propósito de la infección del pollo por *Y. enterocolitica* en los países tropicales, la incidencia de la enfermedad parece reducida y el riesgo de transmisión al hombre debe de ser menor en el ambiente observado. *Palabras claves*: Pollo - *Yersinia enterocolitica* - Aislamiento - Serología - Nigeria.

REFERENCES

1. ADESIYUN (A. A.), LOMBIN (L. H.), AGBONLAHOR (D. E.). Prevalence of antibodies to *Yersinia enterocolitica* serogroups 0:3, 0:8 and 0:12,26. *Br. vet. J.*, 1986, **142**: 381-388.
2. ADESIYUN, (A. A.), LOMBIN (L. H.), KWAGA (J. K. P.), AGBONLAHOR (D. E.). Some features of the first isolate of *Yersinia enterocolitica* serogroup 0:8 from a piglet in Nigeria. *Niger. J. Microbiol.*, 1985, **4**: 97-100.
3. AGBONLAHOR (D. E.), ADESIYUN (A. A.), KWAGA (J. K. P.), LOMBIN (L. H.). Colonial, biochemical and serological characteristics of *Yersinia* species from animals in Nigeria. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1985, **38**: 416-422.
4. AGBONLAHOR (D. E.), ODUGBEMI (T. O.), DOSUNMU-OGUNBI (O.). Isolation of species of *Yersinia* from patients with gastroenteritis in Nigeria. *J. Med. Microbiol.*, 1983, **16**: 93-96.
5. DAVEY (G. M.), BRUCE (J.), DRYSDADE (E. M.). Isolation of *Yersinia enterocolitica* and related species from the faeces of cows. *J. appl. Bact.*, 1983, **55**: 439-443.
6. KROGSTAD (O.). *Yersinia enterocolitica* infection in goat, a serological and bacteriological investigation. *Acta vet. scand.*, 1974, **15**: 597-599.
7. KROGSTAD (O.), TEIGE Jr. (J.), LASSEN (J.). *Yersinia enterocolitica* type 2 associated with disease in goats. *Acta vet. scand.*, 1972, **13**: 594-596.
8. KWAGA (J. K. P.), ADESIYUN (A. A.), LOMBIN (L. H.), MIJINYAWA (S. M.), AGBONLAHOR (D. E.). Cultural and serological studies on yersiniosis in camels in Nigeria. *Can. vet. J.*, 1986, **28**: 42-44.
9. KWAGA (J. K. P.), AGBONLAHOR (D. E.), LOMBIN (L. H.), ADESIYUN (A. A.), OLATUNDE (A. O.). Isolation of *Yersinia* spp. from cattle and milk around Zaria: a preliminary report. Proc. Natn. Conf. Dis. Rumn., Vom, Nigeria, 1984. Pp. 149-158.
10. LOMBIN (L. H.), ADESIYUN (A. A.), AGBONLAHOR (D. E.), KWAGA (J. K. P.). Isolation of *Yersinia* species from pigs in Nigeria. *Vet. Rec.*, 1985, **117**: 364.
11. LOMBIN (L. H.), ADESIYUN (A. A.), HARUNA (M.), KWAGA (J. K. P.), AGBONLAHOR (D. E.). Survey for *Yersinia enterocolitica* in water from ponds, streams and wells in Northern Nigeria. *Microbiologica*, 1986, **9**: 95-100.
12. SAMADI (A. R.), HUQ (M. I.), MONSUR (K. A.), KIBRIYA (A. K.). First isolation of *Yersinia intermedia* from stool during an epidemiological investigation in Bangladesh. *Trop. geogr. Med.*, 1983, **35**: 231-233.
13. SAMADI (A. R.), WACHSMUTH (K.), HUQ (M. I.), MAHBUB (M.), AGBONLAHOR (D. E.). An attempt to detect *Yersinia enterocolitica* infection in Dacca, Bangladesh. *Trop. geogr. Med.*, 1982, **34**: 151-154.
14. SCHIEMANN (D. A.), FLEMMING (C. A.). *Yersinia enterocolitica* isolated from throats of swine in Eastern and Western Canada. *Can. J. Microbiol.*, 1981, **27**: 1326-1333.

S. M. El Sanousi¹
S. B. Abdelrahman¹
A. Osman²

Concomitant infection of *Clostridium novyi* (A, B) and *Clostridium sordellii* in mice

EL SANOUSI (S. M.), ABDELRAHMAN (S. B.), OSMAN (A.). Infection concomitante de *Clostridium novyi* (A, B) et *Clostridium sordellii* chez la souris. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 243-245.

L'incorporation des spores de *C. sordellii* (ovin) avec celles de *C. novyi* (B) et des spores de *C. sordellii* (bovin) avec celles *C. novyi* (A) ont augmenté la pathogénicité de *C. novyi* (A et B) pour la souris. *Mots clés* : Souris - *Clostridium sordellii* - *Clostridium novyi* - Pathogénicité.

INTRODUCTION

Clostridium sordellii had been frequently isolated from lesions of malignant oedema is considered to be definite pathogen (3). It has also been frequently found to be responsible for infection in cattle and man.

Clostridium sordellii with other bacteria was isolated from haemorrhagic and necrotic lesion of bovine gastrointestinal tract by BROOKS, STERNE and BETTY (5) and AL MASHAT and TAYLOR (2).

SMITH, SAFFORD and HAWKINS (9) reported the presence of haemorrhagic enteric lesion in sheep with *C. sordellii* infections, but did not isolate the organism from the intestine. *C. sordellii* was also reported in lambs and sheep with enterotoxaemia by POPOFF (7) and in lambs with enterotoxaemia by RICHARDS and HUNT (8).

WILLIAMS (10) isolated *C. sordellii* from three cases of cattle myocytis, but he concluded that *C. sordellii* is not an important cause of cattle myocytis. In 1979, BLOOD, HENDERSON and RADOSTITS reported that *C. sordellii* was associated with gangrenous lesion such as malignant oedema in both cattle and sheep (4).

The incrimination of *C. sordellii* in various pathological conditions have encouraged us to investigate the properties of this ignored pathogen and its role in the enhancement of the pathogenicity and this is the objective of this article.

MATERIAL AND METHODS

Enhancement of the pathogenicity of *Clostridium novyi* type A and *Clostridium novyi* type B by the incorporation of *Clostridium sordellii* sheep and cattle strains : sixty white mice were distributed into six groups of ten each and designated : N, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, and 1/128.

Clostridium novyi type B culture was double diluted and 0.5 ml of each dilution was used to inoculate a mouse in the corresponding sub-group.

The procedure was repeated in another group of mice using *C. novyi* B [0.5 ml + 0.25 ml undiluted *C. sordellii* (Sheep) culture].

The pathogenicity of *C. sordellii* (Sheep) alone was tested in a group of 4 mice inoculated with 0.25 ml *C. sordellii*. To all these inocula 0.25 ml sterile CaCl₂ was added.

This experiment was repeated using *C. novyi* type A and *C. novyi* type A plus *C. sordellii* (Cattle), but here the dilutions used were : N, 1/2, 1/4 and 1/8.

RESULTS

Clostridium sordellii (Sheep and Cattle) strains were found to be non pathogenic, but the addition of *C. sordellii* sheep strain to *Clostridium novyi* type B enhances the pathogenicity of *C. novyi* type B (Table I) and the addition of *C. sordellii* cattle strain was found to enhance the pathogenicity of *C. novyi* type A (Table II).

1. Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Science, University of Khartoum, Sudan.

2. Food Research Centre, Shambat, Sudan.

S. M. El Sanousi, S. B. Abdel Rahman, A. Osman

TABLE I Deaths among mice inoculated with *C. novyi* (B), *C. sordellii* or a mixture of both.

Strain	Culture dilution					
	N	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
<i>C. novyi</i> B (0.5 ml)	10/10	10/10	10/10	0/10	0/10	0/10
<i>C. novyi</i> B 0.5 ml + <i>C. sordellii</i> 0.25 ml	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
<i>C. sordellii</i> sheep 0.25 ml	0/10	0/10	0/10			

Each inoculum was mixed with 0.25 ml sterile CaCl₂.

TABLE II Deaths among mice inoculated with *C. novyi* (A), *C. sordellii* (cattle) or a mixture of both.

Strain	Culture dilution			
	N	1/2	1/4	1/8
<i>C. novyi</i> (A) 0.5 ml	10/10	0/10	0/10	0/10
<i>C. novyi</i> (B) + <i>C. sordellii</i> (cattle)	10/10	10/10	10*/10	10*/10
<i>C. sordellii</i> (cattle) 0.25 ml	0/10	—	—	—

Each inoculum was mixed with 0.25 ml sterile CaCl₂.

* The animals were severely infected but did not die.

EL SANOUSI (S. M.), ABDELRAHMAN (S. B.), OSMAN (A.). Concomitant infection of *Clostridium novyi* (A, B) and *Clostridium sordellii* in mice. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3): 243-245.

The incorporation of *C. sordellii* (sheep) spores with *C. novyi* (B) and *C. sordellii* (cattle) spores with *C. novyi* (A) enhanced the pathogenicity of the *C. novyi* (B and A) for mice. *Key words*: Mice - *Clostridium sordellii* - *Clostridium novyi* - Pathogenicity.

DISCUSSION

The association of *C. sordellii* with other organisms in producing a disease was reported by many workers (2, 7, 6). These authors reported the association of *C. sordellii* and *C. perfringens* type A with enteric lesions in animals. They suggested that the two bacteria act synergistically in producing enteric disease. Also, ABU-SAMRA *et al.* (1) isolated from infectious hepatitis (black disease). They concluded that the presence of *C. sordellii* aggravated and complicated the infection of sheep with *C. novyi*. The same finding was reported by STERNE and BATTY (10). A result which is substantiated by the present study.

CONCLUSION

The increasing reports incriminating *C. sordellii* in various diseases warrant further investigation.

EL SANOUSI (S. M.), ABDELRAHMAN (S. B.), OSMAN (A.). Infección concomitante de *Clostridium novyi* (A, B) y *Clostridium sordellii* en el ratón. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3): 243-245.

La incorporación de las esporas de *C. sordellii* (oveja) con las de *C. novyi* (B) y de las esporas de *C. sordellii* (bovino) con las de *C. novyi* (A) aumentaron la patogenicidad de *C. novyi* (A y B) para el ratón. *Palabras claves*: Ratón - *Clostridium sordellii* - *Clostridium novyi* - Patogenicidad.

REFERENCES

1. ABU-SAMRA (M. T.), EL SANOUSI (S. M.), IDRIS (S. O.), BAGADI (H. O.), A. SALAM (I. S.), ALI (B. H.), MUSA (B. E.). Infectious necrotic hepatitis (Black disease) among Sudanese sheep. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1984, **37** (4): 422-429.
2. AL MASHAT (R. R.), TAYLOR (D. J.). Bacteria in enteric lesion of cattle. *Vet. Rec.*, 1983, **112**: 5-10.

3. BLOOD (D. C.), HENDERSON (J. A.). *Veterinary medicine*, 4th ed. London, Bailliere Tindall, 1974. Vol. 1, p. 326.
4. BLOOD (D. C.), HENDERSON (J. A.), RADOSTITS (O. M.). *Veterinary medicine*, 5th ed. London, Bailliere Tindall, 1979.
5. BROOKS (M. E.), STERNE (M.), BETTY (R. W.). Occurrence of *Clostridium sordellii* in Great Britain. *Vet. Rec.*, 1956, **68** : 121-122.
6. GAMEEL (A. A.), EL SANOUSI (S. M.), MUSA (B.), EL OWNI (E. E.). Association of *Clostridium perfringens* and *Aeromonas hydrophilia* with haemorrhagic enteritis in camels (*Camelus dromedarius*). Small Ruminant and Camel Research group Document. Addis Ababa, International Livestock Centre for Africa, 1986, **12** : 50-55.
7. POPOFF (M. R.). Bacteriological examination in enterotoxaemia of sheep and lambs. *Vet. Rec.*, 1984, **114** (13) : 324.
8. RICHARDS (S. M.), HUNT (B. W.). *Clostridium sordellii* in lambs. *Vet. Rec.*, 1982, **111** : 22.
9. SMITH (L. D. S.), SAFFORD (J. W.), HAWKINS (W. S.). *Clostridium sordellii* infection in sheep. *Cornell Vet.*, 1962, **52** : 62-68.
10. STERNE (M.), BATTY (I.). *Pathogenic Clostridia*. London and Boston, Butterworth and Co. Ltd., 1975.
11. WILLIAMS (B. M.). Clostridial myositis in cattle : bacteriological and gross pathology. *Vet. Rec.*, 1977, **100** : 90-91.

S. M. El Sanousi¹
S. B. Abdelrahman¹
A. Osman²

Studies on the properties of *Clostridium sordellii* and *Clostridium novyi* (A, B) with special reference to their fatty acids

EL SANOUSI (S. M.), ABDELRAHMAN (S. B.), OSMAN (A.). Etudes des propriétés de *Clostridium sordellii* et *Clostridium novyi* (A, B) concernant principalement leurs acides gras. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 247-251.

C'est le même dessin d'acide gras que *Clostridium novyi* (A) et *Clostridium novyi* (B) ont donné en chromatographie en phase gazeuse. *Clostridium novyi* (A) a été trouvé plus hémolytique pour les globules rouges de mouton, de cheval et de dromadaire que *C. novyi* (B). Les souches de *C. sordellii* testées ont montré des différences très faibles dans leurs propriétés biochimiques. *C. sordellii* (bovine) a été plus hémolytique que les souches camelines et ovines. Les spores de *C. sordellii*, souches bovines, ont été plus résistantes à la chaleur que les souches camelines et ovines. Les études en immunodiffusion ont montré que les trois souches de *C. sordellii* sont antigéniquement reliées. Les chromatogrammes des souches camelines et ovines ont révélé de l'acide acétique, de l'acide propionique et de l'acide isocaproïque. *C. sordellii* (bovine) a donné un pourcentage élevé d'acide acétique et d'acide butyrique, mais une faible quantité d'acide propionique et d'acide isocaproïque. *Mots clés* : Bovin - Ovin - Dromadaire - *Clostridium sordellii* - *Clostridium novyi* - Acide gras.

INTRODUCTION

Clostridium sordellii was first isolated in Argentina from cases of gas gangrene in man by SORDELLI in 1922 (11). It has since been recovered from infected wounds of man and necrotic hepatitis and infected muscles in cattle. The organism was ultimately named *C. sordellii*.

CLARK and HALL (6) and STEWART (13) produced strong evidence suggesting that *C. sordellii* and *C. bifermentans* were simply pathogenic and non-pathogenic strains of the same organism, but in 1953 these organisms were demonstrated to be two distinct species by TATAKI and HUET (14). *C. sordellii* could be distinguished from *C. bifermentans* by its ability to produce urease and by certain serological characteristics.

C. sordellii liquefies gelatin, produces lecithinase

1. Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Science, University of Khartoum, Sudan.

2. Food Research Centre, Shambat, Sudan.

serologically related to the alpha toxin of *C. perfringens* (9) and an oxygen labile related to the theta toxin of *C. perfringens*.

MATERIAL AND METHODS

Strains

Clostridium sordellii (Sheep) and *Clostridium novyi* type B were isolated from a case of black disease in sheep (1). *Clostridium sordellii* (Camel) was isolated from a camel suffering from haemorrhagic enteritis (7). *Clostridium sordellii* (Cattle) and *Clostridium novyi* type A were isolated from a cow suffering from gangrenous myositis.

Biochemical properties

The biochemical properties were conducted according to STERNE and BATTY (12).

Haemolytic activity

The erythrocytes of sheep, horse and camel were used.

Blood was collected aseptically in an equal volume of Alsever's solution, the suspensions were centrifuged at 4,000 rpm for 10 minutes at 4 °C. The sedimented erythrocytes were washed twice with physiological saline and resuspended in the same diluent to a final concentration of 2.5 suspension.

Clostridium sordellii (Sheep), *C. sordellii* (Cattle), *C. sordellii* (Camel), *C. novyi* type A, *C. novyi* type B, were grown in RCM medium, incubated at 37 °C for 24 hours. Cultures were shaken gently and centrifuged at 4,000 rpm for 20 minutes. The clear supernatants (designated haemolysins) were collected and stored at 4 °C. For each strain eight tubes were prepared; each tube containing 1 ml of double dilution of haemolysin in normal saline. To every tube, one ml of sheep erythrocytes was added. The whole procedure was

S. M. El Sanousi, S. B. Abdel Rahman, A. Osman

repeated using camel and horse erythrocytes, the racks were shaken incubated at 37 °C for one hour and then incubated at 20 °C for an overnight before they were finally read.

Resistance to various temperatures

Spores of tested strains were prepared as follows :

RCM medium was seeded with the strain under test, incubated at 37 °C for 24 hours. Then the cultures were stored at room temperature for ten days. Cultures were tested for sporulation and it was considered as maximum when 70-80 p. 100 of cells sporulated. Cultures were centrifuged, the spores suspensions were washed twice with NS.

The spore suspension was heated at 80 °C with frequent subculturing every 5 minutes for 120 minutes. The survival of the organisms was tested at 90 °C and 100 °C.

Agglutination test

Antisera was raised against the different *C. sordellii* strains using rabbits.

Two rabbits were used for each strain for the production of hyperimmune sera.

Agglutination test

The test was carried in standard plastic plates provided with small wells ; each well is capable of holding 1.5 ml. Sera, antigens as well as positive and negative controls were incorporated in every test. The plates were shaken gently and incubated at 37 °C for 60 minutes, then stored at 4 °C for an overnight.

Immunodiffusion test

1.5 g agarose was added to 50 ml of distilled water

TABLE I Biochemical properties of *C. novyi* type A, *C. novyi* type B, *C. sordellii* sheep, cattle and camel strains.

Strains	Glucose	Gas	Lactose	Salicin	Sucrose	Arabinose	Raffinose	Mannitol	Maltose	Sorbitol	Rhaminose	Xylose	Trehalose	Inositol	Indole	Gelatin	Nitrate	Milk	Protein	Urease	H ₂ S	L.V.	L.V. inhibition	Pearly layer
<i>C. novyi</i> B	A	G	-	-	W	-	-	-	W	-	-	W	A	W	-	+	+	A	-	-	ND	+	-	-
<i>C. novyi</i> A	Tra	Tra	-	W	W	W	Tra	W	W	-	Tra	W	W	W	-	+	-	ND	-	ND	-	+	+	+
<i>C. sordellii</i> (Sheep)	Tra	Tra	-	-	-	W	W	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	Black	-	-	+	+	+	-
<i>C. sordellii</i> (cattle)	Tra	Tra	W	-	-	-	-	-	-	-	W	W	-	W	-	+	ND	Black	+	ND	+	+	+	-
<i>C. sordellii</i> (camel)	W	Tra	-	W	W	W	-	-	W	-	W	W	-	W	-	+	ND	ND	+	ND	+	+	+	-

TABLE II The haemolytic activity of *Clostridium sordellii*, *C. novyi* and *C. chauvoei* against erythrocytes of different domestic animals.

Strains	Sheep haemolytic titre								Horse RBC haemolytic titre								Camel RBC haemolytic titre								
	N	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	N	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	N	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	
<i>C. sordellii</i> (sheep)	4	3	3	2	1	0	0	0	3	2	2	1	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. sordellii</i> (cattle)	4	4	4	3	2	1	0	0	4	4	4	4	3	2	1	0	4	3	3	2	1	0	0	0	0
<i>C. sordellii</i> (camel)	4	3	3	2	1	0	0	0	3	2	2	1	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. novyi</i> type A	4	4	3	3	2	2	1	0	4	4	3	2	1	0	0	0	3	2	2	1	0	0	0	0	0
<i>C. novyi</i> type B	2	2	2	1	0	0	0	0	2	2	1	0	0	0	0	0	2	2	1	1	0	0	0	0	0

4 = + + + + 100 p. 100 haemolytic.
 3 = + + + 75 p. 100 haemolytic.
 2 = + + 50 p. 100 haemolytic.
 1 = + 25 p. 100 haemolytic.
 0 = No haemolysis.

boiled to dissolve. Fifty ml of PBS were added, mixed and poured onto sterile petri-dishes to make a layer of 3 mm thickness. When the agar was set, wells of 12.5 mm in diameter were cut using cork-borers.

Preparation of cell-free antigen

The strains were grown for 24 hours at 37 °C anaerobically in RCM. Cells were harvested by centrifugation, washed twice with phosphate buffered saline without Mg²⁺ or Ca²⁺ and resuspended in 10 ml of ice-cold acetone (analytical grade) allowed to stand on ice for 5 minutes. Residual acetone was removed and the proteins were extracted by incubation with 1.0 ml of 1 p. 100 sodium dodecyl sulphate (SDS) for 2 minutes.

The antiserum to be tested was added to the central well. Antigens were added to the wells at the periphery. Dishes were stored in a moist chamber for 1-4 days and examined daily for precipitation.

Fatty acids analysis

The fatty acids analysis was conducted according to SEIFERT (10) using Apye unicom 104 series gas chromatograph (England).

RESULTS

Strains

Reproducible results were obtained.

Biochemical properties

The biochemical properties are shown in table I.

Haemolytic activity

The result of the haemolytic activity of *C. sordellii* (Sheep, Camel and Cattle) strains and *C. novyi* type A and B against RBCs of different domestic animals are shown in table II.

Resistance to various temperatures

Clostridium novyi type A and *C. novyi* type B resisted temperatures up to 100 °C for 75 minutes. *Clostridium sordellii* (Sheep and Camel) strains were killed at 100 °C when boiled for 80 minutes. *Clostridium sordellii* cattle resisted temperatures of 100 °C for 80 minutes.

Agglutination test

Clostridium sordellii (Sheep) strain agglutinated its homologous antisera at a titre of 1/256. *C. sordellii* cattle strain agglutinated its homologous antisera at a titre of 1/256. *C. sordellii* camel strain agglutinated its homologous antisera at a titre of 1/16.

Immunodiffusion test

Clostridium sordellii (sheep, cattle and camel) strains were found to be identical according to the precipitation lines obtained.

The percentages of fatty acids produced by *C. sordellii* and *C. novyi* strains are shown in table III.

TABLE III Percentage of fatty acids produced by *Clostridium sordellii* and *Clostridium novyi* strains.

Strain	Fatty acids						
	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	Isovaleric acid	Valeric acid	Isocaproic acid	Caproic acid
<i>C. sordellii</i> (sheep)	60.00	13.39	4.28	6.25	—	16.67	—
<i>C. sordellii</i> (cattle)	41.20	1.63	50.50	—	—	6.9	—
<i>C. sordellii</i> (camel)	76.40	4.96	2.23	—	—	16.40	—
<i>C. novyi</i> A	27.48	0.61	68.86	—	—	1.40	—
<i>C. novyi</i> B	16.93	1.31	76.64	—	—	5.10	—

— : not present.

DISCUSSION

Regarding the fatty acids pattern produced by the strains *C. novyi* type A and *C. novyi* type B, we found that the two strains produced acetic acid, small amount of propionic acid and isocaproic acid. *C. novyi* strains were found to produce the same acids by BROOKS and MOORE (4) and HOLDMAN and MOORE (8), but they differ in their production of valeric acid instead of isocaproic acid. Since the two strains produce the same fatty acid pattern, it is impossible to differentiate between the two organisms using the GLC fatty acid pattern. The only method to differentiate between them is by using the Nagler's reaction, the two strains were found to produce lecithinase that can be inhibited by *C. novyi* type A antisera in case of *C. novyi* type A, but was not inhibited by the same antisera in case of *C. novyi* type B. Regarding the other biochemical properties *C. novyi* type B was found to be nitrate negative and does not produce pearly layer. Comparing the haemolytic activity of the two strains, *C. novyi* type A was found to be more haemolytic than *C. novyi* type B. On sheep RBC, *C. novyi* type A showed a minimum haemolytic dose of 32, compared with 4 for *C. novyi* type B. On horse RBC *C. novyi* type A showed a minimum haemolytic dose of 4 compared with 2 for *C. novyi* type B. Both strains were found to resist a temperature up to 100 °C for 75 minutes.

Immunodiffusion test conducted in different antisera prepared in rabbits using the three strains, against the three antigens, showed that there was a cross reaction between the three strains and that they were identical.

Regarding their GLC fatty acid pattern, the three strains were found to produce different patterns; that of *C. sordellii* (Sheep) consisted of a large number of acids; it includes a high percentage of acetic acid and slightly low propionic acid, butyric acid, isovaleric acid, isocaproic acid. BROOKS *et al.* (3), HOLDMAN and MOORE (8) extracted acetic acid, propionic acid, butyric acid, isobutyric acid, isovaleric acid and isocaproic acid from *C. sordellii* culture. In our results, isobutyric acid was not detected because the peak of isobutyric acid coincides with that of propionic acid.

The GCL fatty acid pattern produced by the *C. sordellii* (Camel) strain resembles that of *C. sordellii* (Sheep) strain. In the major peaks produced, it produces acetic acid, propionic acid, isovaleric acid and isocaproic acid. Those findings agree with those of SEIFERT *et*

al. (10), who found that *C. sordellii* strains to produce acetic acid, isobutyric acid, isovaleric acid and isocaproic acid (the peak in our chromatogram, tentatively identified as propionic acid, may be isobutyric acid because they have the same elution time).

The GCL fatty acid pattern of *C. sordellii* (Cattle) strain was different from those of *C. sordellii* (Sheep) and *C. sordellii* (Camel). In the ratio of the peaks, here we found high percentage of acetic acid and butyric acid and only small amount of propionic acid and isocaproic acid; this chromatogram resembles that of *C. novyi* strains although biochemically the organism produced lecithinase that can be inhibited by antisera against *C. perfringens* (A) and *C. novyi* (A), did not produce pearly layer but did produce colonies, morphological characteristics of that of *C. sordellii* (5, 12). Although this strain was found to be indole negative when we tested the pathogenicity of *C. sordellii* (Sheep) and (Cattle) strains, they were found to be non pathogenic to mice. *C. novyi* type (A) and *C. novyi* type (B) were found to be pathogenic only when they were injected in higher doses.

On studying the properties of *C. sordellii* strains we found that the three strains, *C. sordellii* (Camel), *C. sordellii* (Cattle) and *C. sordellii* (Sheep) showed slight differences in their biochemical properties. *C. sordellii* (Camel) showed less fermentation activity for maltose and sucrose and the two strains *C. sordellii* (Camel) and *C. sordellii* (Cattle) were indole negative. However, even with known stock strains, the results of biochemical tests for *Clostridia* are often irregular and must be repeated several times before they can be accepted (16).

On testing the haemolytic of the three strains, strain *C. sordellii* (Cattle) was found to be more haemolytic than the other two strains. Camel erythrocytes were found to be more resistant to the haemolytic activity of *C. sordellii* strains than sheep or horse erythrocytes. The haemolysin produced by individual anaerobic species are not equally active against erythrocytes of animals (15). The agglutination titres obtained from testing individual rabbit serum, using the haemologous *C. sordellii* antigen were 256 for *C. sordellii* (Sheep), 256 for *C. sordellii* (Cattle) and 16 for *C. sordellii* (Camel).

Regarding other properties, the spores of *C. sordellii* (Camel) and *C. sordellii* (Sheep) were killed in 80 minutes at 100 °C. *C. sordellii* (Cattle) strain resists temperature of 100 °C for 80 minutes.

On gas liquid chromatography, *Clostridium novyi* (A) and *C. novyi* (B) produced the same pattern of fatty acids. *Clostridium novyi* (A) was found to be more haemolytic for the sheep, horse and camel erythrocytes than *C. novyi* (B). The strains of *C. sordellii* tested, showed slight differences in their biochemical properties. *Clostridium sordellii* (Cattle) was found to be more haemolytic than the camel and sheep strains. Spores of the cattle strain were found to be more resistant to heat than the camel and sheep strains. Immunodiffusion studies proved that the three strains of *C. sordellii* are identical. On consulting GLC chromatogram, camel and sheep strains produced acetic acid, propionic acid and isocaproic acids. *Clostridium sordellii* (Cattle) produced higher percentages of acetic and butyric acids, but only a small amount of propionic acid and isocaproic acid. *Key words* : Cattle - Sheep - Camel - *Clostridium sordellii* - *Clostridium novyi* - Fatty acid.

La cromatografía en fase gaseosa evidenció la misma imagen de ácidos grasos para *Clostridium novyi* (A) y *Clostridium novyi* (B). Fue más hemolítico *C. novyi* (A) que *C. novyi* (B) para los eritrocitos de la oveja, del caballo y del dromedario. Las cepas de *C. sordellii* sometidas a prueba mostraron diferencias muy reducidas de las características bioquímicas. *C. sordellii* (bovina) fue más hemolítica que las cepas ovinas y de dromedario. Las esporas de *C. sordellii*, cepas bovinas, fueron más resistentes al calor que las cepas ovinas y de dromedario. Según estudios en inmunodifusión, las tres cepas de *C. sordellii* son ligadas antigenicamente. Los cromatogramas de las cepas ovinas y de dromedario revelaron ácido acético, ácido propiónico y ácido isocaproico. *C. sordellii* produjo un porcentaje elevado de ácido acético y de ácido butírico, pero una cantidad reducida de ácido propiónico y de ácido isocaproico. *Palabras claves* : Bovino - Ovino - Dromedario - *Clostridium sordellii* - *Clostridium novyi* - Acido graso

REFERENCES

1. ABU-SAMRA (M. T.), EL SANOUSI (S. M.), IDRIS (S. O.), BAGADI (H. O.), A. SALAM (I. S.), ALI (B. H.), MUSA (B. E.). Infectious necrotic hepatitis (Black disease) among Sudanese sheep. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1984, **37** (4) : 422-429.
2. AL MASHAT (R. R.), TAYLOR (D. J.). Bacteria in enteric lesion of cattle. *Vet. Rec.*, 1983 a, **112** : 5-10.
3. BROOKS (J. B.), DOWELL (V. R.), FARSHY (D. C.), ARMPFIELD (A. Y.). Further studies on the differentiation of *Clostridium sordellii* from *Clostridium bifermentans* by gas chromatography. *Can. J. Microbiol.*, 1970, **16** : 1071-1078.
4. BROOKS (J. B.), MOORE (W. F. C.). Gas chromatographic analysis of amines and other compounds produced by several species of *Clostridium*. *Can. J. Microbiol.*, 1969, **15** : 1433-1447.
5. BUCHANAN (R. E.), GIBBONS (N. E.), COWAN (S. T.), HALT (J. G.), LISTON (J.), MURRAY (R. G. E.), NIVEN (C. F.), RAVIN (A. W.), STANIER (R. Y.). Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th. ed. Baltimore, MD, USA, Williams and Wilkins, 1974.
6. CLARK (F. E.), HALL (I. C.). A comparative study of *B. bifermentans* (Tiessier and Martelly), *B. contro sporogenes* (Hall) and certain closely related proteolytic anaerobes. *J. Bact.*, 1937, **33** : 23-24.
7. GAMEEL (A. A.), EL SANOUSI (S. M.), MOUSA (B.), EL OWNI (E. E.). Association of *Clostridium perfringens* type A *Clostridium sordellii* and *Aeromonas hydrophilia* with haemorrhagic enteritis in camels (*Camelus dromedarius*). *Small Ruminant and Camel Research Group Document*, 1986, **12** : 50-55.
8. HOLDMAN (L. V.), MOORE (W. E. C.). Anaerobe laboratory manual. 3rd ed. Virginia, USA, The Virginia polytechnic Institute and State University, Black Surg, 1975.
9. LEWIS (G. M.), MACFARLANE (M. G.). The lecithinase of *C. bifermentans* toxin. *Biochem. J.*, 1953, **54** : 138-142.
10. SEIFERT (H. S. H.), RIEKE (K.), BOHNEL (H.). Differentiation of pathogenic clostridia from field material and from reference strains with the aid of the biometric analysis of quantitatively studied metabolic fatty acids patterns of the pathogen. *Anim. Res. Dev.*, 1982, **12** : 60-89.
11. SORDELLII (A.). Un anaérobie agent de gangrène gazeuse. *C. r. Séanc. Soc. Biol.*, 1922, **87** : 838.
12. STERNE (M.), BATTY (I.). Pathogenic *Clostridia*. London and Boston, Butterworth and Co. Ltd., 1975.
13. STEWART (S. E.). The titration of bifermentans antitoxin and the relationship between *C. bifermentans* and *C. sordellii*. *J. Bact.*, 1938, **35** : 13-14.
14. TATAKI (H.), HUET (M.). Valeur du test de l'uréase pour la différenciation de *C. sordellii* et *C. bifermentans*. *Annls Inst. Pasteur, Paris*, 1953, **84** : 890-894.
15. WILLIS (A. T.). Anaerobic infection. London, Publ. Hlth lab. services, H.M.S.O., 1972. (Monograph series).
16. WILSON (G. S.), MILES (A. A.). Topley and Wilson's principles of bacteriology and immunity. 4th ed. London, Edward Arnold Ltd., 1961.

La coccidiose du poulet de chair au Burkina. I. Pathogénicité de l'infection expérimentale à *Eimeria tenella*

P. E. Palo¹

PALO (P. E.). La coccidiose du poulet de chair au Burkina. I. Pathogénicité de l'infection expérimentale à *Eimeria tenella*. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 253-258.

L'auteur étudie expérimentalement la pathogénicité d'une souche de *Eimeria tenella* isolée chez les poulets de chair. Des coquelets de chair âgés de 10 jours ont été infectés soit avec 25 000 soit avec 80 000 oocystes provenant de cette souche. Six jours après l'infection, des différences significatives ont été observées pour le gain de poids corporel, l'hématocrite, l'intensité des lésions du caecum et la mortalité entre les animaux témoins et ceux des lots infectés. Aucune différence significative ne fut par contre observée ni sur l'indice de consommation, ni pour les facteurs étudiés, entre les lots infectés avec 25 000 oocystes et avec 80 000 oocystes. En testant l'immunité de certains lots par une seconde infection, 13 jours après la première, il fut observé une réduction significative de l'importance des lésions du caecum et de la mortalité. Dans une 2ème partie l'auteur se propose de comparer le pouvoir pathogène de la souche, après identification, à celui des souches déjà connues de divers laboratoires. **Mots clés :** Poulet - Coccidiose - Infection expérimentale - *Eimeria tenella* - Immunité - Pathogénicité - Burkina.

INTRODUCTION

La coccidiose du poulet est une affection fréquemment rencontrée dans les élevages dits de type moderne au Burkina. Cette condition est favorisée par l'élevage sur litière épaisse et surtout par le non-respect des normes de prophylaxie et d'hygiène. L'aliment distribué aux volailles ne contient pas d'anticoccidien et à l'heure actuelle, le traitement curatif est la principale action contre cette affection. Au plan économique, la coccidiose chronique est la maladie la plus importante et parmi les neuf espèces qui peuvent infecter le poulet, *Eimeria tenella* est la plus pathogène. Elle est à l'origine de pertes parfois considérables.

Le présent travail évalue expérimentalement la pathogénicité et l'immunité à la réinfection d'une souche de *E. tenella* isolée chez le poulet de chair lors d'un cas de coccidiose sur le terrain. En plus des lésions du caecum et du taux de mortalité, l'hématocrite, les

gains de poids corporel et l'indice de consommation ont été examinés, tous étant des facteurs qui présentent un intérêt direct lorsqu'on compare les infections à *E. tenella* avec celle des lots témoins.

MATERIEL ET METHODES

Poussins

Des poussins de chair mâles âgés de 10 jours et élevés dans un environnement surveillé, pour éviter toute infection étrangère avec des coccidies, ont été individuellement pesés, identifiés et répartis selon le poids corporel pour constituer 15 lots homogènes de 6 poussins par lot. Chaque lot fut assigné à l'un des compartiments d'une éleveuse en batterie de type PETERSIME. Un aliment équilibré et de l'eau de boisson dépourvus de tout médicament furent servis durant toute la période expérimentale.

Oocystes de coccidies

Les oocystes utilisés ont été à l'origine récoltés à partir des caecums d'un poulet de chair. Les lésions à l'autopsie étaient caractéristiques d'une infection à *Eimeria tenella*. Le diagnostic fut confirmé en utilisant des techniques déjà décrites par certains auteurs (1, 5, 9, 10) pour l'identification des différentes espèces. Une culture pure d'oocystes fut ensuite obtenue par la méthode de LONG *et al.* (9) en inoculant 10 poulets de chair âgés de 3 semaines avec des doses de 500 oocystes par poulet. Les fèces ont été récoltées 7 jours après l'infection et il a été procédé à la purification des oocystes et à leur comptage (9). Les poussins ont été inoculés oralement suivant la méthode décrite par LONG *et al.* (9).

Protocole expérimental

Des groupes de 18 poussins répartis chacun en 3 lots de 6 ont été affectés par choix aléatoire à chaque expérience, un lot supplémentaire servant au contrôle.

1. Institut du Développement Rural, Département d'Elevage, BP 7021, Ouagadougou, Burkina.

P. E. Palo

Expérience 1 :

Pas d'inoculation au jour 1

Inoculation avec 80 000 oocystes au jour 13

Expérience 2 :

Inoculation avec 25 000 oocystes au jour 1

Pas d'inoculation au jour 13

Expérience 3 :

Inoculation avec 25 000 oocystes au jour 1

80 000 oocystes au jour 13

Expérience 4 :

Inoculation avec 80 000 oocystes au jour 1

80 000 oocystes au jour 13.

Cinq jours après la première inoculation, tous les poussins furent individuellement pesés et des prélèvements de sang effectués pour la détermination de l'hématocrite par la méthode de JOHNSON (4). Deux poussins provenant de chaque lot furent ensuite sacrifiés pour l'examen des lésions des caecums. Les lésions furent classées suivant leur degré de sévérité par la méthode de JOHNSON et REID (3) qui distingue l'importance des lésions suivant une échelle allant de 0 (valeur qui correspond à une absence totale de lésions) à 4 (figure qui traduit la présence des lésions pathogènes les plus sévères).

Dans les cas d'infections avec *E. tenella*, les critères suivants sont examinés pour le classement des lésions : importance numérique des pétéchies, intégrité de la muqueuse cécale, présence de sang et de contenu caséux dans les caecums.

Au septième jour de l'expérience, des mesures identiques à celles effectuées au jour 5 furent réalisées mais cette fois sur un seul poussin par lot pour l'examen des lésions. Il fut procédé à la récolte des contenus des caecums des poulets infectés et à la purification des oocystes.

Treize jours après l'infection, les lots assignés aux expériences 3 et 4 furent inoculés avec 80 000 oocystes dans le but de tester leur immunité à la réinfection. Au cinquième et au septième jour après cette seconde inoculation, des prélèvements de sang furent effectués pour la détermination de l'hématocrite et les poussins pesés individuellement puis sacrifiés pour l'examen des lésions cécales. Les quantités d'aliments consommées furent déterminées lors de chaque pesée et l'indice de consommation calculé à partir des gains de poids et de la quantité d'aliments ingérés. Les mortalités furent également enregistrées durant toute la période expérimentale.

Analyse statistique

Les données recueillies furent soumises à l'analyse de la variance et les différences entre les moyennes des expériences déterminées par le test de DUNCAN (2) au seuil de 5 p. 100.

RESULTATS

Signes cliniques

Gain de poids corporel et indice de consommation

TABLEAU I Effet de différentes doses d'oocystes de *E. tenella* sur le gain moyen de poids corporel (grammes) et l'indice moyen de consommation.

Expériences	Gain moyen de poids corporel			Indice moyen de consommation	
	5 jours après l'infection	13 jours après l'infection	19 jours après l'infection	5 jours après l'infection	19 jours après l'infection
1. Pas d'inoculation au jour 1 80 000 oocystes au jour 13	103 ^a	183 ^a	145 ^a	1,49 ^a	1,48 ^a
2. 25 000 oocystes au jour 1 Pas d'inoculation au jour 13	- 16 ^b	30 ^{ab}	49 ^a	2,91 ^a	1,98 ^a
3. 25 000 oocystes au jour 1 80 000 oocystes au jour 13	- 8 ^b	22 ^b	21 ^a	2,35 ^a	1,88 ^a
4. 80 000 oocystes au jour 1 80 000 oocystes au jour 13	31 ^{ab}	100 ^{ab}	84 ^{ab}	2,41 ^a	1,89 ^a
Lots témoins	99 ^a	162 ^{ab}	225 ^a	1,50 ^a	1,50 ^a

Les moyennes d'une colonne portant la même lettre ne sont pas significativement différentes ($P < 0,05$).

Au début de l'expérience, les différences de poids corporel entre les différents lots étaient minimales. Cinq jours après l'inoculation, des différences significatives pour le gain moyen de poids corporel ont été observées entre les lots témoins et les lots qui avaient été inoculés avec 25 000 oocystes. L'analyse statistique n'a pas révélé de différence significative entre les lots témoins et les lots qui avaient été infectés avec 80 000 oocystes ; cependant ceux-ci ont montré un gain de poids nettement inférieur (31 g) à celui des lots témoins (99 g). Des différences non significatives ont été observées entre les lots infectés avec 25 000 et ceux infectés avec 80 000 oocystes (Tabl. I).

Treize jours après l'inoculation, les lots infectés avec 25 000 oocystes montraient encore un gain moyen de poids inférieur à celui des lots témoins ; toutefois, la différence n'était plus statistiquement significative. Six jours après la seconde inoculation, aucune différence significative n'a été observée entre les différentes expériences.

Les lots témoins ont montré un indice de consommation d'aliments plus bas que celui des lots infectés avec 25 000 ou 80 000 oocystes durant toute la période expérimentale ; toutefois, les différences observées n'ont pas été significatives.

Hématocrite

Cinq jours après la première infection, des différences significatives ont été observées entre les lots témoins et les lots infectés, soit avec 25 000, soit avec 80 000 oocystes (Tabl. II). Les lots infectés ont présenté une valeur d'hématocrite sensiblement inférieure à celle des lots témoins.

L'analyse statistique n'a pas révélé de différence

significative entre les lots infectés avec 25 000 ou 80 000 oocystes. Au septième jour de l'expérience, il n'existait plus de différence significative entre les lots témoins et les lots infectés. De même, après la seconde infection, il n'a pas été observé de différence significative entre les différentes expériences.

Lésions

Les lésions cécales ont été classées selon leur degré de sévérité suivant une échelle allant de 0 à 4. Les résultats consignés dans le tableau III représentent des moyennes arithmétiques obtenues à partir des valeurs chiffrées (0, 1, 2, 3 ou 4) attribuées aux lésions cécales observées chez les poulets soumis à une même expérience.

Cinq jours après la première infection, des différences significatives ont été observées entre les lots témoins et les lots infectés avec 25 000 ou 80 000 oocystes. Les lots témoins ont présenté des lésions moins sévères que celles des lots infectés. Par contre, aucune différence significative n'a été observée entre les lots infectés avec 25 000 ou 80 000 oocystes. Au dix-neuvième jour de l'expérience, les lots infectés avec 25 000 ou 80 000 oocystes, respectivement aux jours 1 et 13, ont présenté des lésions significativement moins sévères (0,88) que celle des lots infectés uniquement au jour 13 avec 80 000 oocystes (2,75). Les lots infectés avec 80 000 oocystes, respectivement au premier et au treizième jour de l'expérience, ont montré des lésions significativement moins sévères (1,34) que celles des lots infectés uniquement au jour 13 avec 80 000 oocystes (2,75). Des différences significatives n'ont pas été observées entre les lots témoins (0,00) et les lots infectés avec 25 000 et 80 000 oocystes respectivement aux jours 1 et 13 (0,88).

TABLEAU II Effet de différentes doses d'oocystes de *E. tenella* sur la valeur moyenne de l'hématocrite.

Expériences	Valeur moyenne de l'hématocrite			
	5 jours après la 1 ^{re} infection	7 jours après la 1 ^{re} infection	13 jours après la 1 ^{re} infection	5 jours après la seconde infection
1. Pas d'inoculation au jour 1 80 000 oocystes au jour 13	24,50 ^a	22,66 ^a	23,50 ^a	27,50 ^a
2. 25 000 oocystes au jour 1 Pas d'inoculation au jour 13	14,33 ^b	22,50 ^a	29,66 ^a	28,50 ^a
3. 25 000 oocystes au jour 1 80 000 oocystes au jour 13	19,00 ^b	23,00 ^a	25,33 ^a	27,33 ^a
4. 80 000 oocystes au jour 1 80 000 oocystes au jour 13	17,00 ^b	20,00 ^a	23,33 ^a	29,66 ^a
Lots témoins	25,66 ^a	29,00 ^a	28,50 ^a	27,00 ^a

Les moyennes d'une colonne portant la même lettre ne sont pas significativement différentes ($P < 0,05$).

TABLEAU III Effet de différentes doses d'oocystes de *E. tenella* sur le degré de sévérité * des lésions cécales et le taux de mortalité.

Expériences	Lésions cécales		Taux de mortalité	
	5 jours après la 1 ^{re} infection	6 jours après la seconde infection	0 - 13 jours	14 - 19 jours
1. Pas d'inoculation au jour 1 80 000 oocystes au jour 13	0,17 ^b	2,75 ^a	0,0 ^b	5,6 ^a
2. 25 000 oocystes au jour 1 Pas de seconde inoculation	3,19 ^a	1,00 ^b	28,8 ^a	5,0 ^a
3. 25 000 oocystes au jour 1 80 000 oocystes au jour 13	2,50 ^a	0,88 ^{bc}	19,3 ^a	2,9 ^b
4. 80 000 oocystes au jour 1 80 000 oocystes au jour 13	2,38 ^a	1,34 ^b	8,9 ^b	2,2 ^b
Lots témoins	0,14 ^b	0,00 ^c	0,0 ^b	0,0 ^b

Les moyennes d'une colonne portant la même lettre ne sont pas significativement différentes ($P < 0,05$).

* Les chiffres des 2 premières colonnes représentent des moyennes arithmétiques obtenues après classement des lésions cécales selon leur degré de sévérité suivant une échelle comprise entre 0 et 4.

Mortalité

Les résultats sur la mortalité sont présentés dans le tableau III. Entre le premier et le treizième jour de l'expérience, il a été observé une différence significative entre les lots témoins et les lots infectés avec 25 000 oocystes au jour 1. Des différences significatives n'ont pas été observées entre les lots témoins et les lots infectés avec 80 000 oocystes. Toutefois, aucune mortalité n'a été enregistrée chez les lots témoins durant toute la période expérimentale. Entre le 13^e et le 19^e jour de l'expérience, les lots infectés uniquement au jour 13 avec 80 000 oocystes ont montré un taux de mortalité significativement plus élevé (5,6 p. 100) que celui des lots infectés avec 80 000 oocystes aux jours 1 et 13 (2,2 p. 100). Des différences non significatives ont été observées entre les lots infectés respectivement au premier et au 13^e jour avec 80 000 oocystes (2,2 p. 100) et les lots infectés avec 25 000 oocystes au jour 1 et avec 80 000 oocystes au jour 13 (2,9 p. 100). Les lots infectés avec 25 000 et 80 000 oocystes respectivement aux jours 1 et 13 ont présenté un taux de mortalité significativement plus bas (2,9 p. 100) que celui des lots infectés avec 80 000 oocystes uniquement au jour 13 (5,6 p. 100).

Les lots infectés uniquement au jour 1 de l'expérience avec 25 000 oocystes ont montré un taux de mortalité significativement plus élevé (28,8 p. 100) que celui des lots infectés uniquement au jour 13 avec 80 000 oocystes (5,6 p. 100).

DISCUSSION

La présente communication évalue le pouvoir pathogène d'une souche non identifiée de *Eimeria tenella*. Il n'a pas été possible au cours du présent travail de faire des comparaisons avec des souches connues de laboratoire ; cependant, les signes cliniques ont été similaires à ceux classiquement décrits par tous les auteurs. Les résultats montrent en effet une réduction marquée du gain moyen de poids, et même, une perte de poids corporel qui ont été observées entre le 4^e et le 7^e jour après l'infection ; ensuite, le gain a été similaire à celui des lots témoins. Cette remarque est en accord avec les résultats de LONG (6) ; cependant, cet auteur a montré en plus que les oiseaux affectés atteignent leur poids normal en l'absence de toute réinfection après 28 jours. Cette étude confirme aussi le fait que les jeunes poulets sont plus sensibles à la coccidiose. Ainsi, les lots inoculés avec 25 000 oocystes uniquement au jour 1 de l'expérience ont montré un taux de mortalité plus élevé (28,8 p. 100) que celui des lots inoculés avec 80 000 oocystes uniquement au jour 13 (5,6 p. 100). Bien qu'aucune différence significative n'ait été observée pour le taux de mortalité entre les lots témoins et les lots infectés avec 80 000 oocystes, il est intéressant de mentionner qu'aucune mortalité n'a été enregistrée chez les lots témoins durant toute la période expérimentale. L'analyse statistique a révélé des différences non significatives pour le gain moyen de poids corporel 5 jours après l'infection entre les lots témoins et les lots infectés

avec 80 000 oocystes ; néanmoins, on a remarqué que les lots témoins ont présenté un gain moyen nettement plus élevé (99 g) que celui des lots infectés avec 80 000 oocystes (31 g). De même, aucune différence significative n'a été observée pour l'indice de consommation entre les lots infectés et les lots témoins ; mais là encore, les lots témoins ont montré un indice de consommation nettement moins élevé que celui des lots infectés (Tabl. I).

Les modifications hématologiques observées dans cette étude ont été limitées à une réduction marquée du nombre d'érythrocytes chez les lots infectés au 5e jour après l'infection ; ensuite, la valeur de l'hématocrite a été similaire à celle des lots témoins. Aucune différence significative n'a été observée entre les lots infectés avec 25 000 ou 80 000 oocystes. De nombreux auteurs dont LONG (7, 9) ont montré que la sévérité des infections dues aux coccidies chez les animaux dépend entre autres facteurs de la dose d'oocystes sporulés ; cependant, il n'a pas été possible de montrer ici de façon nette une différence pour la sévérité de l'infection entre les lots infectés avec 25 000 ou 80 000 oocystes. Ainsi, aucune différence significative n'a été observée pour les gains de poids corporel, l'hématocrite, les lésions cécales et le taux de mortalité entre les lots infectés avec soit 25 000 soit 80 000 oocystes.

Concernant l'acquisition de l'immunité anti-coccidiale après une infection active, il a été suggéré (8) qu'il existe au moins 3 formes d'immunité à *E. tenella* : les poulets peuvent être immunisés de sorte qu'ils deviennent totalement résistants au parasite et aucun développement n'a lieu ; ou alors les poulets peuvent devenir résistants au parasite, de telle sorte qu'aucune lésion n'est observée, cependant des oocystes sont expulsés ; ou enfin les poulets peuvent être résistants aux signes cliniques de la maladie malgré la présence de lésions sévères.

PALO (P. E.). Chickens coccidiosis in Burkina. I. The pathogenicity of experimental infection with *Eimeria tenella* in broiler chickens. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 253-258.

The pathogenicity of an isolate of *Eimeria tenella* recovered from a field outbreak of coccidiosis was investigated in broiler chickens. Ten day old broiler cockerels were infected with either 25,000 or 80,000 oocysts. At 6 days post infection, significant differences were observed between uninfected control birds and infected birds for body weight gain, blood packed cell volume, cecal lesion scores and mortality, while no effect on feed conversion ratio was noted. Significant differences were not observed between chickens challenged with 25,000 oocysts and those infected with 80,000 oocysts for the factors studied. Testing for immunity by a second challenge, 13 days after the first infection, it was observed a significant reduction in mortality percentage and cecal lesion scores. An attempt to identify the isolated strain is under way and the results will be presented in a second communication. **Key words** : Chicken - Experimental coccidiosis - *Eimeria tenella* - Immunity - Pathogenicity - Burkina.

Bien que le nombre d'oocystes rejetés n'ait pas été déterminé, il est démontré que l'acquisition de l'immunité par rapport à la première série d'infections s'est manifestée par une baisse du taux de mortalité et par la présence de lésions cécales moins sévères ; cependant, aucune différence n'a été observée entre les lots testés pour l'immunité avec 25 000 ou 80 000 oocystes. Il est bien connu que l'immunité se perd avec le temps et que sa durée dépend du mode d'immunisation et de l'âge du sujet quand l'inoculum immunisant est administré.

LONG (7) a montré qu'un obstacle à la compréhension du processus de la maladie tient au fait que l'on utilise une dose massive unique d'oocystes lors des infections expérimentales. Cette procédure est en effet suivie pour des raisons de convenance dans l'étude des effets pathogéniques mais elle ne reflète pas la réalité des relations qui existent entre l'hôte et le parasite.

CONCLUSION

Une souche de *E. tenella* a été mise en évidence chez un poulet de chair au Burkina. On a testé expérimentalement le pouvoir pathogène et l'immunité à la réinfection de la souche en question en inoculant des poussins de chair avec des doses de 25 000 ou 80 000 oocystes. Les signes cliniques observés ont été similaires à ceux déjà décrits par d'autres auteurs. Des recherches complémentaires sont en cours et ont pour objet d'identifier cette souche et de comparer son pouvoir pathogène à celui de souches connues de laboratoire. Elles feront l'objet de la seconde partie de ce travail.

PALO (P. E.). La coccidiosis del pollo en Burkina. I. Patogenicidad de la infección experimental con *Eimeria tenella*. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 253-258.

El autor estudia experimentalmente la patogenicidad de una cepa de *Eimeria tenella* aislada en los pollos de cría. Se infectaron sea con 25 000 sea con 80 000 oocistos de esta cepa gallitos de 10 días de edad. Seis días después de la infección, se observaron diferencias significativas del aumento de peso corporal, del hematocrito, de la intensidad de las lesiones del intestino ciego y de la mortalidad entre los animales testigos y los grupos infectados. En cambio, no se notó ninguna diferencia significativa del índice de consumo y de los factores estudiados entre los grupos infectados con 25 000 y 80 000 oocistos. Al comprobar la inmunidad de algunos grupos mediante una segunda infección, 13 días después de la primera, se observó una reducción significativa de la importancia de las lesiones del intestino ciego y de la mortalidad. En una segunda parte, el autor se propone comparar el poder patógeno de la cepa, después de identificación, con el de las cepas ya conocidas de varios laboratorios. **Palabras claves** : Pollo - Coccidiosis - Infección experimental - *Eimeria tenella* - Inmunidad - Patogenicidad - Burkina.

BIBLIOGRAPHIE

1. BEKER (E. R.). Measurements of the unsporulated oocysts of *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella* and *E. mitis* : coccidia parasites of domestic fowl. *Iowa St. Coll. J. Sci.*, 1956, **31** : 85.
2. DUNCAN (D. B.). Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, 1955, **11** : 1-42.
3. JOHNSON (J.), REID (W. M.). Anticoccidial drugs : lesions scoring techniques in battery and floor pen experiments with chickens. *Expl Parasit.*, 1970, **28** : 30-36.
4. JOHNSON (P. M.). Hematocrit values for the chicken embryo at various age. *Am. J. Phys.*, 1955, **180** : 361-362.
5. JOYNER (L. P.), LONG (P. L.). The specific characters of *Eimeria* with special reference to coccidia of fowl. *Avian Path.*, 1964, **3** : 145-157.
6. LONG (P. L.). The coccidia. Baltimore, MD, USA, University Park Press, 1973.
7. LONG (P. L.). Biology of coccidia. Baltimore, MD, USA, University Park Press, 1982.
8. LONG (P. L.), JOHNSON (J.), WYATT (R. D.). *Eimeria tenella* : clinical effects in partially immune and susceptible chickens. *Poult. Sci.*, 1980, **59** : 2221-2224.
9. LONG (P. L.), JOYNER (L. P.), MILLARD (B. J.), NORTON (C. C.). A guide for laboratory technique used in the study and diagnosis of avian coccidia. *Folia vet. lat.*, 1976, **6** : 201-207.
10. TYZZLER (E. E.). Methods for isolating and differentiating species for *Eimeria* occurring in gallinaceous birds. *J. Parasit.*, 1929, **15** : 148-149.

V. Shkap¹
E. Pipano¹
H. Ungar-Waron¹

Besnoitia besnoiti* : chemotherapeutic trials *in vivo* and *in vitro

SHKAP (V.), PIPANO (E.), UNGAR-WARON (H.). *Besnoitia besnoiti* : essais chimiothérapeutiques *in vivo* et *in vitro*. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 259-264.

L'efficacité thérapeutique des sulfonamides, de la pyriméthamine, du triméthoprim, du lactate d'halofuginone, de l'oxytétracycline, de l'acéturate de diminazène et de la pentamidine a été examinée *in vivo* lors d'une infection expérimentale fatale à *Besnoitia besnoiti* chez des mérions (*Meriones tristami shawii*). Une protection complète de l'animal a été obtenue avec une seule dose d'oxytétracycline à longue action injectée par voie intramusculaire à raison de 200 mg/kg, alors qu'un taux de survie de 50 p. 100 a été observé à la dose de 20 mg/kg. Le traitement à l'oxytétracycline soluble à raison de 25 mg/kg pendant 9 jours consécutifs, a donné des résultats allant jusqu'à 76 p. 100 de survie. Les autres médicaments n'ont pas été efficaces. Dans les expériences *in vitro*, l'oxytétracycline a été totalement inactive sur les endozoïtes *B. besnoiti*. Le lactate d'halofuginone seul, chimiquement lié ou mélangé aux immunoglobulines provenant de veaux sains, ou infectés par *Besnoitia*, a été examiné *in vitro* dans des milieux de Vero infectés par *B. besnoiti*. Le pourcentage de cellules parasitées a été nettement réduit à 0,5 p. 100 pour les cultures traitées avec le médicament seul, après une incubation de 96 heures, alors que le pourcentage était de 54 p. 100 chez les cellules témoins non-traitées. La liaison ou le mélange d'halofuginone avec les anticorps réduit l'activité du médicament. Cependant, l'inhibition observée dans la multiplication des endozoïtes ne peut pas être attribuée à une activité spécifique anti-*Besnoitia*, puisque une réaction similaire a été obtenue avec des immunoglobulines provenant de bovins sains ou infectés par *Besnoitia*. **Mots clés** : Mérion - *Meriones tristami* - *Besnoitia besnoiti* - Besnoitiose - Chimiothérapie - Anticorps.

INTRODUCTION

Besnoitia besnoiti is a tissue cyst-forming coccidian protozoon causing besnoitiosis (5, 22). The disease is of considerable economic importance because of its high morbidity rate and resulting damage to the productivity of affected bulls, which often become sterile (2, 3, 16). Hitherto, there has been no noteworthy treatment described and no drugs have been found effectively controlling bovine besnoitiosis. Since experiments with cattle are costly, screening of drugs using small laboratory animals or cell cultures infected with *B. besnoiti* could aid in finding the proper drug and treatment schedules for the control of this disease in cattle. Gerbils (*Meriones tristami shawii*) and rabbits were found as suitable *in vivo* models for studies on bovine besnoitiosis (13, 16, 20).

1. Kimron Veterinary Institute, Beit-Dagan, P.O. Box 12, Israel.

In *in vitro* studies, Vero cultures (green monkey kidney cells) were proved to be a convenient substrate for the multiplication of *B. besnoiti* (4, 20). Preliminary studies on chemotherapy in experimentally induced *B. besnoiti* infection of laboratory animals were performed by SHKAP *et al.* (18, 19). This report presents an extended study exploring the therapeutic potency of various drugs *in vivo* in experimentally *Besnoitia*-infected gerbils and in Vero cell cultures *in vitro*.

MATERIALS AND METHODS

Parasites

B. besnoiti parasites primarily isolated from a naturally infected bull were maintained in Vero cell culture by serial passages as described by SHKAP *et al.* (20).

Animals

Gerbils (*Meriones tristami shawii*) 2-3 months old of both sexes used in all experiments were bred at the Kimron Veterinary Institute. Each gerbil was weighed before treatment in order to calculate the amount of drug to be administered.

Infection of gerbils

Groups of gerbils were inoculated intraperitoneally (i.p.) with 10⁷ culture-grown endozoïtes of *B. besnoiti* suspended in 0,5 ml phosphate buffered saline (PBS), pH 7.2. This inoculum, previously found as LD₁₀₀ for gerbils, was employed throughout all the *in vivo* experiments.

Drugs and treatments

Sulfonamides (sulfamerazine, sulfamezathine, sulfadoxine and sulfadiazine) alone and in combination with trimethoprim or pyriméthamine were given 48 hrs before induced infection either intramuscularly (i.m.), i.p. or *per os* (by stomach tube or in drinking water).

V. Shkap, E. Pipano, H. Ungar-Waron

Pyrimethamine and halofuginone lactate tablets of 25 mg and 50 mg respectively were freshly dissolved in 0.01N HCl, before use to a concentration of 2 mg/ml because of poor water-solubility of the drugs, and were subsequently brought to neutral pH.

The toxicity of halofuginone for gerbils was assessed before medication by oral administration at 1-30 mg/kg to 54 animals in 9 groups, 6 animals per group. Halofuginone was delivered directly into the stomach by a tube connected through 196 needle to a tuberculin syringe.

Water soluble oxytetracycline (OTC) was injected i.p. or i.m. for 9 successive days, while the long-acting formulation (OTC-LA) was given i.m. as a single dose.

In a separate experiment 30 gerbils were inoculated i.m. at 200 mg/kg with OTC-LA in order to determine serum drug concentrations. Blood samples were collected 0.5; 1; 2; 4; 8; 12; 24; 48; 56 and 72 hrs after treatment and OTC concentrations were determined according to BENNETT *et al.* (1).

Diminazene aceturate or pentamidine were injected concomitantly to *B. besnoiti* inoculation. The dosage and therapeutic regimens for all drugs used are given in tables I and III. For each drug tested, treated but non-infected gerbils (6 animals in each group) served as controls for drug-toxicity (not shown in the tables). In addition, infected non-treated gerbils were included as controls of induced infection. All animals were observed daily and the number of gerbils dying was recorded. Peritoneal washings of dying animals in each group were examined microscopically for presence of *B. besnoiti* endozoites.

In vitro experiments

Vero cells 4×10^5 per ml of culture medium were

seeded into Leighton tubes containing cover slips. About an hour later 4×10^5 *B. besnoiti* endozoites suspended in 1 ml medium containing various concentrations of OTC of halofuginone were added. Cover slips were removed from the tubes 24, 48, 72, 96 and 120 hrs after incubation, fixed in methanol and stained with Giemsa. The percentage of infected cells was determined by counting of 200 cells. Each time interval and drug concentration was represented by 3 separate tubes, and the entire experiment was repeated twice. Each value shown on figures 1 and 2 thus represents the average of 6 counts.

The antibesnoitic effect of halofuginone lactate chemically bound or mixed with immunoglobulins (Ig's) from *Besnoitia* infected or from healthy calves was examined in infected Vero cultures as described above.

Halofuginone lactate conjugation to anti-*B. besnoiti* immunoglobulins

Halofuginone was linked to Ig's obtained from a cow naturally infected with *B. besnoiti* and to the F(ab)'pepsin digest of the immunoglobulins. Conjugation of the drug to Ig's and the F(ab)'obtained from the serum of a control cow was concurrently carried out.

Ig's fractions were obtained by precipitation with ammonium sulfate at 40 p. 100 saturation and the F(ab)'fragments by pepsin digest according to NISONOFF *et al.* (14). Conjugation was carried out by means of the water-soluble carbodiimide reagent, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide hydrochloride (EDC) as described by GOODFRIEND *et al.* (8). An average of 10 p. 100 (W/W) binding of drug to protein was obtained for all conjugations.

TABLE I Effect of sulfonamides, pyrimethamine and trimethoprim on *B. besnoiti* infected gerbils (6-10 animals in each group).

Drug	Dose (mg/kg)	Route of administration	No. of treatments	Outcome	
				Percent survived	\bar{X} time to death (days)
SMR + SMT	80 + 80	p.o. (stomach tube)	5-7 (every 48 h)	0	8.7
SMR + SMT	80 + 80	i.m.	4 (every 48 h)	0	6.5
SMR + SMT	80 + 80	i.p.	4 (every 48 h)	0	6.3
SMR + SMT	80 + 80	i.p.	6 (daily)	0	6.3
SDZ	300	p.o. (drinking water)	2 weeks	16.6	11.6
PR	10	p.o. (stomach tube)	5-7 (every 48 h)	0	10.2
SMR + SMT + PR	80 + 80 + 10	p.o. (stomach tube)	4-7 (every 48 h)	0	6.6
SDX + TMP	20 + 4	i.p.	6 (daily)	0	5.6
SDX + TMP	20 + 4	i.m.	6 (daily)	0	6.0
None				0	6.2

SMR - Sulfamerazine, SMT - Sulfamezathine,
SDZ - Sulfadiazine, SDX - Sulfadoxine,
PR - Pyrimethamine, TMP - Trimethoprim.

Statistics

Data were statistically treated using Student's t-test (21).

RESULTS

Experiments *in vivo*

As shown in table I, the various sulfonamides either alone or in combination with pyrimethamine or trimethoprim administered at different concentrations and therapeutic regimens were not effective against *B. besnoiti* in gerbils. All treated animals died, except one in the group receiving sulfadiazine in drinking water. The sulfadiazine and pyrimethamine-treated animals lived longer, the mean survival time in these groups was 11,6 and 10,2 days respectively compared to 6,2 days in the non-treated controls.

TABLE II Toxicity of halofuginone lactate administered per os to gerbils with a stomach tube (6 gerbils in each group).

Dose mg/kg	Percent survived	Died on day
30	0	2
25	0	1-2
20	0	1-1
15	0	1-3
10	0	2-3
5	0	2-3
3	83.4	1
2	100	—
1	83.4	1

Since no information on the toxicity of halofuginone to gerbils was available, the therapeutic dose was chosen after a preliminary experiment in which gerbils received the drug in doses ranging between 1 and 30 mg/kg. As shown in table II, groups of non-infected gerbils receiving more than 5 mg/kg died within 1-2 days after receiving the drug. On the other hand, at doses of 1 to 3 mg/kg only 2 out of 18 gerbils died (11,1 p. 100). However, all *Besnoitia* infected gerbils treated with 3 mg/kg of halofuginone lactate died, the average survival time was 3,8 days.

All gerbils treated with diminazene aceturate or pentamidine died about the same time as non-treated controls (Table III). Large numbers of *Besnoitia* endozoites were found in the peritoneal washings of dying animals whether or not treated.

OTC injected daily for 9 successive days at 25 mg/kg resulted in the survival of 71.5 and 76 p. 100 of the i.p. or i.m. treated animals respectively. Long-acting OTC administered as a single dose of 20 mg/kg resulted in 50 p. 100 survival, while 100 p. 100 remained alive when treated with a single dose of 200 mg/kg.

Mean serum OTC levels in non-infected gerbils injected i.m. with a single dose of OTC-LA at 200 mg/kg were as follows in ($\mu\text{g/ml}$): 12.5 at 0.5 hr; 10 at 1 hr; 5 at 2 hrs; 1 at 4 hrs; 0.8 at 8 hrs and 0.08 at 12 hrs after treatment. At 24, 30, 48 and 56 hrs post treatment mean serum OTC concentrations ranged between 0.05 and 0.01 $\mu\text{g/ml}$. The drug was not detected in blood samples collected 72 hours after treatment.

Experiments *in vitro*

The effect of OTC on *Besnoitia*-infected Vero cells was examined after 24, 48, 72 and 120 hrs of incubation with 1, 10 and 100 μg of the drug per ml of culture media. The 200 μg OTC per ml level was apparently

TABLE III Effect of drugs upon *B. besnoiti* infected gerbils (6-10 gerbils in each group).

Drug	Dose (mg/kg)	Route of administration	No. of treatments and regimes	Outcome	
				Percent survived	\bar{X} time to death (days)
Diminazene aceturate	5	i.m.	2 (72h interval)	0	7.1
Pentamidine	10	i.m.	3 (every 48 h)	0	6.5
Halofuginone lactate	3	p.o. (stomach tube)	1 (with infection)	0	3.8
Oxytetracycline *	25	i.m.	9 (daily)	76	8.0
Oxytetracycline	25	i.p.	9 (daily)	71.5	6.5
Oxytetracycline - LA **	20	i.m.	1 (with infection)	50	7.6
Oxytetracycline - LA	200	i.m.	1 (with infection)	100	
None				0	6.2

* Water-soluble formulation.

** Long-acting formulation.

V. Shkap, E. Pipano, H. Ungar-Waron

toxic since the cells detached from the cover slips in control non-infected cultures. The rate of multiplication of *B. besnoiti* in OTC treated cultures was similar to that of non-treated controls irrespective of drug level and incubation time (Fig. 1). After 120 hrs of incubation about 80 p. 100 of non-treated cells were infected, while addition of the drug at 1 or 100 $\mu\text{g/ml}$ only slightly reduced the percentage of infection to 69 and 79 p. 100 respectively. According to the t-test the differences were not significant.

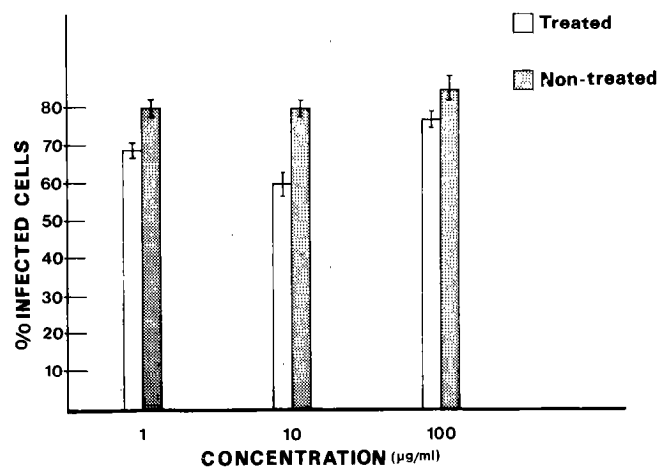


Fig. 1.: Effect of OTC upon *B. besnoiti*-infected Vero cells after 120 hrs of incubation.

The effect of halofuginone lactate in its various concentrations on *B. besnoiti*-infected Vero cells is shown in Fig. 2. After 24 hrs incubation with the drug alone only 8 p. 100 of cells were infected compared to 20 p. 100 in non-treated controls. At 48 hrs of incubation the percentage of infected cells in non-treated cultures increased from 20 to 40 p. 100, while in halofuginone treated cultures only 1 p. 100 of cells contained *Besnoitia* endozoites. As incubation with the drug was prolonged to 96 hrs the percentage of parasitized cells in control cultures increased to 54 p. 100, while only 0.5 p. 100 cells contained endozoites in halofuginone-treated cultures.

Antibodies chemically bound or mixed with the drug inhibited the multiplication rate of *B. besnoiti*. At 96 hrs, the longest incubation period, the percentage of infected cells was in the range of 15-19 p. 100, as compared to 54 p. 100 in the respective non-treated control cultures. As shown in figure 2 similar results were obtained when Ig's from serum of *Besnoitia*-infected or healthy cattle were used.

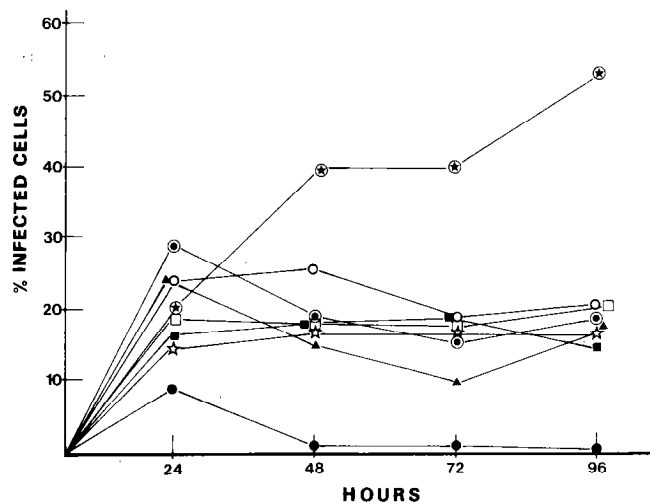


Fig. 2.: Effect of halofuginone lactate alone and in combination with antibodies on Vero cells infected with *B. besnoiti* endozoites.

- *Besnoitia*-infected cells, non-treated,
- halofuginone lactate,
- Ig's from a healthy cow,
- Ig's from *Besnoitia*-infected cow,
- halofuginone chemically linked to anti-*Besnoitia* Ig's,
- ▲ halofuginone chemically linked to Ig's from a healthy cow,
- halofuginone mixed with anti-*Besnoitia* Ig's,
- ☆ halofuginone mixed with Ig's from a healthy cow.

DISCUSSION

The results of the *in vivo* study show that gerbils could be cured from acute *Besnoitia* infection by a single i.m. injection of OTC-LA at 200 mg/kg. Lower doses of either OTC-LA or the water-soluble OTC formulation were effective, but treatment was 76 p. 100 successful when OTC was administered for 9 successive days. The rapid elimination of the drug from the blood of gerbils, (only minute amounts of OTC were found in sera as early as 24 hrs after drug administration) may probably explain the differences in results obtained when different OTC-formulations were used. In a preliminary report SHKAP *et al.* (18, 19) found OTC-LA effective in eliminating *B. besnoiti* infection in gerbils and preventing clinical besnoitiosis in rabbits. The use of a rodent model, however, does not provide information on the potential efficacy of the drug in cattle that have reached stages of disease accompanied by cysts

formation. Therefore, at present, it remains to be documented whether OTC-LA might be of practical use in the chemotherapy of bovine besnoitiosis. GARIN *et al.* (6) and GILBRIDE (7) reported that tetracycline compounds are effective against the taxonomically related parasite *T. gondii*.

The sulfonamides alone and in combination with trimethoprim or pyrimethamine had no effect upon *B. besnoiti* infection in gerbils. Although the time to death in gerbils treated with sulfadiazine or pyrimethamine was significantly longer than in the non-treated controls, all animals eventually died. These results complement previous reports of POLS (16) and BIGALKE (3) on the unsuccessful treatment of *Besnoitia*-infected cattle and rabbits with these drugs.

The anticoccidial halofuginone (12), which was also reported to be efficient against the blood protozoan *Theileria annulata* infection *in vivo* and *in vitro* (11, 17), failed to protect gerbils against *B. besnoiti* (Table III). Moreover, the very short mean time to death (3,8 days) as compared to the infected non-treated group (6,2 days) points out the high toxicity of halofuginone for gerbils at 3 mg/kg. Although large numbers of *Besnoitia* endozoites were found in dying animals, it is not completely clear whether the gerbils died because of infection or drug toxicity. In addition, it seems that halofuginone delivered directly into the stomach was not effective against *B. besnoiti* endozoites multiplying in the peritoneal cells.

Diminazene aceturate and pentamidine were ineffective in treating *Besnoitia* infection. These drugs are

SHKAP (V.), PIPANO (E.), UNGAR-WARON (H.). *Besnoitia besnoiti*: chemotherapeutic trials *in vivo* and *in vitro*. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3): 259-264.

Therapeutic potency of sulfonamides, pyrimethamine, trimethoprim, halofuginone lactate, oxytetracycline, diminazene aceturate and pentamidine was examined *in vivo* during fatal experimental *Besnoitia besnoiti* infection in gerbils (*Meriones tristami shawii*). Complete animal protection was achieved with a single dose of long-acting oxytetracycline given intramuscularly at 200 mg/kg, while 50 p. 100 survival was observed after a 20 mg/kg dose. Treatment with a water-soluble formulation of oxytetracycline at 25 mg/kg for 9 successive days resulted in up to 76 p. 100 survival. The other drugs were not effective against besnoitiosis in gerbils. In the *in vitro* experiments, oxytetracycline was completely inactive on *B. besnoiti* endozoites. Halofuginone lactate alone, chemically bound or mixed with immunoglobulins from *Besnoitia*-infected or from healthy calves was examined *in vitro* in Vero cultures infected with *B. besnoiti*. Percentage of parasitized cells was markedly reduced to 0,5 p. 100 in cultures treated with the drug alone at 96 hours of incubation compared to 54 p. 100 in control non-treated cells. Binding or mixing of halofuginone with antibodies reduced the drug activity. However the observed inhibition of endozoites multiplication cannot be attributed to a specific anti-*Besnoitia* activity, since a similar effect was obtained with immunoglobulins from *Besnoitia*-infected or healthy cattle. *Key words*: Gerbil - *Meriones tristami* - *Besnoitia besnoiti* - Besnoitiosis - Chemotherapy - Antibody.

successfully used for chemotherapy of bovine babesiosis (10, 15), and are known as trypanocidal compounds (9).

Results of the *in vitro* studies were inconsistent with those obtained with the *in vivo* model. Thus, although OTC displayed a high protective effect *in vivo*, the drug was completely inactive *in vitro*. The biochemical events involved in the drug-parasite-host interactions have to be elucidated in order to better understand the results obtained.

Remarkable inhibition of intracellular *B. besnoiti* multiplication was obtained with halofuginone in the *in vitro* model. It is obvious that binding or mixing of the drug with antibodies reduced halofuginone's activity. Moreover, since addition of Ig's from *Besnoitia*-infected or healthy cattle exhibited a similar effect (Fig. 2), it seems that the inhibition of endozoites multiplication observed cannot be attributed to a specific anti-*Besnoitia* antibodies activity.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge assistance of Dr. G. ZIV from the Department of Udder health and Mastitis Control, Kimron Veterinary Institute in performance of tests for drug concentration in serum of gerbils.

SHKAP (V.), PIPANO (E.), UNGAR-WARON (H.). *Besnoitia besnoiti*: ensayos quimioterapéuticos *in vivo* e *in vitro*. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3): 259-264.

Se examinó *in vivo* la eficacia terapéutica de las sulfonamidas, de la pirimetanina, del trimetoprim, del lactato de halofuginona, de la oxitetraciclina, del aceturato de diminazeno y de la pentamidina durante una infección experimental fatal a *Besnoitia besnoiti* en *Meriones tristami shawii*. Se obtuvo una protección entera del animal con una sola dosis de 200 mg/kg de oxitetraciclina con larga acción inyectada por vía intramuscular, mientras que se observó un porcentaje de 50 p. 100 de supervivencia con una dosis de 20 mg/kg. La administración de 25 mg/kg de oxitetraciclina soluble durante 9 días consecutivos dió resultado hasta 76 p. 100 de supervivencia. No fueron eficaces demás medicamentos. Durante los ensayos *in vitro*, la oxitetraciclina fue totalmente inactiva en los endozoitos *B. besnoiti*. Se examinó *in vitro* en medios de Vero, infectados por *B. besnoiti* el lactato de halofuginona solo, químicamente ligado o mezclado con inmunoglobulina proviniendo de terneros sanos o infectados por *Besnoitia*. El porcentaje de células parasitadas fue mucho reducido a 0,5 p. 100 para los cultivos tratados con el medicamento solo, después de una incubación de 96 horas, mientras que era de 54 p. 100 el porcentaje en las células testigas no tratadas. La relación o la mezcla de halofuginona con los anticuerpos reduce la actividad del medicamento. Sin embargo, no se puede atribuir a una actividad específica anti-*Besnoitia* la inhibición observada en la multiplicación de los endozoitos ya que se obtuvo una reacción similar con inmunoglobulinas proviniendo de los bovinos sanos o infectados por *Besnoitia*. *Palabras claves*: *Meriones tristami* - *Besnoitia besnoiti* - Besnoitiosis - Quimioterapia - Anticuerpo.

REFERENCES

1. BENNETT (J.), BRODIE (J.), BENNER (E.), KIRBY (W. M.). Simplified, accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. *Appl. Microbiol.*, 1966, **14** : 170-177.
2. BIGALKE (R.). New concept on the epidemiological features of bovine besnoitiosis as determined by laboratory and field investigations. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1968, **35** : 3-138.
3. BIGALKE (R.). Besnoitiosis and globidiosis. In : RISTIC (M.), McINTYRE (I.), eds. Diseases of cattle in the tropics. The Hague, Martinus Nijhoff Publishers, 1981. Pp. 429-442.
4. BIGALKE (R.), SCHOEMAN (J. H.), McCULLY (R. M.). Immunization against bovine besnoitiosis with a live vaccine prepared from a blue wildebeest strain of *Besnoitia besnoiti* grown in cell cultures. I. Studies on rabbits. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1974, **41** : 1-6.
5. FAYER (R.). Epidemiology of protozoan infections : the coccidia. *Vet. Parasit.*, 1980, **6** : 75-103.
6. GARIN (J.), PERRIN-FAYOLLE (M.), PALIARD (R.). Toxoplasmose expérimentale de la souris. Guérison clinique et anatomopathologique par la déméthylchlorotétracycline (DMCT). *Presse méd.*, 1965, **73** : 531-536.
7. GILBRIDE (A. P.). Toxoplasmosis and the cat : past, present, future. *Feline Practice*, 1972, (1) : 10-14.
8. GOODFRIEND (T.), LEWINE (L.), FASMAN (G. D.). Antibodies to bradykinin and angiotensin a use of carbodiimides in immunology. *Science*, 1964, **144** : 1344-1346.
9. HOWELLS (R.). The modes of action of some antiprotozoal drugs. *Parasitology*, 1985, **90** : 687-703.
10. KUTTLER (K. L.), ALIU (Y. O.). Chemotherapy of babesiosis. In : RISTIC (M.), AMBROISE-THOMAS (P.), KREIER (J. P.), eds. Malaria and babesiosis. The Hague, Martinus Nijhoff Publishers, 1984. Pp. 151-172.
11. McHARDY (N.), MORGAN (D. W.). Studies *in vivo* and *in vitro* with 993C and halofuginone. In : IRVIN (A. D.), CUNNINGHAM (M. P.), YOUNG (A. S.), eds. Advances in the control of theileriosis. The Hague, Martinus Nijhoff Publishers, 1981. Pp. 209-211.
12. McQUISTON (T.), McDOGALD (L.). Anticoccidial activity of arprinocid and halofuginone. *Vet. Parasit.*, 1981, **9** : 27-33.
13. NEUMAN (M.). The experimental infection of the gerbil (*Meriones tristrami shawii*) with *Besnoitia besnoiti*. *Ref. Vet.*, 1962, **19** : 184-188.
14. NISONOFF (A.), MARCUS (G.), WISSLER (F. C.). Separation of univalent fragments of rabbit antibody by reduction of a single, labile disulphide bond. *Nature*, 1961, **189** : 293-295.
15. PIPANO (E.), HADANI (A.). Control of babesiosis. In : RISTIC (M.), AMBROISE-THOMAS (P.), KREIER (J. P.), eds. Malaria and babesiosis. The Hague, Martinus Nijhoff Publishers, 1984. Pp. 263-303.
16. POLS (J.). Studies on bovine besnoitiosis with special reference to the aetiology. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1960, **28** : 265-356.
17. SHEIN (E.), VOIGHT (W.). Chemotherapy of theileriosis in cattle. In : IRVIN (A. D.), CUNNINGHAM (M. P.), YOUNG (A. S.), eds. Advances in the control of theileriosis. The Hague, Martinus Nijhoff Publishers, 1981. Pp. 212-214.
18. SHKAP (V.), DeWAAL (D. T.), POTGIETER (F. T.). Chemotherapy of experimental *Besnoitia besnoiti* infection in rabbits. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1985, **52** : 289.
19. SHKAP (B.), MARCOVITZ (A.), PIPANO (E.), GREENBLATT (C.). Chemotherapy of acute besnoitiosis in gerbils (*Meriones tristrami shawii*). *Israel J. Med. Sci.*, 1982, **18** : 1067.
20. SHKAP (V.), PIPANO (E.), GREENBLATT (C.). Cultivation of *Besnoitia besnoiti* and evaluation of susceptibility of laboratory animals to cultured parasites. *Vet. Parasit.*, 1987, **23** : 169-178.
21. SNEDECOR (G.). Statistical methods. Ames, Iowa, Iowa State University Press, 1964. Pp. 237-290.
22. TADROS (W.), LAARMAN (J.). Current concepts on the biology, evolution and taxonomy of tissue cyst-forming eimeriid coccidia. *Adv. Parasit.*, 1981, **20** : 294-468.

O. T. Diaw¹ | **Epidémiologie des schistosomoses du**
 G. Vassiliades¹ | **bétail au Sénégal**

DIAW (O. T.), VASSILIADES (G.). Epidémiologie des schistosomoses du bétail au Sénégal. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 265-274.

Parmi les schistosomes du bétail seuls *Schistosoma bovis* et *S. curassoni* ont été identifiés au Sénégal à ce jour. Ils se rencontrent dans presque toutes les régions. *S. bovis* parasite surtout les bovins (15 à 62 p. 100) alors que les petits ruminants sont faiblement touchés. *S. curassoni* est plus fréquent chez les ovins et caprins (2 à 16 p. 100) mais peut quelquefois parasiter également les bovins. Les lésions provoquées par *S. curassoni* au niveau du foie sont plus fréquentes et plus nettes, surtout chez les petits ruminants, que celles causées par *S. bovis*. *Bulinus forskalii* et *B. globosus* sont les hôtes intermédiaires naturels de *S. bovis* de même que *B. umblicatus* est l'hôte de *S. curassoni*. L'étude expérimentale du cycle de ces schistosomes a montré que *B. forskalii* (taux d'infestation 48,9 p. 100) et *B. truncatus* (63,6 p. 100) sont d'excellents hôtes intermédiaires pour *S. bovis*, alors que *B. umblicatus* et *B. globosus* ont réagi positivement à *S. curassoni* avec respectivement 70 et 12,5 p. 100 d'infestations réussies. Des hôtes vertébrés expérimentaux indemnes de toutes trématodoses ont été infestés : bovin, ovin, lapins, hamster et souris avec *S. bovis*, et ovin et souris avec *S. curassoni* ; tous ont réagi positivement à ces schistosomes. Des vers adultes et des oeufs matures ont été récoltés et étudiés du point de vue systématique. *Mots clés* : Bovin - Ovin - Rongeur - Schistosomose - *Schistosoma bovis* - *Schistosoma curassoni* - Mollusque nuisible - *Bulinus* - Epidémiologie - Sénégal.

INTRODUCTION

Les récents travaux sur les schistosomes du Sénégal (1, 2, 4, 27, 29, 30, 31) ont conduit à valider l'espèce *Schistosoma curassoni* Brumpt, 1931 (5, 7, 8, 9, 10). Il est maintenant admis que *S. bovis* et *S. curassoni* sont les seuls schistosomes du bétail identifiés au Sénégal. On les rencontre chez les bovins comme chez les petits ruminants, mais jusqu'à ces dernières années, ils étaient généralement confondus en une seule et même espèce : *S. bovis*. Cette étude a pour objectifs d'établir les taux d'infestation naturelle, l'identité des schistosomes chez les ruminants, leur répartition dans les différentes régions du Sénégal (Carte 1) ainsi que la pathologie de la schistosomose.

Parallèlement, des mollusques ont été récoltés et identifiés afin de connaître le rôle qu'ils jouent dans la

transmission des schistosomoses. La réalisation des cycles expérimentaux de *S. bovis* et *S. curassoni* a permis d'étudier la réceptivité des bulins vis-à-vis de ces schistosomes ainsi que l'action pathogène de ces schistosomes chez différents hôtes vertébrés.

MATERIEL ET METHODES

Etude de l'infestation naturelle des animaux

Des enquêtes ont été effectuées de 1977 à 1986 dans les abattoirs de Saint-Louis, Dagana, Podor et Matam (région de Saint-Louis) de Linguère (région de Louga), de Kaolack (région de Kaolack), de Diourbel (région de Diourbel), de Tambacounda, Bakel et Kédougou (région de Tambacounda) et de Dakar (région du Cap-Vert) (Carte 1).

Les taux d'infestation des animaux ont été déterminés par la mise en évidence des schistosomes dans les veines mésentériques des bovins, ovins et caprins abattus dans ces différents abattoirs. Au total, 6 541 animaux ont été examinés dont 3 255 bovins, 2 254 ovins et 1 032 caprins.

La distinction des deux espèces de schistosomes est basée sur la morphologie des oeufs (23). Ces oeufs sont recherchés et étudiés au niveau du foie et du rectum (examen microscopique d'un fragment de parenchyme hépatique, et, du produit de raclage de la muqueuse rectale).

Les caractères morphologiques des cercaires et des adultes (12) sont également utilisés pour distinguer les espèces de schistosomes. La chétotaxie a une valeur systématique, elle permet la différenciation des espèces à partir de leurs cercaires (3, 24, 25). L'étude de l'ultrastructure tégumentaire des adultes par la microscopie électronique à balayage fournit d'importantes données qui permettent également d'identifier les différentes espèces (12, 14, 18, 19, 20). L'isoenzymologie par l'étude des génotypes enzymatiques aboutit à des résultats concordant avec ceux obtenus par les autres méthodes (4). Toutes ces méthodes sont

1. I.S.R.A., Laboratoire National de l'Elevage et de Recherches Vétérinaires, Dakar-Hann, Sénégal.

Avec la collaboration de M. Seye et Y. Sarr.

O. T. Diaw, G. Vassiliades

actuellement utilisées pour l'étude et l'identification des schistosomes (1, 4).

Infestations expérimentales (mollusques et vertébrés)

Elevage des mollusques

Les mollusques récoltés lors des prospections malacologiques sont mis en élevage dans les aquariums équipés d'aérateurs. L'eau (eau du robinet déchlorée) est changée tous les 10 à 15 jours, et les mollusques sont nourris de laitue bouillie ou séchée. Ces mollusques sont ensuite systématiquement contrôlés pour séparer les mollusques infestés naturellement des mollusques sains. Au bout de 45 jours à 2 mois, tous les mollusques négatifs (c'est-à-dire indemnes de toute infestation par des stades larvaires de trématodes) sont placés en élevage en aquariums et en bassins pour servir de matériel expérimental (13).

Obtention des miracidiums

Des fragments de foie provenant d'animaux abattus aux abattoirs sont examinés, écrasés entre 2 lames pour rechercher des oeufs de schistosomes. Les foies les plus riches en oeufs de *Schistosoma bovis* ou de *Schistosoma curassoni* sont broyés, lavés plusieurs fois à l'eau physiologique et mis à décanter dans un verre à pied jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair. Les culots de décantation sont mis ensuite en suspension dans de l'eau distillée dans un ballon de Mc MULLEN et BEAVER pour l'obtention des miracidiums. Ce ballon est éclairé à sa partie supérieure afin de favoriser la sortie des miracidiums vers le goulot où ils seront prélevés à la pipette.

Infestation des mollusques, hôtes intermédiaires potentiels

Les miracidiums sont utilisés pour infester des mollusques sains d'élevage. Ces derniers sont infestés individuellement dans un petit pillulier avec un peu d'eau distillée et 3 à 4 miracidiums. Après 30 à 45 minutes, ces mollusques sont groupés et conservés en élevage à la température de 22 à 26 °C. Après 3 semaines à 1 mois, les mollusques survivants sont testés individuellement pour contrôler leur infestation. Pour cela, ils sont exposés sous la lumière (solaire ou artificielle) pendant 10 à 30 minutes pour favoriser l'émission éventuelle des furcocercaires infestantes.

Infestation des vertébrés, hôtes définitifs potentiels

Les furcocercaires obtenues par l'infestation expéri-

mentale des mollusques permettent d'infester des vertébrés indemnes de toutes trématodoses : soit 9 souris, 1 hamster, 2 lapins, 3 moutons et 1 veau. Les 3 moutons et le veau sont nés et élevés en étable au laboratoire de Dakar. Pour chaque animal, on utilise une suspension de furcocercaires. Pour le veau et les moutons, l'infestation se fait par la queue, rasée au préalable, et plongée pendant 45 minutes dans une suspension de furcocercaires contenue dans un tube à essai. Pour les lapins, ce sont les oreilles qui sont immergées pendant 45 mn dans la suspension infestante. Quant aux souris et au hamster, ils sont mis directement à barboter pendant 45 mn à 1 heure dans un bécot contenant la suspension infestante.

A l'autopsie, les schistosomes sont récoltés et tous les organes observés pour l'étude des lésions.

Etude de l'infestation naturelle des mollusques

Lors des prospections malacologiques dans les différentes régions du pays, des mollusques sont récoltés, identifiés et leur infestation étudiée par la recherche des cercaires. Ces dernières sont mises en évidence en exposant les mollusques sous la lumière (du soleil ou d'une lampe) pendant 10 à 30 mn. Les cercaires émises par chaque groupe de mollusques sont alors récoltées et l'identification des espèces est faite par la chétotaxie (24) et/ou l'infestation d'animaux avec ces mêmes cercaires, ce qui permet d'obtenir des adultes et des oeufs, dont l'étude est essentielle pour la confirmation de l'identité des schistosomes.

Ainsi, pour chaque espèce de mollusque récoltée, la nature et le taux d'infestation parasitaires sont déterminés, ce qui permet de connaître le rôle qu'ils peuvent jouer dans la transmission naturelle des schistosomoses.

RESULTATS

Epidémiologie des schistosomoses du bétail

Les schistosomes récoltés dans les veines mésentériques des ruminants sont morphologiquement très proches, mais l'étude des oeufs matures présents dans le foie et le rectum de ces animaux permet de séparer les deux espèces de schistosomes.

En effet, la forme et la taille des oeufs sont caractéristiques de chaque espèce :

— chez *S. bovis*, l'oeuf est fusiforme et étiré aux deux extrémités avec un pôle arrondi et un autre épineux, il mesure 208 à 238 μm de long sur 56 à 63 μm de large.

— chez *S. curassoni*, l'oeuf est plus petit, arrondi à une extrémité et pointu à l'autre, il ressemble à l'oeuf de *S. haematobium* et mesure 130 à 190 μm de long sur 50 à 65 μm de large (Fig. 1).

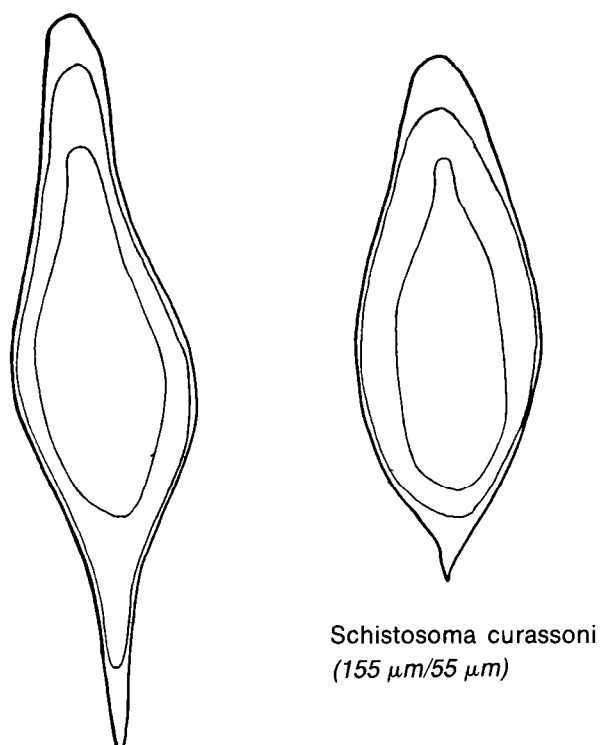


Fig. 1 : Oeufs de schistosomes du bétail au Sénégal.

Taux d'infestation du bétail et pathologie (Tabl. I)

S. bovis et *S. curassoni* sont les seuls schistosomes identifiés chez les bovins, ovins et caprins. On les rencontre dans presque toutes les régions. Le taux de la schistosomose est particulièrement élevé dans la région de Kolda où il atteint 62 p. 100 chez les bovins, alors que les petits ruminants sont plus faiblement touchés (9 p. 100 maximum).

S. bovis parasite surtout les bovins et très peu les petits ruminants ; VERCRUYSE *et al.* (31) signalent un taux de 2 p. 100 chez les petits ruminants aux

abattoirs de Dakar, alors que lors de cette étude il n'en a été trouvé ni aux abattoirs de Dakar, ni dans les autres régions.

S. curassoni est plus fréquent chez les ovins et caprins, mais il parasite quelquefois les bovins (3 à 4,4 p. 100 de bovins infestés dans cette enquête).

Il arrive que le bovin soit parasité par l'un et l'autre à la fois.

La charge parasitaire est généralement faible, le nombre de schistosomes adultes récoltés varie de 3 à 15 individus. Les animaux parasités paraissent en bon état sauf dans les cas d'infestation massive (plus de 100 individus).

Souvent *S. bovis* est associé à *Fasciola gigantica* notamment dans les régions de Kolda et de Saint-Louis où, dans ces cas, les animaux accusent des pertes de poids importantes. Chez les bovins parasités, le foie ne présente apparemment pas de lésions graves, alors que chez le petit ruminant, les infestations se manifestent très souvent par un durcissement du foie qui augmente de volume ; sa surface est ponctuée de granulomes qui se présentent sous la forme de petites taches blanc jaunâtre de 1 à 2 μm de diamètre (Photo 1).

L'examen microscopique d'un fragment de parenchyme hépatique montre des lésions d'encapsulation autour de certains oeufs nécrosés.

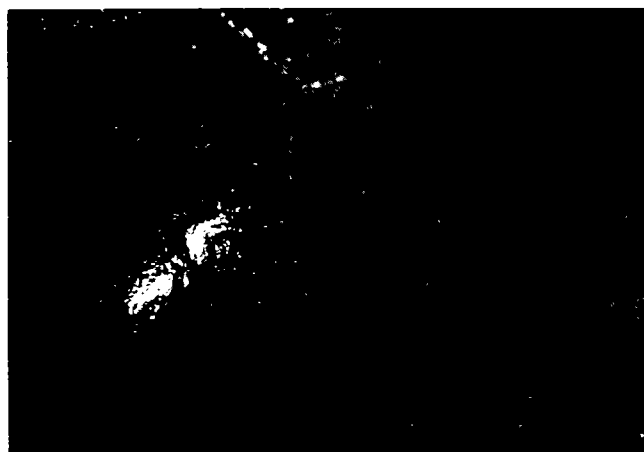


Photo 1

TABLEAU I Taux d'infestation du bétail (schistosomes).

Localités (abattoirs) et dates	Bovins		Ovins		Caprins	
	Nombre d'animaux observés	Taux d'infestation <i>S. bovis</i> et <i>S. curassoni</i>	Nombre d'animaux observés	Taux d'infestation <i>S. curassoni</i>	Nombre d'animaux observés	Taux d'infestation <i>S. curassoni</i>
Kolda (1977 à 1980)	298	20,4 p. 100 (<i>S. bovis</i> + <i>S. curassoni</i>)	157	1,9 p. 100 <i>S. curassoni</i>	304	0 p. 100
Kolda (1984)	21	61,9 p. 100 (<i>S. bovis</i> + <i>S. curassoni</i>) dont 58,8 p. 100 pour <i>S. bovis</i> 3,1 p. 100 pour <i>S. curassoni</i>)	12	0 p. 100	02	0 p. 100
Kolda (1985)	358	43,8 p. 100 (<i>S. bovis</i> + <i>S. curassoni</i>) dont 40,6 p. 100 pour <i>S. bovis</i> 3,2 p. 100 pour <i>S. curassoni</i>)	171	8,7 p. 100 <i>S. curassoni</i>	171	0 p. 100
Kolda (1986)	101	53,4 p. 100 (<i>S. bovis</i> + <i>S. curassoni</i>) dont 49 p. 100 pour <i>S. bovis</i> 4,4 p. 100 pour <i>S. curassoni</i>)	20	0 p. 100	20	0 p. 100
Dakar * (1977 à 1980)	1 071	4,5 p. 100 (<i>S. bovis</i> + <i>S. curassoni</i>)	1 449	2,8 p. 100 <i>S. curassoni</i>	154	7,7 p. 100
Dakar * (1985)	275	5,45 p. 100 (<i>S. bovis</i> + <i>S. curassoni</i>) dont 1,4 p. 100 pour <i>S. bovis</i> 4 p. 100 pour <i>S. curassoni</i>)	349	8,5 p. 100 <i>S. curassoni</i>	233	1,7 p. 100 <i>S. curassoni</i>
Saint-Louis (1977 à 1980)	345	20 p. 100 (<i>S. bovis</i> + <i>S. curassoni</i>)	16	0 p. 100	10	0 p. 100
Kaolack (1977 à 1980)	150	21 p. 100 (<i>S. bovis</i>)	25	0 p. 100	38	0 p. 100
Tambacounda (1977 à 1980)	636	15,4 p. 100 (<i>S. bovis</i> + <i>S. curassoni</i>)	56	16 p. 100 <i>S. curassoni</i>	100	11 p. 100 <i>S. curassoni</i>

* Les animaux observés aux abattoirs de Dakar proviennent de la région de Saint-Louis, du Sénégal oriental ou de Kolda.

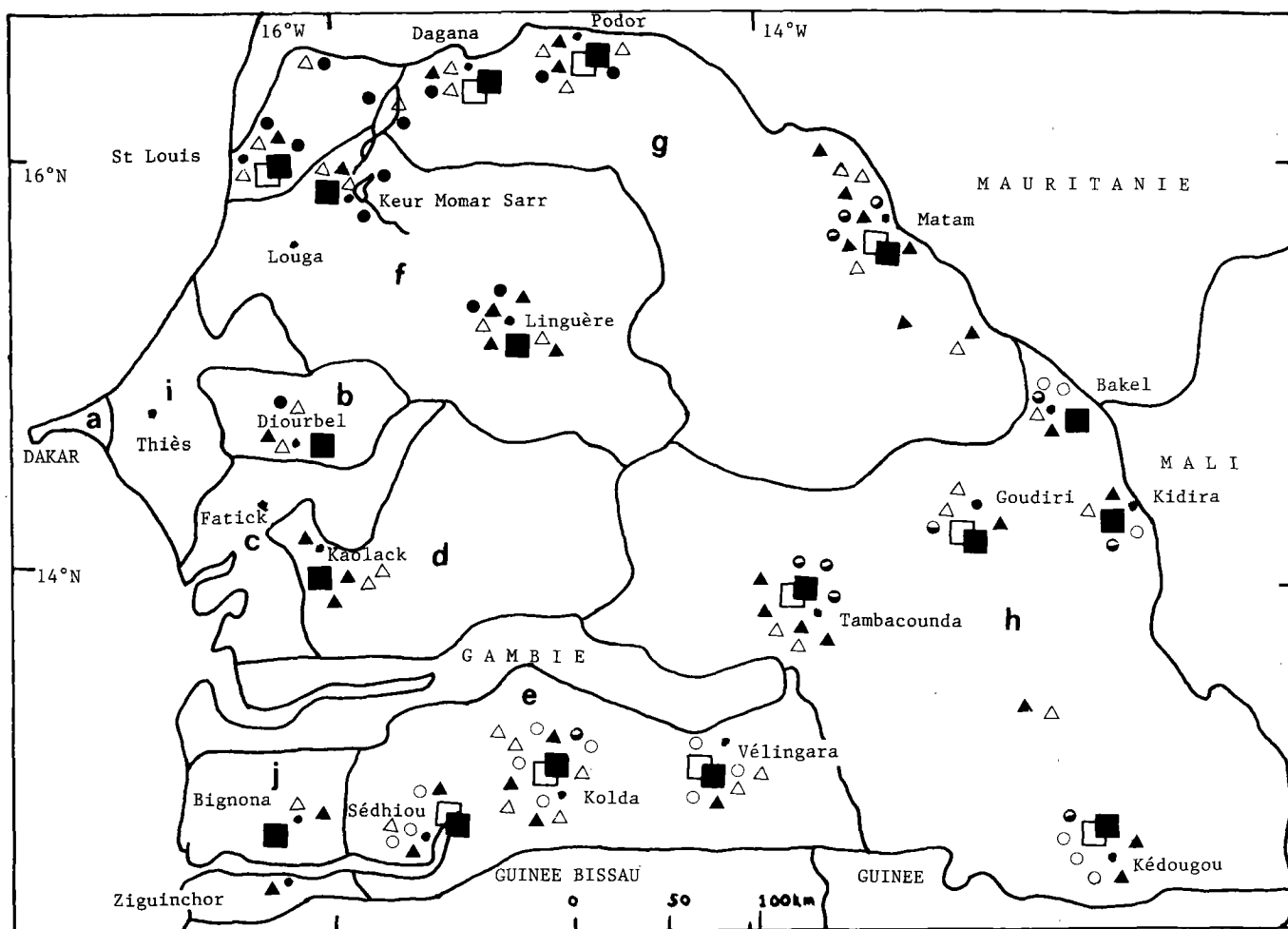
TABLEAU II Rôle épidémiologique des mollusques dans la transmission des schistosomoses du bétail : infestation naturelle.

Mollusques	Origines	Nombre de mollusques observés	Taux d'infestation
<i>B. forskalii</i>	Kolda et Saint-Louis	300	0,3 p. 100 pour <i>S. bovis</i>
<i>B. truncatus</i>	St-Louis et lac de Guiers	2 805	0 p. 100
<i>B. senegalensis</i>	St-Louis, Tambacounda, Kaolack et Lougá	5 381	0 p. 100
<i>B. umblicatus</i>	St-Louis, Tambacounda et Kolda	6 642	0,8 p. 100 pour <i>S. curassoni</i>
<i>B. globosus</i>	Kolda et Bakel	453	2 p. 100 pour <i>S. bovis</i>

Rôle épidémiologique des mollusques hôtes intermédiaires (Tabl. II, Carte 1)

Ce sont les mollusques du genre *Bulinus* qui interviennent dans la transmission des schistosomoses du bétail au Sénégal.

Bulinus globosus (= *B. jousseaumei*), *B. truncatus* (*B. =. guernei*), *B. umblicatus*, *B. forskalii* et *B. senegalensis* sont les seuls bulins que l'on rencontre dans presque toutes les régions du Sénégal, mais la densité des populations varie pour chaque espèce et d'une zone à l'autre.



Carte 1 : répartition des schistosomes du bétail et des mollusques, hôtes intermédiaires, au Sénégal.

Schistosomes :

Schistosoma bovis : ■

Schistosoma curassoni : □

Mollusques :

Bulinus umbilicatus : ○

Bulinus truncatus : ●

Bulinus globosus : ○

Bulinus forskalii : △

Bulinus senegalensis : ▲

a : région du Cap-Vert ; b : région de Diourbel ; c : région de Fatik ; d : région de Kaolack ; e : région de Kolda ; f : région de Louga ; g : région de Saint-Louis ; h : région de Tambacounda ; i : région de Thiès ; j : région de Ziguinchor.

L'identification de ces mollusques a été confirmée par le Danish Bilharziasis Laboratory. Suite aux derniers travaux de JELNES (16), ont été adoptées les mises en synonymie entre *B. globosus* et *B. jousseamei* et entre *B. truncatus* et *B. guernei*.

Les prospections malacologiques ont permis d'étudier la répartition et le rôle épidémiologique de ces différents mollusques.

B. senegalensis est plus fréquent dans les biotopes latéritiques surtout dans la vallée du fleuve (région de Saint-Louis), dans les départements de Tambacounda et de Kaolack. On le rencontre en petit nombre à Kolda et dans les autres régions.

B. forskalii a une répartition plus étendue. Il se rencontre dans toutes les régions, cependant, il est

plus abondant dans le département de Kolda et dans le région de Saint-Louis. C'est une espèce morphologiquement proche de *B. senegalensis*.

B. truncatus est une espèce très répandue dans la région de St-Louis surtout au niveau du delta du fleuve Sénégal et du lac de Guiers. Elle est rare dans les autres régions.

B. globosus se rencontre surtout dans les régions de Kolda et de Tambacounda. Dans les autres régions, il existe, mais en petit nombre.

B. umbilicatus est une espèce plus fréquente et plus répandue dans les régions de St-Louis (vallée du fleuve) et de Tambacounda. Quelques spécimens sont récoltés à Kolda.

Tous ces mollusques se rencontrent surtout dans des points d'eau temporaires très fréquentés par le bétail.

Sur un total de 15 630 bulins récoltés dans les différentes régions et différentes périodes de l'année, le taux d'infestation est très faible, il varie de 0,3 à 2 p. 100. Seuls *B. forskalii*, *B. umbilicatus* et *B. globosus* se sont révélés hôtes intermédiaires naturels de schistosomes du bétail.

B. senegalensis et *B. truncatus* bien qu'en grand nombre, ne semblent pas intervenir dans l'épidémiologie des schistosomoses animales. SMITHERS (26) signale *B. senegalensis* comme hôte intermédiaire de *S. bovis* en Gambie.

Etude expérimentale du cycle de *S. bovis* et *S. curassoni*

Les miracidiums obtenus à partir des broyats de foies d'animaux schistosomés (bovins pour *S. bovis* et ovins pour *S. curassoni*) permettent d'infester des mollusques d'élevage indemnes de toute infestation : *B. truncatus*, *B. forskalii*, *B. senegalensis*, *B. umbilicatus* et *B. globosus*.

On étudie la réceptivité vis-à-vis de ces schistosomes. Les furcocercaires émises par ces mollusques permettent d'infester des animaux d'expérience afin d'étudier l'action pathogène de ces schistosomes.

Réceptivité des bulins vis-à-vis de *S. bovis* et *S. curassoni* (Tabl. III)

- Infestation avec *S. bovis*

B. forskalii et *B. truncatus* sont plus réceptifs que *B. umbilicatus* qui n'est que faiblement infesté. En effet, les 2 premiers bulins produisent des furcocercaires en grande quantité et ce, pendant une longue période (1 mois à 45 jours), alors que *B. umbilicatus* a une production plus faible et de courte durée.

B. truncatus se révèle un excellent hôte expérimental (taux d'infestation 63,6 p. 100) alors qu'il n'a jamais été rencontré naturellement infesté par *S. bovis*. De même *B. forskalii* (taux de 48,9 p. 100) n'est que faiblement infesté dans la nature (0,3 p. 100) ; en effet son comportement dans certains biotopes (fixation sur les racines des plantes aquatiques ou dans leur voisinage, en profondeur, non loin du fond) le protège

TABLEAU III Rôle épidémiologique des mollusques dans la transmission des schistosomoses du bétail : infestation expérimentale.

Mollusques utilisés	Nature de l'infestation	Nombre de mollusques infestés	Nombre de survivants	Nombre de cas positifs	Taux d'infestation	Période prépatente
<i>B. forskalii</i>	<i>S. bovis</i>	100	96	47	48,9 p. 100	19 jours
	<i>S. curassoni</i>	24	13	0		
<i>B. truncatus</i>	<i>S. bovis</i>	30	19	10	63,6 p. 100	26 jours
	<i>S. curassoni</i>	30	18	0		
<i>B. senegalensis</i>	<i>S. bovis</i>	—	—	—	—	—
	<i>S. curassoni</i>	80	15	0		
<i>B. umbilicatus</i>	<i>S. bovis</i>	30	15	2	13,3 p. 100	26 jours
	<i>S. curassoni</i>	557	10	7		
<i>B. globosus</i>	<i>S. bovis</i>	—	—	—	—	—
	<i>S. curassoni</i>	24	8	1		

souvent de l'infestation par les miracidiums qui nagent surtout à la surface de l'eau.

- Infestation avec *S. curassoni*

Seuls *B. globosus* et *B. umbilicatus* se sont révélés réceptifs parmi les 5 espèces de bulins infestées.

B. umbilicatus est le meilleur hôte avec un taux d'infestation de 70 p. 100. Il a produit beaucoup de furcocercaires pendant 3 semaines à 1 mois.

La période prépatente chez le bulin est de 19 à 26 jours pour *S. bovis* et de 26 à 38 jours pour *S. curassoni*, à la température de 22 à 26 °C.

Réceptivité des animaux hôtes définitifs et pathologie expérimentale

Des animaux indemnes de trématodes, et de schistosomes en particulier, ont été infestés.

- Infestation avec *S. bovis*

Un veau, un mouton, deux lapins, un hamster et quatre souris ont été infestés.

Le veau, 50 jours après l'infestation, présente de l'inappétence suivie d'une perte de poids. Au 59ème jour, l'examen coprologique révèle de nombreux oeufs de *S. bovis*. Au 66ème jour, l'animal présente une forte diarrhée qui se poursuit et le veau meurt au 88ème jour après l'infestation. A l'autopsie, le foie présente une hypertrophie, on note également la présence de quelques granulomes. L'examen microscopique du foie révèle de nombreux oeufs matures. Des paquets de schistosomes adultes sont récoltés au niveau du foie et des veines mésentériques (22).

Le mouton, 48 jours après l'infestation, présente une anorexie suivie d'une perte de poids et d'une forte diarrhée. L'examen coprologique révèle de nombreux oeufs de *S. bovis*. Le mouton meurt au 51ème jour. A l'autopsie, on observe une hypertrophie du foie et les mêmes granulomes, mais en plus grand nombre. L'examen microscopique du parenchyme hépatique montre de nombreux oeufs matures dont la plupart sont nécrosés. De nombreux schistosomes adultes sont récoltés au niveau du foie et des veines mésentériques (15).

Quant aux autres animaux, lapins, hamster et souris, ils ne manifestent aucun signe clinique durant l'infestation. L'examen coprologique n'a révélé des oeufs de schistosomes que chez deux souris (quelques oeufs observés 45 jours après l'infestation).

Les lapins sacrifiés après 100 et 121 jours d'infestation présentent à l'autopsie une hépatomégalie et quelques granulomes au niveau du foie. De nombreux oeufs nécrosés sont observés, et des schistosomes adultes récoltés. Le hamster sacrifié après 115 jours présente les mêmes lésions que les lapins. De nombreux oeufs nécrosés sont observés au niveau du parenchyme hépatique. Quelques schistosomes adultes sont récoltés par perfusion de l'appareil circulatoire.

CG- Infestation avec *IGS.curassoni*. Elle a été réalisée chez 2 moutons et 5 souris. Après 2 mois d'infestation, le premier mouton ne présente aucun signe clinique. L'examen coprologique ne révèle aucun oeuf de schistosome. Le mouton est sacrifié après 4 mois, et l'autopsie révèle un foie volumineux, dur, avec quelques granulomes superficiels. Dans le parenchyme hépatique de nombreux oeufs sont observés dont les 3/4 sont nécrosés et certains encapsulés. Des oeufs matures sont observés au niveau du rectum.

Des schistosomes adultes (134 mâles et 10 femelles) sont récoltés au niveau du foie et des veines mésentériques.

Le second mouton, 2 mois après infestation présente de l'inappétence et une perte de poids notable. Sacrifié au 73ème jour, on observe les mêmes lésions que chez le premier mouton. Le parenchyme hépatique est riche en oeufs nécrosés et calcifiés. Des schistosomes adultes sont récoltés au niveau du foie (15 mâles et 5 femelles) et des veines mésentériques (40 mâles et 10 femelles).

Les souris ne présentent aucun signe clinique durant l'infestation. Sacrifiées à partir du 75ème jour, elles présentent les mêmes lésions : hépatomégalie et quelques granulomes superficiels. Des schistosomes adultes sont récoltés mais ils sont plus petits que ceux des moutons. Chez une souris fortement parasitée, on a compté jusqu'à 122 mâles et 14 femelles.

Toutes les lésions observées sont les mêmes que celles rencontrées lors des infestations naturelles. Cependant, la sévérité de ces lésions varie en fonction de l'intensité et de la durée de l'infestation (13).

DISCUSSION

Les résultats de ces études permettent d'affirmer que chez le bétail du Sénégal on ne rencontre que deux espèces de schistosomes : *Schistosoma bovis* principalement chez les bovins et *S. curassoni* qui parasite surtout les petits ruminants.

Les méthodes d'identification telles que : l'étude de la

morphologie des oeufs matures, la chétotaxie des cercaires, l'observation au microscope électronique à balayage des téguments des vers mâles adultes et l'isoenzymologie permettent la distinction de ces deux espèces.

L'étude de l'infestation naturelle des hôtes définitifs et des mollusques hôtes intermédiaires permet de localiser ces schistosomes dans deux grandes zones : au Nord : la région de Saint-Louis, et à l'Est et au Sud-Est : région de Tambacounda et la région de Kolda. En effet, c'est dans ces zones que les conditions écologiques sont les plus favorables aux mollusques concernés notamment la présence d'eau douce pendant toute ou une partie de l'année.

C'est évidemment dans ces 2 zones que l'on rencontre, en grand nombre, les mollusques hôtes intermédiaires de *S. bovis* et *S. curassoni* : *B. forskalii*, *B. globosus* et *B. umbilicatus*. Ceci est conforme avec le taux élevé des schistosomes constatés dans ces régions d'autant plus que ce sont des zones à forte concentration animale avec coexistence des deux espèces : *S. bovis* et *S. curassoni*. Cependant, il faut signaler que l'on rencontre *S. bovis* dans d'autres régions du Sénégal : à Diourbel, Linguère et Kaolack par exemple.

S. bovis a donc une répartition plus large et ceci correspond à l'écologie de ses vecteurs surtout *B. forskalii* rencontré dans presque toutes les régions, alors que *S. curassoni* reste plus localisé suivant en cela son hôte intermédiaire *B. umbilicatus*.

Dans l'ensemble, le taux d'infestation des petits ruminants est bien plus faible que celui des bovins. Les ovins et les caprins fréquentent très peu les mares naturelles (élevage de cases) et pénètrent peu dans l'eau en s'abreuvant ; ceci peut expliquer leur faible taux d'infestation. L'étude expérimentale du cycle de ces schistosomes chez les hôtes intermédiaires et chez les hôtes définitifs aboutit à des résultats intéressants quant à la réceptivité des mollusques et la nature des lésions observées dans les infestations naturelles.

Dans la nature, seuls *B. globosus* et *B. forskalii* interviennent dans la transmission de *S. bovis*, alors que *B. truncatus* et *B. umbilicatus* peuvent être infestés expérimentalement. Pourtant, *B. truncatus* qui se révèle être un bon hôte expérimental pour *S. bovis*, bien que présent dans les zones à *S. bovis*, n'est jamais trouvé naturellement infesté. Pour ce qui est de *S. curassoni*, seul *B. globosus* s'est révélé réceptif à l'infestation expérimentale.

Ainsi, *B. truncatus* et *B. umbilicatus* ne sont pas réfractaires à *S. bovis*, de même que *B. globosus* pour *S. curassoni*. On peut penser que certaines particulari-

tés écologiques, des comportements incompatibles soit du mollusque, soit des stades larvaires, des facteurs physico-chimiques défavorables du milieu (pH acide, température, salinité, etc.) font qu'il n'y a pas pénétration du miracidium chez le mollusque.

Ces mêmes observations ont été faites au Soudan par MALEK (21) qui constate que *B. forskalii*, *B. ugandae* et *B. truncatus* s'infestent expérimentalement avec *S. haematobium*, alors que dans la nature seul *B. truncatus* intervient dans la transmission de *S. haematobium*.

B. senegalensis est le seul bulin réfractaire aux deux schistosomes, aussi bien dans la nature que dans les conditions expérimentales. Dans certains biotopes, il coexiste avec *B. umbilicatus*, mais seul ce dernier est infesté.

Les études récentes sur la compatibilité schistosomes/mollusques accordent une importance de plus en plus grande à la notion de compatibilité immunologique qui serait responsable de la spécificité du développement du parasite chez son hôte (6, 17, 28).

CONCLUSION

L'étude épidémiologique des schistosomoses du bétail au Sénégal a permis d'identifier les deux seuls schistosomes existant, *S. bovis* et *S. curassoni*, et de mettre en évidence leur taux d'infestation chez les animaux domestiques et leur répartition géographique.

S. bovis a une distribution plus large que *S. curassoni* qui parasite surtout les petits ruminants.

Au Sénégal, ces schistosomoses sont localisées dans le Nord, l'Est et le Sud-Est, zones où les conditions sont plus favorables au développement des mollusques hôtes intermédiaires.

Parmi les cinq bulins identifiés, *B. forskalii* et *B. globosus* sont les hôtes intermédiaires naturels de *S. bovis* et *B. umbilicatus* celui de *S. curassoni*.

Les deux autres espèces, *B. senegalensis* et *B. truncatus*, ne jouent aucun rôle dans les conditions naturelles.

Expérimentalement, *B. truncatus* et *B. umbilicatus* peuvent transmettre *S. bovis*, tandis que *B. globosus* peut transmettre *S. curassoni*.

Seul *B. senegalensis* ne joue aucun rôle dans la

transmission des schistosomes que ce soit dans la nature ou en laboratoire. Le problème de la compatibilité mollusques/schistosomes est d'un grand intérêt pour l'étude épidémiologique.

En plus des compatibilités écologiques et des conditions physico-chimiques favorables du milieu, il faut qu'il y ait aussi compatibilité immunologique entre le parasite et le mollusque pour que le cycle parasitaire puisse se réaliser.

DIAW (O. T.), VASSILIADES (G.). Epidemiology of schistosomiasis of cattle in Senegal. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 265-274.

Only *Schistosoma bovis* and *S. curassoni* are the schistosomes of cattle identified in Senegal up this day. They occur in almost all regions. *S. bovis* parasites essentially the cows (15 to 62 p. 100), while the small ruminants are less parasited. *S. curassoni* occurs more frequently in sheep and goats (2 to 16 p. 100) but also parasites sometimes the cows. The lesions caused by *S. curassoni* in the liver are more frequent and net mostly in the small ruminants than those caused by *S. bovis*. *B. forskalii* and *B. globosus* are the natural intermediate hosts of *S. bovis* and *B. umbilicatus* is host of *S. curassoni*. The experimental study of the life cycle of those schistosomes showed that *S. forskalii* (rate of infestation 48,9 p. 100) and *B. truncatus* (63,6 p. 100) are excellent intermediate hosts of *S. bovis* while *B. umbilicatus* and *B. globosus* with respectively a rate of infestation of 70 and 12,5 p. 100 are hosts of *S. curassoni*. Vertebrate hosts free of trematodosis were experimentally infested : a cow, a sheep, rabbits, hamster and mice infested with *S. bovis* and two sheep and mice infested with *S. curassoni*. All those animals reacted positively to the infestation at necropsy adult flukes and mature eggs have been recolted in order to study the systematic position. *Key words* : Cattle - Sheep - Rodent - Schistosomiasis - *Schistosoma bovis* - *Schistosoma curassoni* - Snail - *Bulinus* - Epidemiology - Senegal.

Généralement, les schistosomes n'entraînent pas de graves manifestations morbides chez le bétail, mais leur pathogénicité peut s'aggraver soit en cas de forte infestation, soit par association avec la distomatose qui sévit dans les mêmes régions. Dans ce cas, on constate un affaiblissement de l'animal entraînant une baisse pondérale importante et de ce fait une perte économique considérable.

DIAW (O. T.), VASSILIADES (G.). Epidemiologia de las esquistomosis del ganado en el Senegal. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 265-274.

Entre los esquistosomas del ganado sólo se identificaron *Schistosoma bovis* y *S. curassoni* en Senegal hasta ahora. Se encuentran en casi todas las regiones : *S. bovis* sobre todo en los bovinos (15 a 62 p. 100) pero poco en los pequeños rumiantes ; *S. curassoni* más frecuentemente en el ganado ovino y cabrio (2 a 16 p. 100) pero algunas veces también en los bovinos. Las lesiones provocadas por *S. curassoni* en el hígado son más frecuentes y más patentes, principalmente en los pequeños rumiantes, que las causadas por *S. bovis*. *Bulinus forskalii* y *B. globosus* son los huéspedes intermediarios naturales de *S. bovis* y *B. umbilicatus* el huésped de *S. curassoni*. El estudio experimental del ciclo de estos esquistosomas mostró que *B. forskalii* (proporción de infestación 48,9 p. 100) y *B. truncatus* (63,6 p. 100) son huéspedes intermediarios excelentes para *S. bovis* mientras que *B. umbilicatus* y *B. globosus* son huéspedes de *S. curassoni* respectivamente con 70 y 12,5 p. 100 de infestaciones con éxito. Se infestaron huéspedes vertebrados experimentales, indemnes de trematodosis : bovino, ovino, conejos, hámster y ratón con *S. bovis* y ovino y ratón con *S. curassoni* ; su reacción fué positiva. A la autopsia se recogieron helmintos adultos y huevos maduros que se estudiaron desde el punto de vista sistemático. **Palabras claves** : Ganado bovino - Ganado ovino - Roedor - Esquistomosis - *Schistosoma bovis* - *Schistosoma curassoni* - Molusco dañino - *Bulinus* - Epidemiologia - Senegal.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALBARET (J. L.), PICOT (H.), DIAW (O. T.), BAYSSADE-DUFOUR (Ch.), VASSILIADES (G.), ADAMSON (M.), LUFFAU (G.), CHABAUD (A. G.). Schistosomes à éperon terminal du Sénégal. *Anals Parasit. hum. comp.*, 1984, **59** (5) : 527-528.
2. ALBARET (J. L.), PICOT (H.), DIAW (O. T.), BAYSSADE-DUFOUR (Ch.), VASSILIADES (G.), ADAMSON (M.), LUFFAU (G.), CHABAUD (A. G.). Enquête sur les schistosomes de l'homme et du bétail au Sénégal à l'aide des identifications spécifiques fournies par la chétotaxie des cercaires. I. Nouveaux arguments pour la validation de *S. curassoni* Brumpt, 1931, parasite de l'homme et des bovidés domestiques. *Anals Parasit. hum. comp.*, 1985, **60** (4) : 417-434.
3. BAYSSADE-DUFOUR (Ch.). Chétotaxies cercariennes comparées de dix espèces de schistosomes. *Anals Parasit. hum. comp.*, 1982, **57** (5) : 467-485.
4. BAYSSADE-DUFOUR (Ch.), NGENDAHAYO (L. D.), ALBARET (J. L.), DIAW (O. T.), PICOT (H.), VASSILIADES (G.), LUFFAU (G.), CHABAUD (A. G.). Données nouvelles sur *Schistosoma curassoni*. *Bull. Soc. fr. Parasit.*, 1985, **1** : 87-90.
5. BRUMPT (E.). Description de deux bilharzies de mammifères africains, *Schistosoma curassoni* sp. inq. et *Schistosoma rodhaini* n. sp. *Anals Parasit. hum. comp.*, 1981, **9** (4) : 325-338.

O. T. Diaw, G. Vassiliades

6. COMBES (C.). L'analyse de la compatibilité schistosomes/mollusques vecteurs. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1985, **78** : 742-746.
7. GRETILLAT (S.). Etude du cycle évolutif du schistosome des ruminants de l'Ouest africain et confirmation de l'espèce *Schistosoma curassoni*, Brumpt, 1931. *Annals Parasit. hum. comp.*, 1962 a, **37** (4) : 556-568.
8. GRETILLAT (S.). Recherches sur le cycle évolutif du schistosome des ruminants domestiques de l'Ouest africain *Schistosoma curassoni* Brumpt, 1931. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, 1962 b, **255** : 1657-1659.
9. GRETILLAT (S.). Une nouvelle zoonose, la « bilharziose Ouest africaine » à *Schistosoma curassoni* Brumpt, 1931, commune à l'homme et aux ruminants domestiques. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, 1962 c, **255** : 1805-1807.
10. GRETILLAT (S.). Contribution à l'étude de l'épidémiologie des bilharzioses humaines et animales en haute Casamance (Sénégal) et en Mauritanie. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1964, **16** (3) : 323-334.
11. GRETILLAT (S.). Rapport sur les travaux réalisés depuis le 1er janvier 1964 à l'aide d'un crédit de 5 000 dollars fourni par l'OMS à Genève. Dakar, Sénégal, LNERV, 1964. 17 p.
12. GRETILLAT (S.). Différences morphologiques entre *Schistosoma bovis* (souche de Khartoum) et *Schistosoma curassoni* (souche de Mauritanie). *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1965, **17** (3) : 429-432.
13. GRETILLAT (S.), PICART (P.). Premières observations sur les lésions provoquées chez les ruminants infestés massivement par *Schistosoma curassoni*. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1965, **17** (3) : 433-440.
14. HOCKLEY (D. J.), Mc LAREN (D. J.). Scanning electron microscopy of eight species of *Schistosoma*. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1977, **71** (4) : 292.
15. HUSSEIN (M. F.), BUSHARA (H. O.), ALI (K. E.). The pathology of experimental *Schistosoma bovis* infection in sheep. *J. Helminth.*, 1976, **50** (4) : 235-241.
16. JELNES (J.). Experimental taxonomy of *Bulinus* (*Gasteropoda* : *Planorbidae*) : The west and north African species reconsidered, based upon an electrophoretic study of several enzymes per individual. *Zool. J. Linnean Soc.*, 1986, **87** : 1-26.
17. JOURDANE (J.). Etude des mécanismes de rejet dans les couples mollusque/schistosome incompatibles à partir d'infestations par voie naturelle et par transplantation microchirurgicales de stades parasitaires. *Acta trop.*, 1982, **39** : 325-335.
18. KUNTZ (R. E.), DAVIDSON (D. L.), HUANG (T. C.), TULLOCH (G. S.). Scanning electronic microscopy of the integumental surfaces of *Schistosoma bovis*. *J. Helminth.*, 1979, **53** (2) : 131-132.
19. KUNTZ (R. E.), TULLOCH (G. S.), DAVIDSON (D. L.), HUANG (T. C.). Scanning electron microscopy of the integumental surfaces of *Schistosoma haematobium*. *J. Parasit.*, 1976, **62** (1) : 63-69.
20. KUNTZ (R. E.), TULLOCH (G. S.), HUANG (T. C.), DAVIDSON (D. L.). Scanning electron microscopy of the integumental surfaces of *Schistosoma intercalatum*. *J. Parasit.*, 1977, **63** (3) : 401-406.
21. MALEK (E.). Natural and experimental infection of some bulinid snails in the Sudan with *Schistosoma haematobium*. *Annls Inst. Méd. trop.*, 1959, **16** suppl. 6 : 43-52.
22. MALEK (E.). Studies on bovine schistosomiasis in the Sudan. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1969, **63** (4) : 501-513.
23. PITCHFORD (R. J.). Differences in the egg morphology and certain biological characteristics of some African and Middle Eastern schistosomes, genus *Schistosoma* with terminal spined eggs. *Bull. Wld Hlth Org.*, 1965, **32** : 105.
24. RICHARD (J.). La chétotaxie des cercaires de schistosomes. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, 1968, **266** : 1856-1859.
25. RICHARD (J.). La chétotaxie des cercaires. Valeurs systématique et phylétique. *Mém. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, 1971, **67** : 1-179. (Série A. Zool.).
26. SMITHERS (S. R.). On the ecology of schistosome vectors in the Gambia with evidence of their role in transmission. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1956, **50** (4) : 354-365.
27. SOUTHGATE (V. R.), ROLLINSON (D.), VERCRUYSE (J.). *Schistosoma curassoni* Brumpt, 1931, a little known parasite of Senegal. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1984, **78** (6) : 848-849.
28. TOUASSEM (R.), JOURDANE (J.). Etude de la compatibilité de *Schistosoma bovis* du Soudan et d'Espagne vis-à-vis de *Bulinus truncatus* de Tunisie et *Planorbarius metidjensis* du Maroc. Analyse comparée des tests de compatibilité utilisés. *Annls Parasit. hum. comp.*, 1986, **61** (1) : 43-54.
29. VERCRUYSE (J.), FRANSEN (J.), SOUTHGATE (V. R.), ROLLINSON (D.). Pathology of *Schistosoma curassoni* infection in sheep. *Parasitology*, 1985, **91** (4) : 291-300.
30. VERCRUYSE (J.), SCHANDEVYL (P.). Parasitological and pathological observations on schistosomiasis in sheep in Senegal. *J. Helminth.*, 1984, **58** (3) : 219-220.
31. VERCRUYSE (J.), SOUTHGATE (V. R.), ROLLINSON (D.). *Schistosoma curassoni* Brumpt, 1931 in sheep and goats in Senegal. *J. nat. Hist.*, 1984, **18** : 969-976.

A. F. Ogunrinade¹M. O. Abatan²

Detection and quantitation of humoral immunity to *Paramphistomum microbothrium* in gut mucosa of cattle

OGUNRINADE (A. F.), ABATAN (M. O.). Détection et quantification de l'immunité humorale à *Paramphistomum microbothrium* dans la muqueuse intestinale des bovins. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 275-277.

A partir du sérum et des extraits de rumen et de duodénum prélevés sur du bétail naturellement infesté par *P. microbothrium* et sur des animaux témoins, les immunoglobulines-A (IgA) et les immunoglobulines-G₁ (IgG₁), totales et spécifiques, ont été détectées et quantifiées. Par le test d'immunofluorescence indirecte, l'immunoglobuline-G₁ spécifique a été détectée dans les sécrétions du rumen un plus grand nombre de fois que l'immunoglobuline-A. On peut en conclure que l'immunoglobuline-G₁ fait partie de la réaction immunitaire d'expulsion des paramphistomes du rumen des bovins. *Mots clés* : Bovin - *Paramphistomum microbothrium* - Immunité - Nigeria.

INTRODUCTION

The gastrointestinal tract is the portal of entry and the predilection site of many parasitic helminths. These parasites induce local and systematic immunity which are detectible in sera, gut extracts or faeces of infected animals (6, 7).

P. microbothrium, a trematode helminth restricted in its development to the duodenal and ruminal mucosa of cattle (1), appears ideal for investigating local immunity to the gastrointestinal tract of cattle and was examined for this purpose.

MATERIAL AND METHODS

Cattle

These were all adult White Fulani cattle slaughtered at the Ibadan municipal abattoir. Overall, 20 animals

1. Department of Veterinary Microbiology and Parasitology, University of Ibadan, Ibadan, Nigeria.

2. Department of Veterinary Physiology, University of Ibadan, Ibadan, Nigeria.

Current address : Department of Veterinary Microbiology and Parasitology, University of Ibadan, Ibadan, Nigeria.

aged between 5-7 years were used as subjects. Ten of these harboured heavy (5-10,000 worms), single infection with *P. microbothrium* while the rest were thoroughly screened and found negative for *P. microbothrium* and related trematodes of the gastrointestinal tract and associated circulatory system. The latter were used as controls. However, nearly all the cattle harboured light infections with strongyles.

Collection of specimens

All samples were collected *post mortem*. Serum was obtained from cardiac blood following syringe aspiration. Ruminal liquor was obtained by gentle squeezing of the ruminal mucosa (after removal of ingesta) and the fluid extract was collected in a bijoux bottle. The collected ruminal liquor was sieved and further clarified by centrifugation at 1,500 revolutions per minute for 30 min. Duodenal extract was similarly obtained from both groups of cattle, after ingesta was removed by scraping the mucosa surface with a glass slide. The scraped mucus was dissolved in an equal volume of phosphate buffered saline (pH 7.2) and clarified by centrifugation. Normally, fresh samples of ruminal and duodenal extracts were used in the assays but these were occasionally stored frozen at -20 °C with 1 p. 100 sodium azide as preservative prior to use.

Measurement of total and specific antibody

The concentrations of immunoglobulins A and G₁ in the samples were quantified by the single radial immunodiffusion technique using commercial kits (Miles, U.K.). Briefly, 50 of each test serum and standard of known concentration were pipetted into a central well of 1 p. 100 Agar containing antibodies against immunoglobulin A and G₁.

Following radial diffusion at room temperature for 48 hours, readings of diameters of each ring of the test sample and standards were taken and the concentration of immunoglobulin in each sample were estimated for a semi-log linear plot of the diameter versus the concentration of the known standards.

Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT) was done on 4 µm cryocut sections of *P. microbothrium* as descri-

TABLE I Mean concentration of Immunoglobulin-A and Immunoglobulin-G₁ in serum, ruminal and duodenal extract of cattle.

Immunoglobulin Class	Animal Groups	Mean concentration of immunoglobulins (mg/ml \pm standard deviation)		
		Serum	Duodenal	Ruminal
IgA	Infected	4.0 \pm 0.5	3.0 \pm 0.3	trace*
	Control	3.8 \pm 0.8	3.2 \pm 0.14	trace
IgG ₁	Infected	18.0 \pm 2.4	3.5 \pm 0.3	2.1 \pm 0.3
	Control	20.0 \pm 1.8	3.2 \pm 0.4	0.5 \pm 0.2

* less than 0.3 mg/ml.

bed by OGUNRINADE (5). The indirect fluorescent antibody test was performed using the cryocut sections of the worm as antigen and serial dilutions of the test and control sera as antibody. Fluorescent-labelled anti rabbit bovine IgA or IgG₁ was used as conjugate. The preparation was viewed under UV light microscopy.

RESULTS

The results of the measurements of total immunoglobulin in the test samples are presented in table I. Using a student t-test, there was no significant difference in total immunoglobulin-A in serum, duodenal or ruminal extracts between infected and control cattle ($P > 0.05$). However, a significantly high concentration of immunoglobulin-G₁ was detected in ruminal liquor of infected cattle ($P < 0.05$). Similarly, specific antibody was detected in ruminal liquor in a greater number of cases especially when immunoglobulin-G₁ was determined (Table II).

DISCUSSION

Systemic immune response in trematode infections such as *F. gigantica* is chiefly of immunoglobulin-G₁ specificity (4). However, local antibody response in the gut mucosa of cattle consists mainly of immunoglobulin A and G₁ classes (2). Immunoglobulin-G₁ is known to play a special role in exocrine secretions of cattle and a selective transport of this immunoglobulin occurs in the gut mucosa of cattle (3). In *H. contortus* infections, both immunoglobulin A and G₁ have been associated with local immunity in the gut mucosa of sheep (6). This result shows that immunoglobulin-G₁

may also play a role at the local immunity in cattle in paramphistome infections. Since infection with *P. microbothrium* is self-limiting (1), it seems that immunoglobulin-G₁ may play a major role in immune expulsion of paramphistome infections in cattle.

TABLE II Detection of specific antibody by IFAT.

Cattle	Extract	No. Examined	No. Reacting at $> 1/16$	
			anti-IgA-FITC	anti-IgG ₁ -FITC
Infected	S	10	2	2
	R	10	1	8
	D	10	1	2
Control	S	10	1	1
	R	10	—	2
	D	10	—	—

S = Serum ; R = Ruminal ; D = Duodenal Extract.

CONCLUSION

Specific immunity to *P. microbothrium* infections in the rumen and duodenal mucosa of cattle is of immunoglobulin-G₁ specificity. It is suggested that immunoglobulin-G₁ may play a major role in immune expulsion of *P. microbothrium* in cattle.

ACKNOWLEDGEMENTS

We wish to thank Mrs. Dora AKINBOYE for her technical assistance in the indirect fluorescent antibody assays.

OGUNRINADE (A. F.), ABATAN (M. O.). Detection and quantitation of humoral immunity to *Paramphistomum microbothrium* in gut mucosa of cattle. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 275-277.

Total and specific Immunoglobulin-A (IgA) and Immunoglobulin-G₁ (IgG₁) were detected and quantified in serum, ruminal and duodenal extracts of cattle naturally infected with *P. microbothrium* and controls. Using the Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT), specific immunoglobulin-G₁ was detectible in ruminal liquor in a greater number of cases than immunoglobulin-A. We concluded that immunoglobulin-G₁ may be involved in immune expulsion of paramphistomes from the rumen of cattle. *Key words* : Cattle - *Paramphistomum microbothrium* - Immunity - Nigeria.

OGUNRINADE (A. F.). detección y cuantificación de la inmunidad humoral para con *Paramphistomum microbothrium* en la mucosa intestinal de bovinos. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 275-277.

Se evidenciaron y se cuantificaron las inmunoglobulinas-A (IgA) y -G₁ (IgG₁) a partir de sueros y de muestras de la panza y del duodeno tomadas en bovinos naturalmente infestados. Por medio de la pueihba de inmunofluorescencia indirecta se evidenció la inmunoglobulina-G₁ específica más frecuentemente que la inmunoglobulina-A en las secreciones de la panza. De esto se puede concluir que la inmunoglobulina-G₁ hace parte de la reacción inmunitaria de expulsión de los paramfistomas de la panza de los bovinos. *Palabras claves* : Bovino - *Paramphistomum microbothrium* - Inmunidad - Nigeria.

REFERENCES

1. HORAK (K.). Paramphistome and paramphistomiasis. *Adv. Parasit.*, 1971, **9** : 33-40.
2. LLOYD (P.). Local immune mechanisms against parasites. *In* : Isotopes and radiation in parasitology, IV. Vienna, IAEA, 1981. Pp 121-128.
3. MORGAN (K. L.), BOURNE (F. J.), BRADLEY (P. A.). Humoral factors in the secretory immune system of ruminants. *Adv. expl Med. Biol.*, 1981, **137** : 391-410.
4. OGUNRINADE (A. F.). IgG response in natural and experimental infections of cattle with *Fasciola gigantica*. *Vet. Parasit.*, 1983, **13** : 325-332.
5. OGUNRINADE (A. F.). Serological diagnosis of bovine fascioliasis. A comparison of the double immunodiffusion, indirect fluorescent antibody and enzyme linked immunosorbent assay for field diagnosis. *Trop. Vet.*, 1983, **1** : 43-46.
6. SMITH (W. D.). Antilarval antibodies in the serum and abomasal mucus of sheep hyperinfected with *Haemonchus contortus*. *Res. vet. Sci.*, 1977, **22** : 334-335.
7. WEDRICHOWICZ (H.), MACLEAN (J. M.), HOLMES (P. H.). The detection and measurement of coproantibodies to *Nippostrongylus brasiliensis* in rats following a primary infection. *Parasite Immunology*, 1983, **5** : 277-287.

Oviposition et longévité de la tique *Amblyomma variegatum* Fabricius, 1794 (*Ixodoidea* : *Ixodidae*) en République Populaire du Congo

N. Voutoulou¹

VOUTOULO (N.). Oviposition et longévité de la tique *Amblyomma variegatum* Fabricius, 1794 (*Ixodoidea* : *Ixodidae*) en République Populaire du Congo. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 279-282.

L'oviposition et la longévité de l'espèce *Amblyomma variegatum*, maintenue au laboratoire et en plein air ont été étudiées. La longueur de la période de préoviposition était de $11,35 \pm 1,517$ jours à 27 °C et 84 p. 100 d'humidité relative (HR); $8,65 \pm 1,430$ jours à 30 °C et 84 p. 100 d'HR; $11,55 \pm 1,70$ jours et $11,79 \pm 1,91$ jours pour les tiques exposées en pleine nature respectivement au mois de janvier et juillet. La longueur de la période d'incubation pour les oeufs exposés dans les mêmes conditions présentait également des différences. Elle était plus courte à 30 °C et 84 p. 100 d'HR. Les larves exposées à 30 °C et 84 p. 100 d'HR avaient une longévité maximale plus élevée que les autres. La longévité des larves est liée aux taux d'HR. Les adultes exposés en plein air avaient une longévité maximale inférieure à celle des adultes exposés au laboratoire. *Mots clés* : Tique - *Amblyomma variegatum* - Biologie - Ecologie - Congo.

INTRODUCTION

L'importance des spécimens d'*Amblyomma variegatum* collectés sur les bovins (VOUTOULO, en préparation) à travers les ranches, laisse à supposer que cette espèce qui joue un rôle important dans l'épidémiologie de certains micro-organismes (5, 16) constitue l'un des facteurs limitant le développement de l'élevage en République Populaire du Congo.

Le risque de l'apparition des souches résistantes signalées (11, 17) après l'utilisation des acaricides permet d'envisager d'autres méthodes de lutte, notamment la méthode écologique. Cependant cette méthode ne peut être pratiquée que lorsqu'elle est fondée sur une bonne connaissance de la biologie et de l'écologie des divers stades des tiques.

Cet article se propose de présenter les résultats obtenus, en laboratoire et dans les conditions naturelles, concernant les périodes de développement et la longévité de cette tique télotrope, manifestant l'exophilie.

MATERIEL ET METHODES

Cent soixante-sept femelles repues ont été collectées

sur des bovins au cours de la période octobre 1983-juillet 1984. Les femelles, pesées et placées en boîte individuelle (2,5 cm x 3 cm x 2 cm) pour oviposition, ont permis d'obtenir des larves; 128 adultes non repus, obtenus en laboratoire, provenaient des nymphes prélevées sur les mêmes animaux.

Cinq groupes ont été constitués : 3 exposés en laboratoire à 12 °C et 40 p. 100 d'HR, à 27 °C et 84 p. 100 d'HR et à 30 °C et 84 p. 100 d'HR. Les deux autres groupes étaient maintenus en terrarium et en plein air. L'humidité et la température dans ces conditions ont été enregistrées à l'aide d'un hygrothermographe et reflètent les données publiées par le service de météo à Brazzaville.

Les femelles ont été observées chaque jour pour déterminer la longueur de la période de pré-oviposition. Les oeufs collectés ont été pesés et on a déterminé la période minimale d'incubation.

La longévité maximale des larves (en jours) et des adultes (en semaines), maintenus à jeun, a été déterminée.

La survie de 50 p. 100 des adultes à 30 °C et 84 p. 100 d'HR et en plein air (T° et HR variables) a été déterminée après analyse des données par la méthode Log-temps-probit mortalité.

RESULTATS

Les résultats sur les périodes de développement et sur la survie des larves et des adultes sont consignés dans les tableaux I et II. Les femelles qui ont été maintenues à 12 °C et 40 p. 100 d'HR sont toutes mortes après avoir présenté des signes de dessiccation. Les oeufs exposés à cette température n'ont pas donné de larves après six mois d'observation et ont également présenté les mêmes signes de dessiccation.

L'étude de variation du poids d'oeufs en fonction du poids de la femelle révèle que les femelles maintenues à 30 °C et 84 p. 100 d'HR, ont présenté un bon indice d'efficacité de conversion (6) par rapport à celui des femelles exposées en plein air (Fig. 1 et 2). La survie à

N. Voutoulou

TABLEAU I Facteurs associés à l'oviposition d'Amblyomma variegatum.

Exposition	Laboratoire			Nature	
	12 °C 40 p. 100 HR	27 °C 84 p. 100 HR	30 °C 84 p. 100 HR	23 - 32 °C (*) 87 - 100 p. 100 HR	19 - 28 °C (*) 71 - 100 p. 100 HR
Effectifs femelle	17	31	55	44	20
Poids de femelle (g) (**)	1,312 (1,210 - 1,934)	1,214 (0,941 - 1,738)	1,129 (0,42 - 3,561)	1,465 (0,480 - 3,460)	1,337 (0,425 - 2,76)
Poids œufs (g)/ femelle (**)	—	0,502 (0,026 - 0,98)	0,471 (0,010 - 1,61)	0,588 (0,030 - 1,397)	0,475 (0,016 - 1,361)
Période préoviposition (jour)	—	11,35 ± 1,517	8,65 ± 1,430	11,55 ± 1,70	11,79 ± 1,91
Période incubation (jour)	—	32,45 ± 2,189	30,99 ± 1,382	33,80 ± 1,87	41,35 ± 2,08
C.E.I. : $\frac{\text{œufs (g)}}{\text{femelle (g)}}$	—	0,413	0,4176	0,4012	0,355

(*) Observation en janvier et en juillet 1984.
 (**) Les chiffres entre parenthèses représentent les extrêmes.

jeun des larves et des adultes, maintenus respectivement à 30 °C et 84 p. 100 d'HR et en plein air a été comparée (Tabl. II). Pour les larves, il n'a été tenu compte que de la survie maximale : 202 jours à 30 °C et 84 p. 100 d'HR et 196 jours en plein air (T° et HR variables). La survie de 50 p. 100 des adultes maintenus dans les mêmes conditions a également été déterminée : 64,03 (62,02-66,09) semaines et 37,35 (35,38-39,43) semaines, respectivement à 30 °C et 61 p. 100 d'HR et en plein air.

TABLEAU II Longévité maximale observée au laboratoire et dans la nature.

Exposition	Laboratoire			Nature
	27 °C 61 p. 100 HR	27 °C 84 p. 100 HR	30 °C 84 p. 100 HR	19-34 °C 68-100 p. 100 HR
Larves	76 jours (4 879)	187 jours (5 441)	202 jours (5 329)	162 jours (6 371)
Adultes	—	—	104 sem. (62)	93 sem. (66)

Les chiffres entre parenthèses représentent les effectifs observés.
 Les larves ont été réparties en plusieurs lots et comptées après mortalité.

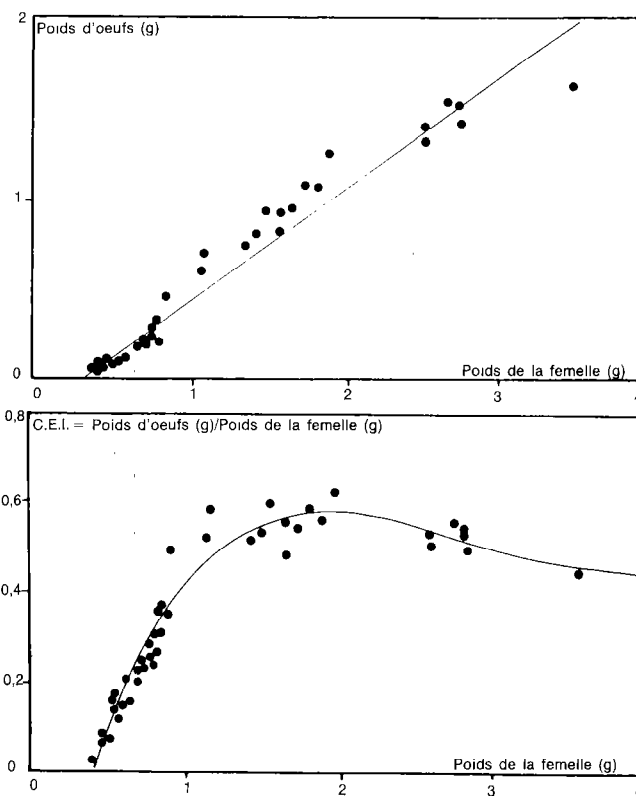


Fig. 1 : En haut : relation entre poids de la femelle (g) et poids d'œufs (g) à 30 °C et 84 p. 100 d'HR.

$$Y = 0,619X - 0,227; R = 0,9826; N = 55$$

En bas : relation entre poids de la femelle (g) et le C.E.I. (= poids d'œufs en g/poids de la femelle).

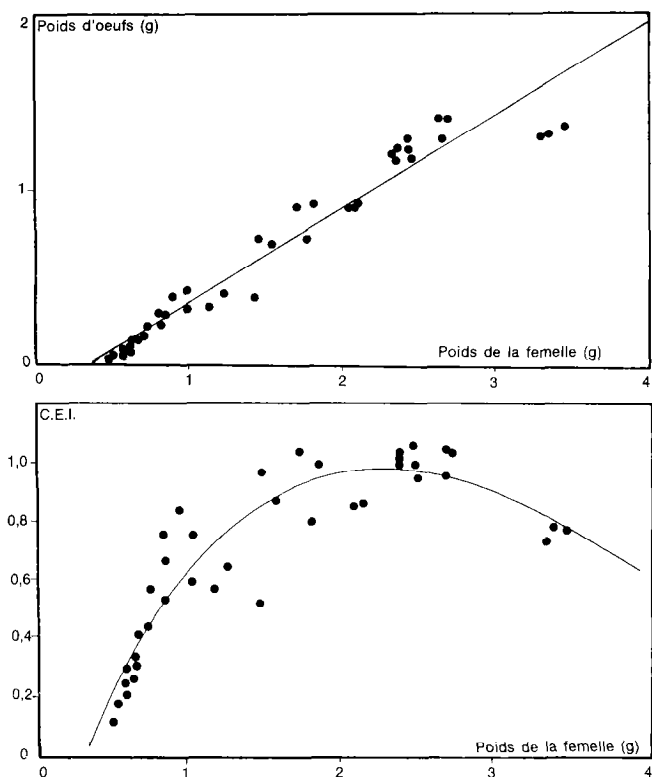


Fig. 2 : En haut : relation entre poids de la femelle (g) et poids d'oeufs (g) en plein air (janvier).

$T^{\circ} = 23-32^{\circ}\text{C}$; HR = 87-100 p. 100.

$Y = 0,540X - 0,203$; $R = 0,974$; $N = 44$.

En bas : relation entre poids de la femelle et C.E.I. (= poids d'oeufs (g)/poids de la femelle (g))

DISCUSSION

Les travaux publiés, sur plusieurs espèces, *Ixodes hexagonus* (2) et *Boophilus microplus* (3, 7) indiquent que l'oviposition pouvait avoir lieu à des températures inférieures à 13°C .

Les observations faites sur *Amblyomma variegatum* ont montré que l'oviposition n'avait pu avoir lieu à 12°C . Elle pourrait avoir lieu à 15°C comme c'est le cas chez *Amblyomma hebraeum* (10), *Rhipicephalus sanguineus* et *Hyalomma aegyptium* (15).

Les périodes de préoviposition sont plus courtes à 30°C et 84 p. 100 d'HR. Des observations similaires ont été faites chez *Amblyomma hebraeum* (10). La période de préoviposition chez l'espèce étudiée est plus longue (5-12 jours à 30°C et 84 p. 100 d'HR).

VOUTOULOU (N.). Oviposition and longevity of tick *Amblyomma variegatum* Fabricius, 1794 (Ixodoidea : Ixodidae) in Popular Republic of Congo. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 279-282.

comparée à celles d'autres ixodoïdes : 5 à 6 jours à 30°C pour *Haemaphysalis bispinosa* (4), 6 à 7 jours à 27°C pour *Dermacentor variabilis* (13) et 5 jours à 27°C pour *Amblyomma americanum* (9).

Les femelles exposées à 30°C et 84 p. 100 d'HR ont présenté un rendement plus élevé dans la conversion du repas sanguin en masse d'oeufs que les femelles maintenues à 27°C et 84 p. 100 d'HR et en plein air comme l'indique le C.E.I. (Tabl. I).

L'analyse des courbes de l'indice d'efficacité de conversion (Fig. 1 et 2) montre que les meilleurs rendements de conversion en fonction du poids des femelles sont obtenus pour les femelles pesant 1,2 à 2 g.

Les valeurs du poids critiques (14) à partir duquel se déclenchent les processus de vitellogenèse et d'oviposition pour les femelles élevées en plein air et en laboratoire sont respectivement 0,3667 g et 0,3762 g soit une différence de 9,5 mg. Les femelles vivant en plein air exigeraient un repas plus abondant pour le déclenchement de ce phénomène. Il est à noter que le poids minimal d'engorgement varie selon les espèces : *Ixodes ricinus* 22,3 mg (8), *Rhipicephalus sanguineus* 22 mg (15), *Hyalomma aegyptium* 235 mg (15), 100 mg pour *Dermacentor parumapertus* (1).

La période d'incubation est également influencée par la température et l'HR comme le montre le tableau II. Elle est plus longue pour les oeufs exposés en plein air, en juillet (hiver austral).

La comparaison faite entre les groupes maintenus respectivement en laboratoire et en plein air, montre que la longévité des larves et des adultes est influencée par les facteurs physiques tout particulièrement par l'humidité. Cependant, la longévité des larves tout comme celle des adultes est beaucoup plus élevée pour les ixodides maintenus en laboratoire qu'en plein air où les variations de température et d'humidité sont beaucoup plus importantes. La longévité maximale de 76 jours observée pour les larves exposées à 27°C et 84 p. 100 d'HR montre le rôle important que joue l'humidité sur la survie des larves (187 jours à 27°C et 84 p. 100 d'HR).

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie M. CASES (Université Pierre et Marie Curie, Paris VI) de sa participation à l'élaboration de cet article.

VOUTOULOU (N.). Oviposición y longevidad de la garrapata *Amblyomma variegatum* Fabricius, 1794 (Ixodoidea : Ixodidae) en el Congo. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 279-282.

N. Voutoulou

Oviposition and longevity of *Amblyomma variegatum* species, in laboratory and in the field have been studied. Length of preoviposition period was respectively 11.35 ± 1.517 days at 27°C and 84 p. 100 relative humidity (RH); 8.65 ± 1.430 days at 30°C and 84 p. 100 RH; 11.55 ± 1.70 days and 11.79 ± 1.91 for ticks in the field, respectively in January and July. Incubation period length for eggs in the same conditions as above also presents differences. It is shorter at 30°C and 84 p. 100 RH. Larvae at 30°C and 84 p. 100 RH had a maximum longevity higher than the others. Larvae longevity is linked with RH rates. Adults in the field had a maximum longevity lower than laboratory ones. Key words: Tick - *Amblyomma variegatum* - Biology - Ecology - Congo.

Se estudiaron la oviposición y la longevidad de la especie *Amblyomma variegatum* mantenida en el laboratorio y en las condiciones naturales. Es la duración de preoviposición de: $11,35 \pm 1,517$ días a 27°C y 84 p. 100 de humedad relativa (HR); de $8,65 \pm 1,430$ días a 30°C y 84 p. 100 de HR; $11,55 \pm 1,70$ días y $11,79 \pm 1,91$ días para las garrapatas en medio terreno respectivamente al mes de enero y de julio. La duración de incubación de los huevos puestos en las mismas condiciones presenta también diferencias. Es más corte a 30°C y 80 p. 100 de HR. Las larvas puestas a 30°C y 80 p. 100 de HR tienen una longevidad máxima más elevada que otras. La longevidad de las larvas está ligada con los porcentajes de HR. Los adultos en condiciones naturales tienen una longevidad máxima inferiora a la de los adultos puestos en laboratorio. Palabras claves: Garrapata - *Amblyomma variegatum* - Biología - Ecología - Congo.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALLRED (D. M.), ROSCOE (E. J.). Life history of the tick *Dermacentor parumapertus* in Utah. *J. Parasit.*, 1956, **42**: 516-522.
2. ARTHUR (D. R.). The bionomics of *Ixodes hexagonus* Leach in Britain. *Parasitology*, 1951, **41**: 82-90.
3. BENNETT (G. F.). Oviposition of *Boophilus microplus* (canestrini) (Acarida: Ixodidae). II. Influence of temperature, humidity and light. *Acarologia*, 1974, **16**: 394-396.
4. BRENNER (K. C.). Observations on the biology of *Haemaphysalis bispinosa* Neumann (Acarida: Ixodidae) with particular reference to its mode of reproduction by Parthenogenesis. *Aust. J. Zool.*, 1959, **1**: 7-12.
5. DAUBNEY (R.). Natural transmission of heartwater of sheep by *Amblyomma variegatum* Fabricius, 1794. *Parasitology*, 1930, **22** (2): 260-267.
6. DRUMMOND (R. O.), WHESTONE (T. M.). Oviposition of the Gulf Coast tick. *J. econ. Ent.*, 1970, **63**: 1547-1551.
7. FUJISAKI (K.), KITAOKA (S.), MARI (T.). Effect of different combinations of temperature and humidity on the oviposition of *Haemaphysalis longicornis* and *Boophilus microplus*. *Bull. natn. Inst. Anim. Hlth*, 1973, **70**: 27-34.
8. GRAF (J. F.). Copulation, nutrition et ponte chez *Ixodes ricinus* L. (Ixodoidea: Ixodidae). 3e partie. *Mitt. schweiz. ent. Ges.*, 1978, **51**: 343-360.
9. LANCASTER (J. L.), MILLAN (H. L.). The effects of relative humidity on the lone star tick. *J. econ. Ent.*, 1955, **48**: 338-339.
10. NORVAL (R. A. I.). Studies on the ecology of the tick *Amblyomma hebraeum* Koch in the Eastern Cape province of South Africa. II. survival and development. *J. Parasit.*, 1977, **63**: 740-747.
11. ROULENS (J. H.). Susceptibility to cholinesterase of inhibiting acaricides of organo-chlorine resistant strains of *Amblyomma variegatum* (Acarida: Ixodidae) and an organochlorine susceptible strain of *Amblyomma hebraeum*. *J. med. Ent.*, 1980, **17** (4): 374-379.
12. RUBINA (M. A.), ZIU (M.). The life cycle of the tick *Hyalomma anatolicum excavatum* Koch, 1844, maintained under field conditions in Israel. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1982, **35** (3): 255-264.
13. SMITH (C. N.), COLF (M. M.), GOUK (H. K.). Biology and control of the American dog tick. Washington DC, USA, Department of Agriculture, 1946. 94 p. (Tech. Bull n° 905).
14. SNOW (K. R.), ARTHUR (R.). Oviposition in *Hyalomma anatolicum* Koch, 1844 (Ixodidae: Ixodidae). *Parasitology*, 1966, **56**: 555-568.
15. SWEATMAN (G. K.). Temperature and humidity effects on the oviposition of *Hyalomma aegyptium* tick of different engorgement weights. *J. Med. Ent.*, 1968, **5** (4): 429-439.
16. UILENBERG (G.). Acquisitions nouvelles dans la connaissance du rôle vecteur des tiques du genre *Amblyomma* (Ixodidae). *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1983, **36** (1): 61-66.
17. VOUTOULO (N.). Note préliminaire sur la sensibilité d'*Amblyomma variegatum* et *Boophilus decoloratus* (Acarida: Ixodidae) aux acaricides organo-phosphorés en République Populaire du Congo. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1985, **38** (3): 266-269.

Microflore bactérienne normale vaginale et préputiale chez les bovins au Sénégal

M. Konte¹

KONTE (M.). Microflore bactérienne normale vaginale et préputiale chez les bovins au Sénégal. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 283-286.

L'auteur procède à un inventaire bactériologique systématique des segments génitaux externes, vestibulo-vaginal et préputial, des bovins locaux et importés, mâles et femelles, cliniquement normaux. Il s'efforce de définir la nature des relations existant entre le profil général de la microflore, le pH et les facteurs d'environnement afin de déterminer le caractère infectieux ou symbiotique, strict ou non, de ces résidents. *Mots clés* : Bovin - Bactérie - Système génital - Sénégal.

INTRODUCTION

Cette étude a pour but de définir le profil général qualitatif de la microflore des segments génitaux externes de la vache et du taureau cliniquement normaux, dans ses rapports avec le pH et dans son évolution dans le temps. Une telle étude revêt un intérêt évident, à la fois dogmatique, physiologique et pathologique, comme ont eu à le montrer JOUBERT et collab. (4). Le présent travail a intéressé des animaux jeunes et adultes, mâles et femelles, tous normaux, appartenant aux races locales (taurins N'Dama et zébus Gobra) et aux races importées (taurins Montbéliard et zébus Pakistanais).

MATERIEL ET METHODES

Les animaux

Le travail s'est déroulé en stations, ce qui offre l'avantage de disposer des mêmes animaux pendant une période suffisamment longue pour permettre une répétition des analyses dans le temps. Par ailleurs, compte tenu de l'ampleur du travail de laboratoire

qu'un seul animal peut occasionner pour l'identification systématique des espèces bactériennes, l'effectif expérimental a été réduit à 20 sujets par station, répartis comme suit : 5 femelles et 5 mâles adultes, 5 femelles et 5 mâles jeunes, d'un an environ, ceci pour les centres de recherches zootechniques de Kolda (pour les taurins N'Dama) et de Dahra (pour les zébus Gobra). Pour la station de Sangalkam (ferme annexe du laboratoire de Dakar abritant des bovins importés), l'opération n'a pu concerner que les adultes Montbéliard et Pakistanais.

Les animaux sont visités à deux occasions, en février-mars et en août-septembre.

Les prélèvements

Prélèvement de mucus vaginal

Il est réalisé par écouvillonnage du fornix et de l'exocol à l'aide d'un spéculum vaginal et d'une longue pince à forcipressure droite.

L'écouvillon, modèle « Culturett » de la firme *Scientific products*, se compose d'une tige en plastique de 15 cm de long, portant, fixé à un bout, du coton cardé et coulissant dans un tube stérile dont le fond contient 0,5 ml d'un milieu de transport (Modified Stuart's Bacterial transport Medium). La tige de l'écouvillon est fixée au fond d'un tube court servant de bouchon au tube protecteur. La pince à forcipressure prolonge l'écouvillon pour atteindre le fornix, distant d'environ 40 cm, à travers le spéculum vaginal mesurant 30 cm de long et 3 cm de diamètre.

Prélèvement du liquide de rinçage du prépuce

Cette opération a nécessité une seringue en verre de 50 ml et de l'eau bidistillée stériles. On procède par irrigation et siphonnage de la cavité préputiale. Le prélèvement est conservé dans un tube à essai de 22 mm de diamètre également stérile, bouché au coton cardé.

L'ensemble du matériel de prélèvement n'a subi aucune désinfection chimique préjudiciable à la vitalité de la flore recherchée ; il a été soumis simplement à un autoclavage classique.

1. I.S.R.A., Laboratoire national d'Elevage et de Recherches vétérinaires, B.P. 2057, Dakar-Hann, Sénégal.

M. Konte

Mesure du pH

Elle est effectuée à l'aide de papier indicateur sensible à 0,2 unités (modèle Oxyphen-Switzerland) de 6,4 à 7,6 *in situ* pour le milieu vaginal, dans le tube de récolte pour le liquide de rinçage du prépuce.

Bactériologie

Recherche de germes anaérobies et aéro-anaérobies facultatifs (AAF)

Ensemencement de milieux de culture divers (bouillon VF glucosé à 1 p. 100, gélose profonde VF à 6 p. 1 000, gélose VL-sang) ; bactérioscopie après coloration de Gram (2, 3).

Recherche non spécifique de germes aérobie et AAF

Culture en bouillon nutritif, sur gélose nutritive, gélose-sérum, gélose molle profonde VF, bactérioscopie après coloration de Gram ; tests biochimiques d'identification sur plaques API.

Recherche de *Brucella*

Milieux de culture : brucella-agar modifié + PBC (Polymyxine - Bacitracine - Cycloheximide), milieu trypticase-soja (Bio-Mérieux), gélose molle profonde VF, bactérioscopie après coloration de Gram ; spécification réalisée au laboratoire de pathologie de la reproduction à Nouzilly en France.

Recherche de mycoplasmes

Milieu sélectif solide : Heart infusion Broth Difco (H.I.B.) + agar + extrait de levure fraîche à 25 p. 100 + sérum de cheval décomplémenté + pénicilline (L.S.P.), pour isolement direct ; clonage en milieu liquide (HIB + L.S.P. ou bouillon tryptose-pénicilline + S.L.) ; bactérioscopie par examen d'un état frais (1).

Recherche de germes acido-alcool-résistants (AAR)

Milieu sélectif d'isolement des mycobactéries (Loewenstein-Jensen) ; bactérioscopie après coloration de Ziehl pour définir le groupe.

Recherche de lactobacilles

Milieu sélectif d'isolement, bouillon et gélose MRS ; coloration de Gram ; spécification sur plaques API.

Recherche de corynébactéries

Milieux de culture favorables : milieu de Loeffler et sérum coagulé ; coloration de Gram ; identification sur plaques API.

Recherche de *Listeria*

Ensemencement de bouillon tryptose maintenu à + 4 °C pendant 10 jours comme procédé d'enrichissement, gélose-mobilité ; bactérioscopie sur état frais et après coloration de Gram ; identification sur plaques API.

Recherche de streptocoques

Ensemencement milieu sélectif pour streptocoques (IPP), gélose au sang de mouton ; bactérioscopie après coloration de Gram ; sérogroupage par « Slidex Strepto-Kit » (Bio-Mérieux).

Recherche de staphylocoques

Milieu sélectif d'isolement (milieu de Chapman, bouillon pour staphylocoagulase, plasma de lapin lyophilisé, bouillon nutritif ; coloration de Gram, épreuve de la coagulase.

RESULTATS

Profil général de la microflore vaginale et préputiale

Les pourcentages d'animaux porteurs sont répertoriés dans le tableau I.

Il existe une microflore bactérienne chez tous les animaux visités, donnant lieu à un profil général.

Cette microflore est hétérogène et variable en nombre d'espèces, mais surtout en quantité au niveau des troupeaux.

La microflore à Gram positif domine toujours celle à Gram négatif, chez toutes les races, au cours de toutes les saisons et pour tous les âges retenus.

Parmi les constituants à Gram positif, des *Cocci* sont isolés en majorité (streptocoques et aussi staphylocoques non pathogènes) ; cependant, des bacilles sont aussi fréquemment mis en évidence (surtout *Bacillus sp.* et *Corynebacterium*). Il faut noter la présence non négligeable d'anaérobies stricts du genre *Clostridium*.

Les constituants de la flore à Gram négatif sont

TABLEAU I Microflore vaginale et préputiale : pourcentage d'animaux porteurs.

Germes	p. 100 en saison sèche et fraîche	p. 100 en saison des pluies
Gram négatifs	11,40	6,85
• <i>E. coli</i>	16	1,66
• <i>P. mirabilis</i>	25	1,66
• <i>Providencia sp.</i>	3,33	0
• <i>Enterobacter cloacae</i>	10	1,66
• <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,66	56,66
• <i>Alteromonas putrefasciens</i>	13,33	0
• <i>Alcaligenes foecalis</i>	3,33	0
• CDC groupe VE ₁	6,66	0
• <i>Neisseria sp.</i>	23,33	0
Gram positifs	36,90	28,33
• <i>C. pyogenes</i>	60	61,66
• <i>C. renale</i>	0	5
• <i>Lactobacillus casei</i>	18,33	28,33
• <i>Bacillus sp.</i>	76,66	43,33
• <i>Streptocoques D.</i>	81,66	31,66
• <i>Diplococcus sp.</i>	11,66	3,33
• <i>Staphylocoques NP</i>	10	25
— A-A-R	0	16
— <i>Clostridium sp.</i>	29,09	20
— <i>Mycoplasma sp.</i>	45,45	38

E. coli = *Escherichia coli*.

P. mirabilis = *Proteus mirabilis*.

CDC groupe VE₁ = Bactéries proches du genre *Chromobacterium*.

C. pyogenes = *Corynebacterium pyogenes*.

A-A-R = Acido-alcool-résistants.

surtout représentés par les *Pseudomonas*, en certaine période (hivernage). Les entérobactéries sont beaucoup plus rares (*E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Providencia sp.*, *Enterobacter*). Beaucoup d'autres germes ne sont isolés qu'en saison sèche et fraîche (*Alteromonas*, *Alcaligenes*, CDC groupe VE₁, (bactéries proches du genre *Chromobacterium*), *Neisseria*).

Des germes acido-alcool-résistants sont mis en évidence en hivernage chez les bovins sénégalais uniquement.

Aucune bactérie du genre *Brucella* ou du genre *Listeria* n'a été observée.

Variation de la flore en fonction de la saison

Certains germes sont des résidents permanents, seulement variables en nombre (cas de tous les germes à Gram positif isolés), d'autres sont absents à une certaine période (seulement les Gram négatif, comme

les genres *Providencia*, *Alteromonas*, *Alcaligenes*, CDC groupe VE₁, *Neisseria*, isolés seulement en saison sèche, février-mars).

Les *Pseudomonas* ne sont mis en évidence qu'en saison des pluies (août-septembre).

Variation de la flore en fonction du pH

Les valeurs du pH varient très peu et restent localisées dans la zone d'acidité, entre 5,3 et 6,9 avec tendance à la neutralité, toutes races et tous sexes confondus. On note qu'à un pH très acide, correspond soit la présence de streptocoques, soit une augmentation globale de la microflore résidente.

DISCUSSION

En accord avec les conclusions de JOUBERT (4), la microflore implantée dans le vagin et le sac préputial apparaît de type fécal avec une forte représentation des entérocoques, mais aussi des corynébactéries, des *Bacillus* et *Lactobacillus*, ainsi que des colibacilles et des *Neisseria*. Elle résulterait d'une pollution d'origine anale. Elle ne semble affecter la santé génitale des animaux que de façon sporadique et circonstancielle, souvent de manière très localisée.

En conséquence, les variations de cette flore n'obéiraient à aucune règle. Dès lors, le rôle symbiotique et protecteur reste discutable.

Le caractère pathogène potentiel reconnu à des germes tels que *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium*, *Streptococcus* et *Staphylococcus*, est à retenir quant au rôle infectant propre à déterminer des accidents abortifs.

Il n'y aurait pas de variation de profil quant à la microflore résidente de l'adulte (mâle et femelle) comparée à celle des jeunes (impubères mais sevrés, dans notre cas) ; tout au plus, une légère différence quantitative prévaudrait.

Les relations de la flore vaginale et préputiale avec le pH se font dans le sens d'une acidification du milieu, par l'action de germes lactiques et acidogènes, corroborant ainsi les connaissances acquises par ailleurs. Il y a donc variation du pH en fonction de la flore.

La saison, en ce qu'elle influe sur la température ambiante et les conditions d'alimentation, et donc sur la résistance des animaux aux diverses agressions (microbiennes notamment), favorise l'implantation de tel ou tel germe.

M. Konte

CONCLUSION

La microflore bactérienne normale vaginale et préputiale a été étudiée. Le profil général obtenu revêt une allure fécale et pourrait donc résulter d'une contamination d'origine anale. Cependant, des germes isolés tels que *E. coli*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Mycoplasma*, sont connus pour être potentiellement pathogènes.

KONTE (M.). Normal vaginal and preputial bacterial microflora in cattle in Senegal. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 283-286.

A systematic bacteriologic inventory has been made, concerning external genital segments, vestibulo-vaginal and preputial, in local and imported cattle, males and females, clinically normal. So, the relationship between the microflora general profile, the pH and the environmental factors can be defined, in order to determine the infectious or symbiotic character, strict or not, of these germs. *Key words* : Cattle - Bacteria - Genitals - Senegal.

Au cours du temps, on note une variation peu importante du profil sur le plan qualitatif (en exemple, les *Pseudomonas* ne sont retrouvés qu'en hivernage alors que la majorité des bactéries à Gram négatif ne le sont qu'en saison sèche), mais significative quantitativement.

Le pH est affecté par la flore, mais sa valeur reste localisée dans la zone d'acidité, plus ou moins élevée en fonction du profil et de l'abondance des germes.

La race ne semble pas déterminer le profil puisqu'il est le même pour les bovins locaux et importés.

KONTE (M.). Microflora bacteriana normal vaginal y preputial en los bovinos en Senegal. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (3) : 283-286.

El autor hace el inventario bacteriológico sistemático de los segmentos genitales externos, vestibulo-vaginal y preputial de los bovinos locales e importados, machos y hembras, clinicamente normales. Intenta definir las relaciones entre el perfil general de la microflora, el pH y los factores ambientales para determinar el carácter infeccioso o simbiótico, estricto o no, de estas bacterias. *Palabras claves* : Bovino - Bacteria - Aparato genital - Senegal.

BIBLIOGRAPHIE

1. AL-AUBAIDI (J. M.), FABRICANT (J.). Technics of the isolation of *Mycoplasma* from cattle. *Cornell Vet.*, 1968, **58** (4) : 555.
2. BERG (J. N.), FALES (W. H.), SCANLAN (C. M.). Occurrence of anaerobic bacteria in diseases of the dog and cat. *Am. J. vet. Res.*, 1979, **40** : 876-881.
3. BERKHOFF (G. A.), REDENBARGER (J. L.). Isolation and identification of anaerobes in the veterinary diagnostic laboratory. *Am. J. vet. Res.*, 1977, **38** : 1069-1074.
4. JOUBERT (L.), KHALIL (O.), BERTRAND (M.), DESCHANEL (J. P.). Microflore bactérienne normale cervicale et utérine de la vache non gestante. *Bull. Soc. Sci. vét. Méd. comp. Lyon*, 1971, **73** (2) : 149-156.
5. KONTE (M.). Ecologie bactérienne des parties distales du tractus génital chez les bovins au Sénégal. Dakar-Hann, Sénégal, LNERV, 1985. (Microbiologie n° 112).

A. I. A. Osuagwuh¹U. D. Inwang¹

The West African dwarf goat : body size, udder and teat circumference in relation to kid mortality

OSUAGWUH (A. I. A.), INWANG (U. D.). La chèvre naine Djallonké : relations entre la taille du corps, la circonférence de la mamelle et du trayon et la mortalité des chevreaux. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 287-291.

Le poids vif et la circonférence de la mamelle et du trayon de 360 chèvres naines Djallonké ont été enregistrés une semaine après le part. Les données récoltées pour chaque paramètre ont été classées en quatre groupes - petit, moyen, grand, très grand. La carrière de reproduction de ces femelles, y compris la mortalité néonatale a été obtenue à partir de leurs fiches d'élevage. Sur un total de 1738 chevreaux nés de ces femelles, 238 (13,7 p. 100) sont morts dans les 30 premiers jours après la naissance. Les relations établies à partir de ces données ont montré que le poids des animaux était significativement ($P < 0,001$) corrélé à la circonférence de la mamelle et du trayon. Le poids de l'animal et la circonférence de la mamelle ont influencé significativement ($P < 0,01$) le taux de survie des chevreaux. Les femelles de petit format et à la circonférence de mamelle petite ont eu plus de chevreaux morts que celles de tailles moyennes alors que les femelles à grandes et très grandes mamelles n'ont pas eu de chevreaux morts. Le poids le plus souhaitable s'avère supérieur ou égal à 24 kg, la circonférence de la mamelle la plus souhaitable supérieure ou égale à 16 cm. La circonférence du trayon influence aussi significativement ($P < 0,01$) le taux de survie des chevreaux. Les tailles enregistrées comme très grandes sont associées à la mortalité des chevreaux. La taille la plus souhaitable semble être inférieure ou égale à 4 cm. Dans l'élaboration de programmes d'élevage de chèvres naines Djallonké, prenant en compte, poids vif et circonférence de la mamelle et du trayon, la relation possible entre la production de lait et ces caractères devrait être évaluée. *Mots clés* : Caprin - Chèvre Djallonké - Chevreau - Dimension - Mortalité - Mamelle - Trayon - Nigeria.

INTRODUCTION

Traditionally, great importance has been attached to the environmental factors responsible for neonatal mortality in kids. Studies on the causes of kid mortality in Nigeria (2, 9) and elsewhere (3, 5, 7) have highlighted the significant role played by infectious and parasitic agents, nutrition, hygiene, housing and season of the year in causing neonatal mortality of kids. Other factors include birth weight, sex, type of birth (single or multiple) and parity. These studies have given rise to the formulation of some strategies aimed at minimizing the high rate of neonatal mortality in kids.

1. Department of Veterinary Surgery and Reproduction, University of Ibadan, Nigeria.

In Nigeria, it seems that the desired decrease in kids mortality is yet to be achieved (8). This study was therefore initiated with the aim of identifying some intrinsic factors related to the dams that may predispose their kids to early death, factors which *postmortem* investigation may not identify. Such factors include dam weight, udder and teat circumference. This information is considered important and helpful in planning a selective breeding programme and supplementary feeding strategy for the kids aimed at improving the overall productivity of the West African dwarf goat.

MATERIALS AND METHODS

Three hundred and sixty West African dwarf (WAD) does and 1,738 kids were used in this study. The animals were from the Teaching and Research Farm, University of Ibadan and Institute of Agricultural Research and Training, Moore Plantation, Ibadan, Nigeria. These areas are within the tropical humid zone of Southern Nigeria. Only does that have kidded (one week *postpartum*) were used for this study.

The animals were under semi-intensive system of management with giant star grass/legume (*Cynodon niemfuensis/Cenchrus ciliaris*) as the basal ration, which was provided *ad libitum* and standard farm concentrate for goats as supplement at the rate of 0.6 kg per goat per day. The ingredients and chemical composition of the feed are presented in table I. In order to eliminate as much as possible, some of the known factors (9) that influence kid mortality in WAD goats, this study was carried out with animals of not more than 5 kiddings and kids of not less than 1.2 kg birth weight. Routine deworming, with panacur(*), at a dose of 5 and 10 mg fenbendazole per kg body weight for gastrointestinal nematodes and tape worms respectively and dipping in Gamatox super fluid(**) at dilution of 1:500, were carried out to

(*) Hoechst AG (Frankfurt main Germany/Allemagne).

(**) Contains gama BHC 20 p. 100 W/V (Cooper McDougall, 25, Robertson Ltd., Berkhamsted, Herts, England.)

TABLE I *Ingredients and chemical composition of the standard farm ration supplement as fed to the animals during the studies.*

Ingredients (g/100 g DM)		
Maize	63.50	
Palm Kernel Cake	15.50	
Brewers' Grain	20.00	
*Mineral/Vitamin Mix	0.50	
Salt	0.50	
Chemical Composition Nutrient	Concentrate (in percent)	Grass (in percent)
Dry Matter (DM)	93.00	93.00
Crude Protein (CP)	15.29	11.00
Crude Fiber (CF)	16.13	50.54
Organic Matter (OM)	88.16	85.47
Ash	4.84	7.53
Gross Energy (KJ/g)	19.10	19.58

* g/kg: Manganese 16.0; Zinc 12.0; Iron 6.0; Copper 4.0; Cobalt 0.30; Iodine 1.20; Magnesium 200.0; Vitamin A 0.50 and Vitamin D 0.25 I.U.

minimize both endo and ecto parasitic infection. The animals were also vaccinated with tissue culture rinderpest vaccine (TCRPV) against *peste des petits ruminants* (PPR).

Each animal was weighed and the weight recorded. In measuring the different parameters of the udder and teat, the animal was restrained in the standing position and each half of the udder was measured from the mid point where the two halves meet on the ventral aspect of the animal to the posterior aspect with the two hind legs abducted. Similarly, the circumference of the teats was determined. All the dimensional measurements were taken by the aid of a piece of thread which was later placed on a ruler graduated in centimeters. Information about each individual goat's reproductive history was obtained from the breeding records. The study lasted for 12 months.

CGAnalysis of dataRO : from the data collected, the mean dam weight, circumference of the udder and teat were calculated. All parameters considered here were classified into four groupsCG ROaccording to their sizes - small, medium, large and extra-large - designated A, B, C and D respectively. Each class was related to kid mortality. Only kids that died within the first 30 days ITpostpartumRO were considered in this study.

On the hypothesis that kids survival rate is independent of the three variables - dam weight, udder and teat circumference, the chi-square (X^2) test of independence as described by LITTLE and HILLS (4) was done. Simple correlation coefficients between these three variables were also performed.

RESULTS

Out of the 1,738 kids involved in this study, 238 (13.7 p. 100) were recorded as dying. The mean values of the dam weight, udder and teat circumference are presented in table II. The relationship between the kids mortality rate with each class of the parameters is shown in table III. The results of the chi-square statistical analysis on the effects of the dam weight, udder and teat circumference on the survival of the kids are presented in table IV. In all cases the effects were highly significant ($P < 0.001$). The dam weight, udder and teat circumference were positively and significantly ($P < 0.01$) related to one another. The results of the analysis are shown in table V.

TABLE II *Mean value of the body size, udder and teat circumference of the West African dwarf goats.*

	Dam weight (kg)	Circumference (cm)	
		Udder	Teat
Mean	18.96	14.74	3.59
S.D.	3.67	1.91	0.79
Range	13.4-31.2	10.55-18.70	2.25-8.90

TABLE III *Effects of dam size, udder and teat circumference on the mortality rate of the West African dwarf kids.*

Parameter & range	No. of does	Total No. of kids	Total mortality	Percentage of mortality
Dam weight (kg)				
A) 13-18	190	700	160	22.9
B) 19-24	140	660	50	7.6
C) 25-30	20	225	0	0
D) > 30	10	153	28	22.4
Udder circumference (cm)				
A) 10-13	70	230	170	73.9
B) 14-16	240	1 010	40	4.0
C) 17-19	50	498	0	0
D) > 19	0	0	0	0
Teat circumference (cm)				
A) 2.0-3.7	207	774	156	20.2
B) 3.8-5.4	108	639	0	0
C) 5.5-7.0	27	253	0	0
D) > 7.0	18	72	54	75.0

A = small ; B = medium ; C = large ; D = extra-large.

TABLE IV Effect of different parameters on the survival rates of West African dwarf kids.

Parameters	df	Chi-square values	Probability
Dam Weight	3	111.2	P < 0.001
Udder Circumference	3	948.0	P < 0.001
Teat Circumference	3	569.5	P < 0.001

TABLE V Simple correlation coefficient between dam weight and udder and teat circumference and between udder circumference and teat circumference.

Variable	DW	UC	TC
UC	0.5554**	—	—
TC	0.7393**	0.5560**	—
TL	0.6682**	0.5983**	0.6597**

DW = Dam Weight.
 UC = Udder Circumference.
 TC = Teat Circumference.
 ** = P < 0.01.

DISCUSSION

Previous studies on the causes of neonatal mortality in WAD kids (9), had indicated the significant role of starvation and undernutrition in causing the death of these kids. The present study highlights the intrinsic role of the physical characteristics of the does in the mortality of their kids, even under an improved system of management. The marked relationship between kid mortality and the dam weight, udder and teat circumference seems to be an important predisposing cause of death. Although it may be difficult to say that these factors were responsible for the death of the kids, but more often than not, it is the initial factor in the chronological sequence that is more important, for as it were, such a factor acts as a catalyst to subsequent factors. For example, studies have shown that starving or underfed kids are highly susceptible to cold and disease (11). Not only that, cold predisposes kids to such killing diseases like pneumonia and *peste des petits ruminants* (PPR) (9). Also the high rate of mortality among kids within the first 30 days of life in tropical countries have been associated with the cold periods of the year (5, 9). Similar initial predisposing factors in the WAD goats are being highlighted in the present report.

WAD goats with small body weight (13-18 kg) and udder circumference (10-13 cm) were associated with the highest rate of kids mortality of 22.9 and 73.9 p. 100 respectively. Those with medium sizes, had 7.6 and 4 p. 100 mortality rate associated with the dam weight and udder circumference respectively; while those under large and extra-large udder sizes were not associated with mortality. This may indicate that animals with small body weight and udder size did not produce enough milk to meet the nutritional needs of their kids, hence the high rate of death of the kids probably due to starvation and undernutrition. This situation was more serious in cases of multiple births than single. And it was from this group of multiple births that 85 p. 100 of the deaths occurred.

The positive significant (P < 0.01) correlation (r = 0.56) between dam weight and udder circumference shows that most of the animals with small body weight had also small udder circumference. Attempts have been made to classify the West African dwarf goat into different sizes (6). This classification shows that the small bodied adult WAD goats are in a class of their own and were not growing animals. However, the size of the animals notwithstanding, they still have high rate of multiple births characteristic of this breed of goat (1, 10). It seems, therefore, that supplementary cow milk feeding of these kids is necessary in order to reduce the high rate of kids mortality and maximize the prolificacy of the WAD goats.

On the other hand, dams with large and extra-large body and udder sizes, recorded no kid mortality during the study period. The survival of their kids may be due to the fact that the does, by virtue of their large sized udder, produced adequate quantity of colostrum and milk to satisfy both the immunological and nutritional requirements of their kids.

The fact that there was no perfect correlation in the statistical analysis between the various parameters considered in this study, showed that some of the parameters were out of proportion. For example, some animals had extra-large weight but small udder size or small body weight but with large udder. In the former, mortalities were recorded but none in the later. This situation may explain why there were some mortalities associated with the animals having extra-large weight as shown in table III.

Teat circumference was another factor that contributed significantly to the high rate of mortality recorded in this study. Even though the small sized teats were associated with 20.2 p. 100 mortality of the kids, this was not considered a reflection of the true situation. Rather it was more associated with the small sized udder of the animals than the small sized teat, for the two variables were significantly (P < 0.01) correlated (r = 0.556). No mortality was associated with the medium and large sized teat circumference. However,

A. I. A. Osuagwuh, U. D. Inwang

teats with extra-large circumference were associated with very high rate (75 p. 100) of kids mortality. In most cases, this class of teats had supranumerary teats which were smaller and more cylindrical than normal teats (Fig. 1). As a result of the great size of these teats, the kids preferred suckling the supranumerary teats which could not deliver enough milk to satisfy their nutritional requirements, thereby predisposing them to death due to starvation and undernutrition. Like the kids born of the animals with small sized body and udder, artificial rearing may be the only way of reducing the high rate of mortality here. Or, perhaps, it may be genetically wise to exclude these groups of animals from breeding programmes.

CONCLUSION

Essentially, the West African dwarf goats are meat rather than milk animals. However, the failure, by normal kids at birth to achieve a regular and adequate milk supply from the dam due to the body size, udder and teat circumference of the dam, calls for different approaches aimed at minimizing neonatal mortality in WAD goats. Since the results of the present study have indicated the significant ($P < 0.001$) role the dam weight, udder and teat circumference play in the survival of the kids, it is suggested that selective breeding based on the body size, udder and teat circumferences be considered as one of the major approaches of preventing early losses in this breed of goat. Studies on the relationship between these traits and milk yields are being conducted.

OSUAGWUH (A. I. A.), INWANG (U. D.). The West African dwarf goat : body size, udder and teat circumference in relation to kid mortality. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 287-291.

The dam weight, udder and teat circumferences of 360 West African dwarf does were taken within one week *postpartum*. The data collected for each parameter was classified into four groups - small, medium, large and extra-large. The reproductive history of these animals including neonatal mortality was obtained from their breeding records. A total of 1,738 kids from these dams were involved with 238 (13.7 p. 100) of them recorded dead within the first 30 days of life. Correlations performed on these data showed that the body weight of the animals was significantly ($P < 0.001$) correlated with both udder and teat circumference. The udder circumference was significantly ($P < 0.001$) correlated with teat circumference. The body weight and udder circumference of the animal significantly ($P < 0.01$) influenced the survival rate of the kids. Animals with small body weight and udder circumference recorded more dead kids than those with medium sizes but none from the large and extra-large udders. The most desirable body weight and udder circumference are ≥ 24 kg and ≥ 16 cm respectively. Teat circumference also significantly ($P < 0.01$)



Fig. 1 : Large udder and extra-large teat, showing supranumerary teat, of the West African dwarf doe.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Messrs. U.G. EGBUEDO, F. AMOS and Thom MOSES for their field assistance throughout this study.

OSUAGWUH (A. I. A.), INWANG (U. D.). La cabra nana Djalonke : relaciones entre el tamaño del cuerpo, la circunferencia de la ubre y del pezón y la mortalidad de los cabritos. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 287-291.

Se anotaron el peso vivo y la circunferencia de la ubre y del pezón de 360 cabras nanas Djalonke una semana después del parto. Se clasificaron en cuatro grupos - pequeño, medio, grande, muy grande - los datos de cada parámetro. Así, las fichas de cría de dichas hembras permitieron tener una visión de conjunto de su reproducción y de la mortalidad neonatal. De 1 738 cabritos nacidos de estas hembras, 238 (13,7 p. 100) murieron los 30 primeros días después del nacimiento. Las relaciones hechas a partir de estos datos mostraron que se correlacionaba significativamente ($P < 0,001$) el peso del animal con la circunferencia de la ubre y del pezón. El peso del animal y la circunferencia de la ubre influenciaron significativamente ($P < 0,01$) la tasa de supervivencia de los cabritos. Las cabras de pequeño tamaño y con ubre de pequeña circunferencia tuvieron más de cabritos muertos que las de tamaño medio mientras que las hembras con grandes y muy grandes ubres no tuvieron cabritos muertos. Son respectivamente ≥ 24 kg y ≥ 16 cm el peso y la circunferencia más

influenced the survival rate of the kids. Those in the extra-large range were associated with kids mortality. The most desirable size seems to be < 4 cm. In formulating breeding programmes for the West African dwarf goats based on body weight, udder and teat circumference, possible relationships between milk yield and these traits should be evaluated. *Key words* : West African dwarf goat - Kid - Body size - Udder - Teat - Mortality - Nigeria.

deseables. La circunferencia del pezón influye también significativamente ($P < 0,01$) sobre la proporción de supervivencia de los cabritos. Las dimensiones muy grandes están ligadas con la mortalidad de los cabritos. Es s 4 cm la dimensión más deseable. En los programas de cria de las cabras nanas Djalónke tomando en cuenta peso vivo y circunferencia de la ubre y del pezón, se necesitaria evaluar la relación posible entre la producción de leche y dichas características. *Palabras claves* : Ganado cabrió - Cabra Djalónke - Cabrito - Mortalidad - Ubre - Pezón - Nigeria.

REFERENCES

1. ADEMOSUN (A. A.). The development of livestock industry in Nigerian ruminants. *Proc. agric. Soc., Nig.*, 1973, **10** : 10.
2. ADUN (I. F.), BUVANENDRAN, LAKPINI (C. A. M.). The reproductive performance of red Sokoto goats in Nigeria. *J. agric. Sci., Camb.*, 1979, **93** : 563-566.
3. CHAWLA (D. S.), BHATNAGAR (D. S.). Rates and causes of mortality in Alpine and Saanen goats under stallfed conditions. *Indian J. anim. Sci.*, 1984, **54** : 892-895.
4. LITTLE (T. M.), HILL (F. J.). Statistical methods in agricultural research. Davis, University of California, 1975. Pp 198-202.
5. MAZUMDAR (N. K.), MAZUMDAR (A.), GOSWAMI (K. K.). Studies in some factors affecting mortality and survival rates in Pashmina kids. *Indian J. Anim. Sci.*, 1980, **50** : 251-255.
6. MECHA (I.), AGUNWAMBA (P.). Classification of goats in Southern Nigeria : West African dwarf goats. Proc. 3rd. Int. Conf. Goat Prod. Dis., Tucson, Arizona, USA, 1982. 549 p.
7. MINETT (F. C.). Mortality in sheep and goats in India. *Indian J. vet. Sci.*, 1950, **20** : 69-103.
8. NGERE (L. O.), ADU (I. F.), OKUBANJO (I. O.). The indigenous goats of Nigeria. *Anim. Genet. Resources Inf.*, 1984, **3** : 1-9.
9. OSUAGWUH (A. I. A.), AKPOKODJE (J. U.). West African dwarf (Fouta Djallon) goat. I. Causes of early mortality. *Int. Goat Sheep Res.*, 1981, **1** : 303-309.
10. OSUAGWUH (A. I. A.), AKPOKODJE (J. U.). The reproductive performance of the West African dwarf (Fouta Djallon) Goat. *Trop. anim. Prod.*, 1984, **9** : 213-238.
11. OSUAGWUH (A. I. A.), AKPOKODJE (J. U.) Prewaning growth and mortality rate of the West African dwarf goat. *Trop. Anim. Prod.*, 1986. (in press).

Forage quality of crested wheatgrass (*Agropyrum cristatum* Bess.) in relation to rainfall and level of forage utilization

A. S. Nastis¹

NASTIS (A. S.). Qualité fourragère du chiendent à crête (*Agropyrum cristatum* Bess.) en relation avec la pluviométrie et le degré de pâturage. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3) : 293-297.

La variation de la production et de la qualité fourragère du chiendent à crête ensemencé (*Agropyrum cristatum* Bess.) sous l'effet du broutage a été étudiée pendant deux années consécutives. Les pâturages ont été broutés à la fin de l'été en fin de croissance végétative après nettoyage des refus. La première année a été considérée comme sèche (317 mm/an) avec des précipitations de 50 p. 100 inférieures à celles de la seconde (577 mm/an). La production fourragère a été déterminée à partir de coupe d'échantillons pris avant et après les essais, durant lesquels les parcelles étaient en pâturage continu avec des génisses. Les échantillons représentatifs de chaque période ont été analysés pour déterminer leur valeur nutritionnelle. La production a été de 474 kg MS/ha pour l'année sèche et de 929 kg MS/ha pour l'année humide. La digestibilité *in vitro* s'est échelonnée de 46,2 à 52,8 p. 100 pour l'année sèche et de 32,9 à 40,2 p. 100 pour l'année humide. Pour tous les échantillons de toutes les dates la teneur en matières azotées totales (MAT) s'est révélée plus importante et la teneur en fibres détergent-neutres (NDF : *neutral-detergent fiber*) plus basse pour l'année sèche que pour l'année humide. L'écart va de 4,4 à 7,5 p. 100 pour les MAT et de 1,9 à 6,3 pour les NDF. La digestibilité n'a pas significativement changé lors de la diminution du fourrage, pendant l'année sèche, alors que durant l'année humide une augmentation s'est marquée pendant la dernière période, au moment de la repousse. La teneur en MAT suit le même schéma que la digestibilité. La teneur en NDF ne change pas pendant l'année sèche au fur et à mesure du pâturage, mais augmente significativement pendant l'année humide. *Mots clés* : Plante fourragère - *Agropyrum cristatum* - Valeur fourragère - Pâturage - Production fourragère - Etats-Unis.

INTRODUCTION

The cattle and sheep farming industry depends to a large extent on range forage. Range forage production, though, varies greatly from year to year, depending mainly on the amount and the distribution of precipitation (1, 14). Although variation in forage production is occasionally greater than threefold between any two consecutive years, there is not such a great animal product fluctuation. On the contrary, some ranchers insist that cattle performance is better during dry than during wet years, when there is sufficient grazing space per animal. This indicates that quality may play a more important role than

forage abundance within some limits. It indicates also how little factual information exists to document animal performance in relation to forage resource.

This discrepancy between quantitative forage production and animal production may be partially explained by forage quality. Biomass produced in various years does not have the same nutritional value throughout. Heavy grazing is expected to bring to the surface more clearly existing differences between years. The purpose of this study was to examine the variation in forage quality of seeded crested wheatgrass (*Agropyrum cristatum* Bess.) pastures under intensive grazing during wet and dry years.

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted during the summers of 1977 and 1978 on the Tintic experimental area near Eureka, Juab County, in central Utah. The first year (1977, 329 mm) was a dry year and the second (1978, 603 mm) was considered a wet year. Average annual precipitation in Eureka (approximately 10 km from the study area) during the last 45 years has been 400 mm. Precipitation is distributed more or less evenly throughout all the months of the year. Records for precipitation and temperature were obtained on the study site during the course of the experiment.

Two crested wheatgrass-dominated pastures (pasture 17 and 18), both with sandy loam soil, served as experimental units. During 1977, samples were taken from a 28 ha area which was grazed by 20, one and a half year old Angus heifers. This pasture was sampled between August 9 and September 18. There was a total of four successive sampling periods. Samples for determining forage quality were collected by hand clipping forage similar to that grazed three times a day. All samples collected during a period were composited to form the sample of the period. The average stocking rate was 1 Animal Unit Month (AUM*)/ha (10). During 1978, 10 ha of uniform vegeta-

1. Laboratory of Range Science, 236, University of Thessaloniki, Greece.

(*) AUM = The amount of feed or forage required by a mature cow with calf or their equivalent for one month.

A. S. Nastis

tion in the adjacent pasture 17 were sampled and grazed by 16 experimental animals and, periodically, by 18 other animals all similar to those used in 1977. The additional animals were used to achieve desired levels of forage utilization. The average stocking rate was 3.7 AUM/ha. This 10 ha pasture was sampled between August 9 and September 20. Sampling was repeated on the same periods as above and on an additional one in late autumn.

Forage biomass and height were determined by means of a systematic sampling scheme, along equally spaced parallel lines across the entire pasture (12). The sample size was determined (16) so that experimental error would be within 10 p. 100 of the mean with a probability of ≤ 90 p. 100. The first sampling position, randomly selected, consisted of a circular 1 m² quadrat; hence, every 40 meters along the lines other such positions were marked. Sampling was carried out every 10 days during 1977 and every 5 days during 1978 (Table I).

Forage biomass was determined by harvesting all plant material within the circular 1 m² sampling quadrats at approximately 1.0 cm above ground level with hand shears. Plant height was measured at two hit points on either side of every square-meter circle.

Biomass subsamples were divided into species so as to determine forage composition by weight. The same subsamples were divided into stems and leaves. Regrowth within each experimental period was mea-

sured by protecting 30 clipped plots with enclosure cages and reclipping them at the end of the period. All samples were dried for 24 h at 105 °C and weighed to determine the dry weight of the total forage available.

Organic matter digestion coefficients were determined through an *in vitro* analysis of hand-harvested forage samples, similar to the grazed forage, according to the procedures of TILLEY and TERRY (17). Inoculum for the *in vitro* procedure was obtained from heifers grazing the crested wheatgrass pastures. Four animals were each tranquilized with 5 cc Rompun (Haver-Lockhart Laboratories, Shawnee, Kansas). Inoculum was then obtained by vacuum aspiration via a stomach tube and pooled into two preheated 1-liter thermos bottles. The inoculum was immediately transferred to the laboratory, where the *in vitro* digestion trials were conducted.

Similar forage samples were analyzed for nitrogen content by a macro-Kjeldahl procedure (7) and for NDF contents (18).

The data relating to forage nutritional measurements (crude protein, NDF contents and *in vitro* digestibility) were analyzed according to a completely randomized design (15). Comparisons between years were made for *in vitro* OM digestibility, crude protein content and NDF contents using a « t » test.

For evaluating significant differences between means, Duncan's New Multiple Test was used (16). Differences between means at the $\alpha < 0.05$ level of probability were considered statistically significant.

TABLE I Herbage available (kg/ha) during 1977 and 1978 in a crested wheatgrass pasture.

Dates	Mean Yield	SD
1977 *		
Aug - 9	474	13.6
Aug - 19	359	14.3
Aug - 29	272	12.1
Sept - 8	236	12.8
Sept - 18	170	9.4
1978 **		
Aug - 9	929	39.5
Aug - 13	909	32.7
Aug - 18	864	34.1
Aug - 23	652	21.6
Aug - 28	562	23.8
Sept - 2	507	20.8
Sept - 8	382	21.6
Sept - 12	241	12.9
Sept - 23	173	4.7
Sept - 28	114	6.6

(*) N = 100. 1.0 m² quadrats at each sampling date.
 (**) N = 35. 1.0 m² quadrats at each sampling date.

RESULTS AND DISCUSSION

Production of forage biomass was 474 kg/ha during 1977 and 929 kg/ha during 1978 (Table I). Forage per unit area for 1978 was twice that for 1977. This was mainly due to differences in amounts and distribution of precipitation; total precipitation between October and September were 317 and 577 mm for the years 1976-1977 and 1977-1978 respectively (*).

Forage grazed in pasture during 1977 was composed of 88 p. 100 crested wheatgrass and 12 p. 100 western wheatgrass (*Agropyrum smithii*). It did not reach full phenological development and was prematurely cured by droughty conditions. Before the initiation of grazing, the forage had an average plant height of 15 cm while 56 p. 100 of its weight was leaves. Forage during 1978

(*) Precipitation potentially used for the yearly production different from the calendar annual precipitation.

was 56 p. 100 crested wheatgrass, 36 p. 100 western wheatgrass, and 8 p. 100 Indian ricegrass (*Oryzopsis hymenoides*). During this year, forage reached full phenological development. Before the initiation of the experiment, average plant height was 31 cm and leaves comprised 42 p. 100 of its weight.

A substantial amount of regrowth (62 kg DM/ha) occurred during the study period in 1977 and a small amount of regrowth (25 kg DM/ha) was observed the following year. The amount and distribution of precipitation (1, 14) in relation to air temperatures (13) had a definite impact on crested wheatgrass growth.

Comparison of digestibilities (table II) between the two years resulted in significantly higher digestibility for 1977 (averaging 49.3 p. 100) than for 1978 (averaging 35.3 p. 100). Samples from both years were digested in the same trial with the same inoculum source. Hence, the difference between years was attributed to differences in forage quality.

COOK and HARRIS (4), working with sheep, reported *in vivo* digestibility for crested wheatgrass ranging between 57.0 and 53.0 p. 100 during the spring season, while FIERRO (5) and HANDL (6) reported slightly higher *in vitro* digestibility values for crested wheatgrass during the spring growth. The above findings were for immature or partially mature but not cured grass. Therefore, it was not surprising that digestibilities were higher than those found in the present study.

Differences in digestibilities between the two years have to be partially attributed to the difference in plant composition (13 p. 100 more western wheatgrass and 7 p. 100 more Indian ricegrass in 1978 than in 1977) partially to the lower leaf-stem ratio and to the more

mature stage of development during the second year. Digestibility increased when regrowth occurred, but this increase was significant only for 1978.

Crude protein content (Table II) of forage was significantly higher during the dry than during the wet year. Increased CP content during dry years in comparison to wet years has also been reported by HEDRICK *et al.* (9). These findings ranged between 9.6 and 13.2 p. 100 during the dry year and between 5.7 and 9.5 p. 100 during the wet year. These differences were attributed :

- to the dry conditions which caused cessation of growth before full phenological development,
- to the regrowth in the third sampling period during the first year and in the fifth sampling period during the second year and,
- to the difference in botanical composition.

FIERRO (5) reported that the crude protein content of regrowth may vary between 15 and 25 p. 100 depending on the proportion of regrowth within the sample. Even a small increment of regrowth can alter the overall crude protein content of standing cured forage with low crude protein content.

No significant difference in NDF contents was found in forage samples collected during the grazing trials in 1977 (Table II). However, NDF contents increased significantly as grazing progressed during 1978. Forage had significantly lower NDF contents during 1977 than during 1978. Immature cured forage during 1977 had a lower and more even distribution of NDF contents within the plant biomass. Additionally, regrowth occurring during the third trial contributed

TABLE II Crude protein content, neutral-detergent fiber (NDF percent of DM) and *in vitro* digestibility (percent of OM) of hand harvested crested wheatgrass forage.

Constituents	Periods				
	Aug. 9-13	Aug. 19-23	Aug. 29-Sept. 2	Sept. 8-12	Sept. 24-28
	1977				
CP	10.3 ± 0.7b (1)	9.6 ± 0.8b	13.2 ± 0.8a	11.2 ± 0.7b	—
NDF	60.0 ± 1.2a	59.6 ± 0.3a	60.2 ± 0.7a	60.1 ± 1.7a	—
IVOMD	46.2 ± 0.7a	47.7 ± 1.8a	52.8 ± 4.3a (2)	48.4 ± 2.4a	—
	1978				
CP	5.9 ± 0.6b	6.2 ± 0.4b	5.7 ± 0.5b	5.8 ± 0.9b	9.5 ± 2.0a
NDF	61.9 ± 2.6a	61.9 ± 2.2ab	64.8 ± 2.5bc	67.4 ± 2.1c	67.3 ± 2.1c
IVOMD	34.9 ± 1.6a	34.5 ± 1.7a	32.9 ± 2.0a	33.5 ± 2.0a	40.2 ± 4.8b (3)

(1) Means ± SD in the same row followed by a common letter are not significantly different ($P \leq 0.05$).

(2) The regrowth improved the overall quality of diet less than in 1977 (cf. 3) since the first growth of forage was of better quality (immature).

(3) The diets of animals contained relatively high proportions of regrowth. Indeed, the regrowth of 25 kg/ha was an average over the entire area, but most of it occurred in the swales where the animals concentrated during this last grazing period.

A. S. Nastis

negatively to the NDF contents (regrowth was mainly leaves low in NDF contents). Therefore, NDF contents were maintained at about 60 p. 100 throughout the grazing trials. By contrast, an increase in NDF contents from 61 p. 100 during the first trial to 66 p. 100 during the fourth and fifth trials was measured during 1979 (Table II). This indicates that grazing was selective even in the botanically simple pasture. Selective grazing (2, 3) typically removes leaves in preference to stems. However, no significant difference in the present study in leaves/stem ratios by weight was found between trials in either year. This limited selection of leaves is primarily attributed to the physical structure of the plant community studied. Crested wheatgrass typically grows in dense bunches and has relatively short leaves. Additionally, its stems are relatively soft and small in diameter compared with other grass species such as *Phalaris* evaluated by ARNOLD (2). Secondly, heifers are generally less selective as regards leaves versus stems as compared with sheep, used in the experiments conducted by COOK and HARRIS (3) and ARNOLD (2).

NASTIS (A. S.). Forage quality of crested wheatgrass (*Agropyrum cristatum* Bess.) in relation to rainfall and level of forage utilization. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3): 293-297.

Forage production and quality variation with defoliation of seeded crested wheatgrass (*Agropyrum cristatum* Bess.) were studied during two consecutive years. Pastures were grazed in late summer when growth had ceased and forage was cured. The first year was considered dry (317 mm/year), with 50 p. 100 less precipitation than the second one (577 mm/year). Forage production was determined by clipping adequate samples, before and after each trial, while the pastures were grazed continuously by heifers. Representative samples for each period were analyzed so as to determine their nutritional value. Forage production was 474 kg DM/ha during the dry year and 929 kg DM/ha, during the wet year. *In vitro* digestibility ranged from 46.2 to 52.8 p. 100 for the dry year and from 32.9 to 40.2 p. 100 for the wet year. On all sampling dates, CP content was higher and neutral-detergent fiber contents (NDF, percent of DM) lower for the dry year than for the wet year. Their difference ranged from 4.4 to 7.5 p. 100 for CP and 1.9 to 6.3 p. 100 for NDF. Digestibility did not change significantly during the dry year as forage diminished, while during the wet year an increase was found in the last period when regrowth occurred. Crude protein (CP) content had the same pattern as digestibility. NDF contents did not change significantly during the dry year as grazing progressed but did increase significantly during the wet year. *Key words*: Fodder plant - *Agropyrum cristatum* - Fodder value - Grazing - Fodder production - United States.

CONCLUSION

It is generally understood that animal performance depending on intake is highly related to forage quantity and quality. Forage production is undoubtedly lower when rainfall is limited. However, forage quality is generally higher and can compensate for the limited quantity. Furthermore it was measured (8, 11) that intake by heifers was maintained constant by altering animal behavior when forage availability ranged between 173 kg/ha and 929 kg/ha. Consequently, animal performance is expected to be superior during the dry years when there is sufficient grazing space per animal.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author is grateful to Dr. J. C. MALECHEK, Professor of Range Science at Utah State University for his support and consultation during the conduct of this research.

NASTIS (A. S.). Calidad forrajera de *Agropyrum cristatum* Bess. en relación con la pluviometría y el nivel de pastoreo. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (3): 293-297.

Se ha estudiado durante dos años consecutivos la variación de la producción y de la calidad forrajera de *Agropyrum cristatum* Bess. pastoreado. El pastoreo tuvo lugar a fines del verano cuando terminado el crecimiento vegetativo después de la eliminación de los residuos.

Se consideró el primer año como seco (317 mm/año) con precipitaciones de 50 p. 100 inferiores a las del segundo (577 mm/año). Se determinó la producción forrajera a partir de corte de muestras tomadas antes y después de los ensayos, durante los cuales los pastos estaban pastoreados de modo continuo por becerros.

Se analizaron las muestras representativas de cada periodo para determinar su valor nutricional. Fue de 474 kg MS/ha la producción durante el año seco y de 929 kg MS/ha durante el año húmedo. La digestibilidad *in vitro* llega de 46,2 a 52,8 p. 100 para el año seco y de 32,9 a 40,2 p. 100 para el año húmedo. La proporción de materias nitrogenadas totales (MNT) de todas las muestras fue más importante y la de fibra detergente neutra (NDF: *neutral-detergent fiber*) más baja para el año seco que para el año húmedo. Es de 4,4 a 7,5 p. 100 la diferencia para las MNT y de 1,9 a 6,3 para los NDF. La digestibilidad no se modificó significativamente al momento de la disminución del forraje durante el año seco mientras que durante el año húmedo se observó una aumentación durante el último periodo durante el rebrote. Es lo mismo para la MNT. La cantidad de NDF no cambia durante el año seco a medida del pastoreo sino aumenta significativamente durante el año húmedo. *Palabras claves*: Planta forrajera - *Agropyrum cristatum* - Valor forrajero - Pastoreo - Producción forrajera - Estados Unidos.

REFERENCES

1. ALFRED (H. M.). Predicted forage yield based on fall precipitation in California annual grasslands. *J. Range Mgmt.*, 1970, **23** : 363-365.
2. ARNOLD (G. W.). Selective grazing by sheep of two forage species at different stages of growth. *Aust. J. agric. Res.*, 1960, **11** : 1026-1033.
3. COOK (C. W.), HARRIS (L. E.). The nutritive content of the grazing sheep's diet on summer and winter ranges in Utah. *Bull. Utah agric. Exp. Stn*, 1950, **342** : 1-66.
4. COOK (C. W.), HARRIS (L. E.). Nutritive value of seasonal ranges. *Bull. Utah agric. Exp. Stn*, 1968, **472** : 1-55.
5. FIERRO (L. C.). Influence of livestock grazing on the regrowth of crested wheatgrass for winter use by mule deer. M. S. thesis, Utah State Univ. Logan, 1977. 66 p.
6. HANDL (W. P.). Influence of spring crested wheatgrass production on intake of grazing steers. M. S. thesis, Oregon State Univ. Corvallis, 1972. 58 p.
7. HARRIS (L. E.). Nutrition research techniques for domestic and wild animals (Vol. I). Logan, Utah, L. E. Harris, 1970. 182 p.
8. HAVSTAD (K. M.), NASTIS (A. S.), MALECHEK (J. C.). The voluntary intake of heifers grazing a diminishing supply of crested wheatgrass. *J. Anim. Sci.*, 1983, **56** : 259-263.
9. HEDRICK (D. W.), MOSER (W. M.), STENINGER (A. L.), LONG (R. A.). Animal performance on crested wheatgrass pastures during May and June, Fort Rock, Oregon. *J. Range Mgmt*, 1969, **22** : 277-280.
10. HUSS (D. L.), ed. A glossary of terms used in range management. Portland, Oregon, American Society of Range Management, 1964. 32 p.
11. NASTIS (A. S.). Effect of forage availability on voluntary intake and feeding behavior of grazing heifers. Ph. D. Dissertation. Logan, Utah, 1979. 99 p.
12. National Academy of Science. Basic Problems and Techniques in Range Research. Washington, Nat. res. Council Pub., 1962. Pp 890-941.
13. RICHARDSON (E. A.), SEELEY (S. D.), WALKER (D. R.), ANDERSON (J. L.), ASHCROFT (G. L.) Phenoclimatology of spring peach bud development. *Hort. Sci.*, 1975, **10** : 236-237.
14. ROBERTSON (J. H.), NEAL (D. L.), McADAMS (K. R.), TUELLER (P. T.). Changes in crested wheatgrass ranges under different grazing treatments. *J. Range Mgmt*, 1970, **23** : 27-34.
15. SNEDECOR (C. W.), COCHRAN (W. C.). Statistical methods. Ames, Iowa, The Iowa State University Press, 1971. 593 p.
16. STEEL (R. G. D.), TORRIE (J. H.). Principles and procedures of statistics. New-York, McGraw-Hill Book Company, Inc., 1960. 481 p.
17. TILLEY (J. M. A.), TERRY (R. A.). A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Br. Grassld Soc.*, 1963, **18** : 104-111.
18. VAN SOEST (P. J.), WINE (R. H.). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. The determination of plant cell wall constituents. *J. Ass. off. agric. Chem.*, 1967, **50** : 50-55.